

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВ-ДВОЙНИКОВ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ

Ш.М. ЖАХОНГИРОВ, И.И. ГОРЯЧЕВА, У.Т. СУВОНКУЛОВ,  
А.А. ФАТУЛЛАЕВА, Ш.Т. САЙФИЕВ

Научно-исследовательский институт медицинской паразитологии  
им. Л.М. Исаева МЗ РУз, Самарканд

**Резюме.** Результат молекулярно-генетических исследований показал, что в Ташкентской, Самаркандской, Кашкадарьинской областях и на территории Ферганской долины обитает *An. artemievi*. Собранные комары из Шахрисабзского района Кашкадарьинской, из Шаватского, Кушкуприкского и Хивинского районов Хорезмской областей и из Нукусского, Канликкульского районов Республики Каракалпакстан образцов относятся к *An. martinus*. Сравнимые виды имеют специфическую структуру в области ITS2. в целом, полученные данные свидетельствуют о значительных межвидовых различиях по двум генетическим маркерам, у малярийных комаров *An. martinus* и *An. artemievi*.

**Ключевые слова:** малярия, распространение, видовая идентификация, комплекс "maculipennis", секвенирование, молекулярно-генетические и цитогенетические методы.

## DETERMINATION OF TWIN-SPECIES OF MALARIA MOSQUITOES WITH THE HELP OF MOLECULAR-GENETIC METHODS OF DIAGNOSTICS

SH.M. JAKHONGIROV, I.I. GORIACHEVA, U.T. SUVONKULOV,  
A.A. FATULLAEVA, SH.T. SAIFIEV

Research Institute of medical parasitology named L.M. Isaev Ministry of health  
of the Republic of Uzbekistan, Samarkand

**Resume.** The result of molecular-genetic studies shows that *An. artemievi* inhabited Tashkent, Samarkand, Kashkadarya regions and Fergana valley. Samples of mosquitoes collected in Shakhrisabz area of Kashkadarya region, Kushkuprik and Khiva area of Khorezm region and Nukus, Kanlikul area of Republic of Karakalpakstan belong to *An. martinus*. Compared samples have specific structure in ITS2. Mainly obtained data testify significant differences between species by two genetic markers of *An. martinus* and *An. artemievi*.

**Key words:** malaria, distribution, species identification, the complex "maculipennis", sequencing, molecular genetic and cytogenetic methods.

**Введение.** К настоящему времени имеются данные по распространению *An. martinus* в приаралье (в низовьях Амударья и Сырдарья), а также на юге Туркменистана, вдоль всей трассы каракумского канала [1, 2]. Сведения о находках *An. martinus* в Кашкадарьинской, Джизакской, Ташкентской, Самаркандской, Хорезмской областях, на территории Ферганской долины и Республики Каракалпакстан нуждаются в дополнительной проверке с использованием молекулярно-генетических методов [1].

Видовая идентификация комаров р. *Anopheles* является критическим звеном в определении методов борьбы и контроля численности переносчиков малярии. Видовая идентификация важна для прогнозирования эпидемиологической ситуации по малярии на территории республики, поскольку в

Узбекистане обитают как основные, так и второстепенные переносчики малярии.

В ряде случаев комары могут быть идентифицированы методами морфологического анализа, как например, *An. superpictus*, однако в ряде случаев идентификация на основе морфологических признаков невозможна. Это относится, прежде всего, к комарам комплекса *An. maculipennis*: *An. maculipennis*, *An. artemievi* и *An. martinus*.

**Материал и методы.** Материалом для исследований являлись личинки и имаго комаров комплекса *maculipennis*, собранные в 2012-2014 гг. на территории Узбекистана.

Сбор комаров в помещениях проводили с использованием стандартного эксгаустера ВОЗ и электрического фонаря. Идентификация собранного материала проведена по наружным морфологическим признакам по

определяющим таблицам для рода *Anopheles* [3, 4], а для идентификации видов-двойников комплекса «*maculipennis*» были использованы молекулярно-генетические и цитогенетические методы [5, 6].

