


doi 10.18699/vjgb-25-25

Характеристика трех митохондриальных геномов комаров рода *Aedes* (Diptera: Culicidae) подрода *Stegomyia*

А.Г. Бега ^{1,2}, И.И. Горячева ^{1,2}, А.В. Москаев ^{1,3}, Б.В. Андрианов ² ¹ Государственный университет просвещения, Мытищи, Московская область, Россия² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия³ Российский государственный университет народного хозяйства им. В.И. Вернадского Минсельхоза Российской Федерации, Балашиха, Московская область, Россия andrianovb@mail.ru

Аннотация. Комары рода *Aedes*, подрода *Stegomyia* являются переносчиками ряда вирусов позвоночных, в том числе возбудителей арбовирусных лихорадок человека. Особый интерес представляет изучение генетических особенностей синантропных популяций видов этой группы. Мы получили, аннотировали и описали митохондриальные геномы трех видов комаров рода *Aedes*, подрода *Stegomyia*: *Ae. albopictus*, *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus*. Митохондриальные геномы *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* были получены от комаров из синантропных популяций с Дальнего Востока России. Митохондриальный геном *Ae. sibiricus* представлен нами впервые. Митохондриальный геном *Ae. albopictus* был получен для клеточной линии С6/36. Мы подобрали три комплекта праймеров для каждого из видов комаров, которые амплифицируют весь митохондриальный геном, кроме контрольной области, и отсековировали геномы методом Сэнгера. Все три новых генома имеют одинаковый порядок расположения генов. Идентифицировано 13 канонических белок-кодирующих генов, 2 гена рибосомальной РНК, 22 гена транспортной РНК. Белок-кодирующие гены имеют канонические старт- и стоп-кодоны за двумя исключениями. Канонический стоп-кодон «ТАА» неполный в генах *cox1* и *cox2*. В гене *cox1* отсутствует канонический старт-кодон для метионина. Нуклеотидная изменчивость представлена в основном точковыми нуклеотидными замещениями. Инсерции-делеции имеются в областях межгенных спейсеров. Проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей полных митохондриальных геномов всех известных видов комаров рода *Aedes*, подрода *Stegomyia*. Полученные данные позволили провести измерение соотношения синонимичных и несинонимичных замен (Ka/Ks) в конкретных белок-кодирующих генах.


Ключевые слова: инвазионный вид; митохондриальный геном; филогенетический анализ; мтДНК

Для цитирования: Бега А.Г., Горячева И.И., Москаев А.В., Андрианов Б.В. Характеристика трех митохондриальных геномов комаров рода *Aedes* (Diptera: Culicidae) подрода *Stegomyia*. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(2):219-229. doi 10.18699/vjgb-25-25

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-44-10003, <https://rscf.ru/project/24-44-10003/> «Генетический и экологический анализ популяций малярийного комара *Anopheles plumbeus* как важного потенциального переносчика трансмиссивных заболеваний в Российской Федерации и Республики Беларусь». Проект реализуется научным коллективом совместно с зарубежным научным коллективом, отобранным Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (БРФФИ), грант № Б23РНФМ-068.

Вклад авторов. Все авторы внесли равный вклад в исследование.

Mitochondrial genome variation of mosquito species in the subgenus *Stegomyia* of the genus *Aedes* (Diptera: Culicidae)

A.G. Bega ^{1,2}, I.I. Goryacheva ^{1,2}, A.V. Moskaev ^{1,3}, B.V. Andrianov ² ¹ Federal State University of Education, Mytishchi, Moscow Region, Russia² Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia³ Vernadsky Russian State University of National Economy, Balashikha, Moscow Region, Russia andrianovb@mail.ru

Abstract. Mosquitoes in the subgenus *Stegomyia* of the genus *Aedes* are vectors of a number of vertebrate viruses, including human arboviral fevers. Of particular interest is the study of the genetic characteristics of invasive populations of species in this group. We obtained, annotated and described the mitochondrial genomes of three *Stegomyia* mosquito species of the genus *Aedes*: *Ae. albopictus*, *Ae. flavopictus* and *Ae. sibiricus*. The mitochondrial genomes of *Ae. flavopictus* and *Ae. sibiricus* were obtained from mosquitoes from synanthropic populations in the Russian Far East. The mitochondrial genome of *Ae. sibiricus* is presented for the first time. The mitochondrial genome of

Ae. albopictus was obtained for the C6/36 cell line. We selected three primer sets, for each mosquito species, that amplify the entire mitochondrial genome except for the control region and sequenced the genomes using the Sanger method. All three new genomes have an identical gene order. We identified 13 canonical protein-coding genes, 2 ribosomal RNA genes, and 22 transport RNA genes. Protein-coding genes have canonical start and stop codons with two exceptions. The canonical stop codon "TAA" is incomplete in the *cox1* and *cox2* genes. The *cox1* gene lacks the canonical start codon for methionine. Nucleotide variability is mainly represented by point nucleotide substitutions. A phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of complete mitochondrial genomes of all known mosquito species in the subgenus *Stegomyia* of the genus *Aedes* was performed. The data obtained made it possible to measure the ratio of synonymous to non-synonymous substitutions (Ka/Ks) in specific protein-coding genes.

Key words: invasive species; mitochondrial genome; phylogenetic analysis; mtDNA

For citation: Bega A.G., Goryacheva I.I., Moskaev A.V., Andrianov B.V. Mitochondrial genome variation of mosquito species in the subgenus *Stegomyia* of the genus *Aedes* (Diptera: Culicidae). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(2):219-229. doi 10.18699/vjgb-25-25

Введение

Комары, принадлежащие к роду *Aedes*, подроду *Stegomyia*, являются основными переносчиками лихорадки денге, желтой лихорадки и других инфекций, вызываемых арбовирусами, по всему миру (Weetman et al., 2018). Наибольший интерес и практическое значение представляют инвазионные виды комаров из этой группы, образующие плотные синантропные популяции. *Aedes albopictus* Skuse, 1894 – инвазионный вид родом из Юго-Восточной Азии, который за последние 50 лет расселился на все континенты, за исключением Антарктиды (Medlock et al., 2012). В Российской Федерации этот вид обитает на юге европейской части страны. Изучение его генетической изменчивости в России в основном базируется на анализе баркод-фрагмента mitochondrialного гена *cox1* (Федорова и др., 2019; Bega et al., 2022).

Подрод *Stegomyia* в России представлен еще тремя видами комаров, обитающими на Дальнем Востоке и в Сибири: *Aedes flavopictus* Yamada, 1921, *Aedes sibiricus* Danilov & Filippova, 1978 и *Aedes galloisi* Yamada, 1921. Эти три вида считаются аборигенными лесными, что подтверждается сравнительным анализом генетической структуры популяций *Ae. albopictus* и *Ae. flavopictus* с Корейского полуострова (Shin, Jung, 2021). Ранее *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* не формировали плотных популяций на Дальнем Востоке и были найдены лишь в единичных экземплярах (Гуцевич и др., 1970). В последнее время стали появляться сообщения о встрече этих видов на урбанизированных территориях (Берлов, Куберская, 2021; Берлов и др., 2021). Нами были получены данные о расширении ареала и формировании плотных синантропных популяций *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* на Дальнем Востоке России, что, вероятно, свидетельствует о начале формирования инвазионных популяций этих видов (Bega et al., 2022).

