



УДК. 551.7/57.08

DOI <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.66>

Оригинальная модификация метода пробоподготовки озёрных отложений для изучения макроостатков личинок хирономид (*Insecta: Diptera*)

И. В. Енущенко

Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Россия

E-mail: deschampsia@yandex.ru

Аннотация. Описаны усовершенствования стандартной методики пробоподготовки образцов озёрных отложений по выделению и определению макроостатков личинок комаров-звонцов (хирономид). Описаны и проиллюстрированы необходимый для работы инвентарь и алгоритм пробоподготовки. Приведены примеры фотоописаний головных капсул личинок некоторых таксонов хирономид, сделанных с помощью видеоокуляра.

Ключевые слова: палеолимнология, палинология, химическая обработка, озёрные осадки.

Для цитирования: Енущенко И. В. Оригинальная модификация метода пробоподготовки озёрных отложений для изучения макроостатков личинок хирономид (*Insecta: Diptera*) // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2020. Т. 31. С. 66–75. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.66>

Введение

Личинки хирономид уже давно используются в лимнологии как индикаторы различных типов местообитаний [Saether, 1975, 1979; Балушкина, 1976; Ferrington, 2007] и палеоклиматических изменений [Brodin, 1986; An assessment of Chironomidae ..., 1991; Назарова, Брукс, 2004; Climate changes ..., 2012; Енущенко, 2014; Enushchenko, Melgunov, Fedotov, 2014]. Стандартная методика пробоподготовки образцов озёрных отложений для изучения макроостатков погребённых личинок хирономид (целые головные капсулы и ментумы) включает в себя обработку осадка 10%-ным раствором КОН [An assessment of Chironomidae ..., 1991; Brooks, 1997]. После промывания на ситах пробы просматриваются в камере Богорова с глубиной и шириной борозды 5 мм; головные капсулы выбираются из детрита пипеткой или тонким пинцетом [Brooks, Langdon, Heiri, 2007].

Головные капсулы личинок хирономид из донных отложений озёр часто заполнены трудновываемым осадком и остаются плохо промытыми и от грунта, и от щелочи. При перенесении в глицерин для просмотра происходит омыление макроостатков, что в значительной мере усложняет работу при микроскопировании. В этом состоит главный недостаток общепринятой методики.

В течение пяти лет изучения донных отложений озёр Восточной Сибири нами был разработан и успешно опробован ряд усовершенствований стандартного метода пробоподготовки материала для хирономидологического анализа.

Используя «щелочной» метод, Брукс с соавторами [Brooks, Langdon, Heigi, 2007] отмечают, что из 2–10 см³ влажного осадка может быть выбрано от 50 до 100 головных капсул (в зависимости от типа озера и особенностей осадконакопления). В наших же исследованиях проб из олиготрофных высокогорных озёр их стандартный объём составлял 0,5–1 см³ влажного осадка. Содержание личинок хирономид головных капсул в осадках эвтрофных и мезотрофных озёр обычно значительно ниже, чем в олиготрофных, поскольку низкое содержание кислорода в воде является для них лимитирующим фактором. С учётом этого при наших исследованиях кернов отложений эвтрофных и мезотрофных равнинных озёр объём каждой пробы влажного осадка увеличивался вдвое и составлял 1–2 см³. После растворения минеральной составляющей осадков путём предложенного нами протравливания в концентрированной плавиковой кислоте (HF) содержание учтённых головных капсул личинок хирономид в образцах, отобранных для анализа, значительно превышало средние достигаемые результаты благодаря более качественной их промывке от осадка.

Результаты и обсуждение

На первом этапе предлагаемого нами метода отобранные образцы влажного осадка помещаются в пластиковые пробирки объёмом 15 мл, в которые затем небольшими порциями заливается концентрированная плавиковая кислота до половины их объёма. После добавления каждой порции осадок тщательно перемешивается пластиковой палочкой (рис. 1, а), с помощью которой также сбивается пена, если происходит вскипание. Чтобы уменьшить нагрев и кипение, пробирка содержится полупогружённой в стакан со льдом или холодной водой. При травлении высохшего осадка его необходимо предварительно замочить на сутки в дистиллированной воде и использовать пробирки большего объёма (50 мл).

