

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ *IXODES PERSULCATUS* И *I. PAVLOVSKYI* В ЮЖНОЙ ЧАСТИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Т.В. Табакаева^{1,2}, В.А. Скобеева^{3,4}, Е.М. Щелканов⁵, Ю.А. Белов^{1,2}, Д.В. Панкратов², М.Ю. Щелканов^{3,4,5}

¹Дальневосточный федеральный университет, Институт медицины и наук о жизни, Владивосток, Россия

²НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

³Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁵Государственный университет просвещения, Мытищи, Россия

⁶ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия

MOLECULAR IDENTIFICATION OF IXODIC TICKS *IXODES PERSULCATUS* AND *I. PAVLOVSKYI* IN THE SOUTHERN PART OF PRIMORSKY KRAI

T.V. Tabakaeva^{1,2}, V.A. Skobeeva^{3,4}, E.M. Shchelkanov⁵, Yu.A. Belov^{1,2}, D.V. Pankratov², M.Yu. Shchelkanov^{3,4,5}

¹Far Eastern Federal University, School of medicine and life sciences, Vladivostok, Russia

²G.P. Somov Scientific research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Vladivostok, Russia

³Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudnyy Russia

⁴Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

⁵State university of education, Mytishchi, Russia

⁶Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Vladivostok, Russia

Иксодовые клещи (Parasitiformes: Ixodidae) являются переносчиками ряда инфекционных агентов, представляющих опасность для животных, включая человека [1-3]. Юг российского Дальнего Востока характеризуется не только видовым богатством в целом, но и разнообразной фауной эктопаразитов. Среди массовых видов иксодовых клещей, обитающих на территории юга Дальнего Востока России и являющихся переносчиками природно-очаговых заболеваний, выделяют следующие виды: *Ixodes persulcatus*, *I. pavlovskyi*, *Haemophysalis concinna*, *H. japonica*, *Dermacentor silvarum* [4-6]. Из них, наибольший интерес в паразитологическом плане представляют виды *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*, которые ранее ошибочно относили к одному виду, а вид *I. pavlovskyi* считали подвидом *I. persulcatus*. Дальнейшие исследования показали, что оба вида имеют ряд морфологических различий (как у самок, так и у самцов), которые позволили исследователям идентифицировать их как два разных самостоятельных вида [7].

I. pavlovskyi имеет разорванный ареал – в отличие от *I. persulcatus*, чей ареал простирается с южной точки Дальнего Востока России и доходит до северной границы Западной Европы, захватывая Московскую и Ленинградскую область, южную часть Карелии и Поволжье. Ареал *I. pavlovskyi* включает две территориально разобщенные части, Алтайскую и Дальневосточную [8]. С целью уточнения видовой принадлежности данных видов клещей, были также разработаны тест системы на основе анализа последовательностей гена цитохромоксидазы 1 (COX I) [9]. Анализ нуклеотидных последовательностей COX I позволяет детализировать видовую структуру иксодид и наметить подходы к организации научно-обоснованных мероприятий по профилактике природно-очаговых инфекций. COX I – достаточно консервативный генетический фрагмент, который присутствует в митохондрионе всех эукариот, вследствие чего хорошо подходит для ДНК-баркодирования [9, 10].

Целью данной работы являлась молекулярная идентификация собранных клещей, на основе морфологических данных, идентифицированных как *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*. Всего в работе было использовано 16 особей иксодид, собранных в июле 2021 г. на территории южной части Приморского края в процессе плановых эколого-вирусологических исследований НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора при участии студентов ФБМФ МФТИ, проходивших летнюю

