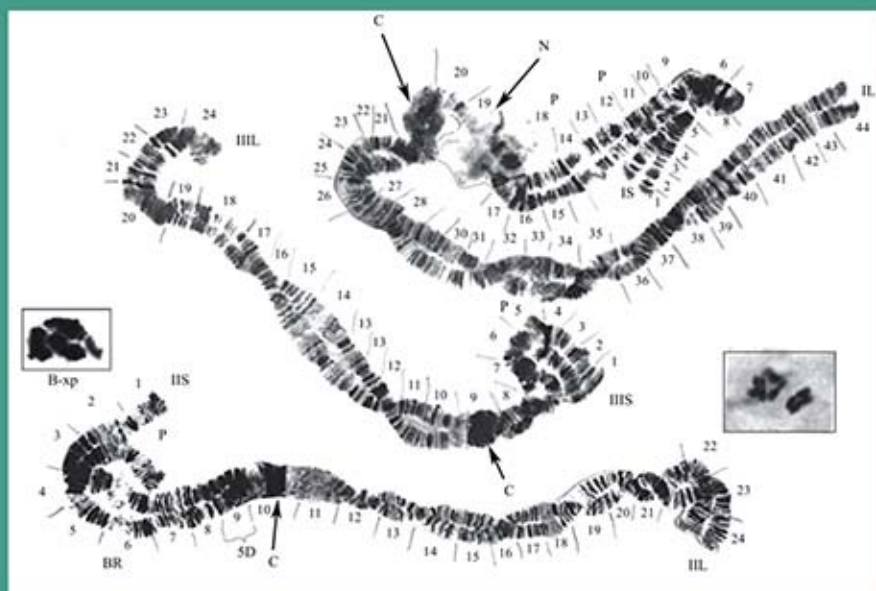


А. А. Чубарева, Н. А. Петрова

Цитологические карты
политенных хромосом и некоторые
морфологические особенности
кровососущих мошек
России и сопредельных стран
(Diptera: Simuliidae)

АТЛАС



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

Л. А. Чубарева, Н. А. Петрова

**ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ КАРТЫ
политенных хромосом и некоторые
морфологические особенности
кровососущих мошек
России и сопредельных стран
(Diptera: Simuliidae)**

АТЛАС

*Товарищество научных изданий КМК
Санкт-Петербург – Москва ❖ 2008*

УДК 595.771: 576.312.37

Л.А. Чубарева, Н.А. Петрова. Цитологические карты политенных хромосом и некоторые морфологические особенности кровососущих мошек России и сопредельных стран (Diptera: Simuliidae): Атлас. — СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. — 135 с. + 218 с. ил.

Монография представляет собой первую в мировой литературе сводку кариотипов мошек (Diptera: Simuliidae). В работе приводятся детальные описания политенных хромосом 124 видов из 32 родов кровососущих мошек России и сопредельных стран. Применялась обычная ацето-орсеиновая методика окраски хромосом. Для каждого вида приведены цитофотокарты политенных хромосомах и описание морфологии личинки, куколки и имаго самца. Обсуждаются признаки политенных хромосом, использующиеся в систематике мошек наряду с морфологическими признаками. Анализируются хромосомные перестройки, имевшие место в эволюции каждого рода.

Книга рассчитана на специалистов по кариосистематике мошек, цитогенетиков, энтомологов, преподавателей и студентов биологических факультетов вузов.

Научный редактор:
д.б.н., проф. В.Г. Кузнецова

Рецензенты:
д.б.н., проф. И.И. Кикнадзе
д.б.н., проф. Э.П. Нарчук

*Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований
Президиума РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека»
и Программы Президиума РАН «Происхождение и эволюция биосферы»*

ISBN 978-5-87317-471-3

© Л.А. Чубарева, Н.А. Петрова, 2008
© Товарищество научных изданий
КМК, издание, 2008

**Виды мошек, у которых изучены кариотипы
и морфология личинок, куколок и имаго самцов
(система по: Рубцову, 1956; Янковскому, 2002)**

Семейство Simuliidae Newman, 1834

I. Подсемейство Prosimuliinae Enderlein, 1921	38
1. Триба Gymnopauidini Rubzov, 1955	38
Род <i>Gymnopais</i> Stone, 1949	39
<i>G. frontatus</i> Yankovsky, 1982	39
<i>G. trifistulatus</i> Rubzov, 1955	39
Род <i>Twinnia</i> Stone et Jamnback, 1955	39
<i>T. hydroides</i> (Novak, 1956)	39
Род <i>Levitinia</i> Chubareva et Petrova, 1981	40
<i>L. tacobi</i> Chubareva et Petrova, 1981	40
<i>L. tamarae</i> Koshkimbaev et Ismagulov, 1992	41
2. Триба Prosimuliini Enderlein, 1921	41
Род <i>Prosimulium</i> Roubaud, 1906	41
<i>P. frontatum</i> Terteryan, 1956	41
<i>P. hirtipes</i> (Fries, 1824)	42
<i>P. isos</i> Rubzov, 1956	42
<i>P. luganicum</i> Rubzov, 1956	43
<i>P. macropyga</i> (Lundstrum, 1911)	43
<i>P. pamiricum</i> Chubareva et Petrova, 1983	44
<i>P. pecticrassum</i> Rubzov, 1956	45
<i>P. pronevitshae</i> Rubzov, 1955	45
<i>P. ventosum</i> Rubzov, 1956	46
Род <i>Ahaimophaga</i> Chubareva, 1978	47
<i>A. alpestre</i> Dorogostajsky, Rubzov et Vlasenko, 1935	47
<i>A. kamtshaticus</i> (Rubzov, 1940)	47
Род <i>Helodon</i> Enderlein, 1921	48
<i>H. ferrugineus</i> (Wahlberg, 1844)	48
<i>H. multicaulis</i> (Popov, 1968)	48
3. Триба Stegopternini, Enderlein, 1930	49
Род <i>Stegopterna</i> Enderlein, 1930	49
<i>S. duodecimata</i> (Rubzov, 1940)	49
<i>S. trigonia</i> (Lundstrum, 1911)	50

4. Триба Ectemniini Enderlein, 1930	50
Род <i>Astega</i> Enderlein, 1930	50
<i>A. lapponica</i> Enderlein, 1921	50
Род <i>Metacnephia</i> Crosskey, 1969	52
<i>M. amphora</i> Ladle et Bass, 1975	52
<i>M. hirta</i> (Rubzov et Terteryan, 1954)	53
<i>M. kirjanovae</i> Rubzov, 1956	53
<i>M. pallipes</i> Fries, 1824	54
<i>M. pamiriensis</i> Petrova, 1977	55
<i>M. paraskevae</i> Petrova, Chubareva et Kachvoryan, 1995	56
<i>M. subalpina</i> (Rubzov, 1956)	57
<i>M. terterjani</i> (Rubzov, 1955)	58
<i>M. variafilis</i> Rubzov, 1976	58
Род <i>Sulcicnephia</i> Rubzov, 1971	59
<i>S. lobashovi</i> Rubzov, 1976	59
<i>S. ovtshinnikovi</i> (Rubzov, 1940)	59
<i>S. petrovae</i> Rubzov, 1976	60
II. Подсемейство Simuliinae Newman, 1834	61
5. Триба Austrosimuliini Smart, 1945	61
Род <i>Austrosimulium</i> Tonnoir, 1925	61
<i>A. tillyardi</i> Tonnoir, 1925	61
6. Триба Wilhelmiini Baranov, 1921	61
Род <i>Wilhelmia</i> Enderlein, 1921	61
<i>W. equina</i> (Linnaeus, 1758)	62
<i>W. lineata</i> (Meigen, 1804)	63
<i>W. paraequina</i> (Puri, 1933)	63
<i>W. pseudequina</i> (Seguy, 1921)	64
<i>W. salopiensis</i> (Enderlein, 1927)	65
<i>W. veltistshevi</i> (Rubzov, 1940)	66
7. Триба Nevermanniini Enderlein, 1921	66
Род <i>Hellichiella</i> Rivosecchi et Cardinali, 1975	66
<i>H. crassa</i> (Rubzov, 1956)	66
<i>H. dogieli</i> (Rubzov, 1956)	67
Род <i>Byssodon</i> Enderlein, 1925	68
<i>B. maculatus</i> (Meigen, 1804)	68
Род <i>Montisimulium</i> Rubzov, 1974	69
<i>M. alizadei</i> (Djafarov, 1954)	69

