

УДК 595.771:574.522

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИЧИНОК ХИРОНОМИД В ИССЛЕДОВАНИЯХ ВЛИЯНИЯ ГИПОКСИИ НА РИТМИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ

© 2016 А.Ю. Аккизов^{1,2}, М.Х. Кармоков³, М.Т. Шаов², Х.А. Курданов¹

¹ Центр медико-экологических исследований – филиал ИМБП РАН

² Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова

³ Институт экологии горных территорий им. А.К. Темботова КБНЦ РАН

Статья поступила в редакцию 19.05.2016

Представлены результаты изучения перспектив использования личинок хирономид в исследованиях влияния гипоксии на ритмическую активность нейронов. Предложено оценивать ритмическую активность нейронов хирономид опосредованно, наблюдая за периодическими движениями хирономид - дыхательными ундуляциями. Установлена связь между увеличением размеров личинок и уменьшением частоты их дыхательных ундуляций. Обнаружено, что непосредственно оцениваемая частота дыхательных ундуляций хирономид адекватно отражает ритмическую активность ганглиозных нейронных ансамблей.

Ключевые слова: личинка, хирономида, *Chironomus*, гипоксия, ритмическая активность нейронов

Несмотря на впечатляющие достижения современной нейробиологии, проблема влияния кислородной недостаточности на ритмическую импульсную активность нейронов и их ансамблей, не утратила своей актуальности. До сих пор наиболее точным методом исследования этих процессов является регистрация электрической активности одиночных нейронов с помощью микроэлектродной техники [10]. Этот метод успешно апробирован на разных организмах (в т.ч. и на человеке при операциях на открытом мозге), но удобным объектом признан стоматогастрический нервный ганглий десятиногих ракообразных (например, речного рака или лангуста).

Удобный для экспериментов организм называют модельным, в то время как передовые исследования в области биомедицины ведутся на всех уровнях организации жизни. Поэтому сейчас, наряду с модельными организмами (от *Escherichia coli* до *Homo sapiens*), различают модельные клетки (например, линия человеческих клеток *HeLa*), ткани, органы и даже популяции (например, популяция лесной улитки *Succinea nemoralis*). Использование модельных организмов обретает смысл только, при допущении, что они все имеют общее происхождение и, следовательно, обладают гомологией протекающих в них жизненных процессов. Только в этом случае можно ожидать, что явления, изученные на модельном организме, окажутся актуальными и для других живых существ. Ценность этого подхода для человека очевидна, т.к. непосредственное исследование многих процессов на нем невозможно по техническим и/или этическим причинам. Несмотря на интенсивный поиск новых модельных организмов, который ведется разными научными коллективами по всему миру, сейчас таких удобных подопытных организмов, как нематода *Caenorhabditis elegans*, плодовая мушка *Drosophila melanogaster*,

пресноводная рыбка *Danio rerio* или шпорцевая лягушка *Xenopus laevis*, явно недостаточно. Поэтому проблема поиска новых модельных организмов остается актуальной для современной биологии.

Мы предлагаем обратить внимание на личинок хирономид (*Chironomidae*), как на возможный модельный организм в исследованиях импульсной активности нейронов. Следует отметить, что хирономиды – традиционный объект кариологических исследований и соответствуют требованиям, предъявляемым к модельным организмам: 1) всесторонняя изученность разными научными коллективами; 2) простота и безопасность культивирования в лабораторных условиях; 3) короткий период генерации; 4) возможность генетических манипуляций; 5) полностью секвенированный и расшифрованный геном; 6) экономическая значимость [4, 8].

Еще одним критерием модельного организма является морфофункциональная специфичность. Например, медицинская пиявка (*Hirudo medicinalis*), из-за особенностей строения нервной и мышечной систем, используется нейробиологами как модельный организм в исследованиях механизмов локомоции. Мы же полагаем, что личинки хирономид являются новым уникальным модельным организмом в нейробиологических исследованиях, благодаря совокупности следующих морфофункциональных особенностей:

1. Личинки хирономид являются обитателями богатых органикой донных отложений водоемов, и поэтому находятся в условиях постоянного недостатка кислорода, а иногда и его полного отсутствия [14].