Спустя сутки пробирки центрифугируются в течение 3 мин при 2500 g. Плавиковая кислота сливается, пробирки заполняются дистиллированной водой. Осадок тщательно перемешивается, и пробирки снова центрифугируются. Процедура повторяется 3–4 раза, пока кислая среда надосадочной жидкости не сменится на нейтральные показания. Если в свежем осадке очевидны следы присутствия остракод или моллюсков, из пробы необходимо предварительно удалить карбонаты. Соединения кальция вступают с концентрированной плавиковой кислотой в бурную экзотермическую реакцию, в результате которой образуется белая нерастворимая в воде соль – фторид кальция (CaF₂). Большое число кристаллов этой соли могут осложнить обработку отмытых проб и искажают данные при оценке объёмов

крупной и мелкой фракции органического остатка. Пробы, содержащие организмы названных групп, обрабатываются 10%-ным раствором соляной кислоты (HCl) способом, описанным выше для HF.

При работе с плавиковой кислотой необходимо особенно тщательно соблюдать технику безопасности. Помимо вредных паров самой кислоты при её взаимодействии с минеральной составляющей осадков в пробах выделяется ядовитый газ без цвета и запаха – тетрафтор-силат [Рысс, 1956], поэтому заливка проб плавиковой кислотой и промывание от неё должны проводиться в вытяжном шкафу с включенной тягой.

