



Активность каталазы у зимующих комаров *Culex pipiens*, *Culex torrentium* и *Anopheles maculipennis* s.l. (Diptera: Culicidae)

А.В. Разыграев

Зоологический институт Российской академии наук, Университетская наб. 1, 199034 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: Alexey.Razygraev@zin.ru, a.v.razygraev@gmail.com

Представлена 13 сентября 2022; после доработки 11 ноября 2022; принята 6 декабря 2022.

РЕЗЮМЕ

Каталаза – фермент антиоксидантной защиты, присутствующий в тканях большинства организмов. У комаров семейства Culicidae, таких как *Culex pipiens* L., он вовлечен в механизм увеличения продолжительности жизни и поддержание фертильности самок, переживающих холодный период года. Известно, что *Cx. torrentium* Martini (вид, близкий к *Cx. pipiens*) более обилен и даже преобладает над *Cx. pipiens* в регионах Европы с коротким вегетационным периодом и более холодным климатом. Самки *Cx. torrentium* и *Cx. pipiens* морфологически трудно различимы и могут быть идентифицированы вероятностно по соотношению между длинами радиальных жилок $r_{(2+3)}$ и r_3 . В настоящем исследовании показано, что зимующие самки с большими величинами морфометрического показателя $r_{(2+3)}/r_3$, характерными в основном для *Cx. torrentium*, имеют более высокую активность каталазы, чем самки с меньшими величинами этого индекса, характерными для *Cx. pipiens* ($\rho=0.606$, $p=0.0027$). Это свидетельствует о том, что активность фермента у самок *Cx. torrentium*, как правило, выше, чем у *Cx. pipiens*. Также при сравнении зимующих самок из группы видов *Anopheles maculipennis* s.l. с самками *Cx. pipiens* по активности каталазы выявлена в среднем более высокая активность фермента у *A. maculipennis* s.l., чем у *Cx. pipiens*, что хорошо согласуется с предпочтением более холодных зимовочных убежищ самками *A. maculipennis* s.l. Более высокая активность фермента у самок *Cx. torrentium* и *A. maculipennis* s.l. может рассматриваться как их лучшая адаптация к стрессовым условиям в холодный период года по сравнению с *Cx. pipiens*.

Ключевые слова: диапауза, кровососущие комары, пероксид водорода, пещеры, фермент

Activity of catalase in overwintering females of mosquitoes *Culex pipiens*, *Culex torrentium*, and *Anopheles maculipennis* s.l. (Diptera: Culicidae)

A.V. Razygraev

Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Universitetskaya Emb. 1, 199034 Saint Petersburg, Russia; e-mail: Alexey.Razygraev@zin.ru, a.v.razygraev@gmail.com

Submitted September 13, 2022; revised November 11, 2022; accepted December 6, 2022.

ABSTRACT

Catalase, an antioxidant enzyme, is present in tissues of most organisms. In mosquitoes, such as *Culex pipiens* L., catalase maintains prolonged lifespan and fertility of hibernating females. The sibling species for *Cx. pipiens*, *Cx. torrentium* Martini, is more abundant and even prevalent over *Cx. pipiens* in regions with short growing season and cool climate. Females of *Cx. torrentium* are difficult to discriminate from *Cx. pipiens* by morphological traits and can be identified probabilistically using $r_{(2+3)}/r_3$ wing vein index. The present study shows that in

Cx. pipiens/torrentium, there is a significant positive correlation between $r_{(2+3)}/r_3$ wing vein index and catalase activity ($\rho=0.606$, $p=0.0027$), indicating that enzyme activity in *Cx. torrentium*, in general, higher than in its sibling species, *Cx. pipiens*. When overwintering females of *Cx. pipiens* and *Anopheles maculipennis* s.l. were compared, definitely higher catalase activity in *A. maculipennis* s.l. was found, and this is in good agreement with the observations that *A. maculipennis* s.l. females choose cooler hibernacula. Higher catalase activity in overwintering females of *Cx. torrentium* and *A. maculipennis* s.l. (in comparison with that of *Cx. pipiens*) may be considered a better adaptation of *Cx. torrentium* and *A. maculipennis* s.l. for stressful conditions during overwintering.

Key words: diapause, mosquitoes, hydrogen peroxide, caves, enzyme

ВВЕДЕНИЕ

Комары сем. Culicidae представляют собой значимую группу среди кровососущих насекомых мировой фауны. Кроме того, что самки кровососущих комаров доставляют серьезные неудобства человеку в местах отдыха и работы, они также являются переносчиками возбудителей ряда заболеваний. Среди кровососущих комаров – переносчики паразитических простейших и червей – малярийного плазмодия и филарий, а также целого ряда арбовирусов, включая вирус Западного Нила, вирус денге, вирус желтой лихорадки (Becker et al. 2010). В северных широтах иногда становятся проблемой лихорадки, вызываемые вирусами группы Синдбис, которые также распространяются кровососущими комарами (Lundström et al. 1990; Lundström 1999). В связи с этим познание любых особенностей физиологии кровососущих комаров может иметь практическую значимость.

