УДК 577.4
ББК 28.082.1
Р 36

А в т о р ы

Т.В. Бабич, Д.М. Безматерных, Л.Н. Бельдеева, Ю.А. Болотская, О.В. Денисенко, П.А. Дюрин, Г.И. Егоркина, О.Н. Жихарева, В.Б. Журавлев, Д.В. Золотов, А.С. Индрик, Т.В. Кириллова, М.А. Мерлушкина, Г.Н. Мисейко, А.Е. Ножинков, В.Ю. Петров, В.Н. Плотников, Т.В. Полуэктова, Н.А. Попова, Т.А. Прохорова, Р.Е. Романов, А.В. Савоськин, М.М. Силантьева, М.В. Соловьева, Е.Ю. Стась, О.В. Эйдукайтене

Река Барнаулка: экология, флора и фауна бассейна / Под ред. М.М. Силантьевой. – Барнаул, 2000. – 224 с.

Издание и тиражирование этой книги стало возможным благодаря финансовой поддержке “Института открытое общество” - Фонд Сороса, Фонда “Глобал Грингрантс” совместно с Тихоокеанским центром охраны окружающей среды и природных ресурсов.

В этой книге собраны материалы по изучению экоситемы бассейна р. Барнаулки. Обобщены результаты многолетних исследований флоры (высшие сосудистые растения, мхи, грибы, лишайники, водоросли) и фауны (птицы, рыбы, зообентос, зоопланктон, простейшие). Произведена оценка экосистемы с использованием различных методик (фаунистических, флористических, гидробиологических, цитогенетических, химических).

Книга рассчитана на экологов, биологов, географов, учителей, студентов и учеников старших классов, а также на широкие слои населения, интересующиеся проблемами охраны окружающей среды.

Р е ц е н з е н т

кандидат биологических наук, заведующий Лаборатории водной экологии ИВЭП СО РАН В.В. Кириллов

Без объявлений

© М.М. Силантьева
© Экоклуб АлтГУ
© Коллектив авторов

КАРИОТИПЫ МАССОВЫХ ВИДОВ ХИРОНОМИД

Безматерных Д.М., Мисейко Г.Н.

Как известно, личинки хирономид (комаров-звонцов) составляют 25% видового разнообразия фауны пресноводных донных беспозвоночных (Шилова, 1986), а в р. Барнаулке - 30 %. Они встречаются повсеместно, являются важным кормовым объектом для рыбного хозяйства и хорошими биоиндикаторами в водоемах.

Кроме того, они имеют одни изсамых крупных в природе политенные хромосомы. По сравнению с обычными метафазными они достигают громадных размеров. Такие хромосомы можно найти у двукрылых в слюнных железах, мальпигиевых сосудах и других тканях. Они постоянно находятся в интерфазном состоянии и многие участки хромосом обладают функциональной активностью (Кикнадзе, 1972; Чубарева, Петрова, 1982).

Каждая из гигантских хромосом кариотипа хирономид четко может быть идентифицирована по длине и по характерному рисунку дисков. Особенности кариотипа являются важным систематическим признаком (Keyl, 1961; Ильинская, 1986; Кикнадзе и др., 1991).

Кариологический анализ, помимо точной идентификации видов, позволяет также одновременно оценивать хромосомный полиморфизм вида и, соответственно, судить о состоянии генетического аппарата отдельных особей и популяций. Наличие точных данных об уровне хромосомного полиморфизма в природных популяциях является необходимой точкой отсчета при проведении дальнейшего экологического мониторинга в условиях все возрастающих антропогенных загрязнений (Кикнадзе, Истомина, Гундерина и др., 1996).

Известно, что личинки хирономид легче, чем другие водные организмы, накапливают тяжелые металлы (ртуть, свинец, медь и др.) и другие вещества внутри своего тела благодаря высокой проницаемости их покровов. Кроме того, они постоянно обитают в донных отложениях, концентрирующих радионуклиды и тяжелые металлы, строят свои жилые домики из этих отложений и, следовательно, постоянно подвергаются воздействию загрязнителей (Кикнадзе, Истомина, Гундерина и др., 1993а). Поэтому они являются чувствительными индикаторами загрязнения водоемов (Тодераш, 1984).

Установлено, что в водоемах, испытывающих сильное антропогенное воздействие, возрастает степень гетерозиготизации популяций и увеличение числа особей с В-хромосомами. У хирономид, обитающих в условиях, близких к экстремальным, наблюдается снижение функциональной активности хромосом и увеличение степени конденсации хромонем. При этом имеется три возможных пути адаптации популяций на хромосомном уровне - инверсионный, геномный полиморфизм и изменение количества гетерохроматина (Белянина, Кузьмина, Сигарева, 1981).

Из 29 видов хирономид найденных в р. Барнаулке, были изучены кариотипы 6 видов: *Endochironomus tendens* Fabricius, *E. albipennis* Meigen, *Lipiniella moderata* Kalugina, *Chironomus acutiventris* Wulker et al., *Ch. novosibiricus* Kiknadze et al., *Glyptotendipes glaucus* Meigen.

В качестве модельных видов для цитогенетического мониторинга на Алтае уже были рекомендованы: *G. glaucus* и *L. moderata* (Кикнадзе, Истомина, Гундерина и др., 1993а). По мнению И.И. Кикнадзе с соавторами (1993а), среди обнаруженных видов следует обратить особое внимание на *L. moderata* и *Ch. novosibiricus*, кариотипы которых описаны недавно, а ареал и хромосомный полиморфизм не известны. На Алтае эти виды оказались массовыми.

Материалы и методика. Материал собирали по стандартной гидробиологической методике, на разных участках р. Барнаулки: в районе устья р. Пивоварки, выше Лесного пруда, в районе устья р. Власихи, у с. Черемного и в истоках. Личинок фиксировали в смеси этанол - ледяная уксусная кислота (3:1) и хранили в холодильнике. Каждую пробу сопровождали полной этикеткой, с указанием места сбора, даты, номера пробы, грунта, глубины и фамилии сборщика.

