

УДК 576.895.771

МОРФОКАРИОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПЯТИ ВИДОВ МОШЕК РОДА CNETHA (DIPTERA: SIMULIIDAE) С ОПИСАНИЕМ НОВОГО ВИДА ИЗ ДЖРВЕЖСКОГО УЩЕЛЬЯ АРМЕНИИ

© Л. А. Чубарева, Э. А. Качворян

Представлены фотокарты политенных хромосом и описания морфологических и кариотипических признаков *Cnetha costata* и нового вида *Cn. akopi*, определены сходства и различия между ними. Проведен сравнительный анализ 5 видов группы *costata*.

Род *Eusimulium* Roubaud до недавнего времени был одним из крупных родов сем. Simuliidae и состоял из ряда отчетливо обособленных групп видов, большинство которых возведено в самостоятельные роды. Так, группа *latipes* возведена в род *Cnetha* Enderlein, группа *angustitarse* — в *Chelocnetha* Enderlein; группы *montium* и *alpinum* объединены в род *Montisimulium* Rubzov, за группой *aureum* закреплено родовое название *Eusimulium* Roubaud (Рубцов, 1974). Род *Cnetha*, один из крупных в сем. Simuliidae, включает более 100 видов и подвидов (Рубцов, Янковский, 1984).

В состав данного рода входит небольшая, хорошо обособленная группа *costata*, объединяющая ряд европейских видов. Три горно-родниковых вида этой группы — *Cnetha fontia* Rubzov, 1955, *Cn. garniensis* Rubzov, 1955 и *Cn. zakhariensis* Rubzov, 1955 — являются эндемиками Кавказа (Рубцов, 1956; Тертерян, 1968). Эти виды обитают в небольших ручьях и родниках высокогорий (1400—2000 м над ур. м), часто симметричны и являются злостными кровососами человека и животных. Внешние морфологические различия между ними незначительны, а порой и вовсе неясны, в особенности на личиночной стадии развития, поэтому их таксономия сопряжена с определенными трудностями и требует применения кариологического метода исследования, основанного на анализе структурных особенностей политенных хромосом слюнных желез личинок.

Как показал проведенный нами кариотипический анализ (Качворян, Чубарева, 1974а), личинки *Cn. fontia*, *Cn. garniensis* и *Cn. zakhariensis* обладают рядом общих признаков кариотипа: они имеют $2n = 6$, соотношение длин хромосом в виде неравенства $I > II = III$, ядрышко связано с *IS*, кольцо Бальбиани и пуффы локализованы в медианной части *IIS*, 5 маркерных плотных дисков — в прицентромерной зоне *IIS*, 2 сближенных теломерных диска — в *III* и толстый диск с прилежащим к нему пуффом в медианной части *IIIS*. Однако наряду с общими признаками кариотипа названные виды хорошо различаются дисковыми последовательностями политенных хромосом (Качворян, Чубарева, 1974а). Кариотипу *Cn. garniensis* свойственны объединение всех центромер в гетерохроматический хромоцентр и полная конъюгация гомологичных хромосом. В кариотипе *Cn. fontia* тоже имеется подобный хромоцентр, но конъюгация гомологов более слабая. Для *Cn. zakhariensis* характерно отсутствие хромоцентра, слабая конъюгация гомологов и геномный полиморфизм по В-хромосомам: из 120 проанализированных личинок из ручья в пос. Гарни у 13 (10,8 %) особей в кариотипах обнаружены В-хромосомы (Качворян, Чубарева, 1974б). Следует отметить, что через 20 лет был проведен кариологический анализ 142 личинок этого вида из того же ручья и установлено значительное увеличение числа особей с В-хромо-

сомными кариотипами — 38 (26.8 %); это связано, по-видимому, с адаптивным значением В-хромосом (Качворян и др., 1996).