2. Личинки хирономид имеют характерную для двукрылых (*Diptera*) центральную нервную систему, состоящую из головного мозга и ряда ганглиев: подглоточного, трех грудных и восьми брюшных. Эта нервная цепочка обеспечивает относительно сложное для беспозвоночных поведение [11].

3. Дыхательным пигментом личинок хирономид является гемоглобин, который составляет 90-95% белка гемолимфы. Гемоглобин хирономид в условиях гипоксии играет роль кислородного «депо» [17, 22].

Указанные морфофункциональные особенности личинок хирономид ставят их в один ряд с другими организмами, чьи нейроны эволюционно приспособлены к длительному существованию в условиях

Аккизов Азамат Юсуфович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: akkizov@mail.ru

Кармоков Мухамед Хусенович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: lacedemon@rambler.ru

Шаов Мухамед Талибович, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных. E-mail: shaov_mt@mail.ru

Курданов Хусейн Абукаевич, доктор медицинских наук, профессор, директор. E-mail: kurdanov@yandex.ru

кислородной недостаточности. Такие нейроны, не требующие предварительной адаптации к гипоксии в условиях барокамеры, ценны для микроэлектродных исследований. Однако личинки хирономид довольно чувствительны к любым травмам и быстро погибают даже при незначительной утечке гемолимфы. Учитывая этот факт, мы решили для доказательства модельных свойств личинок хирономид оценить ритмическую активность их нейронов опосредованно, т.е. наблюдая за периодическими дорсовентральными сокращениями их тела – дыхательными ундуляциями. Эти движения личинок, по-видимому, аналогичны дыхательным движениям высших животных, регулируемым нейронами дыхательного центра. Поэтому, на наш взгляд, частоту дыхательных ундуляций личинок хирономид допустимо рассматривать в качестве показателя эволюционной адаптации нейронов к функционированию в условиях гипоксии.

Цель работы: выявить перспективы использования личинок хирономид (*Chironomidae*) в качестве модельных организмов, в исследованиях влияния гипоксии на ритмическую активность нейронов.

Материал и методы. Личинки хирономид собраны на одной из гидробиологических станций, где были взяты пробы ила из постоянной лужи в окрестностях п. Жанхотеко (Россия, Кабардино-Балкарская Республика, 43°33'33"с.ш. 43°12'24"в.д., 840 м. н.у.м.). Сбор проб ила производился с помощью гидробиологического скребка (34x18x48 см). Первичный органолептический анализ проб ила показал наличие в нем сероводорода – признака гнилостных процессов. Все пробы ила были тщательно промыты и исследованы на наличие хирономид: сначала непосредственным осмотром, а затем – с помощью стереоскопического микроскопа МБС-2. Было обнаружено 985 хирономид, из которых для дальнейшего исследования было отобрано 933 активных экземпляра (825 личинок и 108 куколок; рис. 1).

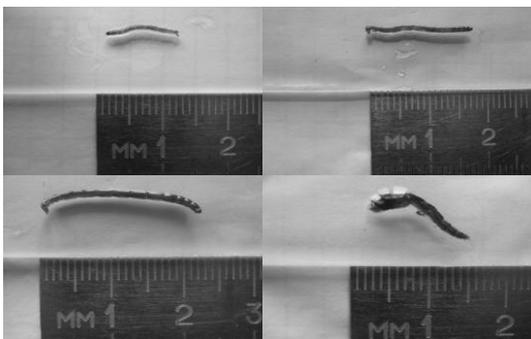


Рис. 1. Исследованные хирономиды *Chironomus nuditarsis*

Небольшими порциями (по 15-20 экземпляров – в зависимости от размеров организмов) хирономиды помещались в стеклянную чашку с отстоянной водопроводной водой, температура которой составляла 19-20°С. Затем в течение 15 мин. осуществлялась видеofиксация движений хирономид с помощью цифрового фотоаппарата «Canon IXUS-70», укрепленного на штативе над чашкой с организмами (рис. 2). Далее хирономиды фиксировались в смеси 96%-го этанола и ледяной уксусной кислоты (в соотношении 3:1) и хранились в холодильнике. Позже была измерена длина тела всех отобранных хирономид, а также определена их видовая принадлежность. Все собранные нами хирономиды относились к виду *Chironomus nuditarsis*.

