

Комары *Culex pipiens*: электрофоретическая изменчивость ферментов

О. Е. ЛОПАТИН

Институт зоологии и генофонда животных НАН Казахстана,
Алма-Ата

АННОТАЦИЯ

Изучена электрофоретическая подвижность 14 ферментов комаров *Culex pipiens* из Казахстана, Западной Сибири, европейской части России и Дальнего Востока. Выявлены стабильные различия между *C. pipiens pipiens* и *C. pipiens molestus*. Описаны межпопуляционные различия у этих комаров по изученным признакам. Полученные данные позволяют считать единым происхождение всех изученных *C. pipiens molestus*. Мнение о формировании *C. pipiens molestus* на основе местных популяций *C. pipiens pipiens* в ходе исследований не подтвердилось.

Culex pipiens L. 1758 – политипический вид (комплекс) кровососущих комаров, имеющих всеветное распространение и большое эпидемическое значение. Этот вид имеет несколько подвидовых форм недостаточно определенного таксономического ранга [1–4]. История его изучения довольно сложна (см. [5]). Только список синонимов в каталоге кровососущих комаров занимает не одну страницу и содержит 71 название [6]. Большинство морфологических различий носит количественный характер, что значительно затрудняет определение, особенно в симпатрических популяциях. Лишь *C. pipiens quinquefasciatus* Say 1823 довольно надежно отличается от остальных морфологически. Значительная часть признаков, отмеченных в ранних работах как диагностические, в настоящее время считаются неудовлетворительными для этих целей из-за значительной индивидуальной и межпопуляционной вариации. Вместе с тем разные формы обладают рядом существенных биологических признаков, отличающих их друг от друга (наличие /или отсутствие / зимней имагинальной диапаузы и фотопериодической реакции – гомодинамность, способность /или неспособность / к индивидуальной копуляции в ограниченном объеме без

роения – стеногамность, и к откладке первой яйцекладки без кровососания – автогенность). Указанные комплексы биологических признаков характерны для пары *C.p. molestus* Forskal 1775 – *C.p. pipiens*.

В последнее время установлено, что практическое значение различных популяций и внутривидовых форм существенно неоднородно из-за полиморфизма по физиологическим, биохимическим и поведенческим признакам. Полиморфизм *C. pipiens* по биологическим признакам может быть связан с дифференцированностью внутривидовой структуры и иметь эпидемическое значение. Затронутые выше вопросы с исчерпывающей полнотой освещаются в монографии Е. Б. Виноградовой по *Culex pipiens* [1].

Его изучение имеет и более общий интерес – в плане решения проблем эволюции широко распространенных видов, имеющих высокую численность и обширный ареал при относительно низкой морфологической дифференциации. Особый интерес представляет изучение генетических событий, сопровождающих освоение новой экологической ниши. В данном случае это заселение городских зданий, так как этот вид комаров – один из немногих, массово размножающихся в населенных пунктах. Из-

ложенное позволяет считать важным и актуальным более детальное изучение этих комаров.

Отсутствие надежных морфологических критериев для определения *C.p. pipiens* и *C.p. molestus* заставило провести изучение биохимических признаков для выявления различий между ними. Использование метода гель-электрофореза и специфического окрашивания для выявления ферментов позволило использовать генетически детерминированные признаки [7].

Изменчивость каждого фермента носит дискретный характер в силу дискретности изменений молекулярной структуры белков, так как возможна замена или утеря не менее одной аминокислоты. Метод электрофореза регистрирует такие различия, хотя и не все. Исследуемый фермент может иметь у данного вида один или более электрофоретический вариант и быть соответственно моно- или полиморфным. Если признак варьирует, количество его вариантов очень ограничено, а различия между вариантами имеют качественный характер. У диплоидных организмов в большинстве случаев непосредственно на фореграмме можно определить гомо- и гетерозиготность особи по полиморфным ферментам. Если каждый электрофоретический вариант фермента обозначить буквой или цифрой, то обозначения для гомозиготных особей будут иметь два одинаковых значения, а для гетерозиготных – два разных. Фенотип особи может быть охарактеризован совокупностью моногенно наследуемых признаков, каждый из которых имеет четкие различия. В результате можно получить достаточно формализованное описание фенотипа каждой особи по исследованным ферментам.

Пример такого описания особи по четырем ферментам:

ГФИ-в/в; ИДГ-а/в; МДГ-а/с; ФГМ-а/а,
где ГФИ и т. п. – названия ферментов, а, в, с, – обозначения электрофоретических вариантов.

Для популяционных исследований каждое животное анализируется индивидуально. Исследуемая совокупность особей может быть охарактеризована как спектром (перечнем) обнаруженных вариантов, так и распределением частот фенотипов или аллельных вариантов. Отсутствие гетерозигот определенных классов по полиморфным ферментам чаще всего свиде-

тельствует о наличии репродуктивных барьеров, хотя возможны и менее вероятные объяснения. Распределение частот может быть представлено в виде обычных линейных гистограмм, хотя удобнее использовать круговые. Следует отметить, что реально значительная часть ферментов является мономорфной, а различия между близкими видами затрагивают лишь небольшую часть из них. Однако, поскольку исследуются моногенные, генетически детерминированные признаки, то достоверно установленные различия между совокупностями особей по спектрам электрофоретических вариантов ферментов являются серьезным аргументом в пользу генетических различий между ними, а в симпатрических популяциях они свидетельствуют о возможной репродуктивной изоляции и имеют в этом случае систематическое значение.

Подробнее и лучше принципиальные основы использования данных об изоферментах, выявляемых методом гель-электрофореза, в популяционной генетике и геносистематике изложены в ряде монографий [7–10 и др.]. Прекрасный обзор по электрофорезу ферментов *C. pipiens* сделан в книге Е. Б. Виноградовой [1].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для проведенных исследований сборы комаров сделаны в следующих местах: г. Алма-Ата (1979–1991 гг.); Закавказье, 1983 г.: города Баку, Кировабад (Гянджа), Тбилиси, села Ахалдаба (Боржомский р-н), Лата (Цебельдинский р-н Абхазии, около 60 км от побережья) и г. Сухуми; города Москва и Балашиха (1985); Санкт-Петербург, Пушкин и Тосно (1985); Новосибирск (1982–1989); Алтай, 1989 г.: сопутствующие и искусственные водоемы близ оз. Ая, недалеко от г. Горно-Алтайска; г. Томск (1984); Приморский край, 1986 г.: г. Владивосток, пос. Краскино (Посьетский р-н, юг Приморья, недалеко от побережья), с. Иннокентьевка (Лесозаводский р-н, запад Приморского края), г. Артем. Сборы проводились как в самих городах, так и в их окрестностях.

Для электрофореза использовали гомогенат одного имаго. Как правило, имаго были получены в лабораторных условиях после выплода из сборов живых личинок и не питались кро-

вью. При необходимости длительного хранения имаго замораживали в жидком азоте или в низкотемпературном морозильном шкафу при -70°C . У замороженных имаго ферментативная активность сохранялась до двух лет. Электрофорез проводили в плоских блоках 13 % крахмального геля. По окончании электрофореза блоки разрезали на несколько пластин и окрашивали гистохимическими методами для выявления ферментативной активности разных ферментов [2, 11]. В предварительных экспериментах проведен анализ 27 ферментных систем, детально изучены 14 из них. В общей сложности у этих ферментов выявлено 35 аллельных вариантов. Четыре фермента, имеющих наибольшее значение при популяционном анализе, проверялись одновременно в разработанном нами для *C. pipiens* варианте трис-ЭДТА-боратной буферной системы. Для *C.p. molestus* методом семейного анализа продемонстрирован наследственный характер выявленных электрофоретических вариантов полиморфных ферментов. Он подтвержден в опытах по гибридизации.