Сопоставление результатов сравнения дисковых последовательностей в одноименных, гомеологичных, хромосомах трех названных видов показало, что генетически наиболее близки *Cn. zakhariensis* и *Cn. fontia*, поскольку они имеют наибольшую суммарную протяженность участков гомеологичных хромосом с одинаковой дисковой последовательностью, чего нельзя сказать о *Cn. garniensis*, где сходство ограничивается лишь небольшими дистальными участками хромосом и ядрышковой областью (Качворян, Чубарева, 1974а).

Представляло интерес пополнить и уточнить кариотипические признаки, свойственные видам группы *costata* в целом и прежде всего *Cn. costata* Friederichs 1991 — основному представителю этой группы. Однако в европейской части бывшего СССР *Cn. costata* с достоверностью не обнаружен (Рубцов, 1956); в Армении этот вид тоже не выявлен (Тертерян, 1968). Основные сведения о кариотипе *Cn. costata* были получены нами на материале из Чехословакии (Кноз, Чубарева, 1974). Было установлено, что виду *Cn. costata*, как и большинству видов мошек, свойственно $2n = 6$, отмечено также наличие в кариотипе хромоцентра, выявлены основные маркеры политенных хромосом, но картирования хромосом проведено не было. Фотокарты хромосомного набора были разработаны нами позднее и впервые представлены в настоящей статье с подробными уточненными данными о кариотипе.

В задачу работы входил сравнительный морфокариотипический анализ личинок 5 видов мошек группы *costata*, один из которых является новым для науки, и определение основных кариотипических признаков, характеризующих данную группу. С этой целью были использованы разработанные нами фотокарты политенных хромосом *Cn. costata*, принятые за стандарт в этой группе и приведены морфологические признаки личинок данного вида.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом служили личинки с вполне оформленными дыхательными нитями, собранные в горных ручьях Армении и Чехословакии (см. таблицу).

Как уже отмечалось, личинки мошек группы *costata* очень сходны по своим морфологическим признакам. Им свойственны крупные размеры (9—10 мм) светлая окраска тела, едва намеченный вентральный вырез головной капсулы и отчетливый рисунок пятен на лобном склерите, из которых затылочное пятно имеет форму правильного треугольника; кроме того, характерны одинаковая форма зубцов на переднем крае субментума, сходная соразмерность зубцов мандибулы, а также близкие показатели числа щетинок в большом веере и рядов крючков в заднем прикрепительном органе — присоске. Число дыхательных нитей с каждой стороны тела личинки равно 4. Фиксация материала проводилась на местах сборов смесью 96-градусного этанола и ледяной уксусной кислоты (3 : 1), которая периодически заменялась свежей смесью, в которой материал хранился в холодильнике. В работе использовался метод тотальной окраски личинок в 2 %-ном ацето-орсеине, у которых предварительно осторожно надрывались хитиновые покровы тела. Длительность окраски варьировала в пределах 2—5 дней. Затем на предметном стекле в капле 60 %-ной молочной кислоты из тела личинки извлекались слюнные железы, надглоточные ганглии и гонады. Слюнные железы освобождались от секрета железы, после чего в отдельных каплях молочной кислоты готовились давленные препараты политенных хромосом, ганглиев и гонад для последующего анализа под микроскопом с использованием иммерсионных систем. Кроме того, на изготовленных специальным методом препаратах изучались морфологические признаки личинок, имеющие таксономическую значимость.

В работе широко использовалось микрофотографирование с последующим составлением фотокарт политенных хромосом исследуемых видов.

