Науковий вісник Ужгородського університету
Серія Біологія, Випуск 40, 2016: 55-58

УДК 594.382.5:575.2(477)

ВИДОВИЙ СКЛАД КОМПЛЕКСУ *ARION SUBFUSCUS* (GASTROPODA, ARIONIDAE) В УКРАЇНІ

Кадлубовська Н. С., Гарбар О. В.

Видовий склад комплексу Arion subfuscus (Gastropoda, Arionidae) в Україні. — Н. С. Кадлубовська, О. В. Гарбар. *— У результаті аналізу алозимної мінливості та морфології гонад слизняків комплексу Arion subfuscus фауни України, встановлено наявність двох видів – A. fuscus та A. transsylvanus. Причому особини комплексу A. subfuscus із Закарпаття (с. Колочава), що мають гонаду менших розмірів, за спектрами неспецифічних естераз виявились ідентичними A. fuscus-2 з рівнинних територій України. Особини з більшою гонадою, визначені як A. transsylvanus, є генетично близькими до A. fuscus-2, однак, відрізняються від останнього за локусом Es-2.*

Ключові слова: *слизні, Arion, A. fuscus, A. transsylvanus, алозимна мінливість, гонада.*

Адреса: *Житомирський державний університет ім. Івана Франка, вул. В. Бердичівська, 40, Житомир, 10002, Україна, e-mail: kadlubovska_n_s@mail.ru.*

Species composition of Arion subfuscus complex (Gastropoda, Arionidae) in the Ukraine. — N. S. Kadlubovska, A. V. Garbar. *— The analysis of allozyme and morphology gonad of slugs in the Ukraine established two species: A. fuscus and A. transsylvanus. Moreover, individuals of A. subfuscus complex from Transcarpathia (v. Kolochava), with smaller gonad, the spectra of nonspecific esterase appeared identical A. fuscus-2 from the flatlands of Ukraine. The individuals identified as A. transsylvanus are genetically close to A. fuscus-2, but differ from the latter by Es-2 locus.*

Key words: *slugs, Arion, A. fuscus, A. transsylvanus, allozyme variability, gonad.*

Address: *Ivan Franko State University, Velyka Berdichivska st., 40, Zhytomyr, 10008, Ukraine, e-mail: kadlubovska_n_s@mail.ru.*

Вступ

Комплекс *A. subfuscus* початково був описаний із Південної Франції виключно на основі зовнішньої морфології [15]. Л. Форкарт у 1966 році запропонував застосовувати до особин з популяцій, розташованих північніше Альп і до Скандинавії, які відрізняються від типових екземплярів, назву *Arion fuscus* Müller, 1774. На жаль, він не виділив морфологічні ознаки, які би підтверджували його висновок і ця пропозиція не була прийнята.

На основі аналізу алозимних даних Д. Мак Кракен і Р. Селандер виділили дві форми *A. subfuscus* на території Північної Америки – одна із них характеризувалась розмноженням шляхом самозапліднення, а для іншої був притаманний нормальний статевий процес [11]. Незалежно від них А. Де Вінтер звернув увагу на існування двох форм гонади у *A. subfuscus* та запропонував вважати його видовим комплексом [6].

У 1994 році було виділено дві суттєво відмінні генетичні форми аріонід, які позначили як F- та S-типи, оскільки вони відрізнялись швидкими та повільними електроморфами фосфоглюкомутази (Pgm) [5]. F-слизняки характеризувались невеликою темнозабарвленою гонадою, тоді як S-слизняки мали більшу і світлішу гонаду. Пізніше ці факти отримали підтвердження і на основі аналізу ДНК. В результаті за F-слизняками було закріплено назву *A. fuscus*, а за слизняками S-типу – назву *A. subfuscus* [13].

Якщо ситуація з комплексом *A. subfuscus* у північно-західній та центральній Європі дещо з'ясована, то на півдні і сході Європи вона залишається дискусійною. Слизняки комплексу, які були знайдені в румунських Карпатах, відрізнялися від інших представників комплексу *A. subfuscus* за морфологією гонади. Для того щоби з'ясувати які саме види виявлені у горах, їх ідентифікували за забарвленням тіла, наявністю смуг по його боках, морфологією статевої системи, алозимним та ДНК-аналізом. Результати досліджень підтвердили існування окремого виду – *A. transsylvanus* [8]. Причому цей вид є єдиним із комплексу у межах регіону і про його існування тут згадували раніше [9; 10; 14]. Крім того, декілька екземплярів *A. transsylvanus* було виявлено у Польщі [8].

