

На правах рукописи

БЕГА АННА ГЕННАДЬЕВНА

**РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ЭКОЛОГИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОМАРОВ ПОДРОДА *STEGOMYIA* В
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

1.5.7 – генетика

1.5.15 – экология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Москва, 2023

Работа выполнена в лаборатории генетики насекомых Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова» Российской академии наук (ИОГен РАН), г. Москва и в научно-исследовательской лаборатории экспериментальной биологии и биотехнологии НОЦ МГОПУ в г. Черноголовка медико-биологического института.

Научные руководители: **Андрианов Борис Витальевич**
д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики насекомых ФГБУН Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, г. Москва.

Москаев Антон Вячеславович
к.б.н., заведующий научно-исследовательской лабораторией экспериментальной биологии и биотехнологии НОЦ МГОПУ в г. Черноголовка медико-биологического института.

Официальные оппоненты: **Куликов Алексей Михайлович**
д.б.н., заместитель директора по науке ФГБУН Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, г. Москва.

Петросян Варос Гарегинович
д.б.н., главный научный сотрудник, заведующий кабинетом биоинформатики и моделирования биологических процессов, ФГБУН Институт проблем эволюции и экологии им. А. Н. Северцова РАН, г. Москва.

Ведущее учреждение: Национальный исследовательский Томский Государственный университет, г. Томск.

Защита диссертации состоится «20» апреля 2023 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета 24.1.088.01 (Д 002.214.01) на базе ФГБУН «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН» в конференц-зале Института по адресу: г. Москва, улица Губкина, д. 3, 119991

Тел: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41. Факс: (499) 132-89-62

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте www.vigg.ru Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН.

Автореферат разослан «__» _____ г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Горячева И. И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В условиях изменения климата, глобализации, развития туризма и интенсификации транспортного сообщения по всему миру участились вспышки трансмиссивных вирусных заболеваний, переносчиками которых являются комары. Комары рода *Aedes* (Diptera, Culicidae) подрода *Stegomyia* способны быть векторами более 30 вирусов, в том числе вызывающих лихорадки Западного Нила, Денге, Чикунгунья, Зика и Жёлтой. Некоторые комары из подрода *Stegomyia* являются инвазивными видами и успешно расселяются, вызывая риск новых эпидемиологических угроз для здоровья населения в местах своего появления.

В Российской Федерации обитает 6 видов комаров подрода *Stegomyia*. Из них хорошо изучены только 2 инвазивных вида – азиатский тигровый комар *Ae. albopictus* Skuse, 1895 и *Aedes aegypti* L. 1762. *Ae. albopictus* впервые обнаружен в России в 2011 году (Ганушкина и др., 2012) и в настоящее время активно расширяет свой ареал. *Ae. aegypti* спорадически выявляется на территории России, но не образует стабильных популяций. С 2019 года *Ae. aegypti* не обнаруживается на территории РФ ни автором работы, ни другими исследователями. Остальные 4 вида комаров подрода *Stegomyia* до недавнего времени считались малочисленными, зоофильными, обитающими исключительно в лесах, и оставались слабо изученными.

Нами обнаружено стремительное расширение ареалов и увеличение численности сразу двух видов комаров подрода *Stegomyia*: *Aedes flavopictus* Yamada, 1921 в Приморском и Хабаровском краях и *Aedes sibiricus* Danilov et Filippova, 1978 в Сибири и на Дальнем Востоке России. Оба вида перешли к синантропному образу жизни и стали нападать на человека. Расширение ареалов видов предполагает формирование ими новых экологических ниш. Этот процесс сопровождается появлением и закреплением у комаров новых поведенческих, физиологических и молекулярно-генетических особенностей, что представляет фундаментальный интерес.

Состояние научной разработанности. Виды комаров подрода *Stegomyia* изучены в различной степени. Наибольшее число работ посвящены видам *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti*. Появление этих видов на территории Российской Федерации и расширение ареала *Ae. albopictus* подробно описано (Рябова и др., 2005; Юничева и др., 2008; Ганушкина и др., 2012; Ганушкина и др., 2013; Фёдорова и др., 2018; Сычева и др., 2020; Бега и др., 2021; Коваленко и др., 2021). Определена генетическая изменчивость *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti* на основе сравнения варибельной области внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS2) кластера генов рРНК и последовательностей гена первой субъединицы

цитохромоксидазы (*COI*) (Шайкевич и др., 2018; Фёдорова и др., 2019). Показан низкий генетический полиморфизм инвазивных популяций этих видов на юге России. Комары Северной Евразии изучены хуже. Данные о генетической структуре популяций этих видов фрагментарны. Проведена оценка генетического разнообразия *Ae. flavopictus* в нативном ареале Корейского полуострова по двум митохондриальным генам: *COI* и *ND5* (Jiyeong Shin, 2021). Выявлены экологические предпочтения вида в нативном ареале (Chaves, 2016; Chaves 2020). Определены последовательности митохондриальных геномов *Ae. flavopictus*, *Ae. galloisi* из Южной Кореи (Jiyeong Shin, 2021), (NC_050044; MW465951). В Российской Федерации, до данного исследования, крупные синантропные популяции не обнаруживались, а приводились сообщения только о находках отдельных особей *Ae. flavopictus*, *Ae. galloisi*, *Ae. sibiricus* (Попов, 1950; Горностаева, 2000; Леляй 2012; Полторацкая, 2013). Молекулярно-генетические исследования *Ae. sibiricus* ранее не проводились.

Целью исследований было: изучить распространение, экологию и генетическую изменчивость комаров рода *Aedes* подрода *Stegomyia*, обитающих на территории Российской Федерации.

Задачи исследования:

1. Уточнить современные границы ареалов видов комаров подрода *Stegomyia*. Провести оценку направления распространения инвазивных популяций *Ae. albopictus* на юге европейской части России.
2. Выявить экологические предпочтения и факторы, лимитирующие преимагинальное развитие комаров *Ae. albopictus* на юге европейской части России.
3. Выявить видоспецифичные признаки и маркеры комаров подрода *Stegomyia*, обитающих на территории Российской Федерации, методами морфологического анализа и ДНК-баркодирования на основе сравнения BOLD фрагмента митохондриального гена *COI*.
4. Провести поиск специфических особенностей генетической структуры синантропных популяций потенциально инвазивных видов комаров *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus*.
5. Получить и проанализировать нуклеотидные последовательности митохондрий *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus*, полученных у комаров из природных популяций, и митохондрия *Ae. albopictus* из пересеваемой клеточной культуры С6/36.

Научная новизна. Впервые было проведено комплексное исследование распространения, биологии и экологии близкородственных видов комаров рода *Aedes* подрода *Stegomyia*. Методом ДНК-баркодирования охарактеризована изменчивость комаров подрода на юге европейской части России и на Дальнем

Востоке России. Выявлено 8 новых митохондриальных гаплотипов *Ae. sibiricus*, один *Ae. galloisi* и 10 новых гаплотипов у *Ae. flavopictus* по гену *COI*. Получены последовательности полного митохондриального генома *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus*, отловленных на Дальнем Востоке России, и клеточной культуры *Ae. albopictus* (С6/36). Митохондриальный геном *Ae. sibiricus* был получен впервые. Получены дополнительные данные для морфологической идентификации имаго *Ae. flavopictus*, *Ae. galloisi* и *Ae. sibiricus* по структурам гипопигиев.

Уточнены ареалы инвазивных и потенциально инвазивных видов комаров. Плотные синантропные популяции комаров *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* обнаружены впервые. Описано ежегодное расширение ареала *Ae. albopictus* за период 2017-2021 гг. Определены экологические факторы, лимитирующие инвазию *Ae. albopictus* на юге Русской равнины. Определены экологические факторы, лимитирующие преимагинальное развитие *Ae. albopictus*. Проведено экспериментальное измерение скорости преимагинального развития *Ae. albopictus*, в том числе в условиях конкуренции. Изучено пищевое поведение *Ae. albopictus* на личиночных стадиях развития. Выявлены экологические предпочтения самок этого вида при выборе мест для откладки яиц.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Полученные данные могут быть использованы в качестве дополнения фундаментальных знаний о генетических и экологических механизмах инвазии насекомых. Изучение расширения экологической ниши насекомых с переходом их к синантропному существованию представляет фундаментальный интерес для эволюционной экологии и генетики. Изучение экологической специализации популяций близкородственных видов имеет важное теоретическое значение для раскрытия механизмов микроэволюционных процессов.

Данные о границах распространения видов комаров, их экологических предпочтениях и факторах, лимитирующих их распространение, могут быть использованы для планирования и проведения противоэпидемиологических мероприятий. Данные по морфологии комаров – переносчиков вирусных заболеваний человека и животных могут быть включены в методические указания для врачей-паразитологов и сотрудников санитарно-эпидемиологических служб.

Положения, выносимые на защиту:

1. Установлено расширение ареала *Aedes albopictus* от зоны субтропиков до степных районов Крыма и Черноморского побережья Кавказа. Выявлено расширение ареалов трёх видов комаров подрода *Stegomyia* на территории Сибири и Дальнего Востока: *Ae. galloisi* и *Ae. flavopictus* – в зоне умеренного муссонного климата, *Ae. sibiricus* – в зонах муссонного, умеренного и континентального климата.

2. Определены предпочтения при откладке яиц в солоноватые водоемы с твердыми стенками у *Ae. albopictus*. Выявлено, что лимитирующим фактором развития личинок является содержание растворённого в воде кислорода. Экспериментально установлено, что конкурентным преимуществом *Ae. albopictus* является способность поедать личинок младшего возраста своего и других видов.
3. На основании анализа гипопигия самцов определены видоспецифичные морфологические признаки для определения *Ae. albopictus*, *Ae. galloisi*, *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus*. Показано что ДНК-баркодирование является достоверным методом определения видов *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. flavopictus*, *Ae. cretinus*.
4. COI митохондриальные гаплотипы комаров подрода *Stegomyia* образуют клады, соответствующие видам *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. flavopictus* и *Ae. cretinus*. Митохондриальные гаплотипы *Ae. sibiricus* кластеризуются вместе с *Ae. galloisi*. Анализ медианных сетей показал низкое генетическое разнообразие COI митохондриальных гаплотипов *Ae. sibiricus* и *Ae. flavopictus*, что свидетельствует о начальной стадии формирования синантропных популяций.
5. Получены и аннотированы нуклеотидные последовательности митохондрий *Ae. flavopictus*, *Ae. sibiricus* и *Ae. albopictus*. Показано, что наибольшей внутривидовой изменчивостью у митохондрий *Ae. flavopictus* и *Ae. albopictus* обладают гены *ND5* и *ND6*. У видов *Ae. sibiricus* и *Ae. galloisi* нуклеотидная дивергенция не превышала уровень внутривидовых различий.

Вклад автора. Работа выполнена автором лично. Основная часть материалов для проведения исследования получена автором самостоятельно.

