

УДК 575.1, 574.3

© Гордеев М.И., Москаев А.В., Перевозкин В.П.

АНАЛИЗ ВИДОВОГО И ХРОМОСОМНОГО СОСТАВА МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ¹

Аннотация. В Республике Адыгея и на сопредельной территории Краснодарского края обнаружены 4 вида малярийных комаров: *An. messeae*, *An. maculipennis*, *An. hyrcanus*, *An. claviger*. В низинных районах Закубанской равнины преобладают *An. messeae* и *An. hyrcanus*, а в предгорьях – *An. maculipennis*. Определена плодовитость гоноактивных самок видов двойников *An. messeae* и *An. maculipennis*. В популяциях *An. messeae* выявлены хромосомные последовательности XL0, XL1, 2R0, 3R0, 3R1, 3L0, 3L1. В биотопах с повышенным содержанием кислорода наблюдается повышенная частота хромосомных вариантов с инверсиями XL0 и 3R1. В направлении с запада на восток Закубанской равнины происходит снижение частоты гомо- и гетерозигот с инверсией 3L1.

Ключевые слова: хромосомный полиморфизм, малярийные комары *Anopheles*, инверсии, малярия, генетика популяций.

© M. Gordeev, A. Moskaev, V. Perevozkin

ANALYSIS OF SPECIES AND CHROMOSOMAL COMPOSITION OF MALARIA MOSQUITOES OF REPUBLIC ADYGEA

Abstract. 4 species of malaria vectors were found on the territory of Adygea and 1 locality on the neighbour Krasnodar Territory: *An. messeae*, *An. maculipennis*, *An. hyrcanus*, *An. claviger*. It has been established that *An. messeae* was predominant species on the plain part of Kuban valley. Larvae of *An. hyrcanus* and *An. maculipennis* developed with mosquitoes *An. messeae* in the same biotopes. *An. maculipennis* was the predominant species on the submountain part of the Eastern Adygea. *An. maculipennis* and *An. claviger* preferred biotopes with more cold water. Chromosomal inversion XL0, XL1, 2R0, 3R0, 3R1, 3L0, 3L1 were detected in the populations of *An. messeae*. High frequency of homo- and heterozygotes with inversions 3R1 and 3L1 was found on the plain territory of Adygea.

Key words: chromosomal polymorphism, malaria mosquitoes, *Anopheles*, inversions, malaria, population genetics.

Введение

Исследование фауны малярийных комаров *Anopheles* (Diptera, Culicidae) Республики Адыгея является важной фундаментальной и прикладной проблемой. Благоприятные климатические условия для развития малярийных комаров, высокая миграция населения и постоянный завоз инфекции из зарубежных очагов определяют Краснодарский край и Адыгею как территорию устойчивого риска распространения малярии [6, 8]. В начале 90-х годов произошло восстановление малярии в сопредельных с Россией республиках Закавказья. Несмотря на проводимые противомаларийные мероприятия, в Грузии и Азербайджане сохраняются остаточные очаги заболевания [13]. В связи с этим необходимо возобновление исследований малярийных комаров на всех территориях, относящихся

¹ Работа финансировалась по грантам Российского фонда фундаментальных исследований 08-04-01674-а, 09-04-10147-к.

к зоне риска по малярии. Особенно перспективными являются следующие направления исследований: анализ видовых комплексов, изучение биологии переносчиков, распространения видов-сблингов и их роли в передаче малярии [9]. Большое теоретическое значение имеет также изучение экологической специализации переносчиков и механизмов взаимодействия видов-двойников в условиях симпатрии. Малярийные комары могут служить модельным объектом для анализа способов разделения экологических ниш совместно обитающих видов в изменяющихся условиях среды, в частности в условиях антропогенного пресса.