Результати останніх досліджень доводять, що комплекс *A. subfuscus* досить неоднорідний. На сьогодні відомо, що у Європі він представлений трьома видами, а саме – *A. fuscus*, *A. transsylvanus* та *A. subfuscus* s. s [8]. За результатами дослідження морфології гонади нами з'ясовано, що на рівнинній території України представлений лише *A. fuscus*. Цей результат пізніше був підтверджений і іншими дослідниками [3]. Усі досліджені особини *A. fuscus* за характером мультилокусних генотипів неспецифічних естераз чітко диференціюються на дві групи – *A. fuscus*-1 та *A. fuscus*-2, рівень генетичних відмінностей між якими не менший ніж між окремими видами роду *Arion* [1]. Однак, не виключено, що у Карпатах поширений ще один вид – *A. transsylvanus*, який нещодавно був виявлений у румунських Карпатах та Польщі [8]. Тому доцільним є аналіз алозимної мінливості у представників комплексу *A. subfuscus* з гірських і рівнинних територій України.

Матеріал та методи

Всі морфологічні дослідження здійснено на фіксованих слизняках приблизно однакового розміру. Молюсків фіксували 70%-им розчином етанолу. Розтин проводили за загальноприйнятими методиками [3; 16] під мікроскопом МБС-1 в 70%-ому розчині етанолу. Тіло слизняка закріплювали на дні ванночки за допомогою булавок підошвою донизу. Перший розріз проводили з лівого боку вздовж підошви від щупальця до гепатопанкреаса. По лінії розрізу краї шкірно-м’язового мішка відгортали разом із мантією і прикріплювали булавками до дна ванночки. Другим розрізом вивільняли відділи статевої системи.

Біохімічне генне маркування здійснювали методом електрофорезу у 7,5%-ому поліакриламідному гелі Тріс-ЕДТА·Na_2-боратній системи з pH=8,5 протягом 1 год 20 хв при напрузі 200 V і силі струму 140 mA [4; 12]. Електрофорез було відпрацьовано на ферментах з екстракту гепатопанкреасу слизняків. Визначали електрофоретичну мінливість спектрів ферментів аспартатамінотрансферази (*Aat*), неспецифічних естераз (*Es*), малатдегідрогенази (*Mdh*), супероксиддисмутази (*Sod*) та лактатдегідрогенази (*Ldh*), що кодуються відповідними локусами.

Фарбування гелів проводили за стандартними методиками [7]. Електрофореграми фотографували цифровим фотоапаратом Nikon Coolpix S6300.

Результати та їх обговорення

У Карпатах представників комплексу *A. subfuscus* нами виявлено у двох пунктах – в околицях с. Колочава (Закарпатська обл.) та м. Яремче (Івано-Франківська обл.). На основі аналізу морфології гонади встановлено, що у обох вибірках представлені дві морфологічні форми. Одна з них характеризується темнозабарвленою гонадою дрібних розмірів, що відповідає виду *A. fuscus*, інша – світлішою гонадою середнього розміру, що характерне для *A. transsylvanus* [8].

Алозимний аналіз цих форм проведено у вибірці з с. Колочава. Як контроль використано молюсків із смт. Романів (Житомирська обл.).

Результати алозимного аналізу доводять чітку генетичну диференціацію двох форм, які відрізняються за морфологією гонади (рис. 1).

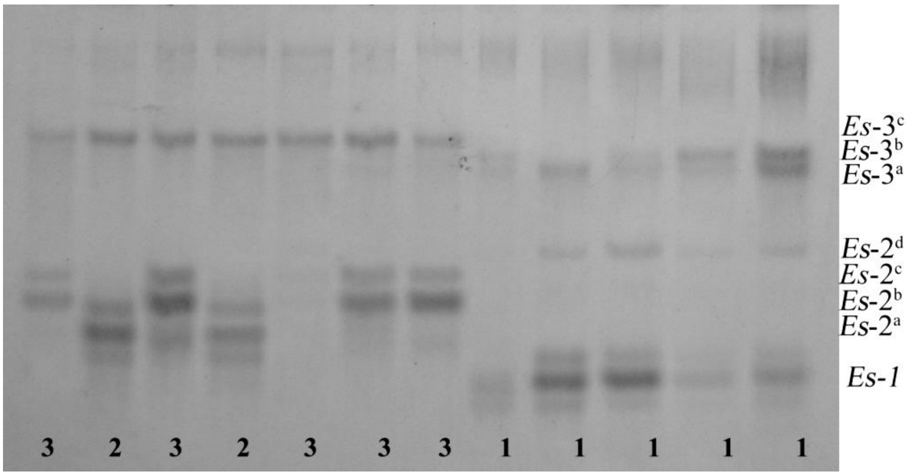

Рис. 1. Мінливість неспецифічних естераз представників комплексу *A. subfuscus* з с. Колочава (2 – *A. fuscus*-2, 3 – *A. transsylvanus*) та смт. Романів (1 – *A. fuscus*-1).