Прежде чем приступить к препарированию личинок и приготовлению «морфологического» препарата, из грудного отдела извлекали слюнные железы, необходимые для приготовления цитологических препаратов. Затем личинку промывали в воде, отделяли задний конец тела (с VI брюшного сегмента) и клали его на брюшную сторону или боком (*Chironomus*) на предметное стекло в каплю жидкости Фора-Берлезе, а головную капсулу, нижней стороной кверху помещали на то же стекло в другую каплю. Затем каждую каплю накрывали покровным стеклом.

Изолированные слюнные железы помещали в каплю 45%-й уксусной кислоты, затем замещали ее раствором ацет-орсеина. Окрашивание продолжалась 10 - 20 минут. Важно не дать капле красителя высохнуть, для чего время от времени его необходимо добавлять. После окрашивания изолированные органы отмывали от излишков красителя с помощью 45 %-й уксусной кислоты, постепенно оттягивая ее уголками фильтровальной бумаги. Затем следовали три смены молочной кислоты (15-, 25-, 50%-й) по 1 - 2 мин. В молочной кислоте происходила дифференцировка степени окрашивания и лучшее расправление хромосом. В последней смене молочной кислоты слюнные железы освобождали от секрета, его удаляли с предметного стекла, оставшиеся секреторные клетки осторожно накрывали покровным стеклом. Избыток молочной кислоты аккуратно удаляли фильтровальной бумагой. Подобные препараты можно хранить в холодильнике 1 - 1,5 мес.

В качестве объективных документов по морфологии хромосом служили микрофотографии, изготовленные при помощи микрофотонасадки или специального микроскопа со встроенной фотокамерой («Opton»).

Каждую хромосому, в зависимости от длины, фотографировали целиком или по частям на нескольких кадрах. После печати фотоснимков следовало монтирование фотографий хромосом: все части каждой хромосомы вырезали и последовательно склеивали, воссоздавая целую хромосому. Затем смонтированные хромосомы всего кариотипа наклеивали на белую плотную бумагу.

Результаты исследования. Ниже представлены описания кариотипов изученных нами видов, а также оригинальные фотографии кариотипов и некоторых хромосомных перестроек.

***Chironomus novosibiricus* Kiknadze, Siirin, Kerkis et Aimanova (рис. 1 и 2)**

Описание кариотипа и цитофотокарты представлены И.И. Кикнадзе, с соавторами (1993б) и М.Т. Сиирин (1996). Первоначально вид описан как *Camptochironomus* sp *№1* (Кикнадзе, Шилова, Керкис и др., 1991).

Число хромосом 2n=6; сочетание плеч *AB, CF, GED* (модифицированный цитокомплекс *camptochironomus*); имеет место теломер-теломерное слияние плеч *E* и *G*; хромосомы *AB* и *CF* - метацентрические или слегка субметацентрические; хромосома *GED* - субметацентрическая; ядрышко одно, локализовано в плече *G*. Характерной чертой кариотипа *Ch. novosibiricus* является постоянные эктопические спаривания хромосом своими теломерными концами. При этом образуются длинные цепи из соединенных друг с другом хромосом. Для данного вида характерен высокий уровень хромосомного полиморфизма. Доля личинок, гетерозиготных по инверсиям, равна 89%. Среднее чис-

ло инверсий на одну особь равно 1,9. Гомо- и гетерозиготные инверсии были обнаружены в 5-ти из 7-ми хромосомных плеч. Мономорфными были лишь плечи *F* и *G*. Всего выявлено 13 различных последовательностей дисков, образующих 17 генотипических сочетаний. В барнаульских популяциях выявлено 4 типа инверсий (рис. 2).

Ввиду малой известности вида, описанного недавно, ниже дана краткая морфологическая характеристика личинки. Личинки данного вида имеют характерную морфологию, позволяющую легко отличать их от личинок других, симпатричных с ним видов р. *Chironomus* (*Ch. annularius, Ch. gr. riihimakiensis*) по вентральным отросткам и окраске головной капсулы. Личинки красные, среднего размера (перед окукливанием достигают 11-13 мм), на 11-м сегменте тела имеются две пары вентральных отростков одинаковой длины с округлыми концами, длина второй пары едва достигает середины 12-го сегмента. Латеральные отростки отсутствуют. Головная капсула желтая с коричневым овальным пятном на фронтальном склерите. Вентральная сторона головной капсулы интенсивно окрашена. Гулярный склерит черный вплоть до ментума, к нему примыкают темноокрашенные полосы. 4-й боковой зубец ментума ниже 5-го зубца. Базальный зубец ментума слабо окрашен.

***Chironomus acutiventris* Wulker, Ryser et Scholl (рис. 3 и 4)**

Кариотип вида впервые был изучен В. Вюлкером с соавторами (Wulker**,** Ryser, Scholl, 1983) в популяциях из Германии и Швейцарии. Краткие сведения о кариотипе *Ch. acutiventris* были представлены М.Т. Сиирин (1996) для енисейской популяции. Кариотип – 2n=8, сочетание хромосомных плеч: *AB, CD, EF, G* (комплекс *thummi*). Характерной чертой кариотипа *Ch. acutiventris* из р. Барнаулки является перетяжка в плече *A* вблизи центромерного района. В дистальной части плеча находится большой пуф. Гомологи плеча *G* не конъюгируют совсем или конъюгируют частично в дистальном районе, ядрышко находится вблизи центромеры, два кольца Бальбиани (КБ) лежат в дистальной части плеча *G* и отделены от проксимальной его части тонкой перетяжкой (Истомина, Кикнадзе, Сиирин, 1999).

Кариотип сибирского *Ch. acutiventris* достаточно полиморфный, в р. Барнаулке 74 % личинок имели гетерозиготные инверсии с числом инверсий на особь 1,08. Плечи *A, B* и *G* оказались мономорфными, в плечах *C, D, E* и *F* обнаружены простые и сложные гетеро- и гомозиготные инверсии. Обнаружено 17 последовательностей дисков, из них 6 ранее не встречались в европейских популяциях (Истомина, Кикнадзе, Сиирин, 1999).

