

**КАРМОКОВ МУХАМЕД ХУСЕНОВИЧ**

**РОДЫ *CHIRONOMUS* MEIGEN, 1803 И *SAMPTOCHIRONOMUS* KIEFFER, 1918 (DIPTERA,  
*CHIRONOMIDAE*) ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА И ПРЕДКАВКАЗЬЯ: СИСТЕМАТИКА,  
РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ХРОМОСОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ**

03.02.05 – энтомология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург 2013

Работа выполнена на кафедре общей биологии, фармакогнозии и ботаники Государственного бюджетного образовательного учреждения «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Министерства Здравоохранения»

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор  
**Полуконова Наталья Владимировна**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук  
**Петрова Нинель Алексеевна**  
Зоологический институт РАН,  
ведущий научный сотрудник

доктор биологических наук  
**Зинченко Татьяна Дмитриевна**  
Институт экологии Волжского бассейна РАН,  
заведующая лабораторией

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г. в \_\_\_\_:\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 002.223.01 при Зоологическом институте РАН, по адресу: Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Зоологического института РАН

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Овчинникова Ольга Георгиевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Близкие роды комаров-звонцов - *Chironomus* Meigen, 1803 и *Camptochironomus* Kieffer, 1918 трибы Chironomini относятся к наиболее молодому с эволюционной точки зрения подсемейству Chironominae Macquart, 1838 (Chironomidae, Diptera). На основе сходства морфологии личинки и куколки, а также последовательностей ряда генов и последовательностей дисков политенных хромосом *Camptochironomus* рассматривали как подрод в составе рода *Chironomus* (Saether, 1977; Wiederholm, 1979; Ashe, 1983; Гурьев, 2002). Однако более значимый в таксономическом отношении комплекс признаков имаго и особенности спаривания свидетельствуют о родовой самостоятельности *Camptochironomus* (Шилова, Шобанов, 1986; Шобанов и др., 1996; Полуконова, 2005). Наиболее крупный по объему род *Chironomus* насчитывает около 200 видов (Шобанов, 2011). *Camptochironomus* представлен шестью видами – *C. pallidivittatus* sensu Edwards, 1929 (Мартин и др., 2011), *C. tentans* F., *C. flavofasciatus* Kieffer и *C. setivalva* (Shilova) (Шилова, 1957), *C. voskerothi* (Rasmussen, 1984), *C. dilutus* (Shobanov et al., 1999).

Массовые виды *Chironomus* и *Camptochironomus* хорошо изучены по морфологии (Константинов, 1956; Шилова, 1958; Strenzke, 1959; Родова, 1978; Панкратова, 1983; Шобанов, 1990, 2000; Полуконова, 2005 и др.) и кариотипу (Keyl, 1960, 1962; Wülker, 1973-1998; Белянина, 1983; Michailova, 1989; Кикнадзе и др., 1991, 1998; Петрова, 1991; Филинкова, 1995; Сиирин, 1996; Голыгина, 1999; Шобанов, 2000; Гундерина, 2001; Кикнадзе, 2004; Полуконова, 2001, 2003, 2005 и др.). Однако их видовой состав, особенности морфологии и структура инверсионного полиморфизма многих регионов до сих пор остаются недостаточно исследованными.

Достоверные данные о фауне *Chironomus* существуют только в регионах, где определение видов сопровождалось цитогенетическим анализом: в регионах Поволжья (Белянина, 1983; Шобанов, 1990; Шобанов, Павлова, 1994; Логинова (Полуконова), 1994; Полуконова, 2005), Казахстана (Ракишева, 1996), Северного Урала (Филинкова, 1995), Байкала и Прибайкалья (Бухтеева, 1980; Провиз, 1988), Западной Сибири (Кикнадзе и др., 1991; Голыгина, 1999; Андреева, 1999; Мисейко, 2003 и др.) и Якутии (Кикнадзе и др., 1996).

К регионам, не изученным ни в отношении фауны, ни в отношении морфологии и структуры кариотипа *Chironomus* и *Camptochironomus*, относится регион Кавказа. Ранее был известен только один вид *Chironomus* – *Ch. bonus* из Восточной Грузии (Шилова, Джваршеишвили, 1974). Исследование *Chironomus* и *Camptochironomus* в данном регионе актуально по ряду причин. Центральный Кавказ и Предкавказье представляют собой не только южную границу ареала видов с палеарктическим и голарктическим распространением, но и объединяют разнотипные водоемы, находящиеся на разных высотах. Анализ терминальных популяций, оказавшихся под влиянием факторов высокогорья, позволит вскрыть определенные закономерности формирования структуры их кариотипа.

**Цель работы** – изучить видовой состав, систематику, особенности морфологии и распространения, кариотипы и хромосомный полиморфизм видов *Chironomus* Meigen и *Camptochironomus* Kieffer (Chironomidae, Diptera) Центрального Кавказа и Предкавказья.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Установить видовой состав *Chironomus* и *Camptochironomus*, особенности распространения в различных водоемах Центрального Кавказа и Предкавказья.

2. Исследовать морфологические особенности преимагинальных стадий и составить определительную таблицу *Chironomus* и *Camptochironomus* по личинке для кавказского региона.

3. Изучить структуру кариотипов и особенности хромосомного полиморфизма видов *Chironomus* и *Camptochironomus* из цитологических комплексов *thummi*, *pseudothummi*, *parathummi*, *lacunarius* и *camptochironomus*. Определить особенности формирования инверсионного полиморфизма в водоемах, расположенных на разной высоте н.у.м.

4. Сравнить структуру и уровень инверсионного полиморфизма видов *Chironomus* и *Camptochironomus* кавказских популяций и популяций других регионов.

**Научная новизна.** Впервые с использованием кариотипического подхода исследован видовой состав *Chironomus* и *Camptochironomus* Кавказа: Кабардино-Балкарской Республики (КБР), Республики Северная Осетия – Алания (РСО-Алания), Карачаево-Черкесской Республики (КЧР) и Ставропольского края. Обнаружено 19 видов *Chironomus* (18 – подрода *Chironomus*, s.str.

и один - *Lobochironomus*) и два - *Camptochironomus*, для них представлены морфологические диагнозы преимагинальных стадий, детальное картирование политенных хромосом и спектр гетеро- и гомозиготных инверсий. У всех видов  $2n=8$ . Впервые описаны 11 новых хромосомных последовательностей: у *Ch. balatonicus* Devai et al., 1983 (bal D19, bal F9), *Ch. usenucus* Loginova et Beljanina, 1994 (use A3), *Ch. nuditarsis* Str. (Keyl, 1961) (ndt F2), *Ch. bernensis* Klötzli, 1973 (ber C2), *Ch. aprilinus* Meigen, 1838 (apr A3), *Ch. pseudothummi* Strenzke, 1956 (pst A2, pst B2, pst F2), *Ch. uliginosus* Keyl, 1960 (uli B4), *Camptochironomus pallidivittatus* sensu Edwards, 1929 (pal B10), эндемичных для региона Кавказа, и составлены каталоги последовательностей дисков политенных хромосом (ПХ). Описан новый для науки вид - *Ch. kabardensis*, sp.n. Описаны кариотипы и морфологические особенности трех новых для науки видов *Chironomus* – *Ch. sp. 1*, *Ch. sp. 2* и *Ch. kabardensis*, sp.n. Впервые определены экологические факторы, ограничивающие обитание *Chironomus* и *Camptochironomus* в водоемах Кавказа, которые можно рассматривать в качестве изолирующих барьеров, ограничивающих панмиксию между соседними популяциями. Впервые установлены морфологические и кариотипические особенности кавказских популяций 15 уже известных видов, расширяющие представления об их морфологии и структуре кариофондов. Впервые на основе хромосомного анализа выявлено, что большинство кавказских популяций видов с широким ареалом – терминальные, обладающие специфическими особенностями по составу хромосомных последовательностей.

**Теоретическая и практическая значимость.** Впервые установлены особенности инверсионного полиморфизма *Chironomus* высокогорных водоемов: снижение его уровня и формирование эндемичного состава генотипических комбинаций и зиготических сочетаний в результате отсутствия панмиксии с популяциями предгорья. Впервые для региона Кавказа, на кариологически датированном материале составлена определительная таблица по личинке для 21 вида *Chironomus* и *Camptochironomus*, приведены диагнозы преимагинальных стадий для 13 видов. Таблица используется в учебном процессе на кафедре зоологии, а цитофотокарты ПХ - на кафедре генетики СГМУ. Определены модельные виды для проведения экологического и хромосомного мониторинга водоемов Кавказа – *Ch. nuditarsis*, *Ch. piger* и *Ch. riparius*, как наиболее массовые и обитающие в разнообразных водоемах от 300 до 2760 м н.у.м. Составлены каталоги последовательностей дисков ПХ *Chironomus* и *Camptochironomus*, которые послужат отправной точкой в мониторинге хромосомного состава популяций хирономид данного региона.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Снижение числа видов *Chironomus* и *Camptochironomus* в водоемах кавказского региона наблюдается выше 1000 м над уровнем моря (н.у.м.), на такой высоте в основном обитают виды цитокомплекса *pseudothummi* (56%), что может быть связано с селективным преимуществом сочетания хромосомных плеч этого цитокомплекса в условиях высокогорья.

2. Предгорная и высокогорная популяции широко распространенного вида *Ch. nuditarsis* – терминальные и различаются качественным составом хромосомных последовательностей, что свидетельствует об отсутствии свободного обмена генами между ними и указывает на наличие частичной изоляции, способствующей формированию эндемичного внутривидового полиморфизма.

3. С увеличением высоты н.у.м. в популяциях *Chironomus* возрастает и мономорфность по определенным хромосомным последовательностям, имеющих, видимо, селективное преимущество. Для большинства видов *pseudothummi*-комплекса, а также *Ch. piger* и *Ch. riparius*, преимущество в условиях высокогорья имеют стандартные последовательности; у видов *thummi*-комплекса, на примере, *Ch. nuditarsis*, мономорфными могут быть последовательности, не являющиеся базовыми для вида.

**Апробация работы.** Материалы диссертации представлены на IX Международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа» (Махачкала, 2007); Международной научно-практической конференции (Ставрополь, 2008); межрегиональной с Международным участием конференции «Молодежь и наука: итоги и перспективы» (Саратов, 2008); X трихoptерологическом симпозиуме и IV Всероссийском симпозиуме по амфибионтным и водным насекомым (Владикавказ, 2010); V Международной конференции по кариосистематике беспозвоночных животных (Новосибирск, 2010); XIV Школе-конференции молодых ученых

(Борок, 2010); Международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке» (Санкт-Петербург, 2011); Всероссийской конференции с международным участием со школой-семинаром молодых ученых по изучению хирономид (Тольятти, 2011); XIV съезде Русского энтомологического общества (Санкт-Петербург, 2012).

