

УДК 594.32:575.1

## О ВИДОВОМ СОСТАВЕ МОЛЛЮСКОВ РОДА *THEODOXUS* (GASTROPODA, NERITIDAE) БАСЕЙНА НИЖНЕГО ДУНАЯ: РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ ПУТЕМ АНАЛИЗА АЛЛОЗИМОВ

Е.И. Жалай<sup>1</sup>, С.В. Межжерин<sup>1</sup>, Ю.В. Шубрат<sup>2</sup>, А.В. Гарбар<sup>2</sup>

**Про видовий склад молюсків роду *Theodoxus* (Gastropoda, Neritidae) басейну Нижнього Дунаю: рішення проблеми шляхом аналізу алозимів.** – О.І. Жалай<sup>1</sup>, С.В. Межжерин<sup>1</sup>, Ю.В. Шубрат<sup>2</sup>, О.В. Гарбар<sup>2</sup>. – У результаті аналізу алозимної та морфологічної мінливості молюсків басейну Нижнього Дунаю встановлено наявність практично рівночисельних, співіснуючих та репродуктивно ізольованих видів: *Theodoxus fluviatilis* та *T. danubialis*, які характеризуються фіксаціями альтернативних алелів по трьох локусах з п'яти досліджених. Причому питання присутності останнього у фауни України до останнього часу лишалося дискусійним. Види чітко діагностуються по малюнку черепашки та формі кришечки та на 98,5% дискримінують по комплексу конхіологічних ознак.

**Ключові слова:** систематика, *Theodoxus fluviatilis*, *Theodoxus danubialis*, алозимна мінливість, морфометрія, Нижній Дунай.

**Адреса:** <sup>1</sup>Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, 01601, Київ, вул. Б. Хмельницького 15, e-mail: mezh@izan.kiev.ua

<sup>2</sup>Житомирський державний університет ім. Івана Франка, 10002, вул. Б. Бердичівська, 40, Житомир, Україна

**On species composition of aquatic snail *Theodoxus* genus (Gastropoda, Neritidae) in the lower Danube: solution of the problem with allozymes analysis.** – E. I. Zhalay<sup>1</sup>, S. V. Mezherin<sup>1</sup>, Y. V. Shubrat<sup>2</sup>, A. V. Garbar<sup>2</sup>. – The analysis of allozyme and morphological variability of snails in the basin of the lower Danube established two equinumerical, simbiyopical and reproductive isolated species: *Theodoxus fluviatilis* and *T. danubialis* which are characterized with alternative alleles fixation in three loci out of five investigated. The presence of the latter in the fauna of Ukraine was debatable until recently. The species are clearly diagnosed according to the shell pattern and operculum form and are discriminated by 98,5% on conchological characters complex.

**Key words:** systematics, *Theodoxus fluviatilis*, *Theodoxus danubialis*, allozyme variation, morphometry, the Lower Danube.

**Address:** <sup>1</sup>The I.I. Schmalhausen Institute of Zoology of National Academy of Sciences of Ukraine; 15 Bogdan Khmelnytskyi Street, Kyiv, 01601, Ukraine; e-mail: mezh@izan.kiev.ua

<sup>2</sup>Zhytomyr State University named after Ivan Franko; Zhytomyr, 10008, vul. V. Berdychivska, 40.

Систематика брюхоногих моллюсков-лунок, представляющих самостоятельный род *Theodoxus*, явилась камнем преткновения для многих поколений малакологов. Причиной неопределенности стала необычайная изменчивость окраски раковины, имеющая четко выраженный дискретный характер. В настоящее время только в пределах Украины описано множество морф, которым систематики типологической школы склонны придавать ранг отдельных видов. Вместе с тем исследования морфогенетиков, проведенные еще в 50-х гг. прошлого столетия, (Neumann, 1959 a, b), показали что многие случаи изменчивости окраски этих моллюсков — ни что иное, как полиморфизм, вызванный модификациями действия генов условиями среды (соленостью воды, температурой и т. д.). В частности, переход с секторальной на поперечнополосатую окраску или вообще на пятнистую вызван альтернативными состояниями нескольких генов, действие которых модифицируется разнообразными факторами. Поэтому особи одного и того же вида, обитающие в речной

или солоноватой воде, с низким или высоким значением pH или просто в разных температурных условиях могут отличаться по окраске в степени не меньшей, чем «хорошие» виды.

