

*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](http://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.

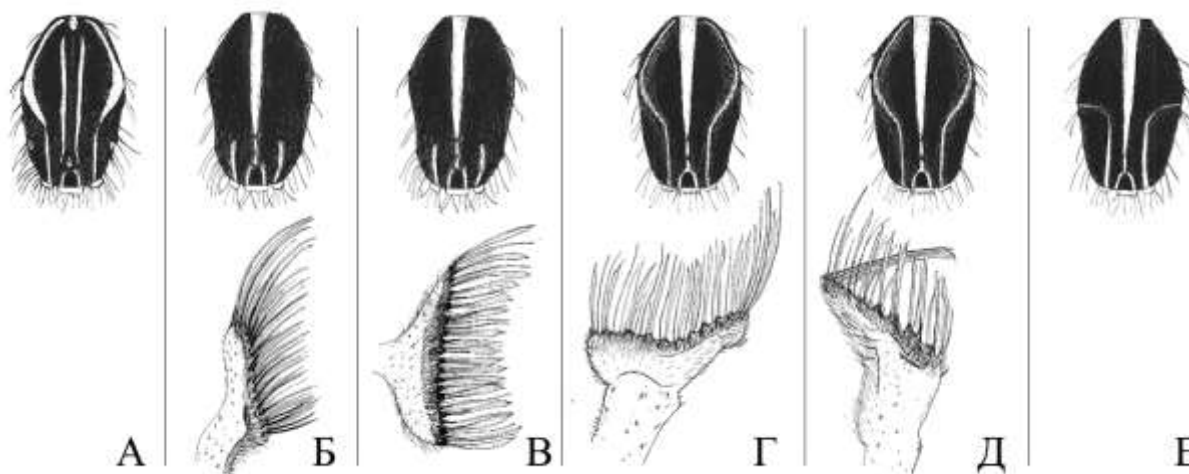


Рисунок 1 – Морфологические отличия комаров подрода *Stegomyia* РФ

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 (O<sub>2</sub>) 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 подобрали 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
<b>Абхазия</b>			
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* атаковали 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.

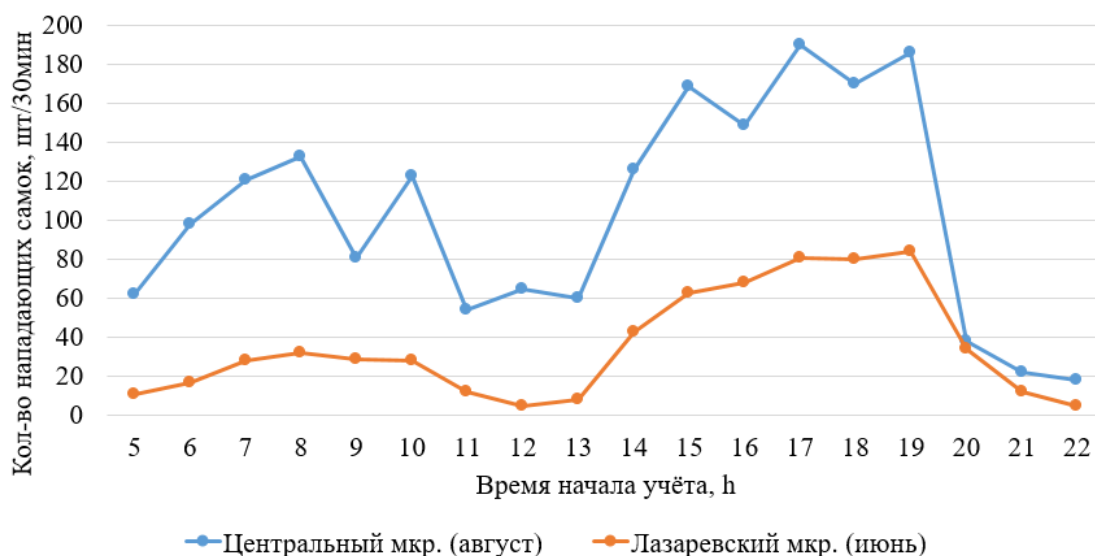


Рисунок 2 – Суточная активность нападения самок *Ae. albopictus*

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.