**Декларация личного участия автора.** В диссертационной работе использованы материалы, собранные лично автором. Автор самостоятельно проводил все этапы морфологического и кариотипического анализа, а также компьютерную обработку полученных результатов, принимал участие в обсуждении. Суммарное личное участие автора составило 80%.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 20 работ, включая 11 статей, из которых 6 в журналах, рекомендованных ВАК.

**Структура и объем работы.** Диссертация содержит разделы: введение, обзор литературы, материал и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы и приложения. Работа изложена на 163 страницах, включает 20 рисунков и 28 таблиц в тексте и 69 рисунков и 32 таблицы в приложениях, список цитируемой литературы включает 330 ссылок, из которых 126 на иностранном языке.

**Благодарности.** Автор искренне признателен своему научному руководителю д.б.н. Н. В. Полуконовой, а также благодарен глубокоуважаемым коллегам, с которыми обсуждались фрагменты исследования – д.б.н. Н. А. Шобанову (Борок), к.б.н. А.М. Хатухову (Нальчик), к.б.н. М.В. Ермохину и к.б.н. М.Ю. Воронину (Саратов) и коллегам, с которыми проводились экспедиции по сбору научного материала – А.В. Якимову и В.Л. Львову (Нальчик).

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Глава 1. Современное состояние изученности хирономид *Chironomus* и *Camptochironomus* (обзор литературы)

Представлено современное состояние изученности *Chironomus* и *Camptochironomus* России. Данные по видам этих родов на Кавказе практически отсутствуют, проводимые ранее в этом регионе исследования фауны хирономид без использования кариологического метода не достоверны. Приведены основные принципы и подходы к анализу инверсионного полиморфизма *Chironomus* (Гундерина, Кикнадзе, 1999, 2000; Полуконова, 2005; Шобанов, Большаков, 2011 и др.).

### Глава 2. Материалы и методы исследования

**Материал.** Материалом послужили в основном личинки и куколки *Chironomus* и *Camptochironomus*, собранные в 2005 – 2012 г.г. (табл. 1) из водоемов Центрального Кавказа и Предкавказья (КБР, КЧР, РСО-Алания, Ставропольский край). Изучен 21 вид, из них 19 видов *Chironomus* и два - *Camptochironomus*. Обработано более 200 гидробиологических проб, проанализировано около 1650 морфологических препаратов и более 1600 препаратов политенных хромосом (ПХ).

**Методы.** При сборе и обработке материала использованы общепринятые гидробиологические и морфологические методы (Черновский, 1949; Шилова, 1976; Макаренченко, 1985). Высоту над уровнем моря (н.у.м.) определяли устройством GPS. Препараты ПХ готовили по этило-орсеиновой методике (Демин, Шобанов, 1990); их анализ проводили под микроскопом «Люмам И-1»; фотографирование - фотоаппаратом «Canon Power Shot A470».

Для *Chironomus* картирование ПХ проводили в системе Кейла (Keyl, 1962) и Деваи с соавторами (Devai et al., 1989); для видов группы plumosus также в системе Максимовой (1976) и Шобанова (1994). Обозначение районов проводили по цитофотокартам: для видов группы plumosus (Кикнадзе и др., 1991; Полуконова, Белянина, 1993; Шобанов, 1994), *Ch. nuditarsis* (Кикнадзе и др., 2006), *Ch. annularius*, *Ch. piger*, *Ch. riparius*, *Ch. melanescens* (Кикнадзе и др., 1991), *Ch. pseudothummi* (Кикнадзе и др., 2008) *Ch. luridus* (Кикнадзе и др., 2010), *Ch. dorsalis* (Kiknadze et al., 2008), *Ch. aprilius* (Кикнадзе, Истомина, 2009), *Ch. parathummi* (Кикнадзе и др., 1991), *Ch. bernensis* (Кикнадзе и др., 2009), *Ch. salinarius* (Michailova, 1974, 1989), для *Camptochironomus* (Beer mann, 1955; Kiknadze et al., 1996, 1998).

Таблица 1

Материал и места сбора видов *Chironomus* и *Camptochironomus* Центрального Кавказа и Предкавказья

Цифрами обозначены водоемы: 1 – горячие источники, 2 – солоноватые водоемы, 3 – озера, 4 – горные реки, 5 – временные водоемы, 6 – рыбоводные пруды, 7 – водопойные запруды на горных речках, 8 – заболоченные ручьи, 9 – водохранилища равнинных рек, 10 – равнинные реки, 11 – пойменные лужи

Виды	Исследованные регионы Кавказа				число выборки (% от общего числа)	Число исследованных особей по	
	КБР	КЧР	PCO	Ставр. край		морфологии	карио-типу
<i>Chironomus</i> цитоконплекса <i>thummi</i>							
<i>Ch. plumosus</i> (Linnaeus, 1758)	6,10,11	-	-	9	8 (5,6)	49	42
<i>Ch. balatonicus</i> Devai et al., 1983	-	-	-	6,9	5 (3,5)	78	75
<i>Ch. usenucus</i> Loginova et Beljanina, 1994	-	-	-	9	1 (0,7)	17	17
<i>Ch. nuditarsis</i> Str. (Keyl, 1961)	3, 6,9,10,11	-	11	9,11	24 (16,9)	159	152
<i>Ch. annularius</i> Strenzke, 1804	7,11	-	11	11	5 (3,5)	41	39
<i>Ch. piger</i> Strenzke, 1959	4,5,7,8,9, 10,11	-	-	-	23 (16,3)	439	426
<i>Ch. riparius</i> Meigen, 1804	4,8,10,11	-	11	9,10	18 (12,8)	307	302
<i>Ch. salinarius</i> Kieffer, 1915	2	-	-	-	1 (0,7)	40	34
<i>Ch. sp. 2</i> (Kuban.)	-	-	-	11	1 (0,7)	10	10
<i>Chironomus</i> цитоконплекса <i>pseudothummi</i>							
<i>Ch. pseudothummi</i> Strenzke, 1956	7	-	-	-	1 (0,7)	37	31
<i>Ch. aprilinus</i> Meigen, 1838	2	-	-	-	1 (0,7)		25
<i>Ch. luridus</i> Strenzke, 1959	3,8,10	-	-	11	9 (6,3)	70	72
<i>Ch. dorsalis</i> Meigen, 1818	5,7,8,11	-	-	-	15 (10,5)	249	236
<i>Ch. melanescens</i> Keyl, 1961	5,6,11	-	11	10	8 (5,6)	43	33
<i>Ch. kabardensis</i> , sp.n.	1,3,8	-	-	-	1 (0,7)	30	32
<i>Ch. sp. 1</i> (Kuden.)	7	-	-	-	1 (0,7)	2	2
<i>Ch. uliginosus</i> Keyl, 1960	1	-	-	-	1 (0,7)	4	4
<i>Chironomus</i> цитоконплекса <i>parathummi</i>							
<i>Ch. parathummi</i> Keyl, 1961	8	-	-	-	1 (0,7)	2	2
<i>Chironomus</i> цитоконплекса <i>lacunarius</i>							
<i>Ch. bernensis</i> Klötzli, 1973	4,10,11	4,11	5	9,11	12 (8,5)	48	45
<i>Camptochironomus</i> цитоконплекса <i>camptochironomus</i>							
<i>C. tentans</i> (Fabricius), 1805	9,10	-	-	-	2 (1,4)	3	5
<i>C. pallidivittatus</i> sensu Edwards 1929	7,8	-	10, 11	-	5 (3,5)	24	22

При описании инверсионного полиморфизма использованы как, общепринятые показатели: число гетерозиготных инверсий на особь; число зиготических сочетаний; число генотипических комбинаций и др. и, так и введенные нами: отношение числа зиготических сочетаний на особь; число генотипических комбинаций на особь. Оценку сходства водоемов по видовому составу проводили с помощью коэффициента сходства Жаккара ( $K_J$ ). Дендрограммы цитогенетических дистанций строили на основе критерия Нея (1972) по среднему присоединению с учетом отличий

по всем последовательностей дисков во всех хромосомных плечах. Дендрограмму сходства водоемов строили методом одиночной связи (ближайшего соседа) с подсчетом Евклидовых расстояний. При статобработке применены методы описательной статистики и корреляционный анализ, реализованные в пакете Statistica 6.0 и модуле Atte Stat в пакете MSeXel. Подсчитывались коэффициент Пирсона ( $r$ ), среднее квадратическое отклонение.

В тексте использованы следующие сокращения: н.у.м. - над уровнем моря; КБР - Кабардино-Балкарская Республика, РСО - Республика Северная Осетия – Алания, КЧР - Карачаево-Черкесской Республика, ГС – гулярный склерит, SuR – число радиальных бороздок вентроментальных пластинок личинки, mLC – минимальная длина головы, SVo – верхние придатки гениталий самца, ПХ – политенные хромосомы, Я – ядрышко, КБ - кольцо Бальбиани.

### Глава 3. Фауна и особенности распространения *Chironomus* Meigen и *Camptochironomus* Kieffer в водоемах Центрального Кавказа и Предкавказья

*Физико-географическая характеристика региона исследования.* В работе исследованы регионы Кавказа: КБР, КЧР, РСО-Алания, Ставропольский край (рис. 1).

