

УДК 575.174.015.3, 575.1

Москаев А.В., Гордеев М.И., Кузьмин О.В.

Московский государственный областной университет

ХРОМОСОМНЫЙ СОСТАВ ПОПУЛЯЦИЙ МАЛЯРИЙНОГО КОМАРА ANOPHELES MESSEAE В ЦЕНТРЕ И НА ПЕРИФЕРИИ ВИДОВОГО АРЕАЛА

Аннотация. Приведены результаты исследования хромосомной изменчивости в пяти популяциях малярийного комара *An. messeae* в Московской и Калужской областях (центр ареала), в Самарской и Волгоградской областях (южная периферия ареала). Показано, что популяции центра и периферии ареала значительно отличаются по составу и частотам инверсий. В южных популяциях преобладали особи с инверсиями XL1; XLO; 2R0; 3R0; 3LO. В этих популяциях выявлена полная гомозиготность по хромосоме 2R. В популяциях Московской и Калужской областей наблюдается высокая частота инверсионных гомо- и гетерозигот. Обсуждается адаптивный характер и механизмы поддержания хромосомного полиморфизма у *An. messeae*.

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

A. Moskaev, M. Gordeev, O. Kuzmin

Moscow State Regional University

CHROMOSOMAL STRUCTURE OF POPULATIONS OF THE MALARIA MOSQUITO ANOPHELES MESSEAE IN THE CENTER AND AT THE PERIPHERY OF A SPECIFIC AREA

Abstract. The chromosomal structure of five populations of *Anopheles messeae* in Moscow and Kaluga regions and in Samara and Volgograd regions is studied. Populations in the center and at the periphery of the areas are shown to differ considerably in structure and frequencies of inversions. Populations with inversions XL1; XLO; 2R0; 3R0; 3LO are found to prevail in the southern areas. In these populations, full chromosome 2R homozygosity is revealed. In populations of the Moscow and Kaluga regions, a high frequency of inversion homo- and heterozygotes is observed. The adaptive character and maintenance mechanisms of chromosomal polymorphism of *Anopheles messeae* are discussed.

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

Хромосомная изменчивость широко распространена у различных представителей двукрылых насекомых (Diptera). Наиболее часто встречающимся типом хромосомных перестро-

ек у двукрылых являются инверсии – повороты участков хромосом на 180 градусов. Инверсионный полиморфизм выявлен у значительного числа видов в таких семействах, как Culicidae, Chironomidae, Simuliidae. Генетические эффекты инверсий обусловлены дву-

© Москаев А.В., Гордеев М.И., Кузьмин О.В., 2015.

мя явлениями: во-первых, инверсии служат запирателями кроссинговера, создавая «коадаптированные генные комплексы» в пределах инвертированных участков хромосом; во-вторых, изменяется генетическое окружение захваченных инверсией блоков хроматина, что влияет на работу входящих в них генов («эффект положения»). В результате гомо- и гетерозиготы по инверсиям могут отличаться по морфофункциональным характеристикам и экологическим предпочтениям.

Доказано, что инверсионный полиморфизм имеет адаптивное значение для популяций малярийных комаров Палеарктики [3; 16]. Однако его эволюционное значение и механизмы поддержания полиморфизма остаются актуальными вопросами популяционной генетики. Известное представление о виде как многоуровневой системе популяций, находящихся в пространстве географического ареала, подтолкнуло нас к изучению генетической структуры отдельных популяций. Ведь именно локальные популяции представляют нижний уровень в структуре вида. На периферии и в центре ареала популяции представлены совершенно разным кариотипическим составом. Для центра ареала обычно характерно богатое разнообразие хромосомных перестроек и обилие внутривидовых группировок. В периферийных же популяциях наблюдается однородность хромосомного состава и низкий уровень гетерозиготности. У хромосомно полиморфных видов *Anopheles* (Diptera, Culicidae) выявлен клинальный характер частот инверсий, с постепенной заменой альтернативных гомозигот в направлении с юга на север и с запада на восток [17]. Од-

ним из ярких представителей которых является широко распространенный, численно доминирующий в Европейской части России, эврибионтный по специализации вид малярийных комаров – *An. messeae* Falleroni, 1926.

