

УДК 576.893.195

**СРАВНЕНИЕ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ
МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ПРИЗНАКОВ В СИСТЕМАТИКЕ
МИКРОСПОРИДИЙ (MICROSPORIDIA)
КРОВОСОСУЩИХ КОМАРОВ (DIPTERA: CULICIDAE)**

© А. В. Симакова

Национальный исследовательский Томский государственный университет,
кафедра зоологии беспозвоночных
пр. Ленина, 36, Томск, 634050
E-mail: omikronlab@yandex.ru
Поступила 26.05.2014

Анализ положения в системе микроспоридий из комаров сем. Culicidae, для которых получены данные по нуклеотидным последовательностям участков гена мсрРНК, показал частичное несоответствие систем, основанных на морфологических и филогенетических признаках. Представители родов *Anncaliia* Issi, Krylova, Nicolaeva, 1993 и *Vavraia* Weiser, 1977 имеют независимое происхождение. Представители остальных родов (*Amblyospora* Hazard, Oldacre, 1975, *Andreanna* Simakova et al., 2008, *Culicospora* (Kudo, 1921), Weiser, 1977, *Culicosporella* Hazard, Savage, 1970, *Edhazardia* (Kudo, 1930), Sprague, Fucuda, 1989, *Hazardia* Weiser, 1977, *Hyalinocysta* Hazard, Oldacre, 1975, *Novothelohania* Andreadis et al., 2012, *Parathelohania* Codreanu, 1966, *Senoma* Simakova et al., 2005, *Trichoctosporea* Larsson, 1994) составляют отдельную монофилетическую группу на филогенетическом древе микроспоридий. Роды *Amblyospora*, *Culicospora*, *Edhazardia*, *Trichoctosporea* были помещены нами в сем. *Amblyosporidae* с пересмотром его диагноза.

Ключевые слова: микроспоридии, ультраструктура, морфология, молекулярная филогения, жизненные циклы, кровососущие комары.

Классические системы классификации микроспоридий основаны на особенностях жизненных циклов и ультраструктурных характеристик до-споровых стадий развития и зрелых спор (Sprague, 1977; Weiser, 1977; Исси, 1986; Sprague et al., 1992; Воронин, 2001). Однако с появлением новых молекулярно-генетических методов исследования возникла необходимость в пересмотре системы микроспоридий и определении значимости таксономического статуса морфологических и молекулярно-генетических признаков и их соответствии друг другу.

Первая молекулярно-филогенетическая система микроспоридий была создана на основе депонированных в Генбанке молекулярных гаплотипов рибосомальной РНК 125 видов (Vossbrinck, Debrunner-Vossbrinck, 2005). В ней 5 основных филогенетических ветвей микроспоридий были сгруппированы в 3 класса: Aquasporidia — пресноводные (включает ветви I, II, V); Marinosporidia — морские, ветвь III; Terresporidia — наземные, ветвь IV. Эти классы соответствуют экологическим типам животных-хозяев (пресноводный, морской и наземный) микроспоридий, стоящих в основании указанных ветвей. За редкими исключениями, подавляющее большинство паразитов из наземных насекомых и других наземных животных расположены в ветви IV.

Ветви I и II представлены микроспоридиями из пресноводных личинок двукрылых и из ракообразных. В ветви I находятся паразиты главным образом из кровососущих комаров сем. Culicidae и мелких ракообразных (сем. Daphniidae, Cyclopidae). Ветвь II представлена паразитами пресноводных двукрылых таких семейств, как Simuliidae и Psychodidae. Здесь прослеживается тесная связь между филогенетическим родством микроспоридий и систематическим положением их пресноводных хозяев. Появление в этой группировке отдельных представителей наземных микроспоридий, очевидно, вторичное явление.

В настоящее время данные о нуклеотидных последовательностях участков гена малой субъединицы рибосомальной РНК (мсрРНК) микроспоридий, необходимых для молекулярной систематики этих паразитов, получены лишь для относительно немногих известных видов. При этом для некоторых родов, к примеру, *Nosema* Nageli, 1857, *Vairimorpha* Pilley, 1976, *Amblyospora* получены сиквенсы множества близкородственных видов, тогда как для представителей очень многих родов, ультраструктурные признаки которых могут иметь основополагающее значение для систематики микроспоридий, информация о нуклеотидных последовательностях участков гена мсрРНК отсутствует. В связи с этим важной задачей в области исследования микроспоридий стало накопление информации в виде сиквенсов генов мсрРНК с последующим сопоставлением уровней филогенетического родства и признаков ультраструктуры по возможно большему числу таксонов микроспоридий, включая как новые, так и ранее описанные виды.

На данный момент в отношении микроспоридий кровососущих комаров выполнен сравнительно большой объем молекулярно-генетических исследований (Baker et al., 1997, 1998; Andreadis et al., 2002; Vossbrinck et al., 2004; Vossbrinck, Debrunner-Vossbrinck, 2005; Andreadis, 2007; Simakova et al., 2008; Andreadis et al., 2012), включая верификацию принадлежности паразитов из комаров и копепод к одному виду со сложным жизненным циклом (Vossbrinck et al., 1998, 2004, 2005). Однако до сих пор не проводились исследования по сравнению значимости морфологических и молекулярно-генетических таксономических признаков и степени их корреляции в систематике монофилетической группы микроспоридий из комаров сем. Culicidae. Мы провели изучение положения микроспоридий в системах, основанных на морфологических и молекулярно-генетических признаках для 23 видов и 6 родов, обнаруженных на территории Западной Сибири, а также еще для 27 видов и 12 родов, изученных ранее другими авторами.

У кровососущих комаров, согласно ныне существующей системе, зарегистрировано 26 родов микроспоридий, относящихся к 9 семействам, 6 надсемействам, 3 отрядам из двух подклассов, класса Microsporea (Воронин, 2001). Данные по последовательностям участков гена мсрРНК получены для 15 родов и 49 видов.

Среди микроспоридий, выделенных из комаров сем. Culicidae, существуют роды (5 из 26), описанные в настоящее время только по оригинальному строению спор, которые возможно образуются лишь в одной из спорогоний сложного жизненного цикла этих паразитов, поэтому отнесение их к каким-либо семействам и определение положения в современной системе условное. Это — *Crepidulospora* (Симакова и др., 2003), Симакова и др., 2004, *Cristulospora* Ходжаева, Исси, 1989, *Dimeiospora* Симакова и др., 2003, *Tricornia* Pell, Canning, 1992 в сем. Amblyosporidae Weiser, 1977 и *Polydispyrenia* Canning, Hazard, 1982 в сем. Duboscqiidae Sprague, 1977.

К мономорфным родам (9 из 26), для которых описан только один тип спор, относятся: *Aedispora* Kiloczyski, 1997, *Andreanna*, *Anncaliia*, *Crepidulospora*, *Novothelohania*, *Polydispyrenia*, *Senoma*, *Tricornia*, *Vavraia*. Данные по анализу последовательностей гена мсрРНК получены для 5 из них (*Andreanna*, *Anncaliia*, *Novothelohania*, *Senoma*, *Vavraia*).

Возможно, что истинно мономорфными являются лишь микроспоридии *Anncaliia* и *Vavraia*. Показано, что представители этих родов стали паразитировать в комарах сем. Culicidae независимо от представителей других родов, выделенных из кровососущих комаров, т. е. они имеют независимое происхождение (Vossbrinck et al., 2004; Andreadis, 2007). Микроспоридии этих родов заражают широкий круг комаров-хозяев в отличие от представителей других родов, которые используют в качестве хозяев 1 или 2—3 вида комаров. Кроме того, *Anncaliia algerae* Franzen et al., 2006 способна заражать не только кровососущих комаров, но и других членистоногих, как водных, так и наземных (перорально: Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Lepidoptera; путем инъекций: Decapoda, Megaloptera, Odonata, Orthoptera, Rodenita) (Vecnel et al., 2005).