Апробация работы. Результаты исследования были представлены на десяти научных конференциях: XXVI Международном энтомологическом конгрессе (Helsinki, Finland, 2022); XVI съезде Русского энтомологического общества (Москва, Россия, 2022); IV международной конференции «Современные проблемы биологической эволюции» (Москва, 2022); научной конференции с международным участием «Генетические процессы в популяциях» (Москва, 2022); V международном симпозиуме «Чужеродные виды в Голарктике» Борок-6 (Углич, Россия, 2021); VII международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологической и химической экологии» (Москва, Россия, 2021); Научно-практической конференции «Международные Четвериковские чтения» (Пушино, Россия, 2020); VI международной научно-практической конференция «Актуальные проблемы биологической и химической экологии» (Москва, Россия, 2019); международной научной онлайн-конференции молодых учёных «Наука на благо человечества» (Москва, Россия, 2020); международном конгрессе «VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров,

посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы» (Санкт-Петербург, Россия, 2019).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано четыре работы в рецензируемых российских и зарубежных журналах, входящих в список ВАК.

Структура и объём работы. Настоящая работа включает оглавление, список сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений и список литературы из 322 источников. Диссертация изложена на 148 страницах, содержит 20 рисунков и 16 таблиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сборы комаров. Сбор комаров проводился в летние периоды 2017 – 2021 гг. Всего нами были получены выборки комаров подрода *Stegomyia* из 76 населённых пунктов. Были обследованы Краснодарский, Ставропольский, Приморский, Хабаровский и Красноярский края, Ростовская, Амурская, Еврейская автономная, Новосибирская, Томская, Омская области, а также республиках Адыгея, Крым и Карачаево-Черкесская. Количественные данные о сборах комаров представлены в таблице 1. Имаго отлавливали «на себе» эксгаустером, а также в местах днёвок и роения с помощью энтомологического сачка. Личинок комаров собирали в характерных местах выплода, естественного и искусственного происхождения. Отловленных насекомых помещали в 96% спирт. Все собранные экземпляры комаров анализировались индивидуально.

Оценка плотности популяции комаров. Оценку плотности популяции комаров проводили на основании активности нападения самок в вечерние часы (с 18:00 до 20:00). Во всех населённых пунктах учёты производили три исследователя одновременно, находившихся на некотором расстоянии друг от друга. Каждый исследователь садился на стул и обнажал ноги ниже колен. В течении 30 минут эксгаустером отлавливали всех нападающих самок комаров.

Идентификация комаров подрода *Stegomyia* по морфологическим признакам. Видовой статус комаров подтверждали путём сравнения с ключами из определителей (Гуцевич, 1970; Ree, 2003; Tanaka et al., 1979). Основными признаки для видовой идентификации комаров подрода *Stegomyia* являются окраска среднеспинки и строение половых органов самцов. На рисунке 1 мы обобщили и уточнили данные признаки для видов, обитающих в Российской Федерации. Различия в форме бородавок коксита *Ae. flavopictus* и *Ae. albopictus*, среднеспинка *Ae. cretinus* отрисованы впервые. Различия бородавок коксита *Ae. galloisi* и *Ae. sibiricus* ранее приводилось в схематичном варианте (Данилов, 1978). Мы уточнили эти различия, показав изменение пространственной ориентации бородавки коксита. На наш взгляд, эта особенность морфологии может влиять на репродуктивную изоляцию между видами.

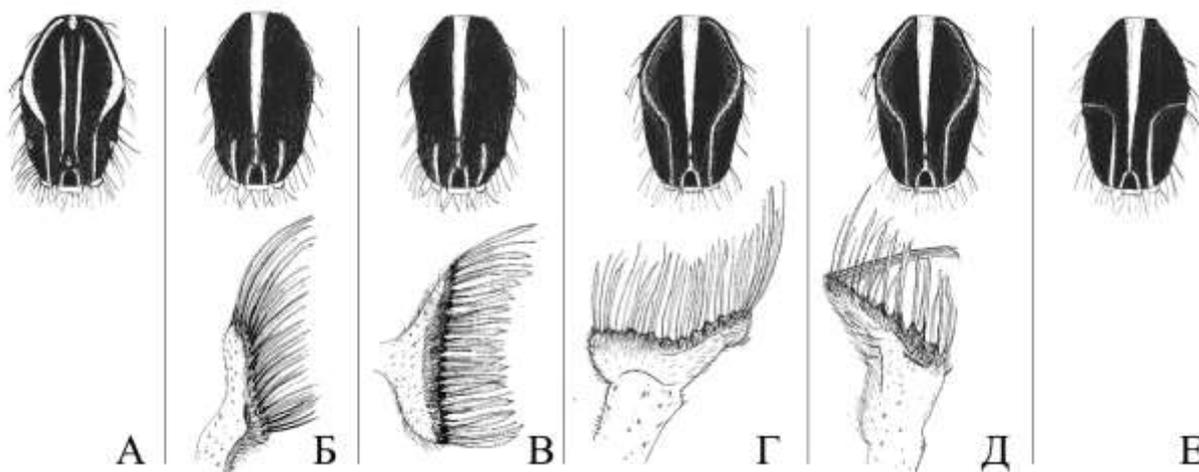


Рисунок 1 – Морфологические отличия комаров подрода *Stegomyia* РФ

На рисунке 1 показаны Среднеспинки и строение бородавок коксита комаров: А. *Ae. aegypti*; Б. *Ae. albopictus*; В. *Ae. flavopictus*; Г. *Ae. galloisi*; Д. *Ae. sibiricus*; Е. *Ae. cretinus*.

Морфологическая идентификация личинок *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti* проводилась по типу чешуек щётки VIII членика брюшка и чешуек сифона.

Оценка активности нападения самок комаров. Оценку суточной активности нападения самок проводили методом, схожим с методом определения плотности популяций комаров. Мы осуществляли отлов «на себе» в течении суток, 01.07.2019 и 28.09.2019 в отдалённых друг от друга точках ареала мкр. Лазаревское и Центрального Большого Сочи. Первую половину каждого часа вёлся учёт, вторую половину часа – перерыв. Места для учёта были выбраны в отдалении от других людей и животных таким образом, чтобы численность комаров *Ae. albopictus* была высокой.

Измерение характеристик личиночных биотопов. В личиночных биотопах с помощью комбинированного кондуктометра «Hanna Combo HI 98129» измеряли водородный показатель (рН), температуру воды (Т), уровень общей минерализации (TDS), удельную электропроводность воды (ЕС). В каждой точке измерение параметров проводили с двойной повторностью. После каждого измерения приборы промывали в чистой воде. Для оценки общей жёсткости воды (Gh), карбонатной жёсткости (Kh) и содержания кислорода в воде (O₂) применяли аквариумные экспресс тесты Tetra. Всего было обследовано 52 местообитания личинок *Ae. albopictus*.

Выявление предпочтений самок *Ae. albopictus* при выборе мест для откладки яиц. Эксперимент проводили в районах естественного обитания комаров. Под сеточным тентом без дна 3 на 5 метров устанавливали емкости, заполненные водой. В наблюдениях поочередно варьировали объём воды – U

(0,1 л., 0, 25 л., 1 л., 5 л., 10 л., 100 л.), кислотность – рН (4, 5, 6, 7, 8), солёность воды – S (0,5 ‰, 0,2‰, 5 ‰, 10 ‰, 20 ‰, 30 ‰), содержание в воде природных органических веществ – Org (чистая вода / вода с листовым опадом / вода с примесью почвы и листовым опадом). В каждом наблюдении мы меняли только один параметр, остальные параметры оставляли стандартными: U = 1 л., рН = 7, S = 0,5 ‰, Org = чистая вода. Для каждого эксперимента мы запускали внутрь тента по 200 накормленных кровью самок *Ae. albopictus* и, по прошествии 4 суток, оценивали, в каких ёмкости они отложили какое количество яиц.

Оценка скорости развития комаров *Ae. albopictus* на преимагинальных стадиях. Оценку скорости развития комаров проводили экспериментально в стандартных лабораторных условиях и в природных условиях в двух удалённых друг от друга точках ареала *Ae. albopictus*: в Краснодарском крае (в окрестностях пгт. Лазаревское) и Республике Адыгея (в окрестностях г. Майкоп). Развитие личинок наблюдали в отдельных резервуарах объёмом 120 мл, заполненных водой на 60 мл. Переход на следующую стадию развития контролировали по наличию экзувия. Помимо числа линек, учитывали смертность комаров, а также оценили продолжительность преимагинального развития *Ae. albopictus* в условиях внутривидовой конкуренции и в условиях конкуренции с личинками *Culex pipiens* L., 1758. В экспериментальных исследованиях использовали 20000 личинок.

Изучение пищевого поведения. Мы оценили частоту поедания личинками *Ae. albopictus* четвёртого возраста особей младших возрастов своего и чужого вида. Для этого мы поместили личинок *Ae. albopictus* четвёртого возраста на сутки в лунки с личинками *Ae. albopictus* и *Cx. pipiens* первого возраста и подсчитывали, сколько личинок первого возраста будет съедено. По завершению наблюдения мы разделили личинок 4-го возраста на 6 групп в соответствии с количеством съеденных ими особей младшего возраста. В эксперименте наблюдения велись за 1440 личинками 4-го возраста *Ae. albopictus*. Аналогичные наблюдения были проведены для личинок 4-го возраста *Cx. pipiens*.

Выделение ДНК и проведение ПЦР. Тотальную ДНК выделяли из имаго и личинок комаров фенол-хлороформным методом (Маниатис и др., 1984). ПЦР проводили в конечном объеме 25 мкл с использованием наборов для амплификации EncycloPlus PCR kit (Евроген, Россия) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

BOLD фрагменты митохондриального гена *COI* получали с помощью стандартных праймеров LCO1490 и HCO2198 (Folmer et al., 1994). Для получения последовательностей митохондриальных геномов *Ae. flavopictus*, *Ae. sibiricus* и *Ae. albopictus* за основу была взята методика, описанная в оригинальной работе (Battaglia et al., 2016). Для каждого вида мы выбрали дополнительные праймеры

с помощью программного обеспечения Primer3 (v. 0.4.0). Полученные фрагменты секвенировали.

Элюция продуктов амплификации. Фрагменты, полученные в результате амплификации, очищали в 1.5%-ном агарозном геле. Элюция фрагментов из геля проводилась с использованием набора для элюции Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research, США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

Секвенирование. Нуклеотидную последовательность ПЦР-фрагментов определяли с прямого и обратного праймеров на приборе 3500 Genetic Analyzer с использованием реагентов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) согласно рекомендациям фирмы-производителя.

Биоинформационный анализ. Анализ хроматограмм проводили с помощью программы ChromasPro 13.3 (Technelysium, Australia). Выравнивание последовательностей, полученных в результате секвенирования, с последовательностями, размещенными в базах данных GenBank, было выполнено с использованием ресурсов NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Для построения кладограммы применяли программу MEGA7 (Kumar et al., 2016) с использованием метода ближайших соседей (NJ). Статистическую достоверность полученного дерева оценивали при помощи величины бутстрэп-поддержки с числом репликаций 1000. Количественные данные о величине нуклеотидной изменчивости выборки и сравнение межгрупповой и внутригрупповой изменчивости проводили в программе MEGA7 (Kumar et al., 2016).