Личиннка типа fluviatilis (по классификации Н.А. Шобанова и др. (1996)) с длинными, заостренными латеральными отростками. По морфологии личинка очень близка к *Ch. heterodentatus* Konstantinov (по определителю В.Я. Панкратовой (1983)).

***Endochironomus albipennis* Meigen (рис. 5)**

Впервые описание кариотипа и цитофотокарты этого вида были представлены С. И. Беляниной, а также П. Михайловой с соавторами (см.: Кикнадзе, Шилова, Керкис и др., 1991; Кикнадзе, Истомина, Гундерина и др., 1996). Диплоидное число хромосом в кариотипе *E. albipennis* редуцировано, 2n=6. В клетках с политенными хромосомами выявляются три длинных хромосомы примерно равной длины. Согласно П. Михайловой, хромосомные плечи обозначаются у *E. albipennis* следующим образом: хромосома I - плечи *A* и *D,* хромосома II - плечи *B* и *C,* хромосома III - плечи *GE* и *F*. Центромерные районы выражены нечетко. Описано одно ядрышко - в хромосоме I. Однако в хромосоме II близ обоих концов имеются очень крупные пуфы, по морфологии соответствующие ядрышкам. Характер-

ным маркером кариотипа *E. albipennis* могут служить два КБ в центре хромосомы I, близко расположенные один к другому. Еще одно КБ наблюдается в хромосоме III. Хромосомный полиморфизм детально не изучен.

***Endochironomus tendens* Fabricius (рис. 6)**

Описание кариотипа и фотокарты этого вида впервые были представлены С. И. Беляниной и P. Michailova, P. Gercheva (см.: Кикнадзе, Шилова, Керкис и др., 1991). 2n=6. Сочетание плеч *EF* (I), *CD* (II), *AB* (III). Соотношение длин хромосом: I=II=III. Все хромосомы метаценрические. Центромерные хромосомы крупные гетерохроматизированные. Ядрышко и кольца Бальбиани во второй хромосоме. Хромосомный полиморфизм высокий. Выявлено более 17 типов хромосомных перестроек. Обнаружены B - хромосомы. Нами хромосомный полиморфизм в р. Барнаулке пока не изучен.

***Glyptotendipes glaucus* Meigen (рис. 7)**

Впервые описание кариотипа, цитофотокарты и сведения о хромосомном полиморфизме вида представлены Г.Н. Мисейко, Б.Х. Минсариновой (1974), а также Н.А. Петровой, П. Михайловой (см.: Кикнадзе, Шилова, Керкис и др., 1991; Кикнадзе, Истомина, Гундерина и др., 1996). Диплоидное число хромосом в кариотипе *G. glaucus* - 2n=8. В клетках с политенными хромосомами имеются четыре хромосомы, из которых хромосомы I (*AB*) и II (*CD*) - длинные, хромосома III (*EF*) - более короткая и хромосома IV (*G*) - еще короче. Центромерные районы выражены нечетко. Кариотип полинуклеолярный: наиболее крупное ядрышко находится близ центромерного плеча *G,* рядом с ним, по-видимому, имеется еще одно ядрышко; в крупных хромосомах также наблюдаются ядрышки, степень развития которых варьирует у разных личинок. Два кольца Бальбиани имеются в средней части плеча *G.* Все хромосомные плечи оказались полиморфны. Найдено 13 парацентрических инверсий. В барнаульских популяциях хромосомный полиморфизм пока не изучен.

***Lipiniella moderata* Kalugina (рис. 8)**

Описание кариотипа и цитофотокарты впервые были представлены И.И. Кикнадзе с соавторами (Кикнадзе, Керкис, Шилова, 1989; Kiknadze, Kerkis, Shilova, 1989). 2n=4, метафазные хромосомы представлены парой метацентрических и парой коротких акроцентрических хромосом, две политенные хромосомы в клетках слюнных желез значительно различаются по длине, центромерные районы морфологически не выражены. Ядрышек три: одно в хромосоме I, два в хромосоме II. Колец Бальбиани четыре: одно в хромосоме I, три в хромосоме II, третье развивается только в клетках специальной доли. Уровень хромосомного полиморфизма высок. Перестройки найдены в обоих хромосомах: по одной инверсии в плечах I*L* и I*R* и два типа инверсий в хромосоме II. В популяциях р. Барнаулки хромосомный полиморфизм пока не изучен.

Ввиду малой известности вида, описанного недавно, ниже даем краткую морфологическую характеристику личинки. Личинка длиной 8 - 10 мм, розово-красная. Близ задних углов VIII брюшного сегмента пара хорошо развитых вентральных отростков, их длина значительно меньше длины задних подталкивателей и почти равна 1/2 длины сегмента. Голова светло-желтая, вентрально близ затылочного склерита с темным рисунком, меньшего, чем у *L. arenicola* Shilova, размера и чуть слабее выраженным. Клипеус слит с лабрумом и фронтальным склеритом. Между S3 и S4 находится неправильной округлой формы пятно - слабо склеротизированный участок головной капсулы с морщинистой структурой. Личинка отличается от *L. arenicola* меньшими размерами тела и шириной головной капсулы, хорошо развитыми вентральными отростками.

Заключение. Изучение кариотипов массовых видов хирономид позволило уточнить систематическое положение восьми видов хирономид. Обнаружены три недавно описанных вида (*Ch. acutiventris, Ch. novosibiricus* и *L. moderata.*), чей ареал еще практически не изучен.

Большую благодарность за помощь в исследовании кариотипов хирономид выражаем сотрудникам лаборатории клеточной биологии Института цитологии и генетики СО РАН, и лично д.б.н., проф. И.И. Кикнадзе и к.б.н., с.н.с. А.Г. Истоминой.

