

ВОРОБЬЁВА М. М.<sup>1✉</sup>, ВОРОНОВА Н. В.<sup>2✉✉</sup><sup>1</sup> УО «Мозырский государственный педагогический университет имени И. П. Шамякина», Беларусь, 247760, г. Мозырь, ул. Студенческая, 28, e-mail: masch.89@mail.ru<sup>2</sup> Белорусский государственный университет,

Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4, e-mail: nvoronova@bsu.by

✉ masch.89@mail.ru, +37544-550-91-33

✉✉ nvoronova@bsu.by, +37529-620-20-00

## РАСШИФРОВКА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА СУБЪЕДИНИЦЫ 1 ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ С (COI) И ГЕНА СУБЪЕДИНИЦЫ $\alpha$ ФАКТОРА ЭЛОНГАЦИИ (EF1 $\alpha$ ) РЯДА ВИДОВ ТЛЕЙ ФАУНЫ БЕЛАРУСИ

**Цель.** Ген субъединица 1 цитохромоксидазы с (COI) и ген субъединица  $\alpha$  фактора элонгации (EF1 $\alpha$ ) применяют для корректной видовой диагностики трудно дифференцированных форм тлей, изучения генетической структуры вида, оценки внутривидового и межвидового генетического полиморфизма, а также для построения филогенетических систем. **Методы.** Образцы тлей собраны на территории Беларуси. Последовательности генов COI и EF1 $\alpha$  отсеквенированы с использованием праймеров LCO и EF3. **Результаты.** Получены нуклеотидные последовательности генов COI и EF1 $\alpha$  восемнадцати видов тлей рецентной фауны Беларуси, в частности, гена COI шести видов тлей (*Aphis fabae mordvilkoii* Börn. & Janisch., *Aphis pomi* Deg., *Aphis spiraeicola* Patch, *Colopha compressa* Koch, *Panaphis juglandis* (Gz.) и *Uroleucon hypochoeridis* (F.)) и EF1 $\alpha$  пятнадцати видов тлей (*Anoecia corni* (Fabr.), *Aphis euphorbiae* Kalt., *C. compressa*, *Drepanosiphum platanoidis* (Schr.), *Gyphina jacutensis* Mordv., *Hyalopterus pruni* (Geoffr.), *Longicaudus trirhodus* (Walk.), *Monaphis antennata* (Kalt.), *P. juglandis*, *Periphyllus aceris* (L.), *Schizolachmus pineti* (F.), *Sipha maydis* Pass., *Therioaphis tenera* Aiz., *Trichosiphonaphis corticis* (Aiz.), *U. hypochoeridis*). **Выводы.** Последовательности генов COI и EF1 $\alpha$  тлей фауны Беларуси расшифрованы и депонированы в GenBank.

**Ключевые слова:** тли, COI, EF1 $\alpha$ , нуклеотидные последовательности, GenBank, BOLD.

Молекулярные маркеры – конкретные короткие участка генома, имеющие определенную локализацию на хромосомах, обеспечивающие молекулярно-генетический анализ конкретного признака. На сегодняшний день насчитывается несколько десятков типов молекулярных марке-

ров для корректной видовой диагностики трудно дифференцированных форм насекомых, изучения генетической структуры вида, оценки внутривидового и межвидового генетического полиморфизма, а также для построения филогенетических систем [1, 2].

В результате многочисленных исследований установлено, что гены митохондриального и ядерного генома могут быть использованы в геносистематических и филогенетических исследованиях насекомых [2]. При работе с гемиптероидными насекомыми, в частности тлями, на сегодняшний день наиболее консервативным среди митохондриальных маркеров оказался ген субъединицы 1 цитохромоксидазы с (COI), поскольку он характеризуется однокопийностью, гаплоидностью, отсутствием интронов, высокой скоростью эволюции и строго линейной передачей наследственной информации в ряду поколений. Для COI характерно последовательное накопление мутаций при наследовании, в связи с чем возможно определить происхождение и степень дифференциации межвидовых вариантов нуклеотидных последовательностей ДНК [3]. Помимо этого, в Международных генетических базах данных NCBI и BOLD хорошо представлены нуклеотидные последовательности COI для большинства видов тлей, поэтому ДНК-последовательности гена COI нашли широкое применение в качестве ДНК-штрихкодовой для идентификации видов и подвидов тлей, а также для изучения внутривидового и межвидового полиморфизма этого таксона насекомых [4–6].

Необходимо подчеркнуть, что для более надежных и корректных результатов целесообразно использование как минимум два маркера при работе с биологическими объектами. В качестве второго маркера, независимого от ге-

на COI, при работе с тлями используют ядерные последовательности ДНК, в частности, ген субъединицы  $\alpha$  фактора элонгации (EF1 $\alpha$ ). Этот ген широко используют в филогенетических исследованиях, поскольку именно ядерные гены обеспечивают более устойчивый филогенетический сигнал на протяженных участках временной шкалы, что чрезвычайно важно на надвидовом уровне. Кроме того, при анализе последовательностей ядерной ДНК можно использовать кодирующие (экзоны) и не кодирующие (интроны) участки, в частности, экзоны используют для проведения филогенетических исследований, идентификации и изучения внутривидового и межвидового полиморфизма, а интроны – оценки уровня внутривидовой и межвидовой генетической вариативности [2, 7].