Медианная сеть митохондриальных гаплотипов была построена в программе PopART (Leigh et al., 2015) с применением алгоритма TCS (Clement et al., 2000).

Статистический анализ. В экспериментах по изучению предпочтений самок при выборе мест для откладки яиц, пищевого поведения и продолжительности преимагинального развития комаров для каждой экспериментальной группы были рассчитаны частоты признаков и вычислены средние квадратические отклонения частот. Расчёт производили по стандартной методике (Плохинский, 1982). Для подтверждения достоверности различий между группами, выделенными в ходе эксперимента, выборки сравнивали между собой с использованием критерия соответствия Пирсона. Все расчёты и построения выполнялись в программе Statistica 12 (Дюк, 2003; Afifi, 2003).

Построение рисунков географического расположения точек отлова комаров. Первичное построение проводилось в геоинформационной системе «Панорама 14.0.1». Данные наблюдаемых температур были взяты из научно-прикладного справочника «Климат России» с шагом 2,5 минуты. Изотермы построены методом интерполирования. Итоговый вариант рисунка оформлен в программе Adobe Illustrator 2020.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований нами было обнаружено 6 видов комаров подрода *Stegomyia*: *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. cretinus*, *Ae. flavopictus*, *Ae. galloisi*, *Ae. sibiricus*. Данные о сборах комаров представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Количественные данные о сборах комаров

Населённый пункт, месяц, год учёта	Вид	Количество особей определённых морфологически	Плотность. Количество нападающих самок, (шт/30 мин)
Хабаровский край			
г. Хабаровск, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	150	122
г. Хабаровск, 08.2021	<i>Ae. flavopictus</i>	201	201
	<i>Ae. sibiricus</i>	27	27
г. Вяземский, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
	<i>Ae. sibiricus</i>	1	-
г. Бикин, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	14
с. Маяк, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
с. Лидога, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
г. Комсомольск-на-Амуре, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	150	89
Приморский край			
пгт. Лучегорск, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
с. Пожарское, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
г. Дальнереченск, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
п. Горные ключи, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
с. Дмитриевка, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i> ,	15	-
	<i>Ae. galloisi</i>	1	-
г. Уссурийск, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	100	82
г. Владивосток, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	150	106
г. Владивосток, 08.2021	<i>Ae. flavopictus</i>	400	207
	<i>Ae. sibiricus</i>	62	38
п. Русский, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	11
п. Русский, 08.2021	<i>Ae. flavopictus</i>	15	9
	<i>Ae. sibiricus</i>	7	5
г. Фокино, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
г. Находка, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	150	98

г. Партизанск, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
с. Барабаш, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
Еврейская автономная область			
пгт. Теплозёрск, 07.2020	<i>Ae. flavopictus</i>	15	-
Амурская область			
г. Благовещенск, 07.2020	<i>Ae. sibiricus</i>	35	68
г. Свободный, 07.2020	<i>Ae. sibiricus</i>	26	-
Красноярский край			
г. Красноярск, 08.2021	<i>Ae. sibiricus</i>	31	30
Томская область			
г. Томск, 08.2021	<i>Ae. sibiricus</i>	36	36
Новосибирская область			
г. Новосибирск, 08.2021	<i>Ae. sibiricus</i>	32	15
г. Бердск, 08.2021	<i>Ae. sibiricus</i>	35	31
Республика Крым			
г. Севастополь, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	50	28
г. Севастополь, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	56
г. Ялта, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	15	14
г. Ялта, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	119
г. Алушта, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	100	38
г. Керчь, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	53
Краснодарский край и Республика Адыгея			
пгт. Джубга, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	21	-
пгт. Джубга, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	50	47
пгт. Джубга, 07.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	129
пгт. Агой, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Туапсе, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	50	-
г. Туапсе, 08.20.2020	<i>Ae. albopictus</i>	50	59
г. Туапсе, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	87
с. Шепси, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	50	-
мкр. Совет Квадже, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	12	-
аул Хаджико, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	21	-
с. Зубова Щель, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	17	-
с. Зубова Щель, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	300	41

мкр. Лазаревское, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	20	-
мкр. Лазаревское, 06.2019	<i>Ae. albopictus</i>	640	59
с. Детляжка, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
мкр. Уч-Дере, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	19	-
с. Пластунка, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
мкр. Нижняя Хобза, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	26	-
пгт. Сириус, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	9	-
пгт. Красная поляна, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	48	-
пгт. Красная поляна, 07.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	47
г. Адлер, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	32	-
г. Адлер, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	50	-
	<i>Ae. cretinus</i>	12	-
с. Эстодок, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	16	-
с. Хоста, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	11	-
г. Сочи, 08.2017	<i>Ae. albopictus</i>	59	-
г. Сочи, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	1865	190
	<i>Ae. aegypti</i>	5	-
г. Сочи, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	300	237
ст. Ханская, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Белореченск, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Майкоп, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	44	-
г. Майкоп, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	300	110
г. Апшеронск, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Хадыженск, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
с. Гайдук, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Анапа, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	4	2
г. Анапа, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	50	18
г. Анапа, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	70
г. Геленджик, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Абинск, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	21	-
г. Абинск, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	50	21
пгт. Ильский, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
пгт. Яблоневский, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	15	-

г. Краснодар, 08.2018	<i>Ae. albopictus</i>	50	48
г. Краснодар, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	300	134
г. Краснодар, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	129
г. Лабинск, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Армавир, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	67	67
г. Кропоткин, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Кореновск, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	15	11
г. Тимашевск, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	15	10
г. Усть-Лабинск, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
с. Цибанобалка, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
ст. Ладожская, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	15	-
г. Тихорецк, 08.2020	<i>Ae. albopictus</i>	100	51
г. Тихорецк, 08.2021	<i>Ae. albopictus</i>	115	70
Абхазия			
г. Гагра, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	75	75
с. Гудаута, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	79	79
г. Сухум, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	67	67
с. Адзюбжа, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	51	51
г. Очамчыра, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	126	126
г. Гали, 08.2019	<i>Ae. albopictus</i>	46	46
г. Новый Афон, 07.2021	<i>Ae. albopictus</i>	150	46
с. Хиацха, 07.2021	<i>Ae. albopictus</i>	98	26

Примечание: 1. В каждой точке мы собирали всех комаров, относящиеся к роду *Aedes* и затем проводили их видовую идентификацию в лаборатории. Отсутствие определённого вида комаров в точке сбора означает его отсутствие, а не избирательность при сборах.

2. В населённых пунктах Биробиджан, Смидович (Еврейская Автономная область), Чегдомын, Берёзовый, Де-Кастри (Хабаровский край), Омск, Куйбышев, Чулым (Омская область), Изобильный, Ставрополь, Невинномысск, Красногвардейское, Барсуковская (Ставропольский край), Журавская, Березанская, Гостагаевская, Новомалороссийская (Краснодарский край) комаров подрода *Stegomyia* не обнаружено.

На юге европейской части России нами было обнаружено 3 вида комаров подрода *Stegomyia*: *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. cretinus*. *Ae. cretinus* был обнаружен нами в двух личиночных биотопах (автомобильных покрышках) на

окраине г. Адлер и выращен до имаго. В одном из них были личинки только этого вида, в другом личинки находились совместно с личинками *Ae. albopictus*. *Ae. aegypti* был встречен нами в городе Сочи в единственном местообитании (ул. Дагомысская, учёт 27.08.2019). Самки комаров нападали совместно с *Ae. albopictus*. Мы отслеживали изменение ареала *Ae. albopictus* с 2017 по 2021 гг. По нашим данным, в 2021 году северная граница распространения *Ae. albopictus* проходила через города Тимашевск, Тихорецк, Кропоткин и Армавир. Современная северная и восточная границы ареала *Ae. albopictus* соответствуют изогисте 550 мм в год и влажности воздуха 60% в летний период и ограничиваются разнотравно-типчачково-ковыльными степями, мало пригодными для существования *Ae. albopictus*. В 2020 г. *Ae. albopictus* был найден нами в двух населённых пунктах полуострова Крым: в г. Севастополе и в г. Ялте. В 2021 г. ареал *Ae. albopictus* расширился вдоль ЮБК до г. Алушта, а также мы обнаружили комаров этого вида в г. Керчь. Нами проведён молекулярно-генетический анализ изменчивости гена *COI* мтДНК для 10 особей, собранных в г. Севастополе, и 10 особей, собранных в г. Ялте. При сравнении последовательностей *COI* выявлено 2 митохондриальных гаплотипа. Данные гаплотипы были обнаружены ранее в популяциях комаров на территории Краснодарского края (Фёдорова и др., 2019). Все проанализированные особи из г. Севастополя имели редкий на территории Краснодарского края гаплотип, найденный ранее только у одной особи в пригороде г. Новороссийска. Гаплотип, выявленный нами в г. Ялте, является основным гаплотипом инвазивной популяции *Ae. albopictus* Краснодарского края. Его частота в сборах достигает 80%. Однообразие митохондриальных гаплотипов в Крыму можно объяснить эффектом основателя и недавним появлением комаров *Ae. albopictus* на полуострове.

На Дальнем Востоке Российской Федерации нами было обнаружено 3 вида комаров подрода *Stegomyia*: *Ae. flavopictus*, *Ae. galloisi*, *Ae. sibiricus*. В Восточной и Западной Сибири был обнаружен один вид – *Ae. sibiricus*. *Ae. flavopictus* занимает территорию от южных границ РФ до г. Комсомольска на Амуре и Еврейской АО. На территории Приморского края нами было отловлено два самца *Ae. galloisi*. *Ae. sibiricus* присутствовал во всех исследованных нами районах Дальнего Востока, а также был встречен нами в Сибири (Красноярском крае, Томской и Новосибирской областях).

На Дальнем Востоке приуроченность комаров подрода *Stegomyia* к флористическим районам выражена слабо. *Ae. sibiricus* чаще всего встречался в населённых пунктах сельского типа и на окраинах городов, где произрастало много деревьев. Плотность популяции возрастала с продвижением на север Дальневосточного региона. *Ae. flavopictus* встречался в антропогенно-трансформированных территориях, лишенных растительности: на свалках, во

дворах многоэтажных зданий, в промышленных зонах. Популяция *Ae. flavopictus* имела максимальную плотность в городах Владивосток и Хабаровск. Личинки *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* были обнаружены нами в ёмкостях антропогенного происхождения: в банках, вазонах, автомобильных покрышках, заполненных дождевой водой. В дуплах деревьев, считающихся основными личиночными биотопами для комаров подрода *Stegomyia*, нами были найдены личинки только одного вида *Ae. sibiricus*.

