

АКУСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ КОМПЛЕКСА ANOPHELES MACULIPENNIS

Перевозкин В.П., Бондарчук С.С., Иваницкий А.Е., Петрова Н.В.

ФГБОУ ВПО «Томский государственный педагогический университет», Томск, E-mail: pvptomsk@rambler.ru

Изучались акустические характеристики четырех представителей малярийных комаров палеарктического комплекса «*Anopheles maculipennis*»: *An. messeae*, *An. beklemishevi*, *An. maculipennis*.s. и *An. atroparvus*. Установлено, что значения основных частот самцов всех видов выше, чем у самок. Близкие акустические показатели имеют виды *An. atroparvus* и *An. maculipennis*, чем можно объяснять случаи межвидовой гибридизации этих двух видов, зарегистрированные ранее в природе посредством цитогенетического анализа. Звуковые спектры *An. messeae* и *An. beklemishevi* достоверно отличаются как между собой, так и от двух первых видов. Самцы *An. messeae* характеризуются наиболее широким диапазоном главных частот, что, очевидно, связано с инверсионным полиморфизмом вида. Полученные результаты позволяют рассматривать звуковую коммуникацию у малярийных комаров как основной докопуляционный механизм, обуславливающий идентификацию полового партнера при спаривании.

Ключевые слова: кровососущие комары, акустика, частота звука, гармоника, половое поведение, виды-двойники, кариотипы, хромосомные инверсии.

ACOUSTIC CHARACTERISTICS OF MALARIAL MOSQUITOES COMPLEX ANOPHELES MACULIPENNIS

Perevozkin V.P., Bondarchuk S.S., Ivanitskiy A.E., Petrova N.V.

Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, E-mail pvptomsk@rambler.ru

Researching the acoustic characteristics of four representatives of malarial mosquitoes Palaearctic complex «*Anopheles maculipennis*»: *An. messeae*, *An. beklemishevi*, *An. maculipennis*.s. and *An. atroparvus*. It was found that the spectra of fundamental frequencies for males of all species is significantly higher than for females. Species *An. atroparvus* and *An. maculipennis* have close acoustics. It can be explained cases interspecific hybridization of these two species in nature previously registered by cytogenetic analysis. Sound spectrum *An. messeae* and *An. beklemishevi* significantly different among themselves, and from the first two types. Male *An. messeae* characterized by the wide range of the main frequency, which is obviously related to the type of inversion polymorphism. The obtained results give us to consider a sound communication in *Anopheles* mosquitoes as the main beforecopulative mechanism, cause identification sexual partner during mating.

Keywords: bloodsucking mosquitoes, acoustics, sound frequency, harmonics, sexual behavior, sibling species, karyotypes, chromosomal inversions.

Акустические особенности насекомых имеют важнейшее значение при размножении, благодаря чему обеспечивается встреча особей противоположного пола и репродуктивная изоляция близких симпатрических видов [1]. Неослабевающий интерес к звуковой коммуникации комаров объясняется как желанием понять наиболее сложные формы их жизнедеятельности, так и необходимостью управлять поведением и контролировать численность переносчиков опасных трансмиссивных заболеваний.

Малярийные комары рода *Anopheles* (Diptera, Culicidae) являются объектами постоянного повышенного внимания со стороны биологов и медицинских служб ввиду эпидемиологического значения этих насекомых. В то же время представители данной группы являются прекрасными модельными объектами для генетического и экологического анализа [2, 6].

Цитогенетические исследования малярийных комаров Палеарктики позволили выявить ряд видов-двойников, объединенных в комплекс «*Anopheles maculipennis*», для некоторых из которых характерен внутривидовой инверсионно-хромосомный полиморфизм, имеющий адаптивное значение [9]. Несмотря на пристальное внимание к малярийным комарам со стороны специалистов, механизмы звуковой коммуникации этой группы двукрылых изучены недостаточно.

Целью настоящей работы являлось изучение акустических механизмов идентификации и выбора полового партнера у видов-двойников малярийных комаров комплекса «*Anopheles maculipennis*».

