

## Экологические и молекулярно-генетические особенности клещей *Ixodes persulcatus* и *I. pavlovskiy* юга Западной Сибири

Н. Н. ЛИВАНОВА<sup>1,2</sup>, С. Г. ЛИВАНОВ<sup>1</sup>, А. Ю. ТИКУНОВ<sup>2</sup>, Н. В. ФОМЕНКО<sup>2,3</sup>, Н. В. ТИКУНОВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт систематики и экологии животных СО РАН  
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11  
E-mail: nata-livanova@yandex.ru

<sup>2</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН  
630090, Новосибирск, просп. Лаврентьева, 8

<sup>3</sup> ЗАО «Вектор-Бест»  
630127, Новосибирск, ул. Пасечная, 3

Статья поступила 31.08.15

Принята к печати 25.04.16

### АННОТАЦИЯ

В 2012 г. обследованы основные типы растительности на шести ключевых участках в пределах Алтае-Саянской горной страны и северной лесостепи Западной Сибири. Отловлено 1829 особей *I. persulcatus* и 719 *I. pavlovskiy*. Клещи *I. persulcatus* зарегистрированы на всех обследованных территориях. *I. pavlovskiy* – на Западном, Северо-Восточном, Северном Алтае и долинных местообитаниях р. Обь в пределах лесопарковой зоны новосибирского Академгородка. Для клещей *I. persulcatus* проанализировано 144 и 164 последовательности 16S рРНК и COI соответственно. Для *I. pavlovskiy* – 60 и 55. Анализ аминокислотной последовательности фрагмента белка COI позволил установить, что в популяциях *I. pavlovskiy* из Северо-Восточного и Северного Алтая присутствуют селективно эквивалентные мутантные формы. Установлена большая толерантность *I. pavlovskiy* к снижению увлажненности среды обитания и увеличению суммы положительных температур. Показана генетическая связь между недавно сформировавшимися популяциями *I. pavlovskiy* и длительно существующими.

**Ключевые слова:** 16S рРНК, COI, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes pavlovskiy*, Алтае-Саянская горная страна, Западно-Сибирская равнина, обилие, расселение.

Род *Ixodes* (Acari: Ixodidae), насчитывающий более 220 видов, включает наиболее агрессивных по отношению к человеку клещей: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *I. pavlovskiy* (Pom., 1946), *I. ricinus* (Linnaeus, 1758), *I. scapularis* Say, 1821, *I. pacificus* Cooley & Kohls, 1943. В азиатской части России эпидемичес-

ки значимы клещи *I. persulcatus* и *I. pavlovskiy*, участвующие в циркуляции вирусов клещевого энцефалита и Кемерово, – *Borrelia burgdorferi* s.l., *Borrelia miyamotoi*, “*Candidatus* Rickettsia tarasevichiae”, *Anaplasma phagocytophilum* [Shpynov et al., 2006; Chausov et al., 2010; Korenberg et al., 2010; Rar

Обилие и распределение клещей *I. persulcatus* (I) и *I. pavlovskyi* (II) на юге Западной Сибири в 2012 г.

| Ключевой участок  | Географические координаты | Всего отловлено |     | Относительное обилие клещей на 1 флаго-км ( $D_{lov}-D_{up}$ ) |             |
|---|---------------------------|-----------------|-----|--|-------------|
|   |                           | I               | II  | I  | II          |
| Западный Алтай (Восточно-Казахстанская обл., Казахстан)   | 50°11'–50°17' с. ш.,      | 17              | 7   | 0,9  | 0,7         |
|   | 82°51'–82°59' в. д.       |                 |     | (0,6–1,3)  | (0,5–1,0)   |
| Северо-Восточный Алтай (Турочакский р-н, Республика Алтай)  | 51°47'–51°47' с. ш.,      | 299             | 90  | 32,6   | 12,4        |
|   | 87°18'–87°17' в. д.       |                 |     | (29–36)  | (10,5–14,6) |
| Северный Алтай (Чемальский р-н, Республика Алтай)   | 51°36'–51°39' с. ш.,      | 662             | 289 | 52,6   | 4,5         |
|   | 85°47'–85°43' в. д.       |                 |     | (49–57)  | (4,2–4,9)   |
| Салаирский кряж (Тогучинский р-н, Новосибирская обл.)   | 54°42'–54°44' с.ш.,       | 274             | 0   | 9,3  | 0           |
|   | 84°45'–84°46' в. д.       |                 |     | (8,2–10,6)   |             |
| Северная лесостепь (Тогучинский р-н, Новосибирская обл.)  | 54°53'–54°53' с. ш.,      | 625             | 0   | 28,8   | 0           |
|   | 83°21'–84°21' в. д.       |                 |     | (31–36,7)  |             |
| Ленточные боры в долине р. Обь (лесопарковая зона новосибирского Академгородка и его окрестности) | 55°00'–55°02' с. ш.,      | 40              | 666 | 1,5  | 35,3        |
|   | 82°58'–83°19' в. д.       |                 |     | (1,1–1,9)  | (32,8–38,4) |

et al., 2010; Taylor et al., 2013; Tkachev et al., 2014]. Благодаря миграциям птиц эти членистоногие успешно перемещаются на большие расстояния, расширяя таким образом границы природных очагов [Alekseev et al., 2001; Scott 2001]. В настоящее время накоплены сведения, позволяющие считать, что расселение клещей *I. pavlovskyi* в начале прошлого столетия привело к успешному закреплению этого вида кровососов на новой территории [Livanova et al., 2015; Romanenko, Leonovich, 2015]. Как правило, возникающее в результате изменения условий окружающей среды расселение оказывает мощное воздействие на динамику численности популяции [Бигон и др., 1989]. В то же время изменение условий окружающей среды (количество пищи, доступность среды обитания, абиотические факторы) может влиять на генетическое разнообразие популяций [Hewitt, 2000], которое либо увеличивается при установлении потока генов при расселении клещей, либо уменьшается под давлением очищающего отбора.