Мы оценили суточную активность имаго *Ae. albopictus*. Учёты, выполненные в различные месяцы и на разных территориях, существенно различались по абсолютной численности особей, однако совпадали по времени активности. На рисунке 2 представлены учёты, проведённые в мкр. Лазаревское 01.06.2019 и в мкр. Сочи 27.08.2019. Самки *Ae. albopictus* атакуют в течение всего светлого периода суток, с бимодальными пиками в течение 3-4 часов от рассвета и перед закатом, и небольшим пессимумом в течение двух часов в районе полудня. В утренние часы мы также наблюдали повышение активности роящихся самцов. После заката (на рисунке 2 время заката соответствует интервалу с 19 до 20 часов) наблюдали резкое снижение активности имаго.

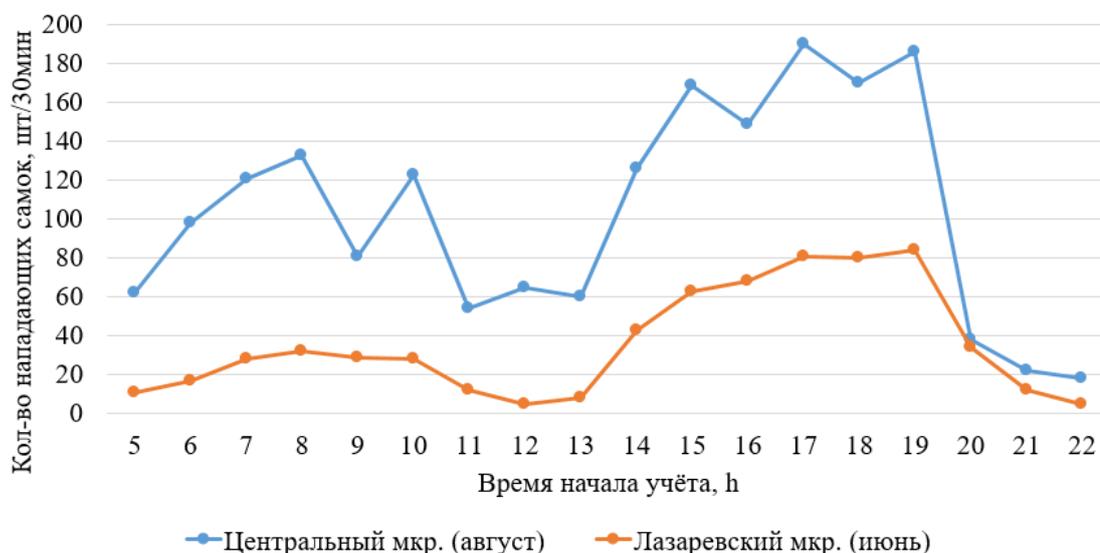


Рисунок 2 – Суточная активность нападения самок *Ae. albopictus*

На рисунке 2 вертикальными линиями отмечено время рассвета и заката, пунктиром – для наблюдений в Центральном мкр., сплошной линией – в Лазаревском мкр.

Нами было изучено 52 личиночных биотопа *Ae. albopictus* на территории Краснодарского края и Республики Адыгея. Численность личинок варьировала от единичных особей до 200 штук. Чаще всего личинки *Ae. albopictus* обитают совместно с личинками рода *Culex* (*Culex pipiens* Linnaeus, 1758; *Culex torrentium*

Martini, 1925); реже – с другими видами *Aedes* (*Aedes koreicus* Edwards, 1917; *Aedes geniculatus* Olivier, 1791); очень редко (не чаще 5 %) – с личинками *Anopheles* (*Anopheles maculipennis* s. s. Meigen, 1818; *Anopheles plumbeus* Stephens, 1828). Личинки *Ae. albopictus* преимущественно развивались в автомобильных покрышках, бочках, срезанных канистрах для воды, вазонах на кладбищах, в различных ёмкостях на мусорных свалках.

Анализ характеристик личиночных биотопов указывает на наличие избирательности самок *Ae. albopictus* при выборе мест откладки яиц. В личиночных биотопах нами были измерены показатели общей (Gh) и карбонатной (Kh) жёсткости воды, уровень растворённого в воде кислорода (O2), водородный показатель воды (pH), температуру (T), уровень общей минерализации (TDS), электропроводность воды (ES). Данные измерений представлены на рисунке 3.

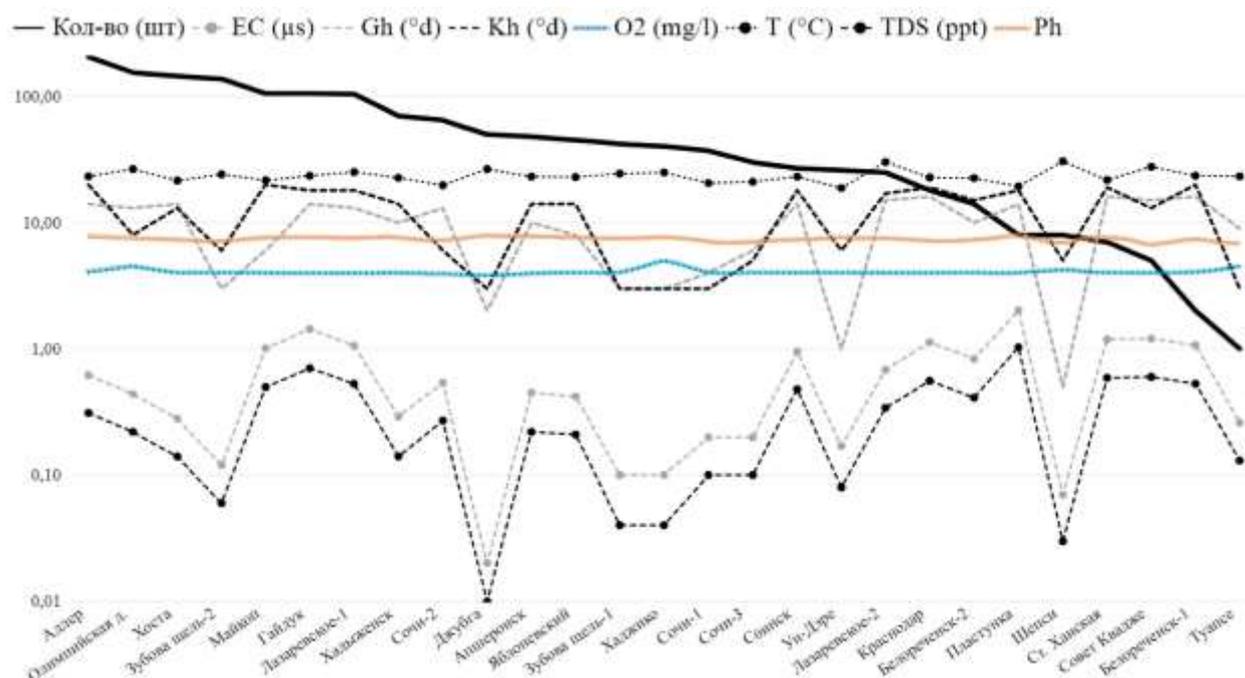


Рисунок 3 – Характеристика личиночных биотопах *Ae. albopictus* (параметры представлены в логарифмической шкале)

Большинство показателей изменялись в широких пределах. Меньше всего изменялись значения растворённого в воде кислорода: от 3,8 до 4,5 мг/дм³, и водородного показателя воды: от 7.1 до 7.9. Мы сравнили характеристики личиночных биотопов *Ae. albopictus* с характеристиками личиночных биотопов *Cx. pipiens* и *An. plumbeus*. В местообитаниях *Cx. pipiens* содержание растворённого в воде кислорода менялось от 1,5 до 6,0 мг/дм³, а кислотность воды – от 7.1 до 8.7. В местообитаниях *An. plumbeus* содержание растворённого в воде кислорода менялось от 1,5 до 4,1 мг/дм³, а кислотность воды – от 5.0 до 7.5. Мы

предполагаем, что эти параметры могут служить лимитирующими для развития личинок *Ae. albopictus*.

Проведена серия экспериментов для выявления предпочтений самок *Ae. albopictus* при откладке яиц. При наличии вариации воды по солёности от 0,5 ‰ до 30 ‰ самки *Ae. albopictus* предпочитали откладывать яйца в ёмкости с наиболее солёной водой. При наличии выбора из ёмкостей различного размера самки *Ae. albopictus* предпочитали резервуары объёмом 1-10 литров, заполненные водой. При наблюдении за откладкой яиц самками *Ae. albopictus* в водные резервуары с различной кислотностью мы пришли к выводу, что значения pH ниже 4 являются непригодными для откладки яиц в представлении самок *Ae. albopictus*, однако вариация водородного показателя от слабокислых до слабощелочных значений не влияет на выбор самок. Наличие листового опада или примеси почвы в воде так же не являются ключевым параметром при выборе самками *Ae. albopictus* мест для откладки яиц.

Проведена оценка продолжительности преимагинального развития *Ae. albopictus*. Самки *Ae. albopictus* начинали откладывать яйца на 2,5-5 день после кровососания небольшими порциями. Через 3-5 суток из яиц выходили личинки первого возраста. Средняя продолжительность личиночных стадий при избытке пищевых ресурсов и при стандартных климатических условиях составила 34 суток (в диапазоне 22-49 суток). Комары *Ae. albopictus* в августе прошли преимагинальные стадии развития на 3-8 дней быстрее, чем в июне. Продолжительность личиночного развития *Ae. albopictus* представлена на рисунке 4.

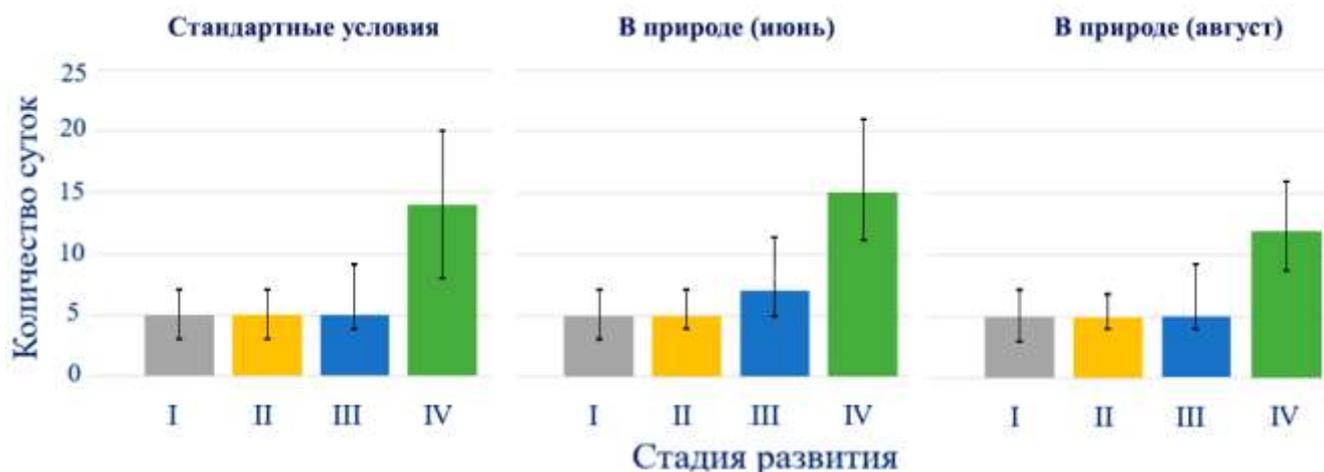


Рисунок 4 – Продолжительность личиночного развития *Ae. albopictus* в различных условиях

Примечание: на рисунках 4 и 5 по вертикальной шкале отложено количество суток, за которое большинство особей проходило стадию развития. По горизонтали отмечены стадии развития. Планки погрешности показывают интервал между минимальной и максимальной продолжительностью развития личинок на данной стадии, наблюдаемые в ходе эксперимента.