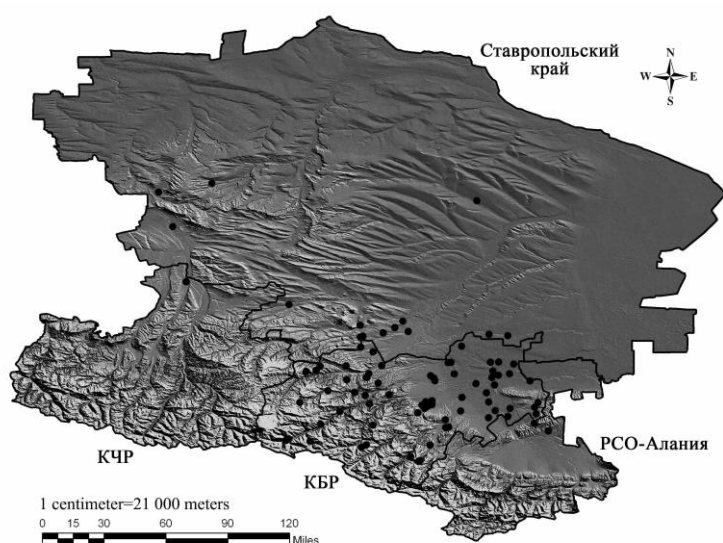


Рис. 1. Карта исследованных регионов Центрального Кавказа и Предкавказья  
Кружками обозначены места находок хирономид *Chironomus* и *Camptochironomus*

Регион представляет центральную часть северного макросклона Большого Кавказа и включает разнотипные ландшафты с перепадом высот от 150 до 5600 м н.у.м. Изученные водоемы локализованы в равнинной (до 500 м), предгорной (500-1000 м) и горной (выше 1000 м) зонах. Исследованы водоемы естественного (реки, озера, заболоченные ручьи, солоновато водные водоемы, горячие источники, временные водоемы - дождевые лужи, пойменные лужи и др.) и антропогенного происхождения (водохранилища равнинных рек, рыбоводные пруды, водопойные запруды на горных речках и др.) (табл. 1).

*Фауна видов Chironomus и Camptochironomus и особенности их распространения по разным водоемам.* Выявлен 21 вид (19 видов *Chironomus* и два *Camptochironomus*), из них три вида *Chironomus* – новые для науки. В целом число обнаруженных видов *Chironomus* и *Camptochironomus* в регионе Кавказа сходно с таковым в регионах Нижнего Поволжья (Логинова (Полуконова), 1994; Полуконова, 2005), Верхнего Поволжья (Шобанов, 1989; Шобанов, Павлова, 1994), Полярного Урала (Филинкова, 1995), Якутии (Кикнадзе и др., 1996), Восточного Казахстана (Ракишева, 1996) и других регионах и представлено в основном уже известными видами с голарктическим и палеарктическим распространением.

Для видов *Chironomus* с узким ареалом характерна единичная встречаемость (0.7% от общего числа выборок), для видов с широким ареалом – от 3.5 до 16.9% (табл.1). Сохраняется известная приуроченность к определенным местам обитания: солоноводные *Chironomus* (*Ch. salinarius*, *Ch. aprilinus*) отмечены только в солоноватых водоемах; виды группы *plumosus* и *Ch.*

*nuditarsis* – преимущественно в крупных водоемах (равнинных реках, водохранилищах, прудах и озерах) (табл. 1). Наиболее часто встречаемые виды на Кавказе (табл. 1): *Ch. nuditarsis*, отмечен в 16.9% исследованных водоемов, *Ch. piger* (16.3%), *Ch. riparius* (12.8%) и *Ch. dorsalis* (10.5%). Наиболее разнообразные водоемы занимали *Ch. nuditarsis* и *Ch. piger* (табл. 2).

Таблица 2

Заселение *Chironomus* и *Camptochironomus* водоемов Центрального Кавказа и Предкавказья

№	Водоем	Кол-во видов	Виды
1	горячие источники	1	<i>Ch. kabardensis</i>
2	солонowodные водоемы	2	<i>Ch. salinarius</i> , <i>Ch. aprilinus</i>
3	озера	3	<i>Ch. nuditarsis</i> , <i>Ch. luridus</i> , <i>Ch. kabardensis</i> , <i>Ch. uliginosus</i>
4	горные реки	3	<i>Ch. piger</i> , <i>Ch. riparius</i> , <i>Ch. bernensis</i>
5	временные водоемы	4	<i>Ch. piger</i> , <i>Ch. dorsalis</i> , <i>Ch. melanescens</i> , <i>Ch. bernensis</i>
6	рыбоводные пруды	5	<i>Ch. plumosus</i> , <i>Ch. balatonicus</i> , <i>Ch. nuditarsis</i> , <i>Ch. melanescens</i>
7	водопойные запруды на горных речках	6	<i>Ch. annularius</i> , <i>Ch. piger</i> , <i>Ch. pseudothummi</i> , <i>Ch. dorsalis</i> , <i>Ch. sp. 1</i> (Kuden.), <i>C. pallidivittatus</i>
8	заболоченные ручьи	7	<i>Ch. piger</i> , <i>Ch. riparius</i> , <i>Ch. luridus</i> , <i>Ch. dorsalis</i> , <i>Ch. kabardensis</i> , <i>Ch. parathummi</i> , <i>C. pallidivittatus</i>
9	водохранилища равнинных рек	8	<i>Ch. plumosus</i> , <i>Ch. balatonicus</i> , <i>Ch. usenucus</i> , <i>Ch. nuditarsis</i> , <i>Ch. piger</i> , <i>Ch. riparius</i> , <i>Ch. bernensis</i> , <i>C. tentans</i>
10	равнинные реки	9	<i>Ch. plumosus</i> , <i>Ch. piger</i> , <i>Ch. nuditarsis</i> , <i>Ch. riparius</i> , <i>Ch. luridus</i> , <i>Ch. melanescens</i> , <i>Ch. bernensis</i> , <i>C. tentans</i> , <i>C. pallidivittatus</i>
11	пойменные лужи	11	<i>Ch. plumosus</i> , <i>Ch. nuditarsis</i> , <i>Ch. annularius</i> , <i>Ch. piger</i> , <i>Ch. riparius</i> , <i>Ch. sp. 2</i> (Kuban.), <i>Ch. luridus</i> , <i>Ch. dorsalis</i> , <i>Ch. melanescens</i> , <i>Ch. bernensis</i> , <i>C. pallidivittatus</i>

Наибольшее число видов (табл. 2) выявлено в пойменных лужах (11 видов), равнинных реках (9) и водохранилищах равнинных рек (8). Менее разнообразны видами - заболоченные ручьи (7), водопойные запруды на горных речках (6), рыбоводные пруды (5), временные водоемы (4), озера (3) и горные реки (3). В горячих источниках обитает только *Ch. kabardensis*. Наиболее сходны по видовому составу (табл. 3) равнинные реки и водохранилища равнинных рек ( $K_J=1.55$ ); равнинные реки и пойменные лужи ( $K_J=1.54$ ), которые, наряду с водохранилищами равнинных рек и рыбоводными прудами, образуют группу наиболее сходных по видовому составу водоемов (рис. 2). Обособленное положение занимают солонowodные водоемы, значение  $K_J$  при сравнении с каждым из исследованных водоемов равно 0 (табл. 3).

Таблица 3

Сравнение водоемов Центрального Кавказа и Предкавказья по видовому составу *Chironomus* и *Camptochironomus* на основе критерия Жаккара

Цифрами указаны сравниваемые водоемы (табл. 2)

№№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	0									
3	0.333	0								
4	0	0	0							
5	0	0	0	0.500						
6	0	0	0.167	0	0.143					
7	0	0	0	0.125	0.143	0				
8	0.143	0	0.111	0.250	0.222	0	0.300			
9	0	0	0.100	0.250	0.200	0.333	0.076	0.157		
10	0	0	0.181	0.333	0.300	0.300	0.154	0.333	0.417	
11	0	0	0.153	0.273	0.363	0.250	0.308	0.285	0.357	0.667



Распределение изученных *Chironomus* и *Camptochironomus* на Центральном Кавказе и Предкавказье показало, что число видов уменьшалось с увеличением высоты н.у.м. (рис. 3) ( $r=0.98$ ,  $p<0.001$ ). Снижение числа видов наблюдалось выше 1000 м н.у.м., с которой связана низкая среднегодовая температура водоема. Наибольшую высоту занимал *Ch. piger* (2763 м н.у.м.). Наибольший диапазон высот отмечен у *Ch. piger*, а также *Ch. dorsalis* и *Ch. melanescens*, и таких видов, как *Ch. nuditarsis*, *Ch. riparius*, *Ch. luridus*, *C. pallidivittatus* (рис. 4).

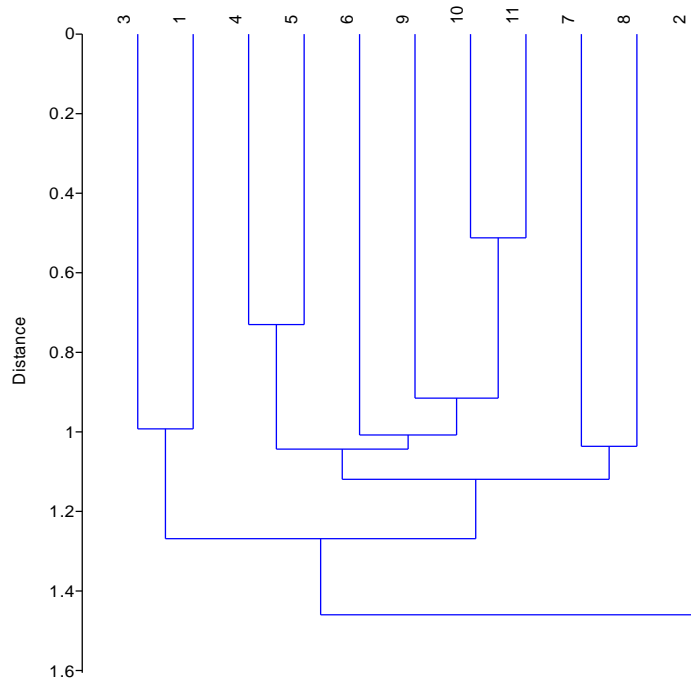
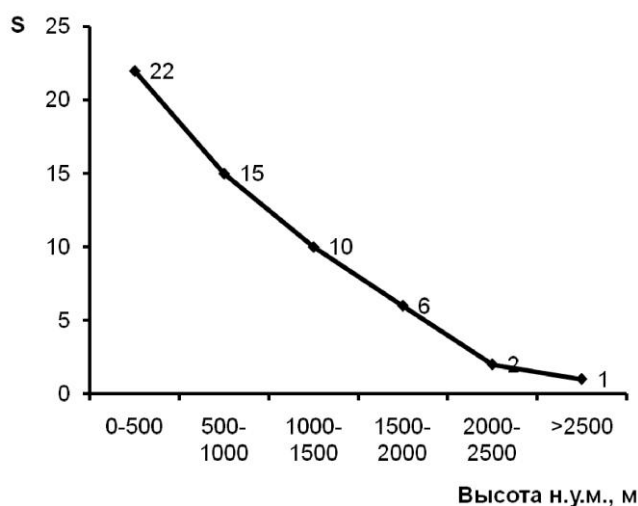


Рис. 2. Дендрограмма сходства водоемов по видовому составу, построенная по коэффициенту Жаккара методом одиночной связи (ближайшего соседа) – single linkage)

Цифры обозначают сравниваемые водоемы (табл. 2). По оси указаны Евклидовы расстояния



Вскрыта взаимосвязь цитогенетических и экологических особенностей видов *Chironomus*: виды цитокомплекса *pseudothummi* экологически более пластичны, по сравнению с видами *thummi*-комплекса и способны обитать в разнообразных мелких водоемах с разным гидрологическим режимом (табл. 1) и даже бытовых емкостях и горячих источниках (*Ch. kabardensis*), где другие виды этого рода не встречаются. До 1000 м н.у.м. преобладали виды цитокомплекса *thummi* (53%); на долю других цитокомплексов (*parathummi*, *lacunarius* и *camptochironomus*) приходилось по 6% и 29% - *pseudothummi* (рис. 5).