Обе микроспоридии имеют простые жизненные циклы. Заражение комаров спорами происходит перорально, кроме того, в лабораторных условиях наблюдалась вертикальная передача паразита при скармливании самкам зрелых спор. В жизненном цикле этих паразитов отсутствует мейоз, различия заключаются в том, что у *Anncaliia* на протяжении всего жизненного цикла стадии диплокариотические, в то время как у *Vavraia* монокариотические. Значительные отличия наблюдаются и в ультраструктуре зрелых спор.

Уровень сходства последовательностей между этими родами составляет 66.2 %. Молекулярно-филогенетический анализ показал, что каждая из этих микроспоридий демонстрирует значительные генетические отличия от представителей остальных родов, поражающих комаров сем. Culicidae. Так, у рода *Hazardia* уровень сходства последовательностей с *Anncaliia* составляет 65.3 %, а с *Vavraia* 66.1 %) (см. таблицу). *Anncaliia algerae* наиболее близко связана с микроспоридиями из наземных насекомых: *Kneallhazia solenopsae* (Knell, Allan, Hazard, 1977), Sokolova, Fuxa, 2008, паразита огненных муравьев *Solenopsis geminata* (F.) и *Tubulinosema ratisbonensis*

Уровень сходства родов микроспоридий (%) из комаров сем. Culicidae
на основании данных секвенирования мсрРНК

Degree of similarity (%) between microsporidian genera isolated
from blood-sucking mosquitoes based on ssrDNA sequences

Роды микроспоридий	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. <i>Amblyospora</i>	—													
2. <i>Andreanna</i>	82.9	—												
3. <i>Anncaliia</i>	64.3	66.5	—											
4. <i>Culicospora</i>	85.0	81.0	62.6	—										
5. <i>Culicosporella</i>	78.2	77.3	64.5	76.5	—									
6. <i>Edhazardia</i>	87.2	83.2	65.0	85.3	78.5	—								
7. <i>Hazardia</i>	77.0	82.1	65.3	78.0	72.2	77.6	—							
8. <i>Hyalinocysta</i>	79.6	77.6	64.4	77.6	82.9	80.3	74.2	—						
9. <i>Intrapredatorus</i>	86.7	82.9	63.8	87.3	79.0	87.3	77.9	79.0	—					
10. <i>Novothelohania</i>	73.2	76.1	63.6	73.4	70.8	72.7	76.0	70.0	73.9	—				
11. <i>Parathelohania</i>	74.8	78.3	64.5	73.3	72.1	75.4	77.8	71.9	75.6	85.2	—			
12. <i>Senoma</i>	76.6	81.7	64.7	75.1	73.3	77.0	86.9	74.0	77.5	72.7	77.0	—		
13. <i>Trichoctosporea</i>	86.1	81.6	64.2	86.2	75.1	85.5	76.3	78.9	85.9	73.1	73.0	74.7	—	
14. <i>Vavraia</i>	63.9	66.8	66.2	65.2	62.9	64.0	66.1	64.3	63.3	64.3	65.7	63.6	63.5	—
15. <i>Takaokaspora</i>	79.2	80.8	67.8	79.0	77.3	78.9	82.9	77.2	79.9	87.4	89.7	80.7	79.1	71.7

Franzen et al., 2005, паразита *Drosophila melanogaster* Meigen. В свою очередь, *Vavraia culicis* Weiser, 1977 находится в кладе, содержащей виды *Trachipleistophora hominis* Hollister, Canning, Weidner, Field, Kench et Marriott, 1996 (паразит человека); а также паразиты рыб *Pleistophora ovariae* Summerfelt, Warner, 1970 и *Glugea anomala* Moniez 1887 (рис. 1). Эти два рода с их ближайшими родственниками формируют внешнюю группу на филогенетическом древе микроспоридий кровососущих комаров.

Таким образом, все это подтверждает таксономическую индивидуальность каждого из этих родов, расположенных в разных кладах на филогенетическом древе микроспоридий, и их независимое происхождение (*Anncaliia* — в кладе V, *Vavraia* — в III) (Vossbrinck, Debrunner-Vossbrinck, 2005).

Монотипичные роды *Andreanna*, *Crepidulospora*, *Novothelohania* и *Tricornia* отнесены в сем. Amblyosporidae. Установлено, что у представителей этих родов мерогональные стадии диплокариотические, в начале спорогонии происходит мейотическое деление, в результате которого в спорофорных пузырьках, оболочка которых имеет простое мембранное строение, в жировом теле личинок комаров формируются октомейоспоры. Они имеют одно ядро, многослойную сложноустроенную оболочку, анизофилярную полярную трубку, преимущественно многочастный сложноустроенный полярный пласт, обязательным компонентом которого служит часть из плотно уложенных пластин. Микроспоридии выделены в эти роды на основании отличительных особенностей ультраструктуры мейоспор. Вероятно, они представляют собой лишь часть сложного полиморфного жизненного цикла. Данные по нуклеотидным последовательностям участков гена мсрРНК получены только для родов *Andreanna* и *Novothelo-*

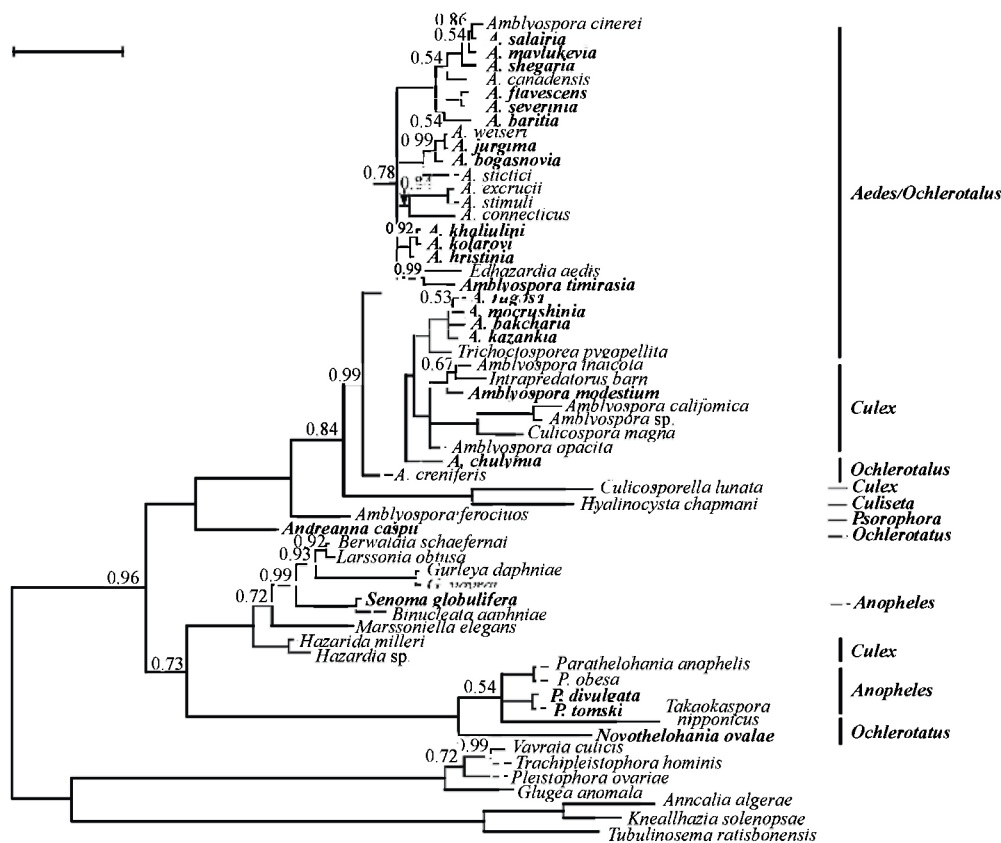


Рис. 1. Филогенетическое древо, демонстрирующее родственные отношения микроспоридий — паразитов кровососущих комаров на основе последовательностей мсрРНК.

Филограмма построена методом Байесовского заключения в программе MrBayes. Поддержка в виде значений постериорной вероятности указана для тех ветвей, где она составляет менее 1.00. Масштабная линейка = 0.1 замены на сайт. Жирным шрифтом выделены микроспоридии, собранные на территории Западной Сибири.