Места и даты сборов материала исследованных видов

Locations and collection dates of species examined

Вид	Место и дата сбора	Число исследованных особей
<i>Cnetha costata</i>	Окрестности г. Брно, ручей у с. Собешице, 03.1974, Чехословакия	36
<i>Cnetha zakhariensis</i>	Армения, ручей у пос. Цак-кар, 06.1974	345
<i>Cnetha garniensis</i>	Армения, ручей у пос. Гарни, 06.1974	25
<i>Cnetha fontia</i>	Армения, ручей у пос. Анкер, 06.1974	30
<i>Cnetha akopi</i>	Армения, ручей у пос. Джрвеж, Джрвежское ущелье, 06.1967	12

Постоянные препараты и фотопленки кариотипов всех изученных нами видов хранятся в лаборатории систематики насекомых, в отделении генетики популяций и кариосистематики Зоологического института РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Cnetha costata

Морфологические признаки личинки (рис. 1). Личинки 9—10 мкм длины, окраска тела и головы светлая. Рисунок пятен на лобном склерите отчетлив; особенно выделяется затылочное пятно, имеющее форму правильного треугольника. Вентральный вырез головной капсулы очень мал. Срединный зубец субментума слегка выдается вперед, по бокам субментума 4 щетинки. Конец мандибулы с небольшим вершинным зубцом, наружные зубцы достигают половины его длины; 2-й предвершинный зубец короче 1-го и 3-го зубцов; внутренних зубцов — 10; 1-й краевой зубец намного крупнее 2-го. В большом веере 47—48 щетинок. В задней присоске 86—88 рядов крючков, по 12—14 крючков в каждом ряду. Задняя ветвь хитиновой рамы достигает 15-го ряда крючков задней присоски. Ректальные придатки простые.

Кариотип (рис. 2, 3; см. вкл.). $2n = 6$. Конъюгация гомологичных хромосом неполная, отмечены зоны хромосом, в которых каждый из гомологов располагался отдельно, наблюдались, однако, и такие участки, где было полное «слияние» гомологов с образованием единой хромосомной структуры. Характерно объединение плотных, интенсивно окрашенных, округлой формы центромер в хромоцентр гетерохроматической природы, благодаря чему хромосомы образовывали Ж-образную конфигурацию и потому нередко плохо расправлялись (рис. 3, а). Отмечено также, что при более сильном надавливании на покровное стекло центромеры способны разъединяться без нарушения структуры хромосом.

Хромосома I связана с ядрышком в IS (секция 18), и это является основным ее маркером. Хромосома II распознается по 2 сближенным дискам в IIL (секция 30), 5 плотным дискам в прицентромерной зоне IIS (секция 10), а также по кольцу Бальбиани и пuffed в IIS (секции 5—7). Хромосома III определяется по веерообразному концу IIS (секции 1, 2) и серии сближенных плотных дисков на конце IIL (секция 28). Прицентромерные районы всех хромосом распуфлены. Соотношение длин хромосом в виде неравенства: $I > II = III$. Среди 36 проанализированных личинок обнаружена одна особь, у которой во всех клетках обеих слюнных желез имелись В-хромосомы (рис. 3, а). В делящихся сперматогониях, на метафазных пластинках присутствовали 2 очень малые хромосомы, следовательно, данная личинка имела в наборе $2n = 6 + 2B$ (рис. 3, а, б).

Как показал кариологический анализ *Cn. costata* обладает такими же основными маркерами хромосом, какие свойственны *Cn. garniensis*, *Cn. fontia* и *Cn. zakhariensis*. Кариотипы всех этих видов сходны.