Материал и методы

Материалом для данной работы послужили комары четырех видов-двойников: *An. messeae* Falleroni, *An. beklemishevi* Stegniy and Kabanova, *An. maculipennis* Meigen и *An. atroparvus* van Thiel. Имаго *An. atroparvus* использованы из лабораторной линии; имаго остальных видов выведены из потомств от гоноактивных самок, выборки которых были взяты в природных популяциях – *An. messeae* и *An. beklemishevi* в Томской области, *An. maculipennis* в Белоруссии. Среди использованных потомств *An. beklemishevi*, *An. atroparvus* и *An. maculipennis* оказались цитогенетически мономорфными, а *An. messeae* – инверсионно полиморфным. Поэтому в последнем случае цитогенетически определяли кариотипы особей из каждого потомства. У выращенных имаго всех четырех видов снимались акустические характеристики. Для этого комаров приклеивали дорсальной стороной груди к препаровальной игле (рис. 1) и помещали в звуковую камеру с микрофоном (рис. 2). Для регистрации акустических сигналов использовался компьютер и соответствующее программное обеспечение.



Рисунок 1. Фиксация комара перед микрофоном



Рисунок 2. Звуковая камера с микрофоном

Содержание личинок всех видов осуществлялось в одних и тех же условиях и на одной и той же диете. Статистическая обработка результатов исследований проводилась средствами Microsoft Office Excel с анализом «выбросов», проверки дисперсионной однородности и соответствия выборки нормальному распределению.

Результаты и обсуждение

В различных регионах Палеарктики установлена симпатрия представителей малярийных комаров в разнообразных сочетаниях [3, 6]. В связи с этим в процессе эволюции у комаров должны были сформироваться четкие биологические докопуляционные механизмы, обеспечивающие встречу и распознавание особей противоположного пола своего вида для скрещивания. Учитывая то, что скрещивание комаров происходит в полете и не редко в темное время суток [2], первостепенное значение в видовой идентификации, очевидно, имеют акустические сигналы, издаваемые машущими крыльями.

Для комаров *Aedesaegypti* [8] и *Culexquinquefasciatus* [10] было показано, что в их звуковом спектре при идентификации и выборе полового партнера определяющее значение имеет не только величина основного тона, но и кратные ей по частоте гармоники. Амплитуды информативных сигналов и низкочастотные помехи в спектре зачастую сопоставимы, в частности, из-за нелинейности усилительной аппаратуры, поэтому в исследованиях была произведена идентификация и верификация значений основной частоты путем раскадровки видеозаписи махов крыльями самцов и самок *An. atroparvus*, отснятой с помощью скоростной камеры «С100 Centurio» с частотой 1700–2000 кадров в секунду. В результате удалось достоверно сопоставить периодичность биения крыльев значениям их основной звуковой частоты. Основная частота и гармоники определяют индивидуальный тембр жужжания каждого насекомого. При этом установлено, что количество махов крыльями в единицу времени у самцов *An. atroparvus* значительно больше, чем у самок. Данная закономерность оказалась общей для разных полов всех четырех видов: самки жужжат достоверно «ниже», чем самцы этого же вида ($p < 0,05$). Очевидно, что различия частоты взмахов крыльями обусловлены, главным образом, разницей размеров и веса тела, геометрией и площадью крыльев.

Межвидовой сравнительный анализ акустики трех представителей *Anopheles* с учетом полов показал неоднозначные различия в значениях их частот.

У самок *An. atroparvus* в звуковом спектре выявлены три пика (рис. 3, *Female*): первый, самой высокой амплитуды – основная частота (среднее значение для выборки $f = 293$ Гц, число особей $n = 72$); второй и третий пики – гармоники, или обертоны, кратные значению главного пика (584 и 880 Гц, соответственно).

У самцов *An. atroparvus* два хорошо выраженных пика (третий слабо отличается от фоновых колебаний) (рис. 3, *Male*): первый (основная частота), среднее значение для выборки $f = 444$ Гц ($n = 29$); второй пик – гармоника – средняя частота 887 Гц. Необходимо подчеркнуть, что анализируемые частоты особей одного пола *An. atroparvus* статистически совпадают на уровне значимости $\alpha = 0,05$. Таким образом, средняя основная частота самца выше, чем у самки, на 151 Гц, соответственно различаются и гармоники.