Литература

1. Белянина С.И., Кузьмина К.А., Сигарева Л.Е. Влияние естественных и антропогенных факторов на кариофонды природных популяций хирономид // Тез. докл. IV Всесоюзного гидробиол. общества, Киев 1 - 4 декабря 1981 г., ч. 2. - Киев: Наукова думка, 1981. - С. 17 - 18.
2. Ильинская Н. Б. Фенотипическая изменчивость политенных хромосом у хирономид // Эволюция, видообразование и систематика хирономид. - Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1986. - С. 97 - 103.
3. Истомина А.Г., Кикнадзе И.И., Сиирин М.Т. Кариологический анализ видов Chironomus группы obtusidens Алтая (Diptera, Chironomidae) // Цитология Т. 41, № 12, 1999. - С. 1022 - 1031.
4. Кикнадзе И.И. Функциональная организация хромосом. – М.-Л.: Наука, 1972. – 211 с.
5. Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Гундерина Л.И. и др. Кариофонды хирономид криолитозоны Якутии. - Новосибирск: ИЦиГ СО РАН. - 1996. - 160 с.
6. Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Гундерина Л.И. и др. Цитогенетический мониторинг природных популяций хирономид Алтая в условиях антропогенных загрязнений // Генетические эффекты антропогенных факторов среды. Вып. 1. Исследование последствий радиационных загрязнений районов Алтайского края. - Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1993а. - С. 62 - 79.
7. Кикнадзе И.И., Керкис И.Е. Шилова А.И. Кариотипы хирономид рода Lipiniella Shilova // Цитология, 1989, Т. 31, № 5. – С. 576 – 581.
8. Кикнадзе И.И., Сиирин М.Т., Керкис И.Е. и др. Необычный цитологический комплекс у хирономид // Цитология, Т. 35, № 1, 1993б. - С. 46 - 52.
9. Кикнадзе И.И., Шилова А.И., Керкис И.Е. и др. Кариотипы и морфология личинок трибы Chironomini. Атлас. - Новосибирск: Наука, 1991. - 115 с.
10. Мисейко Г.Н., Минсаринова Б.Х. Кариологическая структура природных популяций двух видов комаров рода Glyptotendipes // Цитология. - 1974 - Т.16, № 7 - С. 893 - 896.
11. Панкратова В.Я. Личинки и куколки комаров подсемейства Chironominae фауны СССР (Diptera, Chironomidae = Tendipedidae). - Л.: Наука, 1983. - 296 с.
12. Сиирин М.Т. Пути эволюции хирономид трибы Chironomini (Diptera, Chironomidae): Дис... канд. биол. наук. - Новосибирск, 1996. - 187 с.
13. Тодераш И.К. Функциональное значение хирономид в экосистемах водоемов Молдавии. - Кишинев: Штиинца, 1984. - 172 с.
14. Чубарева Л.А., Петрова Н.А. Цитологический метод анализа хромосом у хирономид // Методическое пособие по изучению хирономид. - Душанбе: Дониш, 1982. - С. 64 - 73.
15. Шилова А.И. Современное состояние систематики хирономид // Эволюция, видообразование и систематика хирономид. - Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1986. - С. 3 - 12.

16.Шобанов Н.А., Шилова А.И., Белянина С.И. Объем и структура рода Chironomus meig. (Diptera, Chironomidae): обзор мировой фауны // Экология, эволюция и систематика хирономид. – Тольятти, Борок: ИБВВ и ИЭВБ РАН, 1996.- С. 44 - 96.

17.Keyl H.-G. Die cytologische Diagnostik der Chironomiden. III. Diagnose von Chironomus parathummi n. sp. und Erganzungen zur Bestimmungstabelle // Arch. Hydrobiol., 1961. - Bd. 58. - S. 1 - 6.

18.Kiknadze I.I., Kerkis I.E., Shilova A.I. A reviev of the species of the genus Lipiniella Shilova (Diptera). 1. L. arenicola Shil. and L. moderata Kalug. // Acta Biol. Debr. Oecol. Hung. - 1989. - Vol. 2 - P. 115 - 128.

19.Wulker W., Ryser H.M., Scholl A. Revision der Gattung Chironomus Meigen (Diptera). VIII. Arten mit Larven des fluviatilis-Typs (obtusidens-Gruppe): C. acutiventris n. sp. und C. obtusidens Goetgh. // Revue suisse Zool. - 1983. - Vol. 90, N 3 - P. 725 - 745.