#### Результаты и обсуждение.

Молекулярно-генетический анализ проведен для 41 комара из 6 районов Узбекистана. В каждом районе было исследовано не менее 5 особей из каждого местообитания. Лишь в Шахрисабском районе Кашкадарьинской области была проанализирована одна особь – пойманный в хлеву имаго.

Полученные продукты амплификации были проанализированные методом электрофореза в агарозном геле для оценки длины фрагмента. Данные представлены на рисунке 2. Размер всех полученных фрагментов оказался идентичным. В ряде случаев (образцы 7, 8, 22, 26) обнаружены дополнительные, более тяжелые фрагменты, которые, возможно, могут указывать на полиморфизм области ITS2 у комаров из разных популяций. Этот вопрос требует дополнительного изучения.

В результате рестрикционного анализа с рестриктазой *AluI* для всех образцов были выявлены профили рестрикции соответствующие профилю рестрикции комаров *An. artemievi* с наиболее крупным фрагментом в 294 п.н. Сходные профили рестрикции позволяют утверждать, что все исследованные комары относятся к комарам вида *An. artemievi*.

Ранее в Шахрисабзском районе Кашкадарьинской области был выявлен вид *An. martinius*. Идентификация *An. artemievi* позволяет предполагать, что два вида, *An. martinius* и *An. artemievi* могут обитать симпатрически. Это предположение требует дальнейших исследований.

Электрофорез продуктов амплификации с праймерами 5,8S и 28S (Proft et al., 1999) (рисунок 1). Нижняя часть - дорожки 1-5 – образцы из окрестности Гребного канала, хлев; дорожки 6-10 образцы из кишлака Чубат, личинки; дорожки 11-15 – образцы из кишлака Чубат, навес Булунгурского района Самаркандской области, имаго; дорожка 16 – образец из кишлака Улоч хлев, Шахрисабзского района Кашкадарьинской области; дорожки 17-21 – образцы из кишлака Пастгузар Уйчинского района Наманганской области навес; дорожки 22-24 – образцы из кишлака Пастгузар, рисовый чек Уйчинского района Наманганской области.

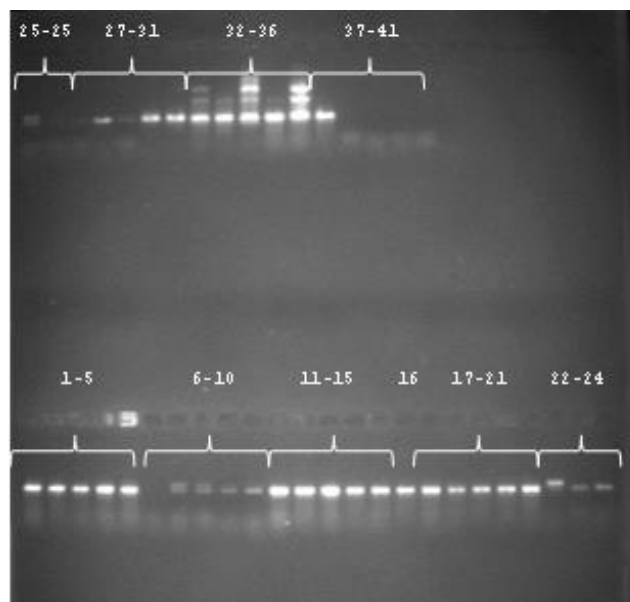


Рис. 1. Электрофорез продуктов амплификации с праймерами 5,8S и 28S.

Верхняя часть – дорожки 23-25 - образцы из кишлака Пастгузар рисовый чек Уйчинского р-на Наманганской области, дорожки 26-31 – образцы из кишлака Гулистон рисовый чек, Пахтабадского района; дорожки 32-36 – образцы из кишлака Гулистон хлев, Пахтабадского района Андижанской области; дорожки 37-41 – образцы из кишлака Жамбул Букинского района Ташкентской области.