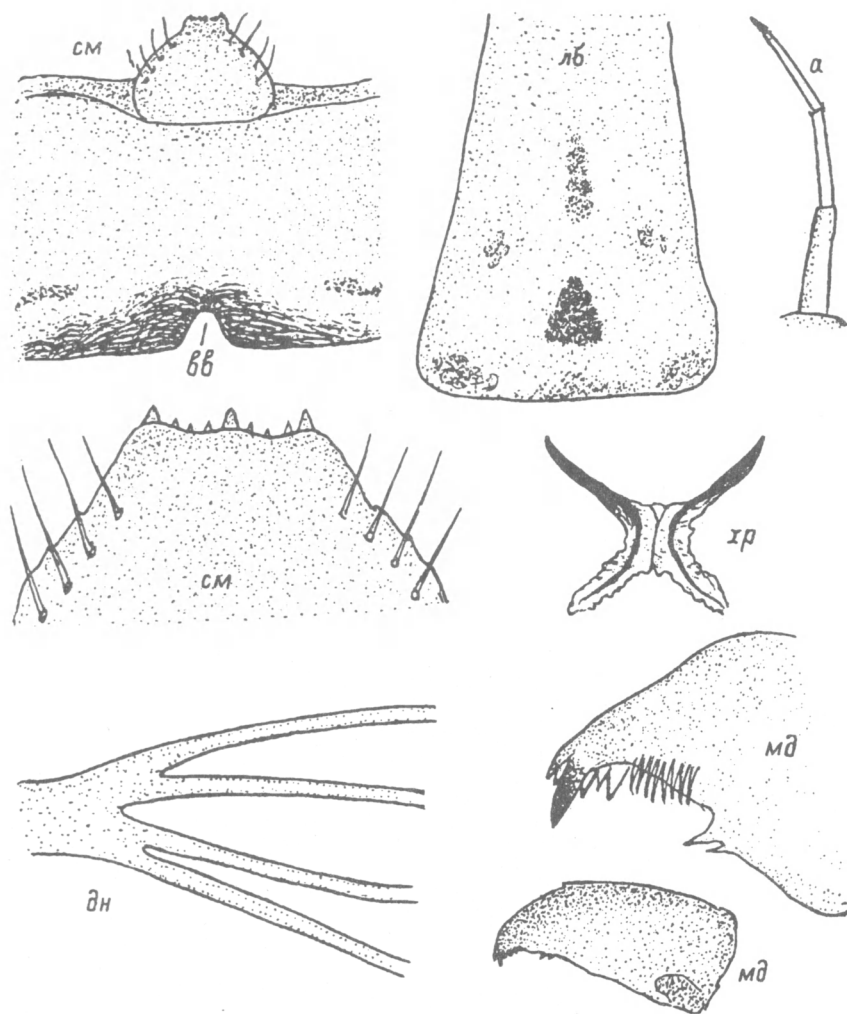


Рис. 1. Детали строения и морфологические признаки личинки *Cnetha costata*.
 а — антенна; вв — вентральный вырез головной капсулы; дн — дыхательные нити; лб — лобный склерит; мд — мандибула; см — субментум; хр — хитиновая рама.

Fig. 1. Details and morphological characters of *Cnetha costata* larva.

Cnetha akopi Chubareva et Kachvoryan, sp. n.

Вид назван в честь энтомолога д. б. н. А. Е. Тертеряна. В одном из летних сборов материала по мошкам в Армении, в ручье близ пос. Джрвеж, в Джрвежском ущелье, были обнаружены личинки, которые по морфологическим признакам были отнесены, как и предыдущие виды, к группе *costata*. Проведенный кариологический анализ показал, что по кариотипу эти личинки существенно отличаются от ранее исследованных видов этой группы и рассматриваются нами как вид новый для науки.

Морфологические признаки личинки (рис. 4). Размеры тела 9 мм. Окраска головы и тела светлая. Рисунок пятен на лобном склерите отчетлив; заднее пятно имеет форму правильного треугольника. Вентральный вырез головной капсулы едва намечен. Срединный зубец на переднем крае субментума слегка выступает вперед, задний край субментума более или менее прямой. Конец мандибулы с