Целью данной работы было изучение кариотипического состава популяций и географического распространения хромосомных перестроек в центре и на периферии видового ареала *An. messeae*. Нами были изучены популяции в местообитаниях Волгоградской области, находящиеся на периферии видового ареала, а также комары из центра ареала, собранные в биотопах Московской, Калужской и Самарской областей. Материалом для работы послужили выборки личинок IV возраста малярийных комаров рода *Anopheles*, фиксированных в спирт-уксусной смеси. Сборы были проведены в пяти следующих местообитаниях:

озеро Мелкое в окрестностях станции Новогригорьевская Иловлинского района Волгоградской области (дата сбора – 26.07.2014 г., координаты сбора – N 49°26'55.24" EО 43°36'39.96");

заводь реки Иловля около деревни Костарево Камышинского района Волгоградской области (дата сбора – 06.07.2013 г., координаты сбора – N 50°3'15.34" EО 44°58'35.17");

озеро Яицкое в городе Самара Волжском районе Самарской области (дата сбора – 22.07.2014 г., координаты сбора – N 53°6'46.39" EО 50°12'36.42");

заводь реки Истья в деревне Акатово Жуковского района, Калужской области (дата сбора – 19.08.2013 г., координаты сбора – N 55°9'0.98" EО 36°47'36.34");

пруд в окрестностях деревни Князчино Талдомского района Московской

области (дата сбора – 11.08.2011 г., координаты сбора – N 56°33'7.37" EО 37°40'41.56").

Объем выборок и половой состав приведен в табл. 1. Препараты политенных хромосом изготавливали из слюнных желез личинок, окрашивая лактоацеторсеином по собственной методике. В качестве основы для создания протокола приготовления препаратов были взяты сведения из работ В.М. Кабановой [7] и В.П. Перевозкина [10]. В работе использовались следующие реактивы:

фиксатор Карнуа (состоит из 1 части ледяной уксусной кислоты CH_3COOH (99,8%) к 3 частям спирта $\text{C}_3\text{H}_5\text{OH}$ (95,0%), используется для обезживания тканей);

краситель – 2% лактоацеторсеин (состоит из молочной кислоты $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ (80,0%), ледяной уксусной кислоты и непосредственно кристаллического орсеина), основным назначением лактоацеторсеина является окраска хроматина;

отмывочный раствор – 50%-ная уксусная кислота (служит для дифференциации клеток и отмывки от лишнего красителя);

изолирующий состав – для сохранения временных препаратов от высыхания (обычно используется быстро застывающий лак или раствор красителя низкого качества).

Слюнные железы личинок комаров выделяли в карнуа под стереоскопическим микроскопом МБС-10 (окуляр 8Ч23, объектив 2). Хитиновый покров грудного отдела личинки разрывали препаративными минутьями. Затем извлекали ближнюю к голове пару слюнных желез, располагающуюся по обеим сторонам от кишечника. Лиш-

ний фиксатор осушали фильтровальной бумагой, а выделенные железы окрашивали 2% лактоацеторсеином в течение 90 минут. По истечении времени излишки красителя убрали фильтровальной бумагой, и дифференцировали в 50%-ной уксусной кислоте. Далее выделенные окрашенные слюнные железы одним резким движением накрывали покровным стеклом, предотвращая попадание пузырьков воздуха. Легкими постукиваниями тупым концом препаративной иглы раздавливали клетки, придерживая покровное стекло через фильтровальную бумагу во избежание смещений. По краям покровного стекла наносили изолирующий состав.

Цитогенетический анализ политенных хромосом проводили под микроскопом Micros (окуляр 10Ч20, объективы 10 и 40). Определение кариотипов комаров происходило с использованием кариограмм видов и фотокарт политенных хромосом *Anopheles* [17; 18]. Регистрировали гомо- и гетерозиготы по парацентрическим инверсиям. Всего для исследования нами было определено 422 кариотипа у *An. messeae*.

Статистическая обработка результатов: оценку частот инверсий f и вычисление стандартной ошибки s_f проводили стандартными методами [14; 15]. Для сравнения инверсионных частот в выборках использовали метод χ^2 [2].