Характеристика популяций дана на основе независимых сборов, проведенных в разное время в нескольких местах. В большинстве случаев данные объединены после обработки, когда выяснялось, что существенные различия между сборами отсутствовали. Отдельно рассматривались сборы с необычными характеристиками, например в которых одновременно присутствовали и *C. pipiens*, и *C. torrentium*.

Далее в тексте используются: сокращенные русские названия ферментов (например, ФГМ или ИДГ-II), I, II, III – номера ферментов в полилокусных ферментных системах; сокращенные латинские для обозначения аллелей и генотипов (например, Pgm-2; Idh-2/3), 1, 2, 3 ... – условные обозначения аллелей, 2/2 и т. п. – гомозиготы, 2/3 и т. п. – гетерозиготы.

Общие характеристики изученных ферментов

Шесть из 14 изученных ферментов: глюкозофосфатизомераза (ГФИ), гексокиназа (ГК), изоцитратдегидрогеназа-II (ИДГ-II), НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа-I (малик-энзим-I; МЕ-I), фосфоглюкомутаза (ФГМ) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-ФГД)

были высоко полиморфными у большинства комаров. Еще 5 ферментов (глюкозодегидрогеназа (ГДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (ГФД), супероксиддисмутаза (СОД), МДГ-I и МЕ-II) были мономорфными у всех изученных комаров и подробнее в тексте не рассматриваются. Низкой степенью полиморфизма обладали: альфа-глицерофосфатдегидрогеназа (а-ГФД), ИДГ-I и НАД-зависимая малатдегидрогеназа-II (МДГ-II). *C. vagans* отличался от всех других исследованных видов высоким полиморфизмом по МДГ-II и ИДГ-I, которая у остальных была мономорфной. Проведенные исследования позволили определить изоферментные спектры, характеризующие *C.p. pipiens*, *C.p. molestus*, *C. torrentium* и *C. vagans*. На их основе выявлены критерии для определения комаров по изоферментным характеристикам. Ниже приводятся характеристики наиболее подробно изученных полиморфных ферментов. Для сравнения даны сведения по *C. torrentium* и *C. vagans*.

Спектры 6-ФГД близки в большинстве обследованных популяций и не представляют диагностического интереса, так как наиболее распространенный аллель был общим для всех видов, кроме *C. vagans*, у которого преобладал другой аллель, более редкий у остальных видов. Гексокиназа представлена тремя вариантами, встречающимися с высокой частотой в популяциях *C. pipiens*. Один из трех обнаруженных фенотипов, по-видимому, является гетерозиготой между двумя другими и встречается с частотой, близкой к теоретически ожидаемой. Однако сложная картина, выявляемая при окраске на этот фермент, не позволяет сделать окончательное заключение. Для большей определенности в своей работе мы ориентировались на регистрацию наиболее быстрой зоны ферментативной активности, которую можно обозначить как ГК-III. В дальнейшем будем для большей определенности рассматривать только ее характеристики. При работе с другими ферментами таких трудностей не было. Разные популяции *C.p. pipiens* имели значительные отличия друг от друга по частотам выявленных вариантов ГК. Межпопуляционные отличия у *C.p. molestus* невелики. У *C.p. pipiens* чаще встречался один из аллелей ГК, а у *C.p. molestus* преобладал другой. У *C. torrentium* и *C. vagans* гексокиназа была практически или полностью мономорфной. Выявленные различия

не имеют диагностического значения из-за большого варьирования и могут быть использованы лишь как вспомогательный критерий в некоторых популяциях.

Во всех популяциях *C.p. pipiens* со значительной частотой (0,2–0,4) обнаружен аллель Me-2, отсутствовавший в популяциях *C.p. molestus*. В то же время у *C.p. molestus* с заметной частотой встречался другой аллель этого фермента – Me-1, не обнаруженный у *C.p. pipiens*, что во многих случаях позволяет уверенно различать изучаемые подвиды. Аллель Me-4 был общим для обоих подвидов. *C. torrentium* был мономорфен по Me-2, второму по частоте у *C.p. pipiens* и отсутствующему у всех остальных исследованных комаров. *C. vagans* был практически мономорфен по Me-3, чрезвычайно редко встречающемуся еще только у *C.p. pipiens*.

ИДГ-II была высоко полиморфной у всех комаров, кроме *C.p. molestus*. Спектр ИДГ *C. vagans* полностью отличался от спектров *C.p. pipiens* и *C.p. molestus* и лишь частично пересекался с *C. torrentium*. *C.p. molestus* отличался от *C.p. pipiens* почти полным мономорфизмом по ИДГ. Спектры ИДГ *C. torrentium* и *C.p. pipiens* частично пересекаются. ФГМ была высоко полиморфной у *C.p. pipiens*, *C. torrentium* и *C. vagans* и практически мономорфной у *C.p. molestus* по аллелю Pgm-2. *C. torrentium* значительно отличался от остальных преобладанием аллеля Pgm-4, встречав-

шегося только у него, и высокой частотой аллеля Pgm-3, редкого у *C.p. pipiens* и *C. vagans*. Заметные различия между *C.p. pipiens* и *C.p. molestus* наблюдались по глюкозофосфат-изомеразе. Из пяти выявленных аллельных вариантов лишь один встречался с высокой частотой у обоих подвидов. Два аллеля были редкими. Gri-3 встречался только у *C.p. pipiens*, а Gri-4 – только у *C.p. molestus*.

Общее представление о структуре исследованных ферментных систем дает табл. 1. В табл. 2 приведены результаты сравнительного анализа *C.p. pipiens* и *C.p. molestus* из естественных местообитаний по наиболее распространенным аллелям. *C.p. pipiens*, *C. torrentium* и *C. vagans* надежно различаются между собой. Наибольшее диагностическое значение имеют 4 фермента: ГФИ, ИДГ-II, ME-I и ФГМ. Гистограммы частот фенотипов двух полиморфных ферментов *C.p. pipiens* и *C.p. molestus*, иллюстрирующие выявленные различия, представлены на рисунке. При их анализе следует учитывать, что реальное определение ведется по фенотипам отдельных особей, а не по средним характеристикам, и отличий хотя бы по одному признаку достаточно для диагностики, поскольку в данном случае регистрируются моногенно наследуемые, качественно различающиеся характеристики. В большинстве случаев дифференциальный диагноз *C.p. pipiens* и *C.p. molestus* не вызывает затруднений. Индивидуальное определение *C.p. pipiens* возможно более

Т а б л и ц а 1

Структурно-генетические характеристики исследованных ферментных систем у некоторых комаров рода *Culex*

Ферментная система	Число локусов	Число выявленных аллелей						Четвертичная структура
		всего	общих у всех видов	<i>C. p. pipiens</i>	<i>C. p. molestus</i>	<i>C. torrentium</i>	<i>C. vagans</i>	
ГК	1?	2	1	2	2	2(1)	1	
а-ГФД	1	2	1	2(1)	1	2(1)	1	Димер
ГДГ	1	1		1	1	1		
ГФИ	1	6	1 а)	4(1)	3(1)	3(2)	3(1)	»
ГФД	1	1?		1	1	1		
ИДГ	2	6	0	4(2)	2(1)	5(3)	3(1)	» в)
МДГ	2	3	1	3(2)	2(1)	2(1)	2	» г)
ME	2	4	0	4(2)	3(1)	1	2(1)	Тетрамер
СОД	1?	1	1	1	1	1	1	
6-ФГД	1	3	2	3(1)	2	3(1)	2	Димер
ФГМ	1	6	2 б)	5(2)	2(1)	4(2)	3(1)	Мономер

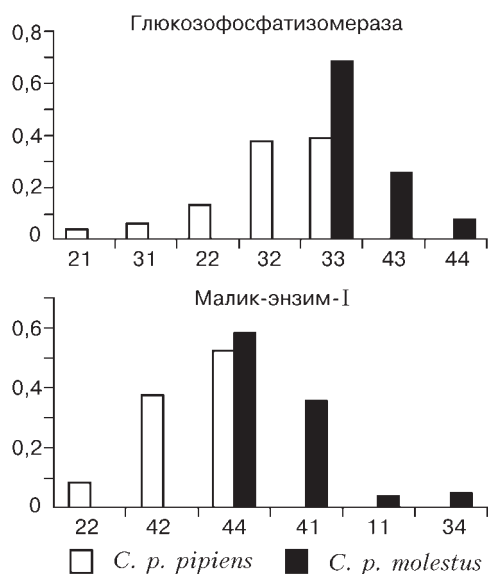
П р и м е ч а н и е. В скобках приведено число редких аллелей. а) общий аллель (Gri-2) редок у *C. torrentium* и *C.p. molestus*; б) один из общих аллелей (Pgm-2) редок у *C. torrentium*, другой (Pgm-3) – у *C.p. molestus*; в) для ИДГ-II; г) для МДГ-II.