В данном сообщении мы представляем результаты секвенирования mitochondrialных геномов представителей потенциально инвазионных популяций *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* и mitochondrialного генома клеточной линии *Ae. albopictus* C6/36, а также филогенетический анализ полученных последовательностей.

Митохондриальный геном *Ae. albopictus* уже хорошо охарактеризован, но некоторые моменты до сих пор остаются спорными. Так, mitochondrialные геномы комаров с острова Тайвань, в том числе геном, являющийся рефе-

ренсным (ID NC_006817), имеют сдвиги рамок считывания и аномальные стоп-кодона. Это может быть связано с тем, что особь была взята из уникальной островной и предположительно нативной популяции, однако может являться следствием включения в митохондриальный геном ядерных копий митохондриальных генов, или Numts. Некоторые последовательности митохондриальных геномов *Ae. albopictus*, представленные в GenBank, имеют делеции и поли(А) спейсеры (Battaglia et al., 2016; Ze-Ze et al., 2020). Особенности митохондриального генома клеточной культуры *Ae. albopictus* ранее не изучались. Культура C6/36 была получена от комаров, место отлова которых точно неизвестно (Singh, 1967). К настоящему времени культура пассируется в лаборатории более 50 лет. В условиях клеточной культуры, при постоянной температуре и избытке питательных веществ, клетки не испытывают тех факторов отбора, которым подвергаются природные популяции комаров. Получение митохондриального генома клеточной культуры C6/36 представляет интерес, так как показывает, какие именно митохондриальные гены испытывают давление отбора в природных популяциях. На момент подготовки данной статьи в GenBank NCBI были размещены только две последовательности митохондриальных геномов *Ae. flavopictus* – NC_050044 и MT501510 из южной части ареала вида. Полученный нами геном представляет ранее не охарактеризованную северную часть ареала. Митохондриальный геном *Ae. sibiricus* получен в данном исследовании впервые. В GenBank NCBI имелся один митохондриальный геном для близкого вида *Ae. galloisi*. Последовательности, полученные в настоящем исследовании, могут быть использованы в дальнейшем при изучении генетических особенностей комаров подрода *Stegomyia*.

Материалы и методы

Сбор образцов и видовая идентификация. Выборки комаров были собраны на территории Дальнего Востока России летом 2020 г. Мы отловили *Ae. flavopictus* в г. Хабаровске, *Ae. sibiricus* в г. Свободном Амурской области. Клон C6/36 *Aedes albopictus* – коммерчески доступная клеточная линия комаров, выделенная из личинки этого вида (Singh, 1967). Идентификацию видов по морфологическим признакам проводили в соответствии с ключами в определителях (Гуцевич и др., 1970; Tanaka, 1979; Ree, 2003).

Отдельно следует оговорить таксономический статус комара, определенного нами как *Ae. sibiricus*. Не все вышеуказанные определители включают информацию о выделении вида *Ae. sibiricus* из ранее описанного *Ae. galloisi* (Данилов, Филиппова, 1978). Мы использовали ключи для идентификации этих видов по окраске лапок и по строению гипопигия самцов (Данилов, Филиппова, 1978; Полторацкая, Мирзаева, 2013). В настоящее время вид *Ae. sibiricus* включен в каталог кровососущих комаров мира “Mosquitoes of the World” (Wilkerson et al., 2021), однако его описание опубликовано только на русском языке, в связи с чем *Ae. sibiricus* отсутствует в таксономической базе данных GenBank.

Выделение ДНК и секвенирование митохондриального генома. Тотальную ДНК выделяли из отдельных особей имаго комаров. Каждый экземпляр гомогенизировали в растворе для лизиса. Лизирующий раствор имел состав: 500 mM Tris-EDTA pH = 8.0, 100 мкг/мл Proteinase K, 1 % Sodium N-lauroylsarcosinate, 100 mM NaCl. Лизис проводился при 50 °C в течение 3 ч. После завершения лизиса ДНК экстрагировали фенолом. Фенол находится в верхней фазе. К полученному раствору ДНК добавляли два объема воды, затем ДНК осаждали изопропиловым спиртом. После очистки ДНК растворяли в деионизированной воде.

Митохондриальные геномы амплифицировали с помощью набора реактивов Encyclo Plus PCR kit («Евроген», Россия) и секвенировали по методу Сэнгера. Праймеры были подобраны нами с помощью программы Primer3 (Rozen, Skaletsky, 2000) на основе митохондриального генома *Ae. albopictus*, опубликованного в работе (Battaglia et al., 2016). ПЦР амплификацию для всех подобранных нами пар праймеров проводили при температуре отжига 58 °C. Перечень использованных нами праймеров представлен в табл. 1–3.

Биоинформационный анализ. Для выявления митохондриальных генов мы анализировали последовательности с помощью программы BLAST. Стартовые и стоп-кодона открытого рама считывания определяли путем сравнения со стартовыми и стоп-кодонами ортологичных белок-кодирующих генов в GenBank. Филогенетический анализ выполняли в программе MEGA7 (Kumar et al., 2016). Выравнивание последовательностей, полученных в результате секвенирования, с последовательностями в базах данных проводили с использованием ресурсов NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Применяли алгоритм множественного выравнивания последовательностей Clustal W (Thompson et al., 1994). Кольцевой митохондриальный геном визуализировали с помощью программы Chlogoplots (Zheng et al., 2020). Алгоритм расчета отношения Ka/Ks описан в работе (Wang D. et al., 2011). Расчет проводился с помощью программного обеспечения KaKs_Calculator (Zhang Z. et al., 2006) с использованием простого метода корректировки замен (NG) (Nei, Gojobori, 1986). Если длина сравниваемой последовательности ДНК равна n , а количество замен между сравниваемыми последовательностями равно m , то для расчета величин Ka и Ks определялось количество синонимичных (S) и несинонимичных (N) сайтов ($S + N = n$) и количество синонимичных (Sd) и несинонимичных (Nd) замен ($Sd + Nd = m$).

Тогда после введения коррекции на наличие множественных замен (Nd/N) и (Sd/S) можно определить наблюдаемое число синонимичных замен на синонимичный сайт, число несинонимичных замен на несинонимичный сайт и их отношение. Таким образом, расчет включал три шага: подсчет S и N, подсчет Sd и Nd и коррекцию множественных замен. Дистрибутив программы находится по ссылке: <https://ngdc.cncb.ac.cn/biocode/tools/BT000001>.

Результаты

Организация полученных митохондриальных геномов

Митохондриальные геномы трех видов комаров рода *Aedes*, подрода *Stegomyia* (*Ae. albopictus*, *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus*) идентичны друг другу по порядку генов и сходны по нуклеотидной последовательности. Длина митохондриального генома без учета длины контрольных областей: *Ae. albopictus* – 14900 п. н., *Ae. flavopictus* – 14893 п. н., *Ae. sibiricus* – 14886 п. н. Нуклеотидная изменчивость представлена точечными нуклеотидными заменами. При сравнении митохондриальных геномов *Ae. albopictus* и *Ae. flavopictus* величина нуклеотидной дивергенции минимальна (5.74 %). Максимальная степень нуклеотидной дивергенции наблюдается при сравнении нуклеотидных последовательностей митохондриальных геномов *Ae. albopictus* и *Ae. sibiricus* (7.51 %). Митохондриальные геномы *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* различаются на 6.62 %. Все три митохондриальных генома имеют сильное смещение $A + T = 78.4$ %, что типично для митохондриальных геномов двукрылых.

