

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *STENOCHIRONOMUS GIBBUS* (FABRICIUS, 1794)
(DIPTERA, CHIRONOMIDAE) — ОБЛИГАТНОГО МИНЕРА
РАЗЛАГАЮЩЕЙСЯ ДРЕВЕСИНЫ**

© Н. А. Дурнова

Саратовский государственный медицинский университет;
электронный адрес: ndurnova@mail.ru

Впервые описан кариотип комара-звонца *Stenochironomus gibbus* F. (Diptera, Chironomidae), личинки которого минируют затопленную древесину. $2n = 8$. Хромосомы I(AB) \geq II(CD) \geq II(EF) $>$ IV(G). Особенности структуры политетенных хромосом — низкая степень политеинии и слабое развитие активных районов — обусловлены, вероятно, сниженной функцией слюнных желез личинок, не строящих паутинных домиков.

Ключевые слова: кариотипы, политетные хромосомы, хромосомный полиморфизм, *Stenochironomus gibbus*.

Хирономиды (Diptera, Chironomidae) являются уникальным модельным объектом для исследования закономерностей микроэволюционных процессов в популяциях, так как наличие политетенных хромосом позволяет успешно выявлять хромосомные перестройки и анализировать уровень внутривидовой и межвидовой хромосомной изменчивости (Кикнадзе и др., 1996, 2004; Гундерина, 2001; Кикнадзе, 2008).

Несмотря на значительный прогресс в изучении кариотипов представителей семейства Chironomidae и особенно подсемейства Chironominae, провести детальный анализ рисунка дисков хромосом и оценку хромосомного полиморфизма, проследить пути кариотипической эволюции удалось в основном для видов *Chironomus* (Wüller, 1980; Шобанов, 2005; Кикнадзе и др., 2007). Это обусловлено четкой дисковой структурой политетенных хромосом у большинства видов *Chironomus* и наличием высокой степени гомологии по последовательностям дисков. Недостаточная кариотипическая изученность до сих пор характерна для многих хирономид, в том числе и для видов, личинки которых ведут специфический образ жизни, минируя погруженные в воду субстраты.

Большинство хирономид-минеров сохранили способность жить свободно, т. е. минирующий образ жизни они ведут факультативно и не обнаруживают узкой к нему приспособленности, и только немногие из них (представители родов *Demeijeria* Kruseman, 1933; *Xenochironomus* Kieffer, 1916; *Stenochironomus* Kieffer, 1921) проводят жизнь исключительно в минах (Черновский, 1949).

Личинки *Stenochironomus* являются узкоспециализированными минерами растительных остатков, прежде всего погруженной разлагающейся древесины, и дают значительную биомассу (Черновский, 1949; Калугина, 1958, 1960; Панкратова, 1986). В Палеарктике известно 17 видов этого рода, в России — 6 видов (Зорина, 2006). В литературе имеется мало сведений о распространении видов

