

Китаев К.А., Удалов М.Б., Беньковская Г.В., ПЦР – анализ трофических отношений в биомах. Биомика. 2011.Том 1. №2. С. 53-54.

ПЦР – анализ трофических отношений в биомах.

Китаев К.А., Удалов М.Б., Беньковская Г.В.

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН cordek@ya.ru

Биомы состоят из множества организмов разной таксономической принадлежности и экологической специализации. Каждый организм в пределах биома представляет собой элемент связной системы, который может заменяться другими. Изменение связей между организмами идут вместе с общеэкосистемными изменениями. Исследования таких изменений позволяют прогнозировать возможные пути развития искусственно-производимых экосистем. Актуальной проблемой остается исследование трофических взаимодействия между организмами. Существует большое количество методов исследования питания организмов, которые не позволяют получать данные сразу по множеству видов, составляющих биом. ПЦР – анализ является более универсальным методом, который уже сейчас применяется в биоценологических исследованиях. С небольшими дополнениями он может применяться и для анализа трофических взаимодействий (Kuusk A.K., 2009).

В настоящее время разработаны методики ПЦР – анализа фитофагов и хищников, а также паразитических сообществ, что позволяет заключить о применимости анализа для исследований любых трофических отношений. По вполне объективным причинам нельзя исследовать каннибализм, поскольку у жертвы и хищника будет одинаковый геном.

Наши исследования в основном сосредоточены на хищничестве насекомых в отношении колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*), но описываемый метод проверялся на комнатной мухе (*Musca domestica*), и может применяться для исследования хищнических отношений между всеми организмами.

Для ПЦР – анализа хищничества в отношении колорадского жука применялись праймеры, разработанные на основе последовательности митохондриального гена *cox1* (длина продукта 215 п.н.). Эти праймеры видоспецифичны и амплификация идет только с ДНК колорадского жука, продукт не образуется при амплификации образцов других видов того же рода (Greenstone et al., 2007). Праймеры для комнатной мухи разрабатывали по последовательности ДНК митохондриальных генов *cox1* и *cb5*, с продуктами разной длины (300 и 800 п.н. соответственно). Применять митохондриальные гены для определения хищничества рекомендуют многие исследователи.

Анализировали несколько хищных видов семейства жужелицы (Carabidae): *Pterostichus niger*, *P. melanarius*, *Harpalus rufipes*, *Dolychus halensis*. Образцы ДНК для анализа выделялись из кишечника и экскрементов хищников.

В лаборатории жужелиц кормили личинками колорадского жука, а затем личинками мухи. Экскременты собирали раз в сутки. Жужелиц фиксировали через 8, 16, 24, 32 часа после кормления.

Первоначально провели анализ содержимого кишечника и экскрементов жужелиц (*P. niger*), содержащихся в лабораторных условиях и питавшихся личинками комнатной мухи или личинками колорадского жука.

Анализ образцов ДНК, выделенных из кишечника жужелиц, питавшихся личинками комнатной мухи, показал высокую сохранность небольших последовательностей митохондриальной ДНК. Сравнение двух пар праймеров с разной длиной амплифицируемого продукта, показывает, что короткие фрагменты (300 п.н.) определяются в течении 24-32 часов, а длинные (800 п.н.) в течении 8-16 часов.

Анализ образцов ДНК из экскрементов *P.niger* показывает появление остатков личинок мухи в экскрементах на третьи сутки после начала кормления. Определяются только короткие последовательности ДНК (фрагмент 300 п.н.).

Анализ тех же образцов с праймерами для колорадского жука, показывает, что остатки личинок колорадского жука перестают попадаться в экскрементах на третьи сутки после кормления.

Сохранность ДНК колорадского жука в кишечнике хищников отличается у разных видов, но в среднем больше 24 часов, поэтому можно применять метод для анализа хищников, собранных в полевых условиях, и определять их среднесуточную активность.

Исследование образцов ДНК из кишечника жужелиц и божьих коровок (Coccinellidae), собранных в естественных условиях в картофельных агроценозах, показывает высокую хищническую активность семиточечной божьей коровки (*Coccinella septempunctata*) в отношении колорадского жука (яиц). Небольшую активность проявляют *H. rufipes* и *P. melanarius*.

Этот метод исследования открывает новые возможности в исследовании взаимоотношений между организмами в биомах. Особенно привлекает его фактическая универсальность, поскольку при большом разнообразии организмов, особенно близкородственных, молекулярно-генетические методы показывают одинаково высокую эффективность. Наша работа показывает достаточно широкую

применимость данного метода.

Безусловно метод имеет и определенные недостатки, активно обсуждаемые исследователями. Во первых, метод не позволяет различить вторичное и первичное хищничество (Sheppard et al., 2005), во вторых нельзя отделить питающихся сапротрофно от истинных хищников. Но эти недостатки могут нивелироваться при совмещении результатов ПЦР – анализа содержимого кишечника и анализа поведения хищника. Однако это сужает области практического применения метода и не позволяет получать гарантированно достоверные данные при проведении широких исследований биомов.

Список литературы

1. Greenstone M.H., Rowley D.L., Weber D.C. *et al.*, 2007. Feeding mode and prey detectability half-lives in molecular gut-content analysis: an example with two predators of the Colorado potato beetle // *Bulletin of Entomological Research*. Vol. 97. P. 201 – 209.
2. Kuusk A.K., 2009. Molecular Tracking of Arthropod Predator-Prey Interactions. Doctoral Thesis. Uppsala. 68 p.
3. Sheppard S.K., Bell J.R., Sunderland K.D. *et al.*, 2005. Detection of secondary predation by PCR analyses of the gut contents of invertebrate generalist predators // *Molecular Ecology*. Vol. 14. P. 4461 – 4468.