Идентифицированы 13 канонических белок-кодирующих генов (БКГ), 2 гена рибосомальной РНК, 22 гена транспортной РНК. Все БКГ имеют канонические старт- и стоп-кодона за двумя исключениями. Канонический стоп-кодон «ТАА» неполный в генах *cox1* и *cox2*. Предполагается, что отсутствующее основание «А» дополняется в ходе процессинга РНК. Кроме того, в гене *cox1* отсутствует канонический старт-кодон для метионина. Тяжелая нить (J-strand) содержит 22 гена, включая 9 БКГ и 13 генов тРНК. Остальные 15 генов (4 БКГ, 2 рРНК и 9 тРНК) кодируются на легкой нити (N-нити). Кольцевая генетическая карта митохондриального генома *Ae. sibiricus* представлена на рис. 1.

Филогенетический анализ

Филогенетический анализ полученных нами нуклеотидных последовательностей митохондриальных геномов комаров со всеми доступными последовательностями митохондриальных геномов *Ae. albopictus*, *Ae. flavopictus*, *Ae. aegypti* и *Ae. galloisi*, зарегистрированными в GenBank, представлен на рис. 2. Регион сравнения включал весь митохондриальный геном, за исключением контрольного региона.

Виды *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* и *Ae. flavopictus* образуют независимые кластеры с высокими значениями бутстреп-поддержки. Митохондриальный геном клеточной линии C6/36 кластеризуется с митохондриальными геномами *Ae. albopictus* из инвазионной части ареала вида. *Ae. sibiricus* и *Ae. galloisi* кластеризуются совместно.

Таблица 1. Список праймеров, использованных для получения последовательности нуклеотидов полного митохондриального генома клеточной культуры C6/36 *Ae. albopictus*

Имя праймера	Последовательность 5'→3'	Локализация на последовательности GenBank ID: OQ145430	Длина ПЦР фрагмента, п. н.
G1_18L	aatgaatgcctgataaaaagga	1–23	711
G1_18R	tgatttaactcctccaaatgc	711–692	
G4_5L	ttctataattattggggcatttgg	676–699	941
G4_5R	aaaagcatgagcagtaacaattaca	1617–1596	
G1_16L	ctggaatagtcggaactcactaag	1505–1529	986
G1_16R	cggttaatccccaactgta	2491–2472	
G1_15L	gccctgcacttttatgatcttt	2432–2453	919
G1_15R	tcattgatggccaataactttt	3351–3330	
G1_14L	tgccatcaatgatattgaagtta	3339–3362	812
G1_14R	gaatcgattaggtattaatcaaatgt	4160–4134	
G1_13L	ttggtcttttaattatcccatcaac	4111–4135	854
G1_13R	ttccccatcgtaactcctaag	4965–4945	
G1_12L	tcgagaaggaacatttcaagg	4904–4924	895
G1_12R	ttggtaaattaaagcaatttctacat	5799–5773	
G1_12-11L	tgtgactccaatcacaagga	5528–5548	653
G1_12-11R	tgttgatcaagaaaaagctgcta	6181–6159	
G1_11L	tcatgaatgaaatcaaggagca	5885–5906	619
G1_11R	caagggtgaagagaatatttgg	6504–6482	
G1_10L	ttgaaactcttgacataataatgaa	6423–6448	1027
G1_10R	tgctcctactcctgtttctgc	7450–7430	
G1_9L	gaatgaactaaagcagaacagga	7418–7441	560
G1_9R	tttattgaatgagaagttgttcttt	7978–7952	
G1_9-8L	tcaccaattcgattagaagagc	7631–7653	622
G1_9-8R	tcttcaggaagaagtcgagaattt	8253–8230	
G3_1L	aaaaattctcgacttctcctga	8228–8250	715
G3_1R	ttgtgatgggtggtgctttt	8943–8922	
G1_7L	agttgcctcaacatgagctt	8860–8879	858
G1_7R	gacgaaaacatcttctgtacatt	9718–9694	
G1_6L	cagagaagatgtttctgtagaaata	9700–9726	840
G1_6R	cccaataatgatccaaaattca	10540–10562	
G1_5L	ttcagcctgatgaaatttgg	10530–10550	944
G1_5R	ggtcgagctccaattcatgt	11474–11455	
G1_4L	tgaattggagctcgacctgt	11458–11477	810
G1_4R	ggggtttatactgtaatagttgctgga	12268–12242	
G1_4-3L	ccttcagcaaatcaaaagga	11994–12014	515
G1_4-3R	tcaaatcgtaaggggacctca	12509–12490	
G3_2L	taggcccttacgaatttga	12490–12509	788
G3_2R	taaagggccgcagtatttgg	13287–13268	
G1_2L	ctcattcaaccattcatacaagc	13204–13226	853
G1_2R	gaaaagaaattgtgcaaatcaa	14057–14035	
G1_1L	tgatttgcaaaattcttttca	14036–14058	679
G1_1R	ccagctaccggttataca	14715–14696	
G5_1L	ttgtataaccgcggtagctg	14695–14714	520
G5_1R	tgatgcttctaggaagaaatgaa	15215–15193	

Таблица 2. Список праймеров, использованных для получения последовательности нуклеотидов полного митохондриального генома *Ae. flavopictus*

Имя праймера	Последовательность 5'→3'	Локализация на последовательности GenBank ID: OQ145431	Длина ПЦР фрагмента, п. н.
G1_18fL	aatgaagcccccgataaaaagga	1–23	710
G1_18fR	tggtttaatcctccaaatgc	710–691	
G1_17fL	ttacttctataattattggagcattt	670–696	898
G1_17fR	aaatatccctgaatgtctaagttcagt	1568–1542	
G1_16fL	ctggaatagtaggaacttcttaag	1504–1528	986
G1_16fR	cagttaatcctccaacgta	2490–2471	
G1_15fL	gccctgctttattgtgatcttt	2431–2452	919
G1_15fR	tcattgatgcccaataaccttt	3350–3329	
G1_14fL	tgggcatcaatgatactgaagta	3338–3361	812
G1_14fR	aaatcgattaggtattaatcagaatgt	4159–4133	
G3_14fL	ttggtcttttaattattcctcaaca	4110–4135	831
G3_3R	ggtcttcatacaatccccgt	4941–4922	
G3_3L	tcgagaaggaacatttcaagg	4903–4923	895
G1_12fR	taggtaaaattaagcaatttctacat	5798–5772	
G1_12-11L	tgtgacttccaatcacaagga	5527–5547	656
G1_12-11R	tgttgatcaagaaaagctgcta	6183–6161	
G1_11fL	ccatgaatgaaatcaaggagca	5884–5905	622
G1_11fR	caaggatgaagcgaatatttgg	6506–6484	
G1_10fL	tttgaactcttggacataataagaa	6425–6450	1027
G1_10fR	agcaccaacacctgttctgc	7452–7432	
G1_9fL	gaatgaactaagcagaacaggt	7420–7443	513
G1_9fR	ttttattgaatgggaaattgttcttt	7980–7954	
G1_9-8fL	tctacaattcgattagaagagc	7633–7655	622
G1_9-8fR	tcttcaggaagagttcgggaattt	8255–8232	
G3_4fR	tcatatcattgacaccacaatca	8106–8129	560
G3_4L	tctgttgctcatatgggtattgtt	8666–8643	
G4_6L	ttcgtcttctattcgcctca	8513–8532	794
G4_6R	gtttttggattgtggttaatttt	9307–9283	
G4_7L	aaaattaaaccacaatccaataaa	9283–9306	612
G4_7R	ttgggagttaatgaaaaggaa	9895–9874	
G4_8L	ttcctttcattaactcccaag	9874–9896	817
G4_8R	tcgtaaaaatcaaccattatttcatc	10691–10665	
G1_5fL	ttcagcctgatgaaattcgg	10532–10552	944
G1_5fR	ggctgggctccaattcatgt	11476–11457	
G1_4fL	tgaattggagcccgcctgt	11460–11479	789
G1_4fR	ggggttatactgtaatagttgctggg	12265–12239	
G1_4-3L	ccttcagcaaaaatcaaaagga	11991–12011	515
G1_4-3fR	tcaaatcgtaaagggccaa	12506–12487	
G1_3fL	tgttccttagtaaataacttcacagca	12420–12446	809
G1_3R	tgaaggcttgatgaatggttg	13229–13208	
G1_2L	ctcattcaaccattcatacaagc	13202–13224	829
G1_2R	gaaaagaaattgtgcaaatcaa	14058–14036	
G1_1L	tgattgcacaaaatttctttca	14037–14059	675
G1_1R	ccagctaccggttataca	14712–14693	
G5_2L	gctggcacaattttaccaata	14708–14729	1000
G5_2R	cctatgggtcctaaatgaagaaaa	15684–15707	