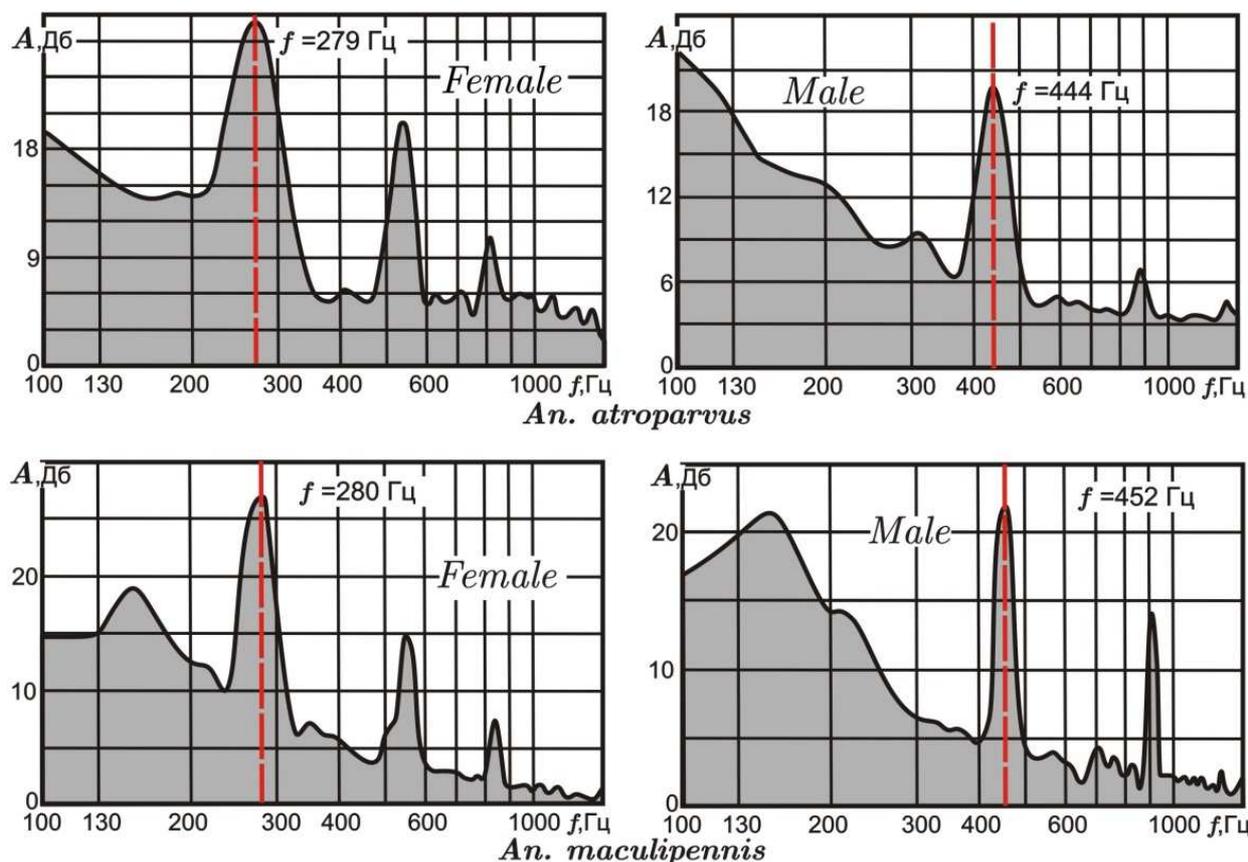


Рисунок 3. Типовые спектры звуковых частот самок (*Female*) и самцов (*Male*) *An. atroparvus* и *An. maculipennis*

Красными пунктирными линиями на диаграммах отмечены пики основных частот

У самок *An. maculipennis* в звуковом спектре выявлены также три пика (рис. 3, *Female*): первый (основная частота) – среднее значение для выборки $f = 272$ Гц; второй и третий (гармоники) – 548 и 820 Гц, соответственно ($n = 11$). У самцов *An. maculipennis* так же, как и у *An. atroparvus*, в звуковом спектре хорошо выражены два пика (рис. 3, *Male*): первый (основная частота) – среднее значение для выборки $f = 448$ Гц ($n = 15$); второй пик (гармоника) – средняя частота 890 Гц. Средняя основная частота самца выше, чем у самки, на 176 Гц, соответственно различаются и гармоники.