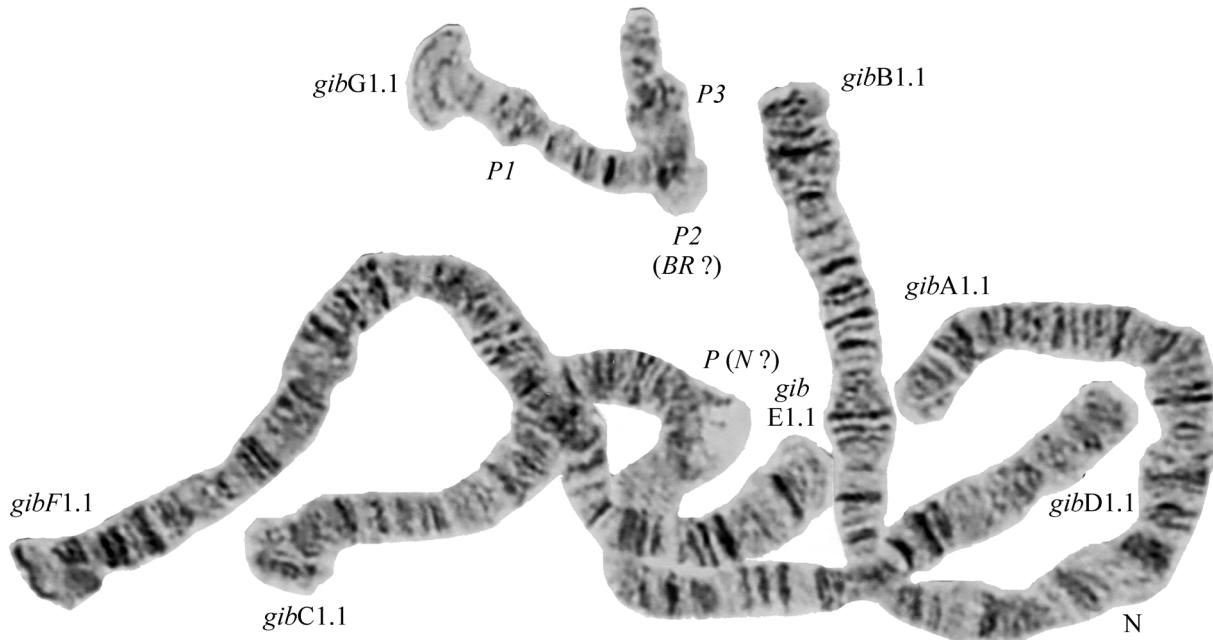
Stenochironomus, так как при использовании обычных гидробиологических методов сбора хирономид личинки этого рода в пробах, как правило, отсутствуют. В р. Волге у г. Саратова был найден только один вид рода — *S. falcipennis* (Zetterstedt, 1838) (Мисейко, 1966). Излюбленным местом обитания другого вида — *S. gibbus* (Fabricius, 1794) — служит лубяной слой затопленных деревьев, при этом личинки *S. gibbus* настолько узко приспособлены к обитанию внутри древесины, что на поверхность субстрата не выходят, ползать и плавать не умеют (Черновский, 1949).

Кариотипически виды этого рода почти не изучены; только для *S. falcipennis* указаны хромосомное число ($2n = 8$) и некоторые особенности кариотипа — наличие ядрышкового организатора в хромосоме I и двух колец Бальбии в хромосоме IV, морфологически невыраженные центромерные районы (Белянина, 1983). Изучение кариотипов видов *Stenochironomus* актуально в связи с тем, что узкоспециализированный образ жизни личинок его видов, вероятно, может не только обуславливать морфологические адаптации, но и влиять на организацию наследственного аппарата клеток и уровень хромосомной изменчивости. Анализ кариотипа, несомненно, важен для видовой диагностики личинок хирономид, различия между которыми, как известно, гораздо менее выражены, чем различия между имаго.

Цель работы — описать кариотип *Stenochironomus gibbus* и проанализировать цитогенетические особенности этого вида.

Материал и методика

Изучены кариотипы личинок *S. gibbus* из двух водоемов Саратовской обл. — р. Медведицы (17 июля 2000 г.; 12 особей) и р. Терешки (10 августа 2005 г.; 44 особи). Личинки были обнаружены в лубяном слое затопленных

Рис. 1. Кариотип *Stenochironomus gibbus* F.

Обозначение хромосомных плеч: *gibA1.1*, *gibB1.1*, *gibC1.1*, *gibD1.1*, *gibE1.1*, *gibF1.1*, *gibG1.1*. *N* — ядрышко, *p* — пuffs.

стволов и ветвей деревьев, откуда их при сборе осторожно извлекали и фиксировали в смеси 96%-ного этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3 : 1). Определение вида проводили по морфологии личинки (Панкратова, 1983; Pinder, Reiss, 1983). Препараторы политеческих хромосом из клеток слюнных желез личинок IV возраста изготавливали по этил-орсениевой методике (Демин, Шобанов, 1990). Изучение и фотосъемку кариотипов проводили под микроскопом «Люмам ИЗ» при увеличениях ок. 15× об. 40× (либо об. 90×). Для фотосъемки применяли цифровой фотоаппарат «Практика DC 44». Обработку цифровых изображений проводили с использованием программ PhotoShop 6.0 и CorelDrawX3.