В целом с увеличением высоты разнообразие цитокомплексов снижалось, и в высокогорье обитали виды только цитокомплексов *pseudothummi* (56%), а также *thummi* (33%) и *camptochironomus* (11%). По своим экологическим особенностям к видам цитокомплекса *pseudothummi* близки и *Ch. piger*, *Ch. riparius* (рис. 4), что, наряду с морфологическими и цитогенетическими признаками отражает их родство с видами комплекса *pseudothummi*.

Рис. 3. Зависимость числа видов (S) *Chironomus* и *Camptochironomus* от высоты н. у. м.

В изученных водоемах *Ch. plumosus* в подавляющем большинстве случаев его обнаружения (75%) обитал отдельно от других видов группы *plumosus*, *Ch. balatonicus* - в 80%, что в целом нехарактерно для симпатрических видов-двойников группы, к которым относят большинство представителей, за исключением *Ch. bonus*, обитающим аллопатрично в Восточной Грузии (Шилова, Джваршеишвилли, 1974). Такое отдельное обитание двойников в условиях высокогорья указывает на присутствие ряда факторов, способных создать предпосылки дальнейшему аллопатрическому видообразованию.

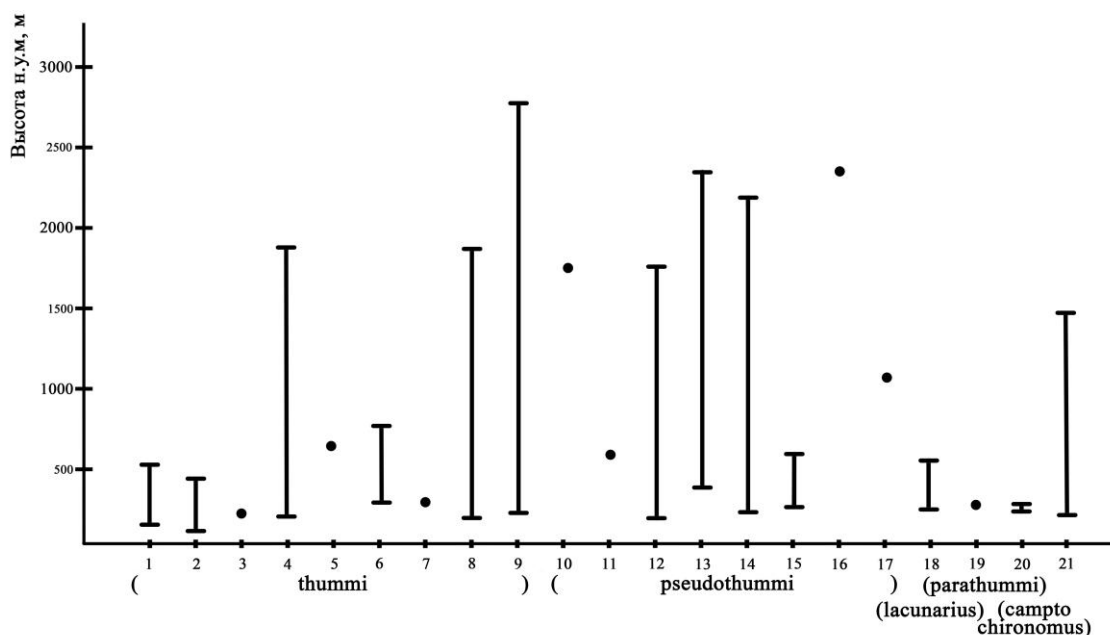


Рис. 4. Высотное распределение мест находок исследованных видов *Chironomus* и *Camptochironomus* в регионе Центрального Кавказа и Предкавказья

Цифрами обозначены виды цитокомплекса thummi: 1 - *Ch. plumosus*, 2 - *Ch. balatonicus*, 3 - *Ch. usenucus*; 4 - *Ch. nuditarsis*, 5 - *Ch. salinarius*, 6 - *Ch. annularius*, 7 - *Ch. sp. 2* (Kuban.), 8 - *Ch. riparius*, 9 - *Ch. piger*, цитокомплекса pseudothummi: 10 - *Ch. pseudothummi*, 11 - *Ch. aprilinus*, 12 - *Ch. luridus*, 13 - *Ch. dorsalis*, 14 - *Ch. melanescens*, 15 - *Ch. kabardensis*, 16 - *Ch. sp. 1* (Kuden.), 17 - *Ch. uliginosus*; цитокомплекса lacunarius: 18 - *Ch. bernensis*; цитокомплекса parathummi: 19 - *Ch. parathummi*, цитокомплекса camptochironomus: 20 - *C. tentans*, 21 - *C. pallidivittatus*.

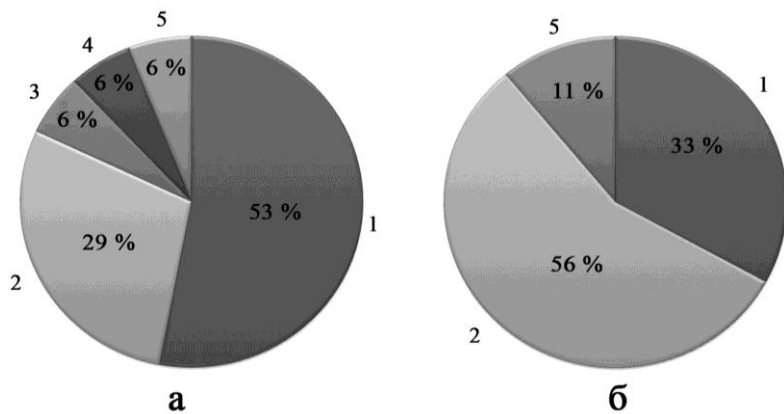


Рис. 5. Соотношение видов *Chironomus* и *Camptochironomus* разных цитокомплексов на равнине, предгорье (а) и высокогорье (б) Обозначения: 1- thummi-комплекс, 2 – pseudothummi, 3 – lacunarius, 4 – parathummi, 5 – camptochironomus

*Ch. piger* и *Ch. riparius*, обитающие, наоборот, как правило, раздельно (Keyl, Strenzke, 1956, 1965; Полуконова, 2005), в двух из 10 исследованных водоемов Кавказа были встречены вместе. При этом гибридов между ними в данных выборках не зарегистрировано, что доказывает наличие в кавказском регионе репродуктивной изоляции между *Ch. piger* и *Ch. riparius*, долгое время считавшихся подвидами (Keyl, Strenzke, 1956, 1965). В большинстве же водоемов КБР выявлены четкие различия по характеру географического распространения и биотопической приуроченности этих видов - *Ch. piger* заселял преимущественно стоячие водоемы на высоте 200 – 2763 м н.у.м., а *Ch. riparius* - текущие водоемы на высоте 156 – 667 м н.у.м.

#### Глава 4. Особенности морфологии преимагинальных стадий видов *Chironomus* Meigen и *Camptochironomus* Kieffer

Исследованные виды *Chironomus* относились к группам: plumosus (*Ch. plumosus*, *Ch. balatonicus*, *Ch. usenucus*); riparius (*Ch. piger* и *Ch. riparius*); salinarius (*Ch. salinarius*); lacunarius (*Ch. bernensis*); obtusidens (*Chironomus sp. 2* Kuban.) и tentans (*Camptochironomus tentans* и *C.*

*pallidivittatus*). *Ch. nuditarsis* по морфологии относится к группе *nuditarsis* (Полуконова, 2005 а,б; Полуконова и др., 2005), а по цито- и молекулярно-генетическим данным близок видам группы *plumosus* (Полуконова и др., 2009).

Виды *Ch. kabardensis*, sp. n., *Ch. sp. 1* (Kuden.), *Ch. sp. 2* (Kuban) – новые для науки, из которых комар описан нами только для *Ch. kabardensis*. Вид *Ch. sp. 1* (Kuden.) обнаружен в водопойных запрудах на горных речках (табл. 1, 2). Вид *Ch. sp. 2* (Kuban.) является новым представителем группы *obtusidens*. В отличие от других членов группы обитает во временных водоемах - обнаружен нами в пойменных лужах (табл. 1, 2), в то время, как большинство видов этой группы предпочитают водохранилища или реки.

***Chironomus kabardensis*.** Обнаружен в горячих источниках, озерах и заболоченных ручьях (табл. 1, 2). Верхние придатки гениталий самца С-типа (Strenzke, 1959) (рис. 6). По строению личинки (в частности, неокрашенному ГС) и структуре кариотипа (сочетанию хромосомных плеч - AE, CD, BF) *Ch. kabardensis* близок видам цитокомплекса *pseudothummi*, а по имаго, в частности, по строению верхних придатков (SVo) – видам *thummi*-комплекса (рис. 6). В то время, как у имаго видов комплекса *pseudothummi* SVo формы «башмачка» (Strenzke, 1959).

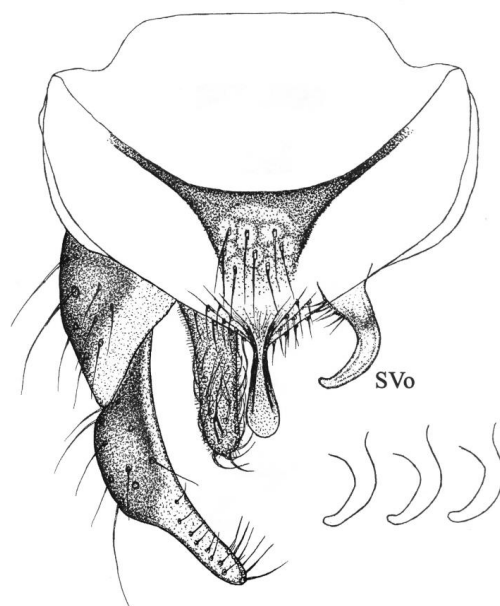


Рис. 6. Гениталии самца *Ch. kabardensis* SVo – верхние придатки гениталий самца

Представлены описания преимагинальных стадий уже известных видов *Chironomus* и *Camptochironomus* с привлечением 15 метрических показателей личинки и 5 показателей куколки. Выявленные особенности морфологии этих видов кавказских популяций в основном заключались в изменении размаха их морфологической изменчивости. За исключением *Ch. dorsalis*, личинка которого обладала длинными анальными папиллами, во много раз превышающих «обычные» для личинок рода размеры, и темно пигментированной головной капсулой; *Ch. bernensis* с хорошо выраженными дополнительными зубчиками внутреннего края премандибулы личинки и *Ch. nuditarsis* с темной пигментацией тергитов куколки.