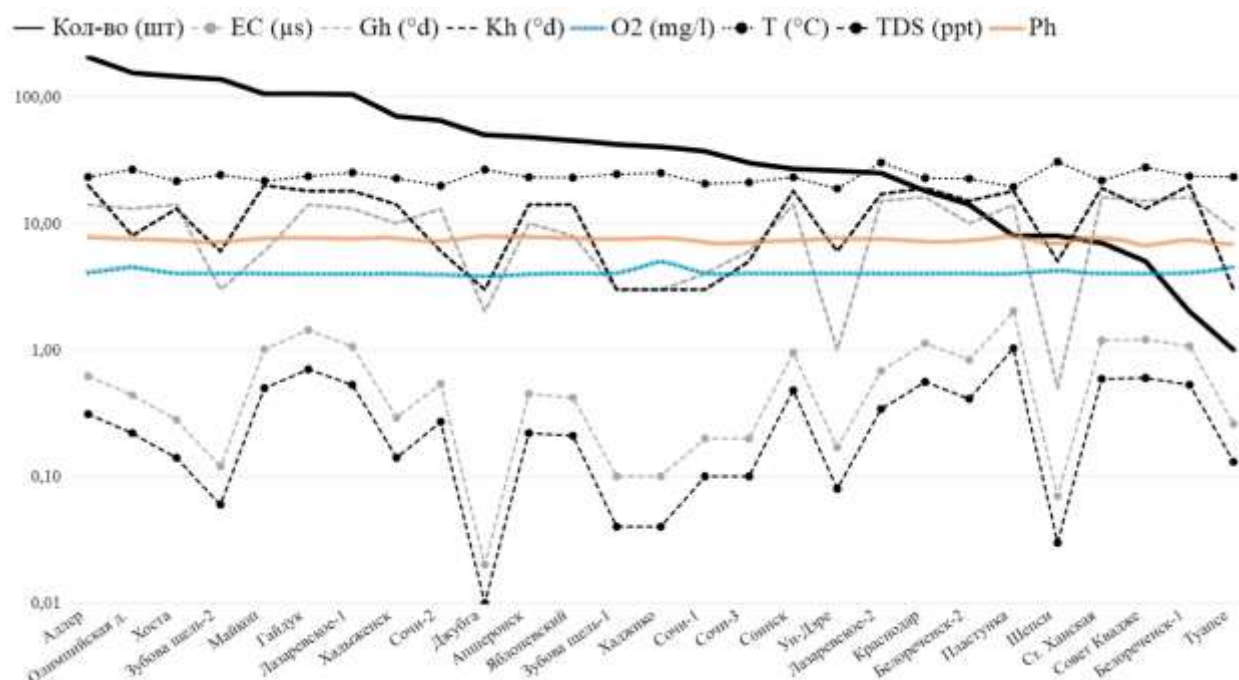


Рисунок 3 – Характеристика личиночных биотопах *Ae. albopictus* (параметры представлены в логарифмической шкале)

Большинство показателей изменялись в широких пределах. Меньше всего изменялись значения растворённого в воде кислорода: от 3,8 до 4,5 мг/дм<sup>3</sup>, 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/дм<sup>3</sup>, 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/дм<sup>3</sup>, 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.