Проведен эксперимент для оценки влияния присутствия конкурентов (личинок других комаров) на продолжительность развития *Ae. albopictus*. При совместном нахождении с личинками *Cx. pipiens* личинки *Ae. albopictus* быстрее переходят со второго на третий возраст, нежели при отсутствии личинок *Cx. pipiens*. Ускорение развития наблюдалось как в случае недостатка пищевых ресурсов, так и в случае их избытка. При внутривидовой конкуренции продолжительность второго личиночного возраста у *Ae. albopictus* не изменялось. В случае наличия конкурентов своего вида прохождение 4 стадии задерживалось на 9 суток, при межвидовой конкуренции с *Cx. pipiens* – на 3,5 суток. Результаты эксперимента представлены на рисунке 5.

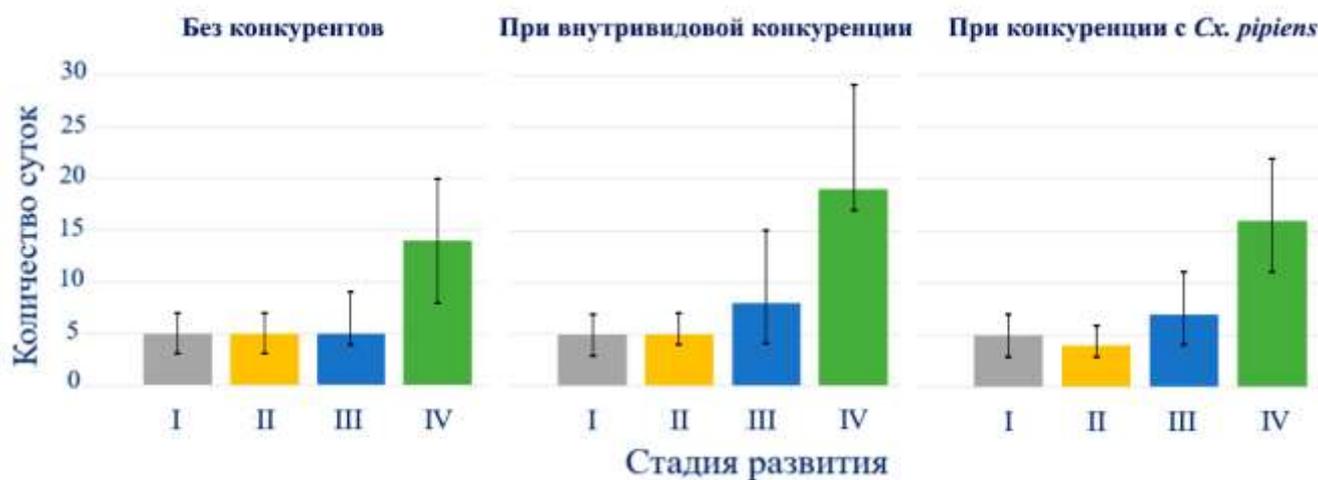


Рисунок 5 – Продолжительность личиночного развития *Ae. albopictus* в условиях конкуренции

Также учитывали смертность личинок в эксперименте. При развитии без конкуренции средняя смертность личинок *Ae. albopictus* составила 39,1%, а личинок *Cx. pipiens* – 32,1% от изначального количества. Таким образом, смертность личинок *Ae. albopictus* превышала таковую у *Cx. pipiens* на 7%. Смертность личинок *Ae. albopictus* в условиях межвидовой конкуренции при сравнении с личинками, развивающимися без конкурентов, значимо не менялась. Смертность *Cx. pipiens* в условиях конкуренции возросла на 25%, составив 56,8% от изначального количества. Таким образом, в условиях межвидовой конкуренции

жизнеспособность личинок *Ae. albopictus* в культурах превышала таковую у *Cx. pipiens*.

Считается, что по способу питания личинки кровососущих комаров относятся к безвыборным фильтраторам. Мы провели серию экспериментов для уточнения особенностей пищевого поведения личинок *Ae. albopictus*, в том числе при совместном развитии с личинками *Cx. pipiens*. Пищевые ресурсы личинок в эксперименте не лимитировались. Мы помещали по 5 личинок I возраста и 1 личинку IV возраста в индивидуальные пластиковые лунки в следующих комбинациях:

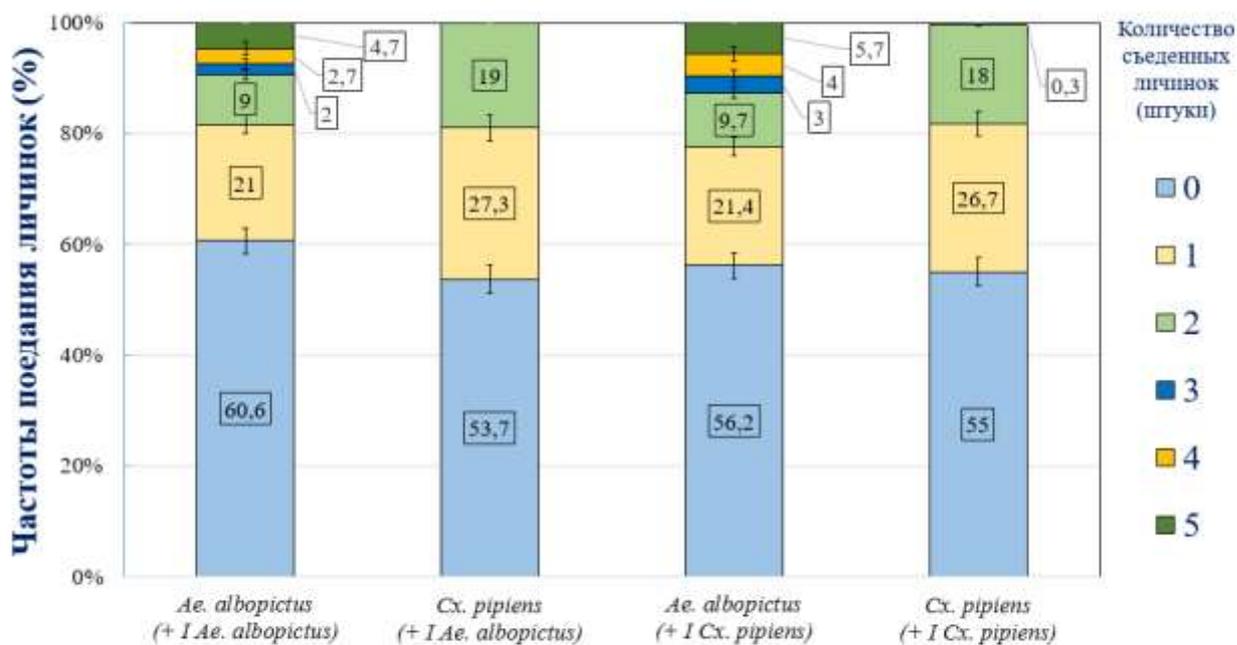
I возраст *Ae. albopictus* + IV возраст *Ae. albopictus*;

I возраст *Ae. albopictus* + IV возраст *Cx. pipiens*;

I возраст *Cx. pipiens* + IV возраст *Ae. albopictus*;

I возраст *Cx. pipiens* + IV возраст *Cx. pipiens*.

В ходе экспериментов было замечено, что некоторые личинки, хотя и не являлись активными хищниками-преследователями, проявляли активность в поиске пищи, меняли своё местоположение и выбирали объекты, с поверхности которых можно съесть перифитон. При удачной возможности такие личинки поедали личинок младших возрастов. Альтернативное поведение, с замиранием и редкой сменой положения личинок, у младших возрастов, напротив, могло служить фактором избегания хищников. На рисунке 6 показан график частот поедания личинками IV возраста личинок I возраста в различных комбинациях видов.



Вид личинок комаров IV возраста (вид личинок комаров I возраста)

Рисунок 6 – Частоты поедания личинок комаров I возраста личинками IV возраста

Значение критерия χ^2 при сравнении пищевой активности *Ae. albopictus* и *Cx. pipiens* при поедании личинок *Ae. albopictus* I возраста составляет 10.679, $p < 0.05$; при поедании личинок *Cx. pipiens* I возраста составляет 14.993, $p < 0.05$. Из рисунка видно, что у *Ae. albopictus* встречаются личинки, которые регулярно поедают личинок младших возрастов, при том что у *Cx. pipiens* поедание носит скорее случайный характер.

Для характеристики генетической изменчивости комаров мы определили митохондриальные гаплотипы по гену *COI* и провели анализ кластеризации митохондриальных гаплотипов *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. flavopictus*, *Ae. sibiricus* и *Ae. galloisi*. Места сбора комаров, взятых для анализа, представлены на рисунке 7 и рисунке 8.

