УДК 575.174

КАРИОТИП И НУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ГЕНА *COI CHIRONOMUS SORORIUS* WÜLKER, 1973 (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) ИЗ ДЕЛЬТЫ р. ПЕЧОРА

© 2021 г. В. В. Большаков^{1,} *, Е. Б. Фефилова², Е. А. Мовергоз¹

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, 152742 Россия ²Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, 167982 Россия *E-mail: victorb@ibiw.ru Поступила в редакцию 22.06.2021 г.

После доработки 13.07.2021 г. Принята к публикации 19.07.2021 г.

Впервые в Европейской части России и за Северным полярным кругом, в дельте р. Печора обнаружена личинка комара-звонца *Chironomus sororius* Wülker 1973. В результате анализа кариотипа обнаружено 9 инверсионных вариантов плеч хромосом: sorA1, sorB2, sorB3, sorC2, sorD1, sorE1, sorF1, sorF2 и sorG1. В-хромосом не обнаружено. Получена нуклеотидная последовательность участка гена *COI* длиной 584 нуклеотида. Байесовский анализ показал, что вид относится к группе видов *Chironomus aberratus*, и наиболее близок с *Ch. sororius* из Западной Сибири (г. Новосибирск). Минимальные генетические дистанции (*p*-distance) получены также при сравнении с *Ch. sororius* (1%) из г. Новосибирск, что значительно меньше предложенного порога (3%) разграничивающего виды *Chironomus* из Канады, генетические дистанции оказались выше порогового значения (3.8 и 7.8%), и, вероятно, они также относятся к данной группе видов.

Ключевые слова: Diptera, Chironomidae, *Chironomus sororius*, *COI*, ДНК-баркодинг, кариотип, р. Печора **DOI**: 10.31857/S0041377121060031

Вид Chironomus sororius Wülker 1973 был описан из популяций Шварцвальда в Германии и южной Финляндии (Wülker, 1973), позднее был обнаружен в водоемах Швеции, Чехословакии и Норвегии (Wülker, 1991). В России вид ранее был найден в Сибири: г. Новосибирск (недалеко от Академгородка, СНТ "Кристалл" и "Цитолог"); в Республике Алтай, вероятно, река Шебелик, около города Шебалино (в источнике (Kiknadze et al., 2016) указана р. Шарлик, но она находится далеко от указанного города, и ее длина всего 18 км); р. Большой Ильгумень, близ г. Онгудай; оз. Озёрское, Усть-Канский р-н; р. Енисей близ г. Кызыл. Вид относится к группе видов Chironomus aberratus, в которую входят: Ch. fraternus Wülker 1991, Ch. beljaninae Wülker 1991, Ch. jonmartini Lindeberg 1979, Ch. aberratus Keyl 1961 и Ch. sororius. Группа Chironomus aberratus, остается до сих пор слабо изученной (Wülker, 1973, 1991; Ракишева и др., 2001; Kiknadze et al., 2016; Petrova, Zhirov, 2017).

Личинка *Ch. sororius* была обнаружена нами в дельте р. Печора в одной пробе с *Ch.* sp. *Ya3* Kiknadze, Istomina et Salova 1996 (Bolshakov, Fefilova, 2020), и так же является первой находкой для Европейской части России. При наличии лишь одной особи и ограниченного количества материала первоначально определение вида вызвало у нас некоторые труд-