Т а б л и ц а 2

Частоты фенотипов шести полиморфных ферментов у комаров *Culex pipiens* в разных популяциях

Фермент	Фено-тип	<i>Culex pipiens pipiens</i>					<i>C. pipiens molestus</i>					
		А-А.	Мос.	Сиб.	Квк.	Влд.	А-А.	Мос.	Сиб.	СПб.	Квк.	Влд.
ГФИ												
	44						0	0,04	0	0	0,06	0,31
	24	0	0	0	0,01	0	0,15	0,47	0,20	0,06	0,22	0,36
	22	0,22	0,08	0,11	0,40	0						
	32	0,35	0,28	0,48	0,39	0,21	0	0	0	0	0,03	0
	33	0,27	0,50	0,39	0,17	0,79	0,85	0,49	0,80	0,94	0,69	0,33
	31	0,08	0,05	0,01		0		0				
	21	0,05	0,05	0,01	0,02	0						
ФГМ												
	33	0,01	0,04	0,03	0,02	0						
	32	0,09	0,12	0,21	0,10	0,01	0,01		0,01		0,01	
	22	0,66	0,68	0,65	0,79	0,16	0,98	1,0	0,99	1,0	0,98	1,0
	21	0,16	0,10	0,09	0,07	0,55	0,01		0		0,01	
	31	0,02	0,02	0,01	0,01	0,04						
	11	0,02	0,01	0,01	0,01	0,24						
ИДГ												
	22	0,02	0,2	0,02		0,03						
	34	0,03	0	0,01		0						
	30	0,01	0	0		0,04						
	32	0,25	0,2	0,11		0,26						
	33	0,68	0,6	0,85		0,67	0,98	0,79	1,0	1,0		1,0
	31						0,02	0,17				
							0	0,04				
МЕ												
	22	0,03	0	0,15		0,03						
	42	0,32	0,2	0,41		0,26						
	44	0,62	0,8	0,42		0,67	0,57	0,77	0,44	0,57		0,54
	43	0,01	0	0,01		0,04	0,08	0	0	0,02		0,09
	41	0,01	0	0		0	0,32	0,23	0,51	0,38		0,31
	11						0,01	0	0,05	0,03		0,06
ГК												
	22	0,04	0,41	0,42	0,09	0	0,05	0,06	0,04	0,08	0,03	0,18
	21	0,23	0,46	0,39	0,33	0,13	0,29	0,32	0,28	0,41	0,20	0,52
	11	0,73	0,13	0,19	0,58	0,87	0,66	0,62	0,68	0,51	0,77	0,30
6-ФГД												
	32	0,04	0,03	0,01	0,10	0,01	0	0	0	0	0,08	0
	22	0,75	0,47	0,65	0,51	0,98	0,51	0,55	0,59	0,78	0,60	0,39
	21	0,20	0,31	0,28	0,22	0,01	0,41	0,24	0,39	0,22	0,26	0,47
	11	0,01	0,19	0,06	0,16	0	0,08	0,21	0,02	0	0,06	0,14
Исследовано особей:		254	147	263	191	109	223	104	70	140	196	48

П р и м е ч а н и е. В обозначениях фенотипов цифры являются условными номерами аллелей, обозначения типа аа – гомозиготы, типа ав – гетерозиготы. Обозначения популяций: А-А. – Алма-Ата; Мос. – Москва; Сиб. – Сибирь (объединены Новосибирск, Томск, Алтай); Квк. – Закавказье; Влд. – Владивосток; СПб. – Санкт-Петербург. Значения частот округлены до сотых, в двух случаях (ИДГ и МЕ в Москве) до десятых ввиду малого объема выборки. Частоты фенотипов, редких во всех исследованных случаях, опущены для сокращения таблицы, поэтому сумма частот может быть незначительно меньше единицы.



Усредненные характеристики полиморфизма глюкозофосфатизомеразы (ГФИ) и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы-I (МЕ) у комаров рода *Culex pipiens*. По оси абсцисс указаны условные обозначения фенотипов, по оси ординат – их частоты. Обозначения вариантов соответствуют приведенным в табл. 2. Редкие фенотипы опущены.

чем у 90% особей. Для определения несмешанных выборок с более высокой надежностью достаточно нескольких экземпляров. Выявление смешанных выборок при наличии достаточного материала также не вызывает затруднений. Лишь гомозиготные по четырем ферментам особи с фенотипом ГФИ-2/2 + ФГМ-3/3 + ИДГ-3/3 + МЕ-4/4 не различаются у *C. p. pipiens* и *C. p. molestus*. Такие особи в исследованных популяциях *C. p. pipiens* составляли от 0 (во Владивостоке) до 0,06 (в Алма-Ате) от общего числа. У *C. p. molestus* они встречались чаще (0,17–0,46).

В естественных популяциях средняя гетерозиготность особи на локус (с учетом всех хорошо изученных ферментов) у *C. p. pipiens* составляла 0,137, у *C. p. molestus* – 0,075, у *C. torrentium* – 0,056, у *C. vagans* – 0,138. Доля полиморфных ферментов среди 14 изученных нами (не учитывая редкие аллели) у *C. p. pipiens* составляла 43 %, у *C. p. molestus* – 29, у *C. torrentium* – 21, у *C. vagans* – 36 %. Наибольшей гетерозиготностью у *C. p. pipiens* обладали ГФИ и малик-энзим-1, у *C. torrentium* – ФГМ. У *C. p. molestus* наиболее гетерозиготной была 6-ФГД, а у *C. vagans* – ИДГ и 6-ФГД. Таким образом, по изучаемым призна-

кам *C. p. pipiens* и *C. vagans* отличались от *C. p. molestus* и *C. torrentium* не только по спектрам изоферментов, но и значительно большим уровнем полиморфизма и гетерозиготности.

Culex pipiens pipiens

Наиболее детально характеристики популяций *C. p. pipiens* изучены в районе г. Алма-Аты и Новосибирска в силу больших возможностей для проведения сборов. В алматинских сборах (город, дачный массив, с. Рахат и поселок энергетиков, значительно удаленные друг от друга) различия по одному из наиболее полиморфных ферментов ФГМ были невелики. Несмотря на большое количество выявленных аллелей, во всех выборках преобладал Pgm-2. Всего обнаружено 5 аллелей фосфоглюкомутазы, два из которых были редкими, а два других встречались с частотой 0,05–0,12. Уровень гетерозиготности по этому ферменту колебался в разных микропопуляциях от 0,12 до 0,47, при средней величине 0,31. Наибольшая гетерозиготность отмечена в поселке энергетиков, наименьшая – в городских выборках.

В среднем частота трех выявленных аллелей глюкозофосфатизомеразы составляла 0,52, 0,41 и 0,07 при средней гетерозиготности 0,48. Наибольшая гетерозиготность отмечена в сельских сборах, а наименьшая (при заметном дефиците гетерозигот) – в поселке энергетиков: 0,61 и 0,31 соответственно. Именно по этому ферменту наблюдались наибольшие различия алматинских популяций по частотам аллелей.