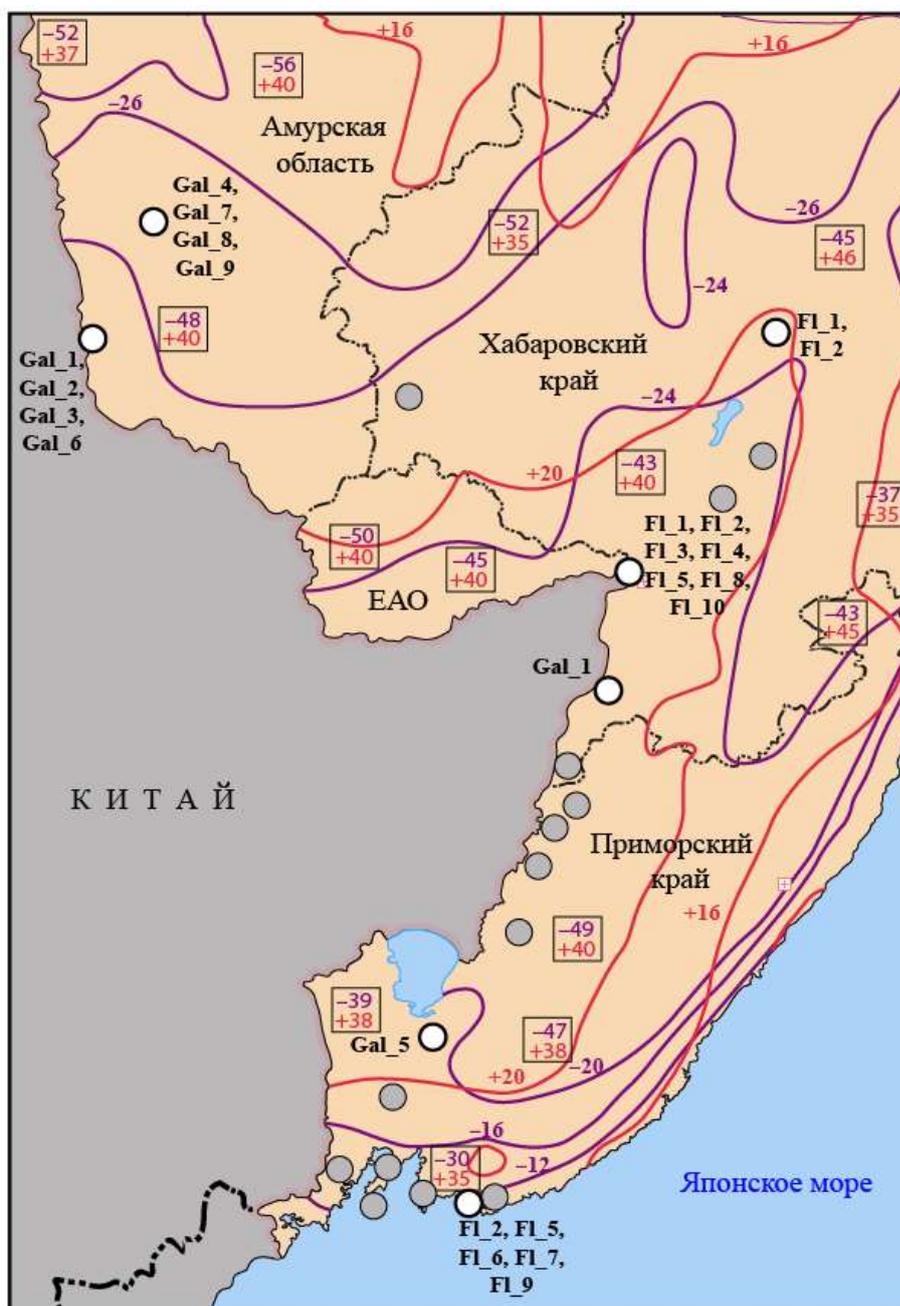


Рисунок 7 – Географическое расположение точек отлова комаров на территории Дальнего Востока России

Примечание: на рисунках 7 и 8 линиями обозначены изотермы января и июля. Цифрами в квадратах указаны максимальные и минимальные температурные значения, отмеченные для данного региона. Серыми пунсонами отмечены точки сбора комаров, определенных только морфологическим методом; белыми пунсонами отмечены места сборов комаров, проанализированных морфологически и методом ДНК-баркодирования. Описание митохондриальных гаплотипов дано в таблице 2.

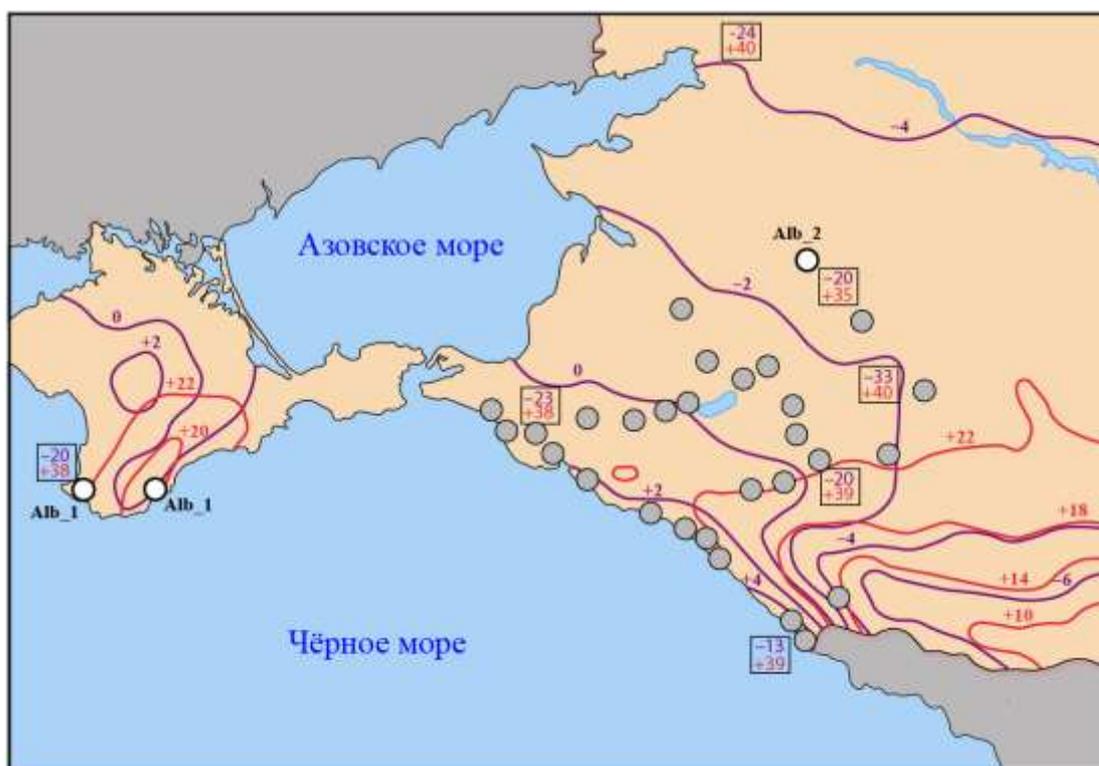


Рисунок 8 – Географическое расположение точек отлова комаров на юге европейской части России и полуострове Крым

Мы использовали в качестве контролей последовательности наиболее сходные с последовательностями, но представляющие максимально широкий охват ареала вида, включая как инвазивную часть ареала, так и нативный ареал в области тропиков Старого Света. Полученная кладограмма представлена на рисунке 9. На этом рисунке систематизированы прежде всего наши собственные данные, и мы не претендуем на решение проблемы реконструкции филогенетической истории комаров подрода *Stegomyia*, а также проблемы происхождения и экспансии инвазивных популяций *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti*, которая в настоящее время довольно запутана.

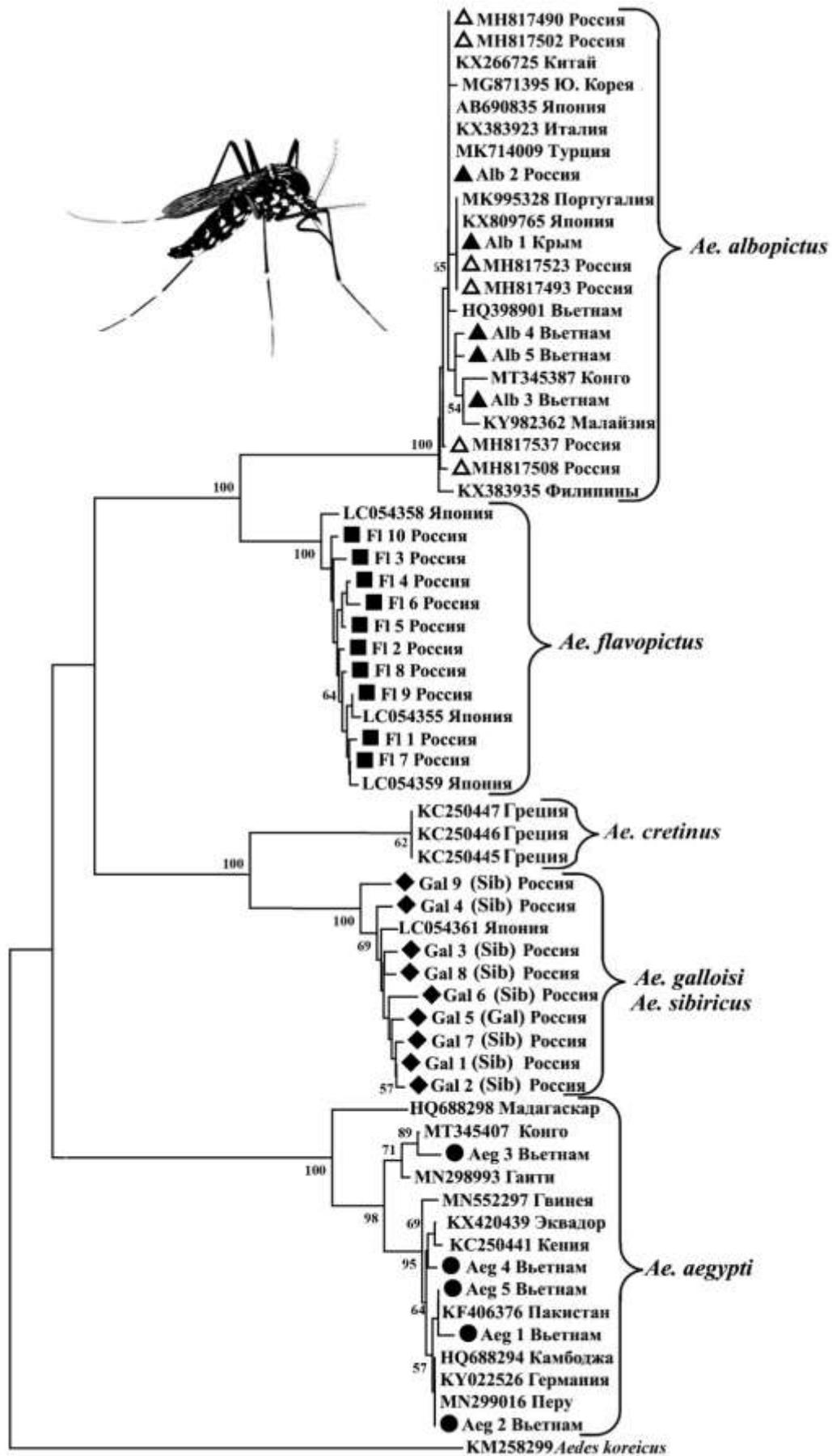


Рисунок 9 – NJ кладограмма BOLD фрагментов митохондриального гена *COI* комаров подрода *Stegomyia*, построенная в программе MEGA-X. Тёмными значками отмечены нуклеотидные последовательности, полученные нами (зарегистрированы в GenBank под номерами с MZ230336 по MZ230364); последовательности, взятые для сравнения, приведены с GenBank номером.

Мы выявили чёткую кластеризацию *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. cretinus* и *Ae. flavopictus*. Выявленные видовые кластеры имеют высокие значения бутстреп поддержки и точно соответствуют разным видам комаров, определённых по морфологическим признакам. Особым случаем является пара видов *Ae. sibiricus* и *Ae. galloisi*. Гаплотипы *Ae. sibiricus* кластеризуются вместе с *Ae. galloisi*.

Внутригрупповая изменчивость для кластера *Ae. galloisi* + *Ae. sibiricus* равна 0,005. Внутригрупповая изменчивость для кластера *Ae. flavopictus* равна 0,005. Внутригрупповая изменчивость для кластера *Ae. albopictus* равна 0,004. Внутригрупповая изменчивость для кластера *Ae. aegypti* равна 0,013. Межгрупповая изменчивость равна 0,09.