Поскольку корректная видовая диагностика, установление таксономического статуса «проблемных форм», изучения генетической структуры вида, оценки внутривидового и межвидового генетического полиморфизма с использованием современных молекулярно-генетических методов необходимы для лучшего понимания механизмов, обеспечивающих высокую экологическую пластичность тлей, а такого рода данные являются важным аспектом контроля численности и распространения насеко-

мых-фитофагов, мы получили, расшифровали и депонировали в GenBank нуклеотидные последовательности генов COI и EF1 $\alpha$  для некоторых видов тлей фауны Беларуси из числа вредителей сельскохозяйственных и иных возделываемых культур.

### Материалы и методы

В качестве модельных видов выбраны следующие представители рецессивной фауны Беларуси: *Anoecia corni* (Fabr.), *Aphis euphorbiae* Kalt., *Aphis fabae mordvilkoï* Börn. & Janisch, *Aphis pomi* Deg., *Aphis spiraecola* Patch, *Colopha compressa* Koch, *Drepanosiphum platanoidis* (Schr.), *Glyphina jacutensis* Mordv., *Hyalopterus pruni* (Geoffr.), *Longicaudus trirhodus* (Walk.), *Monaphis antennata* (Kalt.), *Panaphis juglandis* (Gz.), *Periphyllus aceris* (L.), *Schizolachmus pineti* (F.), *Sipha maydis* Pass., *Therioaphis tenera* Aiz., *Trichosiphonaphis corticis* (Aiz.), *Uroleucon hypochoeridis* (F.). Сбор энтомологического материала осуществлен на территории Беларуси в период с 2014 по 2017 гг. по общепринятым стандартным методикам (табл. 1). Помимо собственных использованы материалы, любезно предоставленные д. б. н., профессором С. В. Бугой.

Таблица 1. Афидологический материал, использованный в исследовании

Вид	Шифр	Дата сбора	Растение-хозяин	Место сбора
<i>Anoecia corni</i>	14-377	–	–	–
<i>Aphis euphorbiae</i>	14-552	–	–	–
<i>Aphis fabae mordvilkoï</i>	17	10.08.2017	<i>Solanum nigrum</i> L.	Беларусь, г. Минск
<i>Aphis pomi</i>	17-004	24.07.2017	<i>Malus</i> spp.	Беларусь, г. Минск
<i>Aphis spiraecola</i>	17-005	16.07.2017	<i>Spiraea</i> spp.	Беларусь, г. Минск
<i>Colopha compressa</i>	14-413	24.06.2014	<i>Ulnus laevis</i> Pall.	Беларусь, Витебская обл., Лепельский р-он
<i>Drepanosiphum platanoidis</i>	14-405	26.06.2015	<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	Беларусь, г. Минск
<i>Glyphina jacutensis</i>	14-403	–	–	–
<i>Hyalopterus pruni</i>	14-455	–	–	–
<i>Longicaudus trirhodus</i>	14-409	01.06.2015	<i>Thalictrum lucidum</i> L.	Беларусь, г. Витебск
<i>Monaphis antennata</i>	14-449	21.07.2014	<i>Betula pendula</i> L.	Беларусь, Минская обл., п. Прилуки
<i>Panaphis juglandis</i>	14-725	15.07.2014	<i>Juglans regia</i> L.	Беларусь, г. Минск
<i>Periphyllus aceris</i>	14-464	–	–	–
<i>Schizolachmus pineti</i>	14-469	–	–	–
<i>Sipha maydis</i>	14-379	–	–	–
<i>Therioaphis tenera</i>	14-414	24.06.2015	<i>Caragana arborescens</i> Lam.	Беларусь, г. Минск
<i>Trichosiphonaphis corticis</i>	14-304	–	–	–
<i>Uroleucon hypochoeridis</i>	14-470	24.07.2014	<i>Cichorium intibum</i> L.	Беларусь, Могилевская обл., г. Осиповичи

Примечание. «–» – Информация отсутствует.

Для экстракции ДНК использовали набор DNA Purification Kit (Thermo scientific), адаптировав методику производителя для работы с единичными насекомыми. Целевые фрагменты COI и EF1 $\alpha$  получили с использованием праймеров, представленных в таблице 2.

Реакционная смесь для ПЦР содержала в 25 мкл: 3 мМ dNTP, 1 мМ каждого праймера, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 $\times$ TaqBuffer (10 мМ Tris-HCl, 50 мМ KCl, 0,8 % Nonidet P40), 1U Taq-полимеразы, 0,5 мкг ДНК-матрицы. ПЦР проводили с использованием амплификатора Agilent Technologies Sure Cycler 8800 в режимах: 94 $^{\circ}$ C – 3 мин; 35 циклов по 94 $^{\circ}$ C – 20 с, отжиг праймера – 40 с, 72 $^{\circ}$ C – 1 мин 30 с; 72 $^{\circ}$ C – 5 мин (при работе с праймерами LCO/HCO) и 94 $^{\circ}$ C – 3 мин; 35 циклов по 94 $^{\circ}$ C – 20 с, отжиг праймера – 30 с, 72 $^{\circ}$ C – 90 с; 75 $^{\circ}$ C – 5 мин (при работе с праймерами EF3/EF2).