При просмотре снятых видеофрагментов особенности индивидуального поведения (активность, ритмичность и длительность движений) каждого организма фиксировались в протоколе наблюдения. На основе анализа особенностей движений хирономид были выделены интересовавшие нас экземпляры – личинки с устойчивыми и длительными ритмичными дорсовентральными сокращениями тела. Для каждого такого экземпляра вычислялась частота дыхательных ундуляций. Все количественные данные подверглись параметрическому статистическому анализу.

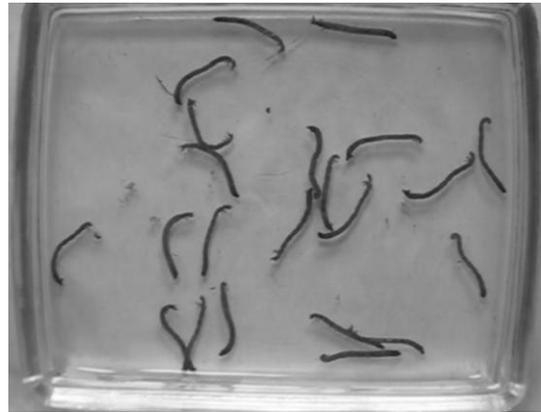


Рис. 2. Кадр видеосъемки поведения хирономид

Результаты и обсуждение. Сразу обращает на себя внимание количественное преобладание в отобранных пробах мелких экземпляров хирономид (табл. 1). Это объясняется известной закономерностью распределения личинок хирономид по вертикали: мелкие экземпляры концентрируются в поверхностных слоях ила, что обусловлено, в свою очередь, их высокой чувствительностью к недостатку кислорода. Более крупные личинки старших возрастов, напротив, проявляют тенденцию уходить вглубь ила настолько насколько позволяет мощность донных отложений [1, 20]. Другой примечательный факт – уменьшение длины исследованных экземпляров *Ch. nuditarsis* при окукливании, объясняется ранее установленной закономерностью: сухой вес хирономид (например, *Ch. plumosus*) при переходе от стадии предкуколки к куколке – снижается на 14-16% [11].

Таблица 1. Результаты наблюдений за личинками и куколками *Chironomus nuditarsis* (n = 933)

Длина, мм	Средняя длина, мм	Количество, экз.	Частота ундуляций, мин ⁻¹
Личинки <i>Chironomus nuditarsis</i> (n = 825)			
7,2-8,8	8,0	122	83,1±2,12
8,9-10,4	9,7	141	89,0±2,18
10,5-12,0	11,3	192	74,2±1,09
12,1-13,6	12,9	138	67,3±1,18
13,7-15,2	14,5	96	68,1±2,07
15,3-16,8	16,1	43	64,1±3,01
16,9-18,4	17,7	31	62,0±1,40
18,5-20,0	19,3	27	80,9±0,98
20,1-21,6	20,9	16	77,8±0,57
21,7-23,2	22,5	9	73,1±1,02
23,3-24,8	24,1	10	76,2±1,17
Куколки <i>Chironomus nuditarsis</i> (n = 108)			
13,0-13,9	13,5	18	172,8±4,17
14,0-14,9	14,5	47	129,0±1,98
15,0-15,9	15,5	43	94,2±2,03

У исследованных личинок *Ch. nuditarsis* было зафиксировано разное по своему характеру поведение, которое включало два основных вида подвижности:

1. Спонтанные, интенсивные и сложные по своему «рисунку» движения: личинка цепляется последними сегментами тела за дно, скручивается в клубок, а затем, раскручиваясь, совершает бросок в сторону. Эти движения непродолжительны и сменяются длительными периодами покоя.

2. Менее интенсивные, периодические волнообразные дорсовентральные колебания, длившиеся не менее 2/3 периода наблюдения.