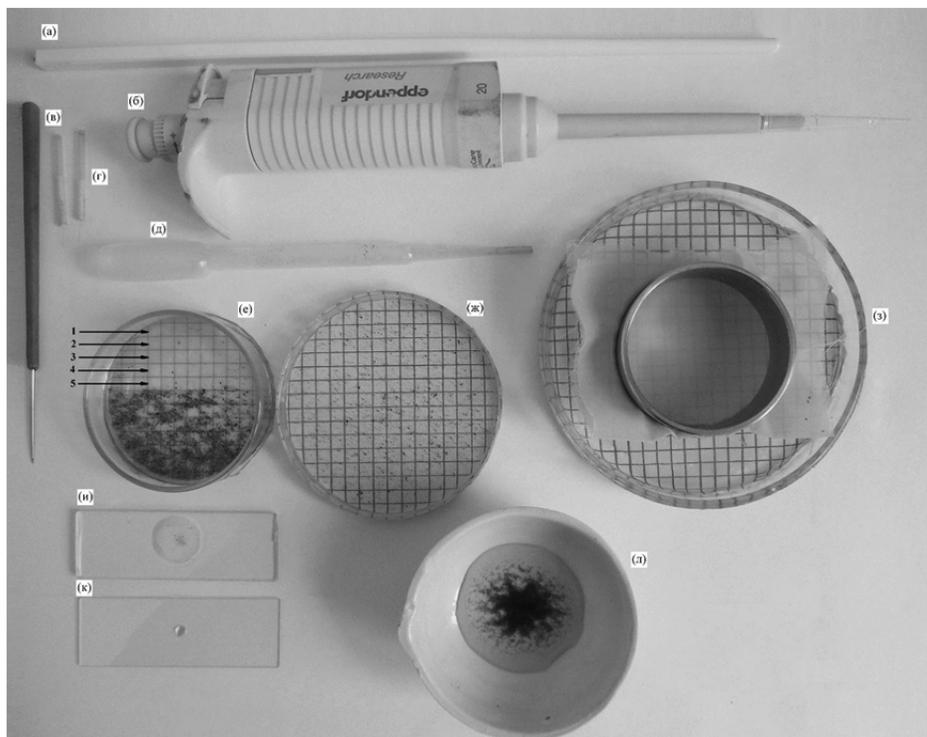


Рис. 1. Инвентарь, используемый для отделения макроостанков личинок хирономид из образцов озёрных отложений: *а* – пластиковая палочка для перемешивания проб осадков; *б* – дозаторная пипетка для отбора макроостатков из промытого детрита; *в* – препаровальная игла для отделения макроостатков от частиц детрита; *г* – тонкие энтомологические иглы-минутцы для работы с головными капсулами; *д* – пипетка Пастера для отбора небольших порций детрита из общего объёма промытой пробы; *е* – чашка Петри с пробой промытого детрита, на дно снаружи приклеен шаблон с рядами клеток 0,5 см (стрелками обозначены ряды, из которых были взяты порции проб 1–5); *ж* – чашка Петри с одной порцией промытого детрита для просмотра и выделения макроостатков личинок хирономид; *з* – сито из мельничного газа в чашке Петри, в которую собирается смываемая тонкая фракция осадка для палинологического анализа; *и* – предметное стекло с лункой и каплей глицерина, куда отбираются макроостатки из чашки Петри (*е*); *к* – предметное стекло с каплей глицерина для микроскопирования отобранных макроостатков; *л* – тигель с просмотренными порциями промытой пробы

Обработка проб кислотой осуществляется для удаления минеральной составляющей, что делает осадок более рыхлым, жидким и менее клейким.

Это заметно повышает качество промывки проб на ситах из двухслойного мельничного газа с размером ячеек 90–100 мкм (рис. 1, з). Вымываемая из сита тонкая фракция с успехом может быть использована для спорово-пыльцевого анализа. Поэтому каждый образец промывается над ёмкостью (чашка Петри), из которой смытая фракция сливается в соответствующую ей пробирку и уплотняется центрифугированием. Получившийся объём каждой пробы записывается для последующей оценки степени разложения органической составляющей осадка. Степень разложения (СР) может оказаться очень важной характеристикой. Под СР мы понимаем соотношение объёма содержащейся в осадке бесструктурной массы (размерность частиц $\ll 100$ мкм) к объёму более крупных ($\gg 100$ мкм) негумифицированных остатков растений и животных; показатель выражается в процентах.

Детрит, оставшийся на сите, смывается струей воды из пластиковой промывалки в «общую» чашку Петри ($D \leq 8$ см), на дно которой с обратной стороны приклеен бумажный шаблон с разметкой в клетку размером $0,5 \text{ см}^2$ (рис. 1, е). Из таких чашек можно отбирать органический остаток осадка рядами клеток $0,5 \text{ см}^2$. Это поможет контролировать объём просмотренного детрита в случае, когда количество макроостатков личинок хирономид очевидно очень велико (в некоторых олиготрофных озёрах их число может достигать 500–1500 в 1 см^3) и просматривать весь объём органики из пробы не имеет смысла. Для просмотра детрита можно использовать камеру Богорова, представляющую собой толстую пластинку из оргстекла с выемкой в виде лабиринта. Ширина выемок лабиринта не более 0,5 см с тем, чтобы они целиком умещались в поле зрения бинокюляра при 20–30-кратном увеличении; высота выемок в пределах 0,5–1 см. Мы же используем для этой цели чашки Петри (диаметр 6 и 8 см) с приклеенными на дно шаблонами в клетку (рис. 1, ж). Небольшая порция детрита из «общей» чашки переносится пипеткой Пастера в чашку большего диаметра; детрит равномерно распределяется по площади чашки, и проба просматривается под бинокюлярным микроскопом (в нашей практике МБС-10) при увеличении $\times 28$.

Как правило, содержание детрита в осадках высокогорных олиготрофных озёр незначительно. Гораздо больше его в отложениях мезо- и эвтрофных озёр равнин и низкогорий – такие пробы необходимо просматривать в несколько приёмов, отбирая пипеткой Пастера (рис. 1, д) по 0,5–2 мл из основного объёма взвеси (см. рис. 1, е).