научно-исследовательскую практику на базе кафедры эпидемиологии, микробиологии и паразитологии ШБМ ДВФУ. Экстрагирование тотальной ДНК из гомогената иксодид проводилось методом СТАВ с использованием бромида цетилметиламмония в качестве детергента. Амплификация фрагмента COX I (700 п.н.) осуществлялась с помощью специфических праймеров (Евроген, РФ) и 36-цикловой ПЦР: 95 °C × 3 мин; 94 °C × 15 сек; 50 °C × 15 сек; 72 °C × 45 сек; 72 °C × 5 мин; хранение при 12 °C. Полученные ампликоны изолировались при помощи электрофореза и выделялись из реакционной смеси адсорбционными спин-колонками «Евроген Cleanup Standart» (каждая из которых позволяет получить до 25 мкг ДНК). Секвенирование нуклеотидных последовательностей осуществлялось капиллярным методом на оборудовании фирмы «Евроген». Для сравнительного анализа и построения карты гаплотипов были привлечены нуклеотидные последовательности, полученные по проекту «Barcode of Life» [11, 12].

Из 16 особей *I. persulcatus*, идентифицированных морфологически, 12 были ДНК-баркодированы как действительно относящиеся к этому виду, и ещё четыре – как *I. pavlovskyi*. Секвенированные последовательности COX I для *I. persulcatus* кластеризовались со всеми географическими вариантами с территории Евразии, представленными в международной базе данных GenBank (из Сибири, Алтая, северных провинций Китая, российского Дальнего Востока, включая о. Сахалин). Несмотря на то, что *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* морфологически различаются (боковыми бороздами на скутуме у самцов, дорсальными корнуа, формой аурикул, длиной медиального зуба у первой пары кокс и формой половой щели), эти виды способны скрещиваться между собой с формированием жизнеспособного потомства. Обнаруженный нами митохондриальный генетический маркер *I. pavlovskyi* у представителей, морфологически определённых как *I. persulcatus*, ещё раз свидетельствует о том, что морфологические критерии не должны являться единственными критериями, используемыми для видовой идентификации клещей. Также результаты говорят о возможности гибридизации этих таксонов, требует всестороннего анализа гипотезы подвидового статуса *I. pavlovskyi*, что должно стать предметом дальнейших исследований.

Литература

1. Львов ДК, Дерябин ПГ, Аристов ВА и др. Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: Изд-во НПЦ ТМГ МЗ РФ, 2001. 192 с.
2. Медицинская вирусология. Ред.: ДК Львов. М.: МИА, 2008. 655 с.
3. Щелканов МЮ, Табакаева ТВ, Щелканов ЕМ и др. Паукообразные-эктопаразиты рукокрылых. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 126 с.
4. Померанцев БИ. Иксодовые клещи (Ixodidae). М.-Л.: АН СССР, 1950. 223 с.
5. Филиппова НА. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae. Л.: Наука, 1977. 393 с.
6. Воронова АН, Табакаева ТВ, Вайнутис КС и др. Актуальность паразитологических исследований на юге российского Дальнего Востока. Здоровье населения и среда обитания. 2021;(5):52-60.
7. Дубинина ЕВ, Никитин АЯ. История одного открытия (Ixodes pavlovskyi Pomerantzev, 1946) Сообщение 1. Описание Ixodes pavlovskyi Pomerantzev, 1946 и доказательство валидности вида. Пест-менеджмент. 2020;(2):5-13.
8. Никитин АЯ, Алленов АВ, Гордейко НС и др. Комплекс видов Ixodes pavlovskyi и Ixodes persulcatus на Юге Приморья и эпидемиологическое значение его изменения. Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2015;(27):23-29.
9. Livanova NN, Tikunova NV, Livanov SG, Fomenko NV. Identification of Ixodes persulcatus and Ixodes pavlovskyi occidentalis (Ixodidae) by the analysis of the gene fragment COX I (cytochrome oxidase subunit I). Parazitologiya. 2012;46(5):340-349.
10. Livanova NN, Tikunov AY, Kurilshikov AM и др. Genetic diversity of Ixodes pavlovskyi and I. persulcatus (Acari: Ixodidae) from the sympatric zone in the south of Western Siberia and Kazakhstan. Experimental and Applied Acarology. 2015;67:441-456.
11. <https://evrogen.ru/products/isolation/cleanup>
12. <https://www.boldsystems.org/index.php>