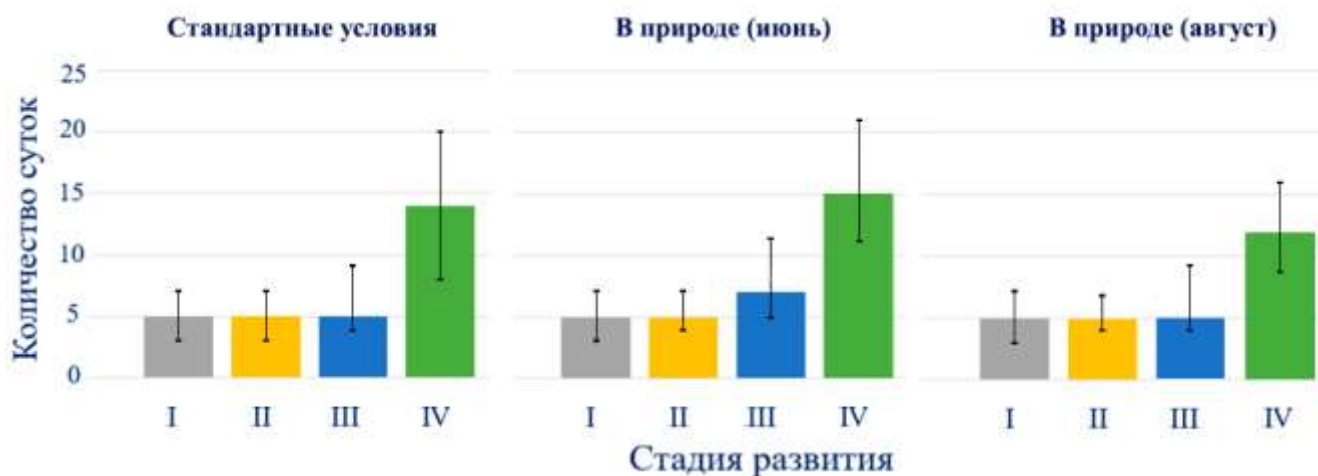


Рисунок 4 – Продолжительность личиночного развития *Ae. albopictus* в различных условиях

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.

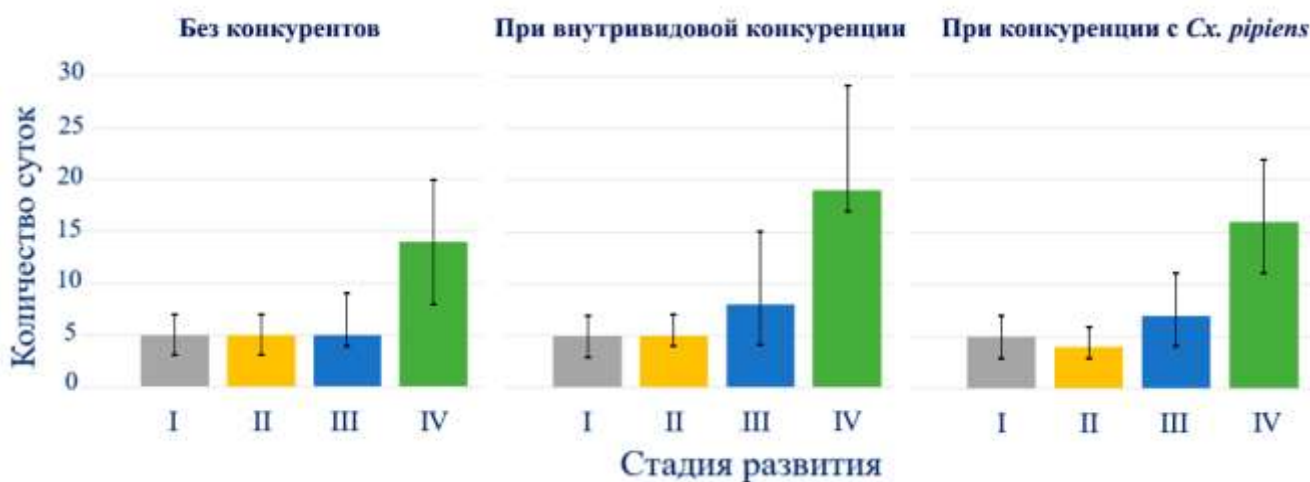


Рисунок 5 – Продолжительность личиночного развития *Ae. albopictus* в условиях конкуренции

