

Kitaev K.A. Investigation of trophic interactions formation in insects: the case study of the colorado potato beetle and its predators // In the World of Scientific Discoveries, 2012. No 2.5 (26). P. 309-318. ISSN 2072-0831

INVESTIGATION OF TROPHIC INTERACTIONS FORMATION IN INSECTS:
THE CASE STUDY OF THE COLORADO POTATO BEETLE AND ITS
PREDATORS.

Kitaev Konstantin Albertovich, laboratory of physiological genetics, department of genomics, Establishment of RAS Institute of biochemistry and genetics USC RAS. Ufa, Russia.

cordek@ya.ru

Summary

Using different molecular genetic, biochemical methods, and individual observations of predators allows to investigate processes occurring during the gradual transition to feeding insect pest, Colorado potato beetle. There is evidence, which allows to judge the development of adaptations of predators to a new type of food. Seven-spotted lady beetle is the fittest insect predator of Colorado potato beetle and this species may be used in the design methods of biocontrol.

Китаев К.А., Исследование формирования трофических отношений на примере колорадского жука и его хищников // В мире научных открытий, 2012. №2.5 (26). С. 309-318. ISSN 2072-0831

УДК 574.43 574.38 632.76 632.7.08

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА И ЕГО ХИЩНИКОВ.

Китаев Константин Альбертович, лаборатория физиологической генетики, отдел геномики, Учреждение РАН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН. г. Уфа, Россия.

cordek@ya.ru

Аннотация

Молекулярно-генетические, биохимические методы и метод индивидуального наблюдения за хищниками позволяют всесторонне исследовать процессы, идущие при постепенном переходе к питанию массовым видом вредителя – колорадским жуком. Получены данные, которые позволяют судить о степени развития адаптаций у хищников к новому типу питания. Коровка семиточечная более приспособлена к питанию колорадским жуком и может использоваться для разработки методов биологического контроля вредителя.

Ключевые слова *Leptinotarsa decemlineata, Coccinella septempunctata, колорадский жук, коровка семиточечная, хищники, трофические отношения.*

Введение.

Агроэкосистемы – это комплекс пространственно неоднородных биогеоценозов, включающий агробиоценоз (поле, занятое культурным растением) и прилегающие биотопы (обочины полей, защитные лесополосы). Агроэкосистемы обладают достаточно большим биоразнообразием за счет пространственной неоднородности и искусственного внесения человеком новых видов живых организмов. Но устойчивость агроэкосистем, как и любых экосистем, определяется не столько уровнем разнообразия, сколько отработанностью взаимосвязей между видами [1]. Развитие искусственных и естественных экосистем имеет коэволюционный характер, поскольку связи

между организмами появляются случайно, но закрепляются и усиливаются лишь те, которые приводят к дальнейшей коэволюции, за счет взаимной адаптивной изменчивости [2]. Исследование коэволюционной модели «хищник-жертва» необходимо для понимания процессов, происходящих в агроэкосистемах и разработки новых методов биорационального землепользования.

Среди насекомых много неспециализированных хищников-генералистов, которые, по-видимому, могут играть важную роль в регуляции численности насекомых–вредителей [1]. Возможна ситуация, когда жертва является инвазивным видом, не имеющим естественных врагов в этой зоне. Комплекс врагов постепенно формируется из местных неспециализированных хищников. Колорадский жук появился и распространился на территории Европы и России в течении последних ста лет, за это время сформировался комплекс его энтомофагов среди жужелиц [3] и других хищных насекомых. Но недостаточно исследована относительная приспособленность разных хищников к питанию колорадским жуком и к действию инсектицидов, применяемых против насекомых – вредителей.

Цель работы.

Исследование относительной приспособленности хищных насекомых к питанию колорадским жуком (яйцами и личинками) с использованием молекулярно-генетических и биохимических методов в синтезе с индивидуальным наблюдением, а также анализ пищевой активности хищников, содержащихся в лабораторных условиях, и проведение токсикологического анализа. Полученные данные предполагается использовать для построения коэволюционной модели взаимодействия колорадского жука и его хищников в рамках работы по исследованию процессов видообразования колорадского жука и включения его в биотические взаимодействия.