Таблица 3. Список праймеров, использованных для получения последовательности нуклеотидов полного митохондриального генома *Ae. sibiricus*

Имя праймера	Последовательность 5'→3'	Локализация на последовательности GenBank ID: OQ145432	Длина ПЦР фрагмента, п. н.
G1_18sL	aatgaattgcccgataaaaagga	1–23	706
G1_18R	tgatttaatcctccaaatgc	706–687	
G4_4L	tggagcatttggaggattaaa	683–703	599
G4_4R	caaatatttccagcttgaaggctat	1282–1257	
G3_5L	aactaatagcctcaagctgaaa	1252–1275	417
G3_5R	tcaattccaatcctccaa	1669–1650	
G3_6L	ttcgaacagaacttagtcatccag	1536–1559	919
G3_6R	tcctaaagatcataaagagcagga	2455–2431	
G1_15sL	gtcctgctctttatgatcttt	2430–2451	919
G1_15sR	tcattgatgaccaataactttt	3349–3328	
G3_7L	ttgaaacaatttaccagcaatta	3228–3251	881
G3_7R	agttgaaggaataataaagaccaa	4109–4134	
G3_8L	tgtatttgaccctcaactactatttt	4050–4077	700
G3_8R	ctactaagtgaaggggtgatttg	4750–4727	
G3_9L	gtcaacacacgcaaatcacc	4716–4735	810
G3_9R	tccttgattggaagtcatatatac	5546–5521	
G1_12-11L	tgtgactccaatcacaagga	5526–5546	657
G1_12-11sR	tggtgatcaagaaaagctgcta	6183–6161	
G1_11L	tcatgaatgaatcaaggagca	5883–5904	614
G1_11sR	caaggatgaagagaatatttgg	6497–6475	
G3_10L	ctctcatccttgatcaaatcc	6485–6507	959
G3_10R	cagccctactcctgtttca	7444–7425	
G1_9sL	gaatgaactaaagctgaaacagga	7411–7434	560
G1_9sR	ttttattgaatgagaaattgatcttt	7971–7945	
G1_9-8sL	tctcaatacgattagataaagc	7624–7646	622
G1_9-8sR	tcttcagggagaacccgagaattt	8246–8223	
G3_11L	aattctcgggttctcctga	8224–8243	897
G3_11R	tttgaagaagcttaattcctacatt	9121–9147	
G4_2L	ctgcttgtaaagcttcaggct	9074–9094	816
G4_2R	aacttgggagttaaagaaaaggaa	9890–9866	
G4_3L	cttcttttcttaactcccaaag	9865–9888	818
G4_3R	tcgtaaaaatcaaccattttatcatc	10683–10657	
G1_5sL	ttcagcttgatgaaatttgg	10524–10544	944
G1_5sR	ggtcgagctccaattcagggt	11468–11449	
G1_4sL	tgaattggagctcgaccagt	11452–11471	808
G1_4R	ggggtttatactgtaatagttgctgga	12260–12234	
G1_4-3sL	ccttcagcaaaaatcaaaaggt	11986–12006	515
G1_4-3sR	tcaaatcggaaaggccta	12501–12482	
G1_3sL	tgttcttagtaataactcacagca	12415–12441	807
G1_3R	tgaaggcttgatgaatgggtg	13222–13201	
G3_12L	caaccattcatacaagccttca	13201–13222	849
G3_12R	gaaaagaaatttggcaaatcaa	14050–14028	
G1_1L	tgattgcacaaattcttttca	14029–14051	676
G1_1R	ccagctaccgcggttataca	14705–14686	
G5_3L	ttgtataaccgcggtagctg	14685–14704	358
G5_3R	gggggtatttttaataaggcaattt	15043–15019	