ности. Ранее (2008 и 2010 гг.) при изучении водоемов в устьевом районе р. Печора (Большой и Малый Гусинец) только по морфологическим признакам до вида были определены 33 вида комаров-звонцов, из которых к роду Chironomus относились: Ch. dorsalis Meigen 1818, Ch. agilis Shobanov, Djomin 1988, Ch. magnificus Shobanov 2000, Ch. albimaculatus Shobanov, Wülker, Kiknadze 1991, при этом часть диагностирована только до рода (Черевичко и др., 2011). Известно, что у хирономид, особенно в роде Chironomus, видовая идентификация по морфологическим признакам личинки сильно затруднена, а порой и невозможна (Кикнадзе и др., 1996). Метод выведения до имаго в условиях экспедиции недоступен. Другим, удобным и относительно точным. методом для установления видовой принадлежности у Chironomus является цитогенетический анализ. Однако и при его использовании иногда возникают трудности, особенно если кариотипы принадлежат близкородственным или слабо изученным видам, в этом случае только высокое качество кариологического препарата позволяет увидеть мельчайшие различия между кариотипами. В нашем случае качество полученного кариологического препарата не позволило нам точно диагностировать вид выращенной личинки, мы лишь установили, что она относится к группе видов Chironomus aberratus. Поэтому для дальнейшего уточнения ее таксономического статуса мы выбрали метод баркодинга, основным преимуществом которого является возможность использования на всех стадиях развития организма. Используя стандартный набор праймеров для амплификации фрагмента ДНК митохондриального гена субъединицы I цитохромоксидазы С (*COI*) (Folmer et al., 1994; Hebert et al., 2003) нами была получена видоспецифичная нуклеотидная последовательность ДНК. К сожалению, в базах данных генетической информации GenBank и BOLD содержится только одна запись о нуклеотидной последовательности COI Ch. sororius - AF192198.1. Сравнив полученную нами последовательность с другими последовательностями, отобранными для анализа, мы установили, что обнаруженная личинка относится к группе видов Chironomus aberratus, а наиболее близким видом является Ch. sororius, для которого не было превышено пороговое значение (3%), разграничивающее виды рода *Chironomus* (Proulx et al., 2013). По другим 4-м видам группы Chironomus aberratus никакой информации в базах данных нет.

В настоящей статье приводится описание кариотипа и результаты анализа нуклеотидной последовательности участка гена *COI Ch. sororius* из дельты р. Печора.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для работы послужила одна личинка Chironomus sororius, найденная в августе 2016 г. в водоеме на острове в протоке Большой Гусинец дельты реки Печора одновременно с Ch. sp. Ya3 Kiknadze, Istomina et Salova 1996 (Bolshakov, Fefilova, 2020). Koординаты точки сбора: N 68°10'282"; E 53°39'368". Водоем представлял собой небольшое озерко, зарастающее осокой водной – Carex aquatilis Wahlend, и сообщающееся с рекой в период половодья, площадью около $200 \times 20 \text{ м}^2$, глубиной около 1 м. В период сбора материала температура воды составляла 17.5°С, рН 8.04. Проба донного субстрата (смесь ила с песком) из водоема хранилась без фиксации, герметично упакованная в пакет, в холодильнике при 4°С до января 2017 г. Обнаруженные при разборе пробы личинки (длиной 3-5 мм) доращивались в лаборатории на искусственном субстрате, как было описано ранее (Bolshakov, 2015; Bolshakov, Fefilova, 2020), в результате для анализа оказались пригодны несколько личинок, в их числе и личинка Chironomus sororius.

Изготовление давленных препаратов политенных хромосом проводили по стандартной этилорсеиновой методике (Демин, 1989). Фотографирование хромосом проводили на микроскопе "Микромед-6С" ("ЛОМО", Санкт-Петербург), оснащенным видеоокуляром "ToupCam5.1" (Китай) и объективами с увеличением 40× и 100×. Для видовой идентификации по кариотипу использовали цитофотокарты (Keyl, 1962; Dévai et al., 1989; Kiknadze et al., 2016). Из личинки, фиксированной в этаноле (95%), выделяли ДНК с помощью набора реагентов на магнитных частицах "М-сорб-ООМ" (Синтол, Москва) согласно протоколу производителя. Для баркодинга использовали регион гена *COI* (Folmer et al., 1994): праймеры LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATA-AAGATATTGG-3' и HCO2198: 5'-TAAACTTCAGG-GTGACCAAAAAATCA-3') (Евроген, Москва).

Реакцию ПЦР проводили в объеме 25 мкл (1× буфер, 1.5 мкМ MgCl₂, 0.5 мМ каждого из праймеров, 0.2 мкМ каждого нуклеотида, 1 μ М образца ДНК, 1 а.е. Таq полимеразы (Евроген, Москва)). Цикл ПЦР: 94°С – 3 мин, 30 циклов (94°С – 15 с, 50°С – 45 с, 72°С – 60 с), 72°С – 8 мин. Очищали ДНК этанолом и 3М ацетатом аммония, и далее секвенировали в обоих направлениях на секвенаторе Applied Biosystems 3500 (Thermo Scientific, США).