Результаты

Впервые проведены измерение политеческих хромосом *S. gibbus* и их обозначение начиная с самой длинной. Каждая хромосома подразделена на отделы с маркировкой дисков внутри них буквами английского алфавита. Выявлены активные районы (*N* — ядрышко, *BR* — кольцо Бальбиани, *p* — пuffs). Введено современное обозначение хромосомных последовательностей — после сокращенного видового названия (*gib*) поставлены обозначение хромосомного плеча и номер последовательности (например, *gibA1.1* и т. д.). Выявлены наиболее характерные маркеры хромосомных плеч.

Кариотип $2n = 8$ (рис. 1). В кариотипе три длинные и одна короткая хромосома. I(AB) \geq II(CD) \geq II(EF) IV(G). Центромеры морфологически не выражены. Во всех клетках слюнной железы политеческие хромосомы имели относительно низкую степень политечии (иногда сохраняли меандрическую структуру), часто на препаратах хромосомы оставались сплетенными в клубок. Центромеры морфологически не выражены. Активные районы: ядрышко в хромосоме I (и, возможно, в хромосоме

II); от одного до трех слабо выраженных пuffs (p_2 , возможно, является кольцом Бальбиани) в хромосоме IV.

На цитофотокарте политеческих хромосом *S. gibbus* (рис. 2) выделены небольшие отделы, в каждом из которых буквами отмечены относительно крупные диски.

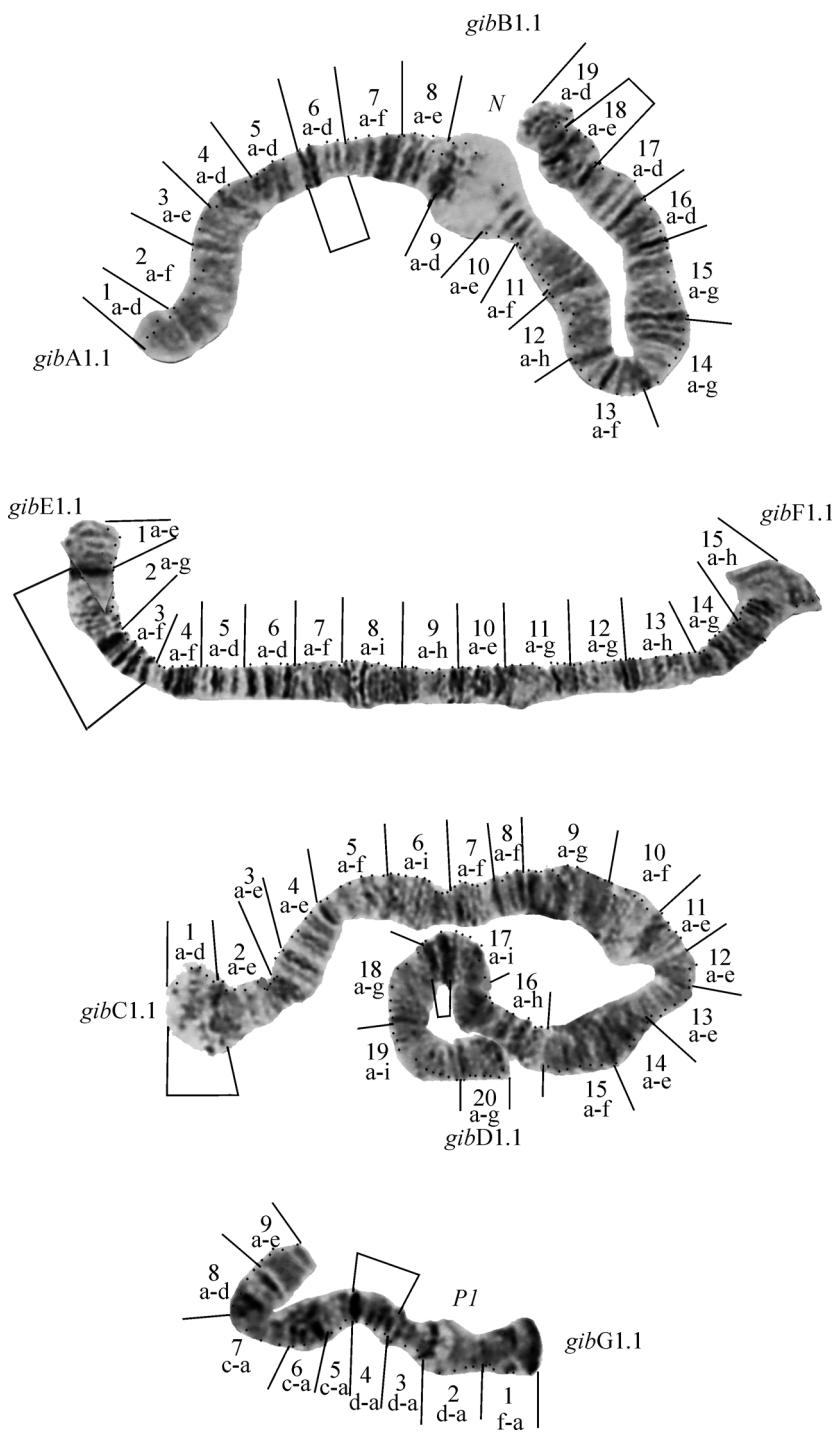
Хромосома I (AB). 100—140 (116) мкм. Разделена на 19 отделов. В центральной части хромосомы (отдел 9) находится ядрышко. Плечо *gibA* хорошо маркируется перетяжкой и двумя четкими дисками рядом с ней (отдел 6). Дистальный участок плеча *gibB* имеет характерное строение — две перетяжки ограничивают небольшой участок большего диаметра в отделе 18, который содержит три темных диска.

