

**СОЗДАНИЕ И ДЕПОНИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ЧУЖЕРОДНЫХ ИНВАЗИВНЫХ
ВИДОВ ПОЛУЖЕСТКОКРЫЛЫХ ФАУНЫ БЕЛАРУСИ
В ”РЕСПУБЛИКАНСКИЙ БАНК ДНК ЧЕЛОВЕКА, ЖИВОТНЫХ,
РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ” НАН БЕЛАРУСИ**

М.М. Воробьёва

Полесский государственный университет, vorobjeva.m@polessu.by

Аннотация. Создана и депонирована коллекция чужеродных инвазивных видов отряда Полу- жесткокрылые фауны Беларуси в ”Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов” НАН Беларуси в виде биологического материала и ДНК для длительного хранения. Коллекция находится в открытом доступе и может быть использована в научных целях при проведении молекулярно-генетического анализа.

Ключевые слова: образцы ДНК, биологический материал, чужеродные инвазивные виды, отряд Полу- жесткокрылые.

”Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов” – уникальная структура, созданная на базе НАН Беларуси, для длительного специализированного хранения и многократного использования в научных целях ценных образцов ДНК и биологического материала [1]. Банк ДНК включает несколько секций: «Банк ДНК человека», «Банк ДНК животных», «Банк ДНК растений» и «Банк ДНК микроорганизмов». В каждой секции хранится ДНК и биологический материал, используемый депозиторами для собственных нужд, а также для обмена образцами при проведении молекулярно-генетического анализа [1].

В рамках выполнения государственных программ, финансируемых Министерством образования Республики Беларусь и Белорусским фондом фундаментальных исследований, представители УО «ПолесГУ» принимают участие в пополнении республиканского банка ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов образцами в виде биологического материала и ДНК.

Цель настоящего исследования: подготовить и депонировать в ”Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов” НАН Беларуси образцы в виде биологического материала и ДНК представителей отряда Полу- жесткокрылые из числа чужеродных инвазивных видов фауны Беларуси для длительного хранения.

На территории Гомельской, Минской, Брестской и Могилёвской областей коллектировали образцы представителей отряда Полу- жесткокрылые из числа чужеродных инвазивных видов фауны Беларуси. Идентификацию таксономической принадлежности коллектированного материала осуществляли по соответствующим атласам-определителям и специализированным интернет-порталам [2–4].

В результате работы идентифицированы следующие виды насекомых: *Panaphis juglandis* (Goeze), *Cryptomyzus ribis* L., *Pemphigus spyrothecae* Pass., *Aphis craccivora* Koch, *Aphis spiraeicola* Patch, *Brachycaudus divaricatae* Shap., *Drepanosiphum platanoidis* Schr., *Phyllaphis fagi* L. и *Frankliniella occidentalis* Perg.

Коллектированные образцы фиксировали в 96 % этанол, присвоили соответствующие идентификационные номера и депонировали в "Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов" НАН Беларуси в виде биологического материала (таблица 1).

Таблица 1. – Перечень образцов биологического материала, подготовленных к депонированию в Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов

№ п/п	Шифр образца	Характеристика биологического материала	Идентификационный номер Банка ДНК
Профиль банка: Образцы представителей отряда Полужесткокрылые из числа чужеродных инвазивных видов фауны Беларуси			
1	22-1430	<i>Panaphis juglandis</i> (Goeze)	Ж2560м
2	22-1470	<i>Drepanosiphum platanoidis</i> Schr.	Ж2561м
3	22-1445	<i>Pemphigus spyrothecae</i> Pass.	Ж2562м
4	22-1431	<i>Cryptomyzus ribis</i> L.	Ж2563м
5	22-1440	<i>Aphis spiraeicola</i> Patch.	Ж2564м
6	22-1464	<i>Aphis craccivora</i> Koch	Ж2565м
7	22-1472	<i>Phyllaphis fagi</i> L.	Ж2566м
8	22-1450	<i>Brachycaudus divaricatae</i> Shap.	Ж2567м
9	22-1434	<i>Brachycaudus divaricatae</i> Shap.	Ж2568м
10	22-1456-Г	<i>Frankliniella occidentalis</i> Perg.	Ж2569м

Из выше представленного биологического материала выделили ДНК. Для выделения ДНК использовали набор реагентов «Нуклеосорб» (комплектация «С»), адаптировав методику для работы с пулом образцов.