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:

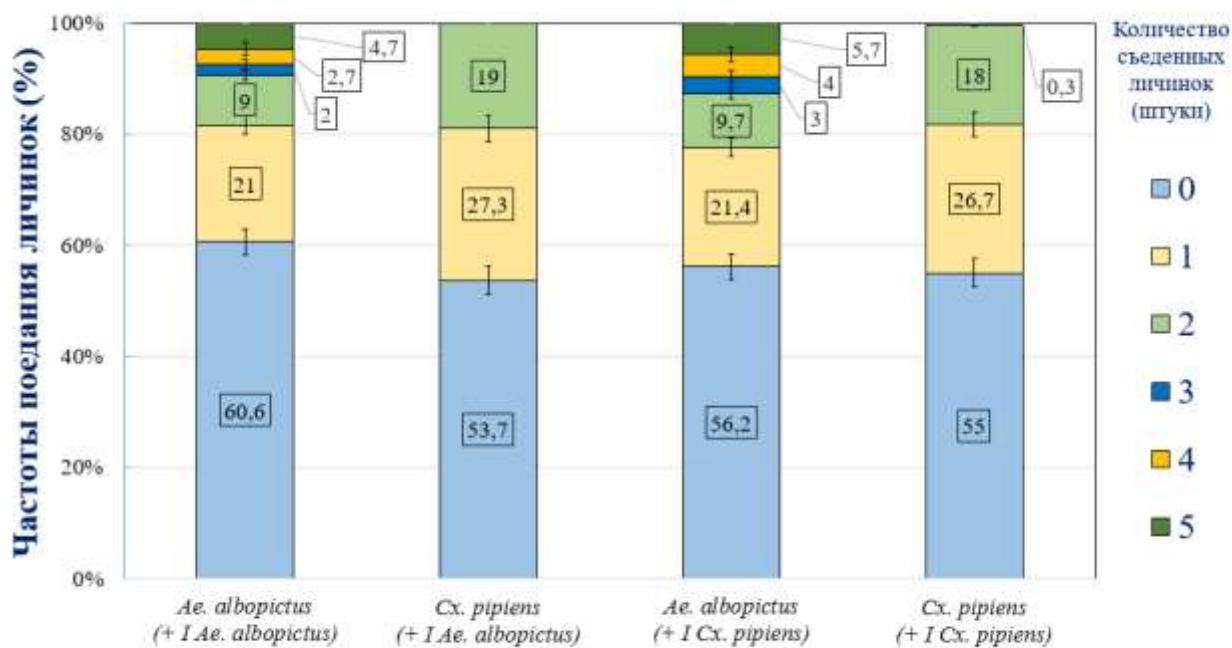
I возраст *Ae. albopictus* + IV возраст *Ae. albopictus*;

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  $\chi^2$  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.