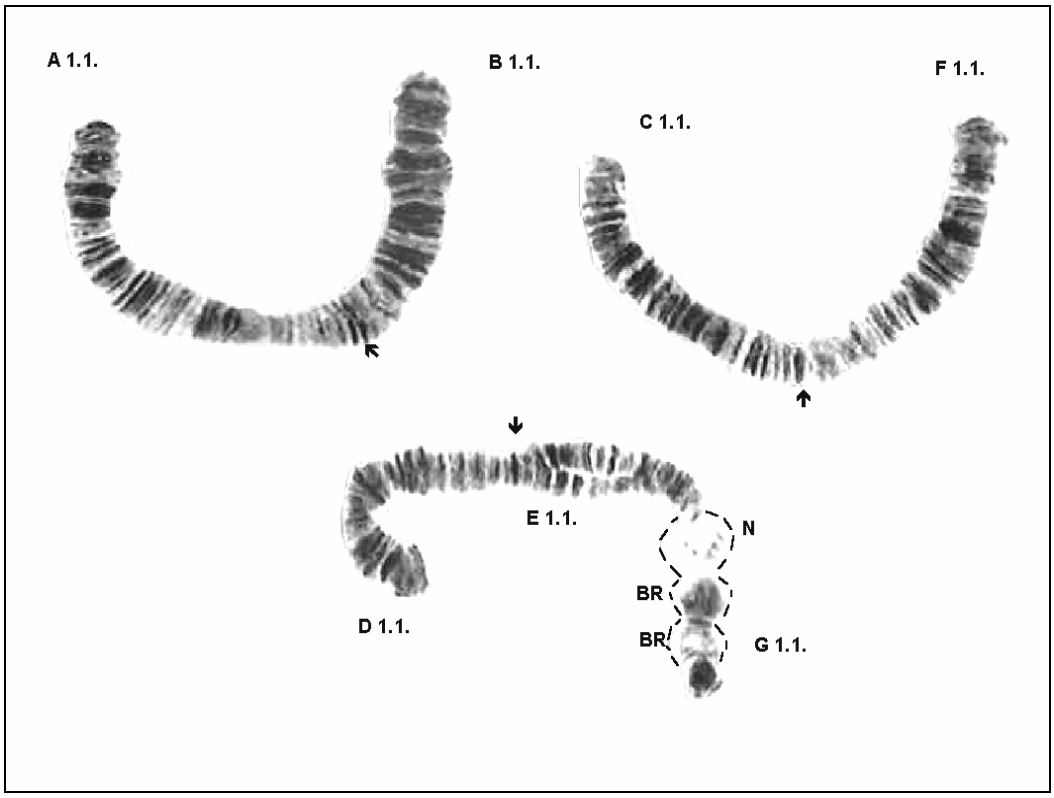

Рис. 1. Кариотип *Chironomus novosibiricus:*
здесь и далее **A - G** - плечи хромосом, стрелка - центромера,
N - ядрышко, **BR** - кольца Бальбиани

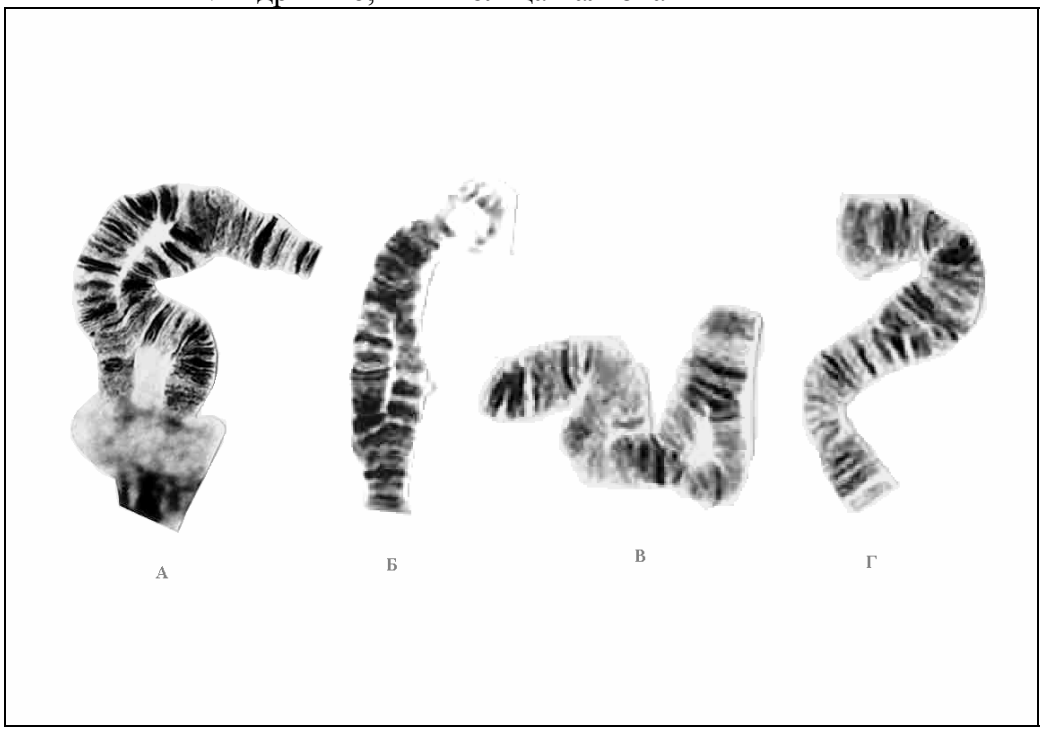

Рис. 2. Хромосомные перестройки *Chironomus novosibiricus:*
А - включенная гетерозиготная инверсия в плече *E* 1.2.,
Б - простая гетерозиготная инверсия в плече *E*,
В - включенная гетерозиготная инверсия в плече *D*1.2.,
Г - микроинверсия в плече *B*

