

УДК 595.771:574.52

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ВЗАИМОСВЯЗИ СТРУКТУРЫ КАРИОТИПА КОМАРОВ-ЗВОНЦОВ РОДА *CHIRONOMUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) С ФАКТОРАМИ СРЕДЫ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА

©2016 М.Х. Кармоков

Институт экологии горных территорий им. А.К. Темботова РАН, г. Нальчик

Статья поступила в редакцию 09.05.2016

Представлены предварительные результаты изучения взаимосвязи структуры кариотипа комаров-звонцов рода *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) с факторами среды в условиях Центрального Кавказа. Полученные данные позволяют заключить, что наибольшая степень связи структуры кариотипа прослеживается с такими факторами среды как температура середины апреля, июля, температура среднегодовая, лесобразующая порода, высота над уровнем моря и прозрачность воды. Разные генотипические сочетания обнаруживают различную степень корреляции с факторами среды. В целом структура кариотипа демонстрируют существенную отрицательную корреляцию с температурными факторами среды.

Ключевые слова: *Chironomus*, политенные хромосомы, хромосомный полиморфизм, окружающая среда, температурный режим

Личинки комаров-звонцов, являясь важнейшим компонентом бентоса, вызывают большой интерес и с теоретической, и с практической точек зрения. При благоприятных условиях они могут преобладать над другими донными беспозвоночными как наиболее ценный кормовой объект для бентосоядных промысловых рыб [1]. Также известна другая важная роль личинок хирономид в донных сообществах, как активных участников процессов самоочищения.

Экологическая кариология – недавно возникшее направление науки и, несмотря на большое теоретическое и прикладное значение, пока мало разработанное [2]. Исследование реакции генома на воздействие факторов среды весьма актуально при проведении генетического мониторинга природных популяций в условиях роста антропогенной нагрузки на водные экосистемы и для реализации комплексного подхода в эволюционном анализе популяций. Уже накоплены обширные сведения по выявлению зависимости уровня инверсионного полиморфизма личинок хирономид, особенно видов рода *Chironomus*, от экологических факторов различной природы: глубины обитания [3, 4], кислородного и температурного режимов водоема [3, 5-8], солёности воды [7, 9, 10], природных и антропогенных химических факторов [11-14]. Исследования действия температуры на структуру и функциональную активность политенных хромосом хирономид проводились в разные сезоны года [15-17], в условиях вечной мерзлоты Исландии, Гренландии, арктической Аляски, Финляндии, Якутии, севера России [18-22]. Изучение инверсионного полиморфизма позволило оценить степень и характер воздействия на кариотип хирономид антропогенных факторов, в частности радиации, вызывающей появление в кариотипе видов редких последовательностей, сохраняющихся в ряду поколений [20]. Также было обнаружено, что отсутствие серьезных вариаций полиморфизма в природных популяциях *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758), *Ch. balatonicus* Devai et al., 1983 и *Camptochironomus tentans* (Fabricius), 1805 [23] указывало на устойчивость структуры кариотипа в ряду поколений [20]. Также было обнаружено, что отсутствие серьезных вариаций

полиморфизма в природных популяциях *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758), *Ch. balatonicus* Devai et al., 1983 и *Camptochironomus tentans* (Fabricius), 1805 [23] указывало на устойчивость структуры кариотипа в ряду поколений и отсутствие факторов, провоцирующих проявление дифференциальной адаптивности генотипов.

В большей части предыдущих работ модельным видом исследований был избран голарктически распространенный вид *Ch. plumosus*. В нашем же исследовании таким видом был выбран близкородственный вид *Ch. nuditarsis* Str. (Keyl, 1961), так как у него, в отличие от *Ch. plumosus*, на Центральном Кавказе гораздо более широкий высотный диапазон распространения (*Ch. nuditarsis* – 204-1789 м над ур. м.; *Ch. plumosus* – 183-558 м над ур. м.) [24] и, следовательно, возможно, более разнообразными проявлениями взаимосвязи кариотипа с факторами среды. Стоит также отметить, что данный вид ранее не использовался в качестве модельного.