Fig. 1. Variability of nonspecific esterases in the individuals of *A. subfuscus* complex from the Kolochava (2 – *A. fuscus-2,* 3 – *A. transsylvanus*) and Romaniv (1 – *A. fuscus*-1).

Форма з с. Колочава, яка характеризується малою гонадою за спектрами неспецифічних естераз, виявилась ідентичною *A. fuscus*-2 з рівнинних територій України. Форма, яка характеризується більшою гонадою (*A. transsylvanus*), виявилась генетично близькою до *A. fuscus*-2. Зокрема спектри локусу *Es*-3 у них виявились ідентичними і представлені алелем *Es*-3^c.Така особливість чітко відмежовує ці форми від *A. fuscus*-1. Окрім цього, *A. transsylvanus* характеризується фіксованим генотипом локусу *Es*-2 – *Es*-2^{bc}, тоді як у *A. fuscus*-2 цей локус представлений фіксованим генотипом *Es*-2^{ab}. Виявлені особливості дозволяють переосмислити структуру комплексу *A. subfuscus* на території України (рис. 2).

Відомо, що у *A. transsylvanus* з румунських Карпат морфологія гонади є достатньо мінливою.

Хоча більшість молюсків характеризується гонадою середнього розміру, зрідка трапляються екземпляри, морфологія гонади яких майже не відрізняється від такої *A. fuscus*. При цьому за характером послідовностей ДНК всі ці молюски утворюють достатньо однорідну групу. В Українських Карпатах нами виявлено факт співіснування двох генетично близьких форм, які, судячи з характеру алозимної мінливості, є репродуктивно ізольованими і відрізняються за морфологією гонади. Отже, цілком можливо, що *A. transsylvanus* на території України представлений двома генетично і морфологічно відособленими лініями. Одна з них виключно гірська і характеризується гонадою середнього розміру, тоді як інша має набагато ширший ареал, який на території України майже співпадає з ареалом *A. fuscus*-1. На користь цього свідчить і той факт, що *A. transsylvanus* виявлено на території сусідньої Польщі, яка знаходиться далеко за межами Карпатських гір. У цьому випадку виявлена нами форма *A. fuscus*-2 (=*A. transsylvanus* з малою гонадою) може претендувати на статус окремого виду. Однак для остаточного вирішення цього питання необхідні додаткові дослідження.

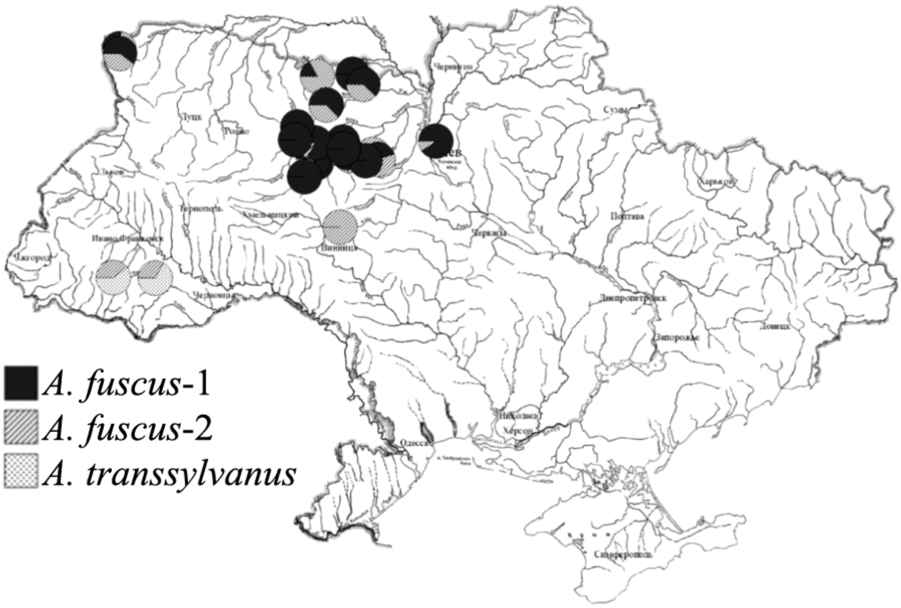

Рис. 2. Структура комплексу *A. subfuscus* на території України.
Fig. 2. Structure of *A. subfuscus* complex in Ukraine.