Целью данной работы было изучение фауны и экологии малярийных комаров Республики Адыгея. В задачи работы входило: 1) установить видовой состав и географическое распространение представителей рода *Anopheles* на территории Республики Адыгея; 2) определить кариотипический состав популяций хромосомно полиморфных видов; 3) провести анализ важных экологических параметров личиночных биотопов и их влияние на пространственное распределение малярийных комаров.

Материал и методы

Материалом для работы послужили выборки имаго и личинок малярийных комаров, собранные в 2009 г. в ряде районов Республики Адыгея. Даты и места сбора личинок приведены в табл. 1. В местах выплода комаров проводили измерение экологических характеристик водоемов с помощью приборов: оксиметра ExStik DO600 и мультифункционального прибора HANNA Combo HI 98130. Для определения комаров по морфологическим признакам использовали стандартные ключи [3]. Имаго малярийных комаров были получены 07.08.09 г. в хлеву с домашним скотом в станице Тенгинская Усть-Лабинского района. От ряда гоноактивных самок были получены кладки яиц с целью анализа структуры экзохориона, определения видового состава и плодовитости малярийных комаров. Для получения кладок гоноактивных самок помещали в пенициллиновые флаконы, на $\frac{1}{4}$ заполненные водой. Всего было изучено 43 кладки.

С целью проведения цитогенетического анализа личинок IV стадии фиксировали в спирт-уксусной смеси (3:1). Из слюнных желез фиксированных личинок готовили препараты политенных хромосом по лактоацеторсеиновой методике [4,630-636]. Препараты использовали для цитодиагностики видов и изучения кариотипической структуры популяций *An. messeae*. Сравнивали рисунок дисков политенных хромосом с фотокартами хромосом исследуемых видов [10]. В кариотипах *An. messeae* регистрировали хромосомные инверсии. Всего было определены кариотипы у 366 комаров.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований обследовано 7 мест выплода малярийных комаров на территории Республики Адыгея, а также 1 местообитание *Anopheles* на сопредельной территории Краснодарского края (пос. Новомихайловка) (табл. 1). В изученных местообитаниях выявлено 4 вида переносчиков малярии: *An. messeae* Falleroni 1926, *An. maculipennis* Meigen 1818, *An. hircanus* Pallas 1771, *An. claviger* Meigen 1904 (рис. 1). Установлено, что на низменных территориях Закубанской равнины повсеместно доминирует *An. messeae*. Вместе с комарами этого вида развиваются личинки *An. hircanus* и *An. maculipennis*. В предгорьях Западного Кавказа доминирующим видом становится *An. maculipennis* (табл. 1; выборки 6-7). В ст. Даховской доля комаров этого вида достигает 100%. Родниковый малярийный комар *An. claviger* обнаружен в изолированном местообитании в пос. Новомихайловка на территории Краснодарского края. Следует отметить, что Закубанская низменность находится на краю видového ареала *An. messeae*, и на территории Адыгеи проходит южная граница распространения этого вида. Особый

интерес представляет проблема взаимодействия малярийных комаров *An. messeae* и *An. maculipennis*. Экспериментальные исследования конкуренции личинок этих двух видов показали, что при высокой плотности *An. maculipennis* превосходит *An. messeae* [7, 1818-1825]. Отмечено разобщение первых генераций двух видов во времени. Выявлено, что *An. maculipennis* развивается позже, чем *An. messeae*. Высказано предположение, что устойчивое соотношение двух видов сохраняется в местообитаниях, где доминирующий вид не успевает вытеснить конкурента в течение сезона размножения.