Мы выявили 10 гаплотипов *Ae. flavopictus*, 8 гаплотипов *Ae. sibiricus*, 1 *Ae. galloisi*, 5 гаплотипов *Ae. albopictus* и 5 гаплотипов *Ae. aegypti*. Гаплотип *Alb_1* характеризуется мутацией приводящей к замене изолейцина на валин в 21 позиции продукта концептуальной трансляции контрольной последовательности BOLD фрагмента *Ae. albopictus* (GenBank ID: MZ230337). Гаплотип *Alb_4* *Ae. albopictus* характеризуется мутацией, приводящей к замене лейцина на фенилаланин в позиции 193. Две значимые мутации выявлены в гаплотипах *Gal_2* *Ae. sibiricus* и *Gal_5* *Ae. galloisi* при сравнении с контрольной последовательностью BOLD фрагмента *Ae. galloisi* (GenBank ID: MZ230351). Гаплотип *Gal_2* характеризуется мутацией, приводящей к замене валина на изолейцин позиции 112, а гаплотип *Gal_5* характеризуется мутацией, приводящей к замене аденина на валин в позиции 125 продукта концептуальной трансляции. Полученные в данной работе нуклеотидные последовательности BOLD фрагментов комаров подрода *Stegomyia* перечислены в таблице 2.

Таблица 2 – Распространение митохондриальных *COI* гаплотипов комаров рода *Aedes* подрода *Stegomyia*

Вид	Имя гаплотипа	GenBank ID	Приморский край	Хабаровский край	Амурская область	Краснодарский край и п-ов. Крым	Вьетнам, г. Ханой
<i>Ae. albopictus</i>	<i>Alb_1</i>	MZ230336	-	-	-	10	-

<i>Ae. albopictus</i>	<i>Alb_2</i>	MZ230337	-	-	-	10	-
<i>Ae. albopictus</i>	<i>Alb_3</i>	MZ230338	-	-	-	-	4
<i>Ae. albopictus</i>	<i>Alb_4</i>	MZ230339	-	-	-	-	1
<i>Ae. albopictus</i>	<i>Alb_5</i>	MZ230340	-	-	-	-	1
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_1</i>	MZ230341	-	4	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_2</i>	MZ230342	1	5	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_3</i>	MZ230343	-	2	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_4</i>	MZ230344	-	1	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_5</i>	MZ230345	1	2	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_6</i>	MZ230346	1	-	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_7</i>	MZ230347	2	-	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_8</i>	MZ230348	-	1	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_9</i>	MZ230349	1	-	-	-	-
<i>Ae. flavopictus</i>	<i>Fl_10</i>	MZ230350	-	1	-	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_1</i>	MZ230351	-	1	5	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_2</i>	MZ230352	-	-	1	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_3</i>	MZ230353	-	-	1	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_4</i>	MZ230354	-	-	1	-	-
<i>Ae. galloisi</i>	<i>Gal_5</i>	MZ230355	-	1	-	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_6</i>	MZ230356	-	-	1	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_7</i>	MZ230357	-	-	1	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_8</i>	MZ230358	-	-	1	-	-
<i>Ae. sibiricus</i>	<i>Gal_9</i>	MZ230359	-	-	1	-	-
<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aeg_1</i>	MZ230360	-	-	-	-	11
<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aeg_2</i>	MZ230361	-	-	-	-	6
<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aeg_3</i>	MZ230362	-	-	-	-	2
<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aeg_4</i>	MZ230363	-	-	-	-	1
<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aeg_5</i>	MZ230364	-	-	-	-	3

Для анализа генетической изменчивости по гену *COI* двух потенциально инвазивных популяций Дальнего Востока России *Ae. galloisi* и *Ae. flavopictus* была построена медианная сеть митохондриальных гаплотипов. Она представлена на рисунке 10. Интересной особенностью *Ae. galloisi* и *Ae. flavopictus* является отсутствие чётко выраженного предкового гаплотипа, что обычно хорошо видно в случае инвазивных популяций (Андрианов и др., 2019). Тем не менее, все гаплотипы образуют компактную группу.

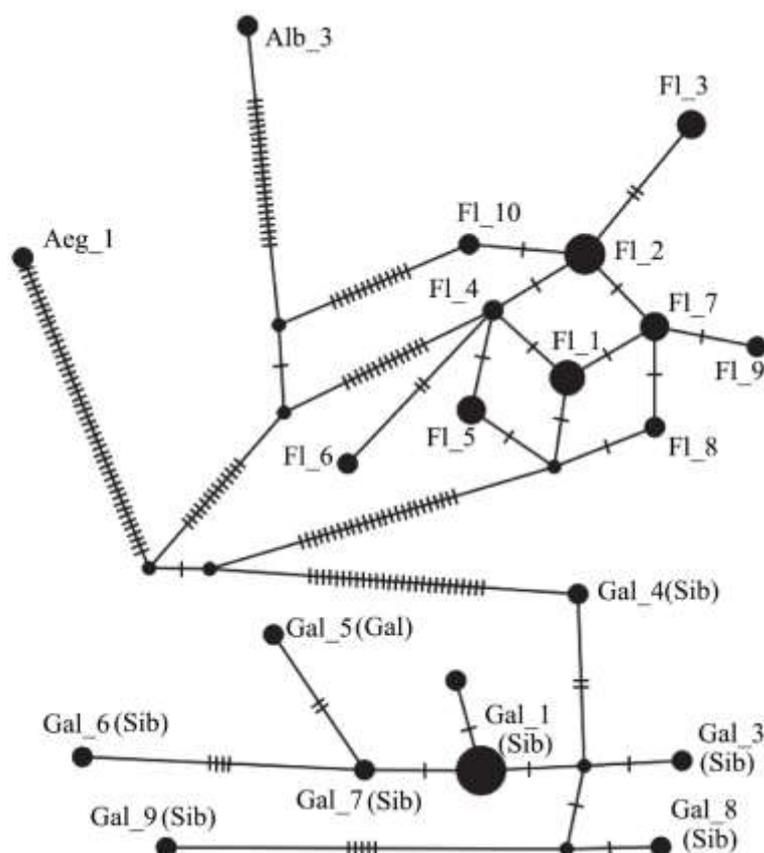


Рисунок 10 – Медианная сеть митохондриальных гаплотипов *Ae. flavopictus* и *Ae. galloisi* Дальнего Востока России, построенная в программе PopArt на основании нуклеотидного полиморфизма фрагмента гена *COI* длиной 658 п. н.

На рисунке 10 штрихами отмечены мутационные события, а размер кружков пропорционален числу синонимичных гаплотипов.

Чтобы получить больше информации о генетической изменчивости видов комаров внутри рода *Aedes* подрода *Stegomyia*, мы получили полные митохондриальные геномы *Ae. flavopictus*, *Ae. sibiricus* и культуры клеток С6\36 *Ae. albopictus*. Особи *Ae. flavopictus*, *Ae. sibiricus* для анализа, были взяты нами для анализа в природных популяциях: *Ae. flavopictus* – из города Хабаровска, Хабаровского края, отловлен 06.07.2020; *Ae. sibiricus* – из города Свободный, Амурской области, отловлен 23.07.2020. ДНК из клеток культуры С6\36 *Ae. albopictus* была выделена 22.07.2022. Мы провели сравнительный анализ наших последовательностей с последовательностями, имеющимися в GenBank. Полученная кладограмма представлена на рисунке 11.

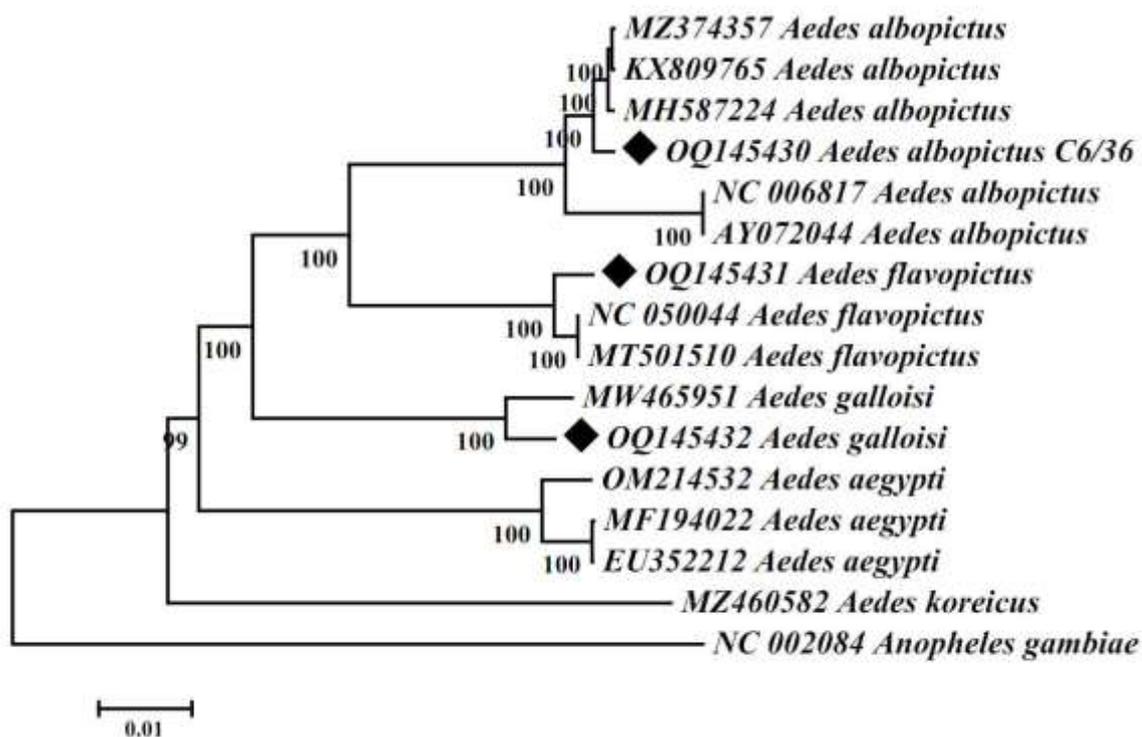


Рисунок 11 – NJ кладограмма на основе полных митохондриальных геномов комаров подрода *Stegomyia*, построенная в программе MEGA-X.

На рисунке 11 в качестве внешней группы взяты митохондрии комаров *Aedes koreicus* и *Anopheles gambiae*. Тёмными значками отмечены нуклеотидные последовательности, полученные в данном исследовании; последовательности, взятые для сравнения, приведены с GenBank номером.

Кластеризация, полученная при анализе полных митохондриальных геномов, сходна с кластеризацией, полученной по *COI*. *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, и *Ae. flavopictus* образуют самостоятельные кластеры с высокими значениями бутстреп поддержки и точно соответствуют разным видам комаров, определённым по морфологическим признакам. *Ae. sibiricus* кластеризуются вместе с *Ae. galloisi*.