Единичные экземпляры личинок *Ch. nuditarsis* ползали по дну чашки, опираясь на передние и задние подталкиватели. Судя по литературным данным, такое поисковое «хождение» характерно для голодных личинок, которые в естественных условиях выползают из своих «домиков» на поверхность грунта и активно собирают частицы пищи у входа в убежище [6]. Исходя из цели исследования, наше внимание было обращено на ундулирующие экземпляры, частота колебаний которых с увеличением размеров, снижалась (табл. 1). Также было отмечено, что частота колебаний отдельной личинки уменьшалась к концу наблюдения, что вероятно объясняется утомлением ее межсегментарных мышц. Восстановление подвижности происходило во время респираторных пауз, т.е. между периодами дыхательных ундуляций.

В естественных условиях ундуляции способствуют газообмену и выделению конечных продуктов метаболизма. Известно, что личинка строит «домик» в форме трубки, илестые стенки которой армированы затвердевшим секретом слюнных желез. Так как личинки дышат всей поверхностью тела, то для облегчения газообмена они прогоняют воду через свои домики-трубки, совершая колебательные движения. Стоит отметить, что гемоглобин хирономид удерживает примерно 6% O₂ от всего объема гемолимфы. Это количество кислорода обеспечивает 3-5 мин личиночного дыхания при 18-19 °С, что согласуется с длительностью наблюдавшихся нами вентиляционных пауз [9, 19, 21, 24]. Все исследованные личинки *Ch. nuditarsis* были темно-красного цвета, что указывает на их старший личиночный возраст. Хирономиды младших воз-

растов встречаются на мелководье, но по мере роста знак их фототаксиса меняется с «+» на «-» и личинки мигрируют на дно водоема (табл. 2). Этому погружению способствует синтез и накопление гемоглобина, который в основном и обеспечивает жизнь личинок в бедной кислородом среде - донных отложениях [25].

Изменения цвета личинок старшего возраста обусловлено увеличением концентрации гемоглобина в гемолимфе. Именно у личинок 4-го возраста концентрация гемоглобина в гемолимфе достигает максимума. Также в этот период в личинках хирономид накапливается запас питательных веществ для будущего метаморфоза. Вариация же размеров одновозрастных личинок хирономид – обычное явление, т.к. даже в пределах одной кладки темп развития организмов крайне неравномерен и зависит от совокупности факторов внешней среды [11].

Таблица 2. Соотношение численности *Ch. plumosus* (%) на разных глубинах [13]

Стадия онтогенеза	Глубина, м					
	2	4	6	8	10	12
личинка 3-го возраста	88,6	1,0	2,8	2,2	2,7	2,2
личинка 4-го возраста	16,6	9,0	13,0	21,0	29,0	11,0
куколка	28,0	7,0	27,0	14,0	14,0	0

Примерно 43% куколок *Ch. nuditarsis* были темно-красного цвета, что указывало на их недавнее освобождение от личиночного экзuvia. Остальные 57% куколок были темно-серого цвета. Согласно данным литературы, примерно через 36 ч метаморфоза куколка темнеет и в ней остается не более 1% исходного гемоглобина [11]. Поэтому куколки хирономид более требовательны к содержанию кислорода в среде, чем личинки. Знак фототаксиса на стадии куколки вновь становится положительным, что объясняет их заметное количество в поверхностных слоях ила (табл. 2). У большей части темно-красных куколок *Ch. nuditarsis* колебались последние сегменты тела, причем частота ундуляций была обратно пропорциональна длине тела (табл. 1).