Антиоксидантные ферменты играют важную роль по крайней мере на некоторых этапах жизни кровососущих комаров. У комара *Culex pipiens* L., 1758 уровни транскриптов генов, кодирующих два антиоксидантных фермента (каталазу и супероксиддисмутазу-2), повышены у диапаузирующих взрослых самок, что позволяет пережить им холодный период года. Повышенная экспрессия каталазы у диапаузирующих самок обеспечивает сохранение фолликулярных клеток яичников от апоптоза. Таким образом, увеличенная экспрессия каталазы важна для увеличения продолжительности жизни самок кровососущих комаров, для их устойчивости к стрессовым условиям и для сохранения их репродуктивной функции (Sim and Denlinger 2011).

На двух видах кровососущих комаров, *Cx. pipiens* и *Culiseta annulata* Schrank, 1776, име-

ющих различающиеся требования к условиям зимовки, нами ранее были выявлены межвидовые различия по активности каталазы в гомогенатах взрослых насекомых: у *Cs. annulata* активность фермента статистически значимо выше, чем у *Cx. pipiens* (Razygraev 2020). При этом *Cs. annulata*, по-видимому, лучше переносит понижение температуры и влажности, чем *Cx. pipiens* (Razygraev 2021a).

В умеренных широтах Европы *Cx. pipiens* нередко зимует совместно с морфологически сходным видом *Cx. torrentium* Martini, 1925, имеющим, однако, отличающиеся экологические требования (Razygraev and Sulesco 2020). О различиях в экологических требованиях красноречиво говорит тот факт, что *Cx. torrentium* более обилен и даже преобладает над *Cx. pipiens* в регионах Европы с коротким вегетационным периодом и более холодным климатом (Hesson et al. 2014). Очевидно, должны существовать физиологические различия между этими двумя видами, обуславливающие лучшую адаптированность *Cx. torrentium* к обитанию в бореальном климате. Возможно, такие различия позволяют *Cx. torrentium* лучше переносить холодные зимы. При этом зимующих самок *Cx. torrentium* и *Cx. pipiens* ранее не сравнивали по активности каталазы. Хотя самки *Cx. torrentium* и *Cx. pipiens* морфологически крайне сходны и могут быть надежно различимы молекулярными методами, они, тем не менее, имеют различающееся распределение соотношений между длинами радиальных жилок $r_{(2+3)}$ и r_3 (Borstler et al. 2014); следовательно, при наличии различий между двумя видами по активности каталазы ожидается выявление корреляции между уровнем активности фермента и величиной морфометрического индекса $r_{(2+3)}/r_3$.

Виды кровососущих комаров из группы *Anopheles maculipennis* s.l. в условиях Северо-

Запада России также зимуют на стадии имаго (зимуют оплодотворенные самки) (Becker et al. 2010). Самки *A. maculipennis* s.l. многочисленны в зимний период в таких убежищах, как неиспользуемые овощехранилища (Колпаков [Kolpakov] 2006), неотапливаемые помещения домов, где значительно превосходят по численности там же зимующих *Cx. pipiens* [Айбулатов С.В. персональное сообщение (Aibulatov S.V. pers. com.)]. Температура в таких помещениях колеблется в широких пределах и зимой нередко достигает отрицательных значений (например, -5°C). В Саблинских пещерах, в привходовых частях с температурой $0 - +6^{\circ}\text{C}$, по наблюдениям автора в течение ряда лет *A. maculipennis* s.l. в зимние месяцы встречается редко и не каждый год, тогда как *Cx. pipiens* встречается в изобилии (Razygraev 2021a). Из этого может быть выведено предположение, что физиологические параметры зимующих самок *A. maculipennis* s.l. и *Cx. pipiens* различаются, и эти различия могут касаться каталазной активности в частности.

Целью исследования была оценка ожидаемых различий по каталазной активности между зимующими самками видов и групп видов кровососущих комаров (из родов *Anopheles* и *Culex*), в том числе различающихся по требованиям к условиям зимовки. В задачи исследования входила проверка следующих конкретных гипотез: 1) коррелирует ли активность каталазы в гомогенатах зимующих самок *Cx. pipiens/torrentium* с величиной морфометрического индекса $r_{(2+3)}/r_3$, отражая тем самым различия между *Cx. torrentium* и *Cx. pipiens* по активности каталазы; 2) различаются ли независимые выборки *A. maculipennis* s.l. и *Cx. pipiens* по каталазной активности в гомогенатах диапаузирующих комаров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор и подготовка материала

Исследование проведено на Северо-Западе России на зимующих комарах сем. Culicidae из Ленинградской и Псковской областей. Места сбора зимующих комаров *Cx. pipiens/torrentium* – привходовые части Саблинских пещер (Тосненский р-н, Ленинградская обл.), время сбора – конец февраля и начало марта 2019 г.