На настоящем этапе изучения феномена расселения *I. pavlovskyi* на новые территории установлено, что у клещей этого вида, в отличие от *I. persulcatus*, менее выражен генетический полиморфизм и отсутствует гео-

графическая дифференциация молекулярных маркеров [Livanova et al., 2015]. Кроме того, анализ имеющегося материала позволил выявить ряд новых отличий на молекулярно-генетическом уровне между обладающими сходными биологическими характеристиками видами клещей. В контексте вышеизложенного данное сообщение имеет своей целью не только получение характеристик современного состояния обилия и встречаемости *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* в зоне симпатрии на юге Западной Сибири, но и оценку уровня разнообразия митохондриальной ДНК обоих видов клещей.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Учеты обилия клещей и отлов выполнены в пределах Алтае-Саянской горной страны и в северной лесостепи Западной Сибири. Обследовано шесть ключевых участков (табл. 1, рис. 1). Учеты клещей проведены по общепринятой методике [Таежный клещ..., 1985] в период с 24 апреля по 30 мая 2012 г. в основных типах растительности. В пределах Алтае-Саянской горной страны обследованы низко- и среднегорные влажные осиново-пихтовые, сосново-елово-пихтовые, березово-осиновые леса и зарастающие вырубки, в

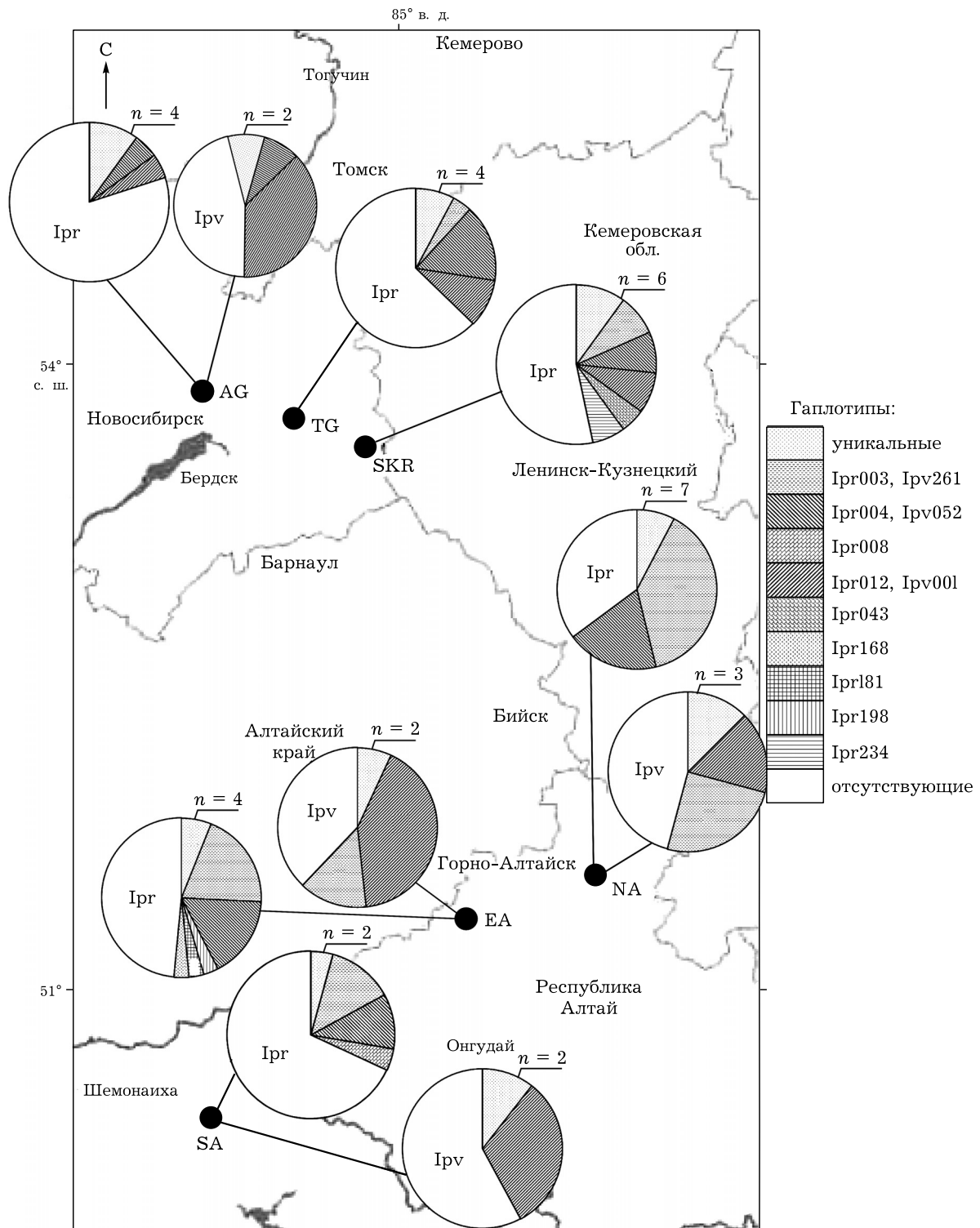


Рис. 1. Карта-схема обследованных ключевых участков и распределения гаплотипов COI клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*.