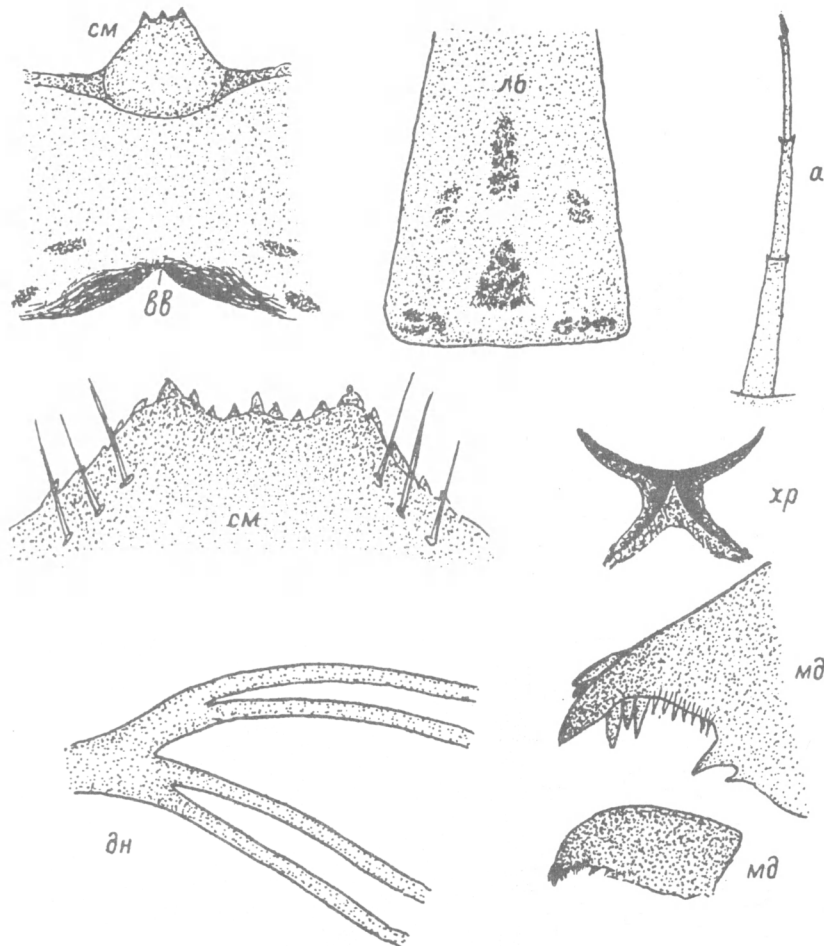


Рис. 4. Детали и морфологические признаки личинки *Cnetha akopi*.

Обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 4. Details and morphological characters of *Cnetha akopi* larva.

небольшим вершинным зубцом; внутренних зубцов 7, предвершинные зубцы разновеликие; 1-й краевой зубец крупнее, чем 2-й. В большом веере 35 щетинок, в задней присоске 75 рядов крючков, по 11—12 крючков в каждом ряду. Задние ветви хитиновой рамы достигают 15-го ряда крючков. Ректальные придатки простые.

К а р и о т и п (рис. 5; см. вкл.). Картирование поличенных хромосом проведено на основе сопоставления их с фотокартами гомеологичных хромосом кариотипа *Cn. costata*, принятого за стандарт.

$2n = 6$. Гомологичные хромосомы полностью сконъюгированы. Центромеры интенсивной окраской не отличаются, но четко обозначены, представляя собой уплотненные диски. В зонах центромер хромосомы несколько деспирализованы. Хромосомный центр отсутствует, хромосомы расположены обособленно.

Хромосома I определяется по связи с ядрышком в IS (секция 18). Хромосома II распознается по ряду маркеров в IIS: по кольцу Бальбиани (секция 5), по серии сближенных пuffed (секции 6—8) и 5 плотным дискам в прицентромерной зоне (секция 10). На конце III прителомерные диски более тонкой структуры по сравнению с морфологией теломерных участков III остальных исследованных видов этой группы.

Хромосома *III* отличается расширенным концом *IIS* (секция 1) и сложным диском с прилегающими к нему пуффами в медианной части *IIS* (секция 3—4). Соотношение длин хромосом в виде неравенства $I > II = III$.

В результате сравнения дисковых последовательностей гомеологичных хромосом данного вида и *Cn. costata* путем продольного прикладывания одноименных хромосом друг к другу обнаружены 2 большие гомозиготные инверсии в *III* (секции 15—27) и в *IIIL* (секции 25—29), которые являются веским доказательством кариологических различий между этими видами. Кроме того, усугубляют различия, свойственные *Cn. akopi*, — полная конъюгация гомологов и отсутствие геномного полиморфизма по В-хромосомам. Все это свидетельствует о четких и значительных различиях между данными видами и является кариотипическим обоснованием видовой самостоятельности *Cn. akopi*.