Зимующие самки *A. maculipennis* s.l. собраны в неотапливаемых частях построек в январе 2019 г. (деревни Мочалково и Курилово, Псковская обл.) и в Саблинских пещерах в январе–феврале 2020 г.; самок *A. maculipennis* s.l. сравнивали по каталазной активности с выборкой из самок, морфометрически определенных как *Cx. pipiens*, собранных в Саблинских пещерах в те же периоды (январь 2019 г. и январь–февраль 2020 г.).

Самки комаров *A. maculipennis* s.l., транспортируемые из Псковской обл. ($n=6$), содержались в пластиковых контейнерах объемом 900 мл в течение 9–10 дней и получали воду и сахарозу *ad libitum* аналогично описанию в ранее опубликованной работе (Razygraev 2022). Сходное количество ($n=5$) самок, морфометрически определенных как *Cx. pipiens*, собранных в Саблинских пещерах, содержали аналогичным образом для последующего сравнения с самками *A. maculipennis* s.l. Самок *Cx. pipiens/torrentium* ($n=23$), для которых оценивали корреляцию активности каталазы с величиной морфометрического индекса $r_{(2+3)}/r_3$, держали в контейнерах 1 сут, при этом комары получали воду *ad libitum* без сахарозы. Немногочисленных самок *A. maculipennis* s.l. ($n=2$), собранных в 2020 г. в Саблинских пещерах, и соответствующее им количество самок *Cx. pipiens* ($n=2$), собранных там же, содержали в таких же условиях 1 сут и добавляли к январским выборкам *A. maculipennis* s.l. и *Cx. pipiens* от 2019 г. По истечении указанного времени комаров замораживали при $-10-12^{\circ}\text{C}$, переносили в -80°C , хранили при этой температуре, размораживали и гомогенизировали в предварительно охлажденном 0.05 М К-Na-фосфатном буфере (pH 7.8). Гомогенизацию выполняли согласно описанию в ранее опубликованной работе (Razygraev 2020), предварительно у каждого комара отделяли только крылья и ноги. Супернатант, полученный в результате центрифугирования при 1000g (4°C , 6 мин), использовали для определения каталазной активности. Для параллельной проверки ингибирования разложения пероксида водорода специфичным ингибитором каталазы, 3-амино-1,2,4-триазолом (АТ), алиquotы супернатанта смешивали с 0.5 М водным раствором АТ вдвое меньшего объема и инкубировали 1 ч при 4°C .

Определение удельной ферментативной активности каталазы

Активность каталазы определяли спектрофотометрически по модифицированному нами методу Beers and Sizer (1952). Инкубацию супернатанта гомогената с пероксидом водорода проводили в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см. В тестовую кювету вносили 1.100 мл 0.05 М К-Na-фосфатного буфера (рН 7.8), 0.030 мл водного раствора H_2O_2 (1.05 М) и затем 100 мкл супернатанта гомогената, разбавленного дистиллированной водой (либо раствором АТ при проверке ингибирования, как описано выше) в 1.5 раза¹. Инкубацию проводили при температуре 25–27°C; в кювету вносили в охлажденном виде только разбавленный супернатант гомогената. В кювету сравнения вместо супернатанта гомогената вносили в холодном виде аналогично разбавленный дистиллированной водой К-Na-фосфатный буфер. В полностью сформированной реакционной смеси начальная концентрация пероксида водорода составляла 25.6 мМ, оставалась стабильной в кювете сравнения и быстро снижалась в тестовой кювете. Первое измерение оптической плотности при 250 нм проводили через 15–25 с от момента внесения супернатанта гомогената и после тщательного перемешивания реакционной смеси. Последующие измерения выполняли с повторными перемешиваниями и удалением газовых везикул, растущих на стенках кюветы при образовании O_2 в ферментативном разложении H_2O_2 . Для оценки скорости разложения (убыли концентрации) H_2O_2 использовали начальный линейный участок кривой скорости убыли оптической плотности при 250 нм (в течение первых нескольких десятков секунд от первого измерения) и коэффициент молярного поглощения H_2O_2 при 250 нм, который составил по нашим предыдущим оценкам $26.4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Razygraev 2020).

