

**А.М. Оразбаева^{1*}, А.К. Сибатаев², К.М. Аубакирова¹,
А.М. Ныгыметова³, Б.Б. Торсыкбаева⁴**

¹Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

²Томск мемлекеттік университеті, Томск, Ресей

³AgroShield ЖШС, Алматы, Қазақстан

⁴Астана медицина университеті, Астана, Қазақстан

*Байланыс үшін автор: aygul.orazbaeva@list.ru

Павлодар аймағындағы *Anopheles maculipennis* кешені безгек масаларын (*Diptera*, *Culicidae*: *Anopheles*) PCR-RFLP негізінде түрге дейін анықтау

Аңдатпа. Бұл мақалада *Anopheles maculipennis* кешенінің безгек масаларының генетикалық полиморфизмін анықтау әдістері қарастырылған. ITS2 рибосомалық гендер кластерінің екінші ішкі транскрипцияланатын спейсерін қолдана отырып, PCR-RFLP әдісімен *An. maculipennis* кешенінің ұқсас түрлерін анықтау жүргізілді. ITS2 rDNA тізбегін талдау негізінде осы жинақта жаңа палеарктикалық түрлер ашылды: *An. persiensis* (Sedaghat et al., 2003), *An. daciae* (Nicolescu және т.б., 2004) және *An. artemievi* (Гордеев және т.б., 2004). Бұрын Қазақстан аумағында цитогенетикалық әдісті қолданып, хромосомалық полиморфизмді *An. messeae* осы түрдің ареалының оңтүстігінде (Стегний, 1991; Гордеев және Сибатаев, 1996). Безгек масаларының популяцияларында *An. messeae* of *Kazakhstan*, осы аймаққа тән емес жаңа хромосомалық инверсиялар анықталды (Абылқасымова және т.б., 2019).

Сондай-ақ, *Anopheles messeae* масаларының биоэкологиясы және зиянды мәні туралы кейбір мәліметтер келтірілген. *Anopheles maculipennis* кешенінің қосқанатты қансорғыш масалары үлкен ғылыми және практикалық қызығушылық тудырады, өйткені олар белсенді қансорғыштар және адамдар мен жануарлардың бірқатар қауіпті ауруларының қоздырғыштарын тасымалдаушылары ретінде белгілі. Өзіндік зерттеулер мен әдеби деректері негізінде Ертіс өзені бассейнінің *Anopheles messeae* масаларының биологиясы мен экологиясы туралы материалдар жинақталды. *Maculipennis* кешені масаларының таралуы мен ландшафтық орналасуы, санының маусымдық динамикасы мен тәуліктік ырғағы, зиянды мәні туралы мәліметтер келтірілген.

Түйін сөздер: генетикалық полиморфизм, PCR-RFLP, ішкі транскрипцияланатын спейсер (ITS2), биоэкология, *maculipennis* кешені.

DOI: 10.32523/2616-7034-2023-143-2-112-122

Кіріспе

Ертіс өзенінің бассейнінде қос қанатты қансорғыш жәндіктер кешенінде масалар көптігі мен зияндылығы бойынша жетекші орын алады (Исимбеков Ж.М., Мутушева А.Т.) [1, 2]. Қансорғыш масалардың адам мен жануарлар ауруларының қоздырғышын тасымалдаушылар ретіндегі рөлі бүкіл әлемге белгілі. Безгек масалары арбовирустық инфекциялардың, соның ішінде безгек плазмодиясы қоздырғыштарын тасымалдайтыны белгілі. ЖИТС-ке, безгекке және туберкулезге қарсы күрес жөніндегі Жаһандық қордың деректері бойынша жыл сайын безгектен 2,6 миллионға жуық адам қайтыс болады, олардың 75%-ы - 5 жасқа дейінгі балалар. Сондай-ақ туляремия бактериясының циркуляциясында да маңызы бар: масамен табиғи зақымдану анықталған. Чехословакияда *Anopheles maculipennis* масаларынан чалово вирусы оқшауланған (Заречная С.Н., Горностаева Р.М., Gratz N.) [3, 4, 5].

Павлодар аймағындағы экологиялық серпімді, жаппай таралған масалардан келетін басты қауіп-олардың арбовирустар, туляремия, күйдіргі және листериозды тасымалдауы. Қара Ертіс атырабында *Anopheles maculipennis* масаларынан арбовирустар бөлінген (Синельщиков В.А.) [6].

Масалардың суда дамиды сатылары инфекция қоздырғыштарының табиғи ошақтарында айналымына ықпал етуі мүмкін (Деньгуб В.М.) [7]. Сонымен қатар, қансорғыш масалардың көптеген түрлері вирустық, бактериялық және протозойлық сипаттағы қауіпті аурулардың, соның ішінде табиғи ошақты аурулардың қоздырғыштарының тасымалдаушысы болып табылады.

Anopheles туысының безгек масалары эпидемиологиялық маңызына байланысты көп зерттелген жәндіктердің қатарына жатады. Бұл туыстың көптеген өкілдері әртүрлі трансмиссивті аурулар қоздырғыштарының тасымалдаушылары болып табылады, олардың ішіндегі ең қауіптісі – безгек. *Anopheles* туысының безгек масалары медициналық маңызынан басқа, популяциялық-генетикалық талдау үшін оңтайлы модельдік нысандар болып табылады (Стегний В.Н.) [8]. Жиырма екі түрден тұратын *Anopheles maculipennis* кешенінің масалары идентификациялау үшін күрделі болып табылады. Қазақстан аумағында аталған кешен үш түрмен берілген – *An. messeae* Fall., 1926, *An. artemievi* Gordeev et al., 2004, *An. martinus* Shingarev, 1926. Бұл деректер молекулалық цитогенетикалық талдау негізінде растауды талап етеді, өйткені *An. maculipennis*, *An. atroparous* және *An. messeae* - туысқан ұқсас түрлер болып келеді.