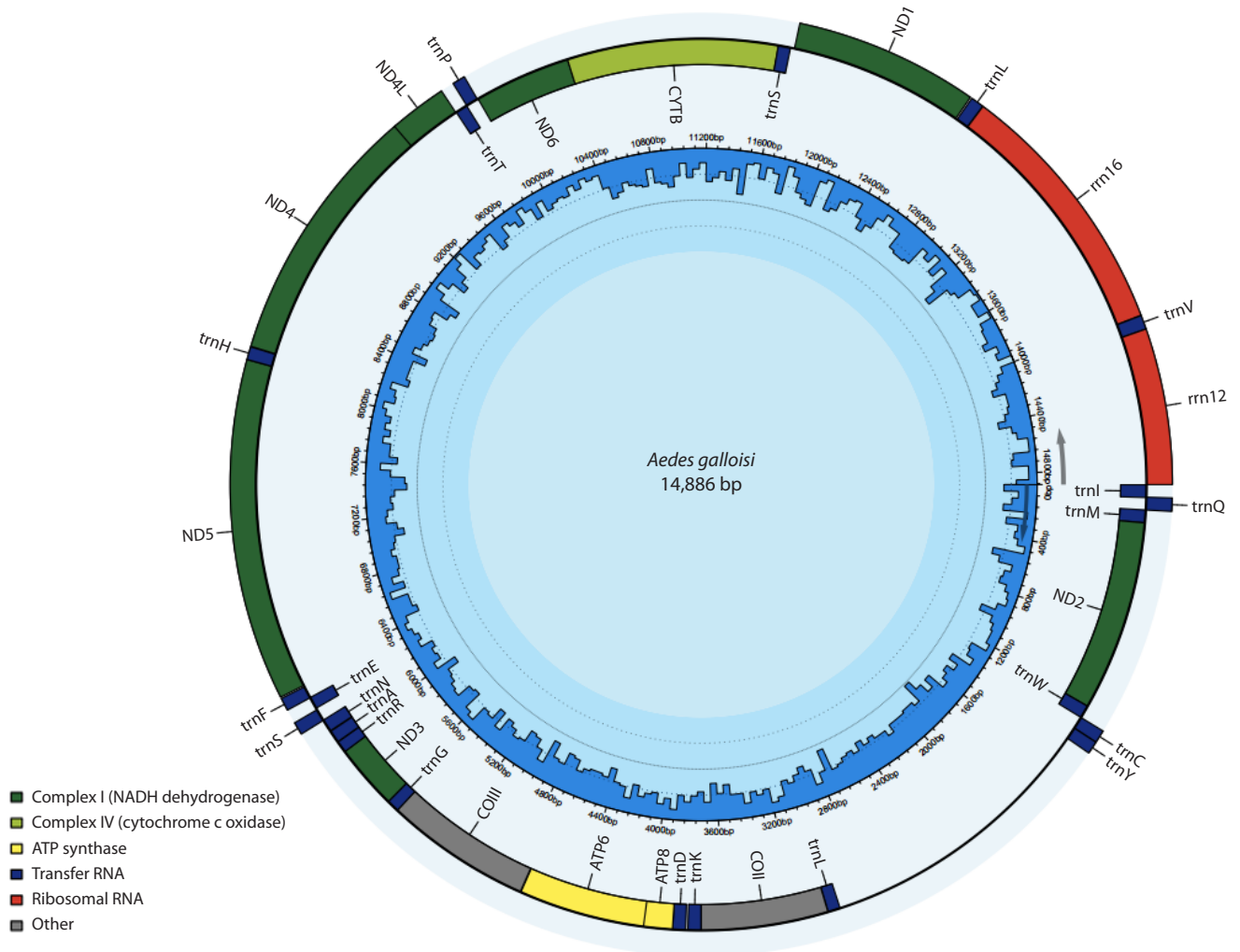


Рис. 1. Митохондриальный геном *Ae. sibiricus* без контрольного участка, расположенного между 125 рРНК и тРНК-IIe.

Нуклеотидная последовательность зарегистрирована в базе данных GenBank под номером OQ145432. Геном зарегистрирован как *Ae. galloisi* в силу того, что разделение близкородственных видов *Ae. galloisi* и *Ae. sibiricus* пока не является общепризнанным, а вид *Ae. sibiricus* еще не представлен в систематической базе данных GenBank. Мы считаем правильным видовым именем собранных комаров *Ae. sibiricus*.

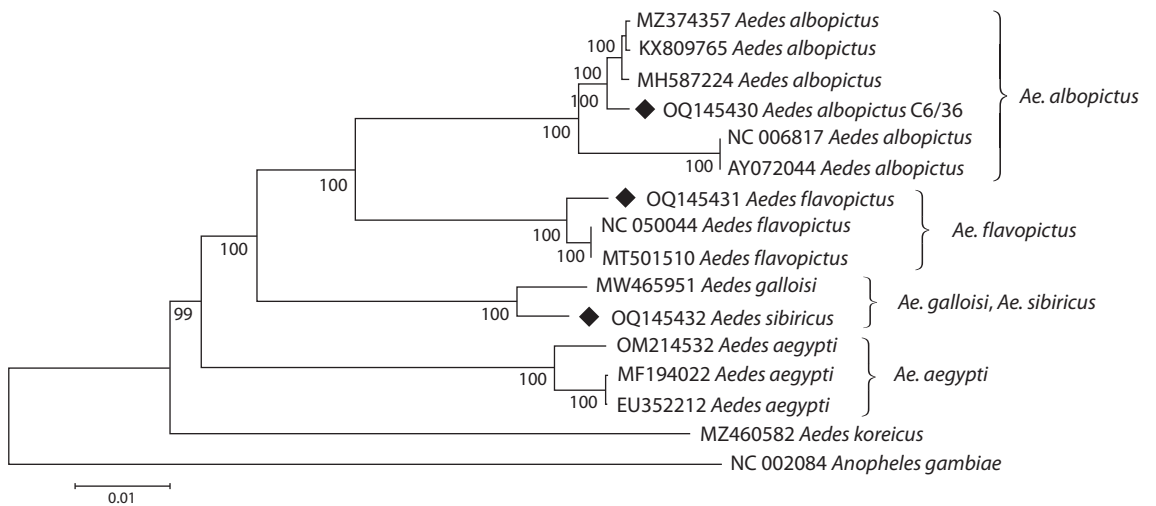


Рис. 2. NJ-дендрограмма полных митохондриальных геномов.

Дендрограмма построена методом максимального правдоподобия. Длина ветвей выражена в числе замен оснований на сайт. Значения бутстреп-поддержки показаны рядом с узлами (10000 реплик). В качестве внешней группы использовались полные митохондриальные геномы *Ae. koreicus* и *Anopheles gambiae*. Митохондриальные геномы, полученные в данном исследовании, отмечены ромбом. Нуклеотидные последовательности зарегистрированы в базе данных GenBank с номерами OQ145430–OQ145432.

Анализ изменчивости белок-кодирующих генов

Мы провели расчет величины отношения частоты точечковых нуклеотидных замен (Ka/Ks), приводящих к изменению аминокислотной последовательности (несинонимичные замены, Ka) или не приводящих к изменению аминокислотной последовательности белка (синонимичные замены, Ks), для белок-кодирующих генов при попарном сравнении митохондриальных геномов, полученных в данном исследовании: *Ae. albopictus* и *Ae. sibiricus*, *Ae. albopictus* и *Ae. flavopictus*, *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* (рис. 3). Изучаемые нами виды комаров являются близкородственными, ареалы их обитания имеют краевые пересечения, но центры видовых ареалов относятся к разным природно-климатическим зонам. *Ae. albopictus* приурочен главным образом к тропическому и субтропическому климатическому поясу, *Ae. flavopictus* и *Ae. sibiricus* – к умеренному климатическому поясу. При этом *Ae. flavopictus* превалирует в зонах мусонного климата, а *Ae. sibiricus* – в зонах резко континентального климата. Такое попарное сравнение БКГ призвано выявить различия, которые могут быть адаптивно значимы в условиях обитания разных видов комаров. Величины на рис. 3 ранжированы по убыванию на основе сравнения *Ae. albopictus* и *Ae. sibiricus*.

Соотношение Ka/Ks во всех попарных сравнениях не превышает 0.25, что свидетельствует о сильном стабилизирующем отборе (Yang, Bielawski, 2000; Guo et al., 2021; Xing et al., 2022). Наиболее изменчивыми генами при сравнении *Ae. albopictus/Ae. sibiricus* и *Ae. albopictus/Ae. flavopictus* являются *nd4*, *nd6* и *atp8*. Наиболее консервативные гены – *nd1*, *atp6*, *nd41*, *cox1*.

Помимо межвидовых сравнений, мы провели внутривидовые попарные сравнения, чтобы оценить внутривидовую изменчивость митохондриальных БКГ. Для этого мы сравнили митохондриальный геном клеточной культуры C6/36 *Ae. albopictus*, полученный в данном исследовании, с геномом *Ae. albopictus* из Китая (GenBank ID MH587224), митохондриальный геном *Ae. flavopictus* с геномом *Ae. flavopictus* из Японии (GenBank ID NC050044), а митохондриальный геном *Ae. sibiricus* с геномом *Ae. galloisi* из Японии (GenBank ID MW465951). Величины отношения Ka/Ks приведены на рис. 4. Порядок расположения генов идентичен с порядком ранжирования генов на рис. 3.