В алматинских выборках *C. p. pipiens* обнаружено 4 аллеля изоцитратдегидрогеназы-II. Во всех преобладал один из них, обозначенный как Idh-3. Два других (Idh-1, Idh-4) были редкими, четвертый (Idh-2) встречался с частотой до 0,20. Уровень гетерозиготности в сборах существенно не отличался от среднего (0,31). Сборы, сделанные на дачном массиве и в окрестностях с. Рахат, отличались низкой частотой аллеля Idh-2.

Среди трех выявленных электрофоретических вариантов НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы-I один был редким, частота аллеля Ме-2 достигала 0,25 (сборы в сельской местности). В пригородной популяции (в сборах разных лет) частота этого аллеля была самой низкой (0,17). Эта популяция отличалась также

более низким уровнем гетерозиготности (0,18 против 0,35 в среднем). Типичный для вида аллель преобладал во всех популяциях. Во многих случаях наблюдался заметный избыток гетерозигот Me-2/4 при низкой частоте гомозигот Me-2/2. Доля последних в 2–3 раза ниже, чем рассчитанная по Харди-Вайнбергу. Возможно, это свидетельствует о повышенной селективной ценности гетерозигот.

Выявленные у *C.p. pipiens* варианты гексокиназы с разной частотой встречались у обоих подвидов. Гетерозиготность соответствует теоретически ожидаемой и в среднем составляет 0,23. Все алматинские популяции характеризовались приблизительно одинаковыми частотами выявленных вариантов 6-фосфоглюконатдегидрогеназы. Лишь в одном из четырех мест сборов зарегистрирован редкий аллель Pgd-3, который обнаружен также в других географически отдаленных популяциях *C.p. pipiens*. Средний уровень гетерозиготности по этому ферменту составлял 0,24 и мало зависел от места сбора.

В целом по разным ферментам (кроме ME) частота гетерозигот внутри популяций близка к рассчитанной по Харди-Вайнбергу, что свидетельствует о свободном скрещивании в этих популяциях и отсутствии различий в селективной ценности гомо- и гетерозигот. Можно отметить, что средняя гетерозиготность по шести полиморфным ферментам у диапаузирующих самок была немного ниже, чем у имаго, выращенных из личинок.

Отдельного рассмотрения заслуживают выборки со смешанными характеристиками. Один из сборов личинок, сделанный в сильно заросшем водоеме с канализационной водой, отличался от остальных *C.p. pipiens* более узким спектром полиморфизма и присутствием аллелей, специфических для *C.p. molestus*. В нем преобладал аллель Pgm-2, характерный для *C.p. molestus*. Гетерозиготность по ФГМ на особь была существенно ниже, чем средняя для популяций *C.p. pipiens*. Сходная картина наблюдалась и для ГФИ. В этой выборке обнаружены аллели, характерные для обоих подвигов, однако гетерозиготы по ним отсутствовали. Гетерозиготность по этому ферменту была почти в 1,5 раза ниже, чем рассчитанная теоретически для панмиктической популяции, а доля гетерозигот Gri-2/3 составляла лишь

58 % от расчетной величины. Среди двух аллелей изоцитратдегидрогеназы-11, обнаруженных в этой выборке, наиболее распространенным был аллель, встречавшийся у обоих подвигов, причем его частота была выше, чем в популяциях *C.p. pipiens*. По малик-энзиму в этой выборке частота аллеля Me-2, характерного для *C.p. pipiens*, была относительно низка. Напротив, частота аллеля Me-1 была даже несколько выше, чем в популяциях *C.p. molestus*. Гетерозиготность по малик-энзиму близка к ожидаемой из теоретических расчетов. Частоты аллелей 6-ФГД и гексокиназы близки к наблюдавшимся в алматинских популяциях *C.p. pipiens*.

Личинки из этой выборки выращены в лабораторных условиях до имаго. От них получены автогенные кладки, что является характерной чертой *C.p. molestus*. Анализ автогенного потомства после дорацивания показал, что они практически не отличались от *C.p. molestus* из алматинской популяции по электрофоретическим признакам, обладая лишь более высокой гомозиготностью. По своей стеногамности и автогенности они также не отличались от *C.p. molestus*. Аллели, специфические для *C.p. pipiens*, у особей, выращенных из автогенных кладок, не обнаружены. Наиболее вероятным объяснением является смешанный характер самой выборки в результате развития личинок обоих подвигов в одном водоеме, а не гибридизация между ними. Подобная ситуация отмечена и для одного из открытых водоемов в поселке энергетиков в 1990 г., однако в целом для алматинских *C.p. pipiens* это не характерно.

В новосибирских сборах, сделанных в черте города, в Академгородке и на дачных участках, преобладал *C. torrentium* и выборки *C.p. pipiens* были невелики по объему. Различия между разными сборами, а также между диапаузирующими самками и свободно живущими особями по разным ферментам были невелики и статистически недостоверны как по частотам аллелей, так и по средней гетерозиготности. Различия отмечены только в средней гетерозиготности шести полиморфных ферментов между диапаузирующими и недиапаузирующими особями (0,39 и 0,44 соответственно). Частота аллеля гексокиназы Hk-2 существенно больше у новосибирских *C.p. pipiens*, чем у алматинских (0,59 против 0,16). Как и в алматинских мик-

ропопуляциях, не выявлено закономерных межгрупповых различий. По сравнению со средними характеристиками алматинских *C.p. pipiens*, новосибирские имели более высокую гетерозиготность по ГФИ, ГК, МЕ и ФГМ при меньшем числе электрофоретических вариантов и значительно более высокую частоту Pgm-3 и Hk-2. Средние значения гетерозиготности на особь по шести полиморфным ферментам у новосибирских *C.p. pipiens* также были выше, чем у алматинских – 0,41 и 0,32 соответственно. Как и во многих алматинских популяциях, наблюдался избыток гетерозигот Me-4/2, превышающий расчетные значения. В отличие от Алма-Аты отмечена также повышенная частота гетерозигот Gri-2/3 и Pgm-2/3. Различия по ИДГ и 6-ФГД незначительны.

В 1989 г. проанализированы сборы, сделанные в Горном Алтае (оз. Ая, недалеко от Горно-Алтайска). Изоферментные характеристики *C.p. pipiens* близки к новосибирским по ГФИ и ИДГ, отличия по ФГМ и МЕ невелики, и лишь частота Hk-2 немного больше, чем в Новосибирске (0,66 против 0,59). Средние значения гетерозиготности почти по всем ферментам ниже, чем в Новосибирске, а средняя гетерозиготность по всем полиморфным ферментам на 0,09 ниже, что близко к показателю алматинских популяций. В целом характеристики алтайских сборов близки к новосибирским, но немного сдвинуты в сторону алматинских *C.p. pipiens*. Исключение составляет лишь гексокиназа.

В Томске *C.p. pipiens* обнаружен только в городских сборах. Различия между новосибирской и томской популяциями *C.p. pipiens* по изоферментным характеристикам незначительны. Лишь по гексокиназе наблюдались колебания частот аллелей в сборах из разных мест. Диапаузирующие самки среди сборов отсутствовали. Все выборки объединены после обработки. По своим характеристикам томские *C.p. pipiens* еще больше отличаются от алматинских, чем новосибирские. Это наблюдалось для всех ферментов, кроме ФГМ и 6-ФГД. При этом томская популяция в среднем ближе к новосибирской и алтайской, чем к алматинской. Характеристики гетерозиготности ферментов у томской и алтайской популяций близки по отдельным ферментам, но по общей гетерозиготности на особь томская популяция ближе к новосибирской. Наибольшие различия между

ними зарегистрированы для гексокиназы и малик-энзима. В томской популяции отсутствовали заметные отклонения гетерозиготности всех изученных ферментов от теоретически ожидаемых значений.