Материал и методы.

Исследования проводились в агроценозах на территории Бирского района

республики Башкортостан .

Для определения случаев питания колорадским жуком (яйца, личинки, имаго) использовали ПЦР–анализ содержимого кишечника с видоспецифичными праймерами. Хищных насекомых отлавливали в агроценозах. Герпетобионтов отлавливали видоизмененными почвенными ловушками Барбера [4] (пластиковый сосуд диаметром 7,5 см, наполовину заполненный тосолом (45% водный раствор этиленгликоля)). Раз в неделю ловушки осматривали, пойманных насекомых помещали в пробирки с тосолом. Хортобионтов отлавливали с кустов картофеля вручную и помещали в пробирки с тосолом. Насекомых определяли, вскрывали брюшко и извлекали кишечник. Его вместе с содержимым помещали в 70% этанол, гомогенизировали и центрифугировали при 7000 g. Спирт сливали. Из осадка выделяли ДНК гуанидин-тиоцианат – фенол – хлороформной экстракцией [5]. Для ПЦР использовали праймеры *coxI-F* и *coxI-R* (к гену *coxI*) , видоспецифичные для колорадского жука [6]. Обследовано 172 особей насекомых. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Массовые виды насекомых-хищников, собранные в картофельных агроценозах, и результат ПЦР-анализа с праймерами, видоспецифичными для колорадского жука. В скобках количество исследованных образцов.

Виды	Обследовано особей	положительных результатов ПЦР-анализа	доля положительных %
<i>Coccinella septempunctata</i>	64	35	55
<i>Adonia variegata</i>	40	0	0
<i>Harpalus rufipes</i>	33	3	14
<i>Pterostichus melanarius</i>	7	0	0
<i>Calosoma investigator</i>	15	1	7
<i>Poecilus cupreus</i>	16	0	0
<i>Dolychus halensis</i>	8	0	0

Устойчивость к инсектицидам проверялась у массовых видов энтомофагов (*Harpalus rufipes* (Coleoptera, Carabidae), *Coccinella septempunctata* (Coleoptera, Coccinellidae)), собранных в агроценозе, топикальным нанесением 1 мкл 0,001% препарата Регент (диагностическая доза для колорадского жука) [7], смертность учитывалась в течении 10 дней. Смертность определяли с поправкой на контроль.

Для наблюдения жужелиц помещали в пластиковые контейнеры с отверстиями по периметру. В контейнер помещали бумагу и ватку, смоченную водой. В качестве корма предлагались мясной фарш (куриное мясо механической обвалки), личинки комнатной мухи III возраста, личинки колорадского жука III-IV возраста. Корм был предварительно заморожен. Разный корм предлагали как по отдельности (в группах по 10 повторностей), так и вместе (при групповом содержании в больших контейнерах по 20 особей). Записывали количество съеденного корма по прошествии 2 и 24 часов наблюдения.

Отдельные группы хищников (*Calosoma investigator*, *Harpalus rufipes*, *Coccinella septempunctata*) содержались на корме, состоящем только из яиц или личинок колорадского жука. Учитывалось увеличение смертности по сравнению с контролем.

Для оценки развития стресса, возникающего при кормлении разной пищей, измеряли активность фермента ацетилхолинэстеразы в гемолимфе [8] у семиточечных божьих коровок *C. septempunctata* через 2 и 18 часов после кормления тлей, яйцами и гомогенатом из личинок колорадского жука.

Результаты и обсуждение.

Как видно из таблицы 1, видами, достоверно определяемыми как хищники колорадского жука, являются *H. rufipes* и *Coccinella septempunctata*. Эти энтомофаги распространены в агроценозах повсеместно и являются

доминирующими видами [3, 9]. Также встречается *Calosoma investigator* – вид, слабо связанный с картофельными агроценозами.