Внутри вида *Ae. flavopictus* самые высокие значения величины Ka/Ks наблюдались в генах *nd5*, *nd6*, *cox1*, *cytb*. Гены *atp8*, *cox2*, *nd3*, *cox3*, *nd1*, *atp6* и *nd41* характеризуются низкой суммарной нуклеотидной изменчивостью. При сравнении митохондриальных геномов кома-

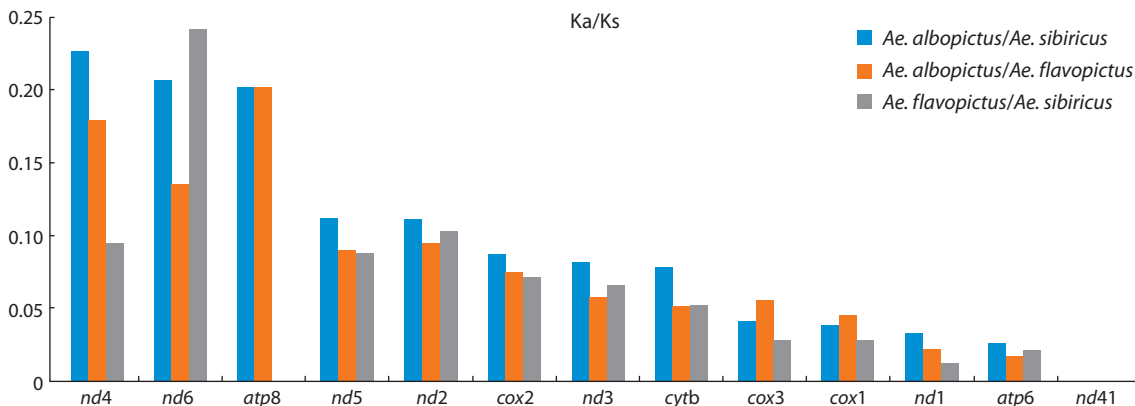


Рис. 3. Соотношение Ka/Ks в белок-кодирующих митохондриальных генах.

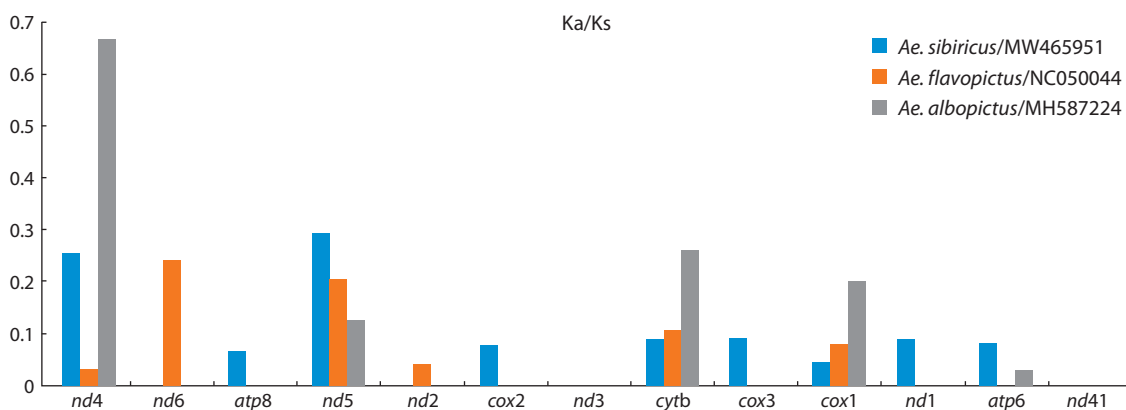


Рис. 4. Попарные внутривидовые сравнения нуклеотидной изменчивости по величине отношения Ka/Ks митохондриальных белок-кодирующих генов.

ров *Ae. albopictus* из природной популяции и из клеточной культуры С6/36 (Singh, 1967) наибольшее соотношение Ка/Ks наблюдается в генах *nd4*, *cytb*, *cox1*, *nd5*. Экстремально высокая изменчивость в этой паре митохондриальных геномов обнаружена в гене *nd4*. Минимальная изменчивость у *Ae. albopictus* характерна для генов *nd6*, *atp8*, *nd2*, *cox2*, *nd3*, *cox3*, *nd1*, *nd4l*. При сравнении митохондриальных БКГ *Ae. sibiricus* и *Ae. galloisi* высокие значения величины Ка/Ks наблюдались в генах *nd4*, *nd5*, *atp8*, *cox2*, *cytb*, *cox3*, *nd1*, *cox1*, *atp6*. Консервативными были гены *nd6*, *nd2*, *nd3*, *nd4l*.

Обсуждение

Организация полученных митохондриальных геномов

Полученные в нашем исследовании значения нуклеотидной дивергенции между тремя близкородственными видами комаров сопоставимы между собой и соответствуют географическому распространению видов в Восточной Азии. *Ae. albopictus* – наиболее теплолюбивый вид, характерный для Китая и южной Азии, *Ae. sibiricus* – самый северный, в то время как *Ae. flavopictus* занимает среднее положение (Bega et al., 2022).

Применение молекулярно-генетических маркеров для определения видов комаров основано на использовании порогового уровня допустимой внутривидовой изменчивости данного маркера. Этот порог для каждого маркера и каждой систематической группы насекомых определяется эмпирически (Zhang H.G. et al., 2017). Так, у многих групп насекомых пороговый уровень внутривидовой нуклеотидной изменчивости BOLD-фрагмента митохондриального гена *cox1* равен 3 % (Hebert et al., 2003). Внутривидовая изменчивость комаров *Anopheles hyrcanus* s. l. на территории Дальнего Востока России варьировала в пределах от 0.36 до 1.09 %, межвидовая – от 2.34 до 4.50 % (Khrabrova et al., 2015). В среднем по баркод-фрагменту *cox1* внутривидовая изменчивость комаров в Китае равнялась 0.39 % (Wang G. et al., 2012). Для полных митохондриальных геномов уже накоплено много информации, однако нет общепринятых количественных обобщений.

Филогенетический анализ

Опубликованные к настоящему времени митохондриальные геномы *Ae. albopictus* можно разделить на две группы. Первая группа была обнаружена на острове Тайвань (предположительно, нативный ареал вида). Геномы из второй группы обнаружены у комаров из инвазионной части ареала (Battaglia et al., 2016). Митохондриальный геном клеточной линии *Ae. albopictus* С6/36 кластеризуется с геномами, относящимися ко второй инвазионной группе. Кластеризация, полученная при анализе полных митохондриальных геномов, сходна с таковой, полученной в предыдущих исследованиях по BOLD-фрагменту гена *cox1* (Bega et al., 2022).