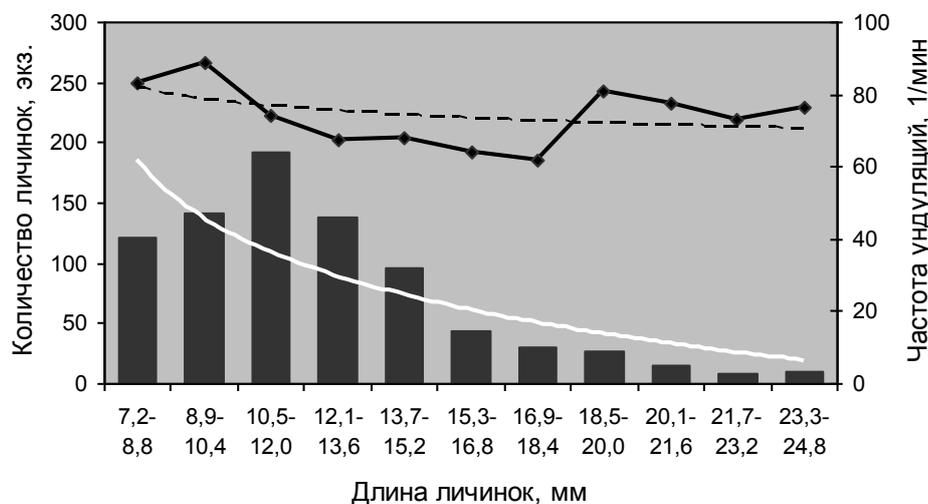


Рис. 3. Распределение личинок *Ch. nuditarsis* по размерам (диаграмма) и частоте ундуляций (черная кривая). По линиям логарифмических трендов (пунктир и белая кривая) видно, что связь этих параметров оказалась слабее теоретически ожидаемой

Частота ундуляций отражает такой показатель метаболизма как «величина потребления кислорода». Это хорошо иллюстрирует тот факт, что высокие частоты ундуляций характерны для чувствительных к кислороду куколок *Ch. Nuditarsis* (табл. 1). На потребление O_2 хирономидами, в свою очередь, влияет комплекс факторов (стадия развития, размер, возраст, алиментарная нагрузка, температура воды и содержание в ней кислорода). В нашем исследовании из указанных параметров значительно варьировали размер (точнее – длина), стадия развития и, возможно, возраст *Ch. nuditarsis*. Величина потребления кислорода (R , мг O_2 экз⁻¹ ч⁻¹) при 20°C зависит от веса (W , мг) личинки следующим образом: $R=0,00117W^{0,65}$ [7]. Скорость роста личинки (dW/dt) связана с ее размерами похожей зависимостью: $dW/dt=0,202W^{0,61}$. Следовательно, рост и энергетический обмен тесно сопряжены, и с возрастом личинки их интенсивность падает. Эти возрастные изменения метаболизма обусловлены понижением интенсивности дыхания растущих тканей (в т.ч. и нервной ткани) [3].

Опираясь на изложенные факты, можно было ожидать уменьшения частоты дыхательных ундуляций личинок, по мере увеличения длины их тела. Несмотря на то, что слабая тенденция к такой закономерности и была отмечена (рис. 3), однако частота ундуляций крупных экземпляров (23,3-24,8 мм) оказалась несущественно меньше таковой мелких личинок хирономид (7,2-8,8 мм).

Полученные результаты можно истолковать исходя из того очевидного факта, что филогенетическое погружение личинок вглубь донных отложений – это «необходимое зло», снимающее давление конкуренции за ресурсы (прежде всего – пищевые и территориальные) и спасающее от выедания бентофагами. Физиологическое значение кислорода для личинок хирономид при этом не уменьшается, т.к. многие личинки в условиях его дефицита быстро погибают [2, 15]. Поэтому, как и высшие животные в условиях кислородной недостаточности, организм личинок *Ch. nuditarsis* включается в «борьбу за кислород», которая сводится к двум адаптационным стратегиям:

1. Стратегия снижения потребления кислорода тканями. Это ведет к уменьшению величины потребления кислорода и, по-видимому, в этом направлении приспособительные возможности хирономид полностью реализованы.

2. Стратегия усиления механизмов обеспечения личинок кислородом. Ведущей адаптацией здесь является увеличение содержания гемоглобина в гемолимфе, регуляция синтеза и распада которого генетически детерминирована [18].