Зачастую выделение макроостатков личинок хирономид осложняется высоким содержанием в пробах детрита растительного происхождения. Некоторое количество головных капсул и их остатков может быть пропущено из-за небольшого размера или сильной деформированности; они также могут быть заключены в комочках детрита или находиться не в фокусе, плавая на поверхности воды. При исследовании кернов донных отложений из олиготрофных озёр высокогорий (где содержание макроостатков личинок хирономид обычно весьма высоко) какое-то число пропущенных макроостат-

ков существенно не отразится на результатах. При исследовании же кернов из мезо- и эвтрофных озёр, где содержание головных капсул хирономид, как правило, невелико, промытые пробы осадка (детрит) необходимо просматривать по 2–3 раза в чашках Петри разного диаметра для более полного выделения макроостатков. Мы придерживаемся подхода, согласно которому из каждого горизонта керна из озёр с низким или средним содержанием головных капсул и ментумов (до 200 в 1 см³) необходимо целиком выбирать и учитывать все содержащиеся в них макроостатки личинок хирономид, поддающиеся определению. Такой подход гарантирует максимально точную интерпретацию данных, даже с учётом всех возможных ошибок и неточностей.

Головные капсулы выбираются с помощью препаровальной иглы (рис. 1, в), дозаторной пипетки Research Plus (Eppendorf AG, Германия) (рис. 1, б) (установленный объём 0,5 мл) и тонких энтомологических игл – минуций (рис. 1, з) – в каплю глицерина на предметное стекло с лункой (рис. 1, и).

Просмотренный детрит каждого образца концентрируется в тигеле (рис. 1, л) и с помощью пластиковой пипетки Пастера перемещается в соответствующие пробирки – этот материал может быть использован для изучения макроостатков растений, организмов зоопланктона (*Cladocera*, *Calanoida* и др.), макрозообентоса и других беспозвоночных (*Oribatida*, *Coleoptera* и др.) из исследуемых водоёмов. После центрифугирования объём собранного детрита (без макроостатков личинок хирономид) фиксируется для последующего вычисления СР.

При подсчёте и определении выбранных макроостатков на предметное стекло с ровной поверхностью в каплю глицерина (рис. 1, к) тонкими иглами выкладываются по десять головных капсул/ментумов, которые просматриваются под микроскопом при увеличении $\times 200$ и $\times 400$. Мы используем световой тринокулярный микроскоп «МИКМЕД-6» («ЛЮМО-Микросистемы», Россия) с тубусной USB-камерой DCM510 (Yee Mau Industrial, Китай), с помощью которой фотографируются отдельные образцы (рис. 2). Степень сохранности головных капсул и ментумов личинок хирономид неодинакова в разных горизонтах толщи осадочного чехла исследуемых озёр. Фотографирование макроостатков из разных горизонтов позволяет проверять и корректировать определения тех или иных таксонов погребённых *Chironomidae*. По серии фотографий можно отследить изменчивость морфологии головных капсул личинок разных таксонов хирономид в зависимости от личиночной стадии или степени сохранности. Такая коллекция фотографий является хорошим справочным материалом и полезна в работе со следующими кернами.

Половинные фрагменты головных капсул и ментумов каждого вида подсчитываются отдельно от целых. При оценке обилия личинок хирономид в горизонтах осадка общее количество расколотых головных капсул и ментумов личинок каждого отдельного вида делится на два и суммируется с общим числом целых макроостатков вида. Полученное число целых макроостатков каждой личиночной формы пересчитывается на единицу объёма, наибольшую среди всех просмотренных горизонтов. Участие видов в сложении хирономидофауны каждого горизонта выражается в процентах.