Электрофорез фрагментов COI и EF1 $\alpha$  проводили в 1,5 % агарозном геле в TAE-буфере и окрашивали 10000 $\times$ ZUBRGreen-1 (Праймтех, Беларусь). Для оценки длин полученных фрагментов использовали маркер молекулярного веса MP1bp DNALadder (Thermo Scientific, Литва). Секвенирование ПЦР-продуктов выполнено компанией MacroGen (Нидерланды) с использованием праймеров LCO и EF3.

### Результаты и обсуждение

Мы оценили представленность нуклеотидных последовательностей генов COI и EF1 $\alpha$  в Международных генетических базах данных для видов тлей, включенных в настоящее исследование. Оказалось, что на сегодняшний день содержатся записи, касающиеся пятнадцати модельных видов тлей, включенных в настоя-

щее исследования, в то время как для трех видов тлей, в частности, *T. corticis*, *C. compressa* и *G. jacutensis* нуклеотидные последовательности не расшифрованы и не депонированы в Международные генетические базы данных (табл. 3).

Учитывая недостаточную представленность в Международных генетических базах данных нуклеотидных последовательностей для тлей, включенных в исследование, было принято решение расшифровать последовательности генов COI и EF1 $\alpha$  для этих видов тлей и депонировать эти последовательности в GenBank.

Нуклеотидные последовательности гена COI получены и депонированы в GenBank для шести видов тлей фауны Беларуси, в частности *A. fabae mordvilkoii* [MG027895], *A. pomi* [MG027896], *A. spiraecola* [MG027897], *C. compressa* [MF377443], *P. juglandis* [MF377444] и *U. hypochoeridis* [MF377446]. Для тлей *C. compressa* нуклеотидная последовательность гена COI была расшифрована впервые (рис. 1).

Нуклеотидные последовательности гена EF1 $\alpha$  получены и депонированы в GenBank для пятнадцати видов тлей фауны Беларуси, в частности, *A. corni* [MG029630], *A. euphorbiae* [MG029635], *C. compressa* [MG020467], *D. platanoidis* [MG029631], *G. jacutensis* [MG020468], *H. pruni* [MG020469], *L. trirhodus* [MG020470], *M. antennata* [MG020471], *P. juglandis* [MG029636], *P. aceris* [MG029632], *S. maydis* [MG029628], *S. pineti* [MG029633], *T. tenera* [MG029634], *T. corticis* [MG029638], и *U. hypochoeridis* [MG029629]. Для двенадцати видов тлей нуклеотидные последовательности гена EF1  $\alpha$  были получены впервые (рис. 2).

Таблица 2. Праймеры, использованные для получения целевых фрагментов ДНК

Ген	Праймер	Последовательность, 5'-3'	T <sub>a</sub> $^{\circ}$ C	Размер получаемого фрагмента, п.н.
COI	HCO2198 LCO1490	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	50	708
EF1 $\alpha$	EF2 EF3	ATGTGAGCAGTGTGGCAATCCAA GAACGTGAACGTGGTATCAC	54	1100

Примечание. T<sub>a</sub> – температура отжига праймера.

Таблица 3. Оценка представленности в Международных базах данных нуклеотидных последовательностей генов COI и EF1 $\alpha$  для тлей, включенных в исследование

Вид тлей	Маркер	Количество последовательностей в базах данных	Страна сбора энтомологических образцов
<i>Anoecia corni</i>	COI	3	Нидерланды
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Aphis euphorbiae</i>	COI	1	Франция
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Aphis fabae mordvilkoii</i>	COI	3	Китай
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Aphis pomi</i>	COI	145	Канада, Франция, Китай, Германия, Финляндия
	EF1 $\alpha$	30	Литва
<i>Aphis spiraeicola</i>	COI	296	Канада, Тунис, Пакистан, Австралия, Индия, Франция, Китай, Греция
	EF1 $\alpha$	18	Литва
<i>Colopha compressa</i>	COI	–	–
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Drepanosiphum platanoidis</i>	COI	213	Канада, Новая Зеландия, Беларусь, Норвегия и США
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Gyphina jacutensis</i>	COI	–	–
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Hyalopterus pruni</i>	COI	61	Канада, Германия, Франция, США, Болгария, Китай, Индия, Пакистан, Греция, Великобритания, Южная Корея и Дания
	EF1 $\alpha$	2	США, Корея
<i>Longicaudus trirhodus</i>	COI	8	Канада, Беларусь
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Monaphis antennata</i>	COI	2	Канада
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Panaphis juglandis</i>	COI	5	Франция, Греция, США и Италия
	EF1 $\alpha$	1	Испания
<i>Periphyllus aceris</i>	COI	2	Беларусь
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Schizolachmus pineti</i>	COI	56	Канада, Норвегия, США, Гондурас
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Sipha maydis</i>	COI	27	США, Франция, Бразилия, Болгария
	EF1 $\alpha$	1	Польша
<i>Therioaphis tenera</i>	COI	29	Беларусь и Канада
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Trichosiphonaphis corticis</i>	COI	–	–
	EF1 $\alpha$	–	–
<i>Uroleucon hypochoeridis</i>	COI	17	Франция, Греция и Италия
	EF1 $\alpha$	–	–