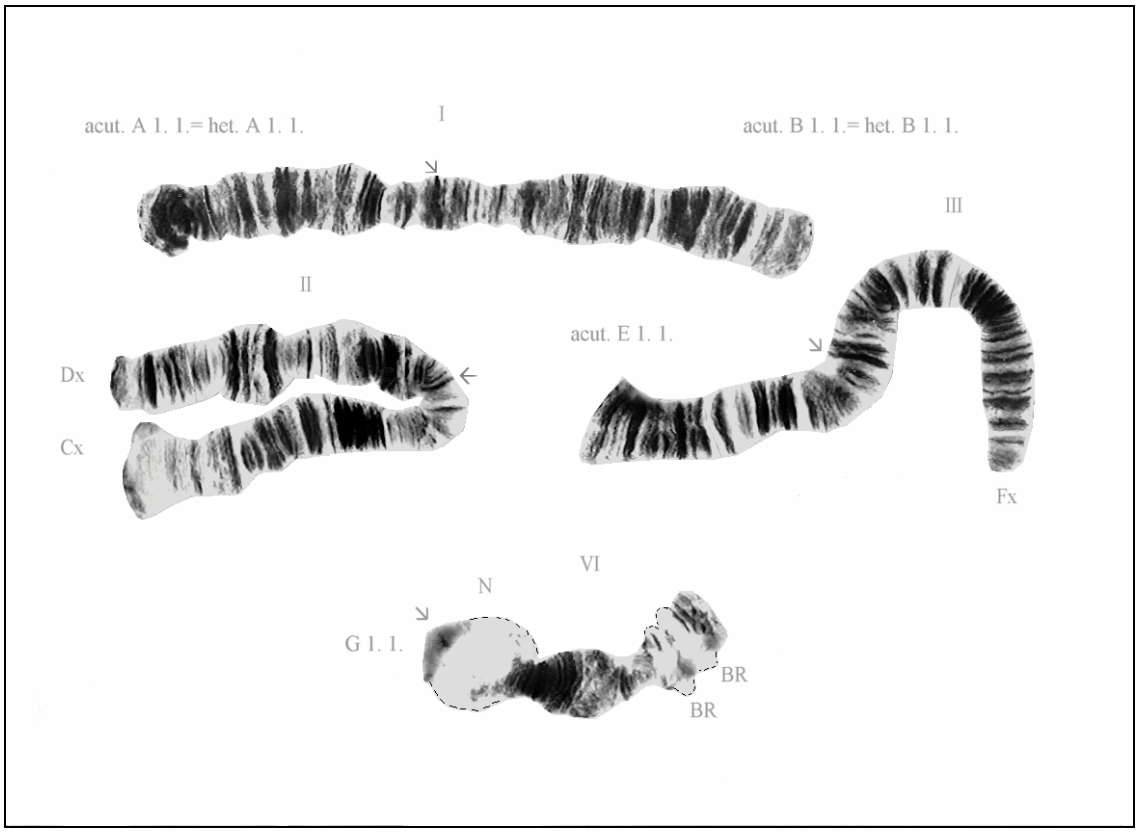

Рис. 3. Кариотип *Chironomus acutiventris*

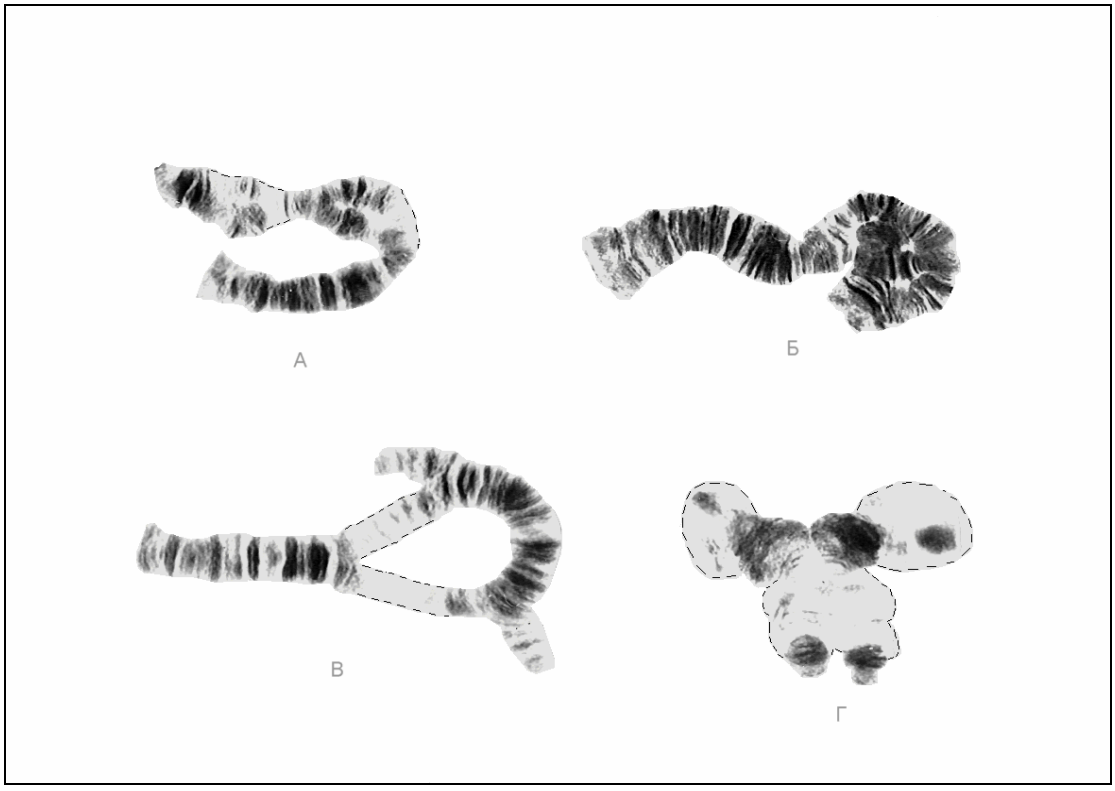

Рис. 4. Хромосомные перестройки *Chironomus acutiventris*:
А - включенная гетерозиготная инверсия в плече *D*,
Б - сложная гетерозиготная инверсия в плече *D*,
В - простая гетерозиготная инверсия в плече *F,*
Г - расхождение гомологов в плече *G.*