В результате цитогенетического анализа личинок было установлено, что в популяциях *An. messeae* имеется 10 инверсионных последовательностей: XL_0 ; XL_1 ; XL_2 ; XL_4 ; 2R_0 ; 2R_1 ; 3R_0 ; 3R_1 ; 3L_0 ; 3L_1 . Инверсия XL_4 является эндемичной, и ранее считалось, что она встречается только в популяциях

на юге Тверской области, севере и северо-востоке Московской области и г. Москва. Инверсия впервые встречена юго-западнее Москвы в местообитании около деревни Акатово Жуковского района, Калужской области. На востоке (Шатурский район) и юго-востоке (Воскресенский район) Московской области хромосомных вариантов с этой инверсией (XL_{44} ; XL_{14} ; XL_{04}) обнаружено не было [4; 8]. В популяции малярийных комаров Самарской области встречена эндемичная инверсия XL_2 , локализованная на участке 1с-4а. Особи с этой инверсией встречаются с высокой частотой в местообитаниях Западной Сибири. Показано неравновесие по сцеплению инверсии XL_2 с «северными» хромосомными последовательностями $2R_1$ и $3R_1$ [9]. Комары с инверсией XL_2 преимущественно встречаются на севере Западной Сибири. В условиях глобального потепления их доля неуклонно снижается в популяциях центра ареала [12]. По нашему мнению, инверсия XL_2 в Самарской популяции является реликтовой, а область ее распространения ранее включала территорию Поволжья и Северного Урала. В частности, особи с данной инверсией были обнаружены в бассейне реки Печоры [8]. Северо-западнее, на территории республики Карелия и в центре Европейской части России, этой инверсии обнаружено не было [6; 8; 11]. Остальные хромосомные последовательности типичны для популяций *An. messeae* Европейской части России.

Изученные популяции значительно отличаются друг от друга по хромосомному составу (частоты инверсионных вариантов половой хромосомы и аутосомом отражены в табл.). Наибольший

уровень хромосомного полиморфизма показан у *An. messeae* в местообитаниях дер. Князчино Московской области и дер. Акатово Калужской области. Это позволяет отнести данные популяции к типичным для центральной части ареала вида по генетическому составу. Там встречаются такие хромосомные варианты, как: XL_{00} ; XL_{01} ; XL_{11} ; XL_{14} ; XL_{44} ; $2R_{00}$; $2R_{01}$; $2R_{11}$; $3R_{00}$; $3R_{01}$; $3R_{11}$; $3L_{00}$; $3L_{01}$. Совсем другую ситуацию можно наблюдать в маргинальных популяциях, к которым относятся популяции комаров из ст. Новогригорьевская и дер. Костарево Волгоградской области. В этих местообитаниях отсутствуют хромосомные варианты: XL_{14} ; XL_{44} ; $2R_{01}$ и $2R_{11}$. Следует отметить, что вариант $3R_{11}$ был обнаружен в этой зоне всего у одной особи $0,5 \pm 0,5$ ($f \pm s_p$, %). Между популяциями краевой зоны (выборки № 1 и № 2) и центральной зоны (выборки № 4 и № 5) найдены значимые различия по частотам инверсий половой хромосомы – XL ($\chi^2=38,5$, $df=3$, $p<0,001$). Это подтверждает вывод о зонировании генетической структуры вида, сделанный на основании разнообразия хромосомных вариантов. Популяции из двух зон отличаются не только по составу половых хромосом, но и по частотам инверсий аутосомом $2R$ ($\chi^2=135,1$, $df=2$, $p<0,001$), $3R$ ($\chi^2=11,7$, $df=2$, $p<0,01$) и $3L$ ($\chi^2=8,7$, $df=2$, $p<0,01$).

Особый интерес, по нашему мнению, может представлять именно изменение генетической структуры вида при движении от центра к краю ареала. В нашей работе была взята выборка из г. Самары (выборка № 3), хромосомный состав комаров которой должен иметь промежуточную структуру. По разнообразию инверсионных вариантов популяция г. Самары тяготеет к

центру ареала. В этой популяции зафиксированы следующие хромосомные варианты: XL_{00} ; XL_{01} ; XL_{11} ; $XL_{2(\text{самец})}$; $2R_{00}$; $2R_{01}$; $2R_{11}$; $3R_{00}$; $3R_{01}$; $3L_{00}$; $3L_{01}$. Однако значимых различий по частотам инверсий между популяциями из г. Самары и краевыми популяциями не обнаружено. Зато при сравнении с центром видового ареала найдены зна-

чимые различия по XL ($\chi^2=49.2$, $df=3$, $p<0,001$), $2R$ ($\chi^2=83.8$, $df=2$, $p<0,001$) и $3L$ ($\chi^2=6.2$, $df=2$, $p<0,02$). Таким образом, популяция г. Самары имеет свойства, характерные для переходной зоны: высокое разнообразие инверсионных вариантов с преобладанием определенных гомозигот характерных для южной периферии. В простран-