Гемоглобин, играя роль кислородного «депо», гарантирует личинкам период респираторных пауз длительностью 5-12 мин (в зависимости от температуры воды) в бескислородных условиях. Именно за счет депонированного кислорода личинки хирономид успевают мигрировать в кислородсодержащие зоны при резком падении его в окружающей среде [12, 23]. Чем меньше в воде кислорода и выше ее температура, тем короче респираторные паузы. Биологическое значение этих пауз: возможность освоения бедных кислородом территорий обитания. Давно отмечена корреляция глубины проникновения личинок в ил и количества кислорода в придонном слое: если кислорода мало, то личинки постоянно ундулируя, находятся в пределах своего «домика»; если же кислорода достаточно, то личинки активно движутся в периоды респираторных

пауз вглубь ила [16]. Даже на пике своего приспособления к гипоксии личинки хирономид постоянно связаны с богатым кислородом придонным слоем воды. Так, при хронически неблагоприятных для дыхания условиях, личинки надстраивают один из концов своего домика в виде вертикальных трубочек, поднимающихся над илом на высоту 2,5-3,0 см [5].

Если говорить о нейронах, как о наиболее требовательных к кислороду клетках, то они у хирономид, по-видимому, функционируют на пределе своей толерантности к гипоксии. Отсутствие кислорода ведет к быстрой гибели личинок хирономид, сокращая респираторный период [9, 24]. Можно предположить, что анаксия подавляет ритмическую активность нейронов обеспечивающих дыхательные ундуляции.

Выводы: предложенный в статье подход к исследованию ритмической активности нейронов в условиях кислородной недостаточности лишен не только достоинств точных микроэлектродных исследований, но и их недостатков. Один из главных недостатков таких работ: отсутствие экспериментально обоснованной уверенности в репрезентативности импульсаций одиночного нейрона. Предлагаемый метод непосредственной оценки частоты дыхательных ундуляций личинок хирономид позволяет, пусть и опосредованно, но вполне адекватно оценивать ритмическую активность ганглиозных нейронных ансамблей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ассман, А.В. Изменение доступности личинок *Chironomus plumosus* при выедании рыбами // Изв. АН СССР. Сер. биол., 1960, т. 5. С. 670-685.
2. Боруцкий, Е.В. Динамика биомассы *Chironomus plumosus* L. в профундали Белого озера // Тр. Лимнол. ст. в Косине, 1939. Т.22. С. 156-195.
3. Виленкина, М.Н. О возможности функционального подхода к количественной оценке степени дифференциации и интеграции организма / М.Н. Виленкина, Б.Я. Виленкин // Журнал общей биологии. 1969. Т. 30. №2. С. 132-139.
4. Гольгина, В.В. Хирономиды – модельный объект кариологических исследований. Методическое пособие / В.В. Гольгина, О.В. Ермолаева, А.Д. Брошков. – Новосибирск: Новосибирский государственный университет, 2013. 46 с.
5. Грандильевская-Дексбах, М.Л. К вопросу о выживании личинок *Chironomus* в искусственных условиях // Зоол. журн., 1939. Т. 18. №1. С.70-85.
6. Извекова, Э.И. Питание хирономид / Бентос Учтинского водохранилища. – М.: Наука, 1980. С. 72-101.
7. Каширская, Е.В. О величине энерготрат у личинок хирономид. Автореф. дис. к.б.н. – Саратов, 1971. 21 с.
8. Кикнадзе, И.И. Кариотипы и морфология личинок трибы *Chironomini*. Атлас. – Новосибирск: Наука, 1991. 115 с.
9. Константинов, А.С. Биология хирономид и их разведение // Труды Саратовского отделения ВНИИ озерного и речного рыбного хозяйства, 1958. Т. 5. 362 с.
10. Костюк, П.Г. Микроэлектродная техника. Монография. – Киев: Институт физиологии им. А. А. Богомольца, 1960. 126 с.
11. Мотыль *Chironomus plumosus* L. (*Diptera*, *Chironomidae*): Систематика, морфология, экология, продукция / под ред. Н.Ю. Соколова. – М.: Наука, 1983. 309 с.
12. Панкратова, В.Я. Донная фауна прудов рыбцовой-шешайного питомника и ее изменение под влиянием удобрений. – Л.: ЗИН АН СССР, 1959. Т.26. С. 295-346.
13. Соколова, Н.Ю., Антохина, Н.Г. Многолетняя и сезонная динамика хирономид Можайского водохранилища / Бентос Учтинского водохранилища. – М.: Наука, 1980. Т. 26. С. 234-248.
14. Шобанов, Н.А. Род *Chironomus* Meigen (*Diptera*, *Chironomidae*). Систематика, биология, эволюция. Автореф. дис. д.б.н. – СПб.: Наука, 2000. 53 с.