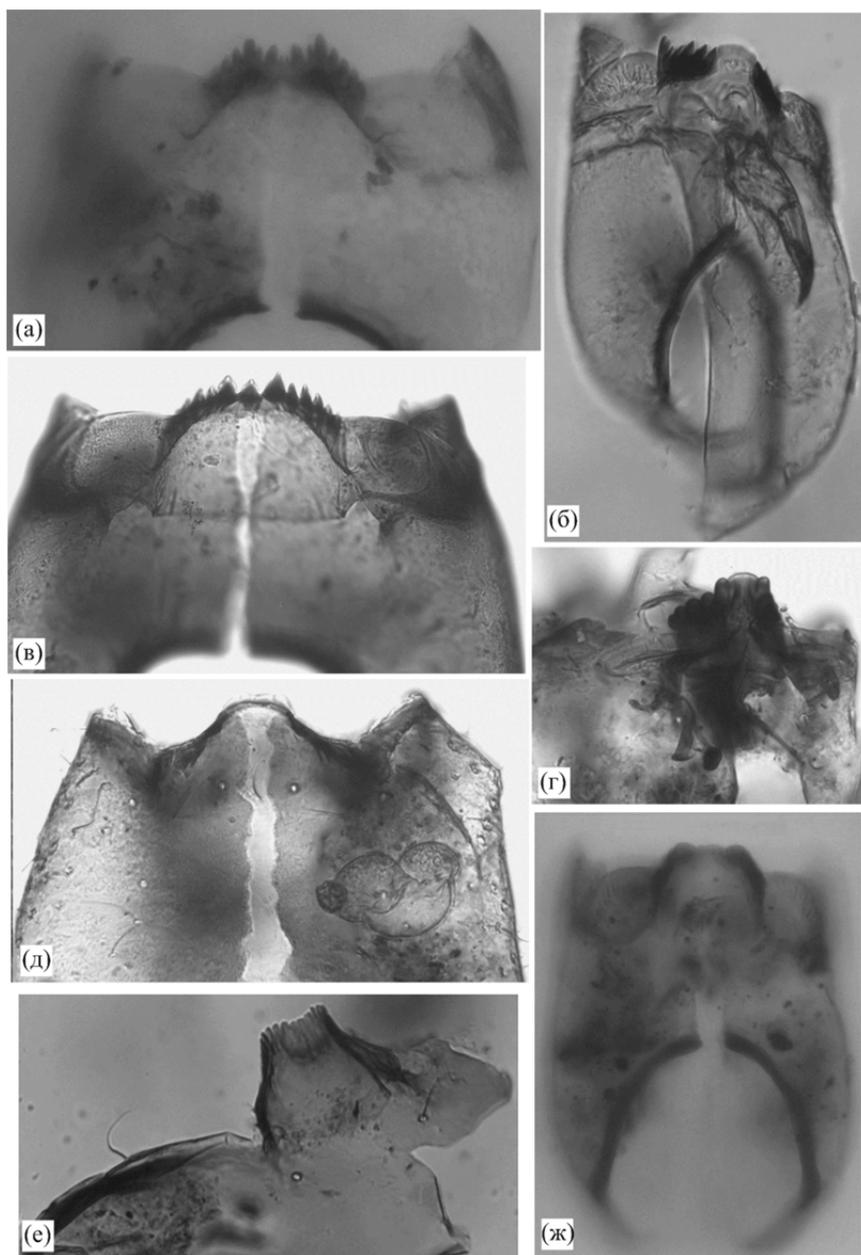


Рис. 2. Головные капсулы личинок хирономид из донных отложений некоторых озёр Восточной Сибири: а – *Omisus caledonicus*-типе (кern из оз. Илим (Иркутская область), горизонт 17-й см); б – *Crictochironomus* sp. (кern из оз. Фролиха (Республика Бурятия), горизонт 20-й см); в – *Sergentia longiventris*-типе, экземпляр с отклонением признака: один средний зубец ментума вместо двух (кern из оз. Орон (Иркутская область), горизонт 1642 г.); г – *Corynocera oliveri*-типе (кern из оз. Угловое (Республика Бурятия), горизонт 896 г.); д – *Protanypus* sp. (кern из оз. Высокогорное (Республика Бурятия), горизонт 1315 г.); е – *Diamesa aberrata*-типе (кern из оз. Туманное (Республика Бурятия), горизонт 1870 г.); ж – *Demejiera rufipes*-типе (кern из оз. Щучье (Республика Бурятия), горизонт 25-й см)