Таблица 1

Хромосомный состав *An. messeae* в изученных местообитаниях

Хромосомные варианты	Частоты хромосомных вариантов, $f \pm s_p$, %				
	ст. Новогригорьевская, Волгоградская область Выборка № 1	дер. Костареве, Волгоградская область Выборка № 2	г. Самара, Самарская область Выборка № 3	дер. Акатово, Калужская область Выборка № 4	дер. Князичино, Московская область Выборка № 5
Самцы, n	43	38	50	10	53
XL_0	39,5±7,5	42,1±8	70,0±6,5	20,0±12,6	24,5±5,9
XL_1	60,5±7,5	57,9±8	28,0±6,3	70,0±14,5	71,7±6,2
XL_2	0	0	2,0±2,0	0	0
XL_4	0	0	0	10,0±9,5	3,8±2,6
Самки, n	40	68	55	14	51
XL_{00}	25,0±6,8	16,2±4,46	27,3±6,0	0	19,6±5,6
XL_{01}	52,5±7,9	63,2±5,84	49,1±6,7	14,3±9,4	17,6±5,3
XL_{11}	22,5±6,6	20,6±4,9	23,6±5,7	64,3±12,8	56,9±6,9
XL_{14}	0	0	0	21,4±11,0	5,9±3,3
Оба пола, n	83	106	105	24	104
$2R_{00}$	100	100	72,4±4,4	54,2±10,2	42,3±4,8
$2R_{01}$	0	0	25,7±4,3	33,3±9,6	36,5±4,7
$2R_{11}$	0	0	1,9±1,3	12,5±6,8	21,2±4,0
$2L_{00}$	100	100	100	100	100
$3R_{00}$	74,7±4,8	82,1±3,7	84,8±3,5	62,5±9,9	66,3±4,6
$3R_{01}$	24,1±4,7	17,9±3,7	15,2±3,5	33,3±9,6	27,9±4,4
$3R_{11}$	1,2±1,2	0	0	4,2±4,1	5,8±2,3
$3L_{00}$	80,7±4,3	85,9±3,38	100	100	93,3±2,5
$3L_{01}$	19,3±4,3	14,1±3,38	0	0	6,7±2,5

стве видового ареала *An. messeae* на территории Европейской части России существует механизм формирования и сохранения адаптивных хромосомных мутаций (инверсий). Кариотипическая структура популяций меняется в долготном направлении. Следует отметить, что периферийные популяции неоднородны и различаются по составу хромосомных вариантов.

Хромосомный полиморфизм *An. messeae* принадлежит к категории балансируемого полиморфизма по терминологии Р.Л. Берг [1]. Изменчивость этого типа относится к статике эволюции и характеризуется отсутствием направленного вида частот во времени. Следует отметить, что речь идет о межгодовой динамике частот, поскольку в популяциях *An. messeae* наблюдаются сезонные флуктуации доли хромосомных перестроек. Ранее было показано, что сезонная динамика частот инверсий у *An. messeae* связана с увеличением доли эволюционно исходных хромосомных последовательностей XL_0 , $2R_0$, $3R_0$ и $3L_0$ в течение летнего сезона размножения. В период зимовки, напротив, наблюдается увеличение частоты хромосомных последовательностей XL_1 , XL_2 , $2R_1$, $3R_1$ и $3L_1$ [13]. Таким образом, способом поддержания балансируемого полиморфизма в популяциях *An. messeae* является различная адаптивная ценность альтернативных хромосомных последовательностей на разных этапах сезонного цикла.

Как известно, другим способом поддержания полиморфизма считается преимущество гетерозигот (так называемое «сверхдоминирование»). Возможно, сверхдоминирование имеет место в отдельных локальных ме-

стообитаниях, а также в периоды изменения векторов отбора. По нашему мнению, наблюдаемый способ сохранения полиморфизма у *An. messeae* не исключает возможности перестройки кариотипической структуры популяций в результате значительных климатических сдвигов, например, в условиях глобального потепления [5]. Однако даже в условиях климатических изменений сохраняется целостность популяционно-генетической системы вида. В популяциях центра ареала по-прежнему наблюдается высокий уровень хромосомного полиморфизма, хотя границы ареала и расположение его центральной зоны могут сместиться в пространстве.