Хромосома II (CD). 87.5—140 (115) мкм. Разделена на 20 отделов. В отделе 10 может развиваться пuff (возможно, ядрышко). Дистальный участок плеча *gibC* деконденсирован и веерообразно расширен. Плечо *gibD* маркируется двумя толстыми дисками в отделе 17.

Хромосома III (EF). 80—140 (102.5) мкм. Разделена на 15 отделов. Плечо *gibE* маркируется темным диском, расположенным недалеко от теломеры в отделе 2, за ним следует участок, включающий в себя несколько тонких дисков, в отделе 3 — четыре темных четких диска. Плечо *gibF* характеризуется веерообразно расширенным теломерным районом.

Хромосома IV (G). 42.5—52.5 (50.5) мкм. Разделена на 9 отделов. Может содержать от одного (рис. 2) до трех (рис. 1) активных районов (p_2 морфологически сходен с *BR*). Маркерами являются темный гетерохроматиновый блок и три четких диска в отделе 4. Терминально (в отделе 1) расположен толстый диск, который, возможно, является центромерой.

Хромосомных перестроек у *S. gibbus* пока не зарегистрировано. Так как у близкого вида — *S. fascipennis* (Белянина, 1983) — были отмечены инверсии в хромосомах II и III, не исключается возможность их обнаружения и в кариотипах личинок *S. gibbus*.

Рис. 2. Хромосомная карта *Stenochironomus gibbus* F.

Цифрами обозначены отделы хромосом, латинскими буквами — диски, квадратными скобками — маркерные зоны. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Обсуждение

Слюнные железы личинок хирономид имеют четко выраженную тканеспецифическую функцию — выработку слизистых нитей для построения домиков личинок и их ловчих сетей — и, следовательно, имеют тканеспецифический продукт — секреторные гликопротеины (Кикнадзе, 1985). Гены, кодирующие гигантские секреторные белки, локализованы в области колец Бальбииани

(BR) (Кикнадзе, 1985; Жимулев, 1994). Отмечена определенная корреляция между числом BR в кариотипах и экологией хирономид разных родов — меньше всего BR у хищников, личинки которых вообще не строят домиков из секреторных гликопротеинов, и у видов *Glyptotendipes*, миниирующих водные растения и плетущих только легкие паутинные сети (Кикнадзе и др., 1996).