Fig. 1. Phylogenetic tree showing the relationships of microsporidia, parasites of mosquitoes, based on *ssrRNA* sequence data (phylograms built according to Bayesian method to enter into MrBayes program. Support in the form of posterior probability values is specified for those branches where it does not exceed 1.00. Scale bar = 0.1 substitutions on site).

hania — паразитов *Ochlerotatus caspius* Pallas (Simakova et al., 2008; Andreadis et al., 2012).

Согласно этим данным, *Andreanna caspii* Simakova et al., 2008 расположена в одной кладе с группой видов *Amblyospora*, а также с *Culicospora magna* (Kudo, 1921), Weiser, 1977, *Edhazardia aedis* (Kudo, 1930), Sprague, Fucuda, 1989, *Intrapredatorus barri* Chen et al., 1998, *Culicosporella lunata* (Hazard, Savage, 1970), Weiser, 1977 и *Hyalinocysta chapmani* Hazard, Oldacre, 1975. Однако различия в последовательностях участков гена мсрРНК этого рода и вида от перечисленных таксонов составляет в среднем 21.5 %, что позволяет рассматривать его как самостоятельный род (см. таблицу). Несмотря на то что *Andreanna caspii* выделена из комаров *Oc. caspius*, она не располагается в субкладе с микроспоридиями из комаров *Aedes*, *Ochlerotatus*, а составляет отдельную ветвь на филогенетическом древе (рис. 1).

Данные по нуклеотидным последовательностям участков гена мсрРНК подтверждаются и отличительными от остальных родов морфологическими признаками. Так, крупные стадии спорогонии *Andreanna caspii* занимают практически всю полость спорофорных пузырьков, имея при этом ровные, не волнистые оболочки. Мейоспоры овальные, без шипов и вогнутостей, полярная трубка слабоанизофилярная (рис. 2, а, см. вкл.) (Simakova et al., 2008).

Положение *A. caspii* в основании филогенетического древа предполагает раннюю дивергенцию микроспоридий вслед за радиацией комаров подобно тому, что произошло с видами *Parathelohania* Codreanu, 1966 у анофелесов.

Микроспоридия *Novothelohania ovalae* Andreadis et al., 2012 из *Ochlerotatus caspius* наиболее близко связана с кладой, содержащей виды родов: *Parathelohania* из малярийных комаров (уровень сходства последовательностей в пределах 85—86 %) (Andreadis et al., 2012) и *Takaokaspora* Andreadis et al., 2013 из *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Theobald) (уровень сходства последовательностей 87.4 %) (рис. 1, см. таблицу). Однако значительные различия в последовательностях, а также особенности строения мейоспор достаточны для рассмотрения этой микроспоридии в качестве отдельного рода. Овальные мейоспоры этой микроспоридии имеют практически одинаковую толщину оболочки по всему периметру споры, хорошо развитый полярный сак, покрывающий треть полярнопласта и слабоанизофилярную полярную трубку (рис. 2, б) (Andreadis et al., 2012).

Таким образом, несмотря на отсутствие данных по полному жизненному циклу, очевидно, что описанные нами роды *Andreanna* и *Novothelohania* являются самостоятельными, близкородственными к кладе, содержащей виды рода *Amblyospora*. Это подтверждается данными сиквенсов генов мсрРНК и ультраструктурными особенностями деспоровых стадий развития и мейоспор, формирующихся в жировом теле личинок комаров *Oc. caspius*.

Микроспоридии родов *Crepidulospora* и *Tricornia* помещены в сем. *Amblyosporidae* только на основании данных по ультраструктуре деспоровых стадий развития и мейоспор, образующихся в жировом теле личинок. Данные по жизненному циклу и ДНК-анализу для этих родов к настоящему времени отсутствуют, что требует дальнейшего изучения этих паразитов для определения их таксономического статуса.

Монотипичный диморфный род *Dimeiospora*, образующий в конце спорогонии два типа мейоспор, отличающихся морфологически, также отнесен в сем. *Amblyosporidae*, однако, отсутствие данных по жизненному циклу и ДНК-последовательностям не позволяют нам в настоящее время точно определить систематическое положение этой микроспоридии.

К самому большому по числу видов в сем. *Amblyosporidae* относится род *Amblyospora*. Нуклеотидные последовательности участков гена мсрРНК, полученные для 31 описанного вида микроспоридий (из них 17 видов выделены нами из комаров Западной Сибири), уникальны для каждого вида в сравнении с имеющимися в Генбанке данными. Согласно данным по ультраструктуре мейоспор из жирового тела личинок комаров и по сиквенсам генов мсрРНК, каждый из видов этого рода имеет уникальные таксономические особенности. Нами не было отмечено противоречий

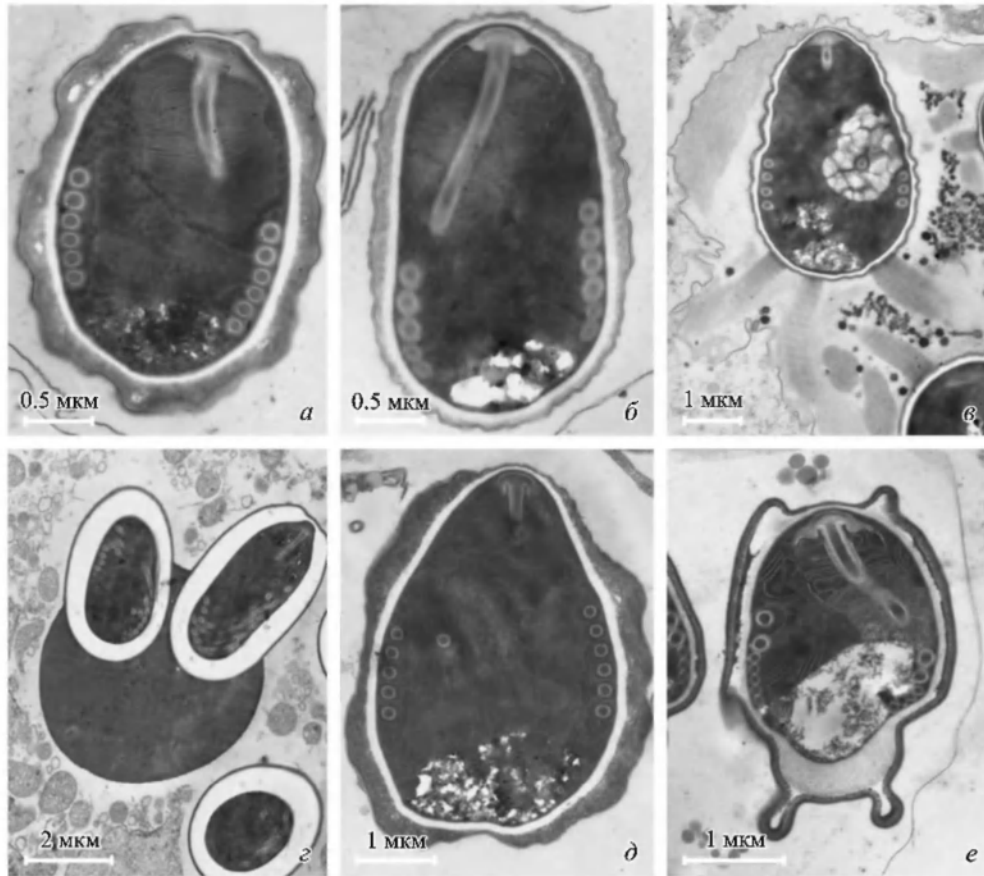


Рис. 2. Споры родов микроспоридий, обнаруженных на территории Западной Сибири. *a* — *Andreanna*, *б* — *Novothelohania*, *в* — *Trichoctosporea*, *г* — *Senoma*, *д* — *Amblyospora*, *е* — *Parathelohania*.

Fig. 2. Spores of microsporidian genera found in Western Siberia.