Примечание. «–» – Данные в Международных генетических базах данных отсутствуют.

```

1 attattaaca ataaccaact atataatgta atcgtaacta ttcagcctt tattataatt
61 tttttataa caataccaat tgtaattgga ggatttgga actgattaat tcccataata
121 ataggatgcc ctgatatac attcccacga ttaataata tcagattctg actctacc
181 ccttccttaa taataataat ttgtagatic attattaata acggaacagg aacaggatga
241 actatttacc cccctttacc aaataatatt gcccaataa atatttcagt tgatttaaca
301 atttttacc tteatttagc tggaatttca tcaattttag gagctattaa tttatttgt
361 actatcataa atataatacc taacaattta aaactaaacc aaattccgct atttcttga
421 tccattttaa ttacagcaat acttctaatt ctctcgttac ctgtttttagc aggagcaatc
481 acaatattat taactgatcg aaatttaaat acttcatttt ttgatccatc aggtggagga
541 gatccaattt tataccaaca tttattttga ttttttgte acc
    
```

Рис. 1. Частичная последовательность гена COI тлей *Colopha compressa*.

A	B
<p>1 ggtaccggtg aattfgaagc tggatctca aagaacggac aaaccctgta acacgctctt 61 cttgcttca cattgggtgt gaaacaattg atcgtgtgtg ttaacaaaat ggactcaact 121 gaaccaccat tcagcagfga ccgfctatgag gaaatcaaga aagaagtctc ctacacatc 181 aagaagatcg gttacaatcc agctgcccgtt gcactctgac caatctcagg atggcacggt 241 gacaacatgt tggaaacatc aaccaacatg ccatgggtca agggatggaa agttgaacgt 301 aaagacggta atgctgaagg taaatgcttg atgaaagctt tggatgctat ccttccacca 361 tcacgtccaa ccgacaaga cgtgctgttg ccaatgcaag atgtttaca gattgggtgtg 421 atgggaacag tggcagttgg tctgtgtgaa accggtgtct tgaaccagg t</p>	<p>1 actattatg atgcacctgg acacagagat tcatthaaga acatgatcac tggctacctt 61 cagcctgatt gctctgactt tattgtgtct gctggactg gagaattcga agctggattt 121 tctaagaatg gacaaccggc tgaacatgct ctattggctt tcactctggg agtcaaaaca 181 ttgattgttg gtgtaaaaa gatggactcc actgaaccac catacagcga agtatgtttc 241 ccttactact aatagataag ttattataat tatttattat aatattaca ttttgcaggc 301 tctgtttgaa gaaatcaaga aggaagttag cagttacatc aagaaaattg gttacaacc 361 agctgctgtt gctttgtac ccatctctgg atggatgga gataacatgt tggaaagtgc 421 tgaaaaaatg ccatggttca aaggatggaa tgttgaacgt aaagaaggaa aagctgatgg 481 taaatgtttg atggaagctt tagatgctat cctgcccact agtgcgccca ctgacaaggc 541 acttgcctc ccactccagg atgtctaca</p>
B	Г
<p>1 actatgttac catcattgac gcaaccggtc acagagattt cattnaaanac ttaatgacag 61 gtacctcaca agctgattgt gctgtgctta ttgtagctgc cggctactgga gaattcgaag 121 ctggtatttc caagaatgga caaactagag agcagcctct attggccttc acccttggtg 181 tgaacaatc gattgttggc gtgaacaaa tggattccac tgaaccacca tacagtgaag 241 ctcgtttcga agaatacaag aaagaagtca gcagttacat caagaagatt ggtttacaac 301 cagctctctg tgccttctgg cccatctccc gatggaaagg agacaacatg ttggaagttt 361 ccgagaaaat gccatggttc aaggatggg cgttgaacg taaagaagga aaggctgatg 421 gtaaatgttt gattgaagct ttagatgcta tcttcccacc tagtgcacca actgacaagg 481 cccctcagct cccactcca</p>	<p>1 gccaaagtact acgtccacct cattgatgca cctggacaca gagatttcat aagaagcatg 61 atcacgggta cctcccgaag tgattgtgct gtaactattg ttgctgccgg tactggagaa 121 ttcgaagctg gttattccaa gaatggacaa acccgtggaac acgctctgtt ggtcttcat 181 ctgggttga aacaattgat tgttgggtg aacaagatgg atfecactga accctcgctac 241 agcgaagtat gattctaatt tactatatt tatttgatta ttattactaa ctgtgtgta 301 cataatttta gctcgttct gaagaaatca agaaggatg cagcagttac atcaaaaaa 361 ttggttaca tccagctgcc gttgcttcc taccaatctc tggatggaac ggagacaaca 421 tgttgaaggt ttccgaaaaa atgcttggg tcaagggatg gaattgtgaa cgtaaagaag 481 gaaaggctga cgttaaatgt ttgattgaag ctttggatgc taccctcca ctagtccgc 541 caactgaca ggctctccgt ctcccactcc aggtacaita caactaaag ttactattga 601 cttattttg ctaatattt ttctgaatt ttgttaggac gtttcaaaa ttgagagtat 661 tggaaacgtc ccagtgggcc gttgaggagc tgggttttg aaaccaggta ctgttgggt 721 ttgcagccc gccaac</p>
Д	E
<p>1 tcaatgacgc acctggccc agagatttca tcaagcacat gattactggt acctcccgaag 61 ctgattgtgc tgaacttatt gttgctgctg gtaactggaga atcgaagcc ggtatttcca 121 agaaccgtgca aactcgtgaa cacgcttatt tggctttcac ccttgggtga aaacaattga 181 ttgttggcgt gaacaagatg gactctactg aaccaccata cagtgaagtc cgtttcgaag 241 aaatcaagaa agaagtcagc agttatatta agaagattgg ttacaacca gctgctgttg 301 ctttctgacc catctctgga tggaaaggag acaacatggt ggaagttcc gacaaaatgg 361 gatggttcaa gggatggaat gttgaacgta aggaaggaaa ggctgacggt aaatgtttga 421 ttgaagcttt agatgctatc ctcccccta gtcgcccaac tgaagaaggt cctcgtctcc 481 cacttccaga tgtttacaaa atggaggta tggaaacagt cccagtcggt cgtgttgaaa 541 ctgctctgtt gaaaccgggt atggtgttg tcttcgacc tggcaacatt accactgaag 601 ttaagtcctt tgaatcgac cacgaagctt tgggtgaage tgttcccgga gacaatgtg 661 gtttcaactg aaagaacgtt tcaagtaagg aattgagacg tggattgtt