Таблица 1

Географическое распространение малярийных комаров в Республике Адыгея

№	Местообитание	Дата сбора	n	Индекс доминирования			
				<i>An. messeae</i> , f ± S _f , %	<i>An. maculipennis</i> , f ± S _f , %	<i>An. claviger</i> , f ± S _f , %	<i>An. hircanus</i> , f ± S _f , %
1	Тахтамукайский район, с.Тахтамукай	04.08.09.	51	100	0	0	0
2	Республика Адыгея, пос. Кубаньстрой	05.08.09.	54	96.3±2.6	0	0	3.7±2.6
3	Республика Адыгея, пос. Шенджий	05.08.09.	54	94.4±3.1	3.7±2.6	0	1.9±1.9
4	Республика Адыгея, село Садовое	06.08.09.	48	93.8±3.5	0	0	6.25±3.5
5	Краснодарский край, Усть-Лабинский район, станция Тенгинская	08.08.09.	54	96.3±2.6	3.7±2.6	0	0
6	Республика Адыгея, г.Майкоп	09.08.09.	32	21.9±7.3	78.1±7.3	0	0
7	Республика Адыгея, станция Даховская	09.08.09.	30	0	100	0	0
8	Краснодарский край, пос. Новомихайловка	18.08.09.	43	0	0	100	0

Примечание: здесь и далее n – число изученных особей (личинки IV стадии).

Согласно нашим данным, личинки *An. messeae* преобладают в равнинных биотопах, несмотря на то, что они находятся на границе видового ареала. Очевидно, что особи *An. messeae* более жизнеспособны в равнинных местообитаниях, в то время как личинки *An. maculipennis* имеют конкурентное преимущество в более прохладных биотопах предгорий Западного Кавказа. В результате с запада на восток Республики Адыгея наблюдается

резкое изменение индекса доминирования взаимодействующих видов. Высотная зональность позволяет конкурентным видам устойчиво сосуществовать на данной территории. По-видимому, южная граница ареала *An. messeae* определяется не условиями развития личинок, а условиями зимовки имаго. На равнине зимние температуры слишком высоки для диапаузирующих самок *An. messeae* [1], а в горах этот вид вытесняется в период размножения конкурентом *An. maculipennis*. Кроме того, *An. messeae* не встречается в долинах Закавказья, поскольку там обитают более конкурентоспособные южные виды малярийных комаров комплекса *Anopheles maculipennis*, такие, как *An. melanoon* Hackett, 1934; *An. sacharovi* Favre, 1903 [12].

Одной из проблем данной работы было разделение видов двойников малярийных комаров *An. melanoon* и *An. maculipennis*. В отличие от *An. maculipennis*, *An. melanoon* распространен пятнами в наиболее влажных низменных равнинах Северного Кавказа, по побережью Черного моря от Туапсе до Адлера [5]. Данные два вида являются гомосеквентными, то есть обладают идентичным набором политенных хромосом в слюнных железах личинок. Однако они отличаются по характеру организации хромосом в трофоцитах яичника [11]. Кроме того, яйца двух видов отличаются по рисунку экзохориона [5]. Получение кладок от гоноктивных самок, отловленных в станице Тенгинская Усть-Лабинского района, позволило установить, что на изученной территории присутствуют только виды *An. maculipennis* и *An. messeae*. Кладок *An. melanoon* не обнаружено. Доля кладок *An. messeae* в выборке из станицы Тенгинская составила 69.8%, а доля кладок *An. maculipennis* – 30.2% (число кладок $n = 43$). Кроме того, была определена плодовитость двух совместно обитающих видов: среднее число яиц в кладке у *An. messeae* составило 197.1 ± 11.2 ($n = 30$); у *An. maculipennis* – 169.2 ± 16.7 ($n = 13$).

В задачи исследования входило определение экологических характеристик личиночных биотопов (табл. 2). Установлено, что важнейшим экологическим параметром, определяющим видовой состав комаров, служит температура воды. Анализ личиночных биотопов показал, что *An. messeae* в этом отношении является наиболее экологически пластичным видом. Личинки *An. messeae* развиваются в диапазоне температур от 19.8 до 33.3 °C. *An. hucanus* предпочитает хорошо прогреваемые водоемы с температурой воды от 31.0 до 33.3 °C и повышенной соленостью от 0.43 до 0.81 μs. *An. maculipennis* и *An. claviger* преобладали в биотопах с прохладной водой (табл. 2; выборки 6-8). Очевидно, способность личинок *An. messeae* развиваться в водоемах с разнообразными температурными режимами связана с его внутривидовым хромосомным полиморфизмом, имеющим адаптивное значение.