Концентрацию белка в супернатанте гомогенатов определяли упрощенной турбидиметри-

ческой процедурой (Чеснокова и др. [Chesnokova et al.] 1997). Супернатант гомогената предварительно разбавляли в 12 раз дистиллированной водой и затем в 2 раза добавлением 30% (w/v) трихлоруксусной кислоты (ТХУ). После сорокаминутной инкубации при комнатной температуре развившуюся оптическую плотность регистрировали при 340 нм против 15% ТХУ. Концентрацию белка высчитывали по калибровочному графику с разными разведениями супернатанта с учетом отклонения от линейности в области низких значений концентрации белка (x) и оптической плотности (y). В качестве стандартных белковых растворов использовали растворы бычьего и человеческого сывороточного альбумина, разбавленные до концентрации 40 мкг/мл до внесения 30% ТХУ; при этом использовали среднее значение оптической плотности при 340 нм, полученное для двух растворов. Стандартные растворы альбумина использовали в каждой серии определений (в каждом новом опыте).

При проверке турбидиметрического метода на гомогенатах комаров полученные значения концентрации белка хорошо соответствовали значениям, полученным при использовании метода Лоури (Lowry et al. 1951) (пирсоновский коэффициент корреляции составил 0.9822). Чувствительность метода выше, чем у методов Лоури и Бредфорда (Чеснокова и др. [Chesnokova et al.] 1997).

Удельную активность каталазы выражали в виде микромолей пероксида водорода, израсходованного за 1 мин, в пересчете на 1 мг белка.

Статистическая обработка

Статистические сравнения независимых выборок (*A. maculipennis* s.l. и *Cx. pipiens*) проводили методом Манна–Уитни–Уилкоксона. Необходимые объемы выборок (*n*) определяли исходя из мощности метода. Корреляционный анализ (для выборки *Cx. pipiens/torrentium*) проводили методом Спирмена с расчетом коэффициента корреляции *rho* и соответствующего ему *p*-значения. Также для смешанной выборки *Cx. pipiens/torrentium* проводили регрессионный анализ, рассматривая $r_{(2+3)}/r_3$ как “predictor”, а каталазную удельную активность – как “response”. Статистическая обработка выполнена в программной среде R версии 4.1.0 (R Core Team 2021).

¹ Если общий рабочий объем в кювете должен быть не менее 2 мл, то методика модифицируется путем пропорционального увеличения объемов вносимых реактивов с сохранением соотношения между реактивами, например, 2.200 мл 0.05 М К-Na-фосфатного буфера (рН 7.8), 0.060 мл водного раствора H_2O_2 (1.05 М) и затем 200 мкл разбавленного супернатанта гомогената.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Активность каталазы у *Culex pipiens/torrentium*

Каталазная активность надежно определялась в каждом индивидуальном образце кровососущего комара. В результате преинкубации образцов с 0.167 М АТ пероксид-разрушающая активность блокировалась полностью, что подтверждает ее принадлежность каталазе.

Выявлена статистически значимая прямая корреляция между активностью каталазы в гомогенатах самок комаров и величиной их морфометрического индекса $r_{(2+3)}/r_3$: при более высоком значении индекса, т.е. более характерном для *Cx. torrentium*, активность каталазы, как правило, выше; самки комаров с более низкими значениями индекса, характерными преимущественно для *Cx. pipiens*, как правило, имеют более низкую активность каталазы (Рис. 1). Коэффициент корреляции Спирмена (ρ) составил 0.606 при высоком уровне статистической значимости ($p=0.0027$). В целом морфометрический индекс у всей выборки *Cx. pipiens/torrentium* варьировал от 0.152 до 0.304, а каталазная активность – от 121.5 до 459.9 микро-моль H_2O_2 /мин / мг белка.

Если использовать регрессионный анализ и рассматривать $r_{(2+3)}/r_3$ как “predictor” (x), а каталазную удельную активность – как “response” (y), то регрессия описывается уравнением $y = -2.757 + 1061.743x$; при этом $p = 0.0019$, что свидетельствует о статистически значимом наклоне. Это, как и в случае с корреляцией, указывает на значимое различие по каталазной активности между комарами с малыми и большими значениями морфометрического индекса.

Сравнение *Anopheles maculipennis* s.l. с *Cx. pipiens* по активности каталазы

Среди самок *Culex*, собранных для сравнения с самками *A. maculipennis* s.l., были выбраны те экземпляры, которые имеют низкую величину морфометрического индекса $r_{(2+3)}/r_3$, т.е. наиболее вероятно относятся к *Cx. pipiens* (Razygraev and Sulesco 2020). Сравнение этих самок с самками *A. maculipennis* s.l. по активности каталазы показало, что зимующие *A. maculipennis* s.l., как правило, имеют более высокую активность фермента, чем зимующие *Cx. pipiens*. Законо-