Личинки *Chironomus* из *pseudothummi*-комплекса относятся к разным личиночным типам: одни имеют латеральные отростки (f.l. *plumosus*), другие их не имеют (*thummi*). В пределах каждой группы виды имеют более сходное морфологическое строение. Их сходство на стадии личинки подкрепляется и сходством их кариотипов (глава 5). Однако для выделения группы необходим более детальный анализ и других стадий развития – куколки и имаго. Общими признаками для видов личиночного типа f.l. *plumosus* из *pseudothummi*- комплекса, служат: наличие латеральных отростков тела, длинные и извитые вентральные отростки. Из исследованных нами популяций Кавказа к таким сходным видам относились: *Ch. pseudothummi*, *Ch. luridus*, *Ch. uliginosus* и *Ch. kabardensis*. К дифференцирующим признакам относятся: окраска гулярного склерита, форма вершины срединного зубца ментума, относительные размеры 4-го и 5-го зубцов ментума и расположение кольцевого органа на базальном членике антенны. Общими признаками для видов личиночного типа *thummi* из *pseudothummi*-комплекса, служат: отсутствия латеральных отростков тела, округлая вершина срединного зубца ментума и расположение кольцевого органа на 1/3 от основания базального членика антенны. Из исследованных нами популяций Кавказа к таким сходным видам относились: *Ch. aprilinus*, *Ch. melanescens* и *Chironomus sp. 1* (Kuden.). К дифференцирующим признакам относятся: длина вентральных отростков, окраска гулярного склерита, и относительные размеры 4-го и 5-го зубцов ментума.

**ОПРЕДЕЛИТЕЛЬНАЯ ТАБЛИЦА ВИДОВ *CHIRONOMUS* И *CAMPTOCHIRONOMUS*  
КАВКАЗА ПО ЛИЧИНКЕ**

- 1(4) Срединные сегменты тела вытянутые, их длина превышает ширину. Фронтальный склерит заметно темнее общей окраски головной капсулы
- 2(3) Ментум светло-коричневый. Боковые края срединного зубца параллельны друг другу. Сенсилла антенны не заходит за вершину 5-го членика.....19 – 28 мм *Camptochironomus tentans* (Fabricius), 1805
- 3(2) Ментум черный. Срединный зубец ментума характерной каплевидной формы или округлый так, что его боковые края не параллельны друг другу. Сенсилла антенны заходит за вершину 5-го членика .....18 – 28 мм *C. pallidivittatus* sensu Edwards, 1929
- 4(1) Длина сегментов тела не превышает их ширины. Фронтальный склерит обычно не выделяется и реже – слабо выделяется по окраске от общего тона головной капсулы
- 5(24) Латеральные отростки имеются
- 6(9) Вентроментальные пластинки с выступающими за передний край зубчиками. Наружная поверхность пластинок морщинистая
- 7(8) Вентральные отростки превышают длину подталкивателей, личиночный тип f.l.plumosus .....18 – 23 мм *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758)
- 8(7) Вентральные отростки короткие, личиночный тип f.l.semireductus .....19 – 25 мм *Ch. balatonicus* Devai et al., 1983<sup>1</sup>, .....21 – 26 мм *Ch. usenicus* Loginova et Beljanina, 1994
- 9(6) Вентроментальные пластинки с гладким передним краем. Наружная поверхность пластинок гладкая
- 10(11) Все четыре нижних зубца мандибулы черные.....16 - 25 мм *Ch. nuditarsis* Str. (Keyl, 1961)
- 11(10) Только три нижних зубца мандибулы черные, четвертый – светлый
- 12(15) Гулярный склерит (ГС) пигментирован
- 13(14) ГС темный – два почти черных округлых пятна посередине, более слабая пигментация по краям .....15.5–21.0 мм *Ch. annularius* s. Strenzke, 1804
- 14(13) ГС чуть затемнен у затылочного склерита.....14.0-18.5 мм *Ch. pseudothummi* Strenzke, 1959
- 15(12) ГС не пигментирован
- 16(19) Боковые зубцы ментума равномерно понижаются к его краям
- 17(18) Добавочные зубцы ментума близко прилегают к срединному .....14 – 16 мм *Ch. kabardensis*, sp.n.
- 18(17) Добавочные зубцы ментума не прилегают к срединному .....15.0-16.5 мм *Ch. parathummi* Keyl, 1961
- 19(16) Боковые зубцы ментума понижаются к его краям не равномерно
- 20(21) 4-й зубец ментума заметно меньше 5-го .....12–15 мм *Ch. dorsalis* Meigen, 1818
- 21(20) 4-й зубец ментума по величине равен 5-му
- 22(23) Сенсилла антенны достигает вершины 4-го членика. Кольцевой орган расположен по середине базального членика антенны .....15.5-20.5 мм *Ch. luridus* Strenzke, 1959
- 23(22) Сенсилла антенны не достигает вершины 4-го членика. Кольцевой орган расположен в 1/3 от основания базального членика антенны .....11.5-15.5 мм *Ch. uliginosus* Keyl, 1960
- 24(5) Латеральные отростки отсутствуют.
- 25(26) Вентральные отростки отсутствуют, личиночный тип salinarius .....15.0-18.5 мм *Ch. salinarius* Kieffer, 1915
- 26(25) Вентральные отростки имеются
- 27(32) Вентральные отростки короткие, не заходят за вершину подталкивателей
- 28(31) Вентральные отростки с округлой вершиной. ГС, вентроментальные пластинки и зубцы премандибулы имеют такую же окраску, как и головная капсула

<sup>1</sup> У исследованных *Ch. usenicus* и *Ch. balatonicus* кавказских популяций диагностический признак - число радиальных бороздок (SuR), указанный для разделения этих видов (Логинава (Полуконова), 1994), не работает. Так, у *Ch. usenicus* SuR=90-106, у *Ch. balatonicus* SuR=93-116, в то время, как в популяциях Нижнего Поволжья у *Ch. usenicus* SuR<75, а *Ch. balatonicus* SuR >90.

- 29(30) Премандибула с двумя основными зубцами и тремя дополнительными зубчиками на базальной части внутренней лопасти .....13-17 мм *Ch. bernensis* Wülker et Klötzli, 1973
- 30(29) Премандибула двулопастная, без дополнительных зубчиков на базальной части внутренней лопасти .....18.0-20.5 мм *Ch. aprilinus* Meigen, 1838
- 31(28) Вентральные отростки саблевидные, заострены на вершине (типа *fluviatilis*). ГС, вентроментальные пластинки и зубцы премандибулы темно пигментированы..... 15.0-16.5 мм *Ch. sp. 2 (Kuban.)*
- 32(27) Вентральные отростки длиннее подталкивателей
- 33(36) Вентральные отростки скорее прямые, чем извитые. Только три нижних зубца мандибулы черные, четвертый – светлый
- 34(35) ГС весь светлый. 4-й зубец ментума ниже 5-го .....15 мм *Ch. sp. 1 (Kuden.)*
- 35(34) ГС ближе к затылочному склериту затемнен. 4-й зубец ментума не ниже 5-го..... 13.0-17.5 мм *Ch. melanescens* Keyl, 1961
- 36(33) Вентральные отростки заметно извитые. Все четыре нижних зубца мандибулы черные
- 37(38) mLC=354.2-392.7 (376.5).....13.5-17.0 мм *Ch. piger* Strenzke, 1959
- 38(37) mLC=250.5-350.0 (313.5).....13.5-18.0 мм *Ch. riparius* Meigen, 1804

### Главы 5. Кариотипы и хромосомный полиморфизм видов *Chironomus* и *Camptochironomus*

*Результаты анализа структуры инверсионного полиморфизма Chironomus и Camptochironomus кавказских популяций.* Для 21 вида: 19 видов *Chironomus* и двух – *Camptochironomus* проведено детальное картирование ПХ и выявлен спектр гетеро- и гомозиготных инверсий (табл. 4). В ПХ *Ch. bernensis* из исследованных нами популяций центромеры более крупные n-типа (по классификации Шобанова (2002), а не s-типа, как видно на фотографиях ПХ этого вида их популяций других частей ареала (Petrova, Michailova, 2002; Истомина, Кикнадзе, 2004). Центромеры хромосом в кариотипах *Ch. sp. 1 (Kuden.)* и *Ch. sp. 2 (Kuban.)* тонкие, слабо выраженные, s-типа, у *Ch. kabardensis* они увеличены (n-тип). Число ядрышек (Я), колец Бальбиани (КБ) и их локализация в хромосомных плечах у *Ch. sp. 2 (Kuban.)* и *Ch. kabardensis* обычная для подавляющего большинства видов *Chironomus* – КБ локализованы в плечах В и G, Я – в плече G. У *Ch. sp. 1 (Kuden.)* в плече E имеется дополнительное Я.

По последовательности *Ch. sp. 1 (Kuden.)* в политенных хромосомах близок к *Ch. pseudothummi*. Вид *Chironomus kabardensis* по последовательности в политенных хромосомах близок к *Ch. luridus*.

Хромосомный полиморфизм кавказских популяций *Chironomus* и *Camptochironomus* инверсионного типа. Впервые описано 11 новых хромосомных последовательностей (табл. 5). Только в одной популяции *Ch. plumosus* у одной личинки обнаружена В-хромосома, и в одной популяции *Ch. nuditarsis* у двух личинок выявлен darknob. Хромосомно мономорфными в исследованном регионе оказались 9 видов *Chironomus*: четыре вида комплекса *thummi* - *Ch. piger*, *Ch. riparius*, *Ch. salinarius*, *Ch. sp. 2 (Kuban.)*, четыре - *pseudothummi*- комплекса - *Ch. dorsalis*, *Ch. kabardensis*, *Ch. uliginosus*, *Ch. sp. 1 (Kuden.)* и один – *parathummi*- комплекса - *Ch. parathummi*. Другие виды были хромосомно полиморфны в той или иной степени. Наиболее полиморфным оказался *Ch. usenicus* из группы *plumosus*, у которого во всех плечах выявлены инверсии, число гетерозиготных инверсий на особь 2.58.