Несомненная политипия рода, с одной стороны, и обширный внутривидовой полиморфизм, маскирующий межвидовые различия, с другой, привели к тому, что базируясь исключительно на особенностях окраски раковины, даже дополненных некоторыми пропорциями раковины или крышечки, оказалось невозможным проведение четкой границы между видами лунок, что и привело к противоречивым взглядам на систематику этой группы. В результате видовой состав, приводимый для фауны Украины, постоянно менялся. В.И. Жадин (1937, 1952) указывает для водоемов Украины в ее современных государственных границах четыре вида *T. danubialis*, *T. fluviatilis*, *T. pallasi* и *T. transversalis*. А.Л. Путь (1972) к этому добавляет еще один описанный им вид *T. dnistroviensis*. Я.И. Старобагатов (1970) приводит для Украины три вида: *T. danubialis*, *T. fluviatilis*, а

также ранее никем не упоминавшийся *T. prevostianus*. В конце 90-х гг. XX столетия сторонниками узкой концепции (Анистратенко О. Ю. и др., 1999; Анистратенко В. В., Анистратенко О.Ю., 2000) проведена ревизия фауны Украины, в результате которой дан список из семи видов, среди которых отсутствуют *T. danubialis*. В последнем определителе (Определитель..., 2004) российские коллеги поддержали именно эту концепцию. Вместе с тем западноевропейские исследователи (Glöer, 2002), традиционно придерживающиеся широкой концепции вида, для бассейнов рек Украины указывают только три вида *T. danubialis*, *T. fluviatilis* и *T. transversalis*.

Сведения по видовому составу лунок, обитающих в Низовьях Дуная особенно противоречивы. Так, В.И. Жадиным (1952) для этого региона приводится все четыре предполагавшиеся им вида украинской фауны *T. danubialis*, *T. fluviatilis*, *T. transversalis* и *T. pallasii*. Ю.М. Марковский (1955) подтверждает эту точку зрения. Л.Н. Зимбалевской (1969) упоминался только *T. fluviatilis*. В.И. Полищуком (1974) выявлено три вида из тех, что указывал В.И. Жадин, кроме *T. pallasii*. Та же триада приводится в аналитическом обзоре А.В. Корношина и А.В. Ляшенко (2004). Тогда как в сводке по биоразнообразию Дунайского биосферного заповедника (Біорізноманітність..., 1999) даются только два вида: речная (*T. fluviatilis*) и дунайская (*T. danubialis*) лунки. В. В. Анистратенко и О. Ю. Анистратенко (2001) указывают для региона *T. fluviatilis* и *T. velox*. Филогеографические исследования, проведенные с помощью анализа полиморфизма мтДНК (Bunje, 2005, 2007), показали, что на Нижнем Дунае присутствует только один вид *T. fluviatilis*, а лунку *T. velox*, выделенную в качестве вида (О. Ю. Анистратенко и др., 1999) автор этого исследования посчитал конспецифичной *T. fluviatilis*. Таким образом, сколько было исследователей Нижнего Дуная, практически столько же было точек зрения о видовом составе этого ро-

да. В результате число предполагаемых видов в этом важном зоогеографическом регионе по разным данным менялось от одного до четырех. Именно эти противоречия заставили с особым вниманием отнестись к лункам нижедунайского бассейна и провести целенаправленное их исследование, базирующееся на биохимическом геномном маркировании.

#### Материал и методы

Основой исследования послужили несколько серии моллюсков, собранные летом и осенью 2007 г. в бассейне Дуная в пределах г. Вилково (в русле и ериках).

Измерение раковины проводили с помощью штангенциркуля с точностью до 0,1 мм по следующим параметрам: высота (ShH – shell height) и ширина (ShW – shell width) раковины, высота (AH – aperture height) и ширина (AW – aperture width) устья, длина раковины (ShL – shell length), ширина колумелярного отверстия (CIW – columellar lip width), ширина 1-го оборота раковины (Wh1W – whorl-1 width), ширина 2-го оборота раковины (Wh2W – whorl-2 width). Измеряли также ширину пояса крышечки (HBW – horny «belt» width) и ширину её известковой части (CPW – calcareous plate width). По этим параметрам рассчитывали индексы раковины и крышечки. Кроме того описывали характер рисунка и цвет раковины, цвет и форму отдельных частей крышечки.

