

## **СЕКЦИЯ 5. СОХРАНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ**

---

УДК 575.17: 599.735.3: 639.1.03 (476)

**А.А. ВОЛНИСТЫЙ**

г. Минск; ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»

### **РАЗРАБОТКА ПАНЕЛИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ МУЛЬТИПЛЕКСНОГО ГЕНОТИПИРОВАНИЯ БЕЛОРУССКИХ ПОПУЛЯЦИЙ БЛАГОРОДНОГО ОЛЕНЯ (*CERVUS ELAPHUS* L., 1758)**

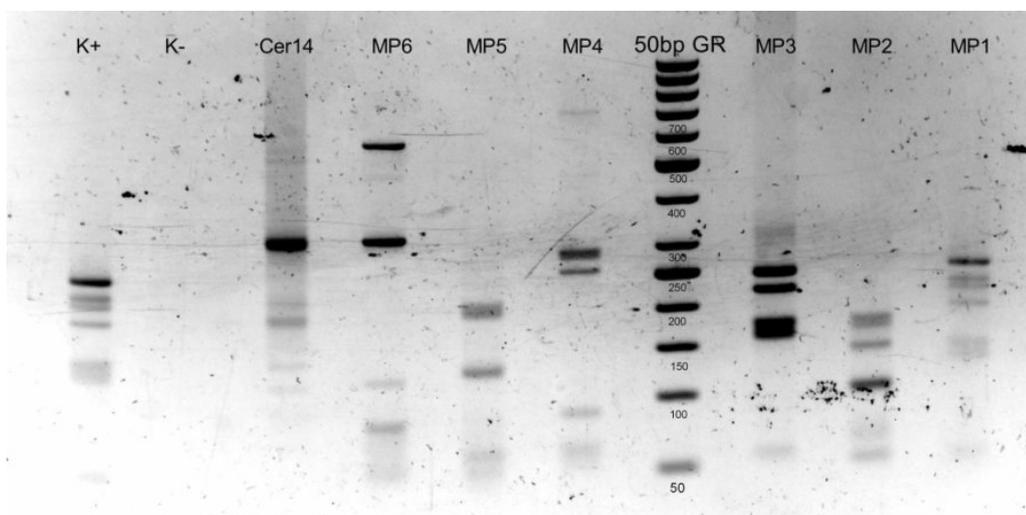
**Введение.** Проблема сохранения и менеджмента многочисленных популяций благородного оленя *Cervus elaphus* на территории Беларуси как ценного ресурсного вида в условиях нерегулируемых природных зон, республиканских ООПТ и частных оленеводческих хозяйств поднимает вопрос необходимости учёта генетических характеристик популяций. Генотипирование популяций оленя благородного различных условий содержания играет значительную роль в их менеджменте, – генетическое разнообразие в популяции является одной из ключевых характеристик, определяющих её стабильность [1, с. 484]. Популяционное генотипирование позволяет отслеживать влияние антропогенных факторов на целостность и стабильность диких популяций, выявляя факты их фрагментации ввиду антропогенного вмешательства [2, с. 176]; своевременно обнаруживать необходимость проведения мероприятий менеджмента для обеспечения стабильного роста популяций, находящихся под угрозой вырождения [3–5]; достоверно подтверждать популяционную и породную принадлежность экспортируемых и импортируемых особей; подтверждать случаи незаконного отстрела; устанавливать генетические отношения между популяциями; отслеживать динамику популяционной демографии [6, 7].

Для эффективного и доступного генотипирования белорусских популяций благородного оленя была создана панель микросателлитных локусов. Микросателлиты были выбраны как предпочтительный тип маркера ввиду их зарекомендованной надёжности в качестве разновариабельных нейтральных аутосомных маркеров, достаточно достоверно коррелирующих с характеристиками разнообразия аллелей функциональных аутосомных генов [7, 8], каковыми они были продемонстрированы в сотнях исследований генетических характеристик

териофауны, в том числе более чем в 60 исследованиях популяций благородного оленя за последние 20 лет.

Для панели подбирались микросателлитные локусы, обладающие возможностью сравнения результатов по генетическим характеристикам популяций с результатами опубликованных мировых исследований. При разработке панели учитывались и минимизировались риски, потенциально вносимые в результаты некорректным выбором локусов, такие как завышенные показатели ввиду чрезмерной доли высоковариабельных локусов в панели [9, 10]. Ключевую роль для минимизации играла возможность одновременного анализа нескольких локусов одной реакцией типа «мультиплекс-ПЦР» при использовании минимального разнообразия флуоресцентных меток.

Материалы и методы. Для испытания панели использовались ДНК-праймеры изготовления компании «Праймтех» (Беларусь) с очисткой на ОРС-картридже и ПААГ-ЭФ. Прямые праймеры использовали 5'-терминальную флуоресцентную метку Ву5. Аллели микросателлитных локусов определялись посредством мультиплекс-тачдаун-ПЦР (шаг 0,5 °С) со специфическими праймерами для микросателлитных локусов при соответствующей  $T_a$  на амплификаторе Bio-Rad C1000. Результаты подтверждались посредством АГ-ЭФ в 1,5 % геле (рисунок) и последующего автоматического ПААГ-ЭФ на генаналитической системе Beckman Coulter GeXP в двукратной повторности начиная с шага амплификации.



