

ПЦР-ПДРФ метод для идентификации коммерчески значимых клещей рода *Amblyseius* (Acari, Phytoseiidae)

Научный руководитель – Попов Василий Николаевич

Кожина Анастасия Васильевна

Аспирант

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

E-mail: nastenka.kokina@mail.ru

Клещи рода *Amblyseius* - *A. swirskii*, *A. cucumeris* и *A. barkeri* являются важнейшими коммерчески значимыми энтомофагами, которые применяются для защиты растений от вредителей в теплицах. Морфологически идентифицировать этих клещей могут только высококвалифицированные специалисты - акарологи. Важность точного определения этих клещей обусловлена тем, что они имеют различную коммерческую ценность. Целью работы явилась разработка молекулярно-генетического метода идентификации клещей рода *Amblyseius* на основе ПЦР-ПДРФ.

Нами проведен анализ нуклеотидной последовательности участка ДНК, включающего гены: 18S рРНК, ITS1, 5.8S рРНК, ITS2, 28S рРНК. С помощью праймеров ITS1 и ITS4 был амплифицирован этот участок ДНК у всех трёх видов. Установлены отличия в нуклеотидной последовательности у этих видов. Полученные последовательности были секвенированы и зарегистрированы в системе Genbank под номерами KX348008.1, KX348006.1 и KX348007.1. Был проведен *in silico* анализ по поиску ферментов рестрикции, имеющих сайт узнавания в полученных последовательностях. Всего было проанализировано свыше 100 ферментов рестрикции. Из проанализированных ферментов, предпочтение отдавалось тем, продукты рестрикции которых возможно разделить с помощью электрофореза в агарозном геле. И в то же время эндонуклеаза рестрикции или комбинация эндонуклеаз должны дифференцировать виды клещей друг от друга. В конечном итоге *in vitro* было апробировано 6 ферментов рестрикции: AccB1 I, AspLE I, Fae I, Sse9 I, Ssp I и Taq I. Наилучшие результаты были получены для рестриктаз AccB1 I (сайт узнавания GGYRCC), AspLE I (сайт узнавания GCGC) и Sse9 I (сайт узнавания AATT). Каждая из рестриктаз имеет сайт рестрикции только в одном из трех видов клещей: рестриктаза AccB1 I у *A. cucumeris* образует фрагменты длиной 509 и 114 п.н., AspLE I у *A. swirskii* образует фрагменты длиной 385 и 225 п.н. и Sse9 I у *A. barkeri* образует фрагменты длиной 364 и 113 п.н. Наблюдалась 100% воспроизводимость и точность рестрикционного анализа.

Использование ПЦР-ПДРФ на основе рестриктаз AccB1 I, AspLE I и Sse9 I может однозначно дифференцировать друг от друга трёх исследуемых коммерчески используемых клещей рода *Amblyseius*.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-14-00176).