В эксперименте имаго *H. rufipes* предпочитают питаться мясным фаршем или личинками мух. При индивидуальном содержании после двух часов кормления большая часть особей (80%) *H. rufipes* съели личинок мух полностью, а личинки колорадского жука были частично повреждены только в 40% случаях, в остальных случаях личинки были съедены через 24 часа после кормления. При групповом содержании особи *H. rufipes* съедали только фарш и личинок мух, а личинки колорадского жука оставались нетронутыми. При групповом содержании имаго *Calosoma investigator* разные виды корма поедались с примерно одинаковой скоростью, но через 24 часа количество съеденных личинок мух было больше, чем количество съеденных личинок колорадского жука.

Смертность имаго *H. rufipes* от препарата Регент составляет 97% (в контроле 0%); имаго *Coccinell septempunctata* – 90% (в контроле 60%). Смертность имаго колорадского жука из летней генерации – 75% (в контроле 10%) [10, 11].

Данные по выживаемости при питании только личинками колорадского жука показывают их токсичность для некоторых хищных жужелиц (например, *Calosoma investigator*), но *H. rufipes* одинаково хорошо переносит содержание на корме как из личинок колорадского жука, так и из смеси личинок мух с мясным фаршем. Питание *Coccinella septempunctata* яйцами колорадского жука не приводит к негативным последствиям, но смертность увеличивается при содержании на гомогенате из личинок колорадского жука.

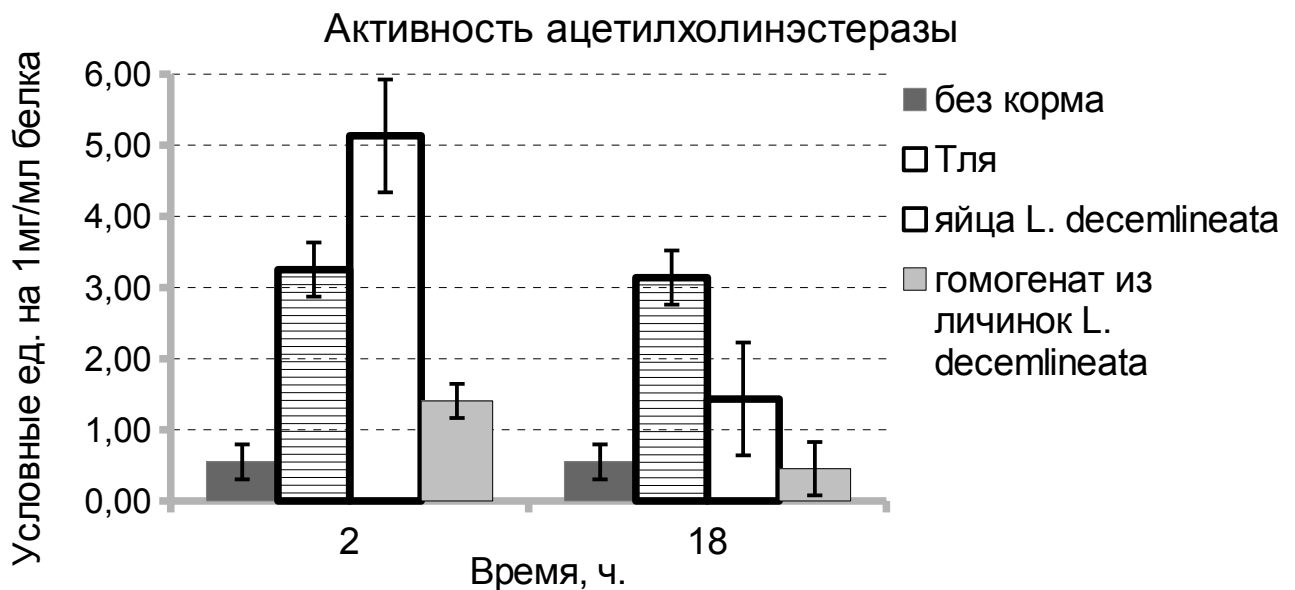


Рисунок 1. Изменение активности ацетилхолинэстеразы (в усл. ед. активности на 1 мг/мл белка) у *C. septempunctata* при кормлении разным видом корма через 2 и 18 часов.