в морфологических и молекулярно-генетических признаках для видов этого рода. Филогенетический анализ показал, что виды рода *Amblyospora*, паразитирующие у комаров родов *Aedes*, *Ochlerotatus* и *Culex* L., составляют отдельные монофилетические группы, как и их хозяева.

Наши филогенетические исследования показывают, что монотипичные роды *Culicospora*, *Edhazardia* и *Intrapredatorus* Chen et al., 1998 так же как и *Trichoctosporea* Larsson, 1994, располагаются в кладе с видами рода *Amblyospora*.

Так, *Culicospora magna* (хозяин — *Culex restuans* (Theobald)) и *Intrapredatorus barri* (хозяин — *Culex fuscatus* Wiedemann) располагаются в монофилетической кладе вместе с другими видами рода *Amblyospora* из комаров рода *Culex*. В свою очередь *Edhazardia aedis* (хозяин — *Aedes aegypti* L.) и *Trichoctosporea pygopellita* Larsson, 1994 (хозяин — *Oc. excrucians* Walker) располагаются в кладе с видами *Amblyospora* из комаров *Aedes*, *Ochlerotatus* (рис. 1).

Положение микроспоридии *Intrapredatorus barri* (сем. Amblyosporidae) в пределах субклады видов *Amblyospora* из комаров рода *Culex* говорит в пользу целесообразности перевода этого вида в род *Amblyospora*. Эта микроспоридия имеет жизненный цикл, почти идентичный циклу *Amblyospora trinus* Becnel, Sweeney, 1990, паразита *Culex halifaxi* Theobald (Becnel, Sweeney, 1990). *Intrapredatorus barri* образует два типа одноядерных спор в личинках комаров: мейоспоры образуются в результате мейотического деления ядер, одноядерные споры второго типа формируются в результате расхождения диплокариотических ядер подобно таковым *E. aedis* и *C. magna* (Chen et al., 1998). Таким образом, отличие от видов *Amblyospora* заключается в формировании в жировом теле личинок второго типа спор. Нильсен и Чен (Nilsen, Chen 2001) защищали позицию *Intrapredatorus* как отдельного рода, основываясь на большом количестве отличий нуклеотидов от видов *Amblyospora*. Однако сравнение было проведено с небольшим количеством видов микроспоридий. Наши исследования показали, что уровень сходства последовательностей нуклеотидов *I. barri* с самыми близкородственными видами рода *Amblyospora* из комаров рода *Culex* составляет 92.7 % (с *A. modestium* Andreadis et al., 2012) и 93.7 % (с *A. indicola* Vavra et al., 1984) (Andreadis et al., 2012). Эти данные позволяют нам пересмотреть диагноз монотипичного рода *Intrapredatorus* с видом *Intrapredatorus barri* и перевести *Intrapredatorus barri* в род *Amblyospora* как *Amblyospora barri* comb. nov.

Род *Trichoctosporea* с типовым видом *Trichoctosporea pygopellita*, также располагающийся в кладе видов *Amblyospora*, был описан Ларссоном (Larsson, 1994) из жирового тела личинок комаров *Aedes vexans* Meigen. Эти микроспоридии образуют *Amblyospora*-подобные мейоспоры, но экзоспора этих паразитов имеет фибриллярные «хвосты», а поляропласт состоит из двух частей: пластинчатой и везикулярной. Диагноз рода базировался на свето- и электронно-микроскопических описаниях, наличии фибриллярного секрета в спорофорных пузырьках и «хвостах» зрелых спор (рис. 2, в). На момент описания данные о последовательностях ДНК для филогенетических сравнений отсутствовали. Дальнейшие исследования (Симакова, Панкова, 2005; Andreadis et al., 2012) показали, что подобные «хвосты» (иногда слабо выраженные) образуются еще у нескольких видов

рода *Amblyospora* (*A. bakcharia* Andreadis et al., 2012, *A. kazankia* Andreadis et al., 2012, *A. mocrushinia* Andreadis et al., 2012, *A. rugosa* Симакова, Панкова, 2005, *A. timirasia* Andreadis et al., 2012 из различных видов комаров-хозяев: *Ochlerotatus excrucians*, *Oc. dantaeus* Howard, Dyar et Knab, *Oc. punctor* Kirby, *Oc. cataphylla* Dyar, *Ae. cinereus* Meigen соответственно. Нами были получены сиквенсы генов мсрРНК для этих видов, доказывающие, что все они расположены в кладе видов рода *Amblyospora*. Виды *A. bakcharia*, *A. kazankia*, *A. mocrushinia*, *A. rugosa* расположены в одной субкладе с *Trichoctosporea pygopellita* (уровень сходства последовательностей в пределах от 88.7 до 89.4 %) (рис. 1) (Andreadis et al., 2012).

Кроме того, для *Trichoctosporea pygopellita* нами установлено наличие, во-первых, потенциальных промежуточных хозяев — это *Acanthocyclops reductus* Charpuis, во-вторых, трансвариальной передачи в жизненном цикле. Это говорит о том, что данные микроспоридии имеют жизненный цикл, идентичный сложному циклу рода *Amblyospora* (Симакова и др., 2011).

Таким образом, полученные нами данные являются основанием для перемещения рода *Trichoctosporea* из сем. Thelohaniidae в сем. Amblyosporidae и сохранения его статуса в качестве отдельного рода на основании таксономических особенностей мейоспор (наличие фибриллярных «хвостов» экзоспоры, двухчастного поляропласта, состоящего из пластинчатой и везикулярной части, наличие фибриллярного секрета в спорофорных пузырьках, содержащих споронты и споробласты) (рис. 2, в), а также с учетом близкого генетического родства «хвостатых» видов *Amblyospora*. Это дает нам основание для перемещения видов *A. bakcharia*, *A. kazankia*, *A. mocrushinia* и *A. rugosa* в род *Trichoctosporea* как *Trichoctosporea bakcharia* comb. nov., *T. kazankia* comb. nov., *T. mocrushinia* comb. nov. и *T. rugosa* comb. nov. соответственно.

Culicospora magna и *Edhazardia aedis* (сем. Culicosporidae), расположенные в кладе видов *Amblyospora*, имеют жизненные циклы, отличные от циклов развития микроспоридий рода *Amblyospora*. Они не нуждаются в промежуточных хозяевах и не образуют функциональные мейоспоры (*E. aedis* формирует abortивные мейоспоры).

Другое отличие *C. magna* и *E. aedis* заключается в том, что у них в результате расхождения ядер диплокариотических стадий мерогонии формируются одноядерные ланцетовидные споры, которые перорально передаются личинкам комаров. В то время как у видов *Amblyospora* в результате мейотического деления ядер диплокариотических стадий формируются мейоспоры, инвазионные для промежуточных хозяев копепоид, в которых образуются одноядерные споры (Vecnel, 1994).

Эти два рода располагаются в разных субкладах. *C. magna* с микроспоридиями из комаров рода *Culex*, а *E. aedis* — с видами из комаров *Aedes*, *Ochlerotatus* соответственно. Уровень сходства последовательностей между ними составляет 85.3 %, а с ближайшими родственниками, видами *Amblyospora* в пределах 85.0—87.2 %, что позволяет нам рассматривать их как самостоятельные роды, и с учетом филогенетического родства дает основание для их перемещения из сем. Culicosporidae в сем. Amblyosporidae (рис. 1; см. таблицу).

Монотипичные полиморфные близкородственные роды *Hyalinocysta* и *Culicosporella* родственны роду *Amblyospora* (уровень сходства последова-

тельностью *Amblyospora* с *Hyalinocysta* 79.2 %, с *Culicosporella* 78.2 %) (см. таблицу). Но они имеют достаточно отличий (в морфологии, молекулярной биологии и в жизненных циклах) для обоснования их таксономического статуса как валидных родов (Andreadis, Vossbrinck, 2002; Andreadis, 2007).