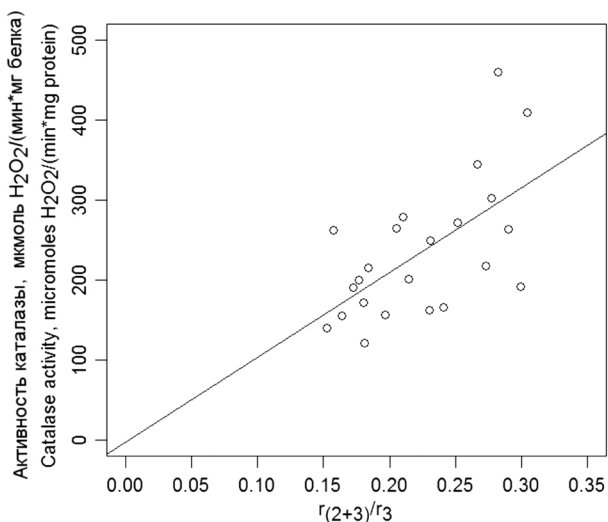


Рис. 1. Активность каталазы у зимующих самок *Culex pipiens/torrentium*. Чем выше морфометрический индекс $r_{(2+3)}/r_3$, тем более вероятно, что самка комара принадлежит виду *Cx. torrentium* и, как следует из графика, тем выше каталазная активность в гомогенате комара.

Fig. 1. Activity of catalase in overwintering females of *Culex pipiens/torrentium*. The higher values of the $r_{(2+3)}/r_3$ wing vein index, the more probable it is that mosquito female belongs to *Cx. torrentium*, and, in general, the higher catalase activity is revealed.

мерность выявляется при анализе данных, полученных на комарах, потреблявших сахарозу и вошедших в эксперимент через 9–10 сут после сборов: значения медиан (в микромолях H_2O_2 / мин / мг белка) составили 372.7 для *A. maculipennis* s.l. и 172.7 для *Cx. pipiens* ($p=0.01732$; одно выпадающее низкое значение у *A. maculipennis* s.l. включено в анализ). Закономерность сохраняется при добавлении в выборки комаров, вошедших в эксперимент через 1 сут после отлова в пещерах и без предварительного питания сахарозой, с медианными значениями 347.6 и 124.6 для *A. maculipennis* s.l. и *Cx. pipiens* соответственно ($p=0.01399$) (Рис. 2).

Так же, как у исследованных комаров из рода *Culex*, активность в гомогенатах *A. maculipennis* s.l., разрушающая пероксид водорода, полностью блокировалась в результате преинкубации гомогенатов с 0.167 М АТ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что активность каталазы

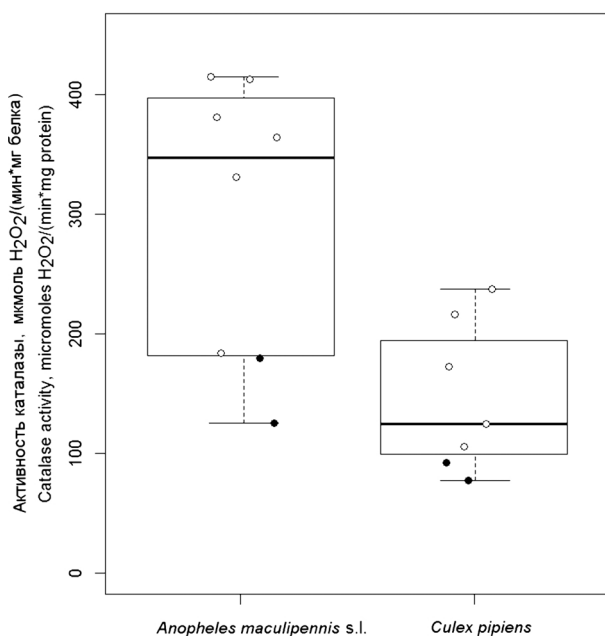


Рис. 2. Активность каталазы у зимующих самок *Anopheles maculipennis* s.l. и *Cx. pipiens*. Линия внутри бокса обозначает медиану. Нижняя и верхняя границы бокса соответствуют интерквартильному размаху (q1–q3), «усы» обозначают размах min–max. Кружки без заливки – комары, собранные в январе 2019 г., кружки с заливкой – сборы 2020 г. (январь–февраль).

Fig. 2. Activity of catalase in overwintering females of *Anopheles maculipennis* s.l. and *Cx. pipiens*. The bold line inside the box indicates the median. The bottom and the top borders of the box are the 25th and 75th percentiles (1st and 3rd quartiles). The “whiskers” are the extreme values. The open circles are the values for mosquitoes collected in January, 2019; the closed circles are the values for mosquitoes collected in January–February, 2020.

может быть очень различной у крайне сходных в морфологическом отношении видов кровососущих комаров, таких как *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium*. Статистически значимые различия по каталазной активности, обнаруженные при сравнении зимующих самок комаров *A. maculipennis* s.l. с самками, наиболее вероятно относящимися к *Cx. pipiens*, также свидетельствуют в пользу различий активности фермента среди сравнительно удаленных таксонов внутри сем. Culicidae.