Цель работы: выявить существует ли взаимосвязь структуры кариотипа *Ch. nuditarsis* с факторами среды в условиях Центрального Кавказа.

Материал и методы. Для проведения исследования были определены 4 станции, где по ранее опубликованным данным [24] обитает *Ch. nuditarsis*: 1. В черте с. Белая Речка, заболоченный ручей под пологом леса на первой надпойменной террасе, 43°25'24.23", 43°28'41.29", 736 м. над ур. м.; 2. Верхнее Голубое озеро, 43°13'31.71", 43°33'43.59", 913 м. над ур. м.; 3. 4-5 км ниже п. Верхний Баксан, Комсомольское озеро, 43°19'32.58", 42°48'19.40", 1454 м. над ур. м.; 4. В черте п. Эльбрус, долговременная лужа, подпитываемая подпорными водами р. Баксан, 43°14'54.34", 42°38'12.72", 1789 м. над ур. м. Первые две станции относятся к терскому, а вторые две – к эльбрусскому варианту поясности в соответствии с концепцией высотно-поясной структуры А.К. Темботова [25].

Отбор проб проводили с помощью гидробиологического скребка, параметры 34x18x48 см. Прозрачность воды и глубина водоема определялась с помощью диска Секки. Температуру воды измеряли в середине каждого сезона года, во второй декаде января, апреля, июля и октября, с помощью цифрового

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

термометра. При проведении исследований также учитывали характер грунта дна водоема и трофность. Личинок для кариологического анализа фиксировали в смеси 96% этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Давленные препараты политенных хромосом готовили по рутинной этил-орсеиновой методике [17, 26]. Исследование препаратов хромосом проводили с применением микроскопа проходящего света Carl Zeiss Axio Imager.A2. Для статистического анализа (кластерный анализ) использовался пакет программ

STATISTICA 10. Использовали непараметрические методы статистики, т.к. полученные данные не соответствовали нормальному распределению. Генетические дистанции между изученными популяциями вычислялись по критерию Нея [27]. Картирование плеч хромосом А, Е и F проводили по Кейлу [28], а для плеч С и D по Деваи с соавторами [29]. Для выявления степени связи особенностей кариотипа с факторами среды определяли частоты различных генотипических сочетаний в четырех выбранных станциях.

Таблица 1. Данные измерений параметров среды в 4-х станциях исследований Центрального Кавказа за 2015г.

Станции / температуры воды	t°C янв.	t°C апр.	t°C июль	t°C окт.	t°C сред./год	Тип раст.	Высота над ур. м.	Макс глуб. м	Прозр воды, м	Трофность	Грунт дна
п. Эльбрус	+1,7	+11,2	+15,3	+12,3	+10,1	сосна	1789	0,52	до дна	мезотроф	серый ил
Комсомольское озеро	+2,5	+16,5	+20,3	+14,2	+13,3	береза	1454	3-4	>3	олиготроф	желтый ил
Верхнее Голубое озеро	+1,2	+12,5	+16,5	+10,3	+10,2	ольха	913	8-9	0,7	мезотроф	черный ил и листвен. опад
Белая речка	+3,1	+13,2	+17,5	+10,1	+10,9	ольха бук	736	0,45	до дна	мезотроф	черный ил и листвен. опад

Таблица 2. Частоты генотипических сочетаний последовательностей дисков *Ch. nudatarsis* 4-х популяций Центрального Кавказа (n – количество изученных особей)

Популяции/ Генотипические сочетания	ndt A1.1	ndt A1.2	ndt B1.1	ndt B1.2	ndt B2.2	ndt C1.1	ndt D1.1	ndt E1.1	ndt F1.1	ndt F1.2	ndt F2.2	ndt G1.1	ndt G1.2	ndt G2.2
п. Эльбрус, n=20	1	0	0,400	0,550	0,050	1	1	1	0,300	0,400	0,300	0	0	1
Комсомольское озеро, n=36	0,889	0,111	0,611	0,361	0,028	1	1	1	0,111	0,528	0,361	0,361	0,389	0,250
Верх. Голубое озеро, n=20	1	0	0,950	0,050	0	1	1	1	0,150	0,200	0,650	0,700	0,300	0
Белая речка, n=17	1	0	0,764	0,118	0,118	1	1	1	0,118	0,588	0,294	0,588	0,176	0,236

Таблица 3. Данные расчета ранговой корреляции Спирмена между показателями среды и генотипическими сочетаниями.