Қазақстандағы безгек масалары негізінен морфологиялық және цитогенетикалық әдістер арқылы зерттелді (Дубицкий, 1970; Стегний, 1991; Гордеев және Сибатаев, 1996). Соңғы жылдары молекулярлық әдістерді қолдану жаңа түрлерді анықтауға және «*maculipennis*» кешеніндегі филогенезді нақтылауға мүмкіндік берді.

Соңғы жылдары молекулалық әдістерді қолдану жаңа түрлерді анықтауға және «*maculipennis*» кешеніндегі филогенияны нақтылауға мүмкіндік берді.

ITS2 rDNA тізбегін талдау негізінде осы жинақта жаңа палеарктикалық түрлер ашылды: *An. persiensis* (Sedaghat et al., 2003), *An. daciae* (Nicolescu және т.б., 2004) және *An. artemievi* (Гордеев және т.б., 2004). Бұрын Қазақстан аумағында цитогенетикалық әдісті қолданып, хромосомалық полиморфизмді *An. messeae* осы түрдің ареалының оңтүстігінде (Стегний, 1991; Гордеев және Сибатаев, 1996). Безгек масаларының популяцияларында *An. messeae*, осы аймаққа тән емес жаңа хромосомалық инверсиялар анықталды (Абылқасымова және т.б., 2019) [14].

«*Maculipennis*» кешенінің безгек масаларының палеарктикалық тармағы түрлерінің географиялық таралуы тұрақты түрде өзгереді. Дегенмен, соңғы жылдары климаттың өзгеруіне және популяцияның қозғалысына, сондай-ақ инвазивті түрлердің пайда болуына байланысты жәндіктер таралу шекараларының өзгеруі байқалды. «*Maculipennis*» кешеніндегі жаңа түрлерді анықтау Қазақстанның әртүрлі ландшафттық-климаттық белдеулерінде осы кешен масаларының өкілдерінің таралуы туралы қолда бар мәліметтерді қайта қарауды қажет етті.

Бұл жұмыстың мақсаты – Павлодар қаласының маңындағы безгекті масалардың түрлік құрамын молекулалық әдіспен нақтылау.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Бұл жұмыстың материалы Қазақстан Республикасы, Павлодар маңындағы Павлодар облысындағы *Mosquito Trap MT* тұзағы (Оңтүстік Корея) арқылы жиналған 45 ересек безгек масаларының үлгілері болды: Набережка (06.03.2020), Ертіс өзені (06.06.2020), Чернорецк ауылы (06.07.2020). Безгек масаларының ауланған ересектері морфологиясы бойынша анықталды (Гуцевич және т.б., 1970; Сибатаев және Андреева, 2007) [15, 16].

Түрлердің диагностикасы рибосомалық ДНК-ның *ITS2* құрылымына сәйкес жүргізілді [16 Гордеев М.И., Москаев А.В., Брусенцов]. Безгек масалары мен олардың будандарын әрі қарай анықтау үшін түр диагностикасының *RFLP* әдісі қолданылды (Артемов және т.б., 2021). *RFLP* молекулалық әдісі үшін *rDNA*-дан алынған *ITS2* ПТР өнімдері пайдаланылды (Artemov G.N., Fedorova V.S., Karagodin D.A., Brusentsov I.I., Baricheva E.M., Sharakhov I.V., Gordeev M.I., Sharakhova M.V.) [17].

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Қазақстанның солтүстік-шығыс бөлігінде *Anopheles maculipennis* номиналды түріне өте жақын *An. messeae*-ның таралуы белгілі. Бұл Ертіс жайылмасының интразональды жағдайындағы аспектілі түрі. Көбею орындары ретінде Ертістің және оның салаларының жайылмасы, шалғын, таяз сулы және батпақты учаскелер қарастырылады. Көктемде дернәсілдердің дамуы ашық таяз суларда жүреді, ал ашық су объектілері құрғаған сайын дернәсілдердің көпшілігі сілтілігі мен минералдану дәрежесі жоғары (рН - 7,6 - 8,0 және 183-366 мг/л шегінде) тұрақты су объектілерінде кездеседі.

Қазақстанның оңтүстігінде қыстан кейін ұшып шығу және адамға шабуыл жасау наурыздың аяғында және сәуірдің басында 10-19°C [9] кезінде, ал солтүстік аудандарда - сәуірдің үшінші он күндігінде және мамырдың басында байқалады (Исимбеков Ж.М., Мутушева А.Т.) [1, 2].

Ертіс жайылмасында қыстан кейін ұшып шығу сәуірдің бірінші онкүндігінің соңында немесе екінші онкүндігінің басында орташа тәуліктік ауа температурасы кемінде 6°C болғанда басталады (1-кесте). Қыстан кейін ұшудың басталу уақыты көктемнің метеорологиялық жағдайларына байланысты. Қолайсыз экологиялық факторлар (орташа тәуліктік температура 5°C-тан төмен, жауын-шашын және т.б.) әдетте масалардың қыстан кейін ұшуын бір-екі он күндікке кешіктіреді.