Так, *Hyalinocysta* отличается от *Amblyospora* отсутствием в жизненном цикле спорогонии с образованием двуядерных спор во взрослых самках и, следовательно, трансвариальной передачи. Ближайший родственник этой микроспоридии — род *Culicosporella* (уровень сходства последовательностей между ними 82.9 %) (см. таблицу). Анализ нуклеотидных последовательностей участков гена мсрРНК позволяет предположить, что процессы развития, ведущие к заражению яичников, и трансвариальная передача у *Hyalinocysta* утрачены вторично, поскольку они присутствуют у всех других близкородственных родов (*Amblyospora*, *Edhazardia*, *Culicosporella* и *Culicospora*), включая сестринскую группу видов рода *Parathelohania* (Andreadis, 2007).

Отличия *Culicosporella* от *Amblyospora* заключаются в том, что у *Culicosporella* в зараженных путем трансвариальной передачи личинках комаров формируются одновременно два типа спор: двуядерные ланцетовидные споры, ответственные за горизонтальную передачу, и неинвазионные мейоспоры (Vecnel, Fucuda, 1991).

Следовательно, жизненные циклы *Culicospora*, *Culicosporella* и *Edhazardia* сходны с таковыми рода *Amblyospora*, включая трансвариальную передачу, но у данных родов отсутствуют функциональные мейоспоры и потребность в промежуточных хозяевах — копеподах (Hazard et al., 1984; Vecnel et al., 1987, 1989; Vecnel, Fukuda, 1991; Vecnel, 1994).

Вероятно, что утрата промежуточных хозяев — низших ракообразных в жизненном цикле трех родов (*Culicospora*, *Culicosporella* и *Edhazardia*), так же как и утрата трансвариальной передачи в жизненном цикле рода *Hyalinocysta*, относятся к вторично приобретенным признакам (Vossbrinck et al., 2004; Andreadis, 2007).

Таким образом, наши филогенетические исследования показывают, что различия в жизненных циклах таких паразитов как *Amblyospora*, *Culicospora*, *Edhazardia*, *Hyalinocysta*, по молекулярным данным представляющим близкородственные формы, скорее всего, представляют адаптации паразитов к насекомому-хозяину и к среде его обитания для увеличения вероятности встречи паразита с хозяином и развития в нем (например, к разобщению мест обитания основных и промежуточных хозяев, заставившему микроспоридий проходить весь цикл только в одном из хозяев) (Vossbrinck et al., 2004; Andreadis, 2007; Andreadis et al., 2012).

Вероятно, что роды микроспоридий, имеющие сложные жизненные циклы со сменой хозяев, представляют собой наиболее древние формы. Поскольку ракообразные — это древняя в эволюционном плане группа членистоногих, микроспоридии ракообразных на определенном этапе эволюционного развития могли начать заражать комаров и приспособиться к развитию в них. Учитывая совпадение местообитаний личинок комаров и копепод, их заражение микроспоридиями друг от друга было вполне закономерным (Vossbrinck et al., 2004; Andreadis, 2007; Andreadis et al., 2012).

Виды родов *Senoma*, *Hazardia*, *Parathelohania*, *Takaokaspora* и *Novothelohania* относятся к разным семействам, заражают разных хозяев, но являются родственными группами. Так, представители родов *Senoma* и *Parathelohania* — паразиты комаров рода *Anopheles*; *Hazardia milleri* — паразит рода *Culex*; а *Takaokaspora* и *Novothelohania* — паразиты комаров рода *Ochlerotatus*.

Микроспоридии родов *Hazardia* и *Senoma* располагаются в отдельной субкладе с паразитами из низших ракообразных (рис. 1). Ближайший родственник *Senoma globulifera* (Simakova et al., 2005) — *Binucleata daphniae* Refardt et al., 2008, паразит рачка *Daphnia magna* Straus (уровень сходства последовательностей между ними 96.9 %) (Refardt et al., 2008). Однако эти микроспоридии кардинально отличаются друг от друга по морфологии до-споровых стадий развития и зрелых спор (Simakova et al., 2005; Refardt et al., 2008). Поскольку на данном этапе исследований мы не знаем полный жизненный цикл *Senoma globulifera*, мы можем лишь предположить, что *Binucleata daphniae* — это одна из спорогоний сложного жизненного цикла *Senoma*, где в качестве промежуточных хозяев могут выступать рачки *Daphnia magna*.

Помимо этого в одной субкладе с *Hazardia* и *Senoma* располагается еще несколько близкородственных видов микроспоридий из низших ракообразных. Это *Berwaldia schaefferi* Vavra, Larsson, 1994, *Larssonia obtusa* Видтман, Соколова, 1994, *Gurleya daphniae* Friedrich et al., 1996, *Gurleya vavrai* Green, 1974 — паразиты дафний, а также *Marssoniella elegans* Vavra et al., 2005 — паразит рачков *Cyclops vicinus* Uljanin. Вероятно, эти виды имеют общего предка, одни потомки остались паразитировать в ракообразных, а другие завоевали комаров. Такое близкое филогенетическое родство этих паразитов из комаров и низших ракообразных еще раз подтверждает предположение, что микроспоридии кровососущих комаров произошли от микроспоридий ракообразных.

Уровень сходства последовательностей между родами *Hazardia* и *Senoma* составляет 86.9 %, что позволяет рассматривать их как отдельные роды (см. таблицу; рис. 1). Микроспоридии рода *Hazardia* — диморфные. В жировом теле личинок образуется два типа спор. Двухядерные споры имеют толстую экзоспору, что сходно с разросшейся экзоспорой микроспоридий рода *Senoma* (рис. 2, з).

По морфологическим и таксономическим признакам и особенностям цикла развития *Senoma* была отнесена в сем. Nosematidae совместно с родом *Anncaliia*. У этих микроспоридий диплокариотический ядерный аппарат характерен для стадий и спор на протяжении всего жизненного цикла, мейоз отсутствует. У *Anncaliia* цитоплазматическая мембрана стадий покрыта слоем тонких трубочек в отличие от *Senoma*. Спорогония протекает в непосредственном контакте с цитоплазмой клетки хозяина без образования спорофорного пузырька. Споры преимущественно овальные с толстой эндоспорой, двухчастным полярным пластом и изофилярной полярной трубкой. У *Senoma* споры остаются соединенными вместе разрастанием экзоспоры, у *Anncaliia* лежат одиночно. Существенно различается у них и строение полярных пластов (у *Anncaliia* двухчастный, у *Senoma* одночастный пластинчатый). ДНК-анализ также показал, что эти микроспоридии не близкородственны и находятся далеко друг от друга на филогенетическом

древе (уровень сходства последовательностей 64.7 %) (см. таблицу). Таким образом, помещение этих родов в одно семейство морфологической системы было закономерным, но по молекулярным данным в филогенетической системе они находятся в разных кладах и не являются близкородственными.

Виды родов *Parathelohania*, *Takaokaspora* и *Novothelohania* составляют отдельную субкладу на филогенетическом древе микроспоридий из кровососущих комаров и являются родственными группами. Виды рода *Parathelohania* — паразиты малярийных комаров, а *Takaokaspora* и *Novothelohania* — комаров рода *Ochlerotatus*. Уровень сходства последовательностей *Parathelohania* с *Novothelohania* составляет 85.2 %, а с *Takaokaspora* 89.7 %, уровень сходства последовательностей *Takaokaspora* с *Novothelohania* — 87.4 % (см. таблицу).

Микроспоридии рода *Parathelohania* имеют *Amblyospora*-подобные триморфные жизненные циклы со сменой хозяев, с использованием в качестве промежуточных хозяев копепоид, наличием вертикальной и горизонтальной передачи. Отличия заключаются в морфологии мейоспор, развивающихся в жировом теле личинок комаров. Мейоспоры рода *Amblyospora* имеют яйцевидную форму с волнистой экзоспорой, полярный пласт от простого пластинчатого до трехчастного, число витков анизофилярной полярной трубки может варьировать от 5 у *A. criniferis* Garcia, Becnel, 1994, *A. urski* Симакова, Панкова, 2005 до 20 у *A. mavlukevia* Andreadis et al., 2012 (рис. 2, д). В свою очередь мейоспоры рода *Parathelohania* имеют уникальную форму спор, толстая трехслойная оболочка, состоящая из экзо-, субэкзо- и эндоспоры, образует характерные выступы на заднем полюсе и шипы на переднем и заднем полюсах, а также складки на боковых сторонах спор. Полярный пласт, как правило, трехчастный, обязательным компонентом которого служит пластинчатая часть. Полярная трубка анизофилярная с небольшим количеством витков (преимущественно 5—6, максимум 9 у *P. evanase* Garcia, Becnel, 1994) (рис. 2, е).