Для сравнения *Cn. akopi* с другими видами группы *costata* использовался материал коллекций Зоологического института РАН и Института зоологии АН Армении в Ереване.

Дифференциальные отличия. *Cn. akopi* отличается от *Cn. costata* и от других видов группы *costata* меньшим числом щетинок в большом веере (35 против 48—51), меньшим числом рядов крючков в задней присоске (75 против 85—116) и числом крючков в каждом ряду (11—12 против 13—15), а также меньшим числом внутренних зубцов мандибулы (7—8 против 10—13). По кариотипу отличается полной конъюгацией гомологичных хромосом, структурой центромерных районов, отсутствием хромоцентра и 2 гомозиготными инверсиями в *III* и *IIIL*.

Голотип личинки *Cn. akopi* хранится в коллекции Зоологического института РАН. Препарат № 21 574, Армения, Джрвежское ущелье, ручей, 19.06.1967. Сбор Качворян и Чубаревой.

Обобщая полученные результаты, следует отметить, что *Cn. costata* обладает сходными маркерами хромосом, какие свойственны *Cn. fontia*, *Cn. garniensis*, *Cn. zakhariensis* и *Cn. akopi*. Наличие хромоцентра сближает *Cn. costata* с *Cn. fontia* и *Cn. garniensis*; присутствие В-хромосом в кариофондах природных популяций *Cn. costata* и *Cn. zakhariensis* тоже свидетельствует о сходстве их генетических систем. При сопоставлении дисковых последовательностей гомеологичных хромосом *Cn. costata* с остальными видами группы *costata* наибольшее сходство обнаружено с *Cn. fontia* и *Cn. zakhariensis*. При этом усматривалось почти полное совпадение рисунков дисков на всем протяжении хромосом. Различия проявились в разной степени пуффирования, связанной с их функциональной активностью, и в наличии небольших гомозиготных инверсий — у *Cn. fontia* в *IIS* (секции 14—16) и в *IL* (секции 35—37), а у *Cn. zakhariensis* в *IIS* (секции 3—7).

Сравнение дисковых последовательностей хромосом *Cn. costata* с таковыми *Cn. garniensis* показало весьма ограниченное сходство: совпадение рисунков дисков обнаружено лишь на дистальных участках хромосом.

Сопоставление дисковых последовательностей хромосом *Cn. costata* и *Cn. akopi* выявило различия по 2 гомозиготным инверсиям, захватывающим обширные участки *IIIL* (секции 15—27) и *IIIL* (секции 26—29) кариотипа второго вида.

Следует подчеркнуть, что, несмотря на внешнее фенотипическое сходство видов группы *costata* и наличие у сравниваемых видов сходных маркеров хромосом, данные виды безошибочно различимы по ряду кариотипических признаков и прежде всего по дисковым последовательностям.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, № проекта 99-04-49770.