Для выравнивания полученных последовательностей ДНК использовали алгоритм MUSCLE из пакета программ MEGA6 (Татига et al., 2013). Генетические дистанции (*p*-distance) рассчитывали также в программе MEGA6. Построение филогенетических деревьев по методу Байеса проводили в программе MrBayes v.3.2.6 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003; Ronquist et al., 2012) с параметрами, предложенными в работе Кармокова (Karmokov, 2019; Bolshakov, Prokin, 2021). Визуализацию и редактирование полученных филогенетических деревьев осуществляли в программе FigTree v.1.4.3 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

Для филогенетического анализа использовали последовательности ДНК из базы данных GenBank. Однако последовательности представителей группы *Chironomus aberratus*, кроме *Ch. sororius* – AF192198.1, в свободном доступе отсутствуют. Кроме этого, в GenBank были найдены последовательности неопределенных до вида хирономид из водоемов Канады, относящиеся, вероятно, к данной группе: KR670353.1 (*Chironomus* sp. BOLD-2016 voucher CHU06-COL-371) и KR963693.1 (*Chironomus* sp. BOLD-2016 voucher BIOUG18205-D04).

Номера доступа к использованным последовательностям в базах данных: Chironomus acutiventris Wülker, Ryser, Scholl 1983 - AF192200.1, Ch. annularius Meigen, 1818 – AF192189.1, Ch. aprilinus Meigen, 1830 – KC250746.1, Ch. balatonicus Devai, Wülker, Scholl, 1983 -JN016826.1, Ch. bernensis Wülker et Klötzli, 1973 -AF192188.1, Ch. borokensis Kerkis, Filippova, Schobanov, Gunderina, Kiknadze, 1988 – AB740261, Ch. cingulatus Meigen, 1830 - AF192191.1, Ch. commutatus Keyl, 1960 -AF192187.1, Ch. curabilis Belyanina, Sigareva, Loginova, 1990 – JN016810.1. Ch. dilutus Shobanov, Kiknadze, Butler, 1999 - KF278335.1, Ch. entis Shobanov, 1989 -KM571024.1, Ch. heterodentatus Konstantinov, 1956 -AF192199.1, Ch. heteropilicornis Wülker, 1996 – MK795772.1, Ch. luridus Ŝtrenzke, 1959 – AF192203.1, Ch. maturus Johannsen, 1908 - DQ648204.1, Ch. melanescens Kevl, 1961 – MG145351.1, Ch. nipponensis Tokunaga, 1940 – LC096172.1, Ch. novosibiricus Ki-

ЦИТОЛОГИЯ том 63 № 6 2021

knadze, Siirin, Kerkis, 1993 – AF192197.1, *Ch. nuditarsis* Keyl, 1961 – KY225345.1, *Ch. obtusidens* Goetghebuer, 1921 – CHMNO207-15 (http://www.boldsystems.org/index. php/Public_RecordView?processid=CHMNO207-15); *Ch. piger* Strenzke, 1959 – AF192202.1, *Ch. pilicornis* Fabricius, 1787 – BSCHI736-17, *Ch. plumosus* Linnaeus, 1758 – KF278217.1, *Ch. riparius* Meigen, 1804 – KR756187.1, *Ch. sokolovae* Istomina, Kiknadze, Siirin, 1999 – MW471100, *Ch. tentans* Fabricius, 1805 – AF110157.1, *Ch. tuvanicus* Kiknadze, Siirin et Wulker, 1993 – AF192196.1, *Ch. whitseli* Sublette, Sublette, 1974 – KR683438.1. В качестве вида внешней группы использовали *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 – HQ551913.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кариотип Ch. sororius из дельты р. Печора. Диплоидный набор 2n = 8, комбинация хромосомных плеч АВ. CD. EF и G – соответствует шитокомплексу "thummi". Хромосомы АВ и CD – метацентрические. EF – субметацентрческая. G – телоцентрическая. в нашем случае гомологи всегла не спарены (рис. 1.). В-хромосомы отсутствуют. Ядрышко и два кольца Бальбиани расположены в плече G. Также одно кольцо Бальбиани расположено в плече В. Кариотип Ch. sororius сходен с кариотипом Ch. aberratus (Wülker, 1973), последовательности в плечах A, D, E и F идентичны, отличается фиксированными инверсиями в плечах В, С и G. Кроме этого, центромерные районы у Ch. sororius значительно крупнее Ch. aberratus, но меньше, чем у Ch. melanotus Keyl 1961.