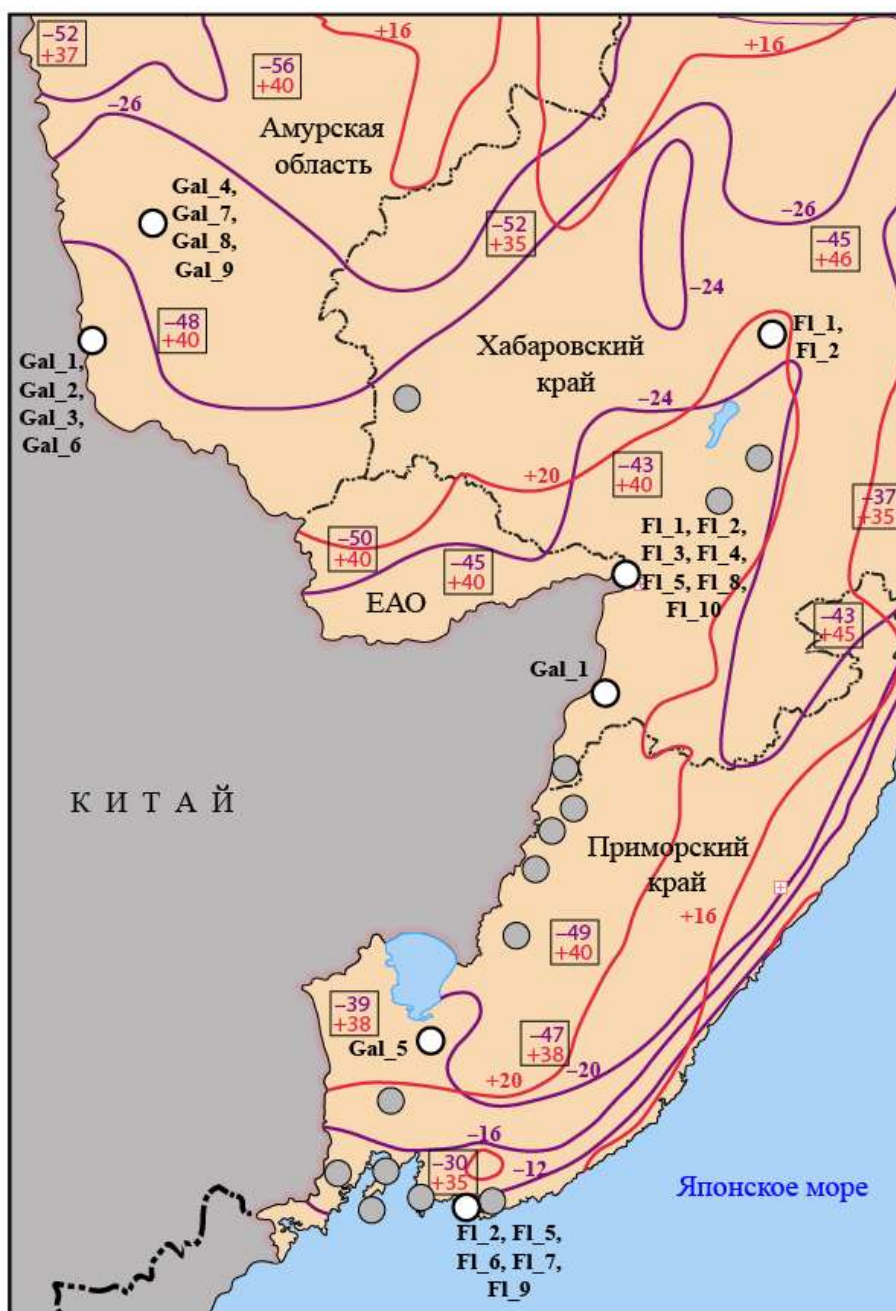


Рисунок 7 – Географическое расположение точек отлова комаров на территории Дальнего Востока России

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.