Анализ изменчивости белок-кодирующих генов

Давление отбора на белок-кодирующие гены можно оценить, определив в них отношения Ка/Ks. Мы провели такое сравнение на межвидовом уровне, сравнив между собой геномы, полученные в данном исследовании. Наи-

более высокие значения Ка/Ks во всех БКГ, кроме *nd6*, *cox1*, *cox3*, наблюдались при сравнении *Ae. albopictus*/*Ae. sibiricus*. Такой результат хорошо согласуется с различием экологических ниш этих видов. Чем больше между видами различий в местообитании, тем больше значимых замен в БКГ. Распределение величины Ка/Ks от большего значения к меньшему внутри БКГ в целом было сходно во всех трех попарных сравнениях, за исключением отдельных особенностей. Так, при сравнении видов *Ae. flavopictus*/*Ae. sibiricus* в одной географической зоне Дальнего Востока России соотношение Ка/Ks для гена *nd4* существенно ниже, а для *atp8* вовсе не найдено нуклеотидных замен. При расчете частоты замен, нормированных на один нуклеотид, мы можем заключить, что ген *atp8* у комаров подрода *Stegomyia* характеризуется более низкой частотой нуклеотидных замещений, чем другие белок-кодирующие митохондриальные гены. Большая величина отношения Ка/Ks в гене *atp8* по сравнению с другими белок-кодирующими митохондриальными генами была показана при сравнении двух видов чешуекрылых рода *Gynaephora*, обитающих в разных высокогорных средах (Zhang B. et al., 2021): наездников (Xing et al., 2022) и комаров рода *Anopheles* (Guo et al., 2021). Вероятно, это связано с отсутствием строгих ограничений, накладываемых на первичную структуру функционального белка *atp8*. В генах *nd1*, *atp6*, *nd4l*, *cox1* суммарная частота нуклеотидных замен сопоставима с частотой по другим митохондриальным генам, однако значения Ка/Ks низкие. Это подтверждает, что данные гены находятся под сильным селективным давлением отбора.

В отличие от межвидовых сравнений, распределение Ка/Ks между БКГ при внутривидовых сравнениях не имеет четко выраженных общих закономерностей, однако характеризует специфику накопления изменчивости для каждого вида.

При сравнении митохондриальных геномов *Ae. flavopictus* наиболее высокие значения величины Ка/Ks наблюдаются в случае генов *nd5*, *nd6*, *cox1*, *cytb*, что связано с меньшим давлением очищающего отбора. Паттерн внутривидовой изменчивости этих генов сходен с тем, который мы обнаружили при межвидовых сравнениях (см. рис. 3).

Представляет интерес сравнение митохондриальных геномов комаров *Ae. albopictus* из природной популяции и из клеточной культуры С6/36. Наибольшее соотношение Ка/Ks наблюдается в генах *nd4*, *cytb*, *cox1*, *nd5*. Величина Ка/Ks в данном случае кратно превышает значения, характерные как для межвидовых, так и для внутривидовых сравнений, что позволяет сделать вывод о слабом отборе в условиях клеточной культуры или о его отсутствии. Вместе с тем изменчивость не обнаружена в случае генов *nd6*, *atp8*, *nd2*, *cox2*, *nd3*, *cox3*, *nd1*, *nd4l*. Такой контраст в характере изменчивости разных генов *Ae. albopictus* может являться результатом снятия в условиях клеточной культуры ряда физиологических ограничений, которые испытывают особи в природных популяциях.

Изменчивость, наблюдаемая при сравнении митохондриальных геномов комаров *Ae. sibiricus* и MW465951, в целом соответствует уровню межвидовой изменчивости у комаров рода *Aedes* подрода *Stegomyia*, за исключением

двух аномальных генов, *nd6* и *nd5*. Обычно высокоизменчивый ген *nd6* в данном сравнении мономорфен, что может быть связано со стабилизирующим отбором. Ген *nd5*, напротив, содержит аномально много несинонимичных замен.

Заключение

Изучение особенностей естественного отбора в инвазионных популяциях насекомых пока находится в стадии накопления материала. Одним из подходов к обнаружению особенностей отбора, приводящих к появлению инвазионных популяций у насекомых, является сравнение митохондриальных геномов нативных и инвазионных популяций одного вида. Сосуществование нативных и инвазионных популяций в настоящее время известно для многих видов насекомых, таких как азиатская божья коровка *Harmonia axyrid* (Brown et al., 2011), японская виноградная цикадка *Arboridia kakogawana* (Piccinno et al., 2024) и некоторые другие виды. Изучение митохондриальных геномов успешно синантропизирующихся видов, образующих плотные популяции на урбанизированных территориях, представляет интерес для обнаружения митохондриальных генов, вовлеченных в генетический контроль признака повышенной жизнеспособности, характерного для инвазионных популяций насекомых.