Места сбора клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*: SA – Западный Алтай (Республика Казахстан), EA – Северо-Восточной Алтай (Республика Алтай), NA – Северный Алтай (Республика Алтай, Россия), SKR – Салаирский кряж (Новосибирская обл., Россия), TG – северная лесостепь (Новосибирская обл., Россия), AG – леса в долине р. Обь (г. Новосибирск, Россия). *n* – число уникальных гаплотипов для каждого вида клещей и обследованного ключевого участка

пределах горных долин – сосновые и производные от них леса. На равнине в северной лесостепи изучены зональные осиново-березовые леса среди разнотравно-злаковых степей и полей, а также долинные местообитания лесопарковой зоны новосибирского Академгородка и его окрестностей. Протяженность маршрутов в каждом типе растительности составляла не менее 5 км. Результаты учетов анализировали, и дальнейший отлов членистоногих проводился в местах их концентрации. Далее мы приводим средние показатели обилия клещей для каждого ключевого участка. Вид отловленных имаго определен на основании морфологических критериев с использованием бинокля [Филиппова, 1977]. До молекулярного анализа клещей хранили живыми при +4 °С в камерах дифференцированной влажности. Всего отловлено 2548 клещей.

ДНК клещей выделена с использованием наборов Proba NK kit (DNA-Технология, Москва, Россия) согласно инструкции производителя и хранится в 50 мкл TE буфера при –70 °С. Фрагменты генов 16S рРНК и цитохром оксидазы COI в образцах ДНК клещей амплифицированы с парами праймеров соответственно: IF3seq (5'-gggacaagaagaccctatgaa-3'); IR3seq (5'-agatagaaccaacctggctc-3'); C1 (5'-accacaagaacattggaactatata-3'), C2 (5'-aatccaggaagaataagaatataac-3'). Ожидаемые размеры фрагментов: 250 п.н. для гена 16S рРНК; 650 п.н. для гена COI. Последовательности ДНК определены с использованием прямого и обратного праймеров.

Амплифицированные фрагменты очищены с использованием Silica Bead DNA геля Extraction kit (Fermentas) и проанализированы с использованием BigDye Terminator v.3.1 Sequencing kit (Applied Biosystems). Выравнивание последовательностей проведено с помощью программного обеспечения MEGA 5.2.2 [Tamura et al., 2011]. Последовательности фрагментов генов уникальных образцов для каждой обследованной территории депонированы в GenBank. В программе MEGA 5.2.2 построены деревья с использованием методов максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML), ближайшего связывания (Neighbor Joining, NJ) и невзвешенного попарного группирования со средним арифметическим (Unweighted Pair

Group Method with Arithmetic Mean, UPGMA). Поскольку построенные разными методами дендрограммы имели сходную топологию, мы приводим построенные методом NJ.

Статистическая ошибка учетов клещей рассчитана по формуле  $D_{lov} = D(1 + 1,64 \times e(D))$  и  $D_{up} = D/(1 + 1,64 \times e(D))$  [Olsson, 2005].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании морфологических признаков 2548 отловленных клещей отнесены к двум видам: *I. persulcatus* (1829 особей) и *I. pavlovskiyi* (719) [Livanova et al., 2015]. *I. persulcatus* зарегистрирован на всех обследованных территориях, *I. pavlovskiyi* – на Западном, Северо-Восточном, Северном Алтае и долинных местообитаниях р. Обь в пределах лесопарковой зоны новосибирского Академгородка и его окрестностей (далее – Академгородок). Максимальные показатели относительного обилия клещей *I. persulcatus* выявлены в Северном Алтае. В Северо-Восточном Алтае (52,6 особей фл/км,  $\chi^2 = 4,6$ ) и зональной лесостепи (28,8 особей фл/км,  $\chi^2 = 7,0$ ) такие показатели статистически достоверно ниже, выявленных на Северном Алтае (52,6 особей фл/км) (см. табл. 1). Напротив, обилие *I. pavlovskiyi* оказалось максимальным в лесопарке Академгородка (35,3 особи на фл/км) и значимо превышало обилие клещей этого вида на Западном (0,9 особей фл/км,  $\chi^2 = 16,2$ ), Северо-Восточном (12,4 особей фл/км,  $\chi^2 = 11,1$ ) и Северном (4,5 особей фл/км,  $\chi^2 = 23,8$ ) Алтае.

В пределах западной части ареала *I. pavlovskiyi* в зонах симпатрии с *I. persulcatus* последний встречается шире и на большинстве обследованных территорий преобладает по численности. Известно, что наилучшая выживаемость *I. persulcatus* отмечается в годы с умеренной температурой и высокой влажностью [Коротков, Кисленко, 2002]. Согласно данным сайта <http://www.atlas-yakutia.ru>, в пределах ключевых участков на Северном и Северо-Восточном Алтае в период активности членистоногих показатели положительных температур за период со среднесуточной температурой выше 10 °С составляют 1200–1800 °С, влажность от 800 мм и более. Подобные температурные и влажностные

Проанализированные гены мтДНК (16S рРНК, COI) клещей *I. persulcatus* (I) и *I. pavlovskyi* (II), отловленных на юге Западной Сибири в 2012 г.

| Нуклеотидные последовательности | Вид | Число генетических вариантов (проанализированных последовательностей) | Число вариативных сайтов, % | Число Pi-сайтов, % | Нуклеотидный состав, % |      |      |      | Попарные генетические расстояния |
|---------------------------------|-----|---|-----------------------------|--------------------|------------------------|------|------|------|----------------------------------|
|                                 |     |   |                             |                    | A                      | T    | C    | G    |                                  |
| 16S рРНК                        | I   | 9 (144)   | 8 (2,9)                     | 2 (0,7)            | 37,4                   | 34,4 | 18,7 | 9,6  | 0,00130                          |
|                                 | II  | 4 (60)  | 3 (1,1)                     | 0                  | 38,5                   | 35,6 | 16,7 | 9,1  | 0,00048                          |
| COI                             | I   | 32 (164)  | 33 (5,1)                    | 7 (1,1)            | 29,0                   | 38,4 | 18,2 | 14,4 | 0,00225                          |
|                                 | II  | 11 (55)   | 13 (2)                      | 5 (0,8)            | 28,6                   | 40,3 | 16,8 | 14,4 | 0,00165                          |