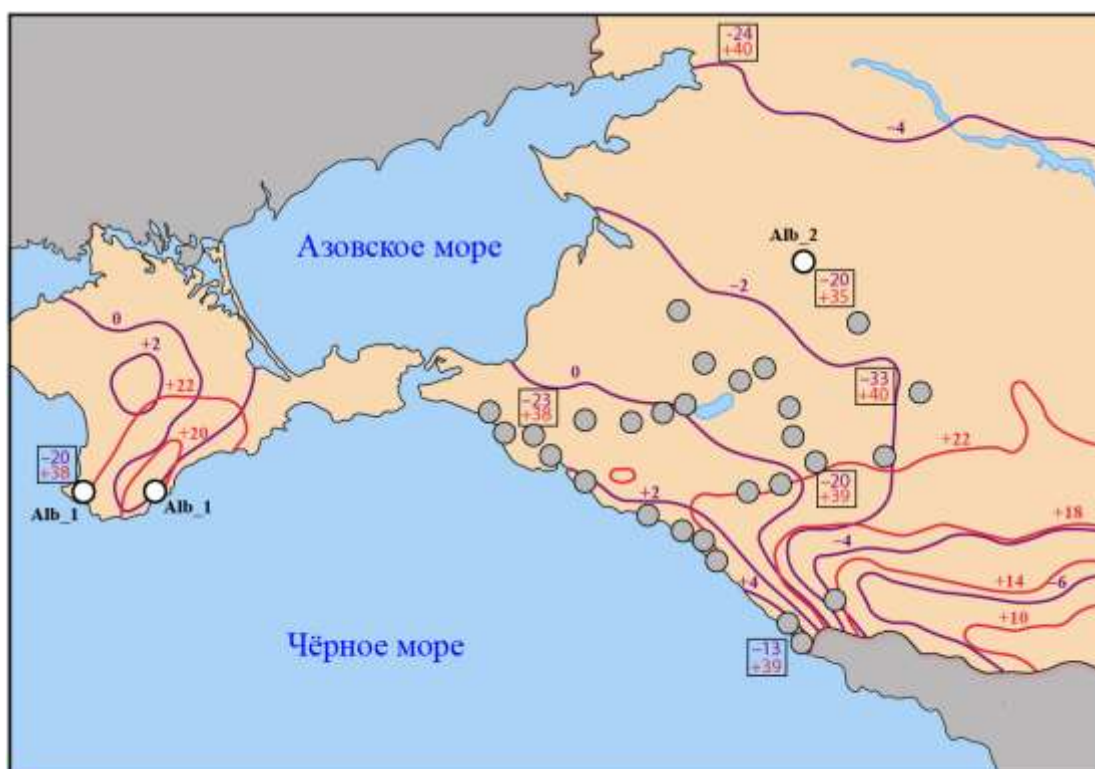


Рисунок 8 – Географическое расположение точек отлова комаров на юге европейской части России и полуострове Крым

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.