Методом электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле в водных экстрактах тела исследована аллозимная изменчивость следующих ферментов: аспаратаминотрансферазы, малатдегидрогеназы и неспецифической эстеразы, кодируемой локусами *Aat*, *Mdh*, *Es-1*, *Es-2*, *Es-3* соответственно.

#### Результаты и их обсуждение

**Аллозимный анализ.** Позволил разделить лунки на две генетических группы, четко отличающиеся фиксациями альтернативных аллелей по трем локусам из пяти исследованных (табл. 1).

Таблица 1. Аллозимная изменчивость двух видов моллюсков рода *Theodoxus* Нижнего Дуная

Локус	Аллель	Виды	
		1 ( <i>T. fluviatilis</i> )	2 ( <i>T. danubialis</i> )
<i>Aat-1</i>	90		1,0
	100	1,0	
<i>Es-3</i>	100	1,0	
	110		1,0
<i>Es-2</i>	100	1,0	
	110		1,0

Локусы *Mdh-1* и *Es-1* инвариантны.

Отсутствие гибридных гетерозигот и достаточно высокая пропорция диагностических локусов являются свидетельством того, что здесь встречаются два репродуктивно изолированных и генетически весьма удаленных вида. Первый представлен выборкой из 40 экземпляров, характеризующихся фиксациями аллелей *Aat-1*<sup>100</sup>, *Es-2*<sup>100</sup>, *Es-3*<sup>100</sup>, а второй – 25 экз., имевшими альтернативные аллели по соответствующим локусам. Причем особи этих двух видов обнаружены как в русле, так и в ериках в стабильных пропорциях.

**Морфологический анализ.** Окраска раковины. Исследуемые лунки по этому признаку четко

делятся на две группы. Первая характеризуется рисунком раковины, представляющим собой густую сетку из темных линий (рис. 1.). Все особи этой морфологической серии имели генные маркеры, отвечающие первому виду. Для особей второй группы свойственен иной тип узора: коричневые зигзагообразные поперечные полосы по всей раковине (рис. 1) и соответственно набор альтернативных аллелей. Судя по разработанным для лунок диагнозам, базирующихся именно на окраске раковины (Жадин, 1953; Glöer, 2002), первая группа моллюсков относится к *T. fluviatilis* (= *velox*), тогда как моллюски с зигзагообразными

поперечными полосами — к *T. danubialis*. Любопытно, что в данном случае не обнаружено какого-либо внутривидового полиморфизма.

**Морфометрия раковины.** По отдельным признакам (абсолютным значениям или индексам) невозможно отличить *T. danubialis* и *T. fluviatilis*, поскольку, несмотря на высоко достоверные различия, ряда признаков их значения на индивиду-

альном уровне трансgressируют (табл. 2). При этом *T. fluviatilis* характеризуется большими показателями всех абсолютных параметров по сравнению с *T. danubialis*. Однако, использование дискриминантного анализа всего комплекса конхиологических признаков, показывает достаточно высокий уровень дискриминации этих двух видов на уровне выше 98% (табл. 3).

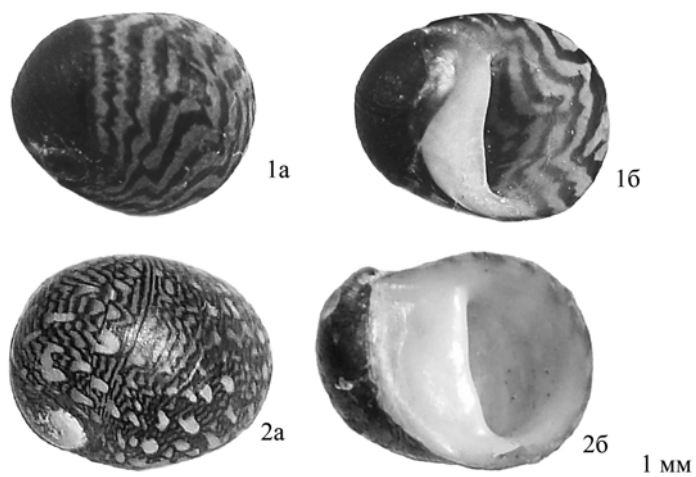


Рис. 1. Раковины моллюсков: 1 – *T. danubialis*, 2 – *T. fluviatilis* (а – вид сверху, б – вид снизу).