характеристики приведены для ключевых участков, обследованных нами на Салаирском Кряже и в равнинной северной лесостепи. Противоположная картина складывается для обследованных территорий на Западном Алтае и в Академгородке, где численность *I. per-*

*sulcatus* низка. Здесь среднесуточная сумма температур выше 10 °С достигает отметки 2200 °С, а количество осадков в безморозный период в отдельные годы ниже 200 мм. Для клещей *I. pavlovskyi* подобные сведения единичны, однако, анализируя показатели

## Анализ

| Гаплотип              | Место отлова** (n)                                   | № GenBank | Всего |     |     |     |     |     |
|-----------------------|--|-----------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                       |  |           |       | 25  | 32  | 37  | 38  | 55  |
| <i>I. persulcatus</i> | Япония   | AB073725  |       | Ser | Met | Arg | Thr | Val |
| IPr003***             | SA (12), EA (36), NA (56), SKR (24), TG (18), AG (6) | KC688364  | 166   | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr008                | SA (2)   | KC688366  | 2     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr058                | AG   | JQ670070  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr072                | AG   | JQ867069  | 1     | .   | .   | .   | .   | Ile |
| IPr088                | TG   | JQ867068  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr113                | NA   | KC688378  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr121                | NA   | KC688380  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr128                | NA   | KC688381  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr224                | SKR  | KC688393  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr225                | SKR  | KC688394  | 1     | .   | Val | .   | .   | .   |
| IPr238                | SKR  | KC688398  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr243                | SKR  | KC688399  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPr269                | EA   | KC688404  | 1     | .   | .   | .   | .   | .   |
| <i>I. pavlovskyi</i>  | Япония   | AB231669  |       | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPv001***             | SA(8), EA (13), NA (5), AG (13)                      | KC688356  | 39    | .   | .   | .   | .   | .   |
| IPv261                | EA   | KC688410  | 10    | Phe | .   | .   | .   | .   |
| IPv264                | EA   | KC688412  | 1     | Phe | .   | Trp | .   | .   |
| IPv274                | NA   | KC688361  | 1     | .   | .   | .   | Asn | .   |
| IPv284                | NA   | KC688417  | 1     | Phe | .   | .   | Asn | Ser |

\* Вариативные сайты пронумерованы с начала кодирующего белка гена COI.

\*\* SA – Западный, EA – Северо-Восточный, NA – Северный Алтай, SKR – Салаирский кряж, TG – север

\*\*\* Гаплотип, зарегистрированный на всех обследованных территориях, для которого серым цветом выделены

относительного обилия клещей *I. pavlovskyi*, можно предположить, что в отличие от *I. persulcatus*, этот вид преобладает на территориях, где высоки суммарные показатели температуры в весенне-летний период года, а влажность, напротив, низка. Интересно, что, по данным Е. И. Болотина с соавт. [1977], в Западном Сихотэ-Алине клещи *I. pavlovskyi*, в отличие от *I. persulcatus*, чаще встречаются на территориях, отличающихся большей суммой температур, а количество осадков для численности этого вида не играет решающей роли. В обследованных нами в 2012 г. низкогорьях Салаирского Кряжа, характеризующихся как районы с высокой влажностью и умеренными весенне-летними температурами, условия для закрепления *I. pavlovskyi* неблагоприятны. Несмотря на близость популяций *I. pavlovskyi* с высокой численностью [Чигирик и др., 1974] и подтверж-

денные факты заноса с птицами [Богданов, 2006], в обследованной нами части Салаирского Кряжа эти клещи не закрепились.

Обилие прокормителей как фактор, оказывающий влияние на уровень численности рассматриваемых видов клещей, занимает второе место по значимости [Коротков, Окулова, 1999]. Известно, что смертность имаго *I. persulcatus* в весенне-летний период, обусловленная дефицитом крупных и средних млекопитающих, может достигать 98 % [Коротков, Кисленко, 2002]. Подобная зависимость численности имаго клещей от позвоночных, на наш взгляд, не менее доказательно объясняет процветание популяции *I. pavlovskyi* в лесопарке Академгородка и *I. persulcatus* на Северо-Восточном и Северном Алтае. По всей видимости, воспроизводству населения *I. persulcatus* в Академгородке препятствуют низкая численность прокормите-

Т а б л и ц а 3

позиций множественного выравнивания области, кодирующей ген COI клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*

| Позиция переменного сайта* |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 59                         | 83  | 99  | 117 | 121 | 138 | 145 | 168 | 170 | 178 | 207 | 216 |
| Ala                        | Ala | Leu | Val | Ala | Ser | Ala | Ile | Met | Ser | Met | Thr |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | Ser | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | Val | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | Ser |
| .                          | .   | Met | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | Val | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | Met | .   | Leu | .   | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | Ile | .   |
| Thr                        | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | Ile | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | Leu | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   |
| .                          | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   | .   |

ная лесостепь, AG – новосибирский Академгородок и окрестности. отличия последовательности *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*.

