

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра зоологии

Аннотация к дипломной работе

**«Общая генетическая изменчивость гена EF1a у тлей
(Hemiptera: Aphidoidea).**

Построение на его основе определительных ПЦР-ПДРФ таблиц»

Головенчик Виктория Ивановна

Научный руководитель:

к.б.н., доцент кафедры зоологии

Н.В. Воронова

Минск, 2016

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 45 с., 13 рис., 8 табл., 33 источника.

Ключевые слова: внутривидовая вариабельность, фактор элонгации 1 альфа, идентификация видов, рестрикционные карты, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов.

Объектом исследования является последовательность гена EF1a тлей.

Целью работы является изучение общей генетической вариабельности гена. И построение на его основе определительных ПЦР-ПДРФ таблиц для идентификации труднодифференцируемых насекомых-фитофагов.

В ходе работы ДНК выделялась из единичных особей. Для проведения ПЦР использовались специфические праймеры для амплификации ядерного гена фактора элонгации 1 субъединицы альфа (EF1a). Статистический анализ последовательностей, расчет генетических дистанций и установление общего уровня вариабельности генов проводился при помощи компьютерных программ MEGA и BioEdit. Поиск сайтов рестрикции осуществлялся при помощи программы CodonCode Aligner. Построение и анализ рестрикционных карт осуществлялся при помощи визуального анализа и графических программ Adobe Photoshop и Paint.

В результате работы было установлено, что интрон-экзонная структура гена у всех изученных видов не отклоняется от схемы, известной для *A. pisum*. Вариабельность структуры гена ограничена изменением длины интронов. Также показано, что нуклеотидная последовательность белок-кодирующей части гена у тлей является консервативной, а последовательности интронов 2 и 3 обнаруживают высокую степень нуклеотидного сходства. Общая внутривидовая вариабельность как нуклеотидной, так и аминокислотной последовательности EF1a у тлей является незначительной. Нуклеотидные последовательности отдельных участков гена EF1a обладали высоким (до 100 %) сходством. Большинство выявленных однонуклеотидных замен локализовались в экзонах, в то время как интроны, напротив, демонстрировали низкую нуклеотидную вариабельность. Тем не менее, общий уровень внутривидовой вариабельности EF1a позволяет рекомендовать этот ген как молекулярно-генетический маркер видовой диагностики тлей. В результате работы были построены идентификационные ПЦР-ПДРФ ключи, разработанные на основе последовательности гена EF1a, для идентификации 26 видов тлей фауны Беларуси. Перечень видов включает вредителей сельскохозяйственных и других культивируемых растений из родов *Aphis*, *Acyrtosiphon*, *Macrosiphum*, *Mysus*, *Megoura*, *Rhopalosiphum*, *Schizaphis*.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 45 с., 13 мал., 8 табл., 33 крыніцы.

Ключавыя словы: унутрывідавая варыябельнасць, фактар элангацыі 1 альфа, ідэнтыфікацыя відаў, рэстрыкцыйныя карты, палімарфізм длін рэстрыкцыйных фрагментаў.

Аб'ектам даследавання з'яўляецца паслядоўнасць гена EF1a тлей.

Мэтай працы з'яўляецца вывучэнне агульнай генетычнай варыябельнасці гена. І пабудова на яго аснове вызначальных ПЦР-ПДРФ табліц для ідэнтыфікацыі цяжкадыферэнцыруемых казуркоў-фітафагаў.

У ходзе работы ДНК вылучалася з адзінкавых асобін. Для правядзення ПЦР выкарыстоўваліся спецыфічныя праймеры для ампліфікацыі ядзернага гена фактару элангацыі 1 субадзінкі альфа (EF1a). Статыстычны аналіз паслядоўнасцяў, разлік генетычных дыстанцый і ўсталяванне агульнага ўзроўню варыябельнасці генаў праводзіўся пры дапамозе кампутарных праграм MEGA і BioEdit. Пошук сайтаў рэстрыкцыі ажыццяўляўся пры дапамозе праграмы CodonCode Aligner. Пабудова і аналіз рэстрыкцыйных карт ажыццяўляўся пры дапамозе візуальнага аналізу і графічных праграм Adobe Photoshop і Paint.