Активность ацетилхолинэстеразы у божьих коровок увеличивается при кормлении, что связано с повышением двигательной активности и развитием стресса (рис. 1). При питании тлём активность находится на примерно постоянном уровне. При питании яйцами колорадского жука, активность заметно повышается в первые 2 часа, но затем снижается, в отличие от случая питания тлём. Питание гомогенатом из личинок колорадского жука приводит к постепенному угнетению активности божьих коровок. Разница в развитии стрессовой реакции показывает, что питание яйцами колорадского жука не является совсем обычным для божьих коровок, но они могут использовать этот вид корма.

Заключение.

Проведенные исследования показали, что комплекс из насекомых

энтомофагов колорадского жука на рассматриваемой территории находится на стадии формирования. Высокая смертность *H. rufipes* от Регента и низкая избирательность в отношении питания колорадским жуком не позволяют использовать этот вид в качестве агента биологической борьбы с колорадским жуком, несмотря на то, что встречаемость этого вида в картофельном агроценозе очень высока и он является доминирующим видом среди жужелиц [3].

Распространенный энтомофаг (*C. septempunctata*) имеет приспособленность к питанию яйцами колорадского жука и более высокую устойчивость к часто используемому инсектициду. В дальнейшем семиточечную коровку можно использовать для создания системы биорационального контроля колорадского жука.

Для сохранения других энтомофагов следует снизить дозу применяемых инсектицидов или применять препараты, безопасные для энтомофагов [3].

Работа была выполнена в рамках проектов, поддержанных грантами РФФИ № 09-04-00391-а, 11-04-01886-а и 11-04-97022-р_поволжье_а.

Список литературы.

1. Чернышев В.Б. Экологическая защита растений. Членистоногие в агроэкосистеме. М., 2001. – 136 с.
2. Родендорф Б.Б. Проблема коэволюции или сингенеза // Историческое развитие класса насекомых. Москва, 1980.– С.181–184.
3. Коваль А.Г., Жужелицы (Coleoptera, Carabidae) агроценоза картофеля европейской части России и сопредельных территорий // Чтения памяти Холодковского. СПб., 2009. – Вып 61 (2).– 98 с.
4. Гиляров М.С. Методы количественно учета почвенной фауны // Почвоведение.– 1941.– №4.– С. 48–77.
5. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid

- guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Analytical Biochemistry*, 1987.– Vol. 162(1).– P. 156–159.
6. Greenstone M.H., Rowley D.L., Weber D.C. *et al.* 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*.– 2007.– Vol. 97.– P. 201–209.
 7. Сухорученко Г.И., Долженко В.И., Гончаров Н.Р. и др. Технология и методы оценки побочных эффектов от пестицидов (на примере преодоления резистентности колорадского жука к инсектицидам). СПб., 2006.– 52 с.
 8. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherstone R.M.A New and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // *Biochem. Pharmacol.*– 1961.– Vol.7.– №2.– P. 88-95.
 9. Савойская Г.И. Тлевые коровки. М.: Агропромиздат, 1991.– 78 с.
 10. Беньковская Г.В., Леонтьева Т.Л., Удалов М.Б. Резистентность колорадского жука к инсектицидам на Южном Урале // *Агрохимия*.– 2008.– №.8.– С. 55–59.
 11. Udalov M.B. and Benkovskaya G.V. Change in the Polymorphism Level in Populations of the Colorado Potato Beetle // *Russian Journal of Genetics: Applied Research*.– 2011.– Vol. 1.– №. 5.– P. 390–395.