Параметры среды/ Генотип. сочетания	A1.1	A1.2	B1.1	B1.2	B2.2	C1.1	D1.1	E1.1	F1.1	F1.2	F2.2	G1.1	G1.2	G2.2
t январь	0,316	-0,738	0	-0,400	-0,400	-0,258	-0,258	-0,258	0,200	-0,800	0	0	-0,600	-0,400
t апрель	-0,316	-0,949	-0,800	-0,400	-0,400	-0,775	-0,775	-0,775	-0,200	-0,800	-0,800	-0,800	-1,000	-0,400
t июль	-0,316	-0,949	-0,800	-0,400	-0,400	-0,775	-0,775	-0,775	-0,200	-0,800	-0,800	-0,800	-1,000	-0,400
t октябрь	0,316	0,105	-0,400	0,800	0,800	0,258	0,258	0,258	0,600	0,400	-0,400	-0,400	-0,200	0,800
t среднегод.	-0,316	-0,949	-0,800	-0,400	-0,400	-0,775	-0,775	-0,775	-0,200	-0,800	-0,800	-0,800	-1,000	-0,400
лесообраз. порода	-0,947	-0,316	-0,400	-0,800	-0,800	-0,775	-0,775	-0,775	-1,000	-0,400	-0,400	-0,400	-0,200	-0,800
высота над ур. м.	0,632	0,632	0,200	1,000	1,000	0,775	0,775	0,775	0,800	0,800	0,200	0,200	0,400	1,000
маским. глубина	-0,632	0,211	-0,600	0,200	0,200	-0,258	-0,258	-0,258	-0,400	0,400	-0,600	-0,600	0,000	0,200
прозрачность	-0,500	-0,389	-0,949	0,105	0,105	-0,544	-0,544	-0,544	-0,211	-0,105	-0,949	-0,949	-0,632	0,105
трофность	0	0,544	0,775	-0,258	-0,258	0,333	0,333	0,333	-0,258	0,258	0,774	0,774	0,775	-0,258
характер грунта	-0,500	0,056	0,316	-0,739	-0,739	-0,272	-0,272	-0,272	-0,738	-0,211	0,316	0,316	0,316	-0,738

Примечания: параметры среды, демонстрирующие наибольшую степень связи с показателями хромосомного полиморфизма выделены полужирным шрифтом, $p < 0,05$.

Результаты исследований. Были получены предварительные данные по динамике температуры воды в течение года, а также глубине, прозрачности и

трофности исследованных водоемов (табл. 1). В рамках исследования были изучены характеристики структуры кариотипа и хромосомного полиморфизма личинок

Chironomus nuditaris из 4-х станции исследования (табл. 2). Данные по п. Эльбрус взяты из ранее опубликованной работы [24]. Для выявления возможной связи параметров среды и частот различных генотипических сочетаний в программе Statistica 10 произвели расчет ранговой корреляции Спирмена между показателями

среды и генотипическими сочетаниями (табл. 3). Также на основе данных о частотах генотипических сочетаний личинок *Ch. nuditaris* из 4-х станции были рассчитаны величины генетических дистанций между указанными популяциями по критерию Нея [27] (табл. 4).

Таблица 4. Величины генетических дистанций, между изученными популяциями вычисленные по критерию Нея [27]

	Белая речка	п. Эльбрус	Комсомол. озеро	Верх. Голубое озеро
Белая речка	0			
п. Эльбрус	0,127	0		
Комсомол. озеро	0,020	0,094	0	
Верх. Голубое озеро	0,036	0,219	0,054	0

Используя полученные данные о величинах генетических дистанции между изученными популяциями, нами была построена дендрограмма генетических дистанций по методу ближайшего соседа в евклидовом пространстве (рис. 1).