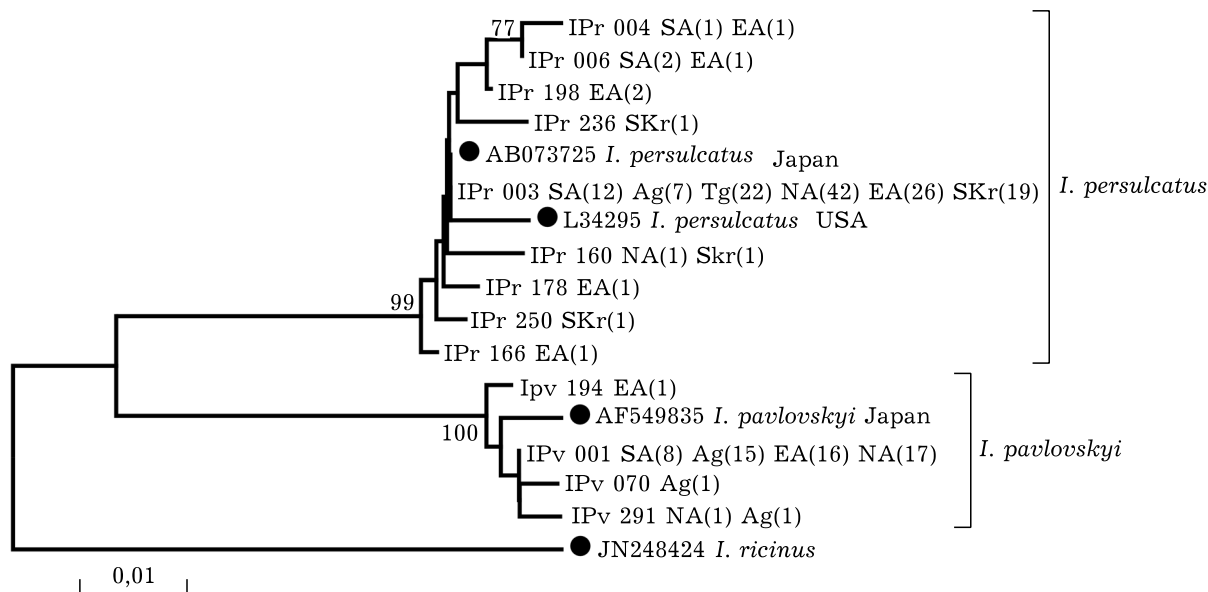


Рис. 2. NJ-древото построено на основании анализа последовательности фрагмента гена 16S рРНК (276 п.н.). Цифрами ( $> 70\%$  /  $> 0,7$ ) в узлах ветвления обозначена величина бутстрэп-поддержки. Число последовательностей каждого гаплотипа приведено в скобках. Обозн. сбора клещей см. на рис. 1. Пунсон – последовательность GenBank.

лей половозрелой фазы, а ежегодное существование клещей этого вида обеспечивается за счет заноса нимф птицами. Очевидно также, что высокая численность *I. pavlovskyi* в пределах лесопарковой зоны Академгородка и его окрестностей поддерживается за счет высокой численности птиц, добывающих корм на земле [Ливанова и др., 2011]. Сделанные нами выводы согласуются с результатами исследований, проведенных в г. Томске и его пригородах, где явное превосходство по численности *I. pavlovskyi* над *I. persulcatus* отмечено на участках, расположенных в черте города [Romanenko, Leonovich, 2015]. Предположение, сделанное ранее, о положительном влиянии близости речных долин крупных рек на успешное закрепление *I. pavlovskyi* на новых территориях [Романенко, Панкова, 2013], вероятно, не имеет под собой основания.

Данные, характеризующие генетическое разнообразие близкородственных *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*, приведены в табл. 2. Для последовательностей мтДНК всех образцов установлено высокое содержание А- и Т-нуклеотидных оснований. Для последовательности 16S рРНК *I. persulcatus* выявлено восемь переменных и два Рi-информативных сайта. У *I. pavlovskyi* только три переменных сайта. Для нуклеотидной последовательности

фрагмента гена *COI* образцов клещей *I. persulcatus*, определенной в работе, зафиксировано 33 переменных и семь Рi-сайта, для образцов *I. pavlovskyi* – 13 и 5 соответственно. В ходе исследования гена *COI* *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* выявлена первичная структура участка белка *COI* (табл. 3). Аминокислотная последовательность проанализированного фрагмента белка *COI* клещей *I. persulcatus* основного гаплотипа IPr003, отличается от таковой основного гаплотипа *I. pavlovskyi* (IPv001) одним аминокислотным остатком в 178 позиции: *I. persulcatus* (IPr003) – серин (Ser); *I. pavlovskyi* (IPv001) – лейцин (Leu). В последовательностях 13 образцов *I. persulcatus*, полученных со всех обследованных территорий, единичные замены нуклеотидов привели к модификациям аминокислотной последовательности белка. Количество мутаций, приводящих к смене класса аминокислотного остатка в последовательностях гена *COI* *I. pavlovskyi* равняется четырем. В гаплотипах IPv261(EA), IPv264(EA), IPv274(NA) и IPv284(NA) произошли замены неполярных аминокислот на полярные незаряженные. Важно отметить, что сайты замен аминокислот полипептида, обнаруженные в гаплотипах IPv264(EA) и IPv284(NA), близко расположены (37 и 38 сайты).