В результате цитогенетического анализа определен уровень хромосомной изменчивости у малярийного комара *An. messeae* (табл. 3). В популяциях этого вида на территории Республики Адыгея выявлены следующие хромосомные последовательности: XL0, XL1, 2R0, 3R0, 3R1, 3L0, 3L1. Установлено, что уровень хромосомной изменчивости зависит от экологических параметров личиночных биотопов. Одним из таких параметров является содержание кислорода в воде. Биотопы № 2 и № 4 с высоким содержанием кислорода (от 6.02 до 7.7 O₂, mg/l) характеризуются повышенной частотой хромосомных вариантов с инверсиями XL0 и 3R1 ($\chi^2=4.3$ и 13.7; число степеней свободы $df=1$; $p<0,05$ и $p<0,001$ соответственно). Кроме того, показано, что в направлении с запада на восток Закубанской равнины наблюдается снижение частоты гомо- и гетерозигот с инверсией 3L1 ($\chi^2 = 23.6$; $df = 4$; $p<0,001$).

В целом, изучение хромосомной изменчивости у *An. messeae* показало, что на территории Республики Адыгея популяции характеризуются низким уровнем инверсионного полиморфизма (таб. 3).

Таблица 2

Экологические характеристики личиночных биотопов малярийных комаров

№	Местообитание	Дата сбора	Экологические характеристики					
			pH	t°C	μs (solt)	ppt	O ₂ (mg/l)	Плотность личинок I-IV возрастов на м ²
1	Республика Адыгея, Тахтамукайский район, с. Тахтамукай, рисовые чеки	04.08.09	6.76	27.3	0.31	0.15	2.81	2(0.4)
2	Республика Адыгея, пос. Кубаньстрой, ручей в окр. Шапсугского водхр.	05.08.09	7.63	32.5	0.43	0.22	6.02	18(1.25)
3	Республика Адыгея, пос. Шенджий, канал в пойме р. Уне-Убат	05.08.09	7.00	33.3	0.81	0.40	0.45	5.4(2.2)
4	Республика Адыгея, село Садовое, заболоченность	06.08.09	7.71	31.0	0.46	0.23	7.07	3.25(0.75)
5	Краснодарский край, Усть-Лабинский район, станция Тенгинская, карьер	08.08.09	7.68	24.7	0.35	0.18	3.86	52(4.25)
6	Республика Адыгея, г. Майкоп, пруд	09.08.09	7.19	19.8	0.16	0.08	2.43	24.6(1.4)
7	Республика Адыгея, станция Даховская, заливной луг	09.08.09	7.51	20.5	0.73	0.36	3.18	15(7)
8	Краснодарский край, пос. Новомихайловка, сточная канава	18.08.09	7.54	20.5	0.44	0.22	4.63	20.5(2)

Примечание: В скобках отмечена плотность личинок IV стадии.