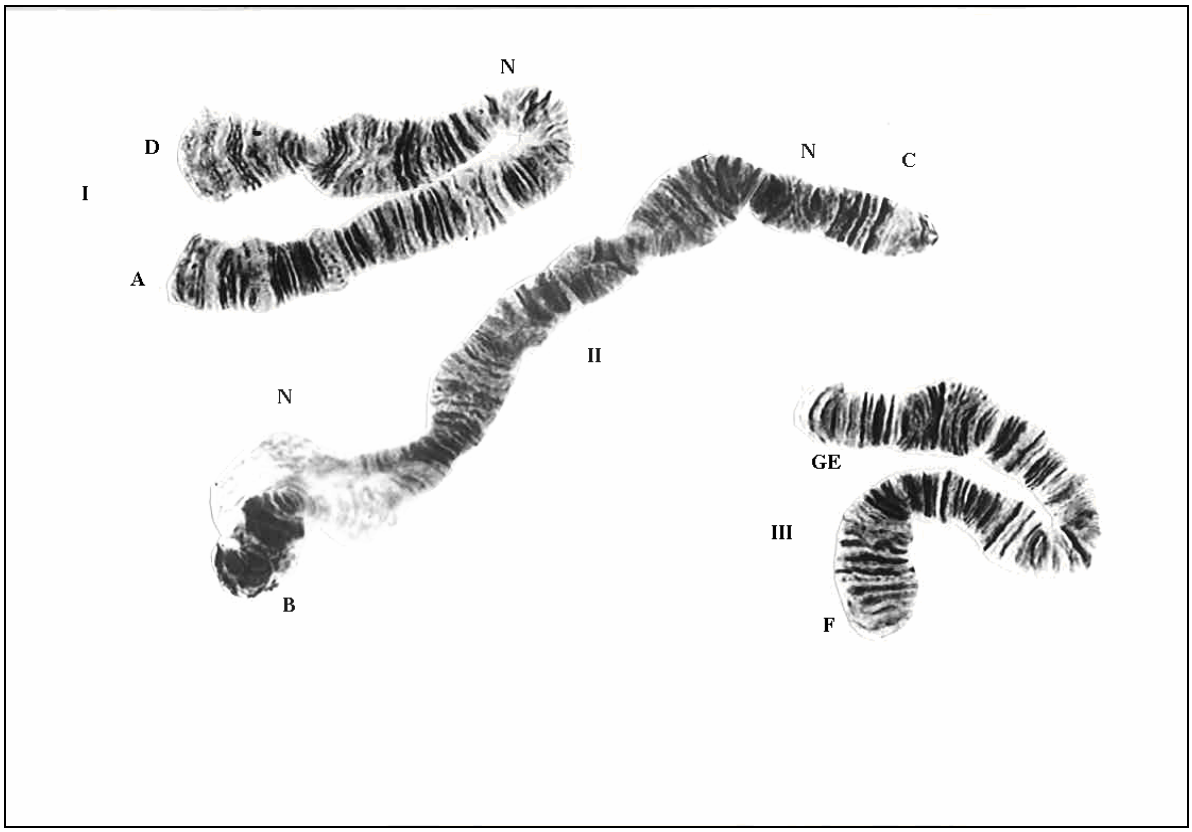

Рис. 5. Кариотип *Endochironomus albipennis*

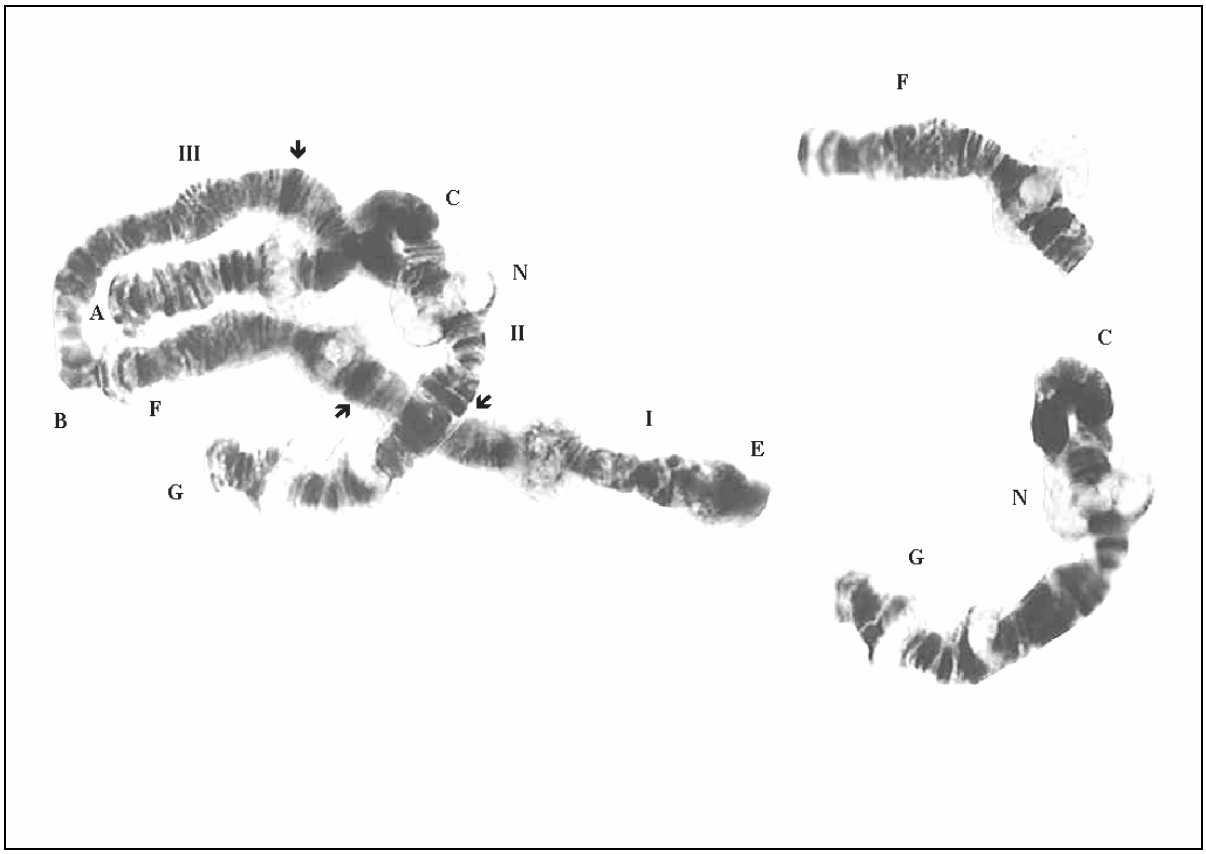

Рис. 6. Кариотип *Endochironomus tendens*

