

## **ОСОБЛИВОСТІ КАРІОТИПІВ ПЕРЛІВНИЦЕВИХ (MOLLUSCA, BIVALVIA, UNIONIDAE) ФАУНИ УКРАЇНИ**

*Здійснено порівняльно-каріологічний аналіз молюсків родини Unionidae фауни України. Показано диференціюючу та інтегруючу роль каріотипу в систематиці перлівницевих. Відзначено явища анеуплодії та поліплоїдизації окремих клітин у тканинах зябер та гонад багатьох українських популяцій.*

**Вступ.** Молюски родини перлівницевих (Unionidae) відіграють велику роль у прісноводних екосистемах, в яких вони становлять значну частину біомаси бентосу. Важливим є значення цих гідробіонтів і як індикаторів рівня забруднення водного середовища різними поллютантами та радіонуклідами. Крім того, перлівниці є проміжними хазяями багатьох видів трематод, марити яких паразитують у амфібій, рептилій, риб, птахів, ссавців, а деякі з них – і у людини.

Незважаючи на постійний інтерес дослідників до цієї групи тварин, на сьогоднішній день не існує єдиної точки зору на її систематику, тому ця проблема вимагає всебічних досліджень і пошуку нових таксономічних критеріїв. У систематиці перлівницевих звичайно користуються порівняльно-морфологічним методом, в основі якого лежить виявлення особливостей їх черепашки. Мінливість конхіологічних ознак і порівняно однотипова внутрішня організація цих молюсків призвели до протиріч між різними таксономічними системами Unionidae, в основу яких покладено здебільшого конхіологічні та лише деякі (дуже нечисленні) анатомічні ознаки. Зокрема, Я. І. Старобогатовим [1] було запропоновано систему перлівницевих, в основу якої, окрім морфологічних ознак черепашок, було покладено особливості кривизни фронтального перерізу їх стулок. Згідно цієї системи, у водоймах України зустрічається 21 вид Unionidae, що належать до п'яти родів, об'єднаних трьома підродинами (Unioninae, Pseudanodontinae, Anodontinae) [1;2]. Однак більшість європейських дослідників дотримується інших поглядів на класифікацію Unionidae, відмічаючи для Східної Європи (в тому числі і для України) по три види родів Unio та Anodonta, іноді виділяючи *A.complanata* в окремий рід *Pseudanodonta* [3; 4; 5 та ін].

Вже протягом кількох десятиліть для вирішення деяких проблем систематики при дослідженні еволюційних процесів, механізмів видоутворення та гібридизації між окремими формами, спеціалісти дедалі частіше використовують біохімічні та цитогенетичні методи дослідження. Серед багатьох параметрів часто саме каріотип може дати прямі вказівки на репродуктивну ізоляцію груп, допомогти при вивченні біології розмноження та еволюції хромосом. Однак більшість робіт з цього напрямку присвячено цитогенетиці морських промислових *Bivalvia*, прісноводні двостулкові молюски вивчені каріологами недостатньо. Хромосомні набори перлівницевих описані лише для п'яти європейських видів [6;7;8]. Каріологічного дослідження Unionidae фауни України не проводилось до теперішнього часу взагалі.

**Матеріал і методика.** Матеріалом дослідження послужили власні збори та збори, здійснені студентами Житомирського педагогічного університету за період 1996-2000 рр. із басейнів Прип'яті, Середнього Дніпра (ліві та праві його притоки), Сіверського Дінця, верхнього Дністра, Західного Бугу, Сану, Південного Бугу. Загалом зібрано і обстежено близько 2,5 тис. екз. перлівницевих з 34 пунктів збору, розміщених на теренах семи її областей (Житомирської, Рівненської, Львівської, Харківської, Полтавської, Київської, Вінницької). Придатними для каріологічного аналізу виявились 264 екз. перлівницевих, що відносяться (згідно прийнятої на Україні класифікації [1:2]) до 16 видів п'яти родів: *Batavusiana* (4), *Unio* (5), *Pseudanodonta* (2), *Anodonta* (3), *Colletopterum* (2).

Для дослідження каріотипів молюсків використано загальноприйнятий повітряно-сухий метод розкапування з попереднім колхцинуванням [9], дещо модифікований нами [10]. Тваринам вводили шляхом ін'єкції у м'язи ноги 0,02-0,05%-ний розчин колхцину, після чого на 17-20 год залишали їх у водоймі (в садках). Для вивчення хромосомних наборів взято зразки з тканин зябер та гонад. Було описано не менше 100 метафазних пластинок від кожного виду з різних точок ареалу. В кожній описаній метафазній клітині визначено число хромосом та їх форму, наявність хромосомних аберацій, описано число бівалентів на стадії діакінезу мейозу. Фотознімки здійснено за допомогою мікроскопу "Биолам Л.-212" на плівки "Мікрат-300" та "Мікрат-Н". Плечі хромосом виміряно на фотографіях кронциркулем з точністю до десятих долей міліметра. Лінійні параметри хромосомних наборів оброблено методами варіаційної статистики (Microsoft Excel 97). Для проведення порівняльно-каріологічного аналізу родини використано комп'ютерний пакет програм NCSS 2000 для Win9xNT, застосовано лінійний дискримінантний (ANOVA, Bonferroni test) та ієрархічний кластерний аналізи.

**Результати та обговорення.** Хромосомні набори родини перлівницевих відзначаються консервативністю. В них сталі числа хромосом гаплоїдного і диплоїдного наборів та однакове число хромосомних плечей ( $n=19$ ,  $2n=38$ ,  $NF=76$ ). Види перлівницевих, каріологічно досліджені нами і описані іншими авторами, мають подібну структуру каріотипу. Всі хромосоми належать до макрохромосом, переважаючий морфологічний тип – мета- і субметацентричний (m, m-sm, sm) (табл.1). Кількість різко нерівноплечих хромосом (sm-st, st) у каріотипах перлівницевих, як правило, одна-дві пари. Лише представники роду *Colletopterum* та *Batavusiana* мають їх 3-4 пари. Співвідношення різних морфологічних типів хромосом у наборах різних видів варіює (табл. 1).

Основні параметри каріотипів родини Unionidae фауни України

Класифікація	1.1. Хромосомна формула	NF	TCL, мкм	L <sub>1</sub> /L <sub>2</sub>
Підродина Unioninae Rafinesque, 1820				
<i>B.nana</i>	2n=14m+6m-sm+12sm+6st-sm=38	76	90,82±2,43	1,26±0,09
<i>B.fuscula</i>	2n=18m+4m-sm+14sm+2st=38	76	96,54±1,21	1,22±0,03
<i>B.musiva</i>	2n=20m+10m-sm+4sm+2sm-st+2st=38	76	93,14±2,15	1,26±0,08
<i>B.irenjensis</i>	2n=14m+2m-sm+18sm+4sm-st=38	76	97,74±2,46	1,25±0,06
<i>U.tumidus</i>	2n=20m+16sm+2st=38	76	100,43±3,24	1,24±0,12
<i>U.conus</i>	2n=18m+6m-sm+10sm+4sm-st=38	76	99,75±4,74	1,25±0,09
<i>U.pictorum</i>	2n=18m+8m-sm+8sm+4sm-st=38	76	101,98±4,29	1,42±0,11
<i>U.rostratus</i>	2n=20m+2m-sm+12sm+4sm-st=38	76	101,89±3,77	1,31±0,07
<i>U.limosus</i>	2n=16m+4m-sm+14sm+4st=38	76	104,09±4,87	1,24±0,01
Підродина Pseudanodontinae Jaekel, 1962				
<i>P.complanata</i>	2n=24m+10sm+4sm-st=38	76	90,52±2,18	1,06±0,04
<i>P.sp</i>	2n=28m+10sm=38	76	96,03±1,26	1,07±0,01
Підродина Anodontinae Rafinesque, 1820				
<i>A.zellensis</i>	2n=18m+18sm+2sm-st=38	76	103,52±2,49	1,11±0,04
<i>A.cygnea</i>	2n=18m+18sm+2sm-st=38	76	99,19±4,39	1,04±0,04
<i>A.stagnalis</i>	2n=24m+12sm+2st-sm=38	76	104,83±2,92	1,08±0,09
<i>C.ponderosum</i>	2n=20m+10sm+8st-sm=38	76	92,25±4,29	1,16±0,08
<i>C.piscinale</i>	2n=20m+12sm+6st-sm=38	76	97,63±4,02	1,23±0,09

Примітка. NF – основне число, TCL – загальна довжина диплоїдного набору, L<sub>1</sub>/L<sub>2</sub> – співвідношення довжин 1 і 2-ї пар хромосом, m – метацентричні хромосоми, sm – субметацентричні хромосоми, st – субтелоцентричні хромосоми (за класифікацією Левана зі співавторами [11]).

У каріотипах молюсків литовської популяції *Crassiana crassa* [8] та *B.nana*, *U.rostratus* і окремих екземплярів *U.pictorum*, досліджених нами, присутня пара хромосом середнього розміру (11-12-та), яка має супутники. Можемо передбачити при подальшому дослідженні наявність сателітів у хромосомних наборах інших *Batavusiana* та *U.limosus* (каріологічний матеріал був невеликого обсягу).

У каріотипах усіх Unionidae добре ідентифікується за розмірами перша пара метацентриків, абсолютна довжина якої лежить в межах 3, 22-4,89 мкм і становить 6,75-9,38% загальної довжини геному у різних видів. За співвідношенням її з наступною парою хромосом (L<sub>1</sub>/L<sub>2</sub>) можна виділити три групи перлівницевих: найбільше значення цього параметру у представників родів *Batavusiana* і *Unio*; найменше, характерне для *Anodonta* і *Pseudanodonta*; проміжне – для молюсків роду *Colletopterum* (табл.1). Розміри решти хромосом зменшуються поступово. Загальна довжина диплоїдного набору (TCL) для родини становить близько 100 мкм, достовірних відмінностей між видами за цим параметром не виявлено.

Отримані принципово нові результати щодо структури каріотипів перлівницевих різних видів та окремих популяцій оброблено методом ієрархічного кластерного аналізу. Для цього використано ознаки, за якими виявлено достовірну різницю в каріотипах різних представників родини, згідно ANOVA (комплексний тест Бонфероні), а саме: співвідношення довжини першої та другої пар хромосом; наявність супутників та вторинних перетяжок у хромосом; центромерний індекс кожної хромосомної пари. Дендрограму, яка показує дистанцію між видами та ступінь їх подібності за каріологічним критерієм, представлено на рис. 1.

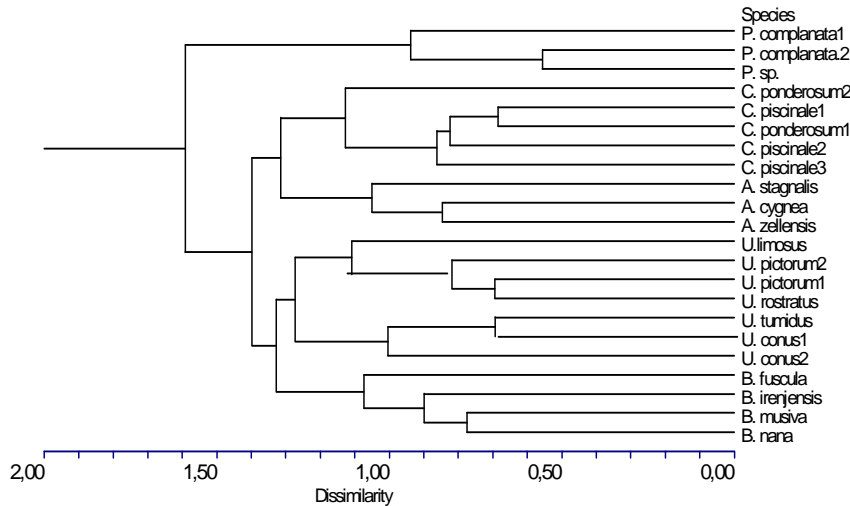


Рис.1. Дендрограма подібності видів перлівницевих за каріологічними ознаками (лінійка показує відстань між видами).

Для родини перлівницевих характеристики каріотипу можуть використовуватись для диференціації форм видового рангу лише в окремих випадках. Виявилось, що із 16 досліджених видів перлівницевих на даному етапі не можливо каріологічно розмежувати пари *U.rostratus* і *U.pictorum*, *B.nana* і *B.musiva*, *U.tumidus* і *U.conus*, *A.cygnea* і *A.zellensis*, *C.piscinale* і *C.ponderosum*. Крім того, всі форми *Pseudanodonta* з польського регіону не різняться каріологічно між собою, а зі східною формою *P. complanata* їх розділяє значна дистанція. Слід зазначити, що відстань між групою *Tumidusiana* та *Unio* є досить великою і значно перевищує дистанції між окремими видами.

У родині перлівницевих каріотип може успішно використовуватись не лише як диференціююча, але і як інтегруюча ознака. Зокрема, за результатами кластерного ієрархічного аналізу, які представлені на рис. 1, серед уніонід за каріологічним критерієм чітко виділяються три групи. В кластер 1 потрапили всі види *Pseudanodonta*, а кластер 2 одразу поділяється на дві гілки: *Unio* – *Batavusiana* та *Anodonta*- *Colletopterum*. Якщо провести паралель з існуючими системами перлівницевих, то отримані групи відповідають підродинам, згідно з поглядами колишньої радянської малакологічної школи [1;2]. За європейською таксономічною системою уніонід [3;4;5 та ін.], отримані три групи відповідають родовому рівню. Виняток становить група *Pseudanodonta*, родовий статус якої не завжди є визнаним. Для кластеру 2, як вже зазначалось, характерні групи *Anodonta*, *Colletopterum*, *Unio* та *Batavusiana*, дистанції між якими можуть відповідати родовому рівню або видам *A.anatina*, *A.cygnea*, *U.crassus* і групі *Unio* у їх широкому розумінні [3;4;5 та ін.]. Якщо провести паралель з європейською системою, в якій група *Unio* поділяється на види *U.crassus*, *U.tumidus*, *U.pictorum*, то можна відмітити нерівнозначність відстаней між даними трьома гілками, що свідчить на користь родового статусу *Batavusiana*.

Отже, згідно каріологічного критерію, дистанції між таксонами родини *Unionidae* виглядають таким чином:

1. Група *Pseudanodonta* добре виділяється серед інших перлівницевих на рівні, не меншій за дистанції між підродинами *Unioninae* та *Anodontinae*;
2. Група *Batavusiana* відособлена від *Tumidusiana* та *Unio s.str.*
3. Групи *Anodonta* та *Colletopterum* мають рівний ранг.
4. В межах *Unio* можна виділити дві групи, що відповідають підродовому рівню, а для *Colletopterum* таких угрупувань не виявлено.

Щодо вирішення проблеми кількості видів *Unionidae*, лише каріологічного критерію недостатньо, оскільки хромосомна та морфологічна еволюція часто проходять з різною швидкістю, неузгоджено. Ми можемо лише констатувати той факт, що за структурою каріотипів можна виділити з достатньою впевненістю один вид роду *Colletopterum*, два з існуючого роду *Anodonta*, один – із *Pseudanodonta*, три – *Unio* та два (три?) представники *Batavusiana*.

Отже, каріотип як таксономічна ознака в систематиці перлівницевих сприяє диференціації на рівні деяких видів та інтеграції на рівні надвидових угрупувань. Виявлені особливості хромосомних наборів перлівницевих свідчать про можливість використання каріотипу як додаткової таксономічної ознаки в їх систематиці. Вважаємо доцільним поєднання каріологічного методу з конхіологічним, анатомічним, біохімічним для вирішення спірних питань класифікації цієї групи тварин.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Старобогатов Я.И. Класс двустворчатые моллюски. // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. — С. 123-152.
2. Стадниченко А.П. Перлівничеві. Кулькові. // Фауна України. Т. 29. – Вип. 9. – К.: Наук.думка, 1984. – 384с.

3. Haas F. Superfamilia Unionacea. – Berlin: Gruyter, 1969. – 663 s.
4. Nagel K. O. Anatomische, morphologische und biochemische Untersuchungen zur Taxonomie und Systematik der europäischen Unionacea (Mollusca: Bivalvia) // Ph. D. thesis, University of Kassel. – 1988. – 100p.
5. Piechocki A., Dyduch-Falniowska A. Mikczaki. Maięce. – Warszawa: Wyd. Naukowa PWN, 1993. – 204s.
6. Griethuysen G.A, Kiatu B., Butot L.J. M. Chromosomes of *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) and *Unio pictorum* (L., 1758) (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) // *Basteria*. – 1969. – Vol. 33. – № 1-4. – P. 51-56.
7. Vitturi R., Rasotto M.B., Farinella-Ferruzza N. The chromosomes of 16 molluscan species // *Boll. Zool.* – 14c.
8. Баршене Я., Петкявичюте Р. Цитогенетические особенности унионид, обитающих в водоеме-охладителе Литовской ГРЭС // *Acta hydrobiologia Lituania*. – 1988. – 7. – С. 11-24.
9. Ford R., Hamerton J. L. A colchicines hipotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes // *Stain Technology*. – 1956. – Vol.31. – № 6. – P. 247-251.
10. Мельниченко Р.К. Сравнительно-кариологический анализ двух видов рода *Unio* (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) // *Вест. зоол.* – 2000. – №1-2. – С. 85-88.
11. Levan A., Fredga K., Sandberg A. Nomenclature for centromeric position of chromosomes // *Hereditas*, 1964. – Vol. 52. – P. 201-220.

Матеріал надійшов до редакції 9.07.01.

***Мельниченко Р. К. Особенности кариотипов перловицевых (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) фауны Украины.***

*Сделан сравнительно-кариологический анализ моллюсков семейства Unionidae фауны Украины. Показана дифференцирующая и интегрирующая роль кариотипа в систематике перловицевых. Отмечены явления анеуплоидии и полиплоидизации отдельных клеток в тканях жаббер и гонад многих украинских популяций.*

***Melnichenko R. K. The peculiarities of karyotypes Unionidae (Mollusca, Bivalvia) of Ukrainian fauna.***

*The article contains the comparative karyological analysis of the mussels of the Unionidae family. The differential and integral significance of karyotype in systematics of Unionidae is determined. The author notes the aneuploidy and polyploidy of some cells in the tissues of gills and gonads in many Ukrainian populations.*