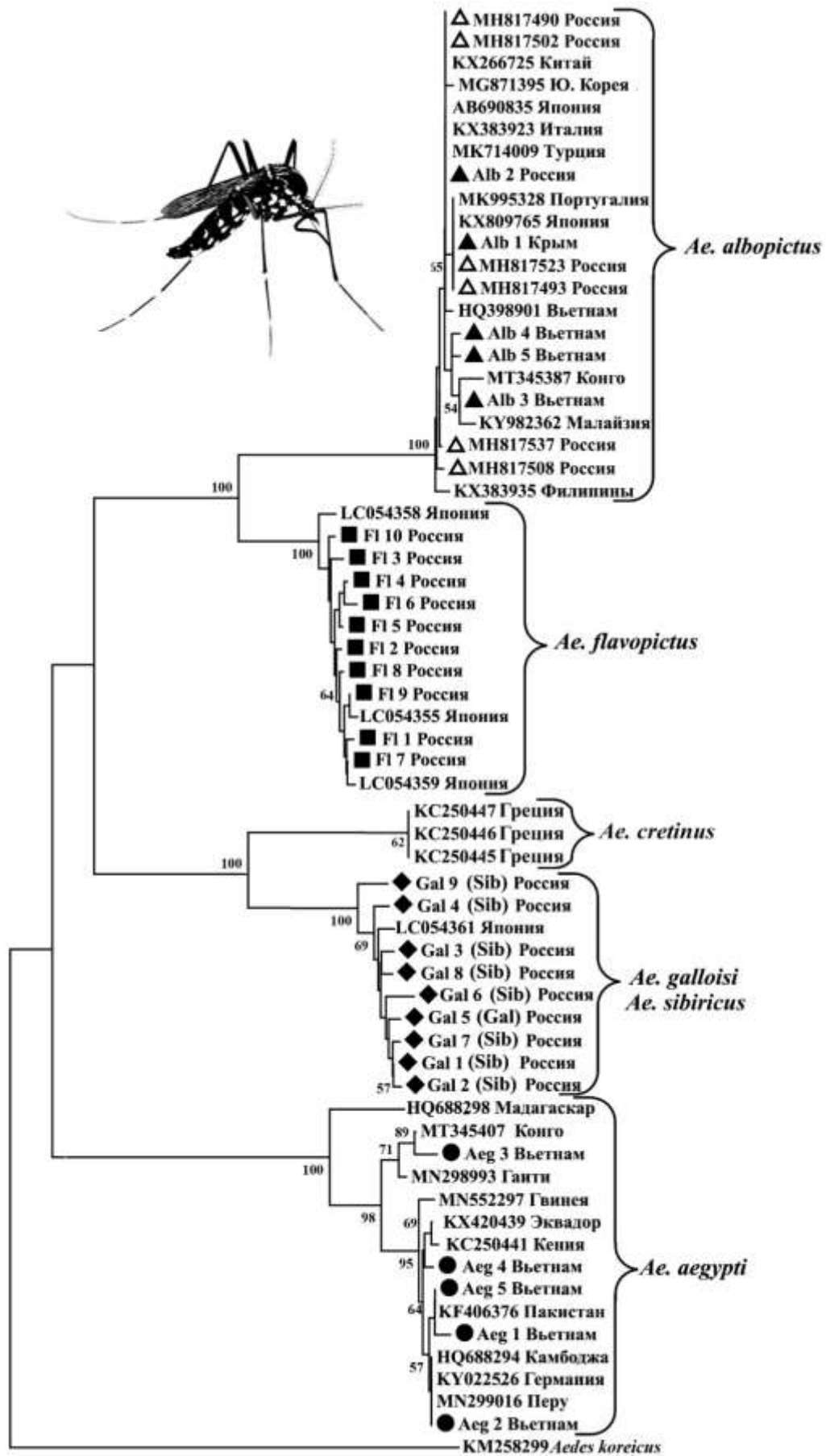


Рисунок 9 – NJ кладограмма BOLD фрагментов митохондриального гена *COI* комаров подрода *Stegomyia*, построенная в программе MEGA-X. Тёмными значками отмечены нуклеотидные последовательности, полученные нами (зарегистрированы в GenBank под номерами с MZ230336 по MZ230364); последовательности, взятые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