<i>M. asulcatum</i> (Rubzov, 1956)	70
<i>M. bartangum</i> Chubareva, 2001	70
<i>M. danijari</i> Chubareva et Ismagulov, 1992	71
<i>M. decimfilium</i> (Rubzov, 1956)	72
<i>M. inflatum</i> (Rubzov, 1951)	73
<i>M. jasgulemum</i> Chubareva, 2000	73
<i>M. lepnevae</i> (Rubzov, 1956)	74
<i>M. montium</i> (Rubzov, 1947)	75
<i>Montisimulium</i> sp. из группы <i>montium</i>	76
<i>M. obichingoum</i> Chubareva, 2000	77
<i>M. octofiliatum</i> (Rubzov, 1956)	78
<i>M. quattuordecimfilum</i> (Rubzov, 1947)	79
<i>M. shevyakovi</i> (Dorogostajsky, Rubzov et Vlasenko, 1935)	79
<i>M. vantshum</i> Chubareva, 2000	80
<i>M. vischarvi</i> Chubareva, 2000	81
Род <i>Cnetha</i> Enderlein, 1921	82
<i>C. acopi</i> Chubareva et Kachvoryan, 2000	82
<i>C. australis</i> (Rubzov, 1955)	83
<i>C. chubarevae</i> Kachvoryan et Terteryan, 1981	83
<i>C. costata</i> (Friederichs, 1920)	84
<i>C. cryophila</i> (Rubzov, 1959)	85
<i>C. djafarovi</i> (Rubzov, 1962)	85
<i>C. itelmenica</i> Chubareva et Yankovsky, 2006	86
<i>C. fontia</i> (Rubzov, 1955)	87
<i>C. fontinalis</i> (Radzivilovskaya, 1948)	87
<i>C. garniensis</i> (Rubzov, 1955)	88
<i>C. planipuparia</i> (Rubzov, 1947)	88
<i>C. rushanense</i> Chubareva, 1981	89
<i>C. shutovae</i> (Rubzov, 1956)	90
<i>C. verna</i> (Macquart, 1826)	90
<i>C. zakhariensis</i> (Rubzov, 1955)	91
Род <i>Nevermannia</i> Enderlein, 1921	93
<i>N. angustitarsis</i> (Lundstrom, 1911)	93
<i>N. delizhanensis</i> (Rubzov, 1955)	93
<i>N. latigonia</i> (Rubzov, 1956)	94
<i>N. lundstrumi</i> Enderlein, 1921	95
<i>N. montshadskii</i> (Rubzov, 1956)	95
Род <i>Eusimulium</i> Roubaud, 1906	96
<i>E. aureum</i> (Fries, 1824)	96
<i>E. brachyantherum</i> (Rubzov, 1947)	97
<i>E. kazahstanicum</i> Rubzov, 1976	97

<i>E. krymense</i> Rubzov, 1956	97
<i>E. paucicuspis</i> (Rubzov, 1947)	98
<i>E. reginae</i> (Terteryan, 1949)	98
<i>E. securiforme</i> Rubzov, 1956	99
Род <i>Schoenbaueria</i> Enderlein, 1921	100
<i>Sch. pusilla</i> (Fries, 1824)	100
<i>Sch. subpusilla</i> (Rudzov, 1940)	100
Род <i>Hemicnetha</i> Enderlein, 1934	100
<i>H. gigantea</i> Rubzov, 1940	100
<i>H. paynei</i> Vargas, 1942	101
Род <i>Rubzovia</i> Petrova, 1983	102
<i>R. vantschi</i> Petrova, 1983	102
Род <i>Boophthora</i> Enderlein, 1921	103
<i>B. erythrocephala</i> (De Geer, 1776)	103
8. Триба Simuliini Newman, 1834	104
Род <i>Parabyssodon</i> Rubzov, 1964	104
<i>P. transiens</i> (Rubzov, 1940)	104
Род <i>Obuchovia</i> Rubzov, 1947	104
<i>O. albella</i> (Rubzov, 1947)	104
<i>O. brevifilis</i> Rubzov, 1956	105
<i>O. margaritae</i> Rubzov, 1956	106
Род <i>Tetisimulium</i> Rubzov, 1963	106
<i>T. alajense</i> (Rubzov, 1939)	106
<i>T. bezzii</i> (Corti, 1914)	107
Род <i>Paragnus</i> Rubzov et Yankovsky, 1982	107
<i>P. bukovskii</i> (Rubzov, 1940)	107
Род <i>Gnus</i> Rubzov, 1940	108
<i>G. corbis</i> Twinn, 1936	108
<i>G. decimatum</i> (Dorogostajsky, Rubzov et Vlasenko, 1935)	108
Род <i>Odagmia</i> Enderlein, 1921	109
<i>O. argyreata</i> (Meigen, 1838)	109
<i>O. caucasica</i> (Rubzov, 1940)	110
<i>O. crassifila</i> (Rubzov, 1947)	110
<i>O. gribae</i> Rubzov, 1956	111
<i>O. humerosa</i> (Rubzov, 1947)	111
<i>O. kiritshenkoi</i> (Rubzov, 1940)	112
<i>O. laplandica</i> Chubareva et Yankovsky, 1992	113
<i>O. maxima</i> (Knoz, 1961)	114
<i>O. monticola</i> (Friederichs, 1920)	114

<i>O. ornata</i> (Meigen, 1818).....	115
<i>O. variegata</i> (Meigen, 1818).....	115
Род <i>Phoretodagmia</i> Rubzov, 1972	116
<i>Ph. ephemerophila</i> (Rubzov, 1947).....	116
Род <i>Archesimulium</i> Rubzov et Yankovsky, 1982	117
<i>Arch. tuberosum</i> (Lundstrum, 1911)	117
Род <i>Argentisimulium</i> Rubzov et Yankovsky, 1982	118
<i>Arg. noelleri</i> (Friederichs, 1920).....	118
Род <i>Striatosimulium</i> Rubzov et Yankovsky, 1982	118
<i>Str. subornatoides</i> (Rubzov, 1947)	118
<i>Str. xanthogastrum</i> (Rubzov, 1951)	119
Род <i>Simulium</i> Latreille, 1802	119
<i>Sim. argyreatum</i> Meigen sensu Rubzov, 1956	119
<i>Sim. bergi</i> Rubzov, 1955	120
<i>Sim. flavidum</i> Rubzov, 1947	121
<i>Sim. morsitans</i> Edwards, 1915	121
<i>Sim. posticatum</i> Meigen, 1838	122
<i>Sim. reptans</i> (Linnaeus, 1758)	122
<i>Sim. tarnogradskii</i> Rubzov, 1940	123

ВВЕДЕНИЕ

Систематика как фундаментальная научная дисциплина составляет основу всех разделов биологии; она имеет принципиальное значение и для целого ряда отраслей народного хозяйства. В процессе развития этой дисциплины применялись различные методы, что и определило появление кариосистематики. В Зоологическом институте Российской академии наук с середины 60-х годов XX века возникло направление по использованию кариологического метода в систематике разных групп животных, в том числе насекомых. Эта тематика предусматривает всестороннее изучение модельных видов и видов, имеющих практическое и теоретическое значение. К таким группам относятся и кровососущие мошки.

