

Сведения о выполненных работах
в период с 01.07.2021 г. по 30.06.2022 г.

по проекту «**Переносчики возбудителей дирофиляриоза и ситарิโอза
в Западной Сибири**»,

поддержанному Российским научным фондом

Соглашение № 20-74-10040

Руководитель: Артемов Глеб Николаевич, канд. биол. наук

Последние десятилетия дирофиляриоз животных и человека захватывает новые территории в Европе и в азиатской части России, продвигаясь на север и северо-восток. Одним из главных переносчиков дирофиляриоза в Западной Сибири выступают малярийные комары. На первом этапе проекта нами были собраны имаго малярийных комаров из восьми регионов Западной Сибири и проведена видовая идентификация дирофилярий и их переносчиков, выбраны модельные популяции комаров для проведения годовых и сезонных исследований главных переносчиков дирофилярий из числа кровососущих комаров, а также, впервые, определения взаимосвязи инверсионного полиморфизма и зараженности комаров дирофиляриями.

В 2021 году нами были сделаны повторные экспедиции на Алтай и в Ханты-Мансийский автономный округ, а также более детально изучена Тюменская и, впервые, Курганская области. В результате уточнена северная граница доминирования инвазивного вида малярийного комара *Anopheles daciae*, проведено исследование распространения малярийных комаров Горного Алтая: впервые они были обнаружены в Улаганской долине, а также на южном склоне Курайского хребта (с. Акташ). Подтверждена северная граница заражения малярийных комаров дирофиляриозом – это 62 градуса и 32 минуты с. ш. (с. Приобье, ХМАО), а также сдвинута на один широтный градус на юг южная граница заражения дирофиляриозом малярийных комаров на Алтае – 52 градуса и 24 минуты с. ш. (с. Катунское, Алтайского края). Двухлетний анализ комаров в пгт. Березово (ХМАО), как и с. Перегрёбное (ХМАО) не выявил заражения.

Ранее нами было продемонстрировано, что три вида малярийных комаров из четырех, обитающих в Западной Сибири, способны к передаче дирофиляриоза – *An. beklemishevi*, *An. daciae* и *An. messeae*. На текущем этапе проекта впервые было показано, именно *An. messeae* выступает в качестве доминантного переносчика возбудителей дирофиляриоза. В агломерации г. Колпашево, где в 2016 году был зарегистрирован случай дирофиляриоза человека, а также выявлены заражения возбудителями легочной формы дирофиляриоза – *Dirofilaria immitis* обитают три вида малярийных комаров. В течение сезона 2021 года взяли четыре выборки малярийных комаров и оказалось, что в первой половине сезона *An. messeae* демонстрирует высокое заражение по сравнению с *An. beklemishevi* и *An. daciae*. *An. beklemishevi* в проведенных исследованиях показывает достоверно пониженную частоту заражения

по сравнению с *An. daciae* и, тем более, *An. messeae* даже в тех населенных пунктах, где он численно преобладает. Связи между зараженностью определенных видов малярийных комаров диофиляриями *D. repens*, *D. immitis* или микстовой инвазией не обнаружено.

В природных популяциях Алтайского края (г. Новоалтайск и с. Катунское) с применением подхода молекулярно-генетической идентификации видов малярийных комаров на основе однонуклеотидной замены в последовательности ITS2 обнаружены «гибриды» *An. messeae* и *An. daciae*, которые не только с высокой частотой присутствовали в выборках (более 60%) но и проявляли достоверно более высокое заражение.

Выявлены и зарегистрированы случаи акаридозов, гельминтозов, микозов, бактериозов кровососущих комаров.

Впервые проведено исследование ассоциации инверсионного полиморфизма и зараженности малярийных комаров диофиляриями. *An. messeae* и *An. daciae* характеризуются общим набором полиморфных инверсий в аутосомах – 2R1, 3R1, 3L1 и отличаются по инверсиям в X хромосоме: X2 – у *An. messeae* и X0 – у *An. daciae* (X11-2R00-3R00-3L00 – стандартный кариотип). Изучали модельные популяции комаров в с. Коларово и агломерации г. Колпашево. Показаны достоверные различия между набором инверсий в кариотипах комаров *An. daciae* и *An. messeae* и выделены некоторые общие для этих двух видов комаров инверсионный генотип. Так, зараженные комары *An. daciae* из с. Коларово достоверно чаще имели генотип 3R00 (но не 3R01), а также набор X00-3R00 и X01-3R00 (в с. Коларово нет полиморфизма по инверсиям в 2R и 3L плечах), но в Колпашево они имели только генотип 2R00. Популяция *An. messeae* в с. Коларово крайне малочисленна и не подходила для оценки, но в г. Колпашево пул зараженных самок этого вида отличался от пула здоровых высокой частотой генотипа (но не 3L01) и, как правило, низкой частотой генотипа 3R11. Кариотипы зараженных самок *An. messeae*, которые имели достоверные отличия от здоровых, были представлены в виде единичных особей с редкими для этого вида генотипами X12, X22, 2R00. Полученные результаты дают нам основания полагать, что и у *An. messeae*, и у *An. daciae* восприимчивые к заражению особи должны иметь кариотип состоящий преимущественно из стандартных вариантов аутосом, но не X хромосомы – X00(X01, X12, X22)-2R00-3R00-3L00.

Методические трудности описания кариотипов зараженных комаров требуют разработки новых маркеров на основе *in situ* гибридизации и ПЦР. Поэтому нами проведена разработка маркеров для FISH с митотическими хромосомами комара, а также разработка праймеров ПЦР, фланкирующих точки разрывов полиморфных инверсий X хромосомы и хромосомы 2R. Эти подходы позволят определять кариотипы без использования политенных хромосом.

Для реконструкции распространения инвазивного вида *An. daciae* и дирофилярий проведено секвенирование последовательности генов цитохромоксидазы I (COI) у этих организмов в «северных» и «южных» популяциях. Для понимания причин высокой восприимчивости и рефрактерности разных видов комаров к заражению проведено исследование состава микробиома кишечника самок малярийного комара *An. daciae*, зараженных дирофиляриями на разных стадиях развития с помощью секвенирования 16S рДНК технологией Oxford Nanopore.