Таблица 3

Хромосомный состав личинок *An. messeae* в местообитаниях в Республике Адыгея

Хромосомные варианты	Частоты хромосомных вариантов, $f \pm s_f$, %				
	№1, село Тахтамукай	№2, поселок Кубаньстрой	№3, поселок Шенджий	№4, село Садовое	№5, станция Тенгинская
XL ₀	37,5±5,6	53,4±5,9	40,5±5,7	44,6±5,2	36,7±5,4
XL ₁	62,7±5,6	46,6±5,9	59,5±5,7	45,4±5,2	63,3±5,4
n ₁	75	73	74	74	79
2R ₀₀	100	100	100	100	100
3R ₀₀	94,1±3,3	73,1±6,1	84,3±5,1	77,8±6,2	96,2±2,7
3R ₀₁	5,9±3,3	28,9±6,1	13,7±4,8	22,2±6,2	3,8±2,7
3R ₁₁	0	0	2,0± 2,0	0	0
3L ₀₀	62,7±6,8	63,5±6,7	86,3±4,8	86,7±5,1	92,3±3,7
3L ₀₁	31,4±6,5	36,5±6,7	13,7±4,8	13,3±5,1	5,8±3,2
3L ₁₁	5,9±3,3	0	0	0	1,9±1,9
n ₂	51	52	51	45	52

Примечание: n₁ – число изученных половых хромосом у самцов и самок (самцы имеют только одну хромосому XL); n₂ – число гомо- и гетерозигот по отдельным аутосомам у особей обоих полов.

Полностью отсутствует изменчивость хромосомного плеча 2R. Выявлены низкие частоты гомозигот 3R11 и 3L11. В популяциях для особей характерны кариотипы, преимущественно распространенные на юго-западе и юго-востоке видового ареала. Эти краевые популяции значительно отличаются от таковых на юге Средней Азии [2, 1199-1205]. В Средней Азии на южной границе видового ареала отсутствуют инверсионные варианты XL₀, но встречаются с высокой частотой гомозиготы 3R11 и 3L11. По-видимому, высокая однородность краевых популяций на европейской и азиатской частях ареала *An. messeae* снижает адаптивные возможности вида. Однако, несмотря на низкий уровень полиморфизма, особи *An. messeae* с разными хромосомными вариантами отличались по экологическим предпочтениям (в частности, по отношению к содержанию растворенного кислорода). Очевидно, этим обусловлена более высокая экологическая пластичность *An. messeae* по сравнению с другими видами малярийных комаров.

Полученные данные по географическому распространению и экологии малярийных комаров позволяют сделать вывод о том, что главным потенциальным переносчиком малярии на Закубанской равнине является *An. messeae*, а в предгорьях Западного Кавказа на востоке Республики Адыгея – *An. maculipennis*.