Первая сводка по кариотипам кровососущих мошек мировой фауны была опубликована в 1979 г. (Чубарева, Петрова, 1979). За прошедшие 25 с небольшим лет число кариологически изученных видов увеличилось более чем вдвое (с 138 до 310), при этом еще около 80 форм описаны как «цитотипы» или «species», все они предположительно являются новыми видами. Кроме того, значительно расширилась география исследований. Если в 50–70-е годы кариологически изучались представители фаун Палеарктики (в основном территория СССР и некоторые страны Европы) и Неарктики (Канада, США, включая Аляску), то в последующие годы исследования распространились на фауны Африки, Центральной и Южной Америки, Австралии, Новой Зеландии, Индии и др. Это явилось предпосылкой к изданию второй, более расширенной, сводки кариотипов кровососущих мошек (Чубарева, Петрова, 2003). И как продолжение этой сводки, явилось написание атласа, который состоит из видов, изученных и опубликованных авторами настоящей работы. Это, прежде всего, связано с важным медико-ветеринарным значением мошек как кровососов и переносчиков возбудителей различных заболеваний человека и животных, в частности опасных и распространенных на многих континентах заболеваний — онхоцеркоза, чумы скота и др. (Seketeli et al., 1993).

Мошки — трудный для исследования объект, они очень мелки (2–6 мм), морфологически слабо дифференцированы и не разводятся в лабораторных условиях. Однообразны и числа хромосом в семействе. 96% видов имеет $2n = 6$. Представители небольших родов *Astega* s. str. и *Eusimulium* s. str. имеют $2n = 4$. Некоторые виды рода *Prosimulium* представлены триплоидными партеногенетическими популяциями ($3n = 9$) (Чубарева 1980, 2001а; Чубарева, Петрова, 1983). Триплоидные популяции и единичные особи как результат спонтанных мутаций обнаружены в бисексуальных популяциях родов *Cnephia*, *Odagmia*, *Wilhelmia* и *Nevermannia* (Гринчук, Чубарева, 1972, 1975; Качворян, Чубарева, 1974а). Известны случаи мозаицизма, когда участки гонады или слюнной железы, представлены, наряду с диплоидными, также триплоидными клетками (Чубарева, 1968а, б; Чубарева, Петрова, 1979; Качворян и др., 2003).

Трудности определения мошек стимулировали поиск и привлечение новых таксономических признаков, среди которых наиболее перспективными оказались признаки политенных хромосом клеток слюнных желез личинки. Политенные хромосомы — уникальные ядерные структуры, которые характеризуются видоспецифической последовательностью дисков. При их изучении использовалась обычная ацето-орсеиновая методика, модифицированная авторами (Чубарева, Петрова, 1980, 1982).

Изучение морфологии политенных хромосом имеет ряд преимуществ. Во-первых, политенные хромосомы характеризуются видоспецифической поперечной исчерченностью, так называемым рисунком дисков. Каждому виду свойствен свой рисунок дисков хромосом, и только по одному этому признаку опытный исследователь может определить вид. Во-вторых, проводить картирование политенных хромосом, так называемую кариологическую паспортизацию видов, в-третьих, фиксировать любые изменения как структурные, так и функциональные, а следовательно связать эти изменения с условиями обитания видов или с эволюционными хромосомными преобразованиями.

Типичный кариотип семейства включает три пары хромосом: одну (I) пару длинных мета/субметацентрических хромосом и две пары (II и III) более коротких, всегда субметацентрических. Стандартное сочетание плеч хромосом IS+IL, IIS+IIL, IIIS+IIIL (Чубарева, Петрова, 1979, 2003). Известны и другие сочетания плеч, например, IS+IL, IIS+IIIL, IIL+IIIS или IS+IIL, IL+IIS, IIIS+IIIL и др., но они встречаются достаточно редко (Basrur, 1959; Rotfhels, 1979; Rothfels, Freeman, 1966; Weber, Grunewald, 1989).

Важной кариологической особенностью семейства является стабильная локализация основных хромосомных маркеров. Это в первую очередь относится к теломерному участку («Sim»-конец) хромосомы I, прицентромерному участку с 5 плотными, утолщающимися к центромере дисками, локализация колец Бальбиани в коротком плече хромосомы IIS, двум пuffed, разделенным гетерохроматиновым диском и веерообразному концу в IIIS (Kunze, 1952, 1953). Перечисленные маркеры отмечены в кариотипах большинства видов, принадлежащих как к архаичным, так и к молодым процветающим родам. Таким образом, кариологические исследования показали цитологическое единство этой группы насекомых, что свидетельствует о монофилетическом происхождении семейства и о сохранении в процессе эволюции оптимального адаптивного кариотипа.

Основной принцип изучения кариотипов мошек заключается в четком описании типичного или стандартного кариотипа типового вида рода, либо наиболее цитологически мономорфного представителя группы близкородственных видов. Хромосомы согласно уменьшению их длин обозначаются I, II и III. Каждая из них делится на секции, начиная с короткого плеча, отмечены основные хромосомные маркеры: локализация ядрышкового организатора, морфология центромерных районов, степень конъюгации гомологов и др. После чего проводится сравнительный анализ со стандартным кариотипом (Weber, Grunewald, 1989). Такой подход по-

зволяет выявить филогенетические взаимоотношения видов и родов в семействе и пути их хромосомной эволюции.

Установлено, что архаичные виды с ограниченным ареалом (*Gymnopais*, *Levitinia*, *Helodon* и др.), как правило, кариологически мономорфны. Процветающие синантропные виды с обширными ареалами, обитающие около населенных пунктов, характеризуются высоким уровнем хромосомной изменчивости (*Gnus*, *Byssodon*, *Boophthora*, *Odagmia* и др.). Чаще всего хромосомный полиморфизм отмечен по гетерозиготным инверсиям. У мошек обнаружены виды с разным уровнем хромосомного полиморфизма: 1) спонтанно возникшие мозаики, у которых хромосомные перестройки встречены в единичных клетках слюнной железы, 2) цитологически мономорфные виды и виды с редко встречающимися хромосомными инверсиями и 3) полиморфные виды, характеризующиеся широко распространенным сбалансированным полиморфизмом по инверсиям. Сейчас уже нет сомнений, что подобная генетическая изменчивость (полиморфизм) создает предпосылки для адаптации популяций к многообразным условиям среды обитания и становится основой дальнейшей эволюции кариотипа (Чубарева, 1974; Петрова, 1993).

К настоящему времени накоплен обширный материал, свидетельствующий об интенсивном видообразовании в семействе. Это характерно для филогенетически молодых, широко распространенных родов, часто связанных с преобразованием кариотипа, и возникновением многочисленных групп близких видов, слабо различающихся морфологически. Например, в роде *Eusimulium* группа *congaroenarum* состоит из 6 цитотипов или видов сиблингов, группа *damnosum* — из 4, группа *aureum* — из 8 (Dunbar, 1958, 1959, 1964, 1966a, 1967); в роде *Simulium* группа *ornatipes* — из 3, *neornatipes* — из 6, *pictipes* — из 3 цитотипов (Bedo, 1975b, 1977, 1984), группа *metallicum* — из 11 (Hirai, Uemoto, 1984; Conn et al., 1989), группа *guianense* — из 4 (Charalambous et al., 1996), группа *tuberosum* — из 4 (Landau, 1962). Этот перечень можно продолжить. Почти всегда члены каждой группы симпатричны, однако гибридов не образуют. Кариотипы таких форм различаются либо последовательностями дисков отдельных плеч, либо локализацией районов определяющих пол, либо уровнем полиморфизма. Как правило, кариологические различия при дальнейших исследованиях подтверждаются биологическими, экологическими и даже морфологическими различиями. Учитывая подобные данные по другим семействам, в частности, Chironomidae и Drosophilidae, можно утверждать, что такой принцип радиального видообразования с возникновением группы близких видов внутри одного морфотипа не редок и его можно считать у двукрылых универсальным.