Кесте 1

Ертіс жайылмасындағы *An.messeae* фенологиясы (1970-2009 жж)

Тіршілік құбылыстары	Мерзімі	Орташа тәуліктік температура
Қыстан кейінгі алғашқы ұшулар	27.IV - 16.V	5,9 - 6,5°
Жаппай ұшу	21.IV - 7.V	9,8 - 18,4°
Алғашқы жұмыртқа салу	27.IV - 5.V	10,9 - 18,4°
I сатыдағы дернәсілдер	4.V - 12.V	9,8 - 19,4°
IV сатыдағы дернәсілдер	15.V - 28.V	11,8 - 20,6°
Алғашқы қуыршақ	24.V - 4.VI	15,6 - 22,4°
Алғашқы аталық масалар	27.V - 13.VI	16,6 - 22,8°
Алғашқы аналық масалар	18.VII - 25.VII	19,8 - 22,2°
Майлы денесі бар аналықтардың жаппай пайда болуы	30.VII - 14.VIII	17,4 - 21,2°
Соңғы аталықтар	17.IX - 29.IX	7,9 - 14,2°
I сатыдағы соңғы дернәсілдер	21.VIII - 4.IX	9,8 - 20,0°
IV кезеңнің соңғы дернәсілдер	11.IX - 23.IX	8,6 - 18°
Қыстауда аналықтар пайда болуы	19.VII - 30.VIII	17 - 22,8°
Аналықтарының қыстауға ұшуының соңы	23.IX - 18.X	6 - 16°

Жаппай ұшу және адамға шабуыл сәуір айының соңында - мамырдың басында 9,8-18,4°C температурада болады және 20-30 күнге созылады.

А.М. Дубицкий (1970) атап өткендей, гонотрофиялық циклдің ұзақтығы тұрақты жағдайларда өзгереді, бұл маса сорған қанның көлеміне және аналық бездердің даму сатысына байланысты. Ол зертханалық жағдайда 23-29°C температурада қанның қорытылуы және

жұмыртқаның жетілу кезеңі 3-тен 5 күнге дейін созылатындығын атап өтті. Бұл заңдылық табиғи жағдайда абиотикалық экологиялық факторлардың физиологиялық жағдайға және гонотрофиялық циклдің ағымына айтарлықтай әсер етуіне байланысты айқын көрінеді. Сондықтан қан сорғаннан бастап алғашқы жұмыртқа салуға дейін кем дегенде 20-25 күн өтеді (Дубицкий А.М.) [9].

Ертіс жайылмасының аймақ аралық жағдайында және Павлодар облысының құрғақ даласында бұл масалар 3-4 генерация жасайды. Бұл аймақта олар адамға қатысты жоғары агрессивтілік көрсетеді. Бұл жерлерде анықталған айқын антропофильділік қорек көздерінің сандық және сапалық арақатынасының күрт өзгеруімен байланысты болуы мүмкін. Павлодар, Екібастұз және Ақсу қалаларының қарқынды өсуі және ірі өнеркәсіптік объектілердің құрылысы тұрғын үй алабының шекарасын кеңейтуге ғана емес, сондай-ақ олардың маңындағы батпақты жерлердің үлкен алаңын құрғатуға алып келді. Бұл өз кезегінде тұрақты су қоймаларының - масалардың өндірушілерінің жалпы ауданын едәуір қысқартты. Сонымен бірге, олардың мекендейтін жерлеріне жақын жерде (демалыс үйлері, спорттық-сауықтыру және демалыс орындары, құрылыс нысандары) масалардың олжасын іздеуде айтарлықтай қашықтыққа қоныс аудару қажеттілігінен босатады және, мүмкін, зоофильділіктен антропофильділікке көшу процесін тездетеді. Масалардың мұндай антропофильділігі және табиғи жағдайлардың ерекшелігі олардың күндіз мекендейтін және қыстайтын жерлерінде із қалдырады.

Ертістің жайылмасында жүргізілген кейінгі зерттеулер (1998-2003 жж.) *An. messeae* санының маусымдық динамикасында фенологияда елеулі өзгерістер көрсеткен жоқ.

Маусым айынан тамыз айына дейін масалар ымырт және түнде ұшады. Осы айларда масалардың шабуылының күнделікті ырғағын төрт кезеңге бөлуге болады: күндізгі – шабуылдың болмауы, кешкі белсенділік шыңы, түнгі құлдырау және жазда таңертеңгі уақытта шабуыл белсенділігінің аздап жоғарылауы.

Ертіс жайылмасында белсенділіктің тәуліктік ырғағы айқын таңғы және кешкі максимумдармен екі шыңмен сипатталады. Облыстың шөлейтті-шөлейтті қуаң далалы аудандарында маса санының тәуліктік ырғағы алдыңғыдан ерекшеленеді. Маусым-шілде айларында шабуыл ымырттың басталуымен байқалады.

RFLP молекулалық әдісі негізінде безгек масаларының түрлері анықталды. *An. messeae* үш үлгіде басым. Қырық бес ересек *An. messeae*, *An. daciae* тиісінше және олардың будандары (2-кесте). Үш үлгідегі масалардың түрлік құрамын талдау үш үлгідегі екі түр түрінің әртүрлі қатынасын көрсетті. Чернорецк ауылынан алынған үлгіде қалған екі үлгіден айырмашылығы тек *An. messeae*. Ертіс үлгісінде безгек масалары *An. messeae* (85,7±13,2%) *An. daciae* (14,3±13,2%).