При определении макроостатков и фотографировании их с помощью видеонасадки часто приходится расправлять, разбирать или разворачивать их в нужной плоскости, используя бинокулярный микроскоп с увеличением $\times 28$. Головные капсулы после просмотра и определения с помощью тонких энтомологических игл перекалдываются в каплю глицерина на дне пробирки объемом 0,6 мл; пробирки маркируются и отправляются на хранение.

Заключение

Предлагаемая методика опробована при изучении донных отложений ряда равнинных и высокогорных озёр юга Восточной Сибири. Принципиальным её отличием является использование плавиковой кислоты (HF) вместо КОН при обработке проб озёрных осадков. После растворения минеральной составляющей осадков выходит более рыхлый, хорошо сортируемый, чистый органический материал, включающий макроостатки беспозвоночных и растений, а также пыльцу и споры. Главным преимуществом методики является повышение качества промывки образцов, что обеспечивает более полное изъятие из проб осадка макроостатков личинок хирономид и других беспозвоночных (*Cladocera*, *Calanoida*, *Oribatida*, *Coleoptera* и пр.). Кроме того, вымытая из сита более тонкая фракция с успехом может быть использована для спорово-пыльцевого анализа.

Таким образом, предлагаемая методика пригодна как для гидробиологов, так и для палинологов, занимающихся изучением биотических и климатических сукцессий плейстоцен-голоценового возраста.

Автор благодарен А. О. Фролову и С. М. Шишлянникову за активное содействие в полевых и лабораторных исследованиях, ценные советы, консультации и критический просмотр рукописи.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 16-05-00342, 17-29-05016 и 19-05-00668), а также в рамках проекта № 0345-2016-0006 (АААА-А16-116122110063-0) госзадания НИР.

Список литературы

- Балушкина Е. В. Хирономиды как индикаторы степени загрязнения воды // Методы биологического анализа пресных вод. Л. : Наука, 1976. С. 106–108.
- Енущенко И. В. Личинки хирономид (Diptera, Chironomidae) как индикатор климатических изменений в Восточной Сибири // Чтения памяти В. Я. Леванидова. Владивосток : Дальнаука, 2014. Вып. 6. С. 206–210.
- Назарова Л. Б., Брукс С. Д. Хирономиды (Diptera: Chironomidae) в палеоклиматических изменениях // Евраз. энг. журн. 2004. Т. 3. № 4. С. 300–306.
- Рысс И. Г. Химия фтора и его неорганических соединений. М. : Госхимиздат, 1956. 720 с.
- An assessment of Chironomidae as quantitative indicators of past climatic change / I. R. Walker, J. P. Smol, D. R. Engstrom, H. J. B. Birks // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1991. Vol. 48. P. 975–987. <https://doi.org/10.1139/f91-114>
- Brodin Y. W. The postglacial history of Lake Flarken, southern Sweden, interpreted from subfossil insect remains // Int. Rev. Ges. Hydrobiol. 1986. N 71. P. 371–432. <https://doi.org/10.1002/iroh.19860710313>

Brooks S. J. The response of Chironomidae (Insecta: Diptera) assemblages to Late-glacial climatic change in Kråkenes Lake, Western Norway // *Quarter. Proc.* 1997. Vol. 5. P. 49–58.

Brooks S. J., Langdon P. G., Heiri O. The identification and use of Palaeartic Chironomidae larvae in palaeoecology // *Quaternary Research Association Technical Guide* no 10. 2007. 275 p.