Результат молекулярно-генетических исследований показал, что в Ташкентской, Самаркандской, Кашкадарьинской областях и на территории Ферганской долины обитает *An. artemievi*. Собранные комары из Шахрисабзского района Кашкадарьинской, из Шаватского, Кушкуприкского и Хивинского районов Хорезмской областей и из Нукусского, Канликульского районов Республики Каракалпакстан были исследованы методом ПЦР-ПДРФ с использованием рестриктазы *CfoI* показал, что профиль рестрикции проанализированных образцов относится к *An. martinius*.

Для изучения внутривидового индивидуального полиморфизма области второго внутреннего транскрибируемого спейсера кластера рибосомных генов было проведено секвенирование продуктов амплификации образцов ДНК *An. artemievi*.

#### Выводы:

1. Результат молекулярно-генетических исследований показал, что в Ташкентской, Самаркандской, Кашкадарьинской областях и на территории Ферганской долины обитает *An. artemievi*.

2. Собранные комары из Шахрисабзского района Кашкадарьинской, из Шаватского, Кушкуприкского и Хивинского районов Хорезмской областей и из Нукусского, Канликульского районов Республики Каракалпакстан образцов относится к *An.martinius*.

3. Сравнимые виды имеют специфическую структуру в области ITS2. в целом, полученные данные свидетельствуют о значительных межвидовых различиях по двум генетическим маркерам, у малярийных комаров *An.martinius* и *An.artemievi*.

#### Литература:

1. Гордеев М.И., Ежов М.Н., Званцов А.Б. и др. // Мед. паразитол. – 2004. - №3. – С. 16 -21.
2. Гуцевич А.В., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. // Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Т. 3. Вып. 4: Комары. Семейство Culicidae. – Л., 1970.
3. Званцов А.Б., Ежов М.Н., Артемьев М.М. // Переносчики малярии (Diptera, Culicidae, Anopheles) Содружества Независимых Государств (СНГ). – Копенгаген. - 2003. – 312 с.
4. Лебедева Н.И. // Узбек. биол. журн. – 2002, №2, с. 83-88
5. Мамедниязов О. Кровососущие комары Туркменистана и интегрированная система борьбы с ними. – Ашхабад, 1995.
6. Gordeev M., Zvantsov A., Goriacheva I., Shaikevich E., Bezzhonova O., Mosquitoes of the genus *Anopheles* in countries of the WHO European Region having faced a recent resurgence of malaria.

Regional research project, 2003 – 2007. – WHO/Euro. – Copenhagen. – 2008. – 26pp.

#### МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК УСУЛНИ ҚЎЛЛАБ БЕЗГАК ЧИВИНЛАРИНИ ЭГИЗАК ТУРЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Ш.М. ЖАҲОНГИРОВ, И.И. ГОРЯЧЕВА,  
У.Т.СУВОНКУЛОВ, А.А. ФАТУЛЛАЕВА,  
Ш.Т. САЙФИЕВ

Ўзбекистон Республикаси ССВ Л.М. Исаев  
номидаги тиббий паразитология илмий  
текшириш институти, Самарқанд ш.

**Резюме.** Молекуляр-генетик тадқиқот натижаларини кўрсатишича, Тошкент, Самарқанд, Қашқадарё ва Фарғона водийси ҳудудларида безгак чивинларини *An.artemievi* тури борлиги аниқланган. Қашқадарё вилоятининг Шахрисабз, Хоразм вилоятининг Шоват, Қўшқўприк ва Хива, ҳамда Қорақалпоғистон Республикасининг Нукус ва Қонликўл туманларидан олинган намуналар *An.martinius*га тааллуқли эканлигини кўрсатди. Солиштирилаётган турларнинг ITS2 структурасини ўрнашган жойи маҳсус тузилишга эга, олинган маълумотлар тўлиғича шуни кўрсатдики, *An.martinius* ва *An.artemievi* безгак чивинлари бир-биридан иккита генетик маркерини борлиги билан анча фарқ қилиши аниқланган.

**Калит сўзлар:** безгак, тарқалиши, турли идентификация, “*maculipennis*” комплекси, молекуляр-генетик ва цитогенетик усуллар.