Список литературы / References

- Берлов О.Э., Берлов Э.Я., Артемьева С.Ю. О находках тигрового комара *Aedes (Stegomyia) sibiricus* Danilov et Filippova, 1978 (Insecta: Diptera, Culicidae) в Иркутске. *Байкальский зоологический журнал*. 2021;2(30):118-119
[Berlov O.E., Berlov E.Y., Artemyeva S.Yu. Findings of the tiger-mosquito *Aedes (Stegomyia) sibiricus* Danilov et Filippova, 1978 (Insecta: Diptera, Culicidae) in Irkutsk. *Baikal Zoological Journal*. 2021;2(30):118-119 (in Russian)]
- Берлов О.Э., Куберская О.В. Первая находка тигрового комара *Aedes flavopictus* Yamada, 1921 (Diptera, Culicidae) в нижнем Приамурье (Хабаровский край, Россия). *Амурский зоологический журнал*. 2021;13(4):550-556. doi 10.33910/2686-9519-2021-13-4-550-556
[Berlov O.E., Kuberskaya O.V. First record of tiger mosquito *Aedes flavopictus* Yamada, 1921 (Diptera, Culicidae) in the Lower Amur area (Khabarovsk region, Russia). *Amurian Zoological Journal*. 2021;13(4):550-556. doi 10.33910/2686-9519-2021-13-4-550-556 (in Russian)]
- Гуцевич В.А., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. Комары: Семейство Culicidae. В серии: Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Т. 3, вып. 4. Л.: Наука, 1970
[Gutsevich V.A., Monchadskii A.S., Shtakel'berg A.A. Mosquitoes (Culicidae). In: Fauna of the USSR. Diptera. Vol. 3, Iss. 4. Leningrad: Nauka Publ., 1970 (in Russian)]
- Данилов В.Н., Филиппова В.В. Новый вид комара *Aedes (Stegomyia) sibiricus* sp. n. (Culicidae). *Паразитология*. 1978;12(2): 170-176
[Danilov V.N., Filippova V.N. A new species of mosquito *Aedes (Stegomyia) sibiricus* sp. n. (Culicidae). *Parazitologiya = Parasitology*. 1978;12(2):170-176 (in Russian)]
- Полторацкая Н.В., Мирзаева А.Г. О новых находках редкого для Западной Сибири вида комаров *Aedes sibiricus* Danilov et Filippova, 1978 (Diptera, Culicidae). *Евразийский энтомологический журнал*. 2013;12(2):144-146
[Poltoratskaya N.V., Mirzaeva A.G. New records of the rare species *Aedes sibiricus* Danilov et Filippova, 1978 (Diptera, Culicidae) from West Siberia, Russia. *Evraziatskii Entomologicheskii Zhurnal = Euroasian Entomological Journal*. 2013;12(2):144-146. (in Russian)]
- Федорова М.В., Швецов О.Г., Медяник И.М., Шайкевич Е.В. Генетический анализ популяции завозных кровососущих комаров *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera, Culicidae) в Краснодарском крае. *Паразитология*. 2019;53(6):518-528. doi 10.1134/S0031184719060073
[Fedorova M.V., Shvets O.G., Medyanik I.M., Shaikevich E.V. Genetic diversity of invasive *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) population (Diptera, Culicidae) in Krasnodar region, Russia. *Parazitologiya = Parasitology*. 2019;53(6):518-528. doi 10.1134/S0031184719060073 (in Russian)]
- Battaglia V., Gabrieli P., Brandini S., Capodiferro M.R., Javier P.A., Chen X.G., Achilli A., Semino O., Gomulski L.M., Malacrida A.R., Gasperi G., Torroni A., Olivieri A. The worldwide spread of the tiger mosquito as revealed by mitogenome haplogroup diversity. *Front Genet*. 2016;7:208. doi 10.3389/fgene.2016.00208
- Bega A.G., Vu T., Goryacheva I.I., Moskaev A.V., Andrianov B.V. A barcoding and morphological identification of mosquito species of the genus *Aedes* (Diptera: Culicidae) of the Russian Far East and Northern Vietnam. *Russ J Genet*. 2022;58(3):314-325. doi 10.1134/S1022795422030024
- Brown P.M.J., Thomas C.E., Lombaert E., Jeffries D.L., Estoup A., Handley L.J.L. The global spread of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): distribution, dispersal and routes of invasion. *BioControl*. 2011;56:623-641. doi 10.1007/s10526-011-9379-1
- Guo J., Yan Z.T., Fu W.B., Yuan H., Li X.D., Chen B. Complete mitogenomes of *Anopheles peditaeniatus* and *Anopheles nitidus* and phylogenetic relationships within the genus *Anopheles* inferred from mitogenomes. *Parasit Vectors*. 2021;14(1):452. doi 10.1186/s13071-021-04963-4
- Hebert P.D., Cywinska A., Ball S.L., de Waard J.R. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci*. 2003;270(1512): 313-321. doi 10.1098/rspb.2002.2218
- Khrabrova N.V., Andreeva Y.V., Sibataev A.K., Alekseeva S.S., Esenbekova P.A. Mosquitoes of *Anopheles hyrcanus* (Diptera, Culicidae) group: species diagnostic and phylogenetic relationships. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;93(3):619-622. doi 10.4269/ajtmh.14-0207
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*. 2016; 33(7):1870-1874. doi 10.1093/molbev/msw054
- Medlock J.M., Hansford K.M., Schaffner F., Versteirt V., Hendrickx G., Zeller H., Bortel W.V. A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2012;12(6):435-447. doi 10.1089/vbz.2011.0814
- Nei M., Gojobori T. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. *Mol Biol Evol*. 1986;3(5):418-426. doi 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040410
- Piccinno R., Tatti A., Avosani S., Galla G., Lazazzara V., Pedrazzoli F., Zadra N., Rodeghiero M., Seljak G., Özgen İ., Hauffe H.C., Verastro V., Stacconi M.V.R., Mazzoni V., Rota-Stabelli O. A multidisciplinary approach to tackling invasive species: barcoding, morphology, and metataxonomy of the leafhopper *Arboridia adanae*. *Sci Rep*. 2024;14(1):2229. doi 10.1038/s41598-023-49410-9
- Ree H.I. Taxonomic review and revised keys of the Korean mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Entomol Res*. 2003;33(1):39-52. doi 10.1111/j.1748-5967.2003.tb00047.x
- Rozen S., Skaletsky H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Misener S., Krawetz S.A. (Eds) *Bioinformatics Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology*. Vol. 132. Humana Press, Totowa, NJ, 2000. doi 10.1385/1-59259-192-2:365
- Shin J., Jung J. Comparative population genetics of the invasive mosquito *Aedes albopictus* and the native mosquito *Aedes flavopictus* in the Korean peninsula. *Parasit Vectors*. 2021;14(1):377. doi 10.1186/s13071-021-04873-5

- Singh K.R.P. Cell cultures derived from larvae of *Aedes albopictus* (Skuse) and *Aedes aegypti* (L.). *Curr Sci.* 1967;36(19):506-508
- Tanaka K.M. A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera: Culicidae). In: Tanaka K., Mizusawa K., Saugstad E.S. (Eds) Contributions of the American Entomological Institute. APO; San Francisco; California: American Entomological Institute, 1979;987
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994;22(22):4673-4680. doi 10.1093/nar/22.22.4673
- Wang D., Liu F., Wang L., Huang S., Yu J. Nonsynonymous substitution rate (Ka) is a relatively consistent parameter for defining fast-evolving and slow-evolving protein-coding genes. *Biol Direct.* 2011;6:13. doi 10.1186/1745-6150-6-13
- Wang G., Li C., Guo X., Xing D., Dong Y., Wang Z., Zhang Y., Liu M., Zheng Z., Zhang H., Zhu X., Wu Z., Zhao T. Identifying the main mosquito species in China based on DNA barcoding. *PLoS One.* 2012;7(10):e47051. doi 10.1371/journal.pone.0047051
- Weetman D., Kamgang B., Badolo A., Moyes C.L., Shearer F.M., Coulibaly M., Pinto J., Lambrechts L., McCall P.J. *Aedes* mosquitoes and *Aedes*-borne arboviruses in Africa: current and future threats. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(2):220. doi 10.3390/ijerph15020220
- Wilkerson R.C., Linton Y.M., Strickman D. Mosquitoes of the World. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2021
- Xing Z.P., Liang X., Wang X., Hu H.Y., Huang Y.X. Novel gene rearrangement pattern in mitochondrial genome of *Ooencyrtus plautus* Huang & Noyes, 1994: new gene order in *Encyrtidae* (Hymenoptera, Chalcidoidea). *ZooKeys.* 2022;1124:1-21. doi 10.3897/zookeys.1124.83811
- Yang Z., Bielawski J.R. Statistical methods for detecting molecular adaptation. *Trends Ecol Evol.* 2000;15(12):496-503. doi 10.1016/S0169-5347(00)01994-7
- Ze-Ze L., Borges V., Osório H.C., Machado J., Gomes J.P., Alves M.J. Mitogenome diversity of *Aedes (Stegomyia) albopictus*: detection of multiple introduction events in Portugal. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020; 14(9):e0008657. doi 10.1371/journal.pntd.0008657
- Zhang B., Havird J.C., Wang E., Lv J., Xu X. Massive gene rearrangement in mitogenomes of phytoseiid mites. *Int J Biol Macromol.* 2021;186:33-39. doi 10.1016/j.ijbiomac.2021.07.011
- Zhang H.G., Lv M.H., Yi W.B., Zhu W.B., Bu W.J. Species diversity can be overestimated by a fixed empirical threshold: insights from DNA barcoding of the genus *Cletus* (Hemiptera: Coreidae) and the meta-analysis of *COI* data from previous phylogeographical studies. *Mol Ecol Resour.* 2017;17(2):314-323. doi 10.1111/1755-0998.12571
- Zhang Z., Li J., Yu J. Computing Ka and Ks with a consideration of unequal transitional substitutions. *BMC Evol Biol.* 2006;6:44. doi 10.1186/1471-2148-6-44
- Zheng S., Poczai P., Hyvönen J., Tang J., Amirouf A. Chloroplast: an online program for the versatile plotting of organelle genomes. *Front Genet.* 2020;11:576124. doi 10.3389/fgene.2020.576124

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 30.05.2024. После доработки 10.07.2024. Принята к публикации 06.09.2024.