Следует отметить, что кариотипические признаки мошек хорошо коррелируют с признаками гениталий самцов. Это указывает на высокую значимость признаков кариотипа для систематики семейства.

У некоторых видов родов *Austrosimulium* и *Cnephia* изучались полигенные хромосомы из клеток мальпигиевых сосудов имаго (Bedo, 1976). Использование

этого метода позволяет сочетать анализ как морфологических так и кариотипических признаков личинки с признаками взрослых насекомых. Сделаны попытки использовать в систематике мошек электрофоретические (Snyder, 1990; Snyder, Linton, 1983) и молекулярные методы, в частности, метод гибридизации ДНК *in situ* (Teshima, 1972; Sohn et al., 1975; Zhu et al., 1998).

В Атласе представлены фотокарты политенных хромосом 124 видов и рисунки строения хитиновых структур 100 видов мошек из 33 родов. В вводной части даны краткие сведения по особенностям строения и перестройкам, которые встречались в кариотипе семейства Simuliidae. Точное определение вида возможно при изучении личинки, куколки, имаго самца и кариотипа, поэтому для каждого приводится детальное описание морфологии и кариотипа. Это позволит с большой точностью установить таксономический статус того или другого вида. Все морфологические рисунки являются оригинальными и выполнены Л.А. Чубаревой. Цитофотокарты видов, приведенные здесь, собраны и изучены самими авторами. Описание морфологии личинки, куколки и имаго самца (гл. 4) в отдельных случаях сделаны частично с учетом описания Рубцова (1956). Описаны кариотипы некоторых новых видов, например в родах *Montisimulium*, *Cnetha*, *Levitinia*, *Prosimulium*, *Metacnephia*, *Rubzovia* и ранее неизвестные самцы, например для видов *Hellichiella crassa*, *Montisimulium decimfiliatum*, *Simulium flavidum* и др.

Авторы выражают искреннюю благодарность всем сотрудникам отделения генетики популяций и кариосистематики Зоологического института РАН, главному научному сотруднику института молекулярной биологии АН Республики Армения Э.А. Качворян, а также всем сотрудникам привозившим из экспедиций материал для кариологического анализа.

ГЛАВА 1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Авторами изучены 124 вида мошек из подсемейств *Prosimuliinae* и *Simuliinae* семейства *Simuliidae*. Приготовлено свыше 25 тыс. хромосомных и 2 тыс. энтомологических препаратов. В подавляющем большинстве случаев материал собран авторами во время многочисленных экспедиций в: Мурманскую, Ленинградскую, Новгородскую, Тверскую, Ярославскую, Иркутскую, Воронежскую и Краснодарскую области, в Карелию, Туву, Приморье и на Камчатку, а также на Украину, в Армению, Грузию, Азербайджан, Таджикистан, Узбекистан, Киргизию, Туркмению, в Болгарию и Чехию.

Личинки с хорошо выраженными, темными дыхательными нитями фиксировались на месте сбора смесью из 3 частей 96% спирта и 1 части ледяной уксусной кислоты. Фиксированный материал хранился в холодильнике при температуре 2–4 °С и был пригоден для работы в течение 1–2 лет.

Использован ацето-орсеиновый метод приготовления цитологических препаратов политенных хромосом, предложенный в 30-х годах XX столетия (Фролова, 1936; Прокофьева-Бельговская, 1937). Позже метод многократно модифицирован разными авторами в зависимости от объекта исследования (Чубарева, Петрова, 1968, 1980, 1982; Кикнадзе, 1972; Шобанов, Демин, 1988).

Большая часть жизненного цикла мошек — фазы яйца, личинки и куколки — протекает в проточной воде, в ручьях и реках; взрослые насекомые обитают в воздушной среде. Обычно личинки располагаются на камнях, омываемые потоком воды, на ветках, погруженных в воду, на водных растениях, прикрепляясь к субстрату с помощью «присоски», снабженной многочисленными крючьями. Главной особенностью личинок мошек является реофилия — явное предпочтение в ручье или реке участков с наиболее быстрым течением и с высоким содержанием кислорода в воде. Питаются личинки планктоном, улавливаемым в водотоке сложно устроенными фильтрующими хитиновыми образованиями, называемыми «веерами». При видовой диагностике изучались морфологические детали строения головной капсулы личинки — форма зубцов на переднем крае субментума, конфигурация вентрального выреза, число щетинок в «веерах», строение мандибулы, число рядов крючьев в заднем прикрепительном органе или «присоске», морфология нижней и верхней частей анального склерита, так называемой хитиновой рамы. У куколки учитывались число, морфология и структура дыхательных нитей. Собирав в природе куколок и поместив их во влажные условия, путем выведения получали половозрелых самцов, обычно почти не доступных при сборе материала в природе.

Слюнные железы мошек крупные, хорошо развиты, они представляют собой парные трубчатые образования Y-образной формы. Простираясь вдоль тела личинки, они загигают в заднем его отделе и направляются вперед, доходя слепым концом до середины тела. Различают 3 отдела железы: задний отдел, продуцирующий

секрет, средний — накапливающий секрет, передний — проток для выведения секрета. Каждый из этих отделов образован клетками определенных размеров. Для кариологического анализа используются клетки среднего отдела, составляющие большую часть железы, где ядра содержат хромосомы с максимальной степенью полипloidии.

У личинок как на живом, так и на фиксированном материале, гонады хорошо просматриваются сквозь покровы тела. У самок они имеют вытянутую форму, а у самцов — округлую. Руководствуясь этими признаками, можно безошибочно определять пол анализируемых особей.

Личинок, предназначенных для кариологического анализа, помещали в небольшую фарфоровую ванночку с фиксатором, где под биноклем у них надрывали хитиновые части брюшка. Затем личинки переносили в баночку, содержащую 2% ацето-орсеин для тотального окрашивания внутренностей; время окраски — от 2 до 10 дней.

Далее исследуемые особи извлекались из красителя и помещались индивидуально на предметное стекло в каплю 45–60% молочной кислоты для дифференциации окрашенных структур и отделения клеток слюнной железы от ее содержимого. Все дальнейшие процедуры проводились под биноклем МБС-1 при увеличениях 8 Ч 2 и 8 Ч 7. Из тела личинки извлекали надпочечные ганглии, гонады и слюнные железы. На чистое предметное стекло отдельно наносили 2 капли молочной кислоты (45–60%); в одну из них тонкими иглами переносили ганглии и гонады, накрывали покровным стеклом и через фильтровальную бумажку аккуратно раздавливали; в другую каплю помещали слюнные железы, отделяли их средние отделы, освобожденные от посторонних тканей.

Процедура подготовки цитологического препарата более длительная. Прежде всего необходимо отделить клетки от секрета, который обычно уплотняется под действием фиксатора, затем его следует удалить с предметного стекла. От успеха этой процедуры в значительной мере зависит качество цитологических картин и препарата в целом, так как малейшие неустраненные остатки препятствуют расправлению хромосом и плотному прилеганию покровного стекла. Далее, ядерная оболочка клеток осторожно надрывается и хромосомы освобождаются от нее препаратными иглами. Они начинают расправляться, едва заметными движениями иголок следует этому способствовать. Заканчивает эту процедуру легкое надавливание на покровное стекло через фильтровальную бумагу. Препараты должны храниться в холодильнике. Если покровное стекло безукоризненно ровное и под ним не образовалось воздушных пустот («пузырьков»), то препараты могут сохраняться в молочной кислоте месяцами. Полученные цитологические препараты изучались под микроскопом МБИ-3 и NFPK (Люмипан).