Список литературы

- Качворян Э. А., Чубарева Л. А. Кариотипические особенности четырех видов мошек рода *Eusimulium* Roub (*Simuliidae*, *Diptera*) из Армении и генетические связи между ними. // Биол. журн. Армении АН СССР. 1974а. Т. 27, № 5. С. 61—69.
- Качворян Э. А., Чубарева Л. А. К вопросу о хромосомном полиморфизме в природных популяциях *Eusimulium zakhariensis* Rubzov. // Биол. журн. Армении АН СССР. 1974б. Т. 27, № 11. С. 30—36.
- Качворян Э. А., Чубарева Л. А., Петрова Н. А., Мирумян Л. С. Изменение частот В-хромосом у синантропных видов кровососущих мошек (*Diptera*, *Simuliidae*). // Генетика. 1996. Т. 32, № 5. С. 637—640.
- Кноз Ян, Чубарева Л. А. Кариотипические признаки 8 видов мошек Чехословакии // Scripta Fac. Sci. Nat. UJEP. Brunensis Biologia. 1974. Т. 3, № 4. С. 101—113.
- Рубцов И. А. Мошки (сем. *Simuliidae*). 2-е изд. М.; Л., 1956. 860 с. (Фауна СССР. Т. 6, вып. 6).
- Рубцов И. А. Об эволюции, филогении и классификации семейства мошек (*Simuliidae*, *Diptera*). Л., 1974. С. 230—281. (Тр. Зоол. ин-та АН СССР. Т. 53).
- Рубцов И. А., Янковский А. В. Определитель родов мошек Палеарктики. Л.: Наука, 1984. 175 с.
- Тертерян А. Е. Мошки (сем. *Simuliidae*) Ереван. 1968. 272 с. (Фауна Армянской ССР).

ЗИН РАН, Санкт-Петербург, 199034;
Институт молекулярной биологии НАН
республики Армения, Ереван

Поступила 5.01.2000

MORPHOLOGICAL AND KARYOTYPICAL ANALYSIS OF FIVE BLACKFLY SPECIES OF THE GENUS *CNETHA* (DIPTERA: SIMULIIDAE) WITH A DESCRIPTION OF ONE NEW SPECIES FROM THE DGRVEDGSKY CANYON IN ARMENIA

L. A. Chubareva, E. A. Kachvoryan

Key words: Simuliidae, Cnetha, karyotype, Armenia.

SUMMARY

Morphological and karyotypical features of a new blackfly species *Cnetha akopi* sp. n. from Armenia are described. Comparative analysis of the new species and four closely related endemic species from Caucasus is performed. Photographic maps of polytene chromosomes are provided.