Таким образом, *An. atroparvus* и *An. maculipennis* имеют близкие акустические характеристики (у самцов они практически совпадают), чем в частности можно объяснять феномен межвидовой гибридизации этих двух видов. Единичные межвидовые гибриды на стадии личинок, отловленные ранее в природных биотопах Молдавии (г. Бельцы) и Калмыкии (г. Элиста), были выявлены посредством цитогенетического анализа [3, 7].

Обнаружение природных гибридов *An. atroparvus* \times *An. maculipennis* является уникальным к настоящему времени событием среди всех видов комплекса «*Anopheles maculipennis*». Данный феномен также подтверждается результатами скрещивания видов в лабораторных условиях, как путем свободной копуляции в садках, так и методом принудительной копуляции [6].

Лабораторная гибридизация *An. atroparvus* × *An. maculipennis* показала полную стерильность самцов F₁ и некоторую фертильность самок F₁. Последние, будучи способными к скрещиванию с самцами *An. atroparvus*, совершенно не развивали яиц. Очевидно, репродуктивная изоляция между *An. atroparvus* и *An. maculipennis*, четко проявляющаяся на уровне стерильности гибридов, не подкрепляется поведенческой изоляцией. Можно сделать вывод, что абсолютных этологических барьеров при скрещивании между этими видами не существует, что хорошо соотносится с полученными характеристиками их звуковых частот.

Акустические параметры третьего изученного вида – *An. messeae* – значимо отличаются от таковых первой описанной пары. Во-первых, учитываемые частоты *An. messeae* достоверно ниже, чем у *An. atroparvus* и *An. maculipennis*. Во-вторых, для самцов *An. messeae* установлены два типовых варианта пиков в спектре частот. В первом варианте, в отличие от *An. atroparvus* и *An. maculipennis*, наблюдаются три выраженных одинарных пика, так же как и у самок (рис. 4а и 4б). Во втором варианте для самцов с определенными кариотипами характерны парные («пакетные») пики обертонов (рис. 4в). Следует подчеркнуть, что гибриды от скрещивания *An. messeae* с *An. atroparvus* или с *An. maculipennis* в природе не обнаружены.

В-третьих, диапазон главных частот, прежде всего у самцов *An. messeae*, оказался гораздо разнообразнее, чем у других исследованных видов, что, очевидно, связано с внутривидовым инверсионным полиморфизмом этого представителя. Перестройки затрагивают как половую хромосому (XL), так и плечи двух аутосом (2R, 3R, 3L) [9].

В юго-западных регионах Палеарктики преимущественно встречаются эволюционно исходные варианты – XL₀ (XL₁), 2R₀, 3R₀, 3L₀; в северо-восточных – XL₁, XL₂, 2R₁, 3R₁, 3L₁. В центре ареала *An. messeae* популяции характеризуются смешанным составом инверсий, хотя их определенные сочетания в кариотипах регистрируются значимо чаще, чем это ожидалось исходя из частот отдельных перестроек [4, 6]. В соответствие с этим было сделано предположение, что в полиморфных гемипопуляциях имаго *An. messeae* имеет место ассортативное скрещивание (предпочтительное спаривание генетически сходных особей).

Статистический анализ по критерию Стьюдента не выявил значимых различий по всем частотным пикам у самок с различными кариотипами (основная частота от 211 до 225 Гц).