Микрофотографирование полиплоидных хромосом — один из основных методов исследования кариотипов. Общий вид кариотипа из ядер слюнных желез помещается на одном кадре пленки Микрат-200 при увеличении 20 Ч 7 Ч 1,6, реже при 60 Ч 7 Ч 1,1. Фотокарты готовятся с использованием иммерсионных систем —

90 Ч 7 Ч 1,1. При таком увеличении политенные хромосомы в одном кадре не умещаются и поэтому фотографируются последовательно, частями. После репродукции хромосомы вырезаются, склеиваются в определенной последовательности и монтируются в единую хромосому. После того как все хромосомы анализируемого кариотипа «смонтированы», можно приступать к изготовлению фотокарт. Хромосомы наклеиваются на лист ватманской бумаги. Мы делили каждую хромосому на секции, при этом обозначая их арабскими буквами, деление начиналось с короткого плеча каждой хромосомы. Существует, однако, и другое деление хромосом, так называемое, «западное». Весь кариотип делится на 100 секций, обозначаемых по порядку арабскими цифрами, начиная от короткого плеча хромосомы I, далее следует короткое плечо хромосомы II и последнее, короткое плечо хромосомы III. Такое деление мы использовали редко.

На фотокартах отмечали основные хромосомные маркеры: центромеры, зона связи с ядрышком, пuffs, кольца Бальбиани, хромосомные перестройки и др.

Для измерения длин хромосом их контуры зарисовывались на уровне рабочего стола с помощью рисовального аппарата РА-4 при увеличении микроскопа 90 Ч 10 и высоте тубуса 160 мм. Затем курвиметром определяли длины зарисованных хромосом и, если необходимо, отдельных их участков (плеч, расстояний от центромеры до ядрышка и др.). Данные, полученные в сантиметрах с помощью объект-микрометра, пересчитывали в микроны. Чтобы получить достоверные данные, измеряли хромосомы 30 ядер (по 3 ядра от 10 особей), и обрабатывали обычными методами вариационной статистики (Плохинский 1961; Рокитский, 1961; Урбах 1963).

Кроме кариологического метода использовали метод приготовления деталей личинки, куколки и имаго самца в жидкости Фора (гуммиарабиковая смесь). У личинки изготавливали и анализировали детали строения головы и заднего конца тела, у куколки обращали внимание на кокон и дыхательные нити, а у имаго самца — на половые придатки: гонокситы, гоностили, гоностерн, гонофурку и парамеры. Все текстовые и микрофотографические материалы, переведены в цифровой формат.

ГЛАВА 2. КАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ В ТАКСОНОМИИ МОШЕК

Изучение кариотипа у мошек проводится на политенных хромосомах слюнных желез личинок последнего IV возраста, у которых сформированы дыхательные нити. Мейотические и митотические хромосомы доступны для анализа либо из тканей гонад обоих полов, либо из подглоточных ганглиев, либо имагинальных дисков, расположенных по бокам грудных сегментов ранних предкуколок.

2.1. Число хромосом

Подавляющее большинство видов семейства имеет $2n = 6$. Изучение митотических хромосом из клеток гонад и ганглиев 124 видов показало поразительное однообразие: число и размеры хромосом абсолютного большинства изученных видов совпадают. Как правило, хромосомный набор мошек состоит из трех пар двуплечих хромосом. Они обозначены римскими цифрами I, II, III в порядке уменьшения их размеров. Чаще, I пара хромосом — метацентрическая или почти метацентрическая, две другие пары — всегда субметацентрические. Длина I пары колеблется от 37 до 43% от длины гаплоидного набора. Две другие либо равны или почти равны между собой, составляют 29–30% и 26–27% соответственно, либо II пара хромосом достоверно длиннее III пары, составляя от общей длины гаплоидного набора 32–33%, а III пара — 27–29%. Из этого однообразия выделяются 8 видов с $2n = 4$. Уменьшение хромосом произошло в результате слияния хромосом II и III у предка с $2n = 6$ (Dunbar, 1958, 1959, 1964, 1966a, b). Еще 4 вида включают наряду с диплоидными популяциями ($2n = 6$), также триплоидные популяции ($3n = 9$), состоящие исключительно из партеногенетических самок (Чубарева, 1968a, б; Чубарева, Петрова, 2003; Rothfels, 1956; Basrur, Rothfels, 1959). У таких видов диплоидные популяции изолированы от триплоидных. Например, популяции *Prosimulium ursinum* на северном побережье Кольского полуострова триплоидные, а в Норвегии — диплоидные (Pasternak, 1964).

Число хромосом и соотношение их длин в геноме недостаточны для характеристики кариотипа, поэтому были проанализированы структурные и функциональные особенности политенных хромосом.

2.2. Признаки политенных хромосом

«С тех пор как была сформулирована хромосомная теория наследственности, генетики и цитологи мечтали найти организм, у которого хромосомы будут настолько велики, что станет возможным увидеть на их протяжении качественные различия, соответствующие различным генам» (Пайтнер, Бриджес, 1937). Мечты ученых сбылись: в клетках слюнных желез личинок комара-звонца *Chironomus* были обнаружены структуры (Balbiani, 1881), которые, как это доказали позже (Heitz, Bauer,

1933), соответствуют настоящим хромосомам, превышая длину обычных хромосом в 100 и более раз. Эти хромосомы дифференцированы по длине и характеризуются так называемым рисунком дисков, видоспецифическим для каждой хромосомы, их называли гигантскими или политенными хромосомами.

2.2.1. Конъюгация гомологичных хромосом

Конъюгация гомологичных хромосом — обязательная характеристика кариотипа политенных хромосом. Конъюгация может быть плотной и полной, частичной и отсутствовать совсем. У кровососущих мошек наблюдается определенная закономерность в проявлении этого признака: у представителей архаичных родов с точковыми или разорванными ареалами гомологи так плотно конъюгируют друг с другом, что создается впечатление присутствия в кариотипе гаплоидного числа хромосом. На примере видов из родов *Levitinia*, *Gymnopais*, *Helodon* и др. с $2n = 6$ мы видим $2n = 3$ (рис. 5). В кариотипах представителей молодых, широко распространенных родов конъюгация умеренная и порой слабая: все гомологи четко различимы и легко подсчитывается диплоидное число хромосом, равное 6 (рис. 78). Скорее всего это явление связано либо с гетерозиготностью гомологов на молекулярном или геномном уровне. Высказано предположение, что это связано с различиями в процессе репликации гомологов (Прокофьева-Бельговская, 1986)

2.2.2. Последовательности дисков политенных хромосом

Для таксономии и систематики мошек последовательность дисков политенных хромосом — самый важный признак кариотипа. Каждая хромосома состоит из дисков и междисков, сочетание и чередование которых образует определенные последовательности дисков или так называемый «рисунок» дисков политенных хромосом. Эти последовательности постоянны, генетически закреплены и видоспецифичны. Благодаря этому признаку опытный кариолог может без труда определять виды.

Диски политенных хромосом хорошо окрашиваются ацетоорсеином и разнообразны по морфологии: тонкие, толстые, сплошные, прерывистые, волнообразные, точечные, сложные, простые. Встречаются диски у которых одна часть сплошная, другая дискретная.