В плече А обнаружена одна последовательность sorA1=abeA1 (Keyl, 1962; Wülker, 1973; Kiknadze et al., 2016).

sorA1 1a-2c 10a-12c 4a-9e 2d-3i 13a-19f C.

В плече В две последовательности sorB2 и sorB3, на настоящий момент не картированы.

B плече C последовательность sorC2=abeC1 (Ki-knadze et al., 2016).

sorC2 1a-6b 11c-8a 15e-11d 6gh 17a-16a 7d-a 6f-c 17b-22g C.

В плече D последовательность sorD1=abeD1 (Wülker, 1973; Kiknadze et al., 2016).

sorD1 1a-3g 11a-18f 7d-4a 10e-7e 18g-24g C.

В плече Е одна последовательность sorE1=abeE1 (Wülker, 1973; Kiknadze et al., 2016).

sorE1 1a-3e 5a-10b 4h-3f 10c-13g C.

В плече F две последовательности sorF1=abeF1 и sorF2 (Wülker, 1973; Kiknadze et al., 2016).

sorF1 1a-10d 17d-11a 18a-23f C.

sorF2 1a-2f 8f-3a 9a-10d 17d-11a 18a-23f C.

В плече G одна последовательность sorG1, на настоящий момент не картирована.

Первоначально, при идентификации вида как *Ch. sororius* у нас возникли сложности, обусловленные

ЦИТОЛОГИЯ том 63 № 6 2021

низким качеством цитологического препарата и высоким сходством последовательностей дисков политенных хромосом у близкородственных видов. В результате цитогенетического анализа было обнаружено 9 последовательностей дисков гомологичных (политенных) хромосом: sorA1=abeA1, sorB2, sorB3, sorC2=abeC1, sorD1=abeD1, sorE1=abeE1, sorF1=abeF1, sorF2 и sorG1. Несмотря на суровые условия обитания и удаленность от мест других находок, значительных особенностей в кариотипе, а также новых последовательностей не обнаружено.

К сожалению, количества изученных личинок недостаточно для оценки цитогенетической структуры популяции.

Молекулярно-генетический анализ участка гена СОІ и филогенетический анализ. В результате молекулярно-генетического анализа был прочитан участок гена СОІ длиной 584 нуклеотида, и размешен в базе данных GenBank под номером MZ324811. Минимальные генетические дистанции (*p*-distance), pacсчитанные в программе MEGA6, указывают на высокое сходство изучаемой нами личинки из дельты р. Печора с видом *Ch. sororius* из г. Новосибирск – 1%, что значительно выше 3%-ного порога, принятого при разграничении видов Chironomus (Polukonova et al., 2009; Proulx et al., 2013; Karmokov, 2019; Bolshakov, Prokin, 2021). Проведенный на основании сравнения последовательностей СОІ филогенетический анализ по методу Байеса (рис. 2) показывает объединение родственных видов в кластеры (группы): aberratus, riihimakiensis, lacunarius, plumosus, obtusidens, и piger, ранее выделенные по морфологическим и цитогенетическим признакам. Обнаруженная нами личинка с высоким уровнем достоверности относится к группе Chironomus aberratus и является видом Ch. sororius (99%).

При анализе двух последовательностей участка гена *COI* из GenBank неидентифицированных видов *Chironomus* (из Канады) генетические дистанции оказались выше 3% порогового значения, и составили 3.8% и 7.8% для *Chironomus* sp. (KR963693.1) и *Chironomus* sp. (KR670353.1) соответственно; высокие значения prob. в узлах веток на филогенетическом дереве указывают, что эти последовательности, вероятно, также относятся к группе видов *Chironomus aberratus*.

Таким образом, при неоднозначной интерпретации данных морфологического и цитогенетического анализа, мы успешно применили метод баркодинга фрагмента гена *COI*, для идентификации единственной найденной личинки *Ch. sororius* из устья р. Печора, которая оказалась первой находкой для Европейской части России.