Climate changes in East Siberia (Russia) in the Holocene based on diatom, chironomid and pollen records from the sediments of Lake Kotokel / A. P. Fedotov, S. S. Vorobyeva, K. E. Vershinin, I. V. Enushchenko, S. M. Krapivina, K. V. Tarakanova, G. A. Ziborova, D. K. Nurgaliev, P. G. Yassonov, A. S. Borisov // *J. Palaeolimnol.* 2012. Vol. 47. N 4. P. 617–630. <https://doi.org/10.1007/s10933-012-9586-5>

Enushchenko I. V., Melgunov M. S., Fedotov A. P. Reconstruction of summer temperatures in East Siberia (Russia) for the last 850 years, inferred from records in lake sediments of non-biting midges (Diptera: Chironomidae) // *Int. J. Envir. Stud.* 2014. Vol. 71. N 5. P. 647–655. <https://doi.org/10.1080/00207233.2014.945693>

Ferrington L. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta – Diptera) in freshwater // *Hydrobiol.* 2007. N 595. P. 447–455. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9130-1>

Saether O. A. Nearctic chironomids as indicators of lake typology // *Ver. Int. Ver. Theor. Ang. Limnol.* 1975. N 19. P. 3127–3133. <https://doi.org/10.1080/03680770.1974.11896422>

Saether O. A. Chironomid communities as water quality indicators // *Holarctic Ecol.* 1979. Vol. 2. P. 65–74. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1979.tb00683.x>

An Original Modification of Sample Preparation Technique of Lake Sediments for Studying of the Macro-Residues of Chironomid Larvae (Insecta: Diptera)

I. V. Enushchenko

Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Nonbiting midges (chironomids) comprise a globally distributed family of nematoceran flies with complete metamorphosis. They populate aquatic, semiaquatic, and, more rarely, terrestrial habitats and frequently dominate aquatic insect communities in both abundance and species richness. The larval stage is the longest life period (from several weeks to two years); the adults are ephemeral. All this makes chironomid larvae a very valuable object for investigation of ecological and paleoclimatic changes. The nearly six-year experience of work on the separation and investigation fossil remains of chironomid larvae showed that the generally accepted technique of processing samples of lake sediments has a significant drawback. The standard technique for preparation of samples from lake sediments cores for the study of remains of buried chironomid larvae (whole head capsules and mentums) includes treating the sediment with a 10 % KOH solution. After washing the treated samples on sieves, head capsules of chironomid larvae remain poorly washed from both the soil and alkali. It greatly complicates the work with detecting larva remains and their microscopy. The present article describes the original modification of the technique of chemical treatment of lake bottom sediments for the separating and investigation of the remains of non-biting midges larvae for paleoclimatic and paleoecological reconstructions. A distinctive feature of the developed method is that the precipitate is treated with an HF for 24 hours. Acid treatment of samples is carried out to remove the mineral content. It makes the sediment looser, liquid and less sticky. This significantly improves the quality of sample washing on sieves made of two-layer mill gas with a mesh size of 90-100 microns. The new method provides better washing of sediment samples, which contributes to a more complete separation of larva remains. When using the

“alkaline” method, from 2–10 cm³ of wet sediment, about 50–100 (depending on the type of lake and the characteristics of sedimentation) head capsules of chironomid larvae can be selected. In the method we proposed, the standard sample volume was 0.5–2 cm³ of wet sediment. But, the content of the considered head capsules of chironomid larvae in the samples taken for analysis significantly exceeded the average achieved results due to their better washing from sediment. Proposed method is also suitable for treating sediments for palynological analysis. The inventory and the sample preparation algorithm are described and illustrated. Examples of photographic descriptions of the head capsules of larvae of some taxa of chironomids, made with a video eyepiece, are given.

Keywords: Paleolimnology, palinology, chemical treatment, lake sediments.