Виды этого рода составляют отдельную монофилетическую группу на филогенетическом древе микроспоридий из комаров сем. Culicidae и используют в качестве основных хозяев малярийных комаров (подсем. Anophelinae), которые рассматриваются как родственная группа кулицин (подсем. Culicinae) (рис. 1).

Микроспоридии *Takaokaspora nipponicus* Andreadis et al., 2013 из комаров *Ochlerotatus japonicus japonicus* имеют жизненный цикл, отличный от вышеупомянутых. В таком цикле обязательно наличие пероральной и трансвариальной передач, двух спорогоний с образованием морфологически и функционально различных спор. Промежуточные хозяева отсутствуют, abortивные мейоспоры также не образуются (Andreadis et al., 2013). Споры, образующиеся в жировом теле личинок комаров, по ультраструктуре сходны со спорами, образующимися в копеподах — промежуточных хозяевах микроспоридий рода *Amblyospora* (форма спор коническая, оболочка тонкая, полярный пласт крупнокамерный, полярная трубка изофилярная (Andreadis et al., 2013)). Следовательно, согласно данным по морфологии и ДНК-анализу, каждый из близкородственных родов *Parathelohania*, *Takaokaspora* и *Novothelohania* является самостоятельным валидным родом.

Таким образом, на основании полученных нами данных по морфологии, жизненным циклам и молекулярной филогении мы пересмотрели диагноз сем. *Amblyosporidae* и включили в него следующие близкородственные роды: *Amblyospora*, *Culicospora*, *Edhazardia*, *Trichoctosporea*.

Сем. *Amblyosporidae* Weiser, 1977

Развитие паразита происходит с образованием 2—3 морфологически и функционально различных типов спор и с возможным участием промежуточных хозяев — копепоид. В жизненном цикле обязательно наличие мейоза, который у большинства родов происходит во время октоспоропластической спорогонии с образованием мейоспор, полового процесса и трансвариальной передачи. В основном хозяине формируются споры 1—2 типов: мейоспоры с хорошо развитым аппаратом экстрезии, анизофилярной полярной трубкой и преимущественно многочастным полярнопластом, обязательным компонентом которого служит часть из плотно уложенных пластин; и/или ланцетовидно-грушевидные одноядерные споры с тонкой оболочкой, крупнокамерным полярнопластом и изофилярной полярной трубкой. Образование этих спор приводит к гибели хозяина. Во взрослом хозяине формируются одиночные диплокариотические тонкостенные споры с изофилярной полярной трубкой, ответственные за трансвариальную передачу. В промежуточном хозяине образуются одноядерные ланцетовидные споры с крупнокамерным полярнопластом и изофилярной полярной трубкой. Различия в нуклеотидных последовательностях участков гена мсрРНК в пределах 10—15 % (см. таблицу).

Роды отличаются по жизненным циклам и ультраструктуре спор, формирующихся в жировом теле личинок комаров.

Роды *Amblyospora*, *Culicospora*, *Edhazardia*, *Trichoctosporea*

На сегодняшнем этапе исследований довольно сложно отнести к какому-либо семейству такие роды, как *Andreanna*, *Culicosporella*, *Hazardia*, *Hyalinocysta*, *Novothelohania*, *Parathelohania*, *Senoma*. Поскольку в настоящее время мы имеем данные по небольшому числу видов, для многих из которых не известны полные жизненные циклы, то вполне вероятно, что в дальнейшем с накоплением данных ранг сем. *Amblyosporidae* будет повышен до отряда с выделением в нем нескольких самостоятельных семейств и включением в него вышеперечисленных родов и, возможно, некоторых родов — паразитов низших ракообразных, близкородственных к микроспоридиям комаров сем. *Culicidae*.

Сравнительный анализ ультраструктуры спор микроспоридий из комаров сем. *Culicidae* показал, что наиболее примитивные формы микроспоридий кровососущих комаров образуют споры с просто устроенным аппаратом экстрезии и тонкой оболочкой. Удлинение периода возможных контактов паразита с хозяином в водной среде достигалось путем формирования у спор толстых многослойных оболочек, имеющих складки, шипы, выросты, «хвосты», а также хорошо развитый мукокаликс, повы-

шающие плавучесть спор и позволяющие им сохранять жизнеспособность в окружающей среде в случае пересыхания водоема (рис. 2).

Появление толстых оболочек, способных выдержать высокое внутри-спорное давление, обусловило дальнейшее развитие аппарата экстрезии. Оно заключалось в уплощении камер полярнопласта (это экономило место для размещения большего числа пластин) и появлении длинных анизофилярных полярных трубок (рис. 2, д).

Так, споры микроспориций кровососущих комаров родов *Amblyospora*, *Duboscqia* Perez, 1908, *Hyalinocysta*, *Parathelohania*, формирующиеся в промежуточных хозяевах — копеподах и передающиеся горизонтально личинкам комаров, имеют относительно простое строение. Оболочка спор тонкая, полярнопласт крупнокамерный (геликоидальный), полярная трубка изофилярная.

Споры полиморфных родов микроспориций (*Edhazardia*, *Culicospora*, *Culicosporella*, *Hazardia*, *Takaokaspora*), способные заражать личинок комаров перорально и формирующиеся в части жизненного цикла, проходящего в личинках, также просто организованы. Они имеют тонкую оболочку, крупнокамерный полярнопласт и изофилярную полярную трубку.

Мейоспоры сложно устроены (рис. 2, а—в, д, е). Они имеют преимущественно толстую многослойную экзоспору, либо хорошо развитый мукокаликс; многочастный полярнопласт, расположенный по всей длине полярной трубки, обязательным компонентом которого служит часть из плотно-уложенных ламелл; анизофилярную полярную трубку. Интенсивность заражения личинок обычно высокая, в каждой образуется большое количество спор, так как заражается все жировое тело сегментов груди и брюшка. Личинки погибают, высвобождая споры в окружающую среду. Более сложное строение мейоспор, формирующихся в жировом теле личинок комаров, может рассматриваться как результат адаптации либо к переходу паразита из одного вида хозяина (низших ракообразных) в совершенно другой вид (комаров), либо к новым экологическим условиям, и говорит о более позднем их происхождении.

Сравнивая ультраструктуру сестринских родов, образующих мейоспоры в жировом теле личинок (*Amblyospora*, *Andreanna*, *Novothelohania*, *Trichoctospora*, *Parathelohania*) и имеющих общего предка, логично предположить, что такие морфологические признаки, как овальная форма спор с равномерной толщиной оболочки по всему периметру и слабоанизофилярная полярная трубка у *Andreanna* и *Novothelohania* могут быть плезиоморфными, оставшимися от общего предка (рис. 2, а, б). Далее в процессе эволюционного развития споры приобретали различную форму с сохранением тонкой оболочки на переднем полюсе. Полярная трубка становилась типично анизофилярной с хорошо выраженными толстыми и тонкими витками. В тех вариантах, когда толстые витки вдвое толще тонких, разница в их диаметре достигает 150 нм (*Amblyospora bogashovia*, *A. burlaki* Исси и др., 2000, *A. hristimia* Andreadis et al., 2012, *A. modestium*, *A. orbiculata* Симакова, Панкова, 2005), а число витков увеличивается от 5 у *Andreanna*, *Novothelohania*, *Amblyospora criniferis* Garcia, Becnel, 1994, *A. urski* Симакова, Панкова, 2005 до 19—20 у *A. baritia* Andreadis et al., 2012, *A. mavlukevia* (рис. 2, в, д, е).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании анализа нуклеотидных последовательностей участков гена мсрРНК показано, что большинство родов микроспоридий, паразитирующих у кровососущих комаров (*Amblyospora*, *Andreanna*, *Culicospora*, *Culicosporella*, *Edhazardia*, *Hazardia*, *Hyalinocysta*, *Novothelohania*, *Parathelohania*, *Senoma*, *Trichoctosporea*), представляют отдельную монофилетическую группу в древе микроспоридий, как близкородственные формы, имеющие общего предка. Представители родов *Anncaliia* и *Vavraia* формируют внешнюю группу на филогенетическом древе микроспоридий кровососущих комаров. Они «завоевали» комаров сем. Culicidae и стали паразитировать в них независимо от представителей других родов.