15. Яблонская, Е.А. Опыт применения метода Е.В. Борущого для определения продукции хирономид / Методы определения продукции водных животных – Минск: Высшейшая школа, 1968. С. 204-2018.
16. Brundin, L. The relation of O₂ – microstratification at the mud surface to the ecology of the profundal bottom fauna // Rept. Inst. Freshwater Res., 1951. № 32. P. 32-42.
17. Ewer, R.F. On the function of haemoglobin in Chironomus // J. Exp. Biol., 1942, Vol. 19, № 3, P. 197-205.
18. Laufer, H. A factor controlling the concentration of haemoglobins in *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) during metamorphosis / H. Laufer, I. Poluhowich // Canad. Entomol., 1971. V.103. P.454-457.
19. Leitch, J. The function of haemoglobin in invertebrates with special reference to Planorbis and Chironomus Larvae // J. Physiol. London, 1916. Vol. 50. P. 370-379.
20. Lellac, J. Chironomidae a ostatni zvirna dna nekterych stojatych vod ve strednim Polabf. // Rozpr. Cescol. Akad. Ved., 1953, Sv. 63, S. 69-144.
21. Lindroth, A. Periodische Ventilation bei der Larve von *Chironomus plumosus* // Zool. Anz., 1942. Bd. 138. S. 244-247.
22. Marwell, C. Starch gel electrophoresis of the multiple haemoglobins of small and large larval Chironomus. A developmental haemoglobin sequence in an invertebrate // J. Embriol and Exp. Morphol., 1966, Vol. 16, P. 259-270.
23. Miyadi, D. Studies on the Bottom Fauna Japanese Lakes. I. Lakes of Sinano Province // Jap. J. Zool., 1931. Vol. 3. № 3. P. 201-257.
24. Walshe, B.M. The function of haemoglobin in *Chironomus plumosus* under natural conditions // J. Exp. Biol., 1950. Vol. 27. P. 73-95.
25. Weber, R.E. Aspects of haemoglobin function in the larvae of the midge *Chironomus plumosus* L. // Proc. Kgl. Ned. Akad. Wet., 1963. t. 66. №3. S. 284-285.

PROSPECTS OF USAGE OF CHIRONOMID LARVAE IN INVESTIGATIONS OF HYPOXIA INFLUENCE ON THE RHYTHMIC ACTIVITY OF NEURONS

© 2016 A.Y. Akkizov^{1,2}, M.Kh. Karmokov³, M.T. Shaov², H.A. Kurdanov¹

¹ Center of Medical-Ecological Researches – Branch of Institute for Medical and Biological Problems RAS

² Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov

³ Tembotov Institute of Ecology of Mountain Territories RAS

The results of study the prospects of chironomid larvae usage in investigations of hypoxia influence on the rhythmic activity of neurons are presented. It is proposed to assess the rhythmic activity of chironomid neurons indirectly by observing the respiratory ruffling, periodic motions of chironomids. It is revealed a weak link between the increase in larvae size and decrease in frequency of respiratory ruffling. It has been found that directly evaluated frequency of respiratory ruffling of chironomid albeit rough, but adequately reflects the rhythmic activity of ganglion neuronal ensembles.

Key words: *chironomid larvae, Chironomus, hypoxia, respiratory ruffling, rhythmic activity of neurons*

Azamat Akkizov, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: akkizov@mail.ru

Mukhamed Karmokov, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: lacedemon@rambler.ru

Mukhamed Shaov, Doctor of Biology, Professor at the Department of Human and Animals Physiology. E-mail: shaov_mt@mail.ru

Husein Kardanov, Doctor of Medicine, Professor, Director. E-mail: kurdanov@yandex.ru