Кесте 2

Павлодар қаласының маңындағы «*maculipennis*» кешені безгек масаларының түрлік арақатынасы (%)

Зерттеу аумақтары	<i>An. messeae</i>	<i>An. daciae</i>	будандар
Ертіс жағалауы	97,2±2,8	2,8±2,8	0
Ертіс өзенінің жайылмасы	85,7±13,2	0	14,3±13,2
Чернорецк ауылы	100	0	0

An. messeae - Британ аралдарынан Зея-Бурея ойпатына және Солтүстік поляр шеңберінен Иран мен Солтүстік Қытайға дейін таралатын Қазақстанда көптеп таралған түрлердің бірі (Беклемишев пен Желоховцев, 1945) [19]. Безгек масаларының табиғи популяцияларындағы хромосомалық полиморфизмді зерттеу *An. messeae* ең полиморфты түр екенін көрсетті, оның бейімделушілік маңызы да анықталды (Stegniy, 1991) [8].

Молекулярлық зерттеулерге негізделген кейінгі зерттеулер *An. messeae* түрі ареалының еуропалық бөлігінде *An. daciae* симпатриялық түрі бөлініп алынған, олар бір-бірінен рДНҚ-ның *ITS2*-де бес нуклеотидті алмастыруларының болуымен ерекшеленді (Николеску және т.б., 2004) [11].

Жұмыртқа сатысындағы түрлер арасындағы кейбір морфологиялық айырмашылықтар да анықталды. «*Maculipennis*» кешенінің безгек масалары жұмыртқалардың түсімен, қалтқылардың болуымен және болмауымен жақсы ерекшеленеді, бірақ *ITS2*-де жұмыртқалардың бір ілінісінде де экзохорийде морфологиялық өзгергіштік бар) [12].

Дегенмен, соңғы зерттеулер көрсеткендей, алғашқы алмастырулардың үшеуі *An. daciae*-де гетерогенді және тек соңғы екі алмастыру *An. daciae* -ді анықтау үшін диагностикалық болып табылады (Науменко және т.б., 2020; Артемов және т.б., 2021) [17,20]. Осы гетерогенділіктің нәтижесінде кейбір зерттеулер *An. daciae* -ның жеке түр ретінде дұрыстығына күмән келтірілді (Bezzhonova et al., 2008) [21].

Бұл және басқа да зерттеулерде *ITS2*-дегі вариациялар көрсетілді, бұл *An. daciae* -ны *ITS2*-дегі бес нуклеотидті алмастыруға негізделген жаңа түр ретінде қарастыруға ашуға қайшы келеді (Bezzhonova және басқалар, 2008; Danabalan және т.б., 2014 (Bezzhonova O.V., Vaulin O.V., Danabalan R.)) [21,22,23].

Молекулалық әдістер екі түр *An. messeae* және *An. daciae* будандарының болуын көрсетті. Дәл осындай нәтижелер басқа жұмыстарда да алынды (Гордеев М.И. және т.б авторлар) [24]. Политенді хромосомаларды талдау арқылы *Diptera*-да түр аралық будандарды (зертханалық және табиғи текті) оңай және сенімді диагностикалау мүмкін екендігі атап өтілді [8].

Павлодар маңындағы үш үлгідегі екі түрдің түрлік құрамының арақатынасының нәтижелері олардың белгілі бір ландшафттық-климаттық белдеулермен шектелуіне байланысты болуы мүмкін. Безгек масаларының популяцияларында климаттық өзгерістердің безгек масаларының географиялық таралуы мен хромосомалық құрамына әсері көрсетілген (Стегний В.Н., Науменко А., Гордеев М.И.) [8, 20,25].

Өртүрлі популяциялардағы молекулалық әдіспен параллельді жүргізілген политенді хромосомалардың цитогенетикалық талдауы *An. messeae* және *An. daciae* -ның ұқсас инверсияларын анықтады, бірақ түр аралық табиғи будандарда гомологтық хромосомалар арасындағы конъюгацияны анықтаған жоқ (Гордеев М.И. және т.б) [24]. *An. messeae* және *An. daciae* толық емес репродуктивті оқшаулануы бар жақын түрлер екені байқалған (Науменко А.Н. және т.б) [20], осыдан *An. daciae* -ны жеке түр ретінде санау қаншалықты дұрыс екендігі туралы мәселе ашық күйінде қалуда.

Зерттеулер нәтижесі Чернорецк ауылынан алынған үлгіде қалған екі үлгіден айырмашылығы, толығымен тек *An. messeae* безгек масалары анықталса, Ертіс өзені жайылмасы үлгісінде *An. messeae* масалары (85,7%±13,2) және будандары (14,3%±13,2) құрады, алайды *An. daciae* кездеспеді. Осы өзеннің жағалауында *An. messeae* (97,2%±2.8) түрі де, *An. daciae* (2,8%±2.8) түрі де кездесті, бірақ будандар анықталмады. Бұл нәтиже зерттелген үлгілердің шағын өлшеміне байланысты болуы да мүмкін. Алайда, үлкен көлемді үлгілерде ұқсас нәтижелер бұрын Семей қаласының популяцияларынан безгек масаларының дернәсілдерін талдау кезінде анықталған (Тлеубаева А.В.) [18].