Відомо, що у *A. transsylvanus* з румунських Карпат морфологія гонади є достатньо мінливою. Хоча більшість молюсків характеризується гонадою середнього розміру, зрідка трапляються екземпляри, морфологія гонади яких майже не відрізняється від такої *A. fuscus*. При цьому за характером послідовностей ДНК всі ці молюски утворюють достатньо однорідну групу. В Українських Карпатах нами виявлено факт співіснування двох генетично близьких форм, які, судячи з характеру алозимної мінливості, є репродуктивно ізольованими і відрізняються за морфологією гонади. Отже, цілком можливо, що *A. transsylvanus* на території України представлений двома генетично і морфологічно відособленими лініями. Одна з них виключно гірська і характеризується гонадою середнього розміру, тоді як інша має набагато ширший ареал, який на території України майже співпадає з ареалом *A. fuscus*-1. На користь цього свідчить і той факт, що *A. transsylvanus* виявлено на території сусідньої Польщі, яка знаходиться далеко за межами Карпатських гір. У цьому випадку виявлена нами форма *A. fuscus*-2 (=*A. transsylvanus* з малою гонадою) може претендувати на статус окремого виду. Однак для остаточного вирішення цього питання необхідні додаткові дослідження.

Висновки

Комплекс *Arion subfuscus* на території України представлений видами *A. fuscus* та *A. transsylvanus*. *A. transsylvanus* представлений двома генетично і морфологічно відособленими лініями. Одна з них виключно гірська і характеризується гонадою середнього розміру, тоді як інша має набагато ширший ареал, який на території України майже співпадає з ареалом *A. fuscus*-1.

1. Гарбар О. В. Структура комплексу *Arion subfuscus* (Gastropoda, Arionidae) на території Правобережного Полісся та Лісостепу / О. В. Гарбар, Н. С. Кадлубовська, Д. А. Гарбар // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. – 2014. – Вип. 67. – С. 228–233.
2. Гураль-Сверлова Н. В. Слизни из комплекса *Arion subfuscus* (Arionidae) на равнинной территории Украины / Н. В. Гураль-Сверлова, Р. И. Гураль // Ruthenica. – 2015. – Vol. 25. – № 5. – P. 99–102.
3. Лихарев И. М. Слизни фауны СССР и сопредельных стран (Gastropoda terrestria nuda) / И. М. Лихарев, А. Й. Виктор // Фауна СССР. – Л.: Наука, 1980. – Т. 3. – Вып. 5. –438 с.
4. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие) / Л. А. Остерман. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
5. Backeljau T. Application of isoelectric focusing in molluscan systematics / T. Backeljau, K. Breugelmans, H. Leirs // The Nautilus. – 1994. – Vol. 2. – P. 156–167.
6. De Winter A. J. Little known and new south-west European slugs (Pulmonata : Agriolimacidae, Arionidae) / A. J. De Winter // Zoologische Mededelingen, Leiden, 1986. – Vol. 60. – P. 135–158.
7. Harris H. Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics / H. Harris, D. A. Hopkinson // Oxford: North Holland Publishing Co. – 1976.
8. Jordaens K. *Arion transsylvanus* (Mollusca, Pulmonata, Arionidae): rediscovery of a cryptic species / K. Jordaens, J. Pinceel, N.Van Houtte et. al. // Zoologica Scripta. – 2010. – Vol. 39. – P. 343–362.
9. Lupu D. La revision des representants de la famille des Arionidae (Gastropoda-Pulmonata) de Roumanie / D. Lupu // Travaux du Museum d.Histoire Naturelle .Grigore Antipa. – 1974. – Vol. 15. – P. 31–44.
10. Lupu D. Le polymorphisme chez quelques espèceses appartenant aux familles Limacidae et Arionidae de Roumanie / D. Lupu // Malacologia. – 1977. – Vol. 16. – P. 21–33.
11. Mc Cracken G. Self – fertilization and monogenic strains in natural populations of terrestrial slugs / G. Mc Cracken, R. Selander // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1980. – Vol. 77. – №. 1. – P. 684–688.
12. Peacock F. C. Serum protein electrophoresis in acrilamyde gel patterns from normal human subjects / F. C. Peacock, S. L. Bunting, K. G. Queen // Science. – 1965. – