

ГАПЛОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КОМАРОВ РОДА *ANOPHELES* (DIPTERA, CULICIDAE) СЕВЕРНОГО ВЬЕТНАМА

© Т. Ву¹, Б.В. Андрианов², Т.В. Горелова², М.И. Гордеев¹

¹ Московский государственный областной университет, Москва;

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва

Для цитирования: Ву Т., Андрианов Б.В., Горелова Т.В., Гордеев М.И. Геплотипическое разнообразие природных популяций комаров рода *Anopheles* (Diptera, Culicidae) Северного Вьетнама // Экологическая генетика. — 2018. — Т. 16. — № 3. — С. 18–25. doi: 10.17816/ecogen16318-25.

Поступила в редакцию: 14.06.2018

Принята к печати: 30.08.2018

✿ Малярия на территории Вьетнама до настоящего времени остается актуальной проблемой. Видовой состав комаров рода *Anopheles* — основных переносчиков малярии — и численность их популяций оказывают критическое влияние на вероятность развития эпидемии. Проведен анализ изменчивости BOLD-фрагмента митохондриального гена *cox1* в выборках комаров рода *Anopheles* на территории Северного Вьетнама. Идентифицированы комары, относящиеся к видовым комплексам *Anopheles sinensis*, *Anopheles vagus*, *Anopheles barbirostris*. Нуклеотидная изменчивость в пределах комплекса не превышает 2 %. Дифференциации на подвиды в пределах комплексов не выявлено. Наиболее массовым видом в сборах является *Anopheles sinensis* — основной переносчик возбудителя трехдневной малярии, что позволяет прогнозировать успешность местной передачи *Plasmodium vivax* в случае появления носителей малярии в этом районе.

✿ **Ключевые слова:** *Anopheles sinensis*; ДНК-штрихкодирование; природные популяции; митохондрии.

HAPLOTYPIC DIVERSITY OF MOSQUITOES OF THE GENUS *ANOPHELES* (DIPTERA, CULICIDAE) OF NORTH VIETNAM

© T. Vu¹, B.V. Andrianov², T.V. Gorelova², M.I. Gordeev¹

¹ Moscow Region State University, Moscow, Russia;

² Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

For citation: Vu T, Andrianov BV, Gorelova TV, Gordeev MI. Haplotypic diversity of mosquitoes of the genus *Anopheles* (Diptera, Culicidae) of North Vietnam. *Ecological genetics*. 2018;16(3):18-25. doi: 10.17816/ecogen16318-25.

Received: 14.06.2018

Accepted: 30.08.2018

✿ **Background.** Malaria in the territory of North Vietnam remains an actual problem. The species composition of mosquitoes of the genus *Anopheles* — the main vectors of malaria and the density of their populations — has a critical impact on the likelihood of the epidemic. **Materials and methods.** We analyzed the variability of the BOLD fragment of the mitochondrial *cox1* gene in a sampling set of *Anopheles* mosquitoes from the North Vietnam. **Results.** We found mosquitoes belonging to the species complexes: *Anopheles sinensis*, *Anopheles vagus* and *Anopheles barbirostris*. Nucleotide variability within the complexes does not exceed 2%. The differentiation into subspecies within the species complexes was not found. **Conclusion.** The most common species of the genus *Anopheles* of North Vietnam is *Anopheles sinensis* — the main malaria vector. We predict the success of local transmission of malaria in this region in the case of malaria emergence.

✿ **Keywords:** *Anopheles sinensis*; DNA-barcod; native populations; mtDNA.

ВВЕДЕНИЕ

Комары рода *Anopheles* Meigen, 1818 привлекают внимание исследователей благодаря своей способности к переносу возбудителей малярии. Среди большого числа видов рода *Anopheles* лишь некоторые способны переносить возбудителей малярии человека, поэтому составление прогноза эпидемической ситуации в конкретных районах в значительной степени основывается на характеристике популяций комаров и точном определении видов. Морфологическое определение видов

рода *Anopheles* во многих случаях затруднительно. Для видовой идентификации в роде *Anopheles* предложено несколько молекулярно-генетических маркеров, обладающих достаточной изменчивостью на межвидовом уровне. Наиболее полные базы данных в настоящее время существуют по изменчивости внутреннего транскрибируемого спейсера гена рибосомой РНК (ITS2 rDNA) [1] и по изменчивости митохондриального гена цитохромоксидазы (*cox1*) [2]. Применение молекулярно-генетических маркеров для определения ви-

дов комаров основано на использовании порогового уровня допустимой внутривидовой изменчивости данного маркера. Этот порог для каждого маркера и для каждой систематической группы насекомых определяется эмпирически [3]. Для многих групп насекомых пороговый уровень внутривидовой нуклеотидной изменчивости BOLD-фрагмента митохондриального гена *cox1* равен 3 % [4]. Практика идентификации видов комаров рода *Anopheles* по анализу изменчивости BOLD-фрагмента митохондриального гена *cox1*, или более кратко — ДНК-баркодирование, показывает хорошее совпадение морфологических и молекулярных данных. Внутривидовая изменчивость комаров *Anopheles* из группы *hyrcanus* на территории Дальнего Востока России оказалась в пределах от 0,36 до 1,09 %, межвидовая изменчивость — в пределах от 2,34 до 4,50 % [5]. В среднем внутривидовая изменчивость комаров в Китае равна 0,39 % [6]. Внутривидовая изменчивость *Anopheles* из группы *hyrcanus* в Китае находится в пределах от 0,2 до 1,7 %, тогда как межвидовая — от 2,7 до 10,8 % [2]. Столь удобная для систематики ситуация, когда межвидовая изменчивость всегда больше внутривидовой, встречается не всегда. ДНК-баркодирование комаров Канады выявил внутривидовую изменчивость в пределах 0,0–3,9 %, тогда как величины межвидовой изменчивости наблюдались от 0,2 до 17,2 % [7]. Перекрывание диапазонов внутривидовой и межвидовой изменчивости не создает затруднений в идентификации вида, так как во всех случаях последовательности, относящиеся к одному виду, кластеризуются вместе с хорошей статистической достоверностью. Четкая кластеризация последовательностей, относящихся к одному виду, представляет собой более важный критерий для видовой идентификации, чем величина изменчивости в пределах кластера [3]. Применение ДНК-баркодирования для видовой диагностики всей фауны комаров Сингапура, включая *Aedes*, *Anopheles* и *Culex*, показало 100 % эффективность [8].

В настоящем сообщении мы приводим данные о видовой идентификации и гаплотипическом разнообразии комаров из рода *Anopheles* Северного Вьетнама в выборках из пяти локалитетов методом ДНК-баркодирования. Ранее в этих локалитетах изучение фауны комаров не проводилось. Мы обнаружили три вида комаров *Anopheles*, потенциальных переносчиков малярии. Наиболее массовым видом в сборах оказался *Anopheles sinensis* Wiedemann, 1828, реже встречались *An. vagus* Donitz, 1902, и *An. barbirostris* Van der Wulp, 1884.

An. sinensis — полиморфный вид, распространенный на территории Юго-Восточной Азии. В Китае *An. sinensis* является одним из основных переносчиков возбудителя трехдневной малярии *Plasmodium vivax* [9]. *An. sinensis* рассматривается как видовой комплекс, хотя систематический статус отдельных видов комплекса точно не известен и служит предметом

активного изучения [10]. Новые возможности для выявления видов-двойников дает разработка фотокарт высокого разрешения у близких видов *An. sinensis* и *An. lesteri* [11, 12].

Среди комаров Северного Вьетнама были отмечены два других, преимущественно зоофильных, вида — *An. vagus* и *An. barbirostris*. Они также рассматриваются как видовые комплексы. Оба вида распространяют возбудителей как трехдневной, так и тропической малярии, но только в некоторых областях своего ареала [13, 14]. Причины, по которым эти виды являются переносчиками малярии только в некоторых областях своего ареала, неизвестны, но, вероятно, связаны со скрытым полиморфизмом в составе этих видов. Следует отметить, что такие известные переносчики возбудителей малярии в Юго-Восточной Азии, как *Anopheles stephensi*, *Anopheles balabacensis*, *Anopheles maculatus*, *Anopheles dirus* и *Anopheles minimus*, не найдены в наших сборах. Наличие основного переносчика малярии *An. sinensis* в четырех локалитетах Северного Вьетнама из пяти изученных позволяет сделать вывод о сохраняющейся возможности местной передачи трехдневной малярии на территории Северного Вьетнама.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сборы комаров

Выборки личинок комаров рода *Anopheles* были собраны в экспедиции с июля до сентября 2017 г. в пяти провинциях Северного Вьетнама, в которых есть риск восстановления очагов малярии. Сборы комаров проведены в провинциях: Куангнинь, Бакзянг, Шонла, Лаокай и Иэньбай. Три провинции — Шонла, Лаокай и Иэньбай — входят в район Северо-Западного Вьетнама (Тэйбак). Две провинции — Куангнинь, Бакзянг — находятся на северо-востоке Вьетнама. На севере и северо-западе Вьетнама преобладает горный рельеф, расчлененный глубокими долинами. На климат Северного Вьетнама оказывают влияние муссоны. Здесь четко выражены четыре времени года. Лето жаркое, влажное и дождливое. Зима засушливая и менее жаркая. Среднегодовая температура составляет 22,9 °C, средняя влажность — 82 %. Среднегодовой уровень осадков меняется от 1700 до 2400 мм (большая их часть выпадает в июле и августе).

Личинок 4-го возраста фиксировали 98 % этанолом. Для выделения тотальной ДНК и молекулярно-генетического анализа использовали фиксированных в спирте личинок. Основной целью молекулярно-генетического анализа была идентификация видов комаров рода *Anopheles*.

Выделение ДНК

ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции по стандартной методике [15] из индивидуальных личинок после морфологической идентификации.

Выделенная тотальная ДНК была растворена в 50 мкл деионизированной воды. В реакцию амплификации брали по 1 нг тотальной ДНК в качестве матрицы.

Условия проведения ПЦР

Реакцию амплификации проводили в конечном объеме 25 мкл с помощью наборов для амплификации EncycloPlus PCR kit в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. ПЦР-фрагмент mitochondrialного гена *cox1* для выполнения ДНК-штрихкодирования получали с помощью стандартных фолмеровских праймеров. Праймеры LCO1490 и HCO2198 комплиментарны 5'-концу mitochondrialного гена *cox1*, с которых у представителей ряда групп беспозвоночных амплифицируется специфический BOLD-фрагмент 5'-области mitochondrialного гена *cox1* длиной 658 п. н. [16].

LCO1490 5'-GGTCAACAATCATAAAGATATTGG-3'

HCO2198 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'

Фрагменты гена *cox1* moskitov амплифицировали в следующих условиях: первичная денатурация — 4 мин при 95 °C; 5 циклов: денатурация при 95 °C 30 с, отжиг при 45 °C 30 с, синтез при 72 °C 1 мин; 35 циклов: денатурация при 95 °C 30 с, отжиг при 55 °C 30 с, синтез при 72 °C 1 мин; завершающий синтез при 72 °C 5 мин. ПЦР проводили на амплификаторе T100 (Bio-Rad, USA).

Продукты ПЦР разделяли и визуализировали методом электрофореза в 1,5 % агарозном геле. Элюцию ДНК из агарозного геля выполняли с помощью набора ZymocleAn Gel DNA Recovery Kit в соответствии с протоколом фирмы-производителя (The Epigenetics ComAny, USA). Полученные ПЦР-фрагменты были секвенированы.

Секвенирование

Секвенирование продуктов амплификации осуществляли по методу Сэнгера с обоих праймеров с применением ДНК-секвенатора ABI PRISM™ 377 и набора реактивов dGTP Big Dye Termination Kit (PE Applied Biosystems, США). Для секвенирования использовали полимер (ПДМА-6 — компания «Синтол») и капилляры длиной 50 см. На один образец делали два прогона для исключения ошибок сиквенса.

Биоинформационный анализ

Хроматограммы анализировали с помощью программы ChromasPro 13.3 (Technelysium, Australia). Выравнивание последовательностей, полученных в результате секвенирования, с последовательностями, размещенными в базах данных, было выполнено с использованием ресурсов NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Для построения дендрограмм применяли программу MEGA7 [17] с использованием метода ближайших соседей (NJ) и *p*-дистанцию как модель нуклеотидных замен. Статистическую достоверность полученных деревьев оценивали при помощи величины бутстрэп-поддержки с числом репликаций 1000.

Медианная сеть mitochondrialных гаплотипов была построена в программе PopART [18] с применением алгоритма TCS [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Суммарные результаты молекулярно-генетического определения видов комаров рода *Anopheles* на территории пяти провинций Северного Вьетнама приведены в табл. 1 и 2.

Описание сборов личинок комаров рода *Anopheles*, сделанных в 2016 г. на территории Северного Вьетнама, и перечень полученных нуклеотидных последовательностей BOLD-фрагмента mitochondrialного гена *cox1*

The sampling set of mosquitoes larvae of the genus *Anopheles* collected in 2016 in the territory of North Vietnam and nucleotide sequences of the BOLD fragment of the mitochondrial *cox1* gene

№	Имя образца / Haplotype name	Вид комара / <i>Anopheles</i> species name	Место сбора июль — сентябрь 2016 г. / Loca- tion. July-September 2016	GenBank ID
1	Viet_A-1	<i>An. sinensis</i>	Лаокай	MH425400
2	Viet_A-2	<i>An. sinensis</i>		MH425401
3	Viet_A-3	<i>An. sinensis</i>		MH425402
4	Viet_A-4	<i>An. sinensis</i>		MH425403
5	Viet_A-5	<i>An. sinensis</i>		MH425404
6	Viet_A-6	<i>An. sinensis</i>		MH425405
7	Viet_A-7	<i>An. sinensis</i>		MH425406
8	Viet_A-8	<i>An. sinensis</i>		MH425407
9	Viet_A-9	<i>An. sinensis</i>		MH425408

Продолжение табл. 1 (Table 1 (continued))

№	Имя образца / Haplotype name	Вид комара / Anopheles species name	Место сбора июль – сентябрь 2016 г. / Loca- tion. July-September 2016	GenBank ID
10	Viet_B-1	<i>An. vagus</i>	Шонла	MH425409
11	Viet_B-2	<i>An. vagus</i>		MH425409
12	Viet_B-3	<i>An. vagus</i>		MH425410
13	Viet_B-4	<i>An. vagus</i>		MH425411
14	Viet_C-1	<i>An. sinensis</i>	Иэньбай	MH425412
15	Viet_C-2	<i>An. sinensis</i>		MH425413
16	Viet_C-3	<i>An. sinensis</i>		MH425414
17	Viet_C-4	<i>An. sinensis</i>		MH425415
18	Viet_C-5	<i>An. sinensis</i>		MH425416
19	Viet_C-6	<i>An. sinensis</i>		MH425417
20	Viet_C-7	<i>An. sinensis</i>		MH425418
21	Viet_C-8	<i>An. sinensis</i>		MH425419
22	Viet_C-9	<i>An. sinensis</i>		MH425420
23	Viet_C-10	<i>An. sinensis</i>		MH425421
24	Viet_C-11	<i>An. sinensis</i>		MH425417
25	Viet_C-12	<i>An. sinensis</i>		MH425422
26	Viet_C-13	<i>An. sinensis</i>		MH425423
27	Viet_C-14	<i>An. sinensis</i>		MH425424
28	Viet_C-15	<i>An. sinensis</i>		MH425421
29	Viet_C-16	<i>An. sinensis</i>		MH425425
30	Viet_D-1	<i>An. barbirostris</i>	Куангнинь	MH425426
31	Viet_D-2	<i>An. barbirostris</i>		MH425427
32	Viet_D-3	<i>An. barbirostris</i>		MH425428
33	Viet_D-4	<i>An. barbirostris</i>		MH425429
34	Viet_D-5	<i>An. sinensis</i>		MH425430
35	Viet_D-6	<i>An. sinensis</i>		MH425431
36	Viet_D-7	<i>An. sinensis</i>		MH425432
37	Viet_D-8	<i>An. sinensis</i>		MH425433
38	Viet_D-9	<i>An. sinensis</i>		MH425434
39	Viet_D-10	<i>An. sinensis</i>		MH425435
40	Viet_D-11	<i>An. sinensis</i>		MH425436
41	Viet_D-12	<i>An. barbirostris</i>		MH425437

Окончание табл. 1 (Table 1 (continued))

№	Имя образца / Haplotype name	Вид комара / Anopheles species name	Место сбора июль – сентябрь 2016 г. / Loca- tion. July-September 2016	GenBank ID
42	Viet_E-1	<i>An. sinensis</i>	Бакзянг	MH425438
43	Viet_E-2	<i>An. vagus</i>		MH425439
44	Viet_E-3	<i>An. vagus</i>		MH425440
45	Viet_E-4	<i>An. sinensis</i>		MH425441
46	Viet_E-5	<i>An. vagus</i>		MH425442
47	Viet_E-6	<i>An. sinensis</i>		MH425443
48	Viet_E-7	<i>An. vagus</i>		MH425442
49	Viet_E-8	<i>An. vagus</i>		MH425444

Таблица 2

Видовой состав малярийных комаров в пяти локалитетах Северного Вьетнама

Table 2

Species composition of malarial mosquitoes in five localities of North Vietnam

Место сбора и его географические коор- динаты / Geographical location	Характеристика биотопов и дата сборов / Environment and date of collection	Видовой состав / Species name	Число идентифицированных комаров / Number of specimen
Лаокай 22.48 № 103.98 E	Горный район. Заросшая канава со стоячей водой. Городская за- стройка. 21 сентября 2016 г.	<i>An. sinensis</i>	9
Шонла 21.10 № 103.73 E	Горный район. Пруд, заросшая канава. 30 августа 2016 г.	<i>An. sinensis</i>	4
Иэньбай 21.68 № 104.46 E	Горный район. Рисовые чеки. Городская застройка. 10 сентября 2016 г.	<i>An. sinensis</i>	16
Куангнинь 21.00 № 107.29 E	Предгорный район. Пруд. 15 авгу- ста 2016 г.	<i>An. barbirostris</i> , <i>An.</i> <i>sinensis</i>	12
Бакзянг 21.29 № 106.19 E	Предгорный район. Рисовые чеки. 17 сентября 2016 г.	<i>An. sinensis</i> , <i>An. vagus</i>	8

Идентифицированы три видовых комплекса: *An. sinensis*, *An. vagus* и *An. barbirostris*. Для генетической дифференциации идентифицированных видовых комплексов была построена кладограмма с включением контрольных последовательностей представляющих отдельные виды комплексов (рис. 1).

Большая часть проанализированных образцов относится к виду *An. sinensis*. Другие виды комплекса — *An. pullus*, *An. lesteri*, *An. hyrcanus* — не обнаружены. Различить *An. sinensis* и *An. kleini* по изменчивости BOLD-фрагмента невозможно, так как *An. kleini* в эволюционно недавнем прошлом потерял собственные митохондрии, которые были вытеснены митохондриями *An. sinensis* [10]. Наблюдаемая изменчивость *An. sinensis* в нашей выборке находится на внутривидовом уровне и не превышает 2 %. В недавно опубли-

кованном исследовании гаплотипического разнообразия *An. sinensis* в Китае [9] было обнаружено два кластера. Самым массовым гаплотипом для кластера 1 является гаплотип Нар_41, а для кластера 2 — Нар122. Большинство найденных гаплотипов комаров из Китая относится к кластеру 1. Во Вьетнаме мы обнаружили эти группы. Большинство найденных нами гаплотипов также относится к кластеру 1 (см. рис. 1). К кластеру 2 в нашей выборке относится единственный гаплотип С-9. Гаплотип 113, редко встречающийся в Китае, во Вьетнаме, напротив, является одним из основных. Четкая кластеризация митохондриальных гаплотипов обычно соответствует разным видам комаров, которые могут иметь разные биологические характеристики. У *An. sinensis* Вьетнама такая кластеризация только намечается, но не имеет достаточной бутстрэп-

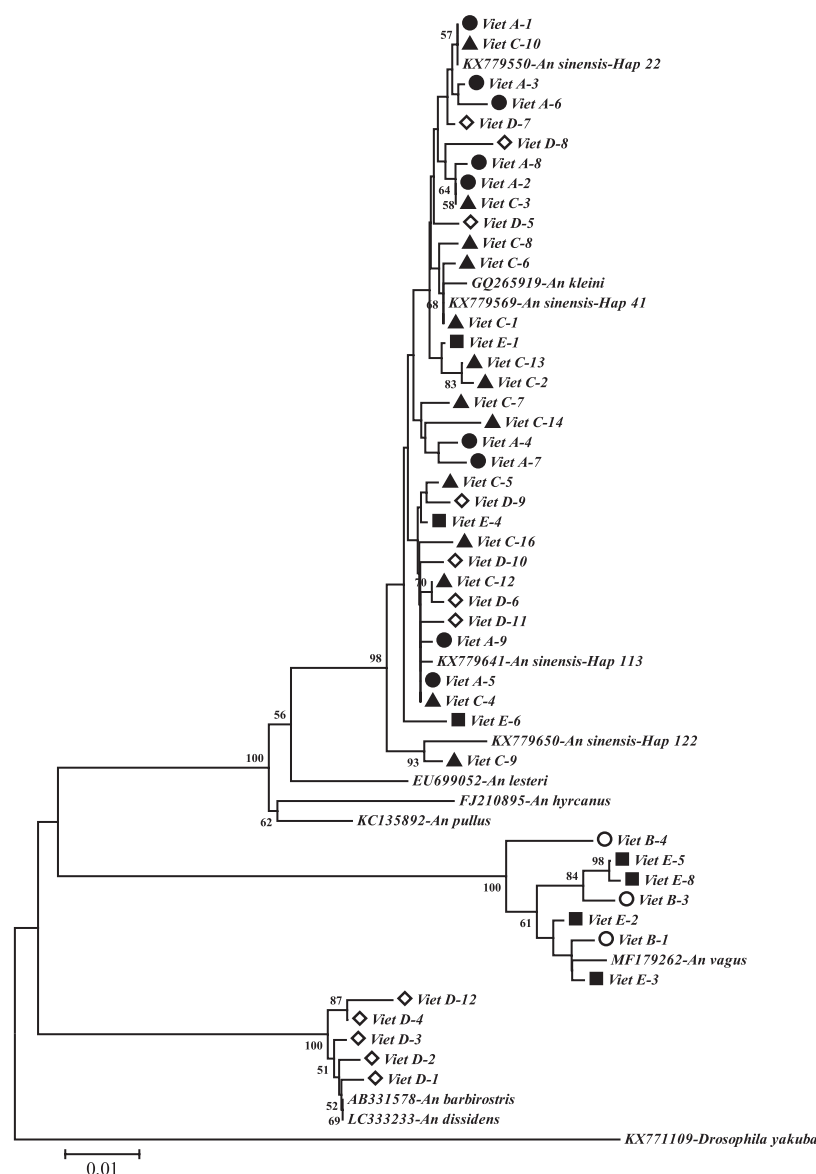


Рис. 1. Кладограмма комаров рода *Anopheles*, полученная на основе анализа изменчивости фрагмента гена *cox1* длиной 649 п. н. На ветвях филограммы приведены имена образцов. Филограмма *Neighbor-Joining* построена с помощью метода (*p*-distance) с *bootstrap*-поддержкой — 1000 реплик в программе MEGA 7. Место сбора образца помечено фигурой перед именем: ● Лаокай, ○ Шонла, ▲ Иэньбай, ◇ Куангнин, ■ Бакзянг. Описание образцов ДНК комаров, характеризующих индивидуальных особей, приведено в табл. 1. Дерево построено по методу ближайших соседей (NJ). Величина бутстрэп-поддержки кластеризации таксонов указана рядом с узлами филограммы. Дерево построено в масштабе — число нуклеотидных замен на сайт. Длина контрольного отрезка соответствует 1 % нуклеотидной изменчивости. В качестве контроля приведены нуклеотидные последовательности комаров *Anopheles* из группы *hyrcanus* и видовых комплексов *Anopheles vagus* и *Anopheles barbirostris*. Для выделения этих последовательностей на филограмме показаны GenBank ID. В качестве внешней группы взята последовательность *cox1* *Drosophila yakuba*

Fig. 1. Cladistic analysis of mosquitoes of the genus *Anopheles* obtained on the basis of the analysis of the variability of a fragment of the *cox1* gene, 649 bp in length. The names of the samples are given on the branches of the phylogram. The *Neighbor-Joining* phylogram was built using the (*p*-distance) method with the *bootstrap* support — 1000 replicas. The phylogram was constructed in MEGA 7. The sample collection locality is marked with a figure in front of the name: ● Laocai, ○ Shonla, ▲ Yenbai, ◇ Kuangnin, ■ Bakjiang. The Description of DNA samples of mosquitoes, see Table 1. The tree is constructed by the method (Neighbor-Joining). The bootstrap value of cluster support is shown next to the nodes of the phylogram. The tree is built in scale of the number of nucleotide replacements per site. The length of the control segment corresponds to 1 % of nucleotide variability. Typical nucleotide sequences of the *Anopheles* of the *hyrcanus* group and *Anopheles vagus* species complex and *Anopheles barbirostris* species complex are given as controls. To mark these sequences are on the phylogram, the GenBank ID is given. The sequence of *Drosophila yakuba cox1* of is taken as an external group

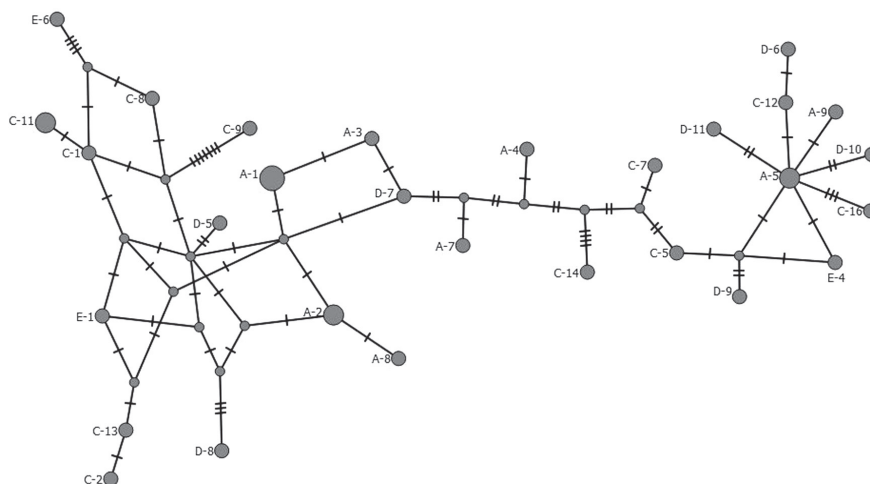


Рис. 2. Медианная сеть митохондриальных гаплотипов *An. Cinensis*, построенная в программе PopArt на основании нуклеотидного полиморфизма фрагмента гена *cox1* длиной 649 п. н. Штрихи отмечают мутационные события. Размер кружков пропорционален числу синонимичных гаплотипов

Fig. 2. Median network of the mitochondrial haplotypes of *An. cinensis*, constructed in the program PopArt on the basis of the nucleotide polymorphism of the *cox1* gene fragment, 649 bp in length. Mutations are indicated by strokes. The size of the circles is proportional to the number of synonymous haplotypes

поддержки на филограмме. Вопрос о существовании подвидов *An. sinensis* и возможных различий в их биологических особенностях требует дальнейших исследований. На рис. 1 заметна дифференциация на две группы в пределах кластера гаплотипов 1 *An. sinensis*. Для более подробного исследования внутривидовой дивергенции *An. sinensis* мы построили медианную сеть митохондриальных гаплотипов (рис. 2).

Полученный результат подтверждает начавшуюся дифференциацию популяции на две формы. Форма сети выделяет гаплотип А-5 и группу производных от него гаплотипов. Такая звездчатая структура может возникнуть в случае недавнего расселения и роста численности этой формы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В горных местообитаниях Куангниня и Бакзянга видовое разнообразие комаров рода *Anopheles* снижено, но характеризуется наличием специфических видов. *An. barbirostris* найден только в Куангнине, *An. vagus* — только в Бакзянге и Шонле. Преимущественная локализация комаров с гаплотипом А-5 и родственными ему гаплотипами в городской застройке Лаокая и Иэньбай позволяет предположить, что мы наблюдаем начало формирования городской антропофильной популяции у *An. sinensis*.

Как известно, виды — двойники комплекса *Anopheles hyrcanus*, а именно *An. sinensis* и *An. lesteri*, являются главными переносчиками малярии в Юго-Восточной Азии и в Китае. Среди этих видов наиболее антропофильным считается *An. lesteri*, который рассматривается как главный переносчик *Plasmodium vivax* в Центральном Китае. Этот вид больше охотится на людей и имеет более высокий HBI (human blood index — про-

порция крови у самок комаров, полученной от человека) [20]. Однако в последнее время второстепенная роль *An. sinensis* как переносчика *Plasmodium vivax* пересмотрена. Показано, что благодаря *An. sinensis* в 2006 г. возникла эпидемия трехдневной малярии в рисосеяющих районах Центрального Китая [21]. По-видимому, степень антропофильности *An. sinensis* и, соответственно, его эпидемиологическое значение могут подвергаться отбору и варьировать в локальных популяциях.

Наличие основного переносчика малярии *An. sinensis* в четырех локалитетах Северного Вьетнама из пяти изученных позволяет сделать вывод о сохраняющейся возможности местной передачи трехдневной малярии на территории Северного Вьетнама.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта (AAAA-A16-116111610180-3) «Изучение изменчивости автономных генетических элементов насекомых и разработка маркеров нестабильности генома» (договор № 0112-2016-0001).

ЛИТЕРАТУРА

1. Fang Y, Shi WQ, Zhang Y. Molecular phylogeny of *Anopheles hyrcanus* group members based on ITS2 rDNA. *Parasit Vectors*. 2017;10(1):417. doi: 10.1186/s13071-017-2351-x.
2. Fang Y, Shi WQ, Zhang Y. Molecular phylogeny of *Anopheles hyrcanus* group (Diptera: Culicidae) based on mtDNA COI. *Infect Dis Poverty*. 2017;6(1):61. doi: 10.1186/s40249-017-0273-7.
3. Zhang HG, Lv MH, Yi WB, et al. Species diversity can be overestimated by a fixed empirical threshold: insights from DNA barcoding of the genus *Cletus* (Hemiptera:

- Coreidae) and the meta-analysis of COI data from previous phylogeographical studies. *Mol Ecol Resour.* 2017;17(2):314-323. doi: 10.1111/1755-0998.12571.
4. Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci.* 2003;270(1512):313-321. doi: 10.1098/rspb.2002.2218.
 5. Khrabrova NV, Andreeva YV, Sibataev AK, et al. Mosquitoes of *Anopheles hyrcanus* (Diptera, Culicidae) Group: Species Diagnostic and Phylogenetic Relationships. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;93(3):619-622. doi: 10.4269/ajtmh.14-0207.
 6. Wang G, Li C, Guo X, et al. Identifying the main mosquito species in China based on DNA barcoding. *PLoS One.* 2012;7(10): e47051. doi: 10.1371/journal.pone.0047051.
 7. Cywinska A, Hunter FF, Hebert PD. Identifying Canadian mosquito species through DNA barcodes. *Med Vet Entomol.* 2006;20(4):413-424. doi: 10.1111/j.1365-2915.2006.00653.x.
 8. Chan A, Chiang LP, Hapuarachchi HC, et al. DNA barcoding: complementing morphological identification of mosquito species in Singapore. *Parasit Vectors.* 2014;7:569. doi: 10.1186/s13071-014-0569-4.
 9. Feng X, Huang L, Lin L, et al. Genetic diversity and population structure of the primary malaria vector *Anopheles sinensis* (Diptera: Culicidae) in China inferred by *cox1* gene. *Parasit Vectors.* 2017;10(1):75. doi: 10.1186/s13071-017-2013-z.
 10. Choochote W, Min GS, Intapan PM, et al. Evidence to support natural hybridization between *Anopheles sinensis* and *Anopheles kleini* (Diptera: Culicidae): possibly a significant mechanism for gene introgression in sympatric populations. *Parasit Vectors.* 2014;7:36. doi: 10.1186/1756-3305-7-36.
 11. Liang J, Sharakhova MV, Lan Q, et al. A standard cytogenetic map for *Anopheles sinensis* and chromosome arm homology between the subgenera *Anopheles* and *Cellia*. *Med Vet Entomol.* 2014;28 Suppl 1:26-32. doi: 10.1111/mve.12048.
 12. Liang J, Cheng B, Zhu G, et al. Structural divergence of chromosomes between malaria vectors *Anopheles lesteri* and *Anopheles sinensis*. *Parasit Vectors.* 2016;9(1):608. doi: 10.1186/s13071-016-1855-0.
 13. Dhiman S, Yadav K, Rabha B, et al. Evaluation of Insecticides Susceptibility and Malaria Vector Potential of *Anopheles annularis* s. l. and *Anopheles vagus* in Assam, India. *PLoS One.* 2016;11(3): e0151786. doi: 10.1371/journal.pone.0151786.
 14. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. — М.: Мир, 1984. [Maniatis T, Fritch EF, Sambrook J. Molecular cloning. Moscow: Mir; 1984. (In Russ.)]
 15. Sinka ME, Bangs MJ, Manguin S, et al. The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Asia-Pacific region: occurrence data, distribution maps and bionomic precis. *Parasit Vectors.* 2011;4:89. doi: 10.1186/1756-3305-4-89.
 16. Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol.* 1994;3(5):294-299.
 17. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol.* 2016;33(7):1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054.
 18. Leigh JW, Bryant D, Nakagawa S. popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol.* 2015;6(9):1110-1116. doi: 10.1111/2041-210x.12410.
 19. Clement M, Posada D, Crandall KA. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol Ecol.* 2000;9(10):1657-1659. doi: 10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x.
 20. Gu ZC, Shang LY, Chen JS, et al. The role of *Anopheles anthropophagus* in malaria transmission in Xinyang City of Henan Province. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi.* 2001;19(4):221-224.
 21. Zhu G, Xia H, Zhou H, et al. Susceptibility of *Anopheles sinensis* to *Plasmodium vivax* in malarial outbreak areas of central China. *Parasit Vectors.* 2013;6:176. doi: 10.1186/1756-3305-6-176.

✳ Информация об авторах

Ву Тхи Хьонг — аспирант. Московский государственный областной университет, Москва. E-mail: vuhuongmgou@gmail.com.

Борис Витальевич Андрианов — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва. E-mail: andrianovb@mail.ru.

Татьяна Викторовна Горелова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва. E-mail: tagor08@mail.ru.

Михаил Иванович Гордеев — д-р биол. наук, заведующий кафедрой. Московский государственный областной университет, Москва. E-mail: gordeev_mikhail@mail.ru.

✳ Information about the authors

Vu Thi Huong — Researcher. Moscow Region State University. Moscow, Russia. E-mail: vuhuongmgou@gmail.com.

Boris V. Andrianov — PhD, Senior Researcher. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences. Moscow, Russia. E-mail: andrianovb@mail.ru.

Tatiana V. Gorelova — PhD, Researcher. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences. Moscow, Russia. E-mail: tagor08@mail.ru.

Michail I. Gordeev — PhD, Head of the Department. Moscow Region State University. Saint Petersburg, Russia. E-mail: gordeev_mikhail@mail.ru.