Выборки *C.p. pipiens* из г. Москвы и его окрестностей (г. Балашиха, с. Купавна) разбиты на 4 группы: г. Москва, г. Балашиха, с. Купавна и диапаузирующие самки. Сравнение этих групп показало, что характеристики диапаузирующих самок на дачном массиве вблизи с. Купавна практически идентичны личиночным сборам в этих же местах. Небольшие отличия отмечены только по частотам аллелей гексокиназы. Как и в предыдущих случаях, диапаузирующие самки имели несколько более низкий показатель средней гетерозиготности: 0,32 против 0,38–0,43 в других группах. Наибольший показатель гетерозиготности имели комары из г. Балашиха. Три группы личиночных сборов не удалось выстроить в ряд по частотам аллелей полиморфных ферментов, так как ряды по разным ферментам не соответствовали друг другу. Различия по гексокиназе, в отличие от всех предыдущих случаев, были невелики. По своим средним характеристикам московские популяции ближе всего к томской. Исключение составляет лишь 6-ФГД. По частоте Pgd-I московские *C.p. pipiens* резко отличались от всех остальных (0,63 против 0,07–0,21). Следует отметить, что по техническим причинам данные по изоцитратдегидрогеназе и малик-энзиму получены на небольшом количестве комаров.

Сборы, сделанные в Приморском крае, сгруппированы следующим образом: Владивосток, куда вошли также сборы из г. Артем, не имеющие отличий ни по одному из исследованных ферментов; пос. Краскино (крайний юг побережья); с. Иннокентьевка – сборы в поселке недалеко от Лесозаводска на железнодорожной магистрали Владивосток–Хабаровск. Различия этих трех групп по ГК, МЕ и 6-ФГД незначительны. По ГФИ сборы в Иннокентьевке отличались от владивостокских и в Краскино, практически не имеющих различий между собой. Напротив, по ИДГ явно выделялся Владивосток. По ФГМ различия наблюдались между всеми тремя группами, однако особенно выделялась популяция из Краскино. Различия по гетерозиготности отдельных ферментов повто-

ряли различия по частотам аллелей. Существенных отклонений частоты гетерозигот от теоретически рассчитанных значений не обнаружено. У *C.p. pipiens* из Приморского края зарегистрирована самая низкая средняя гетерозиготность на особь по полиморфным ферментам: 0,23, при этом в Краскино она составляла 0,18, а в Иннокентьевке – 0,26.

В целом популяции *C.p. pipiens* из Приморского края существенно отличались от всех остальных по ГФИ и особенно по ФГМ. Они имели также отличия по ГК, МЕ и 6-ФГД и лишь по ИДГ укладывались в общий диапазон изменчивости. Если не учитывать различий по ГФИ и ФГМ, то по остальным полиморфным ферментам приморские *C.p. pipiens* ближе к алматинским, чем к остальным. Поразительно низкой является также средняя гетерозиготность, особенно если учесть, что и эта низкая сама по себе величина получена в основном за счет одного фермента – ФГМ, на долю которого приходится почти половина ее значения. У ГФИ выявлено лишь 2 аллеля из четырех, обнаруженных у *C.p. pipiens*, у ФГМ – 3 из пяти, у ИДГ – 3 из четырех, у МЕ – 2 из четырех, причем у ГФИ и МЕ отсутствует по одному из распространенных во всех других популяциях аллелей, а по ФГМ чаще встречается редкий в других популяциях аллель. У всех полиморфных ферментов, кроме ФГМ, наиболее распространенный аллель встречался с частотой более 0,90, что не характерно для других популяций. Следует подчеркнуть, что выборки вполне репрезентативны для таких заключений по всем аллелям, кроме самых редких.

Наиболее сложными для интерпретации оказались данные по закавказским популяциям. К сожалению, в 1983 г. возможности для проведения анализов по полиморфным ферментам ИДГ и МЕ отсутствовали, а это сильно осложняет идентификацию отдельных комаров в смешанных сборах, которых оказалось много. Сделать повторные сборы в последующие годы не удалось. Сборы сделаны в городах Баку, Кировабад (Гянджа), Тбилиси, Сухуми и нескольких селах, расположенных вдали от крупных городов. Различия по ГФИ между сборами, сделанными в близко расположенных местах, иногда были не меньше, чем различия между сборами в географически отдаленных пунктах. В частности, комары, собранные в

с. Лата, расположенном в горном районе Абхазии, отличались по ГФИ от сухумских больше, чем сборы в Тбилиси, Баку и Сухуми. Лишь кировабадские *C.p. pipiens* отличались еще больше. Диапазон изменчивости комаров из разных городов не отличался от сборов в отдаленных селах и был лишь немногим меньше, чем среди *C.p. pipiens* из Москвы, Алма-Аты, Сибири и Алтая. Напротив, различия по ФГМ между всеми сборами невелики. Различия по ГК выстраивались в ряд Баку–Кировабад–Тбилиси–Сухуми, что совпадает с их географическим расположением. В этом ряду частота аллеля Нк-2 последовательно возрастала. Диапазон изменения частот аллелей в этих популяциях лишь немногим меньше, чем описанный для всех остальных популяций, исключая владивостокскую. Различия по 6-ФГД относительно невелики и малодостоверны.

Объединение выборок закавказских комаров сопряжено с некоторыми проблемами, связанными с принципиальной неоднородностью результатов объединения по разным ферментам. В частности, объединение выборок приводит к значительному дефициту гетерозигот по ГФИ против теоретически рассчитанного значения, но в значительной мере это является следствием объединения выборок, в которых преобладают разные аллели ГФИ, и этот дефицит может быть артефактом. Усреднение по ГК нивелирует большие межпопуляционные различия, существующие на самом деле. Наиболее целесообразным нам представляется сравнение данных лишь по ФГМ и 6-ФГД. По этим ферментам закавказские популяции ближе всего к московской.

По средним показателям гетерозиготности (0,30–0,35) закавказские популяции мало отличались от московской, алматинской, томской и алтайской. Лишь в Баку гетерозиготность ниже средней. Вместе с тем наблюдалась определенная специфика в распределении гетерозиготности по ферментам. Гетерозиготность по ГФИ и ФГМ в популяциях была ниже средней, по ГК близка к средней, а по 6-ФГД превышала среднюю. Эта закономерность, как правило, отмечалась как в городских, так и в сельских популяциях. Следует отметить наличие в выборках редких фенотипов с необычными для *C.p. pipiens* аллелями и фенотипами. Более подробно этот вопрос будет рассмотрен после описания всех исследованных комаров.

В целом закавказские популяции более разнообразны, чем другие, как по частотам аллелей, так и по спектрам встречающихся фенотипов исследованных ферментов. Различные группы особей, имея отличия между собой по отдельным ферментам, не обнаруживают закономерных различий по совокупным характеристикам. Так, не выявлено закономерного изменения частот аллелей в разные годы; не выявлено существенных различий между осенними сборами диапаузирующих самок и летними сборами личинок в той же местности; между городскими и пригородными микропопуляциями. Можно лишь отметить, что средняя гетерозиготность по шести полиморфным ферментам у диапаузирующих самок немного ниже, чем у имаго, выращенных из личинок (например, в алматинской популяции – 0,29 и 0,34 соответственно). По частотам аллелей различия между сборами личинок и диапаузирующих самок не превышали различий между личиночными сборами из разных мест. В качестве любопытного факта можно отметить и то, что в эксперименте по длительному содержанию диапаузирующих самок в лабораторных условиях у особей, доживших до января, было значительно меньше гетерозигот $Gp1-2/3$ – 0,06, по сравнению с 0,39 в этой же выборке в сентябре и больше гетерозигот $Me-2/3$ – 0,44 против 0,23 соответственно. По другим ферментам различий не наблюдалось. Возможно, существуют сезонные колебания частот аллелей, связанные с диапаузой, однако это единичное наблюдение требует подтверждения.