Қорытынды

Осылайша, Қазақстанның солтүстігінде *An. messeae* түрінің таралу аймағында толық емес репродуктивті оқшаулануымен *An. daciae* симпатриялық түрі анықталды. Павлодар маңындағы негізгі доминантты түр - *An. messeae*, бірақ бұл жерде *An. daciae* -ның алғаш қашан пайда болғаны және олардың арақатынасы жыл ішінде қалай өзгертіндігі әлі анық емес.

Әдебиеттер тізімі

1. Исимбеков Ж.М. Биологические основы и система мероприятий против гнуса в животноводстве Восточного Казахстана: докт. дисс. – Алматы, 1994. – 388 с.
2. Мутушева А.Т., Шаймарданов Ж.К. Повидовой эколого- фаунистический обзор кровососущих комаров г. Павлодара и его окрестностей // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию образования Кокшетауского государственного университета им. Ш. Уалиханова «Уалихановские чтения - 7». – Кокшетау, 2002. – С. 160-163.
3. Заречная С.Н. Избранные лекции по медицинской энтомологии. – Москва: Национальная организация дезинфекционистов, 2010. – 168 с.
4. Горностаева Р.М. Анализ современных данных о фауне и ареалах малярийных комаров (Diptera: Culicidae: Anopheles) на территории России // Паразитология. – 2003. – Вып. 37, №4. – С. 298-305.
5. Гратз Н. Трансмиссивные инфекционные заболевания в Европе, их распространение и влияние на общественное здравоохранение: доклад ВОЗ. – Женева, 2005. – 168 с.
6. Синельников В.А. Эколого-паразитологическая характеристика природного очага туляремии в пойме среднего течения реки Иртыш // Зоологический журнал. – 1965. – Т. 34, №8. – С. 1139-1150.
7. Деньгуб В.М. Экологические обоснования мер борьбы с кровососущими комарами в Северо-Восточном Казахстане: автореф... канд.биол. наук. – Алма-Ата, 1969. – 20 с.
8. Стегний В.Н. Популяционная генетика и эволюция малярийных комаров: монография. – Томск: Изд-во Томского университета, 1991. – 136 с.
9. Дубицкий А.М. Кровососущие комары (Diptera, Culicidae) Казахстана: монография. – Алма-Ата: «Наука», 1970. – 222 с.
10. Sedaghat M.M., Linton Y.M., Oshaghi M.A., Vatandoost H., Harbach R.E. The *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) in Iran: Molecular characterization and recognition of a new species // Bull. Entomol. Res. – 2003. – Vol. 93. – P. 527-535.
11. Nicolescu G., Linton Y.M., Vladimirescu A., Howard T.M., Harbach R.E. Mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* group (Diptera: Culicidae) in Romania, with the discovery and formal recognition of a new species based on molecular and morphological evidence // Bull. Entomol. Res. – 2004. – Vol. 94. – P. 525-535.
12. Гордеев М.И., Званцов А.Б., Горячева И.И., Шайкевич Е.В., Ежов М.Н. Описание нового вида *Anopheles artemievi* sp.n. (Diptera, Culicidae) // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2005. – № 2. – С. 4-5.
13. Гордеев М.И. Сибатаев А.К. Цитогенетическая и фенотипическая изменчивость в центральных и периферийных популяциях малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. (Diptera, Culicidae) // Генетика. – 1996. – Т. 32, № 9. – С. 1199-1205.
14. Abylkassymova G.M., Wasserlauf I.E., Sibataev A.K., Stegnyy V.N., Andreeva Yu.V., Sibataeva A.M., Pervilyeva A.V. Comparative analysis of the variability of the genetic structure of *Anopheles messeae* (Diptera: Culicidae) populations from Western Siberia and Eastern Kazakhstan // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2019. – Vol. 400. – P. 1-6.
15. Гуцевич А.В., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. Фауна СССР. Том 100. Насекомые двукрылые. Комары. – Ленинград: «Наука», 1970. – 384 с.
16. Сибатаев А.К. Андреева Ю.В. Морфология малярийных комаров комплекса *Anopheles maculipennis* на территории России // Научно-практическое руководство по малярии (эпидемиология, систематика, генетика). – Томск, 2007. – С. 146-185.
17. Artemov G.N., Fedorova V.S., Karagodin D.A., Brusentsov I.I., Baricheva E.M., Sharakhov I.V., Gordeev M., Sharakhova M.V. New cytogenetic photomap and molecular diagnostics for the cryptic species of the malaria mosquitoes *Anopheles messeae* and *Anopheles daciae* from Eurasia // Insects.

– 2021. – Vol. 12(9). – P. 835.

18. Тлеубаева А.В. Кровососущие комары (Diptera, Culicidae) зоны бывшего Семипалатинского испытательного полигона: фауна, экология и меры борьбы: диссертация ... кандидата биологических наук. – Тюмень, 2002. – 124 с.

19. Беклемишев В.Н., Желуховцев А.Н. Ареалы некоторых видов *Anopheles* в СССР и причины, их обуславливающие // Бюл. МОИП. – 1945. – Т. 50, № 1-2. – С. 56-73.

20. Naumenko A.N., Karagodin D.A., Yurchenko A.A., Moskaev A.V., Martin O.I., Baricheva E.M., Sharakhov I.V., Gordeev M.I., Sharakhova M.V. Chromosome and Genome Divergence between the Cryptic Eurasian Malaria Vector-Species *Anopheles messeae* and *Anopheles daciae* // Genes (Basel). – 2020. – Vol. 11(2). – P. 165.