For citation: Enushchenko I.V. An Original Modification of Sample Preparation Technique of Lake Sediments for Studying of the Macro-Residues of Chironomid Larvae (Insecta: Diptera). *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2020, vol. 31, pp. 66-75. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.66> (in Russian)

References

Balushkina E.V. Khironomidy kak indikator stepeni zagryazneniya vody [Chironomids as indicators of water pollution]. *Metody biologicheskogo analiza presnykh vod* [Methods of biological analysis of fresh water]. St.-Petersb., Nauka Publ., 1976, pp. 106-108. (in Russian)

Enushchenko I.V. Lichinki khironomid (Diptera, Chironomidae) kak indikator klimaticheskikh izmenenii v Vostochoi Sibiri [Non-biting midges (Diptera, Chironomidae) as indicator of climate changes on the East Siberia]. *Chteniya pamyati V.Ya. Levanidova* [Vladimir Ya. Levanidov's Biennial Memorial Meetings]. Vladivostok, Dalnauka Publ., 2014, vol. 6, pp. 206-210. (in Russian)

Nazarova L.B., Brooks S.J. Khironomidy (Diptera: Chironomidae) v paleoklimaticheskikh izmeneniyakh [Chironomids (Diptera: Chironomidae) in paleoclimatic changes]. *Evraziatskii Entomologicheskii Zhurnal* [Eurasian Entomological Journal]. 2004, vol. 3, no. 4, no. 300-306. (in Russian)

Ryss I.G. Khimiya ftora I ego neorganicheskikh soedinenii [Chemistry of the ftor and its non-organic compounds]. Moscow : Goskhinzdat Publ., 1956. 720 p. (in Russian)

Walker I.R., Smol J.P., Engstrom D.R., Birks H.J.B. An assessment of Chironomidae as quantative indicators of past climatic change. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1991, vol. 48, pp. 975-987. <https://doi.org/10.1139/t91-114>

Brodin Y.W. The postglacial history of Lake Flarken, southern Sweden, interpreted from subfossil insect remains. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.*, 1986, no. 71, pp. 371-432. <https://doi.org/10.1002/iroh.19860710313>

Brooks S.J. The response of Chironomidae (Insecta: Diptera) assemblages to Late-glacial climatic change in Kråkenes Lake, Western Norway. *Quarter. Proc.*, 1997, vol. 5, pp. 49-58.

Brooks S.J., Langdon P.G., Heiri O. The identification and use of Palaeartic Chironomidae larvae in palaeoecology. *Quaternary Research Association Technical Guide no 10*. 2007. 275 p.

Fedotov A.P., Vorobyeva S.S., Vershinin K.E., Enushchenko I.V., Krapivina S.M., Tarakanova K.V., Ziborova G.A., Nurgaliev D.K., Yassonov P.G., Borisov A.S. Climate changes in East Siberia (Russia) in the Holocene based on diatom, chironomid and pollen records from the sediments of Lake Kotokel. *J. Palaeolimnol.*, 2012, vol. 47, no. 4, pp. 617-630. <https://doi.org/10.1007/s10933-012-9586-5>

Enushchenko I.V., Melgunov M.S., Fedotov A.P. Reconstruction of summer temperatures in East Siberia (Russia) for the last 850 years, inferred from records in lake sediments of non-biting midges (Diptera: Chironomidae). *Int. J. Envir. Stud.*, 2014, vol. 71, no. 5, pp. 647-655. <https://doi.org/10.1080/00207233.2014.945693>

Ferrington L. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta – Diptera) in freshwater. *Hydrobiol.*, 2007, no. 595, pp. 447-455. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9130-1>

Saether O.A. Nearctic chironomids as indicators of lake typology. *Ver. Int. Ver. Theor. Ang. Limnol.*, 1975, no. 19, pp. 3127-3133. <https://doi.org/10.1080/03680770.1974.11896422>

Saether O.A. Chironomid communities as water quality indicators. *Holarctic Ecol.*, 1979, vol. 2, pp. 65-74. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1979.tb00683.x>

Енущенко Илья Валерьевич
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, г. Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
e-mail: deschampsia@yandex.ru

Enushchenko Ilya Valeryevich
Candidate of Science (Biology),
Senior Research Scientist
Limnological Institute SB RAS
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
e-mail: deschampsia@yandex.ru