Исследованные полиморфные ферменты имели разную степень изменчивости. Колебания частот преобладающих аллелей ИДГ в географически разобщенных популяциях не превышали 0,1, немногим больше была изменчивость по ФГМ и МЕ, средние значения отмечены для ГФИ и 6-ФГД – около 0,3, а максимальное – около 0,5 для ГК. Данные по дальневосточным популяциям не были использованы для этих целей, так как резко отличались от всех остальных. Лишь для $Me-2/4$ зарегистрировано статистически значимое превышение ее частоты в разных популяциях над теоретически рассчитанным по Харди-Вайнбергу значением.

Подводя итоги, можно заметить, что дальневосточные популяции существенно отличаются от остальных по большинству парамет-

ров. На другом полюсе располагаются кавказские популяции. Среднюю часть спектра образуют все остальные популяции, близость которых между собой по разным ферментам неоднородна и не допускает однозначной интерпретации. Объединение данных по географически близким популяциям Новосибирска, Томска и Алтая не упрощает общей картины. Лишь изменчивость по гексокиназе допускает содержательную интерпретацию адаптивного характера: во всех южных популяциях (Закавказье, Алма-Ата, Приморский край) преобладал аллель Нк-1, а во всех северных (Москва, Новосибирск, Томск, Алтай) – Нк-2.

Генетические исследования *C. pipiens*, в том числе по изоферментам, выявляемым методом электрофореза, достаточно полно рассматриваются в обзоре А. Барра [12] и в книге Е. Б. Виноградовой [1]. Наиболее полные исследования изоферментного полиморфизма у *C. pipiens* проведены М. Ченгом и соавторами в США и Буллини с соавторами в Италии. Очень подробно полученные результаты рассмотрены в статье М. Ченга [13]. К сожалению, приведенные данные не допускают прямого сопоставления с нашими, так как их работа имеет методические отличия и проведена на другом материале (например, *C. quinquefasciatus* не обнаружен в тех местах, где мы проводили свои исследования) [14]. Без обмена эталонными образцами трудно определить соответствие выявленных вариантов. Тем не менее полиморфными в США были те же ферменты (ГФИ, ФГМ, ИДГ-II, ГК и 6-ФГД), хотя средний уровень выявленного полиморфизма был меньше. МЕ и МДГ изучены не были. Выявлены: существование межпопуляционных различий по частотам аллелей, клинальная изменчивость по некоторым ферментам и отличия *C.p. pipiens* и *C. quinquefasciatus* между собой.

Culex pipiens molestus

Все исследованные популяции *C.p. molestus* существенно отличались от *C.p. pipiens*, и эти различия были намного больше, чем межпопуляционные у каждого из подвигов. Полиморфные у *C.p. pipiens* ФГМ и ИДГ были практически мономорфны у *C.p. molestus*. У ГФИ и МЕ вторыми по частоте были аллели, не встречающиеся у *C.p. pipiens*. Лишь по ГК и 6-ФГД они

обладали сходным полиморфизмом. Выявлены те же, что и в популяциях *C.p. pipiens*, аллели ГК, а два аллеля 6-ФГД были наиболее распространенными и в популяциях *C.p. pipiens*. Гетерозиготность в популяциях *C.p. molestus* значительно ниже.

Наиболее полно изучены микропопуляции Алма-Аты и Санкт-Петербурга. Сравнение популяций *C.p. molestus* по ФГМ и ИДГ невозможно ввиду практически полного мономорфизма этих ферментов в изученных популяциях, и в дальнейшем эти ферменты не рассматриваются. Сборы *C.p. molestus*, сделанные в Алма-Ате в разных районах и в разные годы, имели лишь небольшие отличия от средних характеристик по всем полиморфным ферментам. Преобладающим аллелем ГФИ был Gpi-2, аллель Gpi-4 встречался преимущественно в гетерозиготе почти у 20 % особей. Другие аллели ГФИ не обнаружены. Сходная картина выявлена у малик-энзима, но аллель Me-1, обнаруженный только в популяциях *C.p. molestus*, присутствовал более чем у 40 % особей. Аллель Me-4 с высокой частотой встречался у обоих подвидов. Третий аллель был редким. В разных сборах присутствовало по два аллеля гексокиназы и 6-ФГД. Заметные различия по частотам аллелей этих ферментов отсутствовали. Более заметны различия между сборами в городе и в поселке энергетиков, расположенном в 20 км. Они отличались по частотам аллелей Gpi-2 и Me-4. Кроме того, в этих выборках зарегистрированы разные редкие аллели ФГМ (Pgm-3 и Pgm-1 соответственно). Средняя гетерозиготность полиморфных ферментов составляла 0,22, что значительно ниже, чем у *C.p. pipiens*. Средневзвешенная гетерозиготность ГФИ у алматинских *C.p. molestus* составляла 0,16; ME – 0,42; ГК – 0,22; 6-ФГД – 0,48. Заметные отклонения от расчетных величин гетерозиготности обнаружены только для ME – частота гетерозигот Me-4/1 превышала равновесную, особенно в городских популяциях.

В микропопуляциях из Санкт-Петербурга значительные различия по частотам аллелей обнаружены только по гексокиназе между сборами в городе (пр. Заневский, ул. Плеханова, Петроградская наб.) и в пригородах (Тосно и Пушкин). По остальным ферментам различия между сборами не превышали различий между сборами в близлежащих домах и были невели-

ки. В Санкт-Петербурге не обнаружено редких аллелей ФГМ, частота аллеля Gpi-2 выше, чем в Алма-Ате, а Hk-1 – ниже, значительно выше частота Pgd-2. Частоты аллелей ME не различались. Небольшое превышение частоты гетерозигот над равновесным значением, рассчитанным по Харди-Вайнбергу, наблюдалось лишь для Me-4/1.

Средняя гетерозиготность полиморфных ферментов и в городских, и в пригородных сборах составляла 0,16, что значительно ниже, чем в Алма-Ате. Особенно низкой по сравнению с Алма-Атой была гетерозиготность по ГФИ и 6-ФГД. Во всех выборках со значительной частотой встречались варианты ГФИ с неконцентрированной зоной активности вблизи Gpi-2, причем как у гомо-, так и у гетерозигот. По нашему мнению, это не является методическим дефектом, а характеризует определенную специфику особей, хотя мы не можем сказать, касается ли это структуры молекулы фермента или другого белка. Подобное явление отмечено также во Владивостоке. Очень редко такие особи встречались и в поселке энергетиков близ Алма-Аты (но не зарегистрированы в самом городе).

Сборы *C.p. molestus* в Новосибирске невелики по объему и сделаны в основном в подъездах жилых домов в центре города, так как места их вышлода обнаружить не удалось. От алматинских комаров этого подвида их отличает более высокая частота аллелей Gpi-4 и Me-1, а также более низкая частота аллеля Hk-1. Гетерозиготность по шести ферментам в среднем составляла 0,26, что превышает показатели двух предыдущих популяций. Как и в предыдущих случаях, гетерозиготность по ME превышала равновесные значения.

C.p. molestus, собранные в разных районах г. Томска, отличались от новосибирских в основном по частотам аллелей гексокиназы. Частота аллеля Hk-1 была самой высокой из зарегистрированных у *C.p. molestus* – 0,94. Частоты аллелей Gpi-4 и Me-1 немного ниже, чем в Новосибирске. Средняя гетерозиготность составляла 0,19. Десять особей *C.p. molestus*, обнаруженных на дачном массиве недалеко от Томска, имели отличия от городских лишь в пределах ошибки малой выборки и отдельно не анализировались.

Результаты анализа сборов *C.p. molestus* из Москвы суммированы и рассматриваются в целом. Выборка из г. Балашиха не рассматривается, так как она мала по объему и в ней обнаружены лишь гомозиготы по наиболее распространенным аллелям. Для московской популяции характерен довольно высокий полиморфизм. Так, в ней отмечена очень большая доля особей, несущих аллель Gri-4 – 51 % и больше всего особей с аллелем Idh-1 (около 21 %). По частотам аллелей ГК и 6-ФГД она близка к средним показателям, и только частота Me-1 немного меньше средней. Гетерозиготность по ГФИ и ИДГ превышала средние значения, а для ME и 6-ФГД была ниже средней. В среднем гетерозиготность составляла 0,24, что превышает среднюю величину в популяциях *C.p. molestus*. Существенных отличий наблюдаемых частот гетерозигот полиморфных ферментов от теоретически ожидаемых не обнаружено, лишь по ГФИ частота гетерозигот немного выше расчетной.

В Приморском крае *C.p. molestus* обнаружены только во Владивостоке. Сборы в разных районах города не имели значительных различий. Ниже будут рассматриваться только их средние характеристики. Как и во многих других популяциях, ФГМ и ИДГ мономорфны по наиболее распространенному аллелю. Частоты двух выявленных аллелей ГК составляли 0,44 : 0,56, а 6-ФГД – 0,62 : 0,38, что не выделяет их среди других популяций. По частотам аллелей гексокиназы и 6-ФГД владивостокская популяция ближе к Санкт-Петербургской. Гетерозиготность по этим ферментам соответствует расчетным значениям. Выявлены все три аллеля ME, характерных для *C.p. molestus*. По их частотам владивостокская популяция не выделяется среди прочих и ближе всего к Санкт-Петербургской. Частота аллеля Gri-4 составляла 0,49, что значительно превосходит все значения этого показателя в других популяциях. Этот ген обнаружен у двух третей особей. Ближайшее значение (51 %) зарегистрировано в московской популяции, однако во владивостокской наблюдался дефицит гетерозигот Gri-2/4. Это единственный случай отклонения гетерозиготности от теоретически ожидаемой во владивостокской популяции. Как и в Санкт-Петербурге, во всех выборках с большей частотой встречались варианты ГФИ с неконцентрированной зоной активности вблизи

ГФИ-2. В Москве они отсутствовали. Средняя гетерозиготность в популяции Владивостока составляла 0,29 и была самой высокой среди изученных *C.p. molestus*.

Комары с электрофоретическими характеристиками ферментов *C.p. molestus* обнаружены во всех обследованных городах Закавказья. ФГМ была практически мономорфна по Pgm-2 во всех популяциях. Во всех закавказских популяциях с высокой частотой (более 0,9) преобладал Hk-1, что выше, чем в других популяциях *C.p. molestus*, и отличает их от *C.p. pipiens*, собранных в тех же местах. Частота Pgd-2 колебалась от 0,64 до 0,83 – в том же диапазоне, что и для других популяций *C.p. molestus*. Средняя (не взвешенная) частота аллеля Gri-4 составляла 0,17. Во всех закавказских популяциях она была больше, чем в алматинских и сибирских, и ближе всего к показателю московской популяции. Максимальное значение – 0,21, отмеченное в Тбилиси, лишь немного меньше, чем в Москве. От всех других популяций *C.p. molestus* закавказские отличались присутствием гетерозигот Gri-2/3, что сближает их с *C.p. pipiens*. Такие гетерозиготы встречались у 2–6 % особей. Вместе с тем все закавказские популяции *C.p. pipiens* имели существенные отличия от *C.p. molestus* во всех местах проведения сборов. В частности, частота особей *C.p. pipiens*, несущих ген Gri-3 в гомо- или гетерозиготе, составляла 47–79 %. Автогенное потомство, полученное от тбилисских *C.p. molestus*, не имело аллелей, характерных для *C.p. pipiens*. К сожалению, отсутствие данных по ИДГ и ME не позволяет более определенно судить о наличии или отсутствии признаков гибридизации в этих популяциях.

В целом различия между всеми популяциями *C.p. molestus* относительно невелики по всем ферментам, кроме ГФИ, и не носят закономерного характера. Большие различия наблюдались между популяциями Москвы и Санкт-Петербурга, что затруднительно объяснить из общих соображений. Московская и владивостокская популяции выделяются высокой частотой Gri-4. Вместе с тем особи с неконцентрированной зоной активности в районе Gri-2 встречались с высокой частотой только в Санкт-Петербурге и Владивостоке, но не встречались в Москве. Лишь в московской популяции отмечен заметный полиморфизм по ИДГ –

около 21 % особей несли аллель *Idh-1*, в других популяциях этот показатель не превышал 5 %. Алматинская, новосибирская и томская популяции близки между собой. Закавказские популяции выделялись присутствием гетерозиготных особей с фенотипом 2/3 по ГФИ (до 6 %). Владивостокская популяция имела отличия от остальных по гексокиназе. По средней гетерозиготности полиморфных ферментов выделяется лишь владивостокская популяция, имеющая более высокий показатель. С поправкой на эти особенности можно утверждать, что все популяции *C.p. molestus* значительно более сходны между собой, чем популяции *C.p. pipiens*. Если владивостокская популяция *C.p. pipiens* в целом выпадала из общего разнообразия остальных популяций *C.p. pipiens*, то для *C.p. molestus* ни одна из популяций не выделялась среди остальных столь же значительно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Различия между *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* во всех местах проведения работ качественно однотипны и более значимы по сравнению с межпопуляционными у каждого из подвидов. Сравнительные характеристики популяций двух подвидов приведены в табл. 2. Различия между *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* иллюстрирует приведенный выше рисунок.

Отдельного обсуждения заслуживает проблема сборов со смешанными характеристиками. Они обнаружены во многих местах проведения работ. Особых проблем не представляют случаи совместного обнаружения *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* в летних городских сборах имаго – это достаточно тривиально. Более интересно одновременное присутствие *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* в личиночных сборах. Один из таких примеров рассмотрен выше при описании алматинских *C.p. pipiens*. Чаще всего это касается сборов в более или менее открытых водоемах. Как уже отмечалось, небольшое число особей с фенотипом ГФИ-2/2 + ФГМ-2/2 + ИДГ-3/3 + МЕ-4/4 не отличаются у *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* по электрофоретическим признакам, и в смешанных выборках они не могут быть идентифицированы. Как правило, доля таких особей в сборах невелика. Если принять, что их доля среди *C.p. pipiens* в выборке соответствует средней величине в данной популяции, то за вычетом *C.p. pipiens* в таких

сборах остаются только особи с характеристиками *C.p. molestus*. Никаких парадоксов при этом не возникает.

Отсутствие гетерозигот по электрофоретическим вариантам, характерным для каждого из подвидов, например Gri-3/4 или Me-2/3, является существенной характеристикой таких сборов. При гибридизации частота таких гетерозигот должна быть достаточно велика для регистрации, однако такие фенотипы не обнаружены. В закавказских популяциях полученные данные допускают двоякую интерпретацию: либо *C.p. molestus* в них более полиморфен, чем в остальных изученных нами, либо гибридизация в небольших масштабах реально имеет место. Данные, полученные по Закавказью, не позволяют сделать более определенное заключение из-за своей ограниченности.

Потомство из автогенных кладок, полученных от особей из смешанных сборов, имело электрофоретические признаки только у *C.p. molestus*. Следует подчеркнуть, что надежные доказательства естественной гибридизации *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* не получены, а предположение о свободной гибридизации или исходном отсутствии генетических различий между ними вообще может быть отвергнуто во всех изученных случаях.

Другая группа данных касается отсутствия характерных для другого подвида аллелей в сборах с несмешанными характеристиками. Так, в сборах диапаузирующих самок не удалось обнаружить особей с фенотипами *C.p. molestus* по электрофоретическим характеристикам ферментов. Особи с признаками *C.p. molestus* отсутствовали и в сборах, сделанных в отдаленных сельских районах, в том числе и в Закавказье. Напротив, признаки *C.p. pipiens* не обнаружены среди сборов комаров в подвальных водоемах многоквартирных домов (исключая Закавказье). Если учесть, что различия по электрофоретическим характеристикам ферментов, как считается [8, 14], часто не имеют адаптивного характера и не подвергаются жесткому отбору, так как мало влияют на функциональные характеристики ферментов, то наличие даже небольших потоков генов должно регистрироваться. Совокупность полученных данных свидетельствует против существования заметного потока генов между *C.p. molestus* и *C.p. pipiens*.