У выніку працы было ўсталявана, што інтрон-экзонная структура гена ва ўсіх вывучаных выглядаў не адхіляецца ад схемы, вядомай для *A. pisum*. Варыябельнасць структуры гена абмежавана зменай даўжыні інтронаў. Таксама паказана, што нуклеатыдная паслядоўнасць белкова-кадавальнай часткі гена ў тлей з'яўляецца кансерватыўнай, а паслядоўнасці інтронаў 2 і 3 выяўляюць высокую ступень нуклеатыднага падабенства. Агульная ўнутрывідавая варыябельнасць як нуклеатыднай, так і амінакіслотнай паслядоўнасці EF1a у тлей з'яўляецца нязначнай. Нуклеатыдныя паслядоўнасці асобных пляцовак гена EF1a валодалі высокім (да 100 %) падабенствам. Большасць выяўленых аднануклеатыдных замен лакалізаваліся ў экзонах, тым часам як інтроны, наадварот, дэманстравалі нізкую нуклеатыдную варыябельнасць. І ўсё ж, агульны ровень унутрывідавай варыябельнасці EF1a дазваляе рэкамендаваць гэты ген як малекулярна-генетычны маркер краявіднай дыягностыкі тлей. У выніку працы былі пабудаваны ідэнтыфікацыйныя ПЛР-ПДРФ ключы, распрацаваныя на грунце паслядоўнасці гена EF1a, для ідэнтыфікацыі 26 выглядаў тлей фаўны Беларусі. Пералік выглядаў улучае шкоднікаў сельскагаспадарчых і іншых раслін якія культывуюцца з родаў *Aphis*, *Acyrtosiphon*, *Macrosiphum*, *Mysus*, *Megoura*, *Rhopalosiphum*, *Schizaphis*.

RESUME

Graduate work 45 p., 13 draw., 8 tabl., 33 resourse.

Keywords: intraspecific variability, elongation factor 1 alpha, species identification, restriction map, restriction fragment length polymorphism.

Is aphids gene sequence EF1a the object of research.

The main objective of this project was to study the general genetic variability of genes and to present these findings in the determinative PCR-RFLP tables for the identification of insect herbivores, which are difficult to differentiate using a basic there.

During the experiment, DNA was isolated from the source. Specific primers of the amplification karyogen elongation factor 1 alpha subunit were used for PCR and the statistical analysis of the sequences. The calculation of genetic distances and general variability of genes was carried out by the MEGA and BioEdit programs. The Search of the restriction sites was done with the Codon Code Aligner program. AdobePhotoshop and Paint were used to provide a visual representation of the restriction cards analysis.

As a results of work, we found out that all studied sequences had the same intron-exon structure as the *A. pisum* did. The structure of gene varies only in the length of introns. It is also showed that nucleotide sequences of protein-coding part of gene were fairly conservative, but intron II and III revealed a high level of nucleotide similarity. General intraspecific variability of the both nucleotide and amino acid sequences EF1a of the aphids is not high. The nucleotide sequences of the separated areas of the EF1a gene have had a high affinity (over 100 per cent). The most of the identified single nucleotide substitutions have localised in the exons, while the introns, opposite, demonstrated the low frequency of the replacement. Nevertheless, the general level of the intraspecific variability EF1a allows us to recommend it as a molecular genetic marker of the species diagnosis of the aphids. As a results of work, offered PCR-RFLP keys based on the gene sequence EF1a were developed to identify 26 aphid species of Belarusian fauna. The species list includes some pests of cultivated plants from the genera *Aphis*, *Acyrtosiphon*, *Macrosiphum*, *Mysus*, *Megoura*, *Rhopalosiphum*, *Schizaphis*.