gctggagata 721 ccaagaacaa cccaccaag ggagctgctg acttcactgc ccaggt</p>	<p>1 tggcagatc tatgtacca tcaatgacgc acctggcac agagatttca tcaagaacat 61 gatcactggt actcccagg ccgattgtgc tgtgctcacc gttgctgct gtaactggaga 121 atcgaagct ggtatttca aaaaaggaca aactcgtgaa cacgcttatt tggctttcac 181 ccttgggtga aaacaattga ttgttgggt gaacaagatg gattctactg aaccaccitca 241 cagcgaagc cgttccgaag aaatcaagaa ggaagtcagc agttacatca agaaaatcgg 301 ttacaacca gctgctgttg ctttctgccc catcttggga tggaaaggag acaacatgt 361 ggaagttcc gaaaagatg catggttcaa gggatgggct gttgaacgta aagaaggaaa 421 ggcagatggt aaatgttga ttgaagcttt agatgctatc ctgccacca gtcgcccaac 481 tgaacaaggt cctcgtctcc cactccagga tcttcaaaa atggaggta tggaaacagt 541 cccagtaggt cgtgtggaaa ctgctctttt gaaaccaggt atggtgtgg ttttcgacc 601 agcaaacatc accactgaag ttaaatctgt agagatgca cacaagctt tagtagaagc 661 gttcccggga gacaatggt gtttcaactg aaagaacgtt tcaagtaagg aattgagacg 721 tggttcgtt gctggagaca caaagaacaa cccaccaag ggctgctgctg atttcaactg 781 ccaagt</p>
Ё	Ж
<p>1 acaatgttac tattattgac gcaactggac acagagattt cattnaaac ttgatcactg 61 gtacctccca agccgattgt gctgtactta ttgtgctgc tggactgga gaatttgaag 121 ctggtatttc caaaaatgga caaactcgtg aacatgctct attggccttc acccttggtg 181 ttaacaatc aattgttgg tgaacaaaa tggactccac cgaacctcca tacagtgaag 241 ttctgttga agaatacaaa aaagaagtca gcagttacat caagaaatg gtttataacc 301 cagctctctg tgccttctg cccatctctg gatggaatgg agataacatg ttggaagttt 361 ctgaaaaaat gccatggttc aaaggatgga atgttgaacg taaagaagga aaagccgatg 421 gtaaatgttt gattgaagct ttagatgcta tcttcccacc cagctgctct actgacaag 481 ctctctctc ccaactcag gactttaca agataggagg tatttgaaca gttccagtag 541 gctggttga aactgctct ttgaaaccag gtaggttgt ggttttggc ccagctaca 601 tcaactactga agttaaagtc gttgagatgc accacgaagc tctgactgaa gctgttctg 661 gagacaatgt tggtttcaa gttagaatg ttacagttaa ggaattgaga cgtgttttg 721 tagctggaga caccaagaac aatccactca aaggtgctgc tgaatcact cccaggt</p>	<p>1 actactgtac catcattgat gcaactggct acagagattt catcaagaac atgatcactg 61 gtacctccca ggctgattgt gctgtactta ttgtgctgc tggactgga gaatttgaag 121 ctggtatttc caagaatggt caaacccgtg aacagcctct tttagcttcc acccttggtg 181 tgaacaagct gatcgttgg gtgaacaaga tggactctac tgaaccacca tacagcggag 241 tagtttaatt attatttacc ttctgactc ttatattat ttactattat tggattgtt 301 attttagact cgttccgagg aaatcaagaa agaagtggc agttacatca agaagattgg 361 ttacaacca gctgctgttg ctttctgccc catcttggga tggaaaggag acaacatgt 421 ggaagttgct gaaaaaatg catggttcaa gggatggat gttgaacgta aagaaggaaa 481 ggctgatggt aaatgttga ttgaagcttt agatgctatc ctgccacca gtcgcccaac 541 agacaagct ctcgtcttc cactccaggt acatacctt ttattataa atataatca 601 ctaattgtt gttcttata tcttctct atacaatac ttattctaa ttgtgtttg 661 aattcttaa taggacgtat acaaaattg aggtattgga acagtcccag ttgctgctg 721 tgaaccgggt ctttgaaac caggtatggt tgtgtattt gctcctgcta acatcaccac 781 tgaagttag tctgtggaga tgcaccacga agctctgta gaagctgttc ccggagacaa 841 tttgttttt aatgtgaaga agcccccag ca</p>
З	И
<p>1 tacgtacca tcaatgacgc acctggcac agagatttca tcaagaacat gatcagactg 61 acctcaccg ccgattgtgc tgaacttatt gttgctgccc gtaactggaga atcgaagct 121 gttatttcca aaaaatgaca aaccctgtaa cacgcttctt tggctttcac ccttgggtg 181 aaacaatgga ttgttgggt gaacaaaatg gactctactg aaccaccata cagtgaagta 241 ttttttaat ttatattcat taaaatgga atgagaagta ttaattcata tattattat 301 tttagaccgc ttgcaagaa attaagaag aagtacagcag ttattataag aaaaattggt 361 acaaccagc cgtgtgtct ttgtcccaa tctctggatg gaacggagat aacatgttgg 421 aagttccga aaaaatgcca tggttcaagg gatggcagt tgaactgaaa gaaggaaaag 481 ctgatgtgaa atgtttaat gaagctttag atgcaatct gccaccagt cgtccaactg 541 acaagctct cgttctca cttcaggtac atcaattt ctgttactac ttgataata 601 ttttgatta tatgtattt tatatttca tcaagatgt atacaagata gggagattg 661 gaacagccc tgttggctg gttgaaactg gttattgaa acccggtatg gttgtgtat 721 tctgctctg taactacac actgaagta agtccgttga gatgccacc gaagctttg</p>	<p>1 gtaccttcca ggccgattgt gctgtacttc cttggaagg cggactgga gaattcgaag 61 ctggtatttc caagaatggt caaacccgtg aacagcctct attggcttc acccttggtg 121 tgaacaatc gattgttgg gtgaacaaga tggactctac tgaaccacca tacagcggag 181 taagtattc ttattaaact acttttagt gtttactg aacattaaat taacttaca 241 aatttaca ctcgtttga agaaatgaa aaggaaatga gcagttacat caagaataat 301 gtttacaacc ctgacgtctg tgccttctc ccatctctg gatggaatgg agacaacatg 361 ttggaagttt ctgacaaaa gccatggttc aaggatgga atgttgaag taaagaaggt 421 aaagttgatg gtaaatgttt gattgaagct ttagatgcta tcttcccacc cagccgccc 481 actgacaag cttctctct ccccc</p>