Рис. 1. Кариотип *Ch. sororius* из дельты р. Печора. *Стрелки* указывают на центромеры, sorA1.1, sorB2.3 – сочетания инверсионных вариантов плеч хромосом, BR – кольца Бальбиани, N – ядрышко.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность А.С. Глотову и С.А. Золотому (заповедник "Ненецкий") за организацию полевых работ в дельте р. Печора и В.К. Чугунову (ИБВВ РАН) за помощь в первичной обработке материала; А.А. Боброву, Б.А. Лёвину (ИБВВ РАН) и М.Х. Кармокову (ИЭГТ РАН) за ценные замечания на всех этапах работы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственных заданий Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (№ 121050500046-8; 121051100099-5), Института биологии Коми научного центра УрО РАН (АААА-А17-117112850235-2) и при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-04-00145).



Рис. 2. Филогенетическое дерево *Chironomus* полученное на основе анализа нуклеотидных последовательностей генов *COI*, построенное по методу Байеса. Числа в узлах показывают уровень поддержки.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит данных, полученных в результате использования позвоночных животных в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Демин С.Ю. 1989. Изменчивость степени конденсированности политенных хромосом в клетках разных органов личинок *Chironomus plumosus* из природы. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л. 25 с. (*Demin S. Yu.* 1989. The variability of the degree of condensation of polytene chromosomes in the cells of various organs of larvae *Chironomus plumosus* of nature]. Avtoref. kand. dis. Leningrad. 25 p.)
- Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Гундерина Л.И., Салова Т.А., Айманова К.Г., Саввинов Д.Д. 1996. Кариофонды хирономид криолитозоны Якутии. Триба Chironomini. Новосибирск: Наука. 166 с. (*Kiknadze I.I., Istomina A.G., Gunderina L.I., Salova T.A., Aymanova K.G., Savvinov D.D.* 1996. Kariofondy khironomid kriolitozony Yakutii. Triba Chironomini. Novosibirsk: Nauka. 166 р.)
- Ракишева А.Ж., Петрова Н.А., Михайлова П.В. 2001. Морфология личинки и особенности кариотипа Chironomus jonmartini из краевой южной популяции (Казахстан). Энтомологическое обозрение. Т. 80. № 2. С. 512. (Rakisheva A.Zh., Petrova N.A., Mikhaylova P.V. 2001.

Morfologiya lichinki i osobennosti kariotipa *Chironomus jonmartini* iz kraevoy yuzhnoy populyatsii (Kazakhstan). Entomologicheskoe Obozrenie. V. 80. № 2. P. 512.)

- Черевичко А.В., Мельник М.М., Прокин А.А., Глотов А.С. 2011. Современное состояние зоопланктона и макрозообентоса низовий р. Печора (Ненецкий АО). Вода: химия и экология. № 9. С. 53. (*Cherevichko A.V., Mel'nik М.М., Prokin A.A., Glotov A.S.* 2011. Sovremennoe sostoyanie zooplanktona i makrozoobentosa nizoviy г. Pechora (Nenetskiy AO). Voda: khimiya i ekologiya. № 9. Р. 53.)
- *Bolshakov V.V.* 2015. On techniques of maintenance of *Chironomus dilutus* larvae (Diptera, Chironomidae) on Bacto agar. Entomol. Rev. V. 95. P. 811.
- Bolshakov V.V., Fefilova E.B. 2020. Karyotype characteristics and the composition of hemoglobins in Chironomus sp. Ya3 (Diptera, Chironomidae) from the Pechora delta. Entomol. Rev. V. 100. P. 1. https://doi.org/10.1134/S0013873820010017
- Bolshakov V.V., Prokin A.A. 2021. Karyotype and COI sequences of *Chironomus sokolovae* Istomina, Kiknadze et Siirin, 1999 (Diptera, Chironomidae) from the bay of Orkhon River, Mongolia. Comp. Cytogen. V. 15. P. 149. https://doi.org/10.3897/compcytogen.v15.i2.66549
- Dévai Gy., Miskolczi M., Wülker W. 1989. Standardization of chromosome arms B, C and D in *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). Acta Biologica Debricina. Supplementum Oecologica Hungarica. V. 2. P. 79.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan inverte-

ЦИТОЛОГИЯ том 63 № 6 2021

brates. Molecular Marine Biology and Biotechnology. V. 3. P. 294.