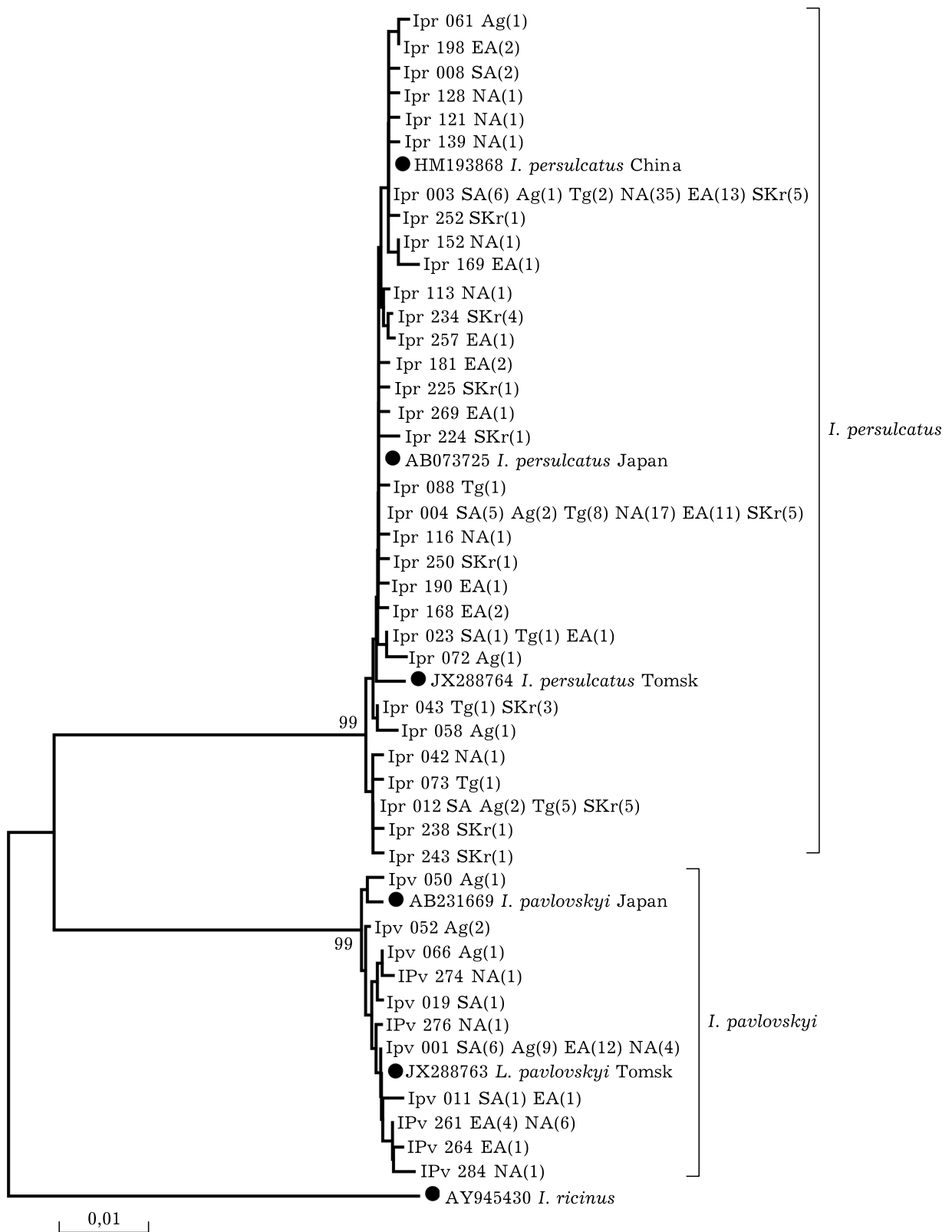


Рис. 3. NJ-древо на основании анализа последовательности фрагмента гена COI (647 п.н.).

Обозн. см. на рис. 2



На основании анализа последовательности гена 16S рРНК *I. persulcatus* выявлено девять гаплотипов, из которых широко распространен IPr003 (рис. 2). Последовательность IPr003 гомологична таковой *I. persulcatus* (ABO73725) из Японии. Для *I. pavlovskyi* выявлено четыре гаплотипа, при этом последовательность широко распространенного IPv001 близка таковой, принадлежащей *I. pavlovskyi* (AF549835) из Японии. На основании анализа фрагмента гена COI клещей *I. persulcatus* выявлено 32 гаплотипа (рис. 3). Из них последовательности образцов Ipr003 и Ipr004 встречены у клещей, отловленных на всех обследованных ключевых участках (см. рис. 1). Их доля от числа выявленных составляет 37,8 и 29,3 % соответственно. Клещи с гомологичными последовательностями фрагмента гена COI ранее отловлены в Китае (HM193868) и Японии (ABO73725). Для *I. pavlovskyi* выявлено 11 гаплотипов, повсеместно встречен IPv001 (см. рис. 1). Доля клещей с последовательностью, идентичной IPv001, в исследованных выборках составляет 59,6 %. Последовательность IPv001 гомологична JX288763 клещей *I. pavlovskyi*, отловленных в лесопарках г. Томска.

Выявлено смещение нуклеотидного состава в сторону А- и Т-оснований в последовательности митохондрий клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*. Несмотря на то, что единого универсального механизма, объясняющего смещение нуклеотидного состава, не существует, эти результаты свидетельствуют о высокой степени родства между *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*. В последовательностях мтДНК *I. ricinus* установлено аналогичное смещение нуклеотидного состава [Casati et al., 2008]. G. Xu с соавт. [2003] объясняют эту особенность тем, что среди многочисленных представителей рода *Ixodes* клещи комплекса *ricinus-persulcatus* представляют относительно недавно эволюционировавшую группу.

Проанализирована аминокислотная последовательность фрагмента белка COI *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*. В отличие от клещей *I. persulcatus*, обитающих на Северо-Восточном и Северном Алтае, среди *I. pavlovskyi*, отловленных на тех же ключевых участках, есть селективно эквивалентные мутантные формы (гаплотипы 261Iprv, 264Iprv, 274Iprv и 284Iprv). Несмотря на то, что оба вида кле-

щей на каждом ключевом участке с высокой степенью вероятности подвергались идентичным воздействиям, генетический аппарат последних отреагировал на события иначе, что привело к появлению и закреплению отличающихся форм. На фоне низкой встречаемости Рi-информативных сайтов в последовательностях митохондриальных маркеров у обоих видов клещей для *I. pavlovskyi* этот показатель в среднем в 2 раза ниже.

Для исследованных последовательностей клещей обоих видов Рi-информативные сайты редки. Это свидетельствует о том, что отличия между гаплотипами возникают вследствие точечных мутаций, которые, как правило, селективной роли не играют. Группировки *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* из всех обследованных точек имеют общие гаплотипы, большинство из которых отличаются, как правило, заменой одного нуклеотидного основания.