	К	Л
I aatactatgt caccatcatt gacgcacctg gacacagaga ttcatcaaa aacatgatca	1 actatgtcac catcattgat gcaacctggc acagagattt catcaaacac atgactcactg	
61 ctggtacttc ccaggccgat tgtgctgtgc ttattgtcgc tgcctgactt ggagatctg	61 gtacttccca ggctgattgt gctgtgctta ttgctcgtc tggtactgga gaattcgaag	
121 aagctggat ttctaagaat ggacaaactc gtaaacacgc ttattggct tcaccttgg	121 ctggtatttc taagaatgga caaacccctg aacacgctct atggcttcc acctgggtg	
181 gtgtaaaaca attgattgtc ggtgtgaaca agatggatc tactgaacca ccatcacgtg	181 taaacaatt gatcgttggg gtaacaaga tggactctac tgaaccacca tacagcgaaa	
241 aagtatgttt taaaatgct taattattt caaatttat gttgtaaac aaaaataa	241 gccgttttga agaaatcaag aaggaagica gcagtacat caagaaaact ggttacaacc	
301 aataatttt atagagccgt ttgaagaaa tcaagaaga agtcagcagt tacatcaaga	301 cagctgctgt tgccttctg cccatctct gatggaatgg agacaacatg ttggaagttt	
361 aaatgggta caaccagct cagattgctt ttgtcccat ctctggatgg aatggagaca	361 ccgaaaagat gctgtgttc aagggatggg ccgttgaacg taaagaagga aaggctgatg	
421 acatgttga agttccgaa aagatgcat ggttcaaagg atggactgtt gaacgtaaa	421 gtaaatggtt gattgaagct tttagcgtca tctgcccacc cagctgtcca actgacaagg	
481 aaggaaaggc tgatgtaaa tgtttgattg aagctttaga cgctatcctg ccacctagtc	481 ctctacgtct tccactccag gatgtctaca agataggagg tattggaaca gtcccagtag	
541 gcccaactga caaggctctt cgtctccac tccaggtata tatcatatat attaaatg	541 gtcgtgtaga aactgctct ttgaaacctg gtatgggtgt cgttttgcga ccagcaaaaca	
601 ttattgtac acatttaaat ttatggtat ttataggatg tctacaaaat tggaggtatt	601 taacctga agttaagct gttgagatgc accacgaagc ttaacagaa gcttatccag	
661 ggaacagtc cagtaggtc tgtgaaact ggtctattga aaccaggcat ggtgtggtt	661 gagacaatg tggttcaac gtaagaacg tttagcgtca ggaattgaga cgtgtttcg	
721 ttccacctg caaacataac cactgaagta aagccctgg aatgcacca cgaggctttg	721 ttgctggaga tacaagaac aaccaccaca aaggtgctgc tgatttact gccagggta	
781 gtcgaagctg ttccggaga caatgtggt ttcaacgtaa agaatttgc agtaaggaa	781 ttgtattgaa ccaccgggt caaattcca atggatatac tccagtgtg at	
841 ttaagacgtg gttttgtc tggagacaca aagaacaacc caccagaagg cgcagctgat		
901 ttactgcc aggtaatt		