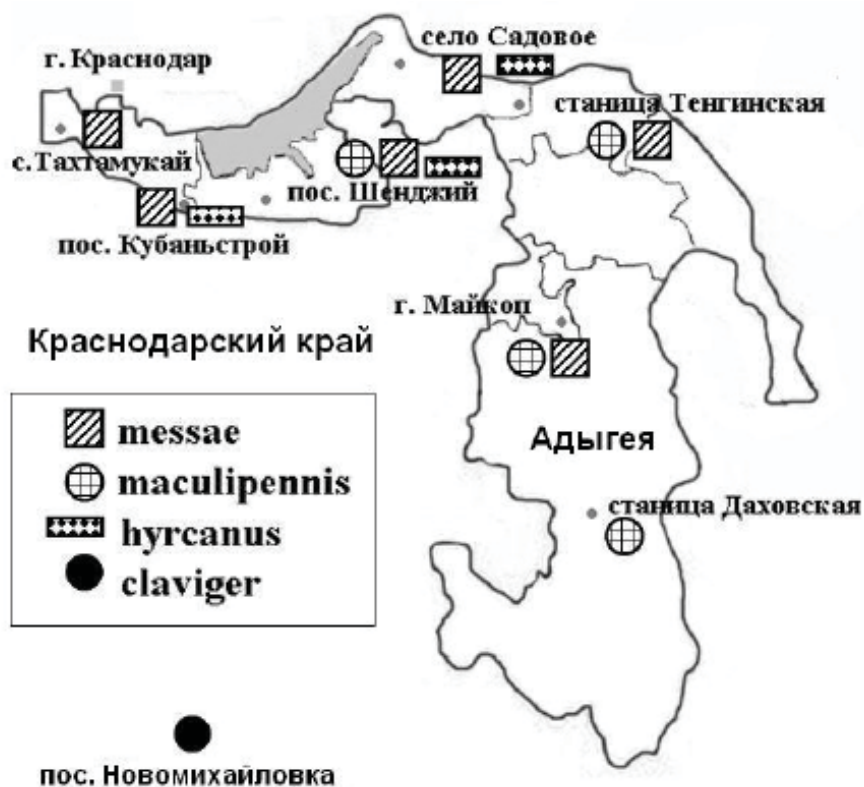


Рис. 1. Видовой состав личинок *Anopheles* в местообитаниях Республики Адыгея.

Выводы

1. В изученных местообитаниях в Республике Адыгея и на сопредельной территории Краснодарского края обнаружены 4 вида малярийных комаров: *An. messeae*, *An. maculipennis*, *An. hyrcanus*, *An. claviger*. Установлено, что в низинных районах Закубанской равнины преобладают *An. messeae* и *An. hyrcanus*, а в предгорьях – *An. maculipennis*. Малярийный комар *An. melanoon* не обнаружен.

2. Определена плодовитость гоноактивных самок видов двойников *An. messeae* и *An. maculipennis*. Среднее число яиц в кладке у *An. messeae* составило 197.1 ± 11.2 ; у *An. maculipennis* – 169.2 ± 16.7 .

3. В популяциях *An. messeae* выявлены хромосомные последовательности XL0, XL1, 2R0, 3R0, 3R1, 3L0, 3L1. Установлено, что в биотопах с повышенным содержанием кислорода наблюдается повышенная частота хромосомных вариантов с инверсиями XL0 и 3R1. Показано, что в направлении с запада на восток Закубанской равнины происходит снижение частоты гомо- и гетерозигот с инверсией 3L1.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Беклемишев В. Н. Экология малярийного комара. М.: Медгиз, 1944.
2. Гордеев М. И., Сибатаев А. К. Цитогенетическая и фенотипическая изменчивость в центральных и периферийных популяциях малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. (Diptera, Culicidae) // Генетика. 1996. Т. 32. № 9.
3. Званцов А. Б., Ежов М. Н., Артемьев М. М. Переносчики малярии (Diptera, Culicidae, *Anopheles*) Содружества Независимых Государств (СНГ) Копенгаген: ВОЗ, 2003.
4. Кабанова В.М., Карташова Н.Н., Стегний В.Н. Кариологическое исследование природных популяций малярийного комара в Среднем Приобье. 1. Характеристика кариотипа *Anopheles maculipennis messeae* Fall // Цитология. 1972. Т. 14. № 5.

5. Маркович Н.Я., Артемьев М.М., Дарченкова Н.Н. Видовой состав и географическое распространение основных переносчиков малярии комаров комплекса *An. maculipennis* в России РЭТ. ИНФО. №3. 2001.
6. МУ 3.2.974-00 “Малярийные комары и борьба с ними на территории Российской Федерации”.
7. Новиков Ю. М., Гордеев М. И., Гаденова Е. В. Экологическая дифференциация личинок *Anopheles messeae*, *A. maculipennis* и *A. beklemishevi* // Зоол. Журн. 1983. Т. 62. № 12.
8. Приказ Департамента здравоохранения края от 19.11.2007 N 899/427 «Об усилении эпиднадзора и улучшении диагностики малярии в Краснодарском крае».
9. Региональная стратегия: От борьбы к элиминации малярии в Европейском регионе ВОЗ 2006-2015 гг. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ, 2006. 44 с.
10. Стегний В. Н. Популяционная генетика и эволюция малярийных комаров. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1991.
11. Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосибирского ун-та, 1993.
12. Mosquitoes of the genus *Anopheles* in countries of the WHO European Region, having faced a recent resurgence of malaria: Regional research project, 2003-2007. Ed. Ejov M. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2008.
13. World Malaria Report 2009. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2009.