Как упоминалось выше, относительное обилие *Cx. torrentium* в Европе снижается в направлении с севера на юг, что противоположно относительному обилию *Cx. pipiens*. Высокая корреляция выявлена ранее между обилием каждого из двух видов в группе *Cx. pipiens/tor-*

rentium (отрицательная для *Cx. torrentium* и положительная для *Cx. pipiens*) и длительностью вегетационного периода, который зависит от географической широты (основной фактор), географической долготы и высоты над уровнем моря (Hesson et al. 2014). В связи с фактом более высокой каталазной активности у самок *Cx. torrentium* можно предполагать большую важность этого фермента в формировании экологических требований у данного вида комаров. Поскольку теплый сезон менее продолжителен в северных широтах и горных районах (там, где *Cx. torrentium* более обилен), можно заключить, что для *Cx. torrentium*, как правило, более характерны раннее начало и большая продолжительность зимовки, чем для *Cx. pipiens*. Это согласуется с наблюдениями за лабораторной культурой *Cx. torrentium* в Швеции, в которой поиск прокормителя и откладка яиц продолжались лишь короткое время, с конца весны до середины лета, что контрастировало с поведением самок *Cx. pipiens*, у которых поиск прокормителя и откладка яиц продолжались круглый год (Hesson et al. 2014). Поскольку повышенная экспрессия каталазы критически необходима для выживания самок в зимний период и сохранения их фертильности (Sim and Denlinger 2011), более высокий уровень каталазной активности у *Cx. torrentium*, выявленный в настоящем исследовании, может являться адаптацией для более длительной зимовки. При этом снижение доли *Cx. pipiens* в группе *Cx. pipiens/torrentium* в направлении с юга на север (Hesson et al. 2014) может быть объяснено более низкой каталазной активностью у этого вида и, как следствие, в целом худшей способностью выживать и сохранять фертильность в ходе длительных и холодных зим.

Наблюдения других авторов и коллег за самками *A. maculipennis* s.l., зимующими в том числе при отрицательных температурах (Колпаков [Kolpakov] 2006; Айбулатов С.В. персональное сообщение [Aibulatov S.V., pers. com.]), позволяют предполагать их относительно высокую адаптированность к холодным условиям зимовки. Выход из диапаузы при низких температурах, близких к нулю, наблюдаемый Колпаковым (Колпаков [Kolpakov] 2006), свидетельствует об адаптированности самок *A. maculipennis* s.l. не только к зимовке, но и к активности при

сравнительно низких температурах. Также, когда в январе–феврале 2020 г. автор настоящей статьи лично наблюдал зимующих самок *A. maculipennis* s.l. в Саблинской системе пещер Жемчужная–Штаны (Razygraev 2021a), они обнаруживались только в привходовом зале пещеры Жемчужная, т.е. в наиболее прохладном месте, тогда как в пещере Штаны, где температура выше, они не обнаруживались вовсе (при высоком обилии комаров из рода *Culex* в обеих пещерах). Выбор самками *A. maculipennis* s.l. зимних убежищ, подверженных большим перепадам температур вплоть до отрицательных значений, а также выход из диапаузы при сравнительно низких температурах, согласуются с фактом более высокой активности каталазы у этих комаров, выявленной в настоящем исследовании. Этот результат является предсказуемым, учитывая, что каталаза (антиоксидантный фермент) вовлечена в механизмы стрессоустойчивости.

Каталаза содержится в крови птиц и млекопитающих, являющихся прокормителями самок кровососущих комаров. Некоторые виды кровососущих комаров, зимующие на стадии имаго, имеют прерывистую, неполную диапаузу, во время которой самки могут искать прокормителя и потреблять его кровь, что теоретически может завышать уровни каталазной активности, определяемой в гомогенатах таких комаров. Более того, известна индукция собственной каталазы в теле кровососущих комаров вследствие питания кровью (Oliveira et al. 2017). Известно, что некоторые виды группы *A. maculipennis* s.l., такие как *A. atroparvus* Van Thiel, 1927, могут питаться кровью в перерывах во время диапаузы. Прерывистая диапауза с периодами питания кровью могла бы быть объяснением выявленных в нашем исследовании повышенных уровней каталазной активности у зимующих самок *A. maculipennis* s.l. Однако, согласно Becker et al. (2010), обнаружение *A. atroparvus* в северных широтах в настоящее время маловероятно; в Ленинградской и Псковской обл. могут быть встречены такие виды комплекса *Anopheles Maculipennis*, как *A. beklemishevi* Stegnii and Kabanova, 1976, *A. messeae* Falleroni, 1926 и, по-видимому, *A. maculipennis* s.s. Meigen, 1818; все эти виды, согласно Becker et al. (2010), характеризуются полной диапаузой, т.е. не занимаются поиском прокормителя