Hebert P., Cywinska A., Shelley L. Ball S. T., de Waard J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society London B: Biological Sciences. V. 270. P. 313. https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218

- Karmokov M.K. 2019. Karyotype characteristics, chromosomal polymorphism and gene COI sequences of Chironomus heteropilicornis Wülker, 1996 (Diptera, Chironomidae) from the South Caucasus. Comparative Cytogenetics. V. 13. P. 339. https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v13i4.35572
- *Keyl H.-G.* 1962. Chromosomenevolution bei *Chironomus*. II. Chromosomenumbauten und phylogenetische Beziehungen der Arten. Chromosoma. V. 13. P. 464. https://doi.org/10.1007/BF00327342
- Kiknadze I.I., Istomina A.G., Golygina V.V., Gunderina L.I. 2016. Karyotypes of Palearctic and Holarctic species of the genus Chironomus [Electronic resource] / [Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics. Novosibirsk: Academic Publishing House "GEO". 489 p. https://elibrary.ru/item.asp?id=27246690
- Petrova N.A., Zhirov S.V. 2017. Karyotype characteristics of Chironomus fraternus Wülker and Ch. beljaninae Wülker (Diptera, Chironomidae) from Northern Russia. Entomol. Rev. V. 97. P. 730.

https://doi.org/10.1134/S0013873817060033

Polukonova N.V., Djomin A.G., Mugue N.S., Shaikevich A.E. 2009. Comparison of Chironomus usenicus and Chironomus

curabilis with species of the group plumosus (Diptera) inferred from the mitochondrial DNA Gene *COI* and by the polytene chromosomes banding pattern. Russ. J. Genet. V. 45. P. 899.

https://doi.org/10.1134/S102279540908002X

- *Ronquist F., Huelsenbeck J.P.* 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics. V. 19. P. 1572.
- Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D.L., Darling A., Hohna S., Larget B., Liu L., Suchard M.A., Huelsenbeck J.P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic in-ference and model choice across a large model space. Systematic Biology. V. 61. P. 539. https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029
- Proulx I., Martin J., Carew M., Hare L. 2013. Using various lines of evidence to identify Chironomus species (Diptera: Chironomidae) in eastern Canadian lakes. Zootaxa. V. 3741. P. 401. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3741.4.1
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol. V. 30. P. 2725. https://doi.org/10.1093/molbev/mst197
- *Wülker W.F.* 1973. Revision der Gattung *Chironomus* Meig. III. Europäische Arten des thummi-Komplexes. Archiv für Hydrobiologie. V. 72. P. 356.
- *Wülker W.F.* 1991. *Chironomus fraternus* sp. n. and *C. beljaninae* sp. n., sympatric sister species of the aberratus group in Fennoscandian reservoirs. Entomol. Fennica. V. 2. P. 97.

Karyotype and *COI* Gene Sequences of *Chironomus sororius* Wülker 1973 (Diptera, Chironomidae) from the Pechora River Delta

V. V. Bolshakov^{*a*, *}, E. B. Fefilova^{*b*}, and E. A. Movergoz^{*a*}

^a Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, Yaroslavl reg., Nekouz prov., Borok, 152742 Russia

^b Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, 167982 Russia

*e-mail: victorb@ibiw.ru

Larva *Chironomus sororius* Wülker, 1973 was found in the European part of Russia and beyond the Arctic Circle, in the delta of the Pechora River for the first time. Nine inversion variants of chromosome arms determined: sorA1, sorB2, sorB3, sorC2, sorD1, sorE1, sorF1, sorF2 and sorG1. The additional B-chromosomes are absent. A nucleo-tide sequence of the 584-nucleotide *COI* gene region was obtained. Bayesian inference showed that the species belongs to the group *Chironomus aberratus*, and closely related to *Ch. sororius* from Western Siberia (Novosibirsk). The estimated genetic *p*-distance between obtained sequence and *Ch. sororius* from Novosibirsk was about 1%, which is much lower than the commonly accepted threshold of 3% for species of genus *Chironomus* Meigen, 1803. By analyzing two *COI* sequences from the GenBank of unidentified *Chironomus* species from Canada, the genetic distances were above the threshold value (3.8% and 7.8%), and they probably belong to this group of species.

Keywords: Diptera, Chironomidae, Chironomus sororius, COI, DNA-barcode, karyotype, Pechora river