

и его листовой опад обладает аллелопатическим эффектом, оказываемым на живой напочвенный покров. Биотестирование, полевой эксперимент и газовая хроматография подтвердили наличие аллелопатически активных веществ в листовом опаде клена.

Заключение. По результатам полевых исследований проведена инвентаризация мест произрастания клена ясенелистного в долинах рек; создана картографическая база данных мест произрастания клена ясенелистного в программе *OziExplorer* и на платформе *MapInfo*; создана ГИС распространения клена ясенелистного. ГИС-анализ расположения очагов и проективного покрытия клена в очагах, видов очагов, возрастного состава очагов инвазии показал каким путем происходит распространение инвазии. Дана комплексная оценка инвазионного потенциала клена ясенелистного (*Acer negundo* L.) в долинах правых притоков реки Западной Двины и угрозы распространения инвазии на по пятибалльной системе (очень высокая, высокая, средняя, малая, угрозы нет).

Литература

1. Черная книга флоры Беларуси: чужеродные вредоносные растения / Д.В. Дубовик [и др.]; под общ. ред. В.И. Парфенова, А.В. Пугачевского; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т эксперим. Ботаники им. В.Ф. Купревича. – Минск: Беларуская навука, 2020. – 407 с.

ЧАСТИЧНАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ РЕГИОНА ПОВТОРОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ТЛИ *TERIOAPHIS TENERA*

А.С. Мохорова, С.С. Левыкина, Н.В. Воронова-Барте
БГУ, г. Минск, Республика Беларусь, bio.mohorova@bsu.by

Семейство Настоящие тли (Aphididae) представляет собой обширную группу насекомых-фитофагов и насчитывает не менее 5000 видов. Массовое размножение и активное питание тли негативно сказывается на декоративных и физиологических свойствах культивируемых растений. *Therioaphis tenera* (Aizenberg, 1956) или жёлтая караганная тля принадлежит к числу узких олигофагов. Растением-хозяином является карагана древовидная (*Caragana arborescens* Lam.), которая широко используется для озеленения садово-парковых насаждений по всей территории Республики Беларусь [1].

Митохондриальный геном является оптимальным объектом для исследований в области популяционной генетики и молекулярной филогенетики, поскольку геном митохондрий имеет небольшой размер, а гены, закодированные в митохондриальной ДНК, крайне консервативны. В митохондриальном геноме тлей обнаруживается крупный не кодирующий участок, часто несущий тандемные повторы – регион повторов. В митохондриальном геноме *T. tenera* такой участок имеет длину 3013 п.н., что на сегодняшний день является самым крупным регионом повторов среди представителей Aphididae. Поскольку регион повторов – самая вариабельная область в митохондриальном геноме, ее исследование в контексте эволюционной биологии является перспективным направлением.

Материал и методы. Митохондриальный геном *T. tenera* был собран, аннотирован и опубликован ранее сотрудниками СНИЛ биоинформатики и молекулярной эволюции животных [2]. Подбор праймеров на регион повторов *T. tenera* осуществлялся таким образом, чтобы амплифицировать его частями путем ПЦР с использованием Taq-полимеразы. Конструирование праймеров проводилось в программном обеспечении SnapGene (www.snapgene.com) и осложнялось многочисленными

тандемными повторами, содержащимися в этом участке. В итоге, последовательность региона повторов была разделена на пять перекрывающихся фрагментов разной протяженности: 699 п.н., 1260 п.н., 568 п.н., 782 п.н. и 886 п.н. Из предлагаемого пула праймеров для амплификации были отобраны только те, последовательность которых не входила в состав повторов, чтобы избежать ошибочной амплификации нецелевых фрагментов.

Выделение ДНК *T. tenera* проводилось с помощью коммерчески доступного набора реагентов “Нуклеосорб.Тип С” компании Праймтех в соответствии с протоколом производителя. В первую очередь был амплифицирован фрагмент размером 568 пар нуклеотидов, поскольку Taq-полимераза способна амплифицировать короткие участки ДНК с высокой эффективностью. Для амплификации были подобраны протоколы реакционной смеси и режима амплификации. Полимеразная цепная реакция проводилась двумя методами: ПЦР с использованием готовой реакционной смеси и ПЦР с составлением реакционной смеси из отдельных компонентов с разным содержанием $MgCl_2$ (для уменьшения количества возможных димеров праймеров и стабилизации работы полимеразы). В качестве положительного контроля использовали праймеры на фрагмент Фолмера (НСО/LCO).