Обсуждение результатов. Полученных данных в настоящий момент недостаточно для того, чтобы говорить о выявленных закономерностях, так как измерения параметров среды проводились только в течение одного года, однако, можно сделать некоторые предварительные **выводы**:

1. Наибольшая степь связи структуры кариотипа прослеживается с такими факторами среды как, t середины апреля, июля, t среднегод., лесообразующая порода, высота над уровнем моря и прозрачность воды.

2. Частоты разных генотипических сочетаний обнаруживают различную степень корреляции с факторами среды. В целом структура кариотипа демонстрируют существенную отрицательную корреляцию с температурными факторами среды.

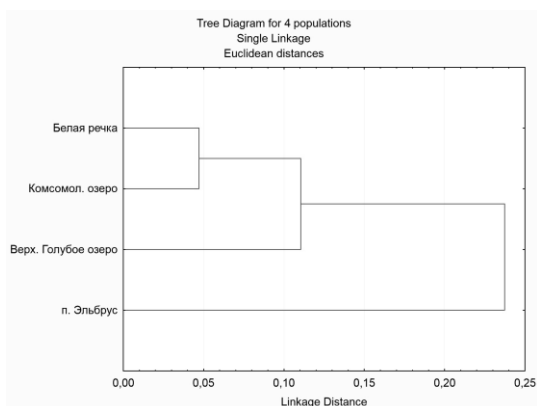


Рис. 1. Дендрограмма генетических дистанций между изученными популяциями, построенная по методу ближайшего соседа в евклидовом пространстве

3. Частоты генотипических сочетания имеют существенную положительную корреляцию с комплексом факторов связанных с высотой расположения над уровнем моря пункта исследования.

4. Между частотами генотипических сочетаний ndtA1.1, ndtB1.1, ndtF2.2, ndtG1.1, ndtG1.2 и уровнем трофности выявлена существенная положительная корреляция, которая позволяет предварительно говорить о возможности использования частот данных

сочетаний как индикаторов трофности того или иного водоема.

5. Вычисленные показатели генетических дистанций указывают на близость популяции Белая речка, Комсомольское озеро и Верхнее Голубое озеро, в то время как наиболее высокогорная популяция п. Эльбрус выпадает в отдельный кластер.

6. Имеющиеся данные пока не позволяют выявить степень связи между факторами среды и показателями кариотипа внутри отдельно взятых популяций, для чего необходимы повторные измерения параметров среды в течение более длительного времени.

В дальнейшем планируется продолжение начатых исследований степени связи факторов среды и структуры кариотипа комаров-звонцов уже с использованием автоматических регистраторов температуры для получения наиболее полной картины динамики температурного режима в станциях исследования.

Работа выполнена в рамках госзадания «Оценка биоиндикационного потенциала ресурсно-значимых беспозвоночных для практики мониторинговых исследований лесных экосистем Северного Кавказа».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Константинов, А.С. Биология хирономид и их разведение // Труды Саратовского отделения ВНИОРХ. – Саратов: ВНИОРХ, 1958. Т. 5. 358 с.
2. Полуконова, Н.В. Эколого-кариологическая оценка последствий действия экологических факторов на хирономид (Chironomidae, Diptera) / Н.В. Полуконова, И.А. Федорова // Поволжский экологический журнал. 2006. № 2/3. С. 164-175.
3. Ильинская, Н.Б. Зависимость уровня инверсионного полиморфизма от типа водоема, сезона и года наблюдений у мотыля *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae) / Н.Б. Ильинская, Н.А. Петрова, И. Матена // Общая генетика. 1999. Т. 35, №8. С. 1061-1070.
4. Krieger-Wolff, E. Chironomiden aus der Umgebung von Freiburg i. Br. (mit Besonderer Berücksichtigung der Gattung *Chironomus*) / E. Krieger-Wolff, W. Wuelker // Beitr. Naturk. Forsch. Sudw-Dischl. 1971. Bd. 30. S. 133-145.
5. Ильинская, Н.Б. Сезонная динамика хромосомного полиморфизма у мотыля *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae) / Н.Б. Ильинская, Н.А. Петрова, С.Ю. Демин // Генетика. 1988. Т. 24, №8. С. 1393-1401.
6. Шобанов, Н.А. Кариотип *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera, Chironomidae). IV: Внутри- и межпопуляционный полиморфизм // Цитология. 1994. Т. 36, №11. С. 1129-1145.
7. Michailova, P. Structural changes in the polytene chromosomes of *Chironomus valkanovi* Michailova, *Cricotopus silvestris* Staeg. and *Cricotopus varius* Fabr. (Diptera,