21. Bezzhonova O.V., Goryacheva I.I. Intragenomic Heterogeneity of rDNA Internal Transcribed Spacer 2 in *Anopheles messeae* (Diptera: Culicidae) // J. Med. Entomol. – 2008. – Vol. 45(3). – P. 337-341.

22. Vaulin O.V., Karagodin D.A., Zakharov I.K., Baricheva E.M. The dynamics of the species composition of malaria mosquitoes in Siberian populations, detected using restriction analysis // Genetika. – 2018. – Vol. 54. – P. 832-842.

23. Danabalan R., Ponsonby D.J., Linton Y.-M. A Critical assessment of available molecular identification tools for determining the status of *Culex pipiens* S.L. in the United Kingdom // J. American Mosquito Control Association. – 2012. – Vol. 28(4s). – P. 6874.

24. Гордеев М.И., Москаев А.В., Брусенцов И.И., Карагодин Д.А., Бурлак В.А., Артемов Г.Н., Шарахов И.В., Шарахова М.В. Хромосомный полиморфизм малярийных комаров *Anopheles daciae* и *An. messeae* // Актуальные проблемы биологической и химической экологии. Материалы VII международной научно-практической конференции. – Москва, 2021. – С. 153-158.

25. Kitzmiller J.B. Mosquito cytogenetics. In: Genetics of insect vectors of disease. – 1967. – P. 133-150.

А.М. Оразбаева¹, А.К. Сибатаев², К.М. Аубакирова¹, А.М. Ныгыметова³, Б.Б. Торсыкбаева⁴

¹Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

²Томский государственный университет, Томск, Россия

³ТОО AgroShield, Алматы, Казахстан

⁴Медицинский университет Астана, Астана, Казахстан

Видовая идентификация малярийных комаров комплекса *Anopheles maculipennis* (Diptera, Culicidae: Anopheles) на основе PCR-RFLP в Павлодарской области

Аннотация. В данной статье рассмотрены методы определения генетического полиморфизма малярийных комаров комплекса *Anopheles maculipennis*. AN методом PCR-RFLP с использованием второго внутреннего транскрибируемого спейсера кластера рибосомных генов ITS2 проведено выявление сходных видов комплекса *maculipennis*. На основе анализа последовательности ITS2 рДНК в этом сборнике были открыты новые палеарктические виды: *An. persiensis* (Sedaghat et al., 2003), *An. daciae* (Nicolescu и др., 2004) и *An. artemievi* (Гордеев и др., 2004). Ранее на территории Казахстана применяли цитогенетический метод, который включал хромосомный полиморфизм *messeae* на юге ареала этого вида (Стегний, 1991; Гордеев и Сибатаев, 1996). В популяциях малярийных комаров *An. messeae of Kazakhstan*, выявлены новые хромосомные инверсии, не характерные для данного региона (Абылкасымова и др., 2019).

Также приведены некоторые сведения о биоэкологии и вредной сущности комаров *Anopheles messeae*. Большой научный и практический интерес представляют кровососущие комары комплекса *Anopheles maculipennis*, так как они известны как активные кровососы и носители

возбудителей ряда опасных болезней человека и животных. На основе собственных исследований и литературных данных были собраны материалы по биологии и экологии комаров *Anopheles messeae* бассейна р. Иртыш. Приведены данные о распространенности и ландшафтном расположении комаров комплекса *Maculipennis*, сезонной динамике и суточном ритме численности, вредном значении.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, *PCR-RFLP*, внутренний транскрипционный спейсер (*ITS2*), биоэкология, комплекс *maculipennis*.

А.М. Orazbayeva¹, А.К. Sibataev², К.М. Aubakirova¹, А.М. Nygymetova³, В.В. Torsykbaeva⁴

¹*L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan*

²*Tomsk State University, Tomsk, Russia*

³*AgroShield LLP, Алматы, Kazakhstan*

⁴*Astana Medical University, Astana, Kazakhstan*

Species identification of malaria mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* complex (*Diptera*, *Culicidae*: *Anopheles*) based on *PCR-RFLP* in Pavlodar region

Abstract. This article discusses methods for determining the genetic polymorphism of malaria mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* complex. AN identification of similar species of the *maculipennis* complex was carried out by the *PCR-RFLP* method using the second internal transcribed spacer of the *ITS2* ribosomal gene cluster. Based on the analysis of the *ITS2 rDNA* sequence, new Palearctic species were discovered in this collection: *An. persiensis* (Sedaghatetal., 2003), *An. daciae* (Nicolescu et al., 2004) and *An. artemievi* (Gordeev et al., 2004). Previously, a cytogenetic method was used on the territory of Kazakhstan, which included chromosomal polymorphism. It is found in the south of the range of this species (Stegny, 1991; Gordeev and Sibataev, 1996). In populations of malarial mosquitoes of *An. messeae* of *Kazakhstan*, new chromosomal inversions have been identified that are not characteristic of this region (Abylkasymova et al., 2019).

There is also provided some information about the bioecology and harmful nature of *Anopheles messeae* mosquitoes. Bloodsucking mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* complex are of great scientific and practical interest since they are known as active bloodsuckers and carriers of pathogens of a number of dangerous human and animal diseases. Based on their own research and literature data, were collected materials on the biology and ecology of *Anopheles messeae* mosquitoes of the Irtysh River basin. Data on the prevalence and landscape location of mosquitoes in the *Maculipennis* complex, there are presented seasonal dynamics and daily rhythm of abundance, and harmful value.