Характерными особенностями структуры политечных хромосом *S. gibbus* являются слабое развитие актив-

ных районов и относительно низкая степень политеинии хромосом. Эти особенности, вероятно, обусловлены слабой или даже остаточной функцией слюнных желез у личинок этого вида, не строящих паутинных домиков внутри минирируемого субстрата и почти не вырабатывающих соответствующих секретов. Слабая степень политеинии и относительно нечеткая дисковая структура политеиновых хромосом в определенной степени затрудняют исследование кариотипа данного вида, поэтому при изготовлении микропрепараторов рекомендуются холодовая предобработка личинок и увеличение времени окраски хромосом до 5—7 сут.

Популяционно-кариологические исследования многих видов хирономид обнаружили у них значительный инверсионный полиморфизм, лишь незначительная часть изученных видов (около 10 %) является мономорфной (Белянина, 1983; Петрова, 1990; Кикнадзе и др., 1996; Кикнадзе, 2008). Среди хирономид-минеров высокий уровень хромосомного полиморфизма, обусловленный гомогиетерозиготными инверсиями, характерен для эврибионтных видов, способных заселять разнообразные погруженные субстраты, например для *Glyptotendipes glaucus* (Meigen, 1818) (Белянина, Дурнова, 1998). В кариотипах узкоспециализированных видов, например таких, как *Xenochironomus xenolabis* Kieffer, 1916 (Белянина, Дурнова, 2002), *Demeijere rufipes* (Linnaeus, 1761) и *Xenochironomus* sp. (Durnova, 2009), хромосомные перестройки либо отсутствуют, либо обнаруживаются очень редко.

Возможно, что консерватизм среды обитания личинок в условиях облигатного минирования древесины определяет полное отсутствие либо низкую частоту хромосомных перестроек у *S. gibbus*, но для окончательного ответа на этот вопрос требуется изучение кариотипов личинок этого вида из разных популяций. Хромосомные последовательности, которые, вероятно, будут обнаружены в кариофонде этого вида, должны быть сопоставлены с описанными нами и предложенными в качестве стандартных (*gibA1*, *gibB1*, *gibC1*, *gibD1*, *gibE1*, *gibF1* и *gibG1*). Накопление данных по кариотипам других видов рода позволит провести сравнительную оценку уровня хромосомной изменчивости *Stenochironomus*.