- Chironomidae) under the influence of various factors // Comp. Rend. Acad. Bulg. Sci. 1979. Vol. 32. P. 377-380.
8. *Matena, I.* Chromosomal polymorphism in a *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera, Chironomidae) population from pond in Southern Bohemia: a long term study // Hereditas. 1991. Vol. 115, №2. P. 145-152.
9. *Балушкина, Е.В.* Функционирование популяций хирономид в гипергалинных озерах Крыма / *Е.В. Балушкина, Н.А. Петрова* // Труды Зоол. ин-та АН СССР. 1989. Т. 205. С. 129-138.
10. *Michailova P.* Untersuchungen über den Chromosomenpolymorphismus bei *Chironomus salinarius* Kieff., *Chironomus valkanovi* Michailova und *Chironomus anchistatus* Michailova (Diptera, Chironomidae) von der bulgarischen Schwarzmeerküste // Zool. Anz. Leipzig. 1973. Bd. 191. S. 348-364.
11. *Белянина, С.И.* Влияние ботулинического токсина на генетическую активность гигантских хромосом / *С.И. Белянина, Н.П. Чеснокова, А.О. Колбеньев, Т.А. Невважай* // Бактериально-вирусные инфекции. – Саратов: Изд-во Саратов. гос. мед. ун-та, 1993. Ч. 1. С. 90-94.
12. *Полуконова, Н.В.* Клеточные механизмы адаптации хирономид в условиях длительного воздействия низких температур / *Н.В. Полуконова, А.В. Сокова, М.С. Козлов* // Окружающая среда и гигиена: Мат-лы науч.-практ. конф. – Саратов: Изд-во Саратов. гос. мед. ун-та, 2002 а. С. 78-80.
13. *Полуконова, Н.В.* Эколого-кариологический подход к исследованию популяций хирономид севера / *Н.В. Полуконова, А.В. Сокова, М.С. Козлов* // Проблемы экологии и биоразнообразия: Тез. докл. Междунар. конф. молодых ученых. – Борок, Институт биологии внутренних вод РАН, 2002 б. С. 69.
14. *Белянина, С.И.* Реакция генома эукариот на воздействие факторов среды на примере хирономин (Diptera: Chironomidae) / *С.И. Белянина, Н.В. Полуконова, Ю.В. Белогодова* и др. // Современные проблемы популяционной экологии: Мат-лы Междунар. науч.-практ. экол. конф. – Белгород: Изд-во Белгород. гос. ун-та, 2006. С. 21-22.
15. *Ильинская, Н.Б.* Изменчивость политенных хромосом слюнных желез личинок *Chironomus plumosus* в разные месяцы года / *Н.Б. Ильинская, Ф.Л. Максимова* // Цитология. 1976. Т. 18, №6. С. 747-751.
16. *Ильинская, Н.Б.* Изменение рисунка и числа дисков в политенных хромосомах *Chironomus plumosus* в разные сезоны года / *Н.Б. Ильинская, Ф.Л. Максимова* // Цитология. 1978. Т. 20, №3. С. 291-296.
17. *Демин, С.Ю.* Изменение компактности политенных хромосом из разных органов личинок мотыля *Chironomus plumosus* / *С.Ю. Демин, Н.Б. Ильинская* // Цитология. 1988. Т. 30, №4. С. 407-415.
18. *Белянина, С.И.* Кариотипический анализ хирономид (Chironomidae, Diptera) фауны СССР: дис. ... д-ра биол. наук. – М., 1983. 418 с.
19. *Филинкова, Т.Н.* Хирономиды родов *Chironomus* Meigen и *Camptochironomus* Kieffer (Diptera, Chironomidae) Полярного Урала, Ямала и Приобской лесотундры (морфология и кариотипические особенности: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб., 1995. 16 с.