На хирономидах показана сезонная изменчивость длин хромосом и соответственно числа дисков в них (Ильинская, Максимова, 1978). Осенью политенные хромосомы укорачиваются и сжимаются, а единичные, четко различимые диски сливаются в толстые диски или блоки. Междиски почти исчезают. Весной и летом хромосомы удлиняются и приобретают четкую дисковую структуру, с многочисленными междисками и мелкими пuffedами. Установлена также зависимость числа дисков от типа тканей (слюнные железы, мальпигиевые сосуды, ректальные железы, средний и задний отделы кишечника личинки, трихогенные и термогенные клетки эпидермиса куколки и имаго) и от стадии развития личинки (Ashbur-

per, 1970). Число дисков меняется и от условий обитания личинок, например от степени солености воды. При повышенной солености диски в хромосомах становятся «размытыми», нечеткими, увеличивается число междисков (Michailova, 1973; Балущкина, Петрова, 1989). При повышенной радиации наблюдаются похожие картины (Петрова, Михайлова, 1996). Определенные изменения наблюдаются у личинок, зараженных микроспоридиями (Keyl, 1960).

Показано, что диск это структурно-функциональная единица. Согласно «динамичной модели», диски могут переходить в междиски-пуффы. Когда диск активен, он участвует в транскрипции, кодирует определенные белки и, деконденсировавшись, превращается в пуфф (Zhimuliev et al., 1981; Жимулев, 1994). Таким образом, число дисков, а значит и «рисунок дисков» зависит от многих факторов. Поэтому для целей систематики необходимо использовать личинок, весенне-летних сборов, последней (IV) стадии развития, со зрелыми дыхательными нитями. У таких личинок наиболее четко проявляются все дифференциальные признаки кариотипа. Это основное условие для составления хромосомных карт — «цитологического паспорта» вида. На хромосомных фотокартах последовательно нумеруются секции хромосом, начиная с коротких плеч, таким образом, что каждый диск и каждый маркер имеют свое обозначение. Помимо диагностического значения, такие карты используются в качестве основы для сравнения «рисунков дисков» при выявлении родственных отношений между разными популяциями одного вида, между видами одного рода и между видами разных родов. Кроме того, с помощью таких карт можно установить с большой точностью, вплоть до одного диска, тип и локализацию любой хромосомной перестройки.

2.2.3. Морфология центромерных районов

Морфология хромосом в значительной степени определяется местоположением центромеры. Длины плеч хромосом I и II из подсемейств Prosimuliinae и Simuliinae, в среднем, соотносятся как 1 : 1,1 и 1 : 1,5; для хромосомы III, соответственно, 1 : 2,2 и 1 : 1,8 (Dunbar, 1966b). Эти соотношения устойчивы и могут использоваться как надежный признак этих подсемейств. По соотношениям видно, что хромосомы в семействе либо метацентрические, либо субметацентрические, акроцентрических нет.

Локализованная центромера — это специализированный локус хромосомы, ответственный за расхождение гомологичных хромосом в мейозе и митозе. Потеря центромерного локуса ведет к элиминации хромосомы. Морфология центромеры играет также немаловажную роль как видовой кариологический признак. На метафазных пластинках, где обычно хорошо проявляется морфология хромосом, в каждой из них усматривается светлая перетяжка — деконденсированный, функционально активный центромерный район. Именно от локализации этого района зависит морфология и форма хромосомы (мета-, субмета-, акро- и телоцентрическая). Высказано предположение, что центромера является местом локализации специализированных генов, ответственных за ее нормальное и активное функци-

онирование (Holmquist, Dancis, 1979). Показано, что эти гены защищены гетерохроматином, состоящим из высокоповторяющихся последовательностей ДНК. Именно прицентромерный гетерохроматин, выявляемый методом С-окраски (Pardu et al., 1970; Bedo, 1975a) играет решающую роль в эктопических контактах между разными хромосомами с образованием хромоцентра. В последнее время доказано, что формирование и реорганизация хромоцентра у дрозофилы генетически детерминированы (Чубыкин, 2001).

В политенных хромосомах не всегда удается выявить центромеру. В таких случаях ориентируются, путем сопоставления, на морфологию митотических хромосом или на наличие крупной массы гетерохроматина, локализованного в прицентромерных зонах политенных хромосом.

В сем. Simuliidae обнаружено значительное разнообразие в морфологическом проявлении центромерных районов политенных хромосом (рис. 1) (Чубарева и др., 2003).

В подсем. Prosimuliinae невыраженность центромер из-за отсутствия прицентромерного гетерохроматина в политенных хромосомах слюнных желез рассматривается как анцестральный кариотипический признак (Чубарева, Петрова, 1979, 2003). К родам характеризующимся невыраженностью центромер относятся *Gynopais*, *Twinnia*, *Levitimia*, *Helodon*, некоторые виды *Prosimulium*.

Есть роды, например *Prosimulium*, у которых встречаются виды с центромерами, слегка утолщенными, но не превышающими поперечник хромосомы, есть виды, у которых центромеры четко обозначены гетерохроматином, часто объединяющимися в хромоцентр (Rothfels, 1956, 1979).

В кариотипах *Ahaimophaga* прицентромерные зоны слегка распуфлены и перетянуты гетерохроматиновым диском (Чубарева, 1978a).

Виды рода *Stegopterna* по структуре кариотипа и морфологии центромерных районов сходны с *Prosimulium* (Чубарева и др., 1996). Видам *Greniera*, *Byssodon* свойственны неявные центромеры, выраженные мало приметными дисками. Их локализацию можно определить только предположительно на основа сопоставления с морфологией метафазных хромосом.

У *Astega lapponica* — $2n = 4$. Редукция числа хромосом с существенной потерей хромосомного материала, произошла в результате tandemного объединения хромосом II и III предка с $2n = 6$, приведшего к образованию дицентрической хромосомы II и возникновению *A. lapponica*. Обе центромеры этой хромосомы всегда эктопически конъюгируют друг с другом (рис. 1б), но чаще все три центромеры, одна от хромосомы I и две от хромосомы II, объединяются эктопическими тяжами (см. рис. 39). При изучении мейотических и митотических делений в клетках гонад и ганглиев этого вида сделан важный вывод: дицентрическая хромосома в анафазе ведет себя как моноцентрическая. Несмотря на морфологическую двойственность, вновь возникшая хромосома, функционально остается моноцентрической, т.е. две сближенные центромеры функционируют как одна (Петрова, 1972). Одна из центромер может переходить в латентное состо-

ание, что не препятствует нормальному функционированию другой центромеры (Hsu et al., 1975).

В роде *Metacnephia* встречаются виды, у которых центромеры выглядят как широкие деконденсированные зоны, в которых ясно просматриваются «прерывистые» диски-центромеры разной толщины (рис. 1а–а"), либо как плотные четкие гетерохроматиновые блоки, иногда объединяющиеся в плотный хромоцентр (Петрова, 1973а, б; Петрова и др., 1995).

Наиболее полно изучено подсем. Simuliinae, в котором особого внимания заслуживают кариотипические особенности рода *Wilhelmia*. У видов этого рода в результате гомозиготной транслокации плеч хромосом I и II, вместо IS+IL, IIS+IIL, IIIS+IIIL, формула стала иная IS+IIL, IIS+IL, IIIS+IIIL (Weber, Grunwald, 1989). По структуре центромерных районов и степени объединения их в хромоцентр, виды рода значительно различаются. Прицентромерный гетерохроматин у видов группы *equina* (*W. equina*, *W. pseudequina* и др.) представлен широкими, сложными вакуолизированными дисками. Видам группы *salopiensis* (*W. veltistshevi*, *W. lineata*, *W. salopiensis* и др.) свойственно наличие либо хромоцентра, который при механическом надавливании на препарат легко разрушается, либо в прицентромерных зонах интенсивной окраски не обнаружено, гетерохроматина здесь мало, но все же отчетливо просматриваются хромомерные тяжи с хромомерами, объединяющиеся нередко в более крупные, интенсивно окрашенные скопления (рис. 1д, е). Проксимальные участки всех плеч этими тяжами объединены в хромоцентр. Такое соединение можно назвать факультативным, неполным хромоцентром, который может распадаться не только на отдельные плечи, но и их разнообразные ассоциации (рис. 1ж, з) (Чубарева и др., 2007).