*Инверсионный полиморфизм Chironomus предгорных и горных популяций.* Для анализа полиморфизма *Chironomus* предгорных и горной популяций нами выбран *Ch. nuditarsis*, т.к. только у этого вида наличие инверсий в кариотипе сочеталось с возможностью занимать водоемы на разных высотах. На основе корреляционного анализа полиморфизма *Ch. nuditarsis* показано, что число зиготических сочетаний на особь и число генотипических комбинаций на особь в популяции не зависят от положения н.у.м. (соответственно:  $r=0.65$ ,  $p=0.161$  и  $r=0.26$ ,  $p=0.617$ ).

Инверсионный полиморфизм *Chironomus* и *Camptochironomus* Центрального Кавказа и Предкавказья

Вид	Число ПД	Новые ПД	Число зиготич. сочетаний	Число ген. комбинаций	Число гетероз. инверсий на особь	Плечи с гетероз. инверсиями
<i>Chironomus</i> цитоконкомплекс <i>thummi</i> (AB, CD, EF, G)						
<i>Ch. plumosus</i>	13	-	7-13	1-9	0.5-1.5	A,C,D
<i>Ch. balatonicus</i>	17	bal D19, bal F9	7-18	1-26	1.0-2.44	A,B,C,D,F,G
<i>Ch. usenicus</i>	17	use A3	19	14	2.58	A,B,C,D,E,F, G
<i>Ch. nuditarsis</i>	11	ndt F2	11-14	7-11	0.95-1.0	A,B,C,F,G
<i>Ch. annularius</i>	13	-	7-13	1-15	0-1.5	A,B,C,D,E,F
<i>Ch. piger</i>	7	-	7	1	1	-
<i>Ch. riparius</i>	7	-	7	1	1	-
<i>Ch. salinarius</i>	7	-	7	1	1	-
<i>Ch. sp. 2</i> (Kuban.)	8	8	7-8	2	0.1	F
<i>Chironomus</i> цитоконкомплекс <i>pseudothummi</i> (AE, CD, BF, G)						
<i>Ch. pseudothummi</i>	10	pst A2, pst B2, pst F2	11	6	0.74	A,B,D,F,G
<i>Ch. aprilinus</i>	9	apr A3	9	3	0.76	A,G
<i>Ch. luridus</i>	8	-	7-8	1-2	0-1.0	C
<i>Ch. dorsalis</i>	7	-	7	1	-	-
<i>Ch. melanescens</i>	8	-	8	1-2	0-1.0	G
<i>Ch. kabardensis</i>	7	-	7	1	-	-
<i>Ch. sp. 1</i> (Kuden.)	7	-	7	1	-	-
<i>Ch. uliginosus</i>	7	uli B4	7	1	-	-
<i>Chironomus</i> цитоконкомплекс <i>parathummi</i> (AC, DE, BF, G)						
<i>Ch. parathummi</i>	7	-	7	1	-	-
<i>Chironomus</i> цитоконкомплекс <i>lacunarius</i> (AD, CB, EF, G)						
<i>Ch. bernensis</i>	10	ber C2	7-12	1-7	0-1.25	A,C,E
<i>Camptochironomus</i> цитоконкомплекс <i>camptochironomus</i> (CF, AB, ED, G)						
<i>C. tentans</i>	8	-	7-8	1-2	0-0.33	B
<i>C. pallidivittatus</i>	11	pal B10	8-11	2-4	0.2-1.4	A,B,D,G

В то время, как состав генотипических комбинаций и зиготических сочетаний, а также уровень полиморфизма *Ch. nuditarsis* в предгорных и горной выборках различался. С увеличением высоты водоема н.у.м. снижались частота зиготического сочетания ndt B2.2 и уровень инверсионного полиморфизма по таким показателям, как количество гетерозиготных личинок, число инверсий на особь, число инверсий на плечо и частота гетерозигот ndt G1.2 (табл. 6). Наряду с этим, возрастала частота личинок с ndt G2.2, при этом даже гетерозиготы ndt G1.2 отсутствовали. Ни в какой другой изученной ранее популяции этого вида (Кикнадзе и др., 2006) ndt G2 не только не являлась фиксированной, но даже преобладающей. Такое зиготическое сочетание, как ndt G2.2, маркирует горную «кариоформу», представляющую собой «терминальную» популяцию *Ch. nuditarsis* (термин в понимании Шобанова (Шобанов, Большаков, 2011)).

Новые последовательности ПХ уже известных видов  
чертой обозначен инвертированный участок

ПХ	Порядок дисков по системе Кейла и Деваи с соавторами	Исходная ПД
bal D19	1-3 <u>17-13g-b</u> <u>11-13a</u> <u>10a-8</u> <u>18d-a</u> 7-4 <u>10e-d</u> 18e-g 19-22 C	bal D1
bal F9	25 21ab 20 19 18 17 16 15c 22c 21c <u>25ba</u> <u>24 23</u> 15ab 14 13 C	bal F1
use A3	1-2 10-13a <u>3-2h</u> <u>5-9</u> 2-4 13-19 C	use A1
ndt F2	C 23f-18a 11a-17d 10d-8d <u>8c-7a</u> <u>1e-g</u> 1h-6 1d-a	ndt F1
pst A2	1a-3i 12-8 7d <u>6cba</u> 5-4a 13a-19f C	pst A1
pst B2	не картирована отличается от pst B1 простой инверсией	pst B2
pst F2	1a-i <u>11a-15i</u> 10d- 2a <u>6a-19d</u> 20a- 22f C	pst F1
apr A3	1a-e 6e-9 2d-3 12-10 13-17 18a-d <u>2a-c</u> 4-5 <u>6d-a</u> <u>18ef</u> 1k-f 19a-f C	apr A1
uli B4	не картирована отличается от uli B1 простой инверсией	uli B1
ber C2	1-2c <u>4hi-6b</u> <u>11c-8</u> <u>15e-b</u> 4g-2d 15a-11d 6gh 17a-16 7d-a 6f-c 17b-22C	ber C1
pal B10	1A 3CB <u>1BA</u> <u>10A</u> <u>9CBA</u> <u>8CBA</u> <u>7CBA</u> <u>6CBA</u> <u>5CBA</u> <u>4CBA</u> 1C 2ABC 3AB 10BC 11 ABC C	pal B1

Цитогенетическая дистанция между равнинной и предгорной выборками по критерию Нея (1972) - 0.128 (табл. 7) ниже установленного ранее среднего расстояния между популяциями у *Chironomus* - 0.138 (Кикнадзе и др., 2006). Дистанции между горной выборкой и предгорными больше среднего - от 0.174 до 0.223 (табл. 7, рис. 7) свидетельствуют о значительной хромосомной дивергенции высокогорной популяции. Фиксация в кариотипе не являющейся базовой последовательности в плече G у *Chironomus*, служит одним из хромосомных маркеров терминальной популяции вида.

Таблица 6

Кариотипические отличия *Ch. nuditarsis* равнинной, предгорной и горной выборок

Зиготическое сочетание и показатели полиморфизма	Равнинная выборка	Предгорная выборка	Горная выборка
ndt B2.2	0.200	0.160	0.050
ndt G1.2	0.440	0.160	0
ndt G2.2	0.200	0.200	1.000
% гетерозиготных личинок	88	60	70
Число инверсий на особь	1.4	1.0	0.7
Число инверсий на плечо	0.43	0.43	0.29

Полученные нами данные по структуре полиморфизма вида с широким ареалом распространения в кавказских терминальных популяциях согласуются с мнением Гундериной с соавторами (1999) об увеличении степени цитогенетической дифференциации популяций комаров.

Факторами, влияющими на развитие личинок *Chironomus* в высокогорных водоемах, выступают низкая температура воды и её слабая минерализация. Поток генов между терминальной горной и терминальной предгорной популяциями могла нарушить низкая температура воды, т.к. она служит фактором, регламентирующим сроки развития личинок хирономид в водоеме и начало вылета имаго (Константинов, 1958; Соколова и др., 1983). Чем ниже температура водоема, тем дольше требуется времени на развитие личиночной стадии. По данным Лавилля (Laville, 1971) в высокогорных озерах Швейцарии на развитие одной генерации *Chironomus* требовалось около двух лет и более. В исследованном нами регионе Кавказа среднегодовая температура воды горных водоемов варьировала от 0.4 до 5.3°C (2.98°C), при этом максимальная температура наблюдалась только в июле и не превышала 6°C.

Цитогенетические дистанции между популяциями *Ch. nuditarsis* разных частей ареала

Популяция	Кавказ (горная)	Кавказ (предгорная)	Кавказ (равнинная)	Италия	Болгария 1	Болгария 2	Бельгия	Сибирь 1
Кавказ (предгорная)	0,223							
Кавказ (равнинная)	0,174	0,128						
Италия	>1	0,330	0,157					
Болгария 1	>1	0,368	0,150	0,068				
Болгария 2	>1	0,385	0,074	0,070	0,052			
Бельгия	0,443	0,381	0,163	0,029	0,074	0,073		
Сибирь 1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	0,881	
Сибирь 2	>1	>1	>1	>1	>1	>1	0,879	0,001

Примечание: по популяциям Сибири, Болгарии, Бельгии и Италии использованы данные Кикнадзе с соавторами и Петровой с соавторами (Кикнадзе и др., 2006; Petrova et al., 2007).

При низкой температуре высокогорного водоема могло происходить увеличение сроков развития личинок, что могло привести к уменьшению числа генераций, смещению сроков лета имаго из предгорных и горной популяций и возникновению репродуктивной изоляции.

Полученные данные о разном составе гомо- и гетерозиготных личинок горных и предгорных популяций согласуются с тем, что у хирономид вклад в цитогенетическую дифференциацию популяций, вносит не географическое положение популяции, а разные гидрохимические и экологические особенности водоема (Ильинская и др., 1988, 1999; Шобанов, 1994; Гундерина и др., 1999; Шобанов, Большаков, 2011 и др.). К настоящему времени известно, по крайней мере, два факта сопряженности частот отдельных генотипических комбинаций последовательностей ПХ с некоторыми экологическими факторами. Так, были установлены (Pedersen, 1986) значительно меньшая смертность при аноксии гетерозигот plu B1.2 *Ch. plumosus* по сравнению с гомозиготами plu B1.1 и plu B2.2 и возрастание частот сочетаний beh B1.2 и beh B2.2 *Ch. behningi* в условиях глубины и повышенного уровня минерализации (Ракишева, 1996). Факт снижения частоты сочетания ndt B2.2 *Ch. nuditarsis* в высокогорных условиях – низкой температурой воды и слабой минерализации водоема также касается последовательности В плеча, что свидетельствует о наличии в этом плече у *Chironomus* жизненно важных генов и их активной работы.