В каждую пробирку типа «эппендорф» с пулом тлей (8 экземпляров) отдельными наконечниками с аэрозольным барьером вносили по 200 мкл лизирующего раствора «С» и по 8,5 мкл раствора протеиназы К, тщательно перемешивая содержимое пробирок. Инкубировали эти пробирки при температуре 60°C в течение 2 ч, периодически встряхивая на вортексе. Нерастворенные частицы осаждали центрифугированием при 14 тыс об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость в объеме 130 мкл очень аккуратно отбирали отдельными наконечниками с аэрозольными барьерами и переносили в чистые пробирки типа «эппендорф», а пробирки с осадком выбрасывали. В каждую пробирку типа «эппендорф» отдельным наконечником добавляли по 12,5 мкл ресуспендированного сорбента универсального, перемешивали и оставляли в штативе на 10–15 мин. Осаждали сорбент универсальный в пробирках центрифугированием при 5 тыс об/мин в течение 1 мин и удаляли надосадочную жидкость. Добавляли в пробы по 150 мкл раствора для отмывки «1», перемешивали на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального, осаждали его центрифугированием при 5 тыс об/мин в течение 1 мин. Надосадочную жидкость удаляли. Добавляли в пробы по 250 мкл раствора для отмывки «2», перемешивали на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального, центрифугировали 1 мин при 10 тыс об/мин, надосадочную жидкость отбирали (данный пункт повторили 2 раза). Пробирки помещали в термостат при температуре 64°C на 10 мин для подсушивания сорбента универсального. В пробирки добавили по 50 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК, перемешивали на вортексе. Помещали в термостат при температуре 64°C на 10 мин, периодически встряхивая на вортексе. Пробирки центрифугировали при 12 тыс об/мин в течение 1 мин. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК в объеме 50 мкл.

Каждому выделенному образцу присвоили соответствующие идентификационные номера и депонировали в "Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов" НАН Беларуси в виде ДНК. Концентрацию ДНК и степень ее очистки определили на спектрофотометре Nanodrop 1000 (таблица 2).

Таблица 2. – Перечень образцов ДНК, подготовленных к депонированию в Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов

№ п/п	Шифр образца	Характеристика ДНК *					Идентификационный номер Банка ДНК
		Биологический материал, из которого выделена ДНК	Метод выделения	Чистота	Концентрация (мкг/мл)	Кол-во (мкл)	
Профиль банка: Образцы представителей отряда Полужесткокрылые из числа чужеродных инвазивных видов фауны Беларуси							
1	22-1430	<i>Panaphis juglandis</i> (Goeze)	ФХ	2,09	510,9	25	Ж261н
2	22-1470	<i>Drepanosiphum platanoidis</i> Schr.	ФХ	2,06	112,9	25	Ж262н
3	22-1445	<i>Pemphigus spyrothecae</i> Pass.	ФХ	2,01	92,1	25	Ж263н
4	22-1431	<i>Cryptomyzus ribis</i> L.	ФХ	2,08	62,3	25	Ж264н
5	22-1440	<i>Aphis spiraecola</i> Patch.	ФХ	2,11	371,2	25	Ж265н
6	22-1464	<i>Aphis craccivora</i> Koch	ФХ	1,02	480,9	25	Ж266н
7	22-1472	<i>Phyllaphis fagi</i> L.	ФХ	2,04	50,8	25	Ж267н
8	22-1450	<i>Brachycaudus divaricatae</i> Shap.	ФХ	2,07	341,0	25	Ж268н
9	22-1434	<i>Brachycaudus divaricatae</i> Shap.	ФХ	2,18	134,6	25	Ж269н
10	22-1456-Т	<i>Frankliniella occidentalis</i> Perg.	ФХ	2,08	107,9	25	Ж270н

В качестве дополнительного способа количественной и качественной оценки препарата выделенной ДНК провели гель-электрофорез в агарозном геле (рисунок).

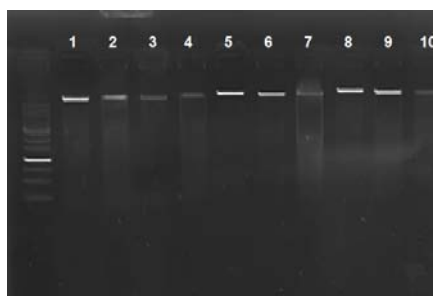


Рисунок – Гель-электрофорез ДНК, подготовленной для депонирования в Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов: 1 – *Panaphis juglandis*; 2 – *Drepanosiphum platanoidis*; 3 – *Pemphigus spyrothecae*; 4 – *Cryptomyzus ribis*; 5 – *Aphis spiraecola*; 6 – *Aphis craccivora*; 7 – *Phyllaphis fagi*; 8 – *Brachycaudus divaricatae*; 9 – *Brachycaudus divaricatae*; 10 – *Frankliniella occidentalis*

Таким образом, создана и депонирована коллекция чужеродных инвазивных видов отряда Полужесткокрылые фауны Беларуси в ”Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов” НАН Беларуси в виде биологического материала и ДНК для длительного хранения. Коллекция находится в открытом доступе и может быть использована в научных целях при проведении молекулярно-генетического анализа.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № Б22МВ-013).

Список использованных источников

1. Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.icct.by/rus/exh/otdeleniya/view.php?proid=10bcc8362b439b8846b8b9d1ec7919&lng=rus>. – Дата доступа: 03.12.2023.
2. Шапошников, Г.Х. Подотряд Aphidinea – Тли / Г.Х. Шапошников // Определитель насекомых европейской части СССР / под. ред. Г.Я. Бей-Биенко. – М.; Л. : Наука, 1964–1988. – Т. 1 : Низшие, древнекрылые, с неполным превращением / Г.Я. Бей-Биенко [и др.]. – М. ; Л. : Наука, 1964. – С. 489–616.
3. Heie, O.E. The Aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark. IV / O.E. Heie // Fauna Entomologica Scandinavica. – 1992. – Vol. 25. – 188 p.
4. Holman, J. Host plant catalog of aphids. Palaearctic region / Holman. – Berlin: Springer Science, 2009. – 1216 p.