Из 40 видов и подвидов высокогорного рода *Montisimulium* изучены кариотипы 16 видов, все они обитатели небольших ручьев и родников Кавказа, Казахстана, Средней Азии и Дальнего Востока. У одних видов центромерные районы представлены несколько уплотненными, мало контрастными гетерохроматиновыми дисками, у других — мощными интенсивно окрашенными блоками гетерохроматина, которые эктопически конъюгируют друг с другом. При механическом надавливании на препарат блоки легко расходятся, сохраняя свою морфологию. У третьих видов — прицентромерный гетерохроматин объединяется в монолитную гетерохроматиновую массу — округлый, константный хромоцентр, от которого радиально расходятся 6 плеч (Чубарева, 2000б).

Род *Cnetha* хорошо отличается от других родов морфологией центромерных районов. Виды делятся на две группы. У части видов центромерные районы четкие, имеют округлую форму и более чем в 2 раза превышают по величине поперечник хромосомы. В пределах центромерных зон усматриваются многочисленные, плотно расположенные хромомеры, сблокированные на хромомерах в грубозернистые, интенсивно окрашенные образования. Такая морфология центромер является маркерным признаком этой группы видов, надежно отличая ее от остальных представителей рода.

Другая часть — это эндемики Армении, которые характеризуются монолитным гетерохроматиновым хромоцентром (Чубарева, Качворян, 2000).

Представители рода *Eusimulium* существенно отличаются от большинства представителей семейства как числом хромосом ($2n = 4$), так и структурой центромер. Кариотипы видов этого рода характеризуются сходной морфологией компактных центромер, немного превышающих по величине поперечник хромосомы (Качворян, Чубарева, 1974а, б; Чубарева, Качворян, 1975; Chubareva, 1980).

У *Rubzovia vantshi* с западного высокогорного Памира прицентромерный гетерохроматин объединен в плотный хромоцентр, который не разрушался после механического воздействия на препарат (Петрова, 1983а).

По сравнению с другими мошками у *Boophthora erythrocephala* (Ленинградская обл.) центромерные зоны более объемны, в них ясно просматриваются многочисленные интенсивно окрашенные хромомеры, компактно сгруппированные на хромонемах (Чубарева, Булли, 1983; Петрова и др. 2007).

У разных видов *Obuchovia*, обитающих в горных районах южной Европы, Кавказа и Центральной Азии четко обозначены центромерные зоны полигенных хромосом. В этих зонах хромосомы значительно расширены, а четкие диски разной морфологии придают им интенсивную окраску (Чубарева, 1978б).

Из 13 видов и подвидов *Tetisimulium*, распространенных в Средиземноморье и горах Центральной Азии, изучены кариотипы 2 видов. У обоих видов наблюдается слабая конъюгация гомологов и своеобразная морфология центромерных районов: по обе стороны от четкого широкого плотного гетерохроматинового диска локализованы слегка расширенные и структурированные зоны. Морфологически центромеры имеют много общего с таковыми у *Odagmia* (Чубарева, Петрова, 1979; Качворян, 1988а, 1989; Качворян и др., 1992, 1996, 2003)

В роде *Odagmia* описано 34 вида и подвида, из них кариотипически изучены 11. Кариотипы отличаются слабой конъюгацией гомологов, центромеры обоих гомологов латерально сближены и представлены шестью дисками, иногда слегка вакуолизированными. У *O. laplandica* (Мурманская обл.), в отличие от остальных видов рода, конъюгация гомологов полная, а прицентромерный гетерохроматин представлен широкими блоками интенсивной окраски (рис. 1u–u") (Чубарева, Янковский, 1992). У морфологически обособленного вида *O. crassifila*, обитающего в холодных, высокогорных ручьях Таджикистана и отличающегося от других видов рода необычной морфологией толстых, пузыревидных, утончающихся на концах дыхательных нитей зрелых личинок и куколок, кариотип характеризуется весьма своеобразной структурой центромерных районов. В хромосомах I и II просматриваются плотные широкие и интенсивно окрашенные гетерохроматиновые образования, напоминающие «шайбы», с обеих сторон которых расположены деконденсированные участки с отчетливой хромонемной и хромомерной структурой. Нередко наблюдается объединение этих «шайб» с образованием неполного хромоцентра. Хромосома III всегда обособлена, а ее центромерный район имеет пuffed-образную форму. Необычная структура центромерных районов

O. crassifila подтверждает обособленность этого вида в роде *Odagmia* (Чубарева, 1974; Чубарева, Качворян, 1993).

Своеобразная картина наблюдается у одного из редких специализированных видов мошек — *Phoretodagmia ephemerophila* из высокогорного Таджикистана. Личинки и куколки этого вида ведут форетический образ жизни, обитая на личинках поденок. Центромерные районы объединены в плотный, округлый хромоцентр от которого расходятся 6 плеч. Проксимальные участки плеч, прилегающие к хромоцентру, деконденсированы и слабо окрашены (рис. 12) (Чубарева, 1979б).

Род *Simulium* — один из крупных родов подсем. *Simuliinae*; в нем насчитывается более 120 видов и подвидов. Авторы изучили кариотипы 7 видов. Для них характерна заметная расширенность центромерных районов — это широкие, плотные, интенсивно окрашенные диски, которые вакуолизированы, или имеют гранулярную структуру (Чубарева, Щербаков, 1963; Щербаков, 1965б, 1966в).

Таким образом, у примитивных видов мошек центромеры в политенных хромосомах не выражены, хромосомы на всем своем протяжении одинаковы в диаметре. У эволюционно продвинутых видов, центромеры, напротив, хорошо выражены: у некоторых видов это гетерохроматиновые диски, превышающие диаметр хромосомы, у других просто скопления гетерохроматина, или это гетерохроматин, объединенный в хромоцентр.

2.2.4. Число и локализация ядрышек

Ядрышко формируется на определенной хромосоме в определенном сегменте, называемым ядрышковым организатором (Mc Clintok, 1934; Кикнадзе, Беляева, 1967). Это район максимальной деконденсации хромосомы, где происходит синтез всей рибосомальной РНК клетки (Brachet, 1955; Ченцов, 1966). Функция, которую выполняет ядрышко в снабжении клетки рибосомальной РНК и рибосомами, делает его одним из наиболее важных генетических локусов хромосомы. Сам же ядрышковый организатор представлен у мошек 7–10 дисками, либо единым сложным диском. Как правило, в клетках функционирует небольшая часть ядрышкового организатора, остальная находится в инактивированном состоянии и описывается в цитологии как околядрышковый гетерохроматин. Присутствие околядрышкового интеркалярного гетерохроматина является наиболее характерной чертой большинства ядрышкообразующих районов (Беляева, 1966). Экспериментальные данные, полученные с помощью ионизирующего излучения, показали, что ядрышковый организатор можно разделить на части, не теряющие нуклеолярной активности. Эти части будучи транслоцированы на другие участки хромосом, продолжают нормально функционировать (Mc Clintok, 1934; Щербаков, 1965а, б).