Таблица 1 – Протоколы реакционных смесей для амплификации

Компонент	Протокол 1	Протокол 2	Протокол с готовой смесью
Смесь ArtMix	—	—	7,5 мкл
Буфер	1,5 мкл	1,5 мкл	—
дНТП	1,5 мкл	1,5 мкл	—
$MgCl_2$	1,2 мкл	0,9 мкл	—
Прямой праймер	0,75 мкл	0,75 мкл	0,75 мкл
Обратный праймер	0,75 мкл	0,75 мкл	0,75 мкл
mQ	6,5 мкл	6,8 мкл	4,2 мкл
Полимераза	1 мкл	1 мкл	—
ДНК	1,8 мкл	1,8 мкл	1,8 мкл
Объем итоговой смеси	15 мкл	15 мкл	15 мкл

Температурные режимы и продолжительность каждой стадии были подобраны в соответствии с протоколом производителя готовой смеси для ПЦР (ArtMix). Температура плавления праймеров была рассчитана с использованием SnapGene, температуру отжига брали на 6 °C ниже минимально рассчитанной (таблица 2).

Таблица 2 – Общий протокол амплификации

Этап	Температура	Продолжительность
Денатурация	94 °C	20 с
Отжиг	47 °C	40 с
Элонгация	72 °C	1 мин 30 с

Процесс амплификации состоял из 35 циклов. Визуализация полученных фрагментов осуществлялась методом горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле.

Результаты и их обсуждение. Для амплификации целевого фрагмента региона повторов были разработаны праймеры (таблица 3).

Таблица 3 – Праймеры для амплификации одного из фрагментов региона повторов

Название	Регион амплификации, п.н.*	Длина фрагмента, п.н.	Праймеры
mpPCR3_for	От 6063 до 6629	568	5'-GACAGTAACACGAATCACTAATG-3'
mpPCR3_rev			5'-ATTCACTGCCGTGTTCAAC-3'

* – Регион амплификации указан в соответствии с аннотацией митохондриального генома *T. tenera*.

В результате каждой ПЦР был амплифицирован фрагмент ожидаемой длины. Режим амплификации для всех ПЦР оставался одинаковым, что обеспечивало стабильные результаты. Следует отметить, что результаты ПЦР с содержанием $MgCl_2$ 1,2 мкл продемонстрировали более высокое качество полученных ампликонов в сравнении с реакцией, где использовалось 0,9 мкл $MgCl_2$.

Заключение. Из-за отсутствия данных о внутривидовой вариабельности регионов повторов невозможно было однозначно ожидать получение фрагмента целевой длины. Однако амплификация прошла успешно по всем протоколам. Поскольку амплифицированный фрагмент локализован в центральной части региона повторов, это может косвенно указывать на отсутствие внутривидовой вариабельности в этой области. Кроме того, мы предполагаем, что амплификация всего региона повторов является перспективным направлением исследований, поскольку он может быть использован в качестве видового молекулярного маркера, так как имеет разную длину у разных видов.

Литература

1. Жоров, Д.Г. Распространение *Therioaphis tenera* (Aizenberg, 1956) в условиях зеленых насаждений Беларуси / Д.Г. Жоров, Ф.В. Сауткин, С.В. Буга // Труды Белорусского государственного университета. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2014. – Т. 9, ч. 2. – С. 124–129.
2. Characteristic and variability of five complete aphid mitochondrial genomes: *Aphis fabae mordvilko*, *Aphis craccivora*, *Myzus persicae*, *Therioaphis tenera* and *Appendiseta robiniae* (Hemiptera; Sternorrhyncha; Aphididae) / N.V. Voronova [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 149 – P. 187–206.

ГЕЛЬМИНТОФАУНА ЧУЖЕРОДНОГО ВИДА РЫБ *CARASSIUS AURATUS* S. LATO СЕМЕЙСТВА CYPRINIDAE В ВОДОЕМАХ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ

Н.Г. Надина

Полесский государственный радиационно-экологический заповедник,
г. Хойники, Республика Беларусь, natalya.nadina@mail.ru

Внедрения чужеродных видов животных в фауну любого региона чрезвычайно актуально, так как они представляет собой угрозу исторически сложившемуся биологическому разнообразию. Распространение чужеродных видов рыб за пределы их естественных ареалов способно оказывать негативное воздействие на реципиентные экосистемы, появления их в водоемах могут носить весьма неблагоприятный характер