Сравнительный анализ морфологических и молекулярно-генетических таксономических признаков у родов *Andreanna*, *Amblyospora*, *Novothelohania*, *Parathelohania* и *Trichoctosporea*, паразитирующих в личинках кровососущих комаров на территории Западной Сибири, выявил отсутствие противоречий между морфологическими и молекулярно-генетическими таксономическими признаками.

Предполагается, что микроспоридии кровососущих комаров возникли как обособленная группа паразитов, эволюционировавшая от паразитов низших ракообразных, представляющих собой не только промежуточных хозяев для видов родов *Amblyospora*, *Hyalinocysta* и *Parathelohania*, но и служащих хозяевами микроспоридий из таксонов, сестринских по отношению к представителям сем. Amblyosporidae (Vossbrinck et al., 2004; Vossbrinck, Debrunner-Vossbrinck, 2005; Andreadis, 2007; Andreadis et al., 2012).

Полученные нами данные по молекулярной филогении позволяют заключить, что изначально микроспоридии изученных родов из кровососущих комаров имели сложные жизненные циклы с тремя спорогониями, в которых присутствовала трансвариальная, пероральная передача и промежуточные хозяева (копеподы). Впоследствии часть жизненного цикла некоторых микроспоридий могла быть утрачена вследствие потери одного из хозяев или приобретена в процессе приспособления к новым хозяевам. Процесс утраты или приобретения части жизненного цикла происходит у микроспоридий достаточно быстро относительно времени эволюционного развития (Baker et al., 1997, 1998; Vossbrinck et al., 2004; Andreadis, 2007; Andreadis et al., 2012).

Нами выявлено, что в процессе эволюции происходило усложнение строения спор как адаптации микроспоридий к развитию в организме хозяина. Для удлинения периода возможных контактов паразита с хозяином в водной среде у спор формировались толстые многослойные оболочки. Появление толстых, прочных оболочек обусловило дальнейшее развитие аппарата экстрезии: увеличение числа и уплощение пластин полярнопласта, формирование длинных анизофилярных полярных трубок с большим количеством витков.

Можно заключить, что в настоящее время довольно сложно определить систематическое положение той или иной микроспоридии рангом выше рода, так как диагнозы таких таксонов, как семейство или отряд еще не сформулированы. В то же время с учетом молекулярных данных, морфо-

логии, ультраструктуры и жизненных циклов видов обоснованы такие семейства, как Tubulinosematidae, Neoperezziidae (Issi et al., 2012), а также Amblyosporidae.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит профессора И. В. Исси (ВИЗР, г. Санкт-Петербург), T. G. Andreadis, C. F. Vossbrinck (Agricultural Experiment Station, New Haven, CT, USA) за участие в обсуждении результатов.

Работа выполнена при финансовой поддержке № НШ-1279.2014.4 грант президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации «Молекулярно-цитогенетическое исследование реорганизации архитектуры хромосом в онто- и филогенезе. Генодиагностика видов и эколого-генетический мониторинг популяций эпидемически опасных групп двукрылых насекомых» 2014—2015.

Список литературы

- Воронин В. Н. 2001. О макросистеме типа Microsporidia Balbiani, 1882. Паразитология. 35 (1) : 35—44.
- Исси И. В. 1986. Микроспоридии. Протозоология. 10 : 1—185.
- Исси И. В., Воронин В. И. 2007. Тип Microsporidia. В кн.: Протисты. Т. 2. Руководство по зоологии. СПб.: Наука. 994—1044.
- Симакова А. В., Панкова Т. Ф. 2004. Микроспоридии рода *Trichoctosporea* (Microspora: Thelohaniidae) из кровососущих комаров (Diptera: Culicidae) Западной Сибири. Вести. Томск. гос. ун-та (приложение). 10 : 116—122.
- Симакова А. В., Панкова Т. Ф. 2005. Шесть новых видов микроспоридий рода *Amblyospora* (Microspora: Amblyosporidae) из кровососущих комаров (Diptera: Culicidae) Западной Сибири. Паразитология. 39 (5) : 371—385.
- Симакова А. В., Лукьянцев В. В., Vossbrinck C. R., Andreadis T. G. 2011. Выявление *Amblyospora rugosa* и *Trichoctosporea pygopellita* (Microsporidia: Amblyosporidae), микроспоридий — паразитов кровососущих комаров, у *Acanthocyclops venustus* и *Acanthocyclops reductus* (Copepoda: Cyclopoidea), основанное на анализе малой субъединицы рибосомальной ДНК. Паразитология, 45 (2) : 140—146.
- Andreadis T. G. 2007. Microsporidian parasites of mosquitoes. In: Floore, T.G. (Ed.), *Biorational Control of Mosquitoes*, Bull. N 7, Am. Mosq. Control Assoc. 23 : 3—29.
- Andreadis T. G., Vossbrinck C. F. 2002. Life cycle, ultrastructure and molecular phylogeny of *Hyalinocysta chapmani* (Microsporidia: Thelohaniidae) a parasite of *Culiseta melanura* (Diptera: Culicidae) and *Orthocyclops modestus* (Copepoda: Cyclopidae). *Journ. of Eukaryotic Microbiology*. 49 : 350—364.
- Andreadis T. G., Simakova A. V., Vossbrinck C. F., Shepard J. J., Yurchenko Y. A. 2012. Ultrastructural characterization and comparative phylogenetic analysis of new microsporidia from Siberian mosquitoes: Evidence for coevolution and host switching. *Journ. of Invertebrate Pathology*. 109 (1) : 59—75.
- Andreadis T. G., Takaoka H., Otsuka Y., Vossbrinck C. F. 2013. Morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite *Takaokaspora nipponicus* n. gen. n. sp. from the invasive rock pool mosquito, *Ochlerotatus japonicus japonicus*. *Journ. of Invertebrate Pathology*. 114 (1) : 161—172.
- Baker M. D., Vossbrinck C. R., Becnel J. J., Maddox J. V. 1997. Phylogenetic position of *Amblyospora* Hazard et Oldacre (Microspora: Amblyosporidae) based on small su-