Внутривидовая генетическая однородность *I. pavlovskyi* на юге Западной Сибири, вероятнее всего, обусловлена длительной непрерывной трофической связью с прокормителями, особенно с мобильными птицами, и способствует интенсивному расселению и обмену генетической информацией между клещами, обитающими на удаленных территориях.

Результаты, представленные в ряде работ [Delaye et al., 1997; De Meeus et al., 2002; Casati et al., 2008] для клещей *I. ricinus* из Западной Европы, также демонстрируют отсутствие географической неоднородности. Напротив, между Североафриканскими и европейскими островными и материковыми популяциями *I. ricinus* генетические отличия зафиксированы [Noureddine et al., 2011; Dinnis et al., 2014]. По мнению авторов, на формирование генетической неоднородности популяций *I. ricinus* оказали Средиземное море и пролив Ла-Манш, сыгравшие роль непреодолимых естественных преград.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили охарактеризовать особенности современного распределения и уровня обилия *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* в зоне симпатрии на юге

Западной Сибири. Получены подтверждения сделанного нами ранее предположения о большей толерантности *I. pavlovskiyi* к снижению увлажненности среды обитания и увеличению суммы положительных температур. В условиях антропогенно трансформированных ландшафтов городов юга Западной Сибири (Томск, Кемерово, Новосибирск) *I. pavlovskiyi* способен замещать *I. persulcatus*, успешно приспосабливаясь к рекреационной дигрессии. Изучение генетической изменчивости населения *I. persulcatus* и *I. pavlovskiyi* по набору митохондриальных маркеров позволило приблизиться к пониманию вопросов генетической структуры эпидемически значимых видов членистоногих. Установленная генетическая связь между относительно недавно сформировавшимися популяциями *I. pavlovskiyi* свидетельствует о существовании эффективного генетического потока на большие расстояния за счет мобильных прокоррмителей клещей.

Работа поддержана проектами РФФИ №15-29-02479 офи\_м и РНФ №15-14-20020.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Бигон М., Харпер Дж., Таунсенд К. Экология. Особи, популяции и сообщества. М.: Мир, 1989. Т. 1. 667 с.
- Богданов И. И. Иксодовые клещи Западной Сибири. Сообщение VII. Типы населения иксодовых клещей // Электронный науч. журн. "Вестник Омского государственного педагогического университета". 2006. www.omsk.edu.
- Болотин Е. И., Колонин Г. В., Киселёв А. Н., Матюшина О. А. Распространение и экология *Ixodes pavlovskiyi* (Ixodidae) в Сихотэ-Алине // Паразитология. 1977. Т. 11, № 3. С. 225–229.
- Коротков Ю. С., Кисленко Г. С. Причины колебаний демографической структуры таежного клеща (Ixodidae) в темнохвойно-лиственных лесах Кемчугского нагорья // Там же. 2002. Т. 36, № 5. С. 345–355.
- Коротков Ю. С., Окулова Н. М. Хронологическая структура численности таежного клеща в Приморском крае // Там же. 1999. Т. 33, № 3. С. 257–266.
- Ливанова Н. Н., Ливанов С. Г., Панов В. В. Особенности распределения клещей *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskiyi* на границе лесной и лесостепной зон Приобья // Там же. 2011. Т. 45, № 3. С. 94–103.
- Романенко В. Н., Панкова Т. Ф. Фауна пастбищных иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) на окраинах г. Томска // Чтения памяти проф. И. И. Барабаш-Никифорова: мат.-лы V Междунар. науч. конф. 2013. С. 143–147.
- Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука, 1985. 416 с.
- Филиппова Н. А. Иксодовые клещи подсемейства Ixodinae. Фауна СССР. Паукообразные. Л.: Наука, 1977. Т. 4 (4). 396 с.
- Чигирик Е. Д., Селютин И. А., Бирюкова М. П., Истраткина С. В. Обнаружение очага высокой численности клещей *Ixodes pavlovskiyi* Pom. (Parasitiformes, Ixodidae) и спонтанная зараженность их вирусом клещевого энцефалита // Паразитология. 1974. Т. 8, № 2. С. 181–183.
- Alekseev A. N., Dubinina H. V., Semenov A. V., Bolshakov C. V. Evidence of ehrlichiosis agents found in ticks (Acari: Ixodidae) collected from migratory birds // J. Med. Entomol. 2001. Vol. 38, N 4. P. 471–474.
- Casati S., Bernasconi M. V., Gern L., Piffaretti J. C. Assessment of intraspecific mtDNA variability of European *Ixodes ricinus* sensu stricto (Acari: Ixodidae) // Infect. Genet. Evol. 2008. Vol. 8, N 2. P. 152–158.
- Chausov E. V., Ternovoi V. A., Protopopova E. V., Kononova J. V., Konovalova S. N., Pershikova N. L., Romanenko V. N., Ivanova N. V., Bolshakova N. P., Moskvitina N. S., Loktev V. B. Variability of the tick-borne encephalitis virus genome in the 5' noncoding region derived from ticks *Ixodes persulcatus* and *Ixodes pavlovskiyi* in Western Siberia // Vector Borne Zoonotic Dis. 2010. Vol. 10, N 4. P. 365–375.
- De Meeus T., Beati L., Delaye C., Aeschlimann A., Renaud F. Sex biased dispersal in the vector of Lyme disease *Ixodes ricinus* // Evolution. 2002. Vol. 59, N 9. P. 1802–1807.
- Delaye C., Beati L., Aeschlimann A., Renaud F., De Meeus T. Population genetic structure of *Ixodes ricinus* in Switzerland from allozymic data: no evidence of divergence between nearby sites // Int. Journ. Parasitol. 1997. Vol. 27, N 7. P. 769–773.
- Dinnis R. E., Seelig F., Bormane A., Donaghy M., Vollmer S. A., Feil E. J., Kurtenbach K., Margos G. Multilocus sequence typing using mitochondrial genes (mtMLST) reveals geographic population structure of *Ixodes ricinus* ticks // Ticks Tick Borne Dis. 2014. Vol. 5. P. 152–160.
- Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages // Nature. 2000. Vol. 405, N 6789. P. 907–913.
- Korenberg E. I., Nefedova V. V., Romanenko V. N., Gorelova N. B. The tick *Ixodes pavlovskiyi* as a host of spirochetes pathogenic for humans and its possible role in the epizootiology and epidemiology of Borrelioses // Vector Borne Zoonotic Dis. 2010. Vol. 10. P. 453–458.
- Livanova N. N., Tikunov A. Y., Kurilshikov A. M., Livanov S. G., Fomenko N. V., Taranenko D. E., Kvashnina A. E., Tikunova N. V. Genetic diversity of *Ixodes pavlovskiyi* and *I. persulcatus* (Acari: Ixodidae) from the sympatric zone in the south of Western Siberia and Kazakhstan // Exp. Appl. Acarol. 2015. Jul 23 [Epub ahead of print].
- Noureddine R., Chauvin A., Plantard O. Lack of genetic structure among Eurasian populations of the tick *Ixodes ricinus* contrasts with marked divergence from north-African populations // Int. Journ. Parasitol. 2011. Vol. 41, N 2. P. 183–192.
- Olsson U. Confidence Intervals for the Mean of a Log-Normal Distribution // J. Stat. Educ. 2005. Vol. 13. URL: www.amstat.org/publications/jse/v13n1/olsson.html