Keywords: genetic polymorphism, *PCR-RFLP*, internal transcribed spacer (*ITS2*), bioecology, *maculipennis* complex.

References

1. Isimbekov ZH.M. Biologicheskie osnovy i sistema meropriyatij protiv gnusa v zhivotnovodstve Vostochnogo Kazakhstana: dokt. diss. [Biological bases and a system of measures against midges in animal husbandry in East Kazakhstan: Dr. diss.] (Almaty, 1994, 388 s.). [in Russian]
2. Mutusheva A.T., SHajmardanov ZH.K. Povidovoj ekologo- faunisticheskij obzor krovososushchih komarov g. Pavlodara i ego okrestnostej. Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakt. konferencii, posvyashchennoj 40-letiyu obrazovaniya Kokshetauskogo gosudarstvennogo universiteta im. SH. Ualihanova «Valihanovskie chteniya - 7», Kokshetau [Species-specific eco-faunistic review of blood-sucking mosquitoes in Pavlodar and its environs // Proceedings of the international scientific-practical. conference dedicated to the 40th anniversary of the formation of the Kokshetau State

University. Sh. Ualikhanov "Valikhanov Readings - 7", Kokshetau], 160-163 (2002). [in Russian]

3. Zarechnaya S.N. Izbrannye lekciy po medicinskoj entomologii [Selected lectures on medical entomology] (Moskva: Nacional'naya organizaciya dezinfekcionistov, 2010, 168 s.) [Moscow: National Organization of Disinfectionists, 2010, 168 p.]. [in Russian]

4. Gornostaeva R.M. Analiz sovremennyh dannyh o faune i arealah malyarijnyh komarov (Diptera: Culicidae: Anopheles) na territorii Rossii, Parazitologiya [Analysis of modern data on the fauna and ranges of malarial mosquitoes (Diptera: Culicidae: Anopheles) in Russia, Parasitology], 37(4), 298-305 (2003). [in Russian]

5. Gratz N. Transmissivnye infekcionnye zabolevaniya v Evrope, ih rasprostranenie i vliyanie na obshchestvennoe zdavoohranenie: doklad VOZ [Vector-borne infectious diseases in Europe, their spread and impact on public health: WHO report] (ZHeneva, 2005, 168 s.) [Geneva, 2005, 168 p.]. [in Russian]

6. Sinelycikov V.A. Ekologo-parazitologicheskaya karakteristika prirodno go ochaga tulyaremii v pojme srednego techeniya reki Irtysh, Zoologicheskij zhurnal [Ecological and parasitological characteristics of the natural focus of tularemia in the floodplain of the middle reaches of the Irtysh River, Zoological Journal], 34(8), 1139-1150 (1965). [in Russian]

7. Den'gub V.M. Ekologicheskie obosnovaniya mer bor'by s krovososushchimi komarami v Severo-Vostochnom Kazahstane: avtoref... .kand.biol. nauk [Ecological substantiation of measures to combat blood-sucking mosquitoes in North-East Kazakhstan: author's abstractcand.biol. Sciences.] (Alma-Ata, 1969, 20 s.). [in Russian]

8. Stegnij V.N. Populyacionnaya genetika i evolyuciya malyarijnyh komarov: monografiya [Population genetics and evolution of malarial mosquitoes: monograph] (Tomsk: Izd-vo Tomskogo universiteta, 1991, 136 s.) [Tomsk: Publishing House of Tomsk University, 1991, 136 p.]. [in Russian]

9. Dubickij A.M. Krovososushchie komary (Diptera, Culicidae) Kazahstana: monografiya [Blood-sucking mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Kazakhstan: monograph] (Alma-Ata: «Nauka», 1970, 222 s.) [Alma-Ata: "Science", 1970, 222 p.]. [in Russian]

10. Sedaghat M.M., Linton Y.M., Oshaghi M.A., Vatandoost H., Harbach R.E. The *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) in Iran: Molecular characterization and recognition of a new species, Bull. Entomol. Res., 93, 527-535 (2003).

11. Nicolescu G., Linton Y.M., Vladimirescu A., Howard T.M., Harbach R.E. Mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* group (Diptera: Culicidae) in Romania, with the discovery and formal recognition of a new species based on molecular and morphological evidence, Bull. Entomol. Res., 94, 525-535 (2004).

12. Gordeev M.I., Zvancov A.B., Goryacheva I.I., SHajkevich E.V., Ezhov M.N. Opisaniye novogo vida *Anopheles artemievi* sp.n. (Diptera, Culicidae), Medicinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni [Description of the new species *Anopheles artemievi* sp.n. (Diptera, Culicidae), Medical parasitology and parasitic diseases], 2, 4-5 (2005). [in Russian]

13. Gordeev M.I. Sibataev A.K. Citogeneticheskaya i fenotipicheskaya izmenchivost' v central'nyh i periferijnyh populyacijah malyarijnogo komara *Anopheles messeae* Fall. (Diptera, Culicidae), Genetika [Cytogenetic and phenotypic variability in central and peripheral populations of the malarial mosquito *Anopheles messeae* Fall. (Diptera, Culicidae), Genetics], 32(9), 1199-1205 (1996). [in Russian]

14. Abylkassymova G.M., Wasserlauf I.E., Sibataev A.K., Stegnij V.N., Andreeva Yu.V., Sibataeva A.M., Pervilyeva A.V. Comparative analysis of the variability of the genetic structure of *Anopheles messeae* (Diptera: Culicidae) populations from Western Siberia and Eastern Kazakhstan, IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 400, 1-6 (2019).