У всех кровососущих мошек имеется одно четко проявляющееся ядрышко, связанное с хромосомой I (роды *Twinnia*, *Prosimulium*, *Metacnephia*, *Sulcicnephia*, *Cnetha*, *Montisimulium* и др.) либо с хромосомой III (роды *Helodon*, *Boophthora*, *Gnus*, *Odagmia*, *Argentisimulium* и др.). Увеличение числа ядрышек и изменение их локализации — исключительное явление у мошек. Оно связано либо со спон-

танным разделением ядрышкового организатора на части и транслокацией этих частей на другие участки хромосом (Щербаков, 1965в, 1966а, б; Петрова, 1980; Качворян, 1990), либо с условиями обитания, когда, без видимых причин, появляются единичные личинки с дополнительными ядрышками. Так, в 4 изученных популяциях *M. pamiriensis* из высокогорных районов Западного Памира обнаружена одна личинка с дополнительным гетерозиготным ядрышком в хромосоме II (Петрова, 1977). Такая же ситуация обнаружена нами при исследовании *B. erythrocephala* из Украины (Петрова и др., 2007).

2.2.5. Число и локализация пуффов и колец Бальбиани

Пуффы как вздутия политенных хромосом образуются в результате деспирализации участков хромосом. Количество исходных дисков, участвующих в образовании пуффа, различно и варьирует от 1 до 20. При этом установлено, что чем больше исходная масса ДНК, тем больше объем возникающего пуффа (Mexhelke, 1953, 1960, 1961; Panitz, 1964; Кикнадзе, 1972). Таким образом, пуфф — это единица локальной деспирализации определенного участка хромосомы. Установлено, что в пуффах многих двукрылых синтезируется информационная РНК (Жимулев, 1992, 1993).

У мошек описаны асимметричные пуффы, одна сторона которых деспирализована сильнее, чем другая (Щербаков, 1966б, в). Расположение и присутствие пуффов в кариотипах мошек постоянно и консервативно. Так, в хромосомах II и III у всех без исключения видов семейства постоянно присутствуют пуффы, в хромосоме IIS они чередуются с кольцами Бальбиани и хромосому называют пуффовой, в медианной зоне хромосомы IIS два пуффа разделены маркерным гетерохроматиновым диском. По этому признаку легко различить в кариотипах хромосомы II и III.

Особая группа пуффов — гигантские пуффы или кольца Бальбиани (BR) представляют собой наиболее транскрипционно активные, деконденсированные участки хромосом. У хирономид в этих участках обнаружены гены, кодирующие синтез тканеспецифических секреторных белков, из которых личинки плетут ловчие сети и строят домики (Кикнадзе и др., 1987, 1996). То же справедливо и для личинок мошек. BR — чрезвычайно удобный объект для изучения работы генов, т.к. этот участок хромосомы легко наблюдается в световом и электронном микроскопах. Недавние молекулярные исследования показали, что в BR локализуются не только гены, кодирующие высоко- и низкомолекулярные секреторные белки, но и несколько типов генетических мобильных элементов (ГМЭ). Последние характеризуются нестабильной локализацией в геноме, при их перемещениях изменяется экспрессия генов, возникает инсерционный мутагенез (Хесин, 1984; Гвоздев, Кайданов, 1986; Кикнадзе и др., 1996).

Как таксономический признак BR учитывается при идентификации отдельных хромосом в кариотипе. Как уже было сказано, у мошек число BR постоянно, у всех видов BR локализуется в IIS, меняя свое положение в хромосоме в резуль-

тате гомозиготных инверсий, от теломерного (роды *Metacnephia*, *Wilhelmia*) до медианного (остальные роды). Присутствие BR у мошек не зависит от возрастной стадии личинки и условий обитания.

2.2.6. Гетерохроматин

У Diptera гетерохроматин определяется цитологически и обладает известными свойствами: способностью к конъюгации, способностью концентрироваться в районах центромеры и теломеры, способностью к организации высокоповторяющихся последовательностей ДНК и способностью быть транскрипционно неактивными (Жимулев, 1993).

У некоторых видов мошек теломеры несут отчетливые блоки гетерохроматина. Возникновение теломерных эктопических контактов — видоспецифический признак. Так, у *M. variaefilis* наблюдается объединение теломер всех хромосом в разных сочетаниях (Петрова, 1981). У некоторых хирономид, например, *Orthocladus bipunctellus* (Michailova, Belcheva, 1982), *Ch. nuditarsis* (Fischer, Tichy, 1980; Жиров, Петрова, 1993; Petrova et al., 2000; Кикнадзе и др., 2006), в результате сверхрепликации теломерного гетерохроматина возникают яркие и крупные гетерохроматиновые «блоки-кнопки», которые используются кариологами как дополнительный видовой маркер.

У мошек часто возникают контакты между центромерным гетерохроматином, при этом плотность контактов различна у разных видов. Так, у *W. paraequina* прицентромерный гетерохроматин каждой хромосомы только соприкасается друг с другом, часто образуя кольцеобразную структуру. Такие контакты прицентромерного гетерохроматина крайне неустойчивы и часто нарушаются. В результате таких контактов расходятся не целые хромосомы, а только плечи, образуя «неустойчивые ассоциации» друг с другом. Эти ассоциации могут состоять из двух, трех, четырех и пяти плеч. Нередки случаи, когда наблюдаются попарно лежащие плечи разных хромосом (Петрова и др., 2003). У *M. hirta*, напротив, хромосомы всегда плотно объединены в единый хромоцентр (типа «Drosophila») (Петрова, 1973а, б). Надо отметить, что у кровососущих мошек этот тип хромоцентра, как правило, отмечен в южных широтах Палеарктики и на больших высотах (Чубарева, Петрова, 2003).

Кроме центромерного и теломерного у двукрылых, в том числе и у мошек, имеется еще интеркалярный гетерохроматин, который концентрируется в районе ядерышкового организатора или разбросан по всем хромосомам (Чубарева, 1974).

2.2.7. Районы хромосом, определяющие пол

У мошек, как правило, отсутствуют дифференцированные половые хромосомы. Таковую систему, когда кариотип самцов не отличается от кариотипа самки, рассматривают как эволюционно примитивную (Rothfels, 1981б). У таких видов единственный признак, определяющий пол на стадии личинки — это структура и форма их гонад.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВИДЫ МОШЕК, У КОТОРЫХ ИЗУЧЕНЫ КАРИОТИПЫ И МОРФОЛОГИЯ ЛИЧИНОК, КУКОЛОК И ИМАГО САМЦОВ (СИСТЕМА ПО: РУБЦОВУ, 1956; ЯНКОВСКОМУ, 2002)	3
ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА 1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	12
ГЛАВА 2. КАРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ В ТАКСОНОМИИ МОШЕК	15
2.1. Число хромосом	15
2.2. Признаки политенных хромосом	15
2.2.1. Конъюгация гомологичных хромосом	16
2.2.2. Последовательности дисков политенных хромосом	16
2.2.3. Морфология центромерных районов	17
2.2.4. Число и локализация ядрышек	21
2.2.5. Число и локализация пуффов и колец Бальбиани	22
2.2.6. Гетерохроматин	23
2.2.7. Районы хромосом, определяющие пол	23
2.3. Полиплоидия	24
2.4. В-хромосомы	25
ГЛАВА 3. СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ХРОМОСОМ	34
3.1. Транслокация плеч и ядрышкового организатора	34
3.2. Делеции и дефишенсы	35
3.3. Пара- и перичентрические инверсии	35
3.4. Малые структурные перестройки	37
3.5. Слияния хромосом	37
ГЛАВА 4. КАРИОТИПЫ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ЛИЧИНОК, КУКОЛОК И ИМАГО САМЦОВ	38
Условные обозначения	38
Морфологические признаки личинки, куколки и имаго самца	38
Кариотипические признаки	38
ЛИТЕРАТУРА	124
ИЛЛЮСТРАЦИИ	135