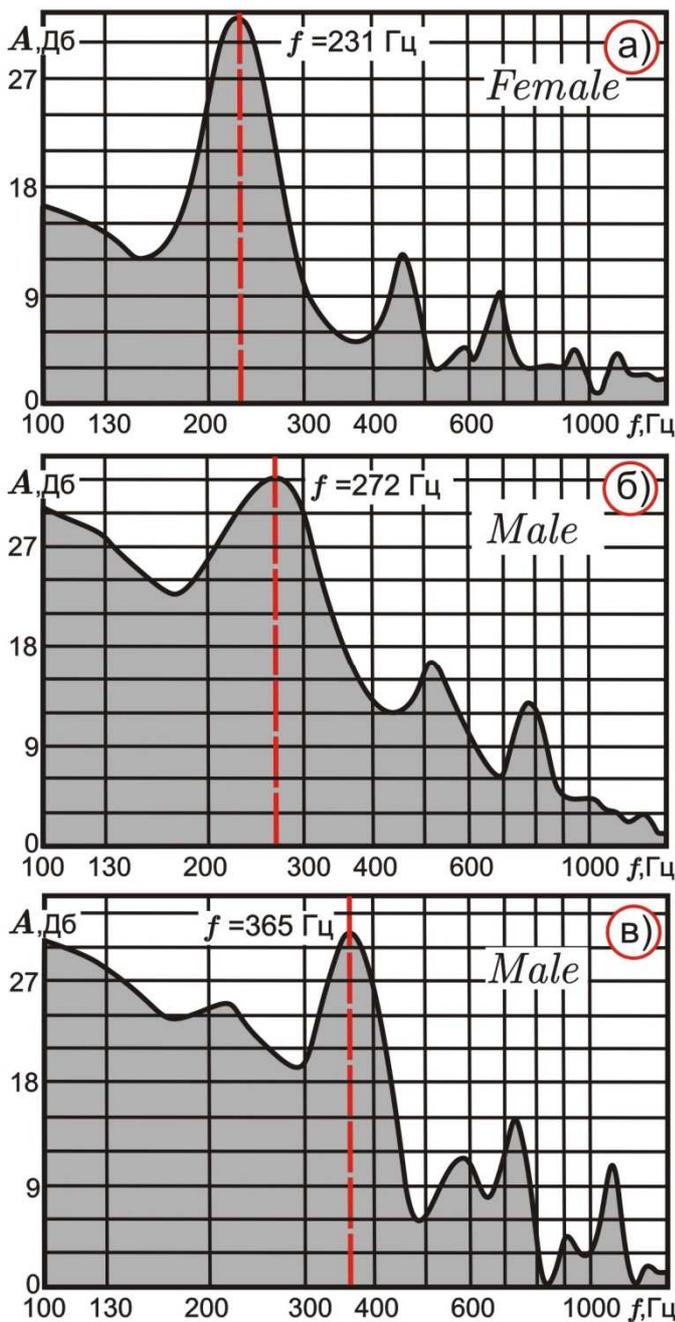


Рисунок 4. Типовые акустические спектры самки и самцов *An. messeae*

Акустические характеристики имаго *An. messeae* указывают на то, что комары с более высокой частотой жужжания обитают в северных частях ареала, и, наоборот, «южные» формы характеризуются относительно низкими показателями. Можно предположить, что имаго, распространенные на севере ареала с коротким летом, имеют большие размеры, что позволяет откладывать самкам больше яиц и быстро наращивать численность популяций. «Южные» комары имеют меньшие размеры и плодовитость. В таком случае более крупные «северные»

В то же время у самцов достоверные различия наблюдаются практически между всеми выделенными вариантами, особенно между имаго с кариотипами, распространенными или доминирующими в разных частях ареала (для «юго-западных» форм основная частота 261-301 Гц, для «северо-восточных» – 326-363 Гц). Следует подчеркнуть, что эффекты ассоциативного взаимодействия инверсий в кариотипах наиболее выражено проявляются именно у самцов [6].

Известно, что самцы *Anopheles* в вечернее время собираются в рои, чтобы усилить звучание для привлечения самок [2]. Остается открытым вопрос, каким образом происходит окончательная идентификация самкой полового партнера, так как кариотипическая структура роев до сих пор не изучалась.

Возможны два варианта: либо рой преимущественно состоит из самцов с определенными кариотипами, и самка удаленно его идентифицирует; либо рой представляет собой полиморфную гемипопуляцию самцов, и тогда выбор самкой полового партнера осуществляется уже внутри роя.

особи в полете должны более интенсивно махать крыльями (при равенстве других параметров), и, как следствие, иметь более высокие значения звуковых частот.