Рис. 2. Частичные последовательности гена EF1 $\alpha$  тлей фауны Беларуси: А – *Anoecia corni*, Б – *Aphis euphorbiae*, В – *Colopha compressa*, Г – *Drepanosiphum platanoidis*, Д – *Gyphina jacutensis*, Е – *Longicaudus trirhodus*, Ё – *Monaphis antennata*, Ж – *Periphyllus aceris*, З – *Schizolachmus pineti*, И – *Therioaphis tenera*, К – *Trichosiphonaphis corticis*, Л – *Uroleucon hypochoeridis*.

### Выводы

Таким образом, в рамках настоящего исследования были получены нуклеотидные последовательности генов COI и EF1 $\alpha$  восемнадцати видов тлей рецентной фауны Беларуси. Нуклеотидные последовательности COI и EF1 $\alpha$  этих видов тлей депонированы в GenBank и находятся в открытом доступе, в связи с чем могут быть использованы для идентификации видов,

изучения внутривидового и межвидового генетического полиморфизма и филогенетического анализа. Для пятнадцати видов тлей нуклеотидные последовательности были получены впервые.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № Б18МВ-008).*

### References

1. Cruickshank R.H. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Systematic & Applied Acarology*. 2002. Vol. 7, No. 1. P. 3–14. doi: 157.140.2.10/hosted\_sites/acarology/saas/saa/pdf07/003-014.
2. Varabyova M.M. Morphological and genetic variability of aphid species (Sternorrhyncha: Aphidoidea) from different ecological and taxonomy groups: avtoref. dys. ... kand. biol. nauk. Minsk, 2018. 28 p. [in Belarus] / Воробьева М.М. Морфологическая изменчивость и генетическая вариабельность видов тлей (Sternorrhyncha:Aphidoidea), относящихся к разным эколого-систематическим группам: автореферат дис. ... канд. биол. наук. Минск, 2018. 28 с.
3. Simon C., Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H., Flook P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved PCR primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1994. Vol. 87, No. 6. P. 651–701. doi: hydrodictyon.eeb.uconn.edu/projects/cicada/resources/reprints/Simon\_ea\_1994.
4. Aravind K., Ravikanth G., Uma Shaanker R., Chandrashekar K., V. Kumar A.R., Ganeshiah K.N. DNA barcoding : An exercise in futility or utility? *Current Science*. 2007. Vol. 92, No. 9. P. 1213–1216. doi: jstor.org/stable/24097883.
5. GenBank Overview. USA. 2017. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (last accessed: 23.02.2019).
6. BOLD Systems v4. Ontario. 2017. URL: [http://www.barcodinglife.org/index.php/TaxBrowser\\_Home](http://www.barcodinglife.org/index.php/TaxBrowser_Home) (last accessed: 23.02.2019).
7. Cho S., Mitchell A., Regier J.C., Mitter C., Poole R.W., Friedlander T.P., Zhao S. A highly conserved nuclear gene for low-level phylogenetics : Elongation factor-1a recovers morphology based tree for heliothine moths. *Mol. Biol. Evol.* 1995. Vol. 12, No. 4. P. 650–656. doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040244>.