во время зимовки. Соответственно, вызванная кровяным питанием индукция каталазы и/или завышение определяемой активности фермента у комаров *A. maculipennis* s.l., использованных в настоящем исследовании, маловероятны. Что касается преимущественно более высокой активности каталазы у *Cx. torrentium*, чем у *Cx. pipiens*, то автору представляется маловероятным, что первый из двух видов занимается поиском прокормителя в ходе зимовки. В ходе гомогенизации самок *Cx. pipiens/torrentium* автор не наблюдал ни у одной из них каких-либо следов кровяного питания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Зимующие самки комаров *A. maculipennis* s.l. и *Cx. torrentium* в целом имеют более высокие значения каталазной активности, чем таковые *Cx. pipiens*. Вероятно, высокая активность каталазы служит адаптацией для зимовки в более холодных убежищах или участках убежищ. Как показано нами ранее в опытах *in vitro* (Разыграев [Razygraev] 2021b), для величин активности каталазы комаров характерна высокая стабильность к повторным циклам замораживания–размораживания, что, возможно, свидетельствует о способности фермента сохранять свою эффективность у комаров при перепадах температуры во время зимовки.

Каталаза – не единственный эндогенный фактор, определяющий устойчивость комаров к неблагоприятным условиям во время зимовки. Факторы, связанные с увеличением продолжительности жизни, такие как FoxO, активированы во время диапаузы (Sim and Denlinger 2011, 2013). В активированном состоянии во время диапаузы находится антиоксидантный фермент супероксиддисмутаза-2 (Sim and Denlinger 2011). Белки теплового шока (Hsp70) активированы у *Cx. pipiens* при восстановлении от холодового стресса, а у других насекомых их активация может сопровождать переход в диапаузу (Rinehart et al. 2006). Холодоустойчивость также, очевидно, достигается увеличением активации генов актина и перераспределением синтезированного белка во время диапаузы (Kim et al. 2006). Для того, чтобы понимать, какие еще физиологические особенности определяют распространение разных видов комаров и их

разное обилие в регионах, целесообразно сравнение видов комаров и по другим биохимическим характеристикам.

Тем не менее, роль каталазы для обеспечения жизнеспособности и фертильности зимующих самок является весьма значимой (Sim and Denlinger 2011). В связи с этим может оказаться перспективной разработка селективных ингибиторов каталазы кровососущих комаров для регуляции их численности.

В заключение, упомянув о перспективности разработки методов борьбы с кровососущими комарами, в соответствии с пожеланиями одного из рецензентов данной статьи коротко скажем о соотношении пользы и вреда от подобных мер. Многие специалисты соглашались с тем, что кровососущие комары во многих частях мира не являются незаменимым компонентом экосистем. Они практически во всех случаях не являются опылителями, без которых невозможно обойтись, не являются они и незаменимым кормом для животных, питающихся комарами. При всем этом они – исключительно эффективные кровососы и идеальны для переноса патогенных микроорганизмов и вирусов, поэтому в том, чтобы избавляться от кровососущих комаров, многие специалисты видят только пользу. Некоторые высказывают такое мнение: «Экологический эффект от устранения вредоносных кровососущих комаров – большее число людей [на планете]» вследствие устранения переносимых комарами заболеваний, таких как малярия, которая уносит около миллиона жизней ежегодно (Fang 2010). Автор настоящей статьи считает, что средства, направленные на снижение численности кровососущих комаров, должны обладать селективным действием, т.е. быть направленными именно на антропофильные виды (или умеренно антропофильные, в числе которых – виды, рассматриваемые в этой статье), и не влиять на виды, которые не нападают на человека и не вредят его здоровью (например, *Cx. territans* Walker, 1856 и виды рода *Uranotaenia* Lynch Arribalzaga, 1891, специализирующиеся на амфибиях). В связи с этим усилия могут быть направлены на подбор таких ингибиторов жизненно важных ферментов, которые обладают разной эффективностью у разных видов и групп видов кровососущих комаров.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор признателен Вячеславу Буканову и Сергею Айбулатову (Зоологический институт РАН) за сбор *A. maculipennis* s.l. в Псковской обл. и Надежде Печниковой (Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет) за помощь при определении активности каталазы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа проведена в рамках Государственной темы 2022 г. № 122031100263-1.