Список литературы

- Белянина С. И. 1983. Кариотипический анализ хирономид (Diptera, Chironomidae) фауны СССР: Дис. ... д-ра биол. наук. М.: ИМЭЖ. 455 с.
- Белянина С. И., Дурнова Н. А. 1998. Морфология и хромосомы фитофильного *Glyptotendipes glaucus* Mg. (Diptera, Chironomidae) из водоемов Саратовской области. 2. Кариотипический анализ. Зоол. журн. 77 (2): 243—251.
- Белянина С. И., Дурнова Н. А. 2002. Кариотип хирономиды *Xenochironomus xenolabis* (Diptera, Chironomidae) — облигатного минера пресноводных губок. Цитология. 44 (12): 1227—1232.
- Гундерина Л. И. 2001. Генетическая изменчивость и эволюция хирономид (Diptera, Chironomidae): Автореф. докт. дис. Новосибирск. 32 с.
- Демин С. Ю., Шобанов Н. А. 1990. Кариотип комара *Chironomus entis* из группы *plumosus* в европейской части СССР. Цитология. 32 (10): 1046—1054.
- Жимулев И. Ф. 1994. Хромомерная организация политеиновых хромосом. Новосибирск: Наука. 565 с.
- Зорина О. В. 2006. Подсемейство Chironominae. Определитель насекомых Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука. 6 (4): 800 с.
- Калугина Н. С. 1958. Биология и развитие *Stenochironomus gibbus* Fabr. (Diptera, Chironomidae). Науч. докл. высш. школы. 1: 21—26.
- Калугина Н. С. 1960. Систематика и биология фитофильных хирономид Учинского водохранилища (Diptera, Chironomidae). Автореф. канд. дис. М. 14 с.
- Кикнадзе И. И. 1985. Молекулярно-цитологическая организация колец Бальбиани и генов, локализованных в них. В кн.: Организация и экспрессия генов тканеспецифической функции у Diptera. Новосибирск: Наука. 115—126.
- Кикнадзе И. И. 2008. Роль хромосомного полиморфизма в дивергенции популяций и видов в роде *Chironomus* (Diptera). Зоол. журн. 87 (6): 686—701.
- Кикнадзе И. И., Гундерина Л. И., Батлер М. Дж., Вьюкер В. Г., Мартин Дж. 2007. Хромосомы и континенты. Вестн. ВОГиС. 11 (2): 332—351.
- Кикнадзе И. И., Гундерина Л. И., Истомина А. Г., Гусев В. Д., Мирошниченко (Немытикова) Л. А. 2004. Реконструкция хромосомной эволюции в роде *Chironomus* Meig. (Diptera, Chironomidae). Евроазиатский энтомол. журн. 3 (4): 265—275.
- Кикнадзе И. И., Истомина А. Г., Гундерина Л. И., Соловьева Т. А., Айманова К. Г., Савинов Д. Д. 1996. Кариофонды хирономид криолитозоны Якутии: триба Chironomini. Новосибирск: Наука. 166 с.
- Мисайко Г. Н. 1966. Видовой состав и экология хирономид Волгоградского водохранилища: Автореф. канд. дис. Саратов. 23 с.
- Панкратова В. Я. 1983. Личинки и куколки подсемейства Chironominae фауны СССР (Diptera, Chironomidae). Л.: Наука. 296 с.
- Панкратова В. Я. 1986. К вопросу об эволюции хирономид. В кн.: Эволюция, видообразование и систематика хирономид. Новосибирск: Ротапринт Института цитологии и генетики СО АН СССР. 19—28.
- Петрова Н. А. 1990. Характеристика кариотипов хирономид (Diptera, Chironomidae) мировой фауны. II. Подсемейство Chironominae. Энтомол. обозрение. 69 (1): 193—215.
- Черновский А. А. 1949. Определитель личинок комаров семейства Tendipedidae (Chironomidae). Определитель по фауне СССР. М.; Л. 31: 186 с.
- Шобанов Н. А. 2005. Филогенетические отношения между видами *Chironomus* группы *plumosus* (Diptera, Chironomidae). Зоол. журн. 84 (4): 448—454.
- Durnova N. A. 2009. Chromosome analysis of chironomids (Diptera: Chironomidae) — obligatory miners of freshwater sponges (Porifera). Comparative Cytogenetics. 3: 25—31.
- Pinder L. C. R., Reiss F. 1983. The larvae of Chironominae (Diptera, Chironomidae) of the Holarctic region. Key and diagnosis. Pt 1. Larvae. Ent. Scand. (Suppl). 19: 293—435.
- Wilker W. F. 1980. Basic patterns in chromosome evolution of the genus *Chironomus* (Diptera). Z. zool. Syst. Evolut. 18: 112—123.

Поступила 19 V 2009

CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF *STENOCHIRONOMUS GIBBUS* (FABRICIUS, 1794)
(DIPTERA, CHIRONOMIDAE), AN OBLIGATE MINER OF SUBMERGED WOOD

N. A. Durnova

Saratov State Medical University; e-mail: ndurnova@mail.ru

The karyotype of *Stenochironomus gibbus* F. ($2n = 8$) is described for the first time. Chromosomes: I(AB) \geq II(CD) \geq II(EF) $>$ IV(G). Larvae of this species undermine submerged wood. Low degree of polyteny and poor development of active regions is characteristic of this species polytene chromosome structure, which is probably due to diminished function of salivary glands of the larvae that do not build web shelters.

Key words: karyotype, obligate miner, *Stenochironomus gibbus*.