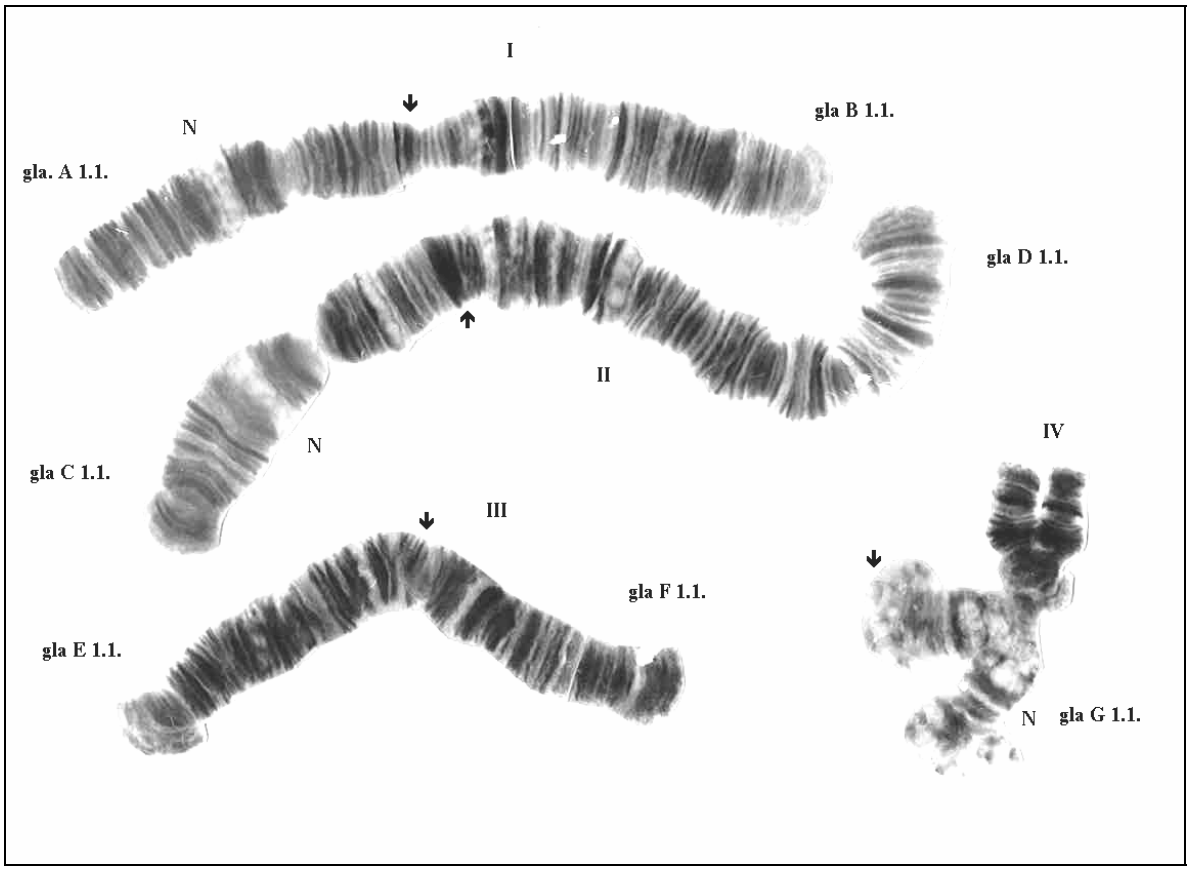

Рис. 7. Кариотип *Glyptotendipes glaucus*

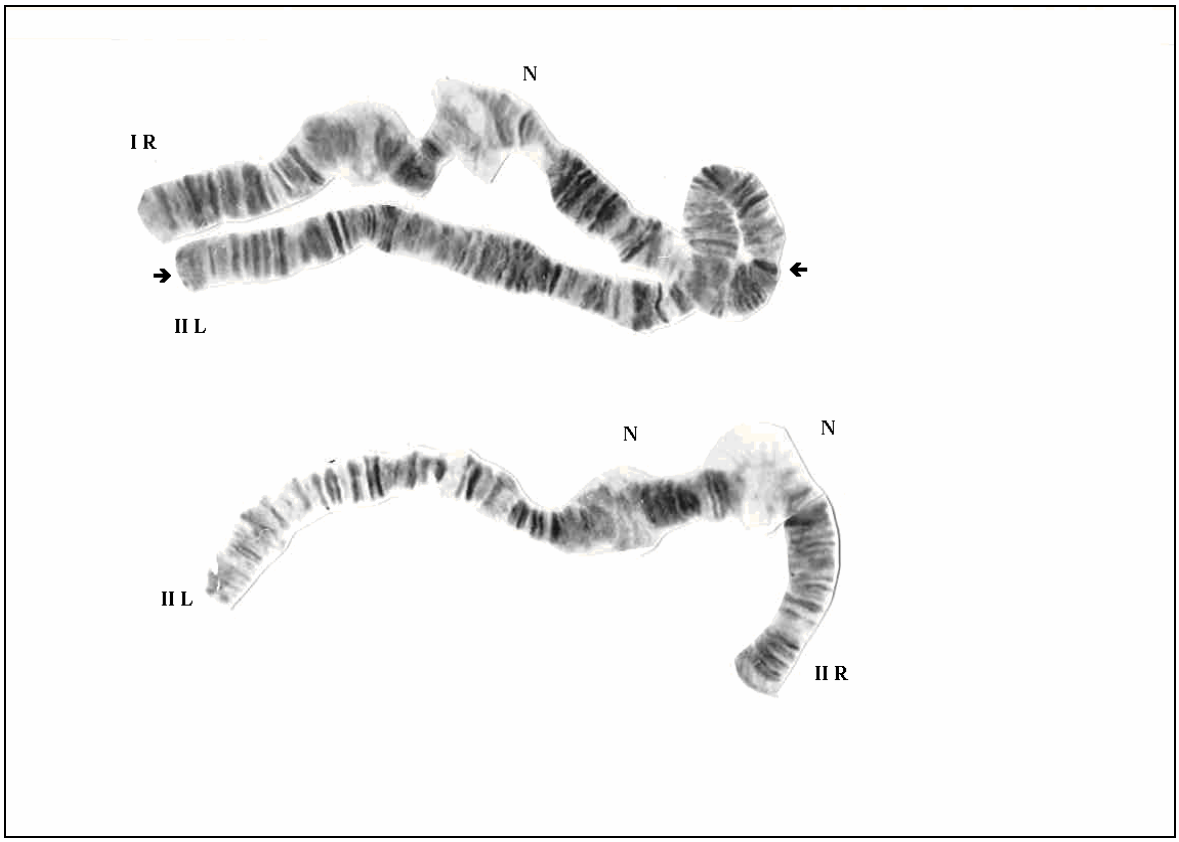

Рис. 8. Кариотип *Lipiniella moderata*