Таблица 2. Средние значения (М) и стандартные ошибки (m), а также результаты дисперсионного анализа (F, p) двух видов *Theodoxus*

Параметры	<i>Th. danubialis</i> (n = 25)		<i>Th. fluviatilis</i> (n = 40)		F	P
	М	m	М	m		
ShH	4,36	0,17	4,65	0,09	2,81	0,10
ShW	5,85	0,29	6,66	0,15	7,29	0,01*
ShL	3,20	0,15	3,10	0,10	0,40	0,53
AH	3,18	0,19	3,18	0,09	0,00	0,99
CIW	1,59	0,10	1,99	0,06	12,41	0,001*
AW	2,72	0,13	3,13	0,07	10,07	0,01*
Wh1W	0,84	0,05	0,85	0,02	0,04	0,84
Wh2W	1,97	0,11	1,93	0,05	0,15	0,70
ShH/ShW	0,76	0,02	0,70	0,01	9,14	0,01*
AH/AW	1,17	0,03	1,02	0,02	15,29	0,001*
ShW/CW	3,75	0,11	3,39	0,05	11,03	0,01*
Wh1W/Wh2W	0,44	0,03	0,45	0,01	0,01	0,92
AW/ShW	0,47	0,01	0,47	0,01	0,24	0,63
HBW	0,40	0,01	0,73	0,01	238,37	0,0001*
CPW	2,24	0,07	1,79	0,03	47,20	0,0001*
CPW/HBW	5,78	0,23	2,49	0,06	267,33	0,0001*

\* — различия достоверны с соответствующей вероятностью

Таблица 3. Надёжность дискриминации видов рода *Theodoxus* по совокупности промеров раковины

Виды	%	<i>Th. danubialis</i>	<i>Th. fluviatilis</i>
<i>Th. danubialis</i>	100	25	0
<i>Th. fluviatilis</i>	97,5	1	39
В целом	98,5	26	39

**Форма крышечки.** Четкие различия видов также наблюдаются и по форме известковой части крышечки и окраске пояска. Так, у *T. danubialis* известковая часть более округлая, поясок прозрачный светло-серый, тогда как у *T. fluviatilis* известковая часть продолговатой формы с оранжевым пояском. Кроме того, и по использованным морфометрическим показателям крышечки разные виды достоверно отличаются (табл. 2). При этом у первого вида конхиолиновый поясок практически

в два раза уже, чем у второго и соответственно размер известковой части у него явно больше. Использование индекса, отражающего ширину пояска, показывает, что по этому признаку два вида имеют четкий хиатус (рис. 2) и этот признак может использоваться в качестве диагностического. Так, максимальные значения индекса CPW/HBW у *T. fluviatilis* доходят до 3,2 тогда как минимальные у *T. danubialis* не опускаются ниже 4,0.

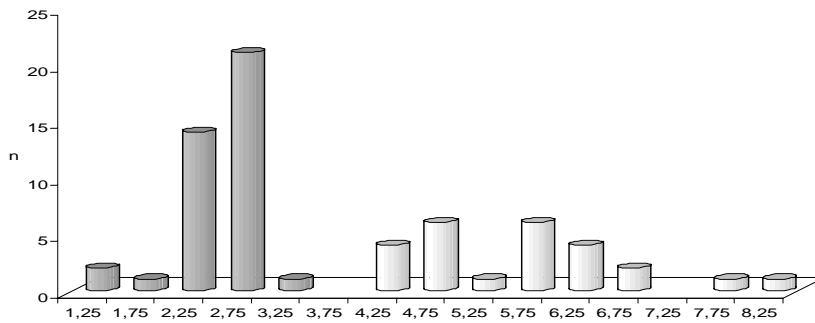


Рис. 2. Распределение значений индекса CPW/HBW у особей *T. fluviatilis* (темно серые столбики) и *T. danubialis* (светлые)