«MP1-6» – мультиплекс-смеси. К+/К- – контрольные реакции;  
«50bp GR» – маркер молекулярного веса «GeneRuler 50bp» (Thermo Scientific)  
Рисунок – электрофореграмма продуктов ПЦР-амплификации микросателлитных локусов *Cervus elaphus*, указанных в таблице 1

**Результаты и их обсуждение.** Разработанная панель отображена в таблице.

Таблица – Микросателлитная панель для *Cervus elaphus*

Локус	Диапазон п.о.	N алл.	Ta, C <sup>0</sup>	Источник	N иссл.	Локус	Диапазон п.о.	N алл.	Ta, C <sup>0</sup>	Источник	N иссл.
Мультиплекс I (57 C <sup>0</sup> )						Мультиплекс IV (49 C <sup>0</sup> )					
Haut14	103–139	6	50	Thieven et al. 1995	8	TGLA57	70-100	2	46	Slate et al 2000	1
T193	177–205	6-18	49	Jones et al. 2002	2	TGLA126	209–223	8	49	Bishop et al.1994	1
BM1818	235–265	9-16	50	Bishop et al.1994	9	T530	262–286	4	49	Jones et al. 2002	2
Мультиплекс II (59 C <sup>0</sup> )						Мультиплекс V (59 C <sup>0</sup> )					
MM12	81–101	4-10	50	Mommens et al. 1994	7	ETH152	199	7	58	Steffen et al. 1993	1
T156	134–234	9	51	Jones et al. 2002	1	IOBT965	105-123	7-10	61	Anastassiadis et al 1996	5
Мультиплекс III (57 C <sup>0</sup> )						Мультиплекс VI (55 C <sup>0</sup> )					
T268	223-247	4	48	Jones et al. 2002	1	INRA35	107–122	7	50	Vaiman et al. 1994	6
BM4208	144–172	13	51	Bishop et al.1994	6	T26	312–392	15	49	Jones et al. 2002	3
Вне мультиплекса (48 C <sup>0</sup> )											
Cer14	210–266	11	57	DeWoody et al. 1995	6						

Панель была успешно испытана на образцах благородного оленя из белорусских популяций (коллекция Банка генетических образцов дикой фауны ГНПО «НПЦ НАНБ по биоресурсам»): все целевые аллели были успешно амплифицированы и соответствовали ожидаемым диапазонам, а также успешно воспроизводились, что подтверждает её пригодность для генотипирования популяций благородного оленя. Более тщательное испытание проводится в рамках исследования генетических характеристик белорусских популяций.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Avise, J.C. Molecular Markers, Natural History and Evolution / J.C. Avise. – Boston: Springer US, 1994. – 511 p.
2. Mills, L.S. Conservation of wildlife populations: demography, genetics, and management / L.S. Mills. – Hoboken: Wiley-Blackwell, 2013. – 326 p.
3. Frankham, R. Genetics and extinction / R. Frankham // Biological Conservation. – 2005. – Vol. 126, n. 2. – P. 131–140.
4. Call for a Paradigm Shift in the Genetic Management of Fragmented Populations: Genetic management / K. Ralls [et al.] // Conservation letters. – 2018. – Vol. 11, n. 2. – P. 1–6.
5. Spielman, D. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them / D. Spielman, B.W. Brook, R. Frankham // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2004. – Vol. 101, n. 42. – P. 15261–15264.

6. Ecological census techniques: a handbook. Ecological census techniques / ed. W.J. Sutherland. – New York: Cambridge Univ. Press, 2011. – 432 p.

7. Vieira, M.L.C. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful / M.L.C. Vieira [et al.] // Genet. Mol. Biol. – 2016. – Vol. 39, n. 3. – P. 312-328.

8. DNA marker technology for wildlife conservation / I.A. Arif [et al.] // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2011. – Vol. 18, n. 3. – P. 219–225.

9. Moss, R. The use and abuse of microsatellite DNA markers in conservation biology / R. Moss, S.B. Piertney, S.C.F. Palmer // Wildlife Biology. – 2003. – Vol. 9, n. 1. – P. 243–250.

10. Reiner, G. Impact of different panels of microsatellite loci, different numbers of loci, sample sizes, and gender ratios on population genetic results in red deer / G. Reiner, M. Lang, H. Willems // Eur. J. Wildl. Res. – 2019. – Vol. 65, n. 2. – P. 25.

УДК 581.55 (476.7)

#### **В.А. КАПУЗА**

Брест, Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина  
Научный руководитель – И.В. Абрамова, канд. биол. наук, доцент

### **СОСНОВЫЕ ЛЕСА ВЫСОКОЙ ПРИРОДООХРАННОЙ ЦЕННОСТИ РЕСПУБЛИКАНСКОГО ЛАНДШАФТНОГО ЗАКАЗНИКА «РАДОСТОВСКИЙ»**

Леса являются значимым ландшафтно- и средообразующим компонентом природной растительности Беларуси. Республиканский ландшафтный заказник «Радостовский» объявлен в 2007 г. на территории Дрогичинского района Брестской области, на границе с Украиной, в целях сохранения в естественном состоянии уникальных лесоболотных экологических систем [1]. В геоботаническом отношении территория заказника «Радостовский» относится к подзоне широколиственно-сосновых лесов (Бугско-Полесский округ, Бугско-Припятский район). Характерной особенностью округа является широкое распространение мелколиственных лесов на низинных болотах. В настоящее время в растительном покрове на территории заказника «Радостовский» доминируют лесные сообщества, занимающие 87 % его общей площади.

На основании данных лесоустройства 2013 г. по Белоозерскому лесничеству Государственного лесохозяйственного учреждения