- bunit rRNA data and its implication for the evolution of the Microsporidia. *Journ. of Eukaryotic Microbiology*. 44 (3) : 220—225.
- Baker M. D., Vossbrinck C. R., Becnel J. J., Andreadis T. G. 1998. Phylogeny of *Amblyospora* (Microsporida: Amblyosporidae) and related genera based on small subunit ribosomal DNA data: a possible example of host parasite cospeciation. *Journ. of Invertebrate Pathology*. 71 : 199—206.
- Becnel J. J. 1994. Life cycles and host—parasite relationships of Microsporidia in culicine mosquitoes. *Folia Parasitologica*. 41 : 91—96.
- Becnel J. J., Hazard E. I., Fukuda T., Sprague V. 1987. Life cycle of *Culicosporea magna* (Kudo, 1920) (Microsporida: Culicosporidae) in *Culex restuans* Theobald with special reference to sexuality. *Journal of Protozool.* 34 : 313—322.
- Becnel J. J., Sprague V., Fukuda T., Hazard E. I. 1989. Development of *Edhazardia aedis* (Kudo, 1930) n. g., n. comb. (Microsporida: Amblyosporidae) in the mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Journ. of Protozool.* 36 : 19—130.
- Becnel J. J., Sweeney A. W. 1990. *Amblyospora trinus* n. sp. (Microsporida: Amblyosporidae) in the Australian mosquito *Culex halifaxi* (Diptera: Culicidae). *Journ. of Protozool.* 37 : 584—592.
- Becnel J. J., Fukuda T. 1991. *Culicosporella lunata* (Microsporida: Culicosporidae fam. n.) in the mosquito *Culex pilosis* (Diptera: Culicidae) with new information on the developmental cycle. *European Journ. of Protistol.* 26 : 319—329.
- Becnel J. J., White S. E., Shapiro A. M. 2005. *Culicosporella lunata* (Microsporida: Culicosporidae fam. n.) in the mosquito *Culex pilosis* (Diptera: Culicidae) with new information on the developmental cycle. *Folia Parasitologica*. 52 : 41—50.
- Chen W. J., Kuo T. L., Wu S. T. 1998. Development of a new microsporidian parasite, *Intrapredatorus barri* n.g., n.sp. (Microsporida: Amblyosporidae) from the predacious mosquito *Culex fuscanus* Wiedman (Diptera: Culicidae). *Parasitology International*. 47 : 183—193.
- Hall T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41 : 95—98.
- Hazard E. I., Fukuda T., Becnel J. 1984. Life cycle of *Culicosporella lunata* (Hazard and Savage, 1970) Weiser, 1977 (Microspora) as revealed in the light microscope with a redescription of the genus and species. *Journ. of Protozool.* 31 : 385—391.
- Huson D. H., Scornavacca C. 2012. Dendroscope 3 — An interactive viewer for rooted phylogenetic trees and networks, *Systematic Biology*; doi: 10.1093/sysbio/sys062.
- Issi I. V., Tokarev Y. S., Seliverstova E. V., Voronin V. N. 2012. Taxonomy of *Neoperezia chironomi* and *Neoperezia semenovaiiae* comb. nov. (Microsporidia: Aquasporidia): Lessons from ultrastructure and ribosomal DNA sequence data. *European Journ. of Protistol.* 48 (1) : 17—29.
- Larsson R. J. I. 1994. *Trichoctosporea pygopellita* gen. et sp. nov. (Microspora, Thelohaniiidae), a microsporidian parasite of the mosquito *Aedes vexans* (Diptera, Culicidae). *Archiv fur Protistenkunde*. 144 : 147—161.
- Nilsen F., Chen W. J. 2001. rDNA phylogeny of *Intrapredatorus barri* (Microsporida: Amblyosporidae) parasitic to *Culex fuscanus* Wiedman (Diptera: Culicidae). *Parasitology*. 122 : 617—623.
- Refardt D., Decaestecker B., Jonson P. T. J., Vavra J. 2008. Morphology, molecular phylogeny, and ecology of *Binucleata daphniae* n. g., n. sp. (Fungi: Microsporidia), a parasite of *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea: Branchiopoda). *Journ. of Eukaryotic Microbiology*. 55 (5) : 393—408.
- Ronquist F., Huelsenbeck J. P. 2003. MrBayes 3 : Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19 : 1572—1574.
- Simakova A. V., Vossbrinck C. R., Andreadis T. G. 2008. Molecular and ultrastructural characterization of *Andreanna caspii* n. gen., n. sp. (Microsporidia: Amblyosporidae), a parasite of *Ochlerotatus caspius* (Diptera: Culicidae). *Journ. of Invertebrate Pathology*. 99 : 302—311.
- Sprague V., Becnel J. J., Hazard E. I. 1992. Taxonomy of phylum Microspora. *Critical Reviews in Microbiology*. 18 (5/6) : 1—395.

- Vossbrinck C. R., Andreadis T. G., Debrunner-Vossbrinck B. A. 1998. Verification of intermediate hosts in the life cycles of microsporidia by small subunit rDNA sequencing. *Journ. of Eukaryotic Microbiology*. 45 : 290—292.
- Vossbrinck C. R., Andreadis T. G., Vavra J., Becnel J. J. 2004. Molecular phylogeny and evolution of mosquito parasitic Microsporidia (Microsporidia: Amblyosporidae). *Journ. of Eukaryotic Microbiology*. 51 : 88—95.
- Vossbrinck C. R., Debrunner-Vossbrinck B. A. 2005. Molecular phylogeny of the Microsporidia: ecological, ultrastructural and taxonomic considerations. *Folia Parasitologica*. 52 : 131—142.
- Weiser J. 1977. Contribution to the classification of Microsporidia. *Vestník Československé Společnosti Zoologické*. 41 : 308—326.

COMPARISON OF TAXONOMIC IMPORTANCE OF MORPHOLOGICAL
AND MOLECULAR-GENETIC CHARACTERS
IN SYSTEMATICS OF MICROSPORIDIA (MICROSPORIDIA)
OF BLOOD-SUCKING MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE)

A. V. Simakova

Key words: microsporidia, ultrastructure, morphology, molecular phylogeny, life cycles, blood-sucking mosquitoes.

SUMMARY

Comparative analysis of the taxonomic position of microsporidians from mosquitoes of the family Culicidae, for which SSU rDNA sequences data were obtained, demonstrates partial contradiction of systems based on morphological and phylogenetic characteristics. Representatives of the genera *Anncaliia* Issi et al., 1993 and *Vavraia* Weiser, 1977 constitute separate evolutionary branches of the phylogenetic tree of microsporidians of blood-sucking mosquitoes. Representatives of other genera, for which the SSU rRNA sequences data were obtained (*Amblyospora* Hazard, Oldacre, 1975, *Andreanna* Simakova et al., 2008, *Culicospora* (Kudo, 1921), Weiser, 1977, *Culicosporella* Hazard, Savage, 1970, *Edhazardia* (Kudo, 1930), Sprague, Fucuda, 1989, *Hazardia* Weiser, 1977, *Hyalinocysta* Hazard, Oldacre, 1975, *Novothelohania* Andreadis et al., 2012, *Parathelohania* Codreanu, 1966, *Senoma* Simakova et al., 2005, and *Trichoctosporea* Larsson, 1994), form a separate, monophyletic group in the tree of Microsporidia. They are closely related and probably possess a common ancestor. The genera *Amblyospora*, *Culicospora*, *Edhazardia*, and *Trichoctosporea* were placed in the family Amblyosporidae with the revision of the diagnosis.

On the basis of the obtained data on morphology and molecular phylogeny we placed *Intrapredatorus barri* Chen et al., 1998 into the genus *Amblyospora* as *Amblyospora barri*, comb. nov., and also the species *Amblyospora bakcharia* Andreadis et al., 2012, *A. kazankia* Andreadis et al., 2012, *A. mocrushinia* Andreadis et al., 2012, and *A. rugosa* Simakova, Pankova, 2005 into the genus *Trichoctosporea* as *Trichoctosporea bakcharia* comb. nov., *T. kazankia* comb. nov., *T. mocrushinia* comb. nov., and *T. rugosa* comb. nov.

Microsporidians of blood-sucking mosquitoes originally possessed complicated life cycles with transovarial and oral transmissions and with the presence of intermediate hosts (lower crustaceans).

Later, some microsporidians had lost a part of their life cycle, either during disorganization of habitats of main and intermediate hosts, or as a result of adaptation to environmental and (or) physiological characteristics of hosts. Changes in the life cycle occurred rather rapidly in comparison with the duration of evolutionary development and had an adaptive character. Differences in the life cycle of parasites of the genera *Amblyospora*,

Culicospora, *Culicosporella*, *Edhazardia* and *Hyalinocysta* possibly represent an adaptation increasing the probability of host-parasite meeting.

In the process of evolution, spores formed stronger spore wall with thick exospores and endospores. The appearance of thick spore walls in mature spores promoted the development of the apparatus of extrusion process, namely the flattening of the polaroplast chambers and the emergence of long anisofilar polar filament.