Относительная легкость получения гибридов в лабораторных экспериментах и фертильность гибридов [1, 15–18] указывают на принципиальную возможность гибридизации и в естественных условиях. Конкретные данные по естественной гибридизации противоречивы [1]. Гибридизация сухумских *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* в лабораторных условиях подробно изучена Ш. Г. Сичиной [19–23]. В проведенных нами лабораторных экспериментах с *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* из алматинских популяций гибридизация шла в обоих направлениях, однако количество кладок, из которых выходили личинки, было невелико и получены они не во всех опытах. Стабильную лабораторную культуру потомков гибридных особей подерживать не удавалось.

Применение метода электрофореза ферментов для надежного определения комаров позволило установить, что даже в небольших водоемах возможно совместное обитание личинок нескольких изученных нами видов. Так, в Алма-Ате и ее окрестностях неоднократно зарегистрировано совместное обитание *C. torrentium* и *C.p. pipiens*, а в одном из водоемов обнаружены даже 3 из изучаемых нами комаров: *C. torrentium*, *C.p. molestus* и *C.p. pipiens*. Потомки, полученные из автогенных кладок сбора в этом водоеме, имели только типичные признаки *C.p. molestus*. Уместно еще раз подчеркнуть, что достоверных признаков гибридизации в естественных условиях не обнаружено и в других случаях. Среди личинок, собранных вне подвальных водоемов, *C. torrentium* преобладал по числу сборов и количеству личинок как в черте города Алма-Ата, так и в пригородах. *C.p. pipiens* встречался реже. Любопытно отметить, что в сборах диапаузирующих самок в погребках и иных подземных сооружениях самки *C.p. pipiens* составляли абсолютное большинство. Находки самок *C. torrentium* среди диапаузирующих *C.p. pipiens* единичны, в том числе в местах массового выплода *C. torrentium*. Возможно, эти виды больше отличаются по требованиям к условиям зимовки, чем к условиям обитания личинок. В Новосибирске *C. torrentium* преобладал во всех местах сборов, в том числе и среди диапаузирующих самок.

Значительные отличия *C.p. pipiens* из Приморского края от всех остальных исследованных популяций позволяют предположить, что он проник туда с юга, а не с запада. Отсутствие *C. torrentium* и, напротив, обитание *C. vagans* в Приморском крае показывают своеобразие этого региона и подтверждают предположение.

Выявленные различия между *C.p. pipiens* и *C.p. molestus* меньше, чем принято для подвидов *Diptera* [24]. Данные генетического анализа зачастую не считаются серьезными аргументами в систематике. Однако большое сходство всех исследованных *C.p. molestus* между собой и стабильность наблюдаемых отличий от *C.p. pipiens* в географически разобщенных местах позволяют присоединиться к мнению о их подвидовом статусе, не претендуя на окончательное решение. Вопрос о гибридизации *C.p. pipiens* и *C.p. molestus* в естественных условиях не решен и в наших исследованиях, но можно полагать, что массовая гибридизация не является типичной, а формирование *C.p. molestus* из местных популяций *C.p. pipiens* маловероятно, по крайней мере в большинстве изученных нами случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Существуют устойчивые генетические различия между *C.p. molestus* и *C.p. pipiens*, хотя они и не очень велики.
2. Наблюдаемые различия однотипны во всех изученных местах их совместного обитания.
3. Различия между *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* существенно больше, чем между популяциями каждого из подвидов.
4. *C.p. molestus* из разных популяций генетически близки между собой по изученным признакам.

Наиболее вероятные следствия:

1. Все изученные *C.p. molestus* имеют общее происхождение и не могут происходить от местных популяций *C.p. pipiens* в местах обитания.
2. *C.p. molestus* и *C.p. pipiens* в значительной мере обособлены друг от друга, свободная гибридизация между ними в местах совместного обитания отсутствует.

Основанием для этих утверждений является не столько величина различий, сколько их стабильность в разных местах, близость

C.p. molestus между собой и отсутствие в сборах фенотипов с явными гибридными характеристиками. Вместе с тем полученные данные не означают, что естественная гибридизация невозможна в принципе, а только то, что признаков массовой гибридизации в местах проведения работ не обнаружено.

Значительная часть исследований проведена в лаборатории генетики животных Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск, Россия). Автор глубоко признателен коллективу лаборатории и особенно д-ру биол. наук С. М. Закияну за помощь и поддержку в проведении исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.Б. Виноградова, Комары комплекса *Culex pipiens* в России, СПб, ЗИН, 1997.
2. А. В. Гуцевич, *Паразитология*, 1978, 2, 112–116.
3. R. E. Harbach, B. A. Harrison, A. M. Gad, *Proc. Entomol Soc. Wash.*, 1984, **86**: 3, 521–542.
4. R. E. Harbach, C. Dahl, G. G. White, *Ibid.*, 1985, **87**: 1, 1–24.
5. В. Г. Федоров, *Мед. паразитология*, 1946, 2, 58–68.
6. K. L. Knight, A. Stone, *A Catalog the Mosquitoes of the World Culicidae*. 2nd edition. Thomas Say Foundation, 1978, *Entomol. Soc. Amer.*, v. 6.
7. Корочкин и др., *Генетика изоферментов*, М., Наука, 1977.
8. Р. Левонтин, *Генетические основы эволюции*, М., Мир, 1978.
9. Ю. П. Алтухов, *Генетические процессы в популяциях*, М., Наука, 1983.
10. Ф. Айяла, *Введение в популяционную и эволюционную генетику*, М., Мир, 1984.
11. H. Harris, D. Hopkinson, A. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*, Amsterdam, 1978.
12. A. Barr, *Culex. Handbook of Genetics. v. 5. Invertebrates of Genetic Interest.*, New York, 1975, 347–375.
13. M. L. Cheng et al., *Recent Developments in the Genetics of Insect Disease Vectors*, Illinois, 1982, 581–626.
14. А. В. Гуцевич, А. С. Мончадский, А. А. Штакельберг, *Комары. Семейство Culicidae*, Л., Наука, Ленингр. отд-ние, 1970.
15. М. Кимура, *Молекулярная эволюция: теория нейтральности*, М., Мир, 1985.
16. Е. Б. Виноградова, *Энтомологическое обозрение*, 1961, 1, 63–75.
17. Е. Б. Виноградова, Там же, 1966, 2, 241–257.
18. Е. Б. Виноградова, *Диapaуза у кровососущих комаров и ее регуляция*, Л., Наука, Ленингр. отд-ние, 1969.
19. Ш. Г. Сичинава, *Сообщения АН Груз. ССР*, 1975а, 2, 473–476.
20. Ш. Г. Сичинава, Там же, 1975б, 3, 733–736.
21. Ш. Г. Сичинава, Там же, 1976а, 1, 205–208.
22. Ш. Г. Сичинава, Там же, 1976б, 3, 717–720.
23. Ш. Г. Сичинава, Там же, 1978, 6, 523–528.
24. Л. И. Гундерина, *Эволюция, видообразование и систематика хирономид*, Новосибирск, 1986, 65–78.

Gnats *Culex Pipiens*: Electrophoretic Diversity of Enzymes

O. E. LOPATIN

Electrophoretic mobility of 14 enzymes of gnats *Culex pipiens* from Kazakhstan, West Siberia, European part of Russia, and Far East was studied. Stable differences between *C.pipiens pipiens* and *C.pipiens molestus* were found. Interpopulation differences in these gnats with respect to the parameters studied were described. The data obtained permit considering that all the gnats *C.pipiens molestus* have a common origin. The opinion of formation of *C.pipiens molestus* on the basis of local populations of *C.pipiens pipiens* was not confirmed by the present study.