Сравнение уровня и структуры хромосомного полиморфизма изученных видов *Chironomus* и *Camptochironomus* популяций Центрального Кавказа и Предкавказья и других частей ареала. Исследованные нами популяции *Ch. piger*, *Ch. riparius*, *Ch. salinarius* и *Ch. dorsalis* на Кавказе мономорфны, как и в большинстве других регионов. Популяции видов группы plumosus - *Ch. plumosus* и *Ch. balatonicus* также слабо полиморфные, как и из популяции оз. Балхаш (Ракишева, 1996), в отличие от популяций Верхнего и Нижнего Поволжья (Шобанов, 1994; Полуконова, 2003 а, б) и Западной Сибири (Кикнадзе и др., 1991; Гундерина и др., 2009 и др.). Учитывая, что у насекомых гетерозиготность популяций снижается к периферии ареала (Dobzhansky et al., 1977 и др.), можно полагать, что регионы Кавказа и Восточного Казахстана, расположенные примерно на одной широте (40-47° с.ш.), близки южной окраине ареала *Ch. plumosus* и *Ch. balatonicus*. В то время, как для *Ch. usenicus* Кавказ, по-видимому, близок к центру его ареала, т.к. в этом регионе он также высоко полиморфен (табл. 3), как и в Нижнем Поволжье (Полуконова, 2003).

Несмотря на низкую температуру водоемов Кавказа у обитающих в них личинок *Chironomus* не было обнаружено ни реципрокного обмена хромосомными плечами, ни объединения ПХ в хромоцентр, как это было указано для северных видов (Шобанов, 2002), ни разрывов ПХ и образования транслокаций, а также появления множественных В-хромосом, как это было указано для *Chironomus* Якутии (Кикнадзе и др., 1996). Чрезвычайно низкая частота встречаемости добавочных хромосом у личинок *Chironomus* в водоемах Кавказа, учитывая установленную ранее (Мисейко и др., 1971; Чубарева, 1974; Ракишева, 1996) корреляцию между



увеличением числа В-хромосом и техногенным загрязнением может свидетельствовать о низкой антропогенной нагрузке на исследованных нами водоемов.

Анализ структуры инверсионного полиморфизма *Ch. nuditarsis* с широким ареалом позволило описать положение кавказских популяций относительно других – сибирских и европейских (Кикнадзе и др., 2006; Petrova et al., 2007). На дендрограмме (рис. 7) кавказские популяции *Ch. nuditarsis* более близки популяциям из Бельгии, Болгарии и Италии, чем популяциям Сибири. Популяции Кавказа могли быть исходными для европейских.

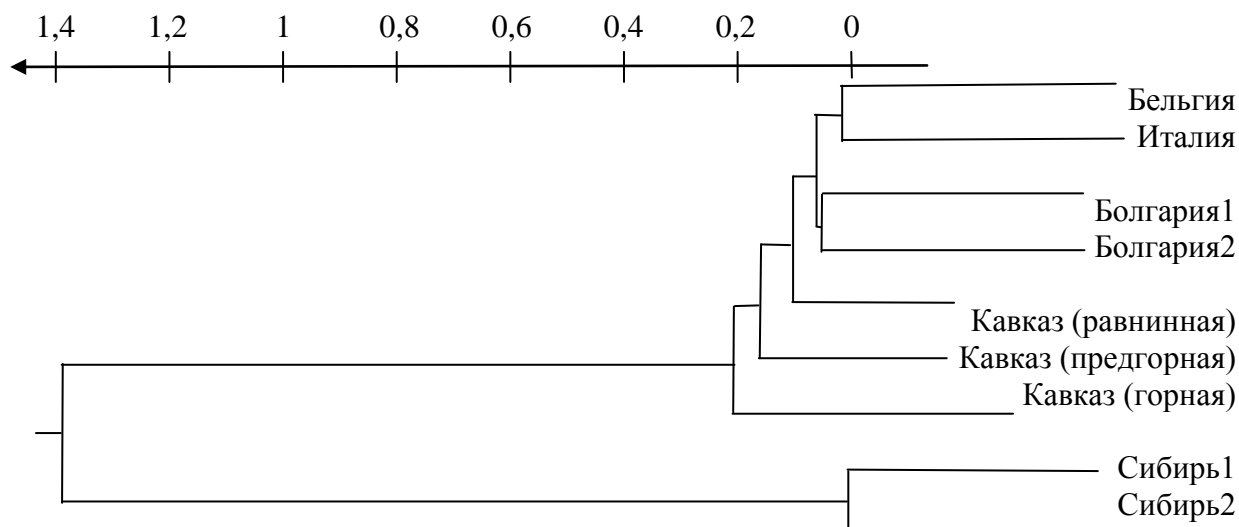


Рис. 7. Дендрограмма цитогенетических дистанций по критерию Нея (1972) между различными популяциями *Ch. nuditarsis*

По популяциям Сибири, Болгарии, Бельгии и Италии использованы данные Кикнадзе и Петровой с соавторами (Кикнадзе и др., 2006; Petrova et al., 2007).

*Пути эволюции Ch. kabardensis.* *Ch. kabardensis* – пока один вид *Chironomus*, у которого строение личинки и кариотипа сходны с видами цитокомплекса *pseudothummi*, в то время, как строение имаго – с видами *thummi*-комплекса (рис. 5). Принято считать (Keyl, 1962; Шобанов, 2002), что цитокомплекс *pseudothummi* - производный от *thummi*-комплекса. Поэтому наличие у данного вида из *pseudothummi*-комплекса морфологических признаков имаго и личинки, сходных с видами *Chironomus* цитокомплекса *thummi*, можно рассматривать как пример установленного ранее отставания морфологии имаго от морфологии личинок и, тем более, от преобразований кариотипа в процессе эволюции (Полуконова, 2005). Аналогичную картину можно наблюдать у *Ch. riparius* и *Ch. piger*, кариотипы которых возникли в ходе обратной хромосомной транслокации, в результате которой *thummi*-комплекс вторично возник от *pseudothummi*-комплекса (Шобанов, Зотов, 2001), а как форма верхних придатков самца этих видов осталась сходной с видами *Chironomus pseudothummi*-комплекса (Полуконова, 2005). По-видимому, *Ch. kabardensis*, ближе других видов *pseudothummi*-комплекса стоит к предковой форме из *thummi*-комплекса или сравнительно недавно дивергировал от нее.

### Заключение

На краю ареала популяции наиболее подвержены воздействию экстремальных для вида факторов среды, по-видимому, именно с действием таких факторов и связывают мономорфизм терминальных популяций (Добжанский и др., 1977). Поэтому в терминальных популяциях особенно заметно могут проявляться селективные преимущества определенных цитогенетических признаков. Для большинства видов *Chironomus* и *Camptochironomus* с голарктическим и палеарктическим распространением кавказский регион представляет окраину их ареала. Селективное преимущество такого цитогенетического признака, как разное сочетание хромосомных плеч, в первую очередь, проявилось в освоении видами водоемов, расположенных

на разных высотах н.у.м. Так, подавляющее большинство видов высокогорных водоемов обладали сочетанием хромосомных плеч *pseudothummi*-комплекса.

Кроме того, с увеличением высоты н.у.м. возрастала мономорфность популяции по определенным хромосомным последовательностям, которые, также имели селективное преимущество в условиях высокогорья. Как показало наше исследование для большинства видов *pseudothummi*-комплекса, а также *Ch. piger* и *Ch. riparius*, такими оказались стандартные последовательности. У видов *thummi*-комплекса, например, у *Ch. nuditarsis*, популяции которого могли занимать высокогорье, мономорфными могли быть последовательности, не являющиеся базовыми для вида.

### Выводы:

1. Установлен видовой состав хирономид двух родов трибы Chironomini - *Chironomus* и *Camptochironomus* Центрального Кавказа и Предкавказья (КБР, КЧР, РСО-Алания, Ставропольский край); выявлен 21 вид: два вида *Camptochironomus* и 19 - *Chironomus* (18 – подрода *Chironomus*, s.str. и 1 - *Lobochironomus*), из которых три вида *Chironomus* - новые для науки. С увеличением высоты н.у.м. количество видов *Chironomus* и *Camptochironomus* снижается; наибольшие высоты (2700 м н.у.м.) и разнообразные биотопы занимает *Ch. piger*. На равнине и в предгорье (до 1000 м н.у.м.) преобладают виды цитоконкомплекса *thummi* (53%), а в горных территориях – *pseudothummi* (56%); с увеличением высоты разнообразие цитоконкомплексов снижается; в горных водоемах обитают виды *Chironomus* и *Camptochironomus* с широким палеарктическим распространением цитоконкомплексов *pseudothummi*, *thummi* и *camptochironomus*.

2. Вскрыта взаимосвязь цитогенетических и экологических особенностей видов *Chironomus*, проявившаяся в условиях высокогорья в большей экологической пластичности видов цитоконкомплекса *pseudothummi*, по сравнению с видами *thummi*-комплекса. По своим экологическим особенностям к видам этого цитоконкомплекса близки и *Ch. piger*, *Ch. riparius*, что, наряду с морфологическими и цитогенетическими признаками отражает их родство с видами комплекса *pseudothummi*.

3. Исследованы особенности морфологии преимагинальных стадий и составлены определительные таблицы по личинке для 21 вида *Chironomus* и *Camptochironomus* Центрального Кавказа и Предкавказья. Морфологические особенности исследованных из кавказских популяций для большинства известных видов заключались в изменении размаха значений метрических показателей. По признакам имаго и личинки *Ch. kabardensis* ближе других видов *pseudothummi*-комплекса стоит к предковой форме из *thummi*-комплекса. Определен комплекс интегрирующих и дифференцирующих признаков личинки для видов *Chironomus* из *pseudothummi*-комплекса с личиночным типом f.l. *plumosus* и *thummi*.