В целом выявленные межпопуляционные различия позволяют зонировать ареал *An. messeae* по распределению уникальных и редких инверсий, характеру и уровню хромосомного полиморфизма. Различные зоны ареала этого вида отличаются как по распространению эндемичных инверсий, так и по частотам распространенных хромосомных перестроек. Полученные данные дают возможность рассматривать направления динамики частот инверсий в популяциях *An. messeae* на юге Европейской части России в условиях глобального потепления.

Благодарим за помощь в сборе материала и работу при проведении экспедиций: Л.Я. Климову, Т.С. Твердохлеб и А.М. Гордеева.

Работа выполнялась по гранту Президента Российской Федерации №МК-241.2014.4, экспедиционному гранту Российского фонда фундаментальных исследований №14-04-10161К и гранту РФФИ №14-04-31069.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Берг Р.Л. Типы полиморфизма // Вестник ЛГУ. Сер. биологическая. – 1957. – № 21 (вып. 4). – С. 115-138.
2. Гершкович И. Генетика. – М.: Наука, 1968. – 702 с.
3. Гордеев М.И. Адаптивные стратегии в популяции малярийных комаров: дисс. ... докт. биол. наук. – Томск, 1998. – 304 с.
4. Гордеев М.И., Безжонова О.В., Москаев А.В. Хромосомный полиморфизм в популяциях малярийного комара *Anopheles messeae* (Diptera, Culicidae) на юге Русской равнины // Генетика. – 2012. – Т. 48 (№ 9). – С. 1124-1128.
5. Гордеев М.И., Ежов М.Н. Глобальное потепление и изменение хромосомного состава сибирских популяций малярийных комаров // ДАН. – 2004. – Т. 395 (№ 4). – С. 554-557.
6. Гордеев М.И. Малярийные комары Москвы и Московской области: цитогенетический анализ / М.И. Гордеев, М.Н. Ежов, А.Б. Званцов и др. // Мед. паразитол. – 2005. – № 2. – С. 30–33.
7. Кабанова В.М., Карташева Н.Н., Стегний В.Н. Кариологическое исследование природных популяций малярийного комара в Среднем Приобье. I. Характеристика кариотипа *Anopheles maculipennis messeae* Fall // Цитология. – 1972. – Т. 14 (№ 5). – С. 630-636.
8. Москаев А.В. Экологическая специализация видов-двойников малярийных комаров Европейской части России: дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2012. – 149 с.
9. Новиков Ю.М., Кабанова В.М. Адаптивная ассоциация инверсий в природных популяциях малярийного комара *Anopheles messeae* // Генетика. – 1979. – Т. 15 (№ 6). – С. 1033-1045.
10. Перевозкин В.П. Адаптивный полиморфизм малярийных комаров комплекса *Anopheles maculipennis* // Научно-практическое руководство по малярии (эпидемиология, систематика, генетика). – Томск: Томский гос. ун-т, 2007. – С. 105-145.
11. Перевозкин В.П. Распространение и инверсионный полиморфизм малярийных комаров Карелии / В.П. Перевозкин, М.И. Гордеев, А.В. Москаев и др. // Генетика. – 2012. – Т. 48 (№ 7). – С. 806-811.
12. Перевозкин В.П., Сайджафарова А.О. Динамика популяционно-видовой структуры малярийных комаров Томской области // Вестник ТГПУ. Серия: естественные и точные науки. – 2006. – Вып. 6 (57). – С. 64-68.
13. Плешкова Г.Н. Инверсионный полиморфизм малярийного комара *Anopheles messeae*. III. Временная динамика концентрации инверсий в популяции центра ареала / Г.Н. Плешкова, В.Н. Стегний, Ю.М. Новиков и др. // Генетика. – 1978. – Т. 14 (№ 12). – С. 2169-2176.
14. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. – М.: МГУ, 1980. – 151 с.
15. Плохинский Н.А. Биометрия. – М.: МГУ, 1970. – 368 с.
16. Стегний В.Н. Генетические механизмы адаптации и видообразования двукрылых насекомых (на примере малярийных комаров): дисс. ... докт. биол. наук. – Томск, 1983. – 323 с.
17. Стегний В.Н. Популяционная генетика и эволюция малярийных комаров. – Томск: Томский ун-т, 1991. – 136 с.
18. Стегний В.Н. Инверсионный полиморфизм малярийного комара *Anopheles messeae*. Сообщение I. Распространение инверсии по ареалу вида / В.Н. Стегний, В.М. Кабанова, Ю.М. Новиков и др. // Генетика. – 1976. – Т. 12 (№ 4). – С. 47–55.