20. *Кикнадзе, И.И.* Кариотипы хирономид криолитозоны Якутии: Триба Chironomini / *И.И. Кикнадзе, А.Г. Истомина, Л.И. Гундерина* и др. // Новосибирск: Наука. Сибир. отделение, 1996. 166 с.
21. *Кикнадзе, И.И.* Кариотипы и хромосомный полиморфизм сибирских видов хирономид (Diptera, Chironomidae) / *И.И. Кикнадзе, А.Г. Истомина* // Сибирский экологический журнал. 2000. №4. С. 445-460.
22. *Wuelker, W.* Karyosystematics and morphology of northern *Chironomus* (Diptera, Chironomidae): Freshwater species with larvae of the salinarius-type / *W. Wuelker, M.G. Butler* // Entomol. Scand. 1983. Vol. 14, №1. P. 121-136.
23. *Гундерина, Л.И.* Внутривидовая дифференциация цитогенетической структуры природных популяций *Chironomus plumosus* L. – центрального вида группы видов-двойников (Chironomidae: Diptera) / *Л.И. Гундерина, И.И. Кикнадзе, В.В. Голыгина* // Генетика. 1999. Т. 35, № 2. С. 193-202.
24. *Кармоков, М.Х.* Роды *Chironomus* Meigen, 1803 и *Camptochironomus* Kieffer, 1918 (Diptera, Chironomidae) Центрального Кавказа и Предкавказья: систематика, распространение и хромосомный полиморфизм: дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2013. 321 с.
25. *Соколов, В.Е.* Млекопитающие Кавказа: Насекомоядные / *В.Е. Соколов, А.К. Темботов*. – М., 1989. 548 с.
26. *Демин, С.Ю.* Кариотип комара *Chironomus entis* из группы *plumosus* в европейской части СССР / *С.Ю. Демин, Н.А. Шобанов* // Цитология. 1990. Т. 32. № 10. С. 1046-54.
27. *Nei, M.* The genetic distance between populations // American Naturalist. 1972. № 106. P. 283-292.
28. *Keyl, H.-G.* Chromosomenentwicklung bei *Chironomus*. II. Chromosomenumbauten und phylogenetische Beziehungen der Arten // Chromosoma. 1961. Bd. 13. S.464-514.
29. *Devai, Gy.* Standardization of chromosome arms B, C, and D in *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) / *Gy. Devai, M. Miskolczy, W. Wuelker* // Advances in Chironomidology: Acta. Biol. Debr. Oecol. Hung. 1989. Vol.2. Pt.1. P. 79-92.

PRELIMINARY RESULTS OF THE STUDY OF INTERRELATION OF KARYOTYPE STRUCTURE OF NON-BITING MIDGES OF GENUS *CHIRONOMUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) WITH ENVIRONMENT FACTORS IN THE CENTRAL CAUCASUS

© 2016 M.Kh. Karmokov

Institute of Ecology of Mountain territories named after A.K. Tembotov RAS, Nalchik

The preliminary results of the study of interrelation of karyotype structure of non-biting midges of genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) with environmental factors in the conditions of the Central Caucasus are presented. The obtained data allow us to conclude that the largest degree of interrelation of karyotype structure can be traced to such environment factors as, temperature in the middle of April and July, average annual, forest-forming species, altitude and transparency of water. Different genotypic combinations exhibit varying degrees of correlation with environmental factors. In general, karyotype structure shows a significant negative correlation with temperature factors.

Key words: *Chironomus*, polytene chromosomes, chromosome polymorphism, environment, temperature regime