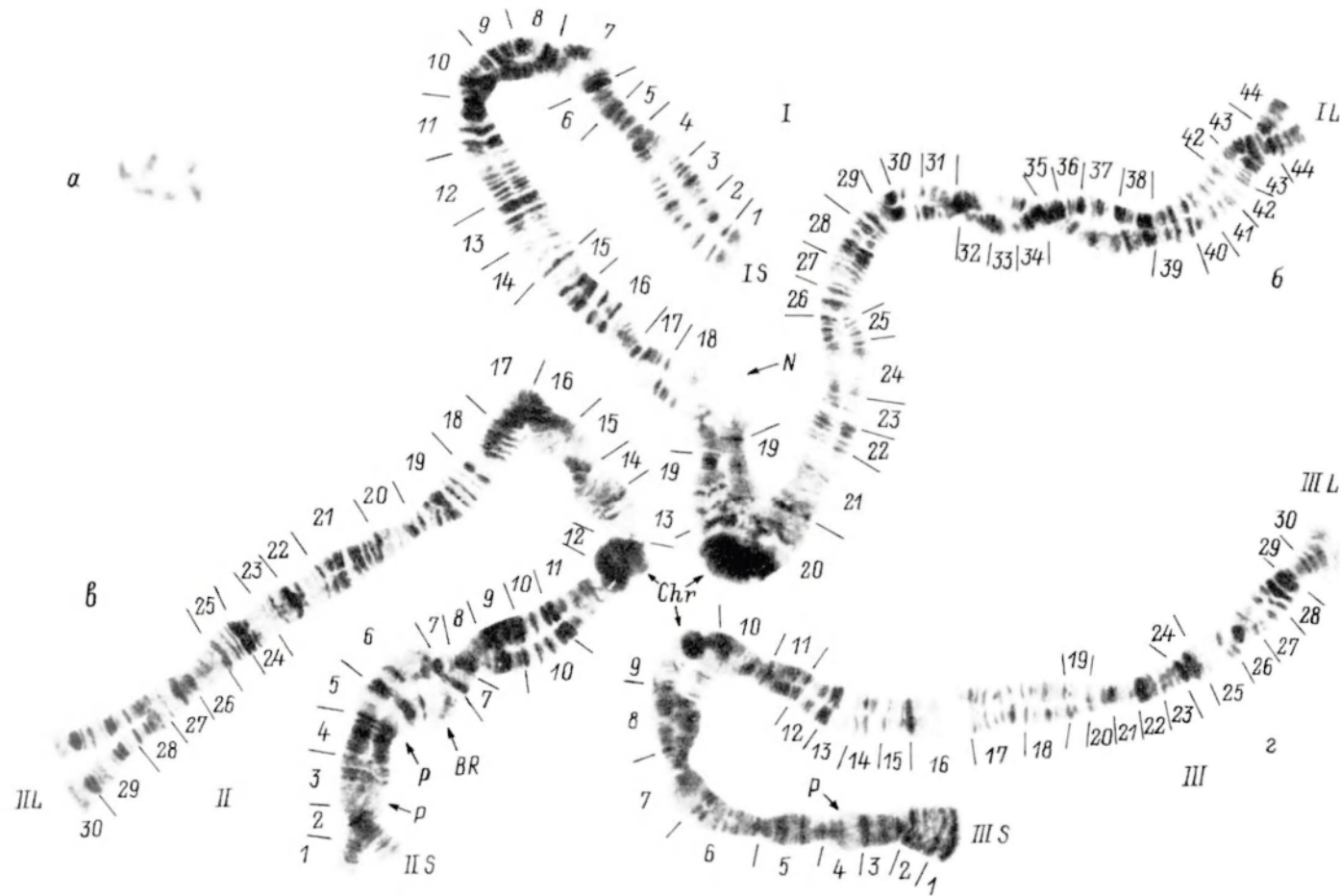


Рис. 2. Кариотип личинки *Cnetha costata*.
 а — метафазная пластинка; б—з — полнотелые хромосомы I—III соответственно; BR — кольцо Бальбиани; C — центромера; Chr — хромоцентр; Inu, 2 — инверсии, отмеченные прерывистым штрихом; L — длинное плечо хромосомы; N — зона связи с ядрышком; P — пуфф; S — короткое плечо хромосомы.

Fig. 2. Karyotype of *Cnetha costata* larva.

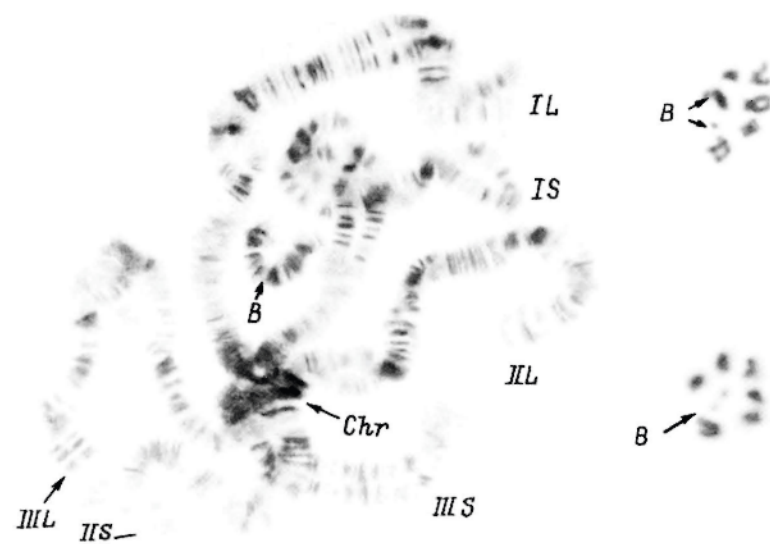


Рис. 3. Кариотип личинки *Cnetha costata*, в котором присутствует добавочная В-хромосома (В-хр).

Слева — политенные хромосомы; справа — метафазные пластинки.

Обозначения те же, что на рис. 2.

Fig. 3. Karyotype of *Cnetha costata* larva with additional B-chromosome (B-xp).