ЛИТЕРАТУРА

- Becker N., Petrić D., Zgomba M., Boase C., Dahl C., Lane J. and Kaiser A. 2010. Mosquitoes and their control, 2nd ed. Springer, Berlin, 577 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-92874-4>
- Beers R.F. and Sizer I.W. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, **195**(1): 133–140. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)50881-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50881-X)
- Börstler J., Lühken R., Rudolf M., Steinke S., Meilaun C., Becker S., Garms R. and Krüger A. 2014. The use of morphometric wing characters to discriminate female *Culex pipiens* and *Culex torrentium*. *Journal of Vector Ecology*, **39**(1): 204–212. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2014.12088.x>
- Chesnokova L.S., Voinova N.E., Komkova A.I. and Lyanguzov A.Y. 1997. Quantitative protein analysis. In: V.G. Vladimirov and S.N. Lyzlova (Eds). *Enzymes and nucleic acids*. Saint Petersburg University Press, Saint Petersburg: 5–25. [In Russian].
- Fang J. 2010. A world without mosquitoes. *Nature*, **466**: 432–434. <https://doi.org/10.1038/466432a>
- Hesson J.C., Rettich F., Merdic E., Vignjevic G., Ostman O., Schäfer M., Schaffner F., Foussadier R., Besnard G., Medlock J., Scholte E.J. and Lundström J.O. 2014. The arbovirus vector *Culex torrentium* is more prevalent than *Culex pipiens* in northern and central Europe. *Medical and Veterinary Entomology*, **28**: 179–186. <https://doi.org/10.1111/mve.12024>
- Kim M., Robich R.M., Rinehart J.P. and Denlinger D.L. 2006. Upregulation of two actin genes and redistribution of actin during diapause and cold stress in the northern house mosquito, *Culex pipiens*. *Journal of Insect Physiology*, **52**(11–12): 1226–1233. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.09.007>
- Kolpakov A.D. 2006. To the characteristics and the influence of hibernation spot's ecological conditions on the

- density of diapausing malarial mosquito females (species complex *Anopheles maculipennis* Meigen, 1818). *Vestnik Udmurtskogo Universiteta, Series "Biology"*, **10**: 141–150. [In Russian].
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J. 1951.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**: 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Lundström J.O., Niklasson B. and Francy D.B. 1990.** Swedish *Culex torrentium* and *Cx. pipiens* (Diptera: Culicidae) as experimental vectors of Ockelbo virus. *Journal of Medical Entomology*, **27**: 561–563. <https://doi.org/10.1093/jmedent/27.4.561>
- Lundström J.O. 1999.** Mosquito-borne viruses in Western Europe: a review. *Journal of Vector Ecology*, **24**: 1–39.
- Oliveira J.H.M., Talyuli O.A., Gonçalves R.L., Paiva-Silva G.O., Sorgine M.H.F., Alvarenga P.H. and Oliveira P.L. 2017.** Catalase protects *Aedes aegypti* from oxidative stress and increases midgut infection prevalence of Dengue but not Zika. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **11**(4): e0005525. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005525>
- R Core Team. 2021.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <https://www.R-project.org/>
- Razygraev A.V. 2020.** A comparative study of catalase activity in *Culiseta annulata* (Schrank) and *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae). *Entomological Review*, **100**(2): 162–169. <https://doi.org/10.1134/S0013873820020037>
- Razygraev A.V. 2021a.** Difference in the distribution of overwintering female mosquitoes of the genera *Culex* and *Culiseta* (Diptera, Culicidae) in near-entrance parts of caves in relation to air temperature and humidity. *Entomological Review*, **101**(9): 1293–1303. <https://doi.org/10.1134/S0013873821090074>
- Razygraev A.V. 2021b.** A method for measuring catalase activity in mosquitoes by using ammonium molybdate and reaction medium buffered with 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid. *Parazitologiya*, **55**(4): 318–336. [In Russian]. <https://doi.org/10.31857/S0031184721040049>
- Razygraev A.V. 2022.** On longevity of adult chaoborids (Diptera, Chaoboridae) under sugar feeding conditions. *Entomological Review*, **102**(3): 279–285. <https://doi.org/10.1134/S0013873822030010>
- Razygraev A.V. and Sulesco T.M. 2020.** The use of the Bayes factor for identification of *Culex pipiens* and *C. torrentium* (Diptera: Culicidae) based on morphometric wing characters. *Entomological Review*, **100**(2): 220–227. <https://doi.org/10.1134/S0013873820020104>
- Rinehart J.P., Robich R.M. and Denlinger D.L. 2006.** Enhanced cold and desiccation tolerance in diapausing adults of *Culex pipiens*, and a role for Hsp70 in response to cold shock but not as a component of the diapause program. *Journal of Medical Entomology*, **43**(4): 713–722. <https://doi.org/10.1093/jmedent/43.4.713>
- Sim C. and Denlinger D.L. 2011.** Catalase and superoxide dismutase-2 enhance survival and protect ovaries during overwintering diapause in the mosquito *Culex pipiens*. *Journal of Insect Physiology*, **57**(5): 628–634. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.01.012>
- Sim C. and Denlinger D.L. 2013.** Insulin signaling and the regulation of insect diapause. *Frontiers in Physiology*, **4**, article 189. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00189>