Особняком в комплексе «*Anopheles maculipennis*» позиционируется вид *An. beklemishevi*: он имеет наиболее отдаленное родство с остальными видами и, очевидно, другой путь проникновения в Палеарктику из Северной Америки [6]. Данный представитель распространен по северной таежной части Евразии и является викарирующим с *An. maculipennis* в Европе и симпатриантом с *An. messeae* преимущественно в северной части ареала последнего [5]. Для *An. beklemishevi* установлены следующие акустические характеристики: средняя основная частота у самок – 253 Гц (и кратные ей 2 гармоники), у самцов – 269 Гц (и кратные ей 2 гармоники, как у *An. messeae*). Таким образом, вид отличается по своим частотам от всех остальных *Anopheles*. Обращает на себя внимание самое минимальное различие частот между полами (отношение средних частот самец/самка всего 1,06, тогда как у других: *An. maculipennis* – 1,51; *An. messeae* – 1,55; *An. atroparvus* – 1,52). Интересно также отметить, что наибольшие отличия по звуковым частотам *An. beklemishevi* проявляет по отношению к «северным» кариотипическим формам *An. messeae*, с которыми в большей степени совместно обитают. И наоборот, имаго *An. messeae* с наборами инверсий, распространенных на юго-западе ареала, наибольшим образом отличаются по акустике от других европейских изученных видов – *An. atroparvus* и *An. maculipennis*, что логичнее всего объяснить симпатрией *An. messeae* с этими видами именно на юго-западе Палеарктики.

Таким образом, полученные результаты акустических характеристик близкородственных видов малярийных комаров позволяют рассматривать их звуковую коммуникацию как основной механизм для видовой и внутривидовой идентификации полового партнера при спаривании.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания № 2014/387/1029.

Список литературы

1. Бертрам С.М., Джонсон Л.А., Кларк Д., Чиф К. Электронная система для регистрации общего времени, продолжительности и уровня звуковых сигналов, издаваемых насекомыми // Электронный журнал «Техническая акустика». – 2004, 20. URL: <http://ejta.org/ru/bertram1>, (дата обращения: 02.02.2015).
2. Беклемишев В. Н. Экология малярийного комара. – М.: Медгиз, 1944. – 299 с.

3. Перевозкин В.П., Бондарчук С.С., Гордеев М.И. Популяционно-видовая структура малярийных комаров (Diptera, Culicidae) Прикаспийской низменности и Кумо-Манычской впадины // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2012. – № 1. – С. 12-17.
4. Перевозкин В.П., Гордеев М.И., Бондарчук С.С. Хромосомный полиморфизм и закономерности формирования субпопуляционной организации малярийных комаров *Anopheles* (Diptera, Culicidae) в местообитаниях Томской области // Генетика. – 2009. – Т. 45, № 4. – С. 478-487.
5. Перевозкин В.П., Принцева А.А., Бондарчук С.С., Гордеев М.И. Пространственное распределение и кариотипический состав малярийных комаров (Diptera, Culicidae) в окрестностях Телецкого озера // Экология. – 2012. – № 3. – С. 188-195.
6. Стегний В. Н. Популяционная генетика и эволюция малярийных комаров. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1991. – 136 с.
7. Стегний В.Н., Кабанова В.М. Хромосомный анализ малярийных комаров *Anopheles satroparvus* и *A. maculipennis* (Diptera, Culicidae) // Зоол. журн. – 1978. – Т. 57, № 4. – С. 613-619.
8. Cator Lauren J., Arthur Ben J., Harrington Laura C. and Hoy Ronald R. Harmonic Convergence in the Love Songs of the Dengue Vector Mosquito. *Science*, 2009. V. 323. No. 5917. P. 1077-1079.
9. Stegny V.N., Kabanova V.M., Novikov Y.M., Pleshkova G.N. Inversion polymorphism of malaria mosquito *Anopheles messeae*. I. Distribution of inversions in area of species // *Rus. J. Genetics*. 1976. V.12. № 4. P. 47-55.
10. Warren B., Gibson G. and Russell I. J. Sex Recognition through Midflight Mating Duets in *Culex* Mosquitoes Is Mediated by Acoustic Distortion. *Current Biology*, 2009. Vol. 19. No. 6. P. 485-491.

Рецензенты:

Степанов В.А., д.б.н., профессор, заместитель директора института по научно-исследовательской работе, руководитель лаборатории эволюционной генетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г. Томск;

Сибатаев А.К., д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории эволюционной цитогенетики НИИ биологии и биофизики при ТГУ (НИИББ), г. Томск.