15. Gucevich A.V., Monchadskij A.S., SHtakel'berg A.A. Fauna SSSR. Tom 100. Nasekomye dvukrylye. Komary [Fauna of the USSR. Volume 100. Diptera insects. Mosquitoes] (Leningrad: «Nauka», 1970, 384 s.) [Leningrad: "Nauka", 1970, 384 p.]. [in Russian]

16. Sibataev A.K., Andreeva YU.V. Morfologiya malyarijnyh komarov kompleksa *Anopheles maculipennis* na territorii Rossii. Nauchno-prakticheskoe rukovodstvo po malyarii (epidemiologiya, sistematika, genetika), Tomsk [Morphology of malarial mosquitoes of the *Anopheles maculipennis* complex in Russia. Scientific and practical guide to malaria (epidemiology, systematics, genetics), Tomsk] 146-185 (2007). [in Russian]
17. Artemov G.N., Fedorova V.S., Karagodin D.A., Brusentsov I.I., Baricheva E.M., Sharakhov I.V., Gordeev M., Sharakhova M.V. New cytogenetic photomap and molecular diagnostics for the cryptic species of the malaria mosquitoes *Anopheles messeae* and *Anopheles daciae* from Eurasia // *Insects*. – 2021. – Vol. 12(9). – P. 835.
18. Тлеубаева А.В. Кровососущие комары (*Diptera, Culicidae*) зоны бывшего Семипалатинского испытательного полигона: фауна, экология и меры борьбы: диссертация ... кандидата биологических наук. – Тюмень, 2002. – 124 с.
19. Беклемишев В.Н., Желуховцев А.Н. Ареалы некоторых видов *Anopheles* в СССР и причины, их обуславливающие // *Бюл. МОИП*. – 1945. – Т. 50, № 1-2. – С. 56-73.
20. Naumenko A.N., Karagodin D.A., Yurchenko A.A., Moskaev A.V., Martin O.I., Baricheva E.M., Sharakhov I.V., Gordeev M.I., Sharakhova M.V. Chromosome and Genome Divergence between the Cryptic Eurasian Malaria Vector-Species *Anopheles messeae* and *Anopheles daciae*, *Genes* (Basel), 11(2), 165 (2020).
21. Bezzhonova O.V., Goryacheva I.I. Intragenomic Heterogeneity of rDNA Internal Transcribed Spacer 2 in *Anopheles messeae* (Diptera: Culicidae), *J. Med. Entomol.*, 45(3), 337-341 (2008).
22. Vaulin O.V., Karagodin D.A., Zakharov I.K., Baricheva E.M. The dynamics of the species composition of malaria mosquitoes in Siberian populations, detected using restriction analysis, *Genetics*, 54, 832-842 (2018).
23. Danabalan R., Ponsonby D.J., Linton Y.-M. A Critical assessment of available molecular identification tools for determining the status of *Culex pipiens* S.L. in the United Kingdom, *J. American Mosquito Control Association*, 28(4s), 6874 (2012).
24. Gordeev M.I., Moskaev A.V., Brusentsov I.I., Karagodin D.A., Burlak V.A., Artemov G.N., Sharakhov I.V., Sharakhova M.V. Хромосомный полиморфизм маларийных комаров *Anopheles daciae* и *An. messeae*. Aktual'nye problemy biologicheskoy i himicheskoy ekologii. Materialy VII mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii, Moskva [Chromosomal polymorphism of malarial mosquitoes *Anopheles daciae* and *An. messeae*. Actual problems of biological and chemical ecology. Materials of the VII International Scientific and Practical Conference, Moscow], 153-158 (2021). [in Russian]
25. Kitzmiller J.B. Mosquito cytogenetics. In: *Genetics of insect vectors of disease*, 1967, 133-150 p.

Авторлар туралы мәлімет:

Оразбаева А.М. – биология білім беру бағдарламасының докторанты, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев көшесі, 2, Астана, Қазақстан.

Сибатаев А.К. – биология ғылымдарының докторы, профессор, Томск мемлекеттік университеті, Ленин даңғылы, 36, Томск, Ресей.

Аубакирова К.М. – биология ғылымдарының кандидаты, доцент, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев көшесі, 2, Астана, Қазақстан.

Нығыметова А.М. – магистр, директор, ЖШС AgroShield, Алматы, Қазақстан.

Торсыкбаева Б.Б. – педагогика ғылымдарының кандидаты, доцент, Астана медицина университеті, Сарыарқа даңғылы, 33, Астана, Қазақстан.

Orazbayeva A.M. – Doctoral student of the educational program "Biology", L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str., 2, Astana, Kazakhstan.

Sibataev A.K. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Tomsk State University, Lenin Avenue, 36, Tomsk, Russia.

Aubakirova K.M. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Astana, Kazakhstan.

Nygymetova A.M. – Master, Director, Argoshield LLP, Almaty, Kazakhstan.

Torsykbaeva B.B. – Candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor, Astana Medical University, 33 Saryarka Ave., Astana, Kazakhstan.