- Rar V. A., Livanova N. N., Panov V. V., Doroschenko E. K., Pukhovskaya N. M., Vysochina N. P., Ivanov L. I. Genetic diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia* in the Asian part of Russia // *Ticks Tick Borne Dis.* 2010. Vol. 1. P. 57–65. doi: 10.1016/j.ttbdis.2010.01.002
- Romanenko V., Leonovich S. Long-term monitoring and population dynamics of ixodid ticks in Tomsk city (Western Siberia) // *Exp. Appl. Acarol.* 2015. Vol. 66, N 1. P. 103–118. doi: 10.1007/s10493-015-9879-2.
- Scott J. D., Fernando K., Banerjee S. N., Durden L. A., Byrne S. K., Banerjee M., Mann R. B., Morshed M. G. Birds disperse ixodid (Acari: Ixodidae) and *Borrelia burgdorferi*-infected ticks in Canada // *J. Med. Entomol.* 2001. Vol. 38, N 4. P. 493–500.
- Shpynov S., Fournier P.E., Rudakov N., Tarasevich I., Raoult D. Detection of members of the genera *Rickettsia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* in ticks collected in the Asiatic part of Russia // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006. N 1078. P. 378–383.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. Kumar SMEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // *Mol. Biol. Evol.* 2011. N 28. P. 2731–2739. doi: 10.1093/molbev/msr121.
- Taylor K. R., Takano A., Konnai S., Shimozuru M., Kawabata H., Tsubota T. *Borrelia miyamotoi* infections among wild rodents show age and month independence and correlation with *Ixodes persulcatus* larval attachment in Hokkaido, Japan // *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013. Vol. 13. P. 92–97. doi: 10.1089/vbz.2012.1027
- Tkachev S., Panov V., Dobler G., Tikunova N. First detection of Kemerovo virus in *Ixodes pavlovskyi* and *Ixodes persulcatus* ticks collected in Novosibirsk region, Russia // *Ticks Tick Borne Dis.* 2014. Vol. 5, N 5. P. 494–496. doi.org/10.1016/j.ttbdis.
- Xu G., Fang Q. Q., Keirans J. E., Durden L. A. Molecular phylogenetic analyses indicate that the *Ixodes ricinus* complex is a paraphyletic group // *J. Parasitol.* 2003. Vol. 89. P. 452–457.

## Environmental and Molecular Genetic Features of *Ixodes persulcatus* and *I. pavlovskyi* Ticks in Southern West Siberia

N. N. LIVANOVA<sup>1,2</sup>, S. G. LIVANOV<sup>1</sup>, A. Yu. TIKUNOV<sup>2</sup>, N. V. FOMENKO<sup>2,3</sup>, N. V. TIKUNOVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Systematics and Ecology of Animals, SB RAS*  
630091, Novosibirsk, Frunze str., 11  
E-mail: nata-livanova@yandex.ru

<sup>2</sup> *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS*  
630090, Novosibirsk, Lavrent'eva ave., 8

<sup>3</sup> *JSC Vector-Best*  
630128, Novosibirsk, Pasechnaya str., 3

Ixodidae ticks were counted and sampled in six distant locations within the Altai-Sayan Mountain Area and northern forest-steppe in 2012. In total, 1829 individuals of *I. persulcatus* and 719 of *I. pavlovskyi* were trapped. *I. persulcatus* was found in all six examined locations and *I. pavlovskyi* – in the Western Altai, North-Eastern Altai, and Northern Altai, and the forest parks near Novosibirsk's Akademgorodok. In total, 16S rRNA and COI sequences were determined for 144 and 164 *I. persulcatus* individuals, and for 60 and 55 *I. pavlovskyi*. Selectively equivalent mutant forms were present in *I. pavlovskyi* populations of the North-Eastern Altai and Northern Altai. The hydrothermal regime in the forest parks near Novosibirsk is optimal for ticks *I. pavlovskyi*. These ticks have recently colonized the forest parks near Novosibirsk and therefore are genetically close to *I. pavloskyi* from the “Altai-Sayan Mountain Area” populations.

**Key words:** 16S rRNA, COI, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes pavlovskyi*, the Altai-Sayan Mountain Area, northern forest-steppe, abundance, resettlement.