4. Изучена структура кариотипов *Chironomus* и *Camptochironomus* из цитоконкомплексов *thummi*, *pseudothummi*, *parathummi*, *lacunarius* и *camptochironomus* кавказского региона. Хромосомный полиморфизм кавказских популяций инверсионного типа. Описаны 11 новых, эндемичных для кавказских популяций, последовательностей в хромосомах уже известных видов и кариотипы трех новых видов.

5. Установлены различия в кариотипической структуре высокогорной популяции вида *Chironomus* с широким ареалом, на примере *Ch. nuditarsis*, заключающиеся в снижении уровня инверсионного полиморфизма наряду с ее видимой цитогенетической дифференциацией. С увеличением высоты расположения водоема н.у.м. снижаются частоты зиготического сочетания *ndt* B2.2 и возрастает частота *ndt* G2.2. Значения цитогенетической дистанции между горной и предгорными выборками больше среднего (0.138) и варьируют от 0.174 до 0.223. Фактором, ограничивающим панмиксию и препятствующим обмену генами между предгорными и горными популяциями, служит низкая температура воды высокогорного водоема.

6. Проведено сравнение структуры и уровня инверсионного полиморфизма видов *Chironomus* и *Camptochironomus* Центрального Кавказа и Предкавказья и популяций других регионов. Для ряда таких видов, как *Ch. plumosus* и *Ch. balatonicus* регион Кавказа близок к периферии их ареала, в то время, как для *Ch. usenicus* – к центральной части ареала. Кариотипически кавказские популяции *Ch. nuditarsis* более близки европейским популяциям,

последовательности ПХ этого вида кавказских популяций могли быть исходными для европейских.

7. Определены модельные виды для проведения экологического и хромосомного мониторинга водоемов Кавказа – *Ch. nuditarsis*, *Ch. piger* и *Ch. riparius*, как наиболее массовые и обитающие в разнотипных водоемах на разных высотах от 300 до 2760 м н.у.м. Составлены каталоги последовательностей дисков ПХ *Chironomus* для проведения мониторинга хромосомного состава популяций хирономид данного региона.

### Список работ по теме диссертации

#### Статьи в журналах, рекомендованных ВАК

1. Кармоков, М.Х. О некоторых итогах кариологического анализа видового разнообразия рода *Chironomus* Кабардино-Балкарской Республики / М.Х. Кармоков, А.М. Хатухов // Вестник Адыгейского государственного университета. Выпуск 4. Серия «Естественно-математические и технические науки». – Майкоп: изд-во АГУ, 2008. – С. 120–121.

2. Кармоков, М.Х. Кариотип и хромосомный полиморфизм *Chironomus nuditarsis* Str. (Keyl, 1962) (Chironomidae, Diptera) Центрального Кавказа / М.Х. Кармоков, Н.В. Полуконова, М.Ю. Воронин, М.И. Шаповалов // Вестник Адыгейского государственного университета. Выпуск 4. Серия «Естественно-математические и технические науки». – Майкоп: изд-во АГУ, 2011. – С. 230–241.

3. Кармоков, М.Х. Фауна и особенности распространения хирономид *Chironomus* Meigen и *Camptochironomus* Kieffer (Chironomidae, Diptera) в водоемах Центрального Кавказа и Предкавказья / М.Х. Кармоков, Н.В. Полуконова // Поволжский экологический журнал. – 2012. – № 1. – С. 95–98.

4. Полуконова, Н.В. Распространение личинок хирономид *Chironomus* Meigen и *Camptochironomus* Kieffer (Diptera) в водоемах Центрального Кавказа / Н.В. Полуконова, М.Х. Кармоков // Известия Саратовского университета. Серия Химия. Биология Экология. – 2012. – Т. 12, вып 3. – С. 84–92.

5. Кармоков, М.Х. Кариотип и инверсионный полиморфизм комара-звонца *Chironomus aprilius* Meigen, 1818 (Diptera, Chironomidae) Центрального Кавказа / М.Х. Кармоков, Н.В. Полуконова, М.Ю. Воронин // Кавказский энтомологический бюллетень. – 2012. – Т. 8, № 2. – С. 300–304.

6. Полуконова, Н.В. Микроэволюционные изменения в популяциях *Chironomus nuditarsis* Str. (Keyl, 1962) (Chironomidae, Diptera) Центрального Кавказа / Н.В. Полуконова, М.Х. Кармоков // Генетика. – 2013. – Т. 49, №2. – С. 175–181.

#### Статьи в других журналах, сборниках

7. Кармоков, М.Х. Кариотипическая структура двух видов рода *Chironomus* (Chironomidae, Diptera) Центрального Кавказа / М.Х. Кармоков, А.М. Хатухов, Н.В. Полуконова // Труды Ставропольского отделения Русского энтомологического общества. Вып. 4: материалы Международной научно-практической конференции. – Ставрополь: АГРУС, 2008. – С. 255–257.

8. Кармоков, М.Х. Новое в кариосистематике *Chironomus* Кабардино-Балкарской Республики / М.Х. Кармоков, А.М. Хатухов // Вестник КБГУ: Серия биол. науки. Вып. 10. – Нальчик: Каб.-Балк. ун-т., 2009. – С. 23–24.

9. Хатухов А.М. Эколого-географические закономерности размещения рода *Chironomus* (Chironomidae: Diptera) на Центральном Кавказе / А.М. Хатухов, М.Х. Кармоков // Материалы России и сопредельных стран: Материалы IV Всероссийского симпозиума по амфибиотическим насекомым и X трихoptерологического симпозиума «Проблемы водной энтомологии России и сопредельных государств». – Владикавказ.: СОГУ, 2010. – С. 117–121.

10. Полуконова Н.В. Возможности и перспективы использования комаров-звонцов (Chironomidae, Diptera) при комплексном подходе в биологическом мониторинге водных экосистем и токсикологических исследования / Н.В. Полуконова, И.В. Демина, А.Г. Демин, М.Х. Кармоков, И.А. Федорова // Материалы России и сопредельных стран: Материалы IV Всероссийского симпозиума по амфибиотическим насекомым и X трихoptерологического симпозиума «Проблемы водной энтомологии России и сопредельных государств». – Владикавказ.: СОГУ, 2010. – С. 69–73.

11. Кармоков, М.Х. Сравнение двух близкородственных видов *Chironomus* – *Ch. riparius* Meigen (1818) и *Ch. piger* Strenzke (1959) (Diptera, Chironomidae) Центрального Кавказа и Нижнего

Поволжья по эколого-географическим особенностям, морфологическим признакам личинок и кариотипу / **М.Х. Кармоков**, А.М. Хатухов, Н.В. Полуконова // Сборник научных трудов Академии Наук Чеченской Республики. №3. – Грозный: АНЧР, 2011. – С. 206–219.

Тезисы конференций

12. **Кармоков, М.Х.** О первом опыте применения кариологического метода в диагностике *Chironomus* в условиях Кабардино-Балкарии / **М.Х. Кармоков**, А.М. Хатухов // Материалы докладов IX Международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа». – Махачкала: Дагестанский госуниверситет, 2007. – С. 186.

13. **Кармоков, М.Х.** Инверсионный полиморфизм комара-звонца *Chironomus nuditarsis* (Chironomidae, Diptera) Кабардино-Балкарии / **М.Х. Кармоков** // Материалы межрегиональной научно-практической конференции студентов с Международным участием «Молодежь и наука: итоги и перспективы». – Саратов: Изд-во Саратовского медицинского ун-та, 2008. – С. 79.

14. **Кармоков, М.Х.** Кариотипические особенности кабардино-балкарских популяций видов-двойников *Chironomus* группы *plumosus* (Chironomidae: Diptera) / **М.Х. Кармоков**, А.М. Хатухов, Н.В. Полуконова // V Международная конференция кариосистематики беспозвоночных животных. – Новосибирск, 2010. – С. 55.

15. **Кармоков, М.Х.** Инверсионный полиморфизм трех видов *Chironomus* (Chironomidae: Diptera) – *Ch. plumosus*, *Ch. balatonicus* и *Ch. usenicus* Кабардино-Балкарии / **М.Х. Кармоков**, А.М. Хатухов, Н.В. Полуконова // Биология внутренних вод: Тезисы докладов XIV Школы-конференции молодых ученых (Борок, 26–30 октября 2010 г.). – Борок, 2010. – С. 70.

16. **Кармоков, М.Х.** Кариосистематика комаров-звонцов *Chironomus* и *Camptochironomus* (Chironomidae, Diptera) Центрального Кавказа / **М.Х. Кармоков**, А.М. Хатухов, Н.В. Полуконова // Материалы международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке». Санкт-Петербург, 16-20 мая 2011 г. Под редакцией В.Е. Кипяткова и Д.Л. Мусолина. – СПб: С.-Петербургского ун-та, 2011. – С. 198.

17. **Кармоков, М.Х.** Кариотипическая структура популяция *Chironomus nuditarsis* Str. (Keyl, 1962) (Chironomidae, Diptera) Центрального Кавказа / **М.Х. Кармоков**, А.М. Хатухов, Н.В. Полуконова // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Экология малых рек в XXI веке со школой-семинаром молодых ученых по изучению хирономид (Diptera, Chironomidae) 5-8 сентября 2011 г. – Тольятти, 2011. – С. 77.

18. Полуконова, Н.В. Микроэволюция высокогорной популяции *Chironomus nuditarsis* Str. (Keyl, 1962) (Diptera, Chironomidae) Центрального Кавказа / Н.В. Полуконова, **М.Х. Кармоков** // Материалы XIV съезда Русского энтомологического общества Санкт-Петербург, 27 августа – 1 сентября 2012 гг. – СПб: С.-Петербургский ун-т, 2012. – С. 350.

19. **Кармоков, М.Х.** Кариотипическая структура популяции *Chironomus pseudothummi* Str. (Diptera, Chironomidae) Центрального Кавказа / **М.Х. Кармоков**, Н.В. Полуконова // Материалы XIV съезда Русского энтомологического общества Санкт-Петербург, 27 августа – 1 сентября 2012 гг. – СПб: С.-Петербургского ун-та, 2012. С. 172.

20. **Кармоков, М.Х.** Кариосистематика комаров-звонцов *Chironomus* и *Camptochironomus* (Diptera, Chironomidae) Центрального Кавказа и Предкавказья / **М.Х. Кармоков**, Н.В. Полуконова // Материалы IV Международной конференции "Горные экосистемы и их компоненты", посвященной 80-летию основателя ИЭГТ КБНЦ РАН чл.-корр. РАН А.К. Темботова и 80-летию Абхазского государственной университета. – Нальчик: Издательство М. и В. Котляровых (ООО «Полиграфсервис и Т»), 2012. – С. 148.