VARABYOVA M. M.<sup>1</sup>, VORONOVA N. V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mozyr State Pedagogical University named after I. P. Shamyakin, Belarus, 247760, Mozyr, Studencheskaya str., 28, e-mail: masch.89@mail.ru

<sup>2</sup> Belarusian State University, Belarus, 220045, Minsk, Kurchatova str., 10, e-mail: nvoronova@bsu.by

### SEQUENCING OF CYTOCHROME C OXIDASE SUBUNIT I (COI) GENE AND ELONGATION FACTOR 1-ALPHA (EF1A) GENE IN APHIDS OF THE BELARUSSIAN FAUNA

**Aim.** Cytochrome c oxidase subunit I gene (COI) and elongation factor 1-alpha gene (EF1 $\alpha$ ) are frequently used for a correct species diagnostics of aphids forms that are correct diagnosis of the species, studying of species genetic structure, assessment of intraspecies and interspecies genetic polymorphism assessment and construction of phylogenetic

systems. **Methods.** Aphids samples were collected in Belarus. Genetic sequences of COI and EF1 $\alpha$  genes were sequenced using primers LCO and EF3. **Results.** Sequences of COI and EF1 $\alpha$  genes of 18 aphid species of Belarussian fauna including 6 aphid species of COI gene (*Aphis fabae mordvilko*i Börn. & Janisch., *Aphis pomi* Deg., *Aphis spiraeicola* Patch, *Colopha compressa* Koch, *Panaphis juglandis* (Gz.) и *Uroleucon hypochoeridis* (F.)) and 15 species of EF1 $\alpha$  gene (*Anoecia corni* (Fabr.), *Aphis euphorbiae* Kalt., *C. compressa*, *Drepanosiphum platanoidis* (Schr.), *Gyphina jacutensis* Mordv., *Hyalopterus pruni* (Geoffr.), *Longicaudus trirhodus* (Walk.), *Monaphis antennata* (Kalt.), *P. juglandis*, *Periphyllus aceris* (L.), *Schizolachmus pineti* (F.), *Sipha maydis* Pass., *Therioaphis tenera* Aiz., *Trichosiphonaphis corticis* (Aiz.), *U. hypochoeridis*) were obtained. **Conclusions.** COI gene and EF1 $\alpha$  gene sequences were decoded and deposited to GenBank.

**Keywords:** aphids, COI, EF1 $\alpha$ , nucleotide sequence, GenBank, BOLD.

## ВОРОБЬОВА М. М.<sup>1</sup>, ВОРОНОВА Н. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> УО «Мозирський державний педагогічний університет імені І. П. Шам'якіна», Білорусь, 247760, м. Мозир, вул. Студентська, 28, e-mail: masch.89@mail.ru

<sup>2</sup> Білоруський Державний Університет, Білорусь, 220045, м. Мінськ, вул. Незалежності, 10, e-mail: nvoronova@bsu.by

## РОЗШИФРУВАННЯ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ГЕНА СУБОДИНИЦІ 1 ЦИТОХРОМОКСИДАЗИ С (COI) І ГЕНА СУБОДИНИЦІ $\alpha$ ФАКТОРА ЕЛОНГАЦІЇ (EF1 $\alpha$ ) РЯДУ ВИДІВ ПОПЕЛИЦЬ ФАУНИ БІЛОРУСІ

**Мета.** Ген субодиниці 1 цитохромоксидази с (COI) і ген субодиниці  $\alpha$  фактора елонгації (EF1 $\alpha$ ) застосовують для коректної видової діагностики складно диференційованих форм попелиць, вивчення генетичної структури виду, оцінки внутрішньовидового і міжвидового генетичного поліморфізму, а також для побудови філогенетичних систем. **Методи.** Зразки попелиць зібрано на території Білорусі. Послідовності генів COI і EF1 $\alpha$  секвеновано з використанням праймерів LCO і EF3. **Результати.** Отримано нуклеотидні послідовності генів COI і EF1 $\alpha$  вісімнадцяти видів попелиць рецентної фауни Білорусі, зокрема, гена COI шести видів попелиць (*Aphis fabae mordvilko*i Börn. & Janisch., *Aphis pomi* Deg., *Aphis spiraeicola* Patch, *Colopha compressa* Koch, *Panaphis juglandis* (Gz.) и *Uroleucon hypochoeridis* (F.)) та гена EF1 $\alpha$  п'ятнадцяти видів попелиць (*Anoecia corni* (Fabr.), *Aphis euphorbiae* Kalt., *C. compressa*, *Drepanosiphum platanoidis* (Schr.), *Gyphina jacutensis* Mordv., *Hyalopterus pruni* (Geoffr.), *Longicaudus trirhodus* (Walk.), *Monaphis antennata* (Kalt.), *P. juglandis*, *Periphyllus aceris* (L.), *Schizolachmus pineti* (F.), *Sipha maydis* Pass., *Therioaphis tenera* Aiz., *Trichosiphonaphis corticis* (Aiz.), *U. hypochoeridis*). **Висновки.** Послідовності генів COI і EF1 $\alpha$  попелиць фауни Білорусі розшифровані і депонують в GenBank.

**Ключові слова:** попелиці, COI, EF1 $\alpha$ , нуклеотидні послідовності, GenBank, BOLD.