Сравнение нового митогенома *Ae. flavopictus* с территории Хабаровского края с прототипной последовательностью *Ae. flavopictus* из Южной Кореи (ID NC_050044.1) показывает величину средней эволюционной дивергенции $d = 0,01$. Нуклеотидные различия распределены равномерно по митохондрию. Большая часть из этих замен молчащая. Из 3728 белок-кодирующих аминокислот изменены 35 (0,9 %). Как и ожидалось, наиболее консервативны гены цитохромоксидаз, а наиболее изменчивы гены наддегидрогеназ. Сравнение изменчивости митохондрия клеточной культуры C6/36 *Ae. albopictus* с прототипным митохондрию комара с острова Тайвань (GenBank ID NC_006817) представляет особый интерес в связи с особыми условиями отбора в

клеточной культуре. Наблюдаемые отличия соответствовали ожидаемым. Величина средней эволюционной дивергенции d оказалась равна 0,02. Большая часть из этих замен молчащая. Из 3728 белок-кодирующих аминокислот 126 изменены (3,4 %). Наиболее консервативными были гены цитохромоксидаз, за исключением гена *COIII*. Наиболее изменчивы гены наддегидрогеназ. Особая ситуация наблюдается при сравнении митохондрий близких видов: *Ae. galloisi*, GenBank ID MW465951, и нового митохондрия, полученного нами у комара *Ae. sibiricus* из Амурской области. Величина средней эволюционной дивергенции $d = 0,01$. Из 3728 белок-кодирующих аминокислот изменены 32 (0,86 %). Общая изменчивость низкая, причём изменчивость, наблюдаемая в генах цитохромов, не отличается от изменчивости наддегидрогеназ. Мы считаем, что результат, полученный нами в данном исследовании, позволяет заключить однозначную пригодность последовательности BOLD фрагмента митохондриального гена *COI* в качестве метода видовой идентификации комаров подрода *Stegomyia*. Дальнейшие исследования, на наш взгляд, должны быть направлены на уточнение видового статуса *Ae. sibiricus* и изучение синантропных популяций *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комары рода *Aedes* подрода *Stegomyia* являются эпидемиологически важными объектами. Нами было выявлено расширение ареалов у четырёх видов подрода, обитающих в Российской Федерации: *Ae. albopictus*, *Ae. flavopictus*, *Ae. galloisi* и *Ae. sibiricus*. Приспособления комаров подрода *Stegomyia* к обитанию вместе с человеком рассматривается нами как эволюционный процесс *in statu nascendi*. Мы обнаружили формирование синантропных популяций *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* на Дальнем Востоке России. Мы предполагаем, что в процессе синантропизации участвуют отдельные генотипы из уже имеющегося генетического разнообразия в автохтонных популяциях комаров. В новых условиях происходит направленная селекция особей с определённым генетическим составом. В результате такой селекции формируются генетически однородные инвазивные популяции, обитающие вместе с человеком. Нами было показано, что успешной инвазии *Ae. albopictus* в России способствовали: переход к синантропному образу жизни, изменение предпочтений самок комаров при выборе мест для откладки яиц и наличие адаптаций к существованию в условиях симпатрии на личиночной стадии. Характеристика митохондриальной изменчивости комаров подрода *Stegomyia*, и критический анализ накопленных данных о нуклеотидных последовательностях этих видов позволил нам предложить однозначный метод видовой идентификации по последовательностям BOLD фрагмента митохондриального гена *COI*. Сравнение полученных нами полных

митохондриальных геномов этих видов подтверждает сделанный вывод. Полный митохондриальный геном *Ae. sibiricus* получен нами впервые.

ВЫВОДЫ

1. Установлены современные ареалы пяти видов комаров *Aedes* подрода *Stegomyia*. Показано расширение ареала *Ae. albopictus* к 2021 году от Черноморского побережья Кавказа до г. Тихорецка Краснодарского края; на Южном берегу Крыма: от г. Севастополь до г. Алушты, а также в г. Керчь. Анализ гаплотипической изменчивости *Ae. albopictus* позволяет установить в качестве предковой популяции Крыма популяцию г. Новороссийска. *Ae. galloisi* обнаружен в Приморском крае. *Ae. flavopictus* распространён в Приморье и на юге Хабаровского края. *Ae. sibiricus* выявлен в Приморском, Хабаровском, Красноярском краях, Еврейском автономном округе, в Амурской, Новосибирской и Томской областях. *Ae. cretinus* найден в г. Адлер Большого Сочи.
2. Выявлено предпочтение при откладке яиц самками *Ae. albopictus* в солоновато водные водоёмы объёмом от 1 до 10 л. Лимитирующим параметром среды для развития преимагинальных стадий *Ae. albopictus* является содержание растворённого в воде кислорода. Показано конкурентное преимущество *Ae. albopictus* при развитии в смешанных культурах с комарами *Cx. pipiens* за счёт способности личинок четвёртого возраста *Ae. albopictus* питаться личинками первого возраста, как своего вида, так и вида-конкурента, а также за счёт повышенной смертности *Cx. pipiens* в смешанных культурах.
3. Уточнены отличительные морфологические признаки гипопигиев самцов четырёх видов комаров подрода *Stegomyia*: *Ae. albopictus*, *Ae. galloisi*, *Ae. flavopictus*, *Ae. sibiricus*, на основании собственных сборов комаров. Показано, что ДНК-баркодирование является достоверным методом определения четырёх видов комаров подрода *Stegomyia*: *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. flavopictus*, *Ae. cretinus*. Гаплотипы *Ae. sibiricus* кластеризуются вместе с *Ae. galloisi*, что не позволяет дифференцировать эти виды по изменчивости BOLD фрагмента митохондриального гена *COI*.
4. В синантропных популяциях *Ae. galloisi* и *Ae. flavopictus* отсутствуют характерные для инвазивных видов звёздчатая структура гаплотипической изменчивости и основной гаплотип, однако все гаплотипы этих видов образуют близкородственные группы с низким значением изменчивости.
5. Получены и аннотированы нуклеотидные последовательности митохондрий комаров *Ae. flavopictus*, *Ae. sibiricus* из природных популяций и *Ae. albopictus* из пересеваемой клеточной культуры С6/36.

Показано, что наибольшей внутривидовой изменчивостью у *Ae. flavopictus* и *Ae. albopictus* обладают гены *ND5* и *ND6*. При сравнении митохондрионов пары видов *Ae. sibiricus* и *Ae. galloisi* наибольшая изменчивость наблюдалась в генах *COI*, *COII*, *ND5* и *NDI*. Для этих видов обнаружена низкая нуклеотидная дивергенция (менее 1%), что не позволяет использовать данные митохондриальной изменчивости для дифференциации этих видов. Митохондрион *Ae. sibiricus* определен впервые.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Публикации в журналах, соответствующих Перечню ВАК

1. **Бега, А.** ДНК-баркодирование и морфологическая идентификация комаров рода *Aedes* (Diptera: Culicidae) подрода *Stegomyia* России и Северного Вьетнама / А. Бега, Т. Ву, И. И. Горячева, А. В. Москаев, Б. В. Андрианов // Генетика. — 2022. — Т. 58. — № 3. — С. 319-331
2. **Бега, А. Г.** Экология и распространение инвазивного вида комаров *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) на юге европейской части России / А. Г. Бега, А. В. Москаев, М. И. Гордеев // Российский журнал биологических инвазий. — 2021. — Т. 14. — № 1. — С. 27-37.
3. **Бега, А. Г.** Подходы к прогнозированию распространения инвазивного вида комаров *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) на территории Юга Европейской части России / А. Г. Бега, А. В. Москаев, М. И. Гордеев // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. — 2019. — № 3. — С. 67-76.
4. **Бега, А. Г.** Инвазия азиатского тигрового комара *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) на полуостров Крым / А. Г. Бега, А. В. Москаев, И. И. Горячева, Б. В. Андрианов, М. И. Гордеев // Бюллетень московского общества испытателей природы. Отдел биологический. — 2022. — Т. 127. — № 5. — С. 15-20.

Тезисы докладов в материалах конференций

1. Gordeev, M. Distribution of invasive species of mosquitoes *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) and *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) in the south of European part of Russia / M. Gordeev, **A. Bega**, A. Moskaev // ISBN XXVI International Congress of Entomology Helsinki. — 2022. — P. 283-283
2. **Бега, А. Г.** Экспансия комаров подрода *Stegomyia* (Diptera: Culicidae) в Российской Федерации / А. Г. Бега, А. В. Москаев, М. И. Гордеев, Б. В. Андрианов // XVI съезд Русского энтомологического общества. — М. — 2022. — С. 48-48

3. **Бега, А. Г.** ДНК-баркодирование комаров рода *Aedes* (Diptera: Culicidae) подрода *Stegomyia* Российской Федерации / А. Г. Бега, А. В. Москаев, И. И. Горячева, Б. В. Андрианов // Генетические процессы в популяциях. Материалы Научной конференции с международным участием, посвященной 50-летнему юбилею лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН и 85-летию со дня рождения академика Юрия Петровича Алтухова. — М. — 2022. — С 15-15
4. **Бега, А. Г.** Генетические механизмы синантропизации в инвазивных и автохтонных популяциях кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) / А. Г. Бега, А. В. Москаев, И. И. Горячева, М. И. Гордеев // Современные проблемы биологической эволюции: материалы IV Международной конференции к 875-летию Москвы и 115-летию со дня основания Государственного Дарвиновского музея. — М. — 2022. — С. 432-142.
5. **Бега, А. Г.** Продолжительность развития комаров *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) в условиях инвазии на территорию юга Европейской части России / А. Г. Бега, А. В. Москаев // Сборник материалов VII Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологической и химической экологии». — М. — 2021. — С. 110-117.
6. **Бега, А. Г.** Изучение вопросов экологии личинок инвазивного вида комаров *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) / А. Г. Бега, А. В. Москаев, М. И. Гордеев // Сборник материалов Международной научной онлайн-конференции молодых учёных (статьи преподавателей и аспирантов) «Наука на благо человечества 2020». — М. — 2020. — С. 245-250.
7. **Бега, А. Г.** Инвазивный вид комаров *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae) на территории Восточно-Европейской равнины / А. Г. Бега // Материалы международного молодежного научного форума. Ответственные редакторы: И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е. А. Антипов. — 2020.
8. **Бега, А. Г.** Распространение инвазионных видов комаров *Aedes albopictus* и *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) на территории юга Европейской части России / А. Г. Бега, А. В. Москаев, М. И. Гордеев // Сборник материалов XI Всероссийского диптерологического симпозиума (с международным участием). Русское энтомологическое общество; Зоологический институт РАН; Воронежский государственный университет. — Санкт-Петербург. — 2020. — С. 50-53.
9. Москаев, А. В. Хромосомный полиморфизм в популяциях малярийных комаров юга Европейской части России / А. В. Москаев, **А. Г. Бега**, А. А. Лопатин // VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы. Сборник тезисов Международного Конгресса. — 2019. — С. 131-131.

10. **Бега, А. Г.** Распространение комаров *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) на территории юга Европейской части России / А. Г. Бега, А. В. Москаев, М. И. Гордеев // Сборник материалов VI Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологической и химической экологии». Ответственный редактор Д.Б. Петренко. — 2019. — С. 89-91.