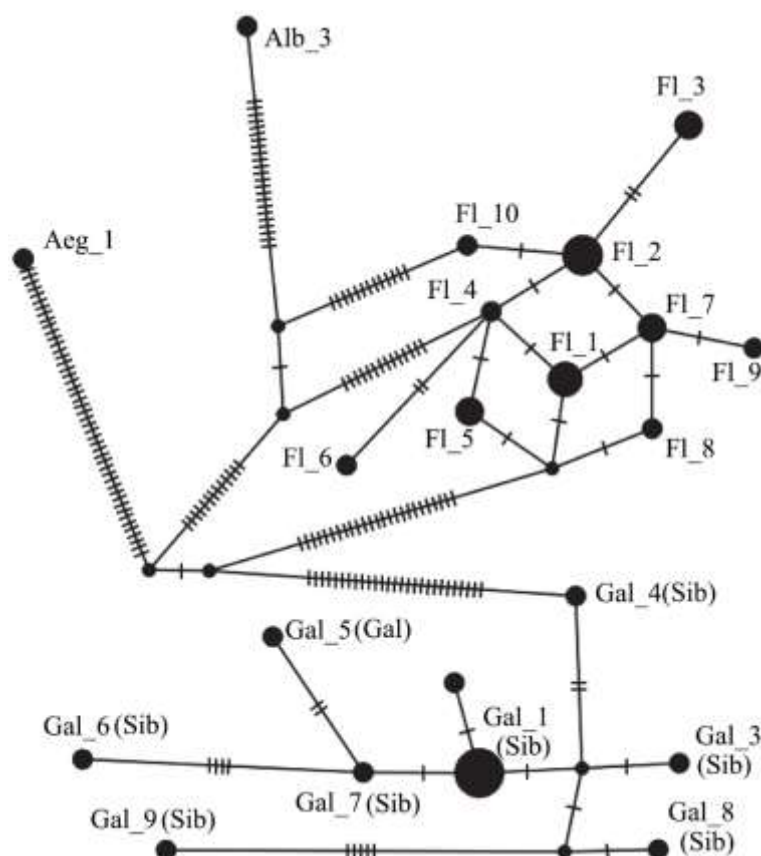


Рисунок 10 – Медианная сеть митохондриальных гаплотипов *Ae. flavopictus* и *Ae. galloisi* Дальнего Востока России, построенная в программе PopArt на основании нуклеотидного полиморфизма фрагмента гена *COI* длиной 658 п. н.

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.

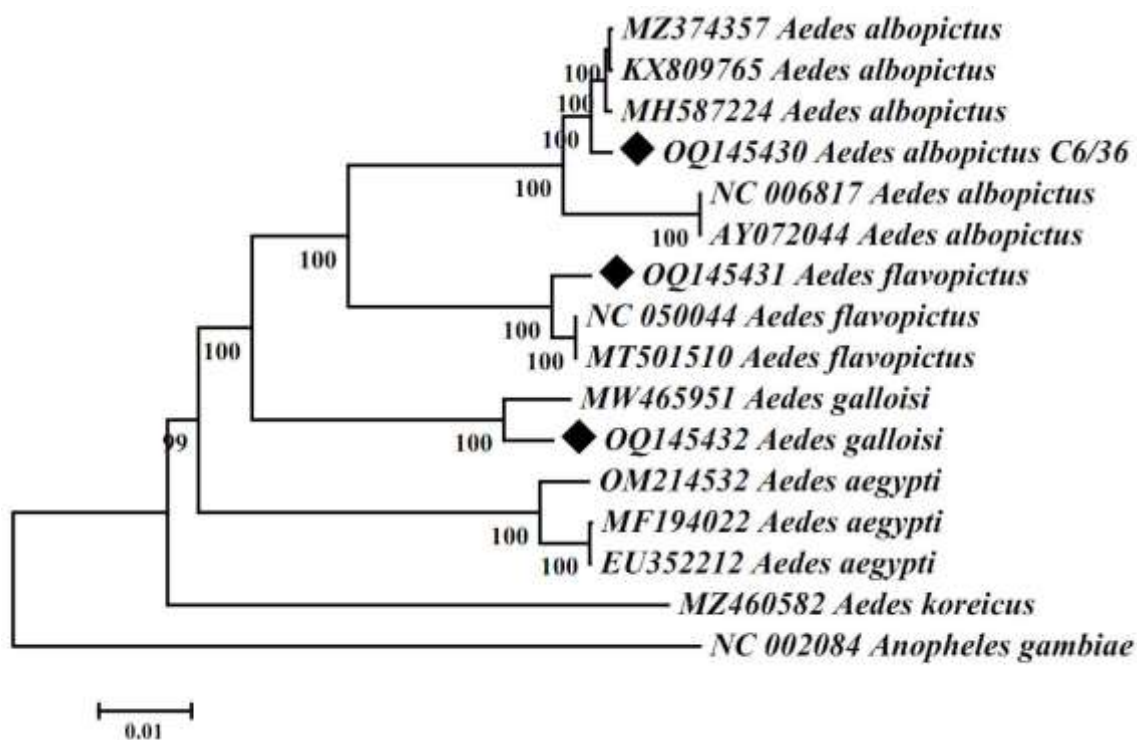


Рисунок 11 – NJ кладограмма на основе полных митохондриальных геномов комаров подрода *Stegomyia*, построенная в программе MEGA-X.

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.