### Вывод

Таким образом, полученные результаты дают основание не только для констатации наличия в бассейне Нижнего Дуная двух лунок: речной *T. fluviatilis*, распространенной по большей части водоемов Украины, и дунайской *T. danubialis* –

эндемика бассейна Дуная, ареал которой, как выяснилось, доходит и до Нижнего Дуная, но и признания последней реальным видом малакофауны Украины, что в последнее время отвергается некоторыми специалистами.

1. Анистратенко О.Ю., Старобогатов Я.И., Анистратенко В.В. Моллюски рода *Theodoxus* (Gastropoda, Pectinibranchia, Neritidae) Азово-Черноморского бассейна // Вестник зоол. – 1999. – Т.33, №3. – С. 11-19.
2. Анистратенко В.В., Анистратенко О.Ю. Класс Панцирные или Хитоны, класс Брюхоногие – Cyclobranchia, Scutibranchia и Pectinibranchia (часть). Фауна Украины Т.29. Моллюски, вып. 1. Книга 1, 2001. – 240 с.
3. Біорізноманітність Дунайського біосферного заповідника, збереження та управління. / Під ред. Ю.П. Шеляг-Сосонко. – Київ: Наукова Думка, - 1999. – 696 с.
4. Жадин В.И. Пресноводные моллюски СССР. – Л., 1933. – 232 с.
5. Жадин В.И. Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. – М.-Л.: Изд.-во АН СССР, 1952. – 376 с.
6. Зимбалевская Л.Н. Распределение беспозвоночных в зарослях высшей водной растительности Килийской дельты // Лимнологические исследования Дуная. – Киев: Наукова Думка. – 1969. – С. 337-345.
7. Корнюшин А.В., Ляшенко А.В. Малакофауна низовий Дуная в пределах Украины // Гидроб. ж. – 2004. – 40, №1. – С. 3-20.
8. Марковский Ю.М. Фауна беспозвоночных низовьев рек Украины, условия ее существования и пути использования. Ч. III. Водоёмы Килийской дельты Дуная. – Киев: Изд.-во АН УССР. – 1955. – 280 с.
9. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Т.6. Моллюски, полихеты, немерти- ны. /под ред. С.Я. Цалолихина. – Санкт-Петербург: Наука. – 2004. – 526 с.
10. Полищук В.В. Гидрофауна пониззя Дунаю в межах України. – Київ: Наукова Думка. – 1974. – 420 с.
11. Путь А.Л. До вивчення лункових (Neritidae) України // Доповіді АН УРСР. – сер. Б. – № 1. – С.78-83.
12. Старобогатов Я.П. Фауна моллюсков и зоогеографическое районирование континентальных водоемов. – Л.: Наука. – 1970. – 372 с.
13. Bunje P.M.E. Pan-European phylogeography of the aquatic snail *Theodoxus fluviatilis* (Gastropoda: Neritidae) // Mol. Ecol. – 2005. – 14. – P. 4323-4340.
14. Bunje P.M.E. Fluvial range expansion, allopatry, and parallel evolution in a Danubian snail lineage (Neritidae: *Theodoxus*) // Biol. J. Linn. Soc. – 2007. – 90. – P. 603-617.
15. Glöer P. Die Sübwassergastropoden Nord- und Mitteleuropas Bestimmungsschlüssel, Lebensweise, Verbreitung. – Conch Books, 2002. – 327 p.
16. Neumann D. Morphologische und experimentelle Untersuchungen über die Variabilität der Farbmuster auf der Schale von *Theodoxus fluviatilis* L. // Z. Morph. Okol. – 1959 a. – 48. – P. 349-411
17. Neumann D. Experimentale Untersuchungen des Farbmusters der Schale von *Theodoxus fluviatilis* L. // Verhandl. deut. Zool. Ges. Munster. – 1959 b. – P. 152-156.

Отримано: 10 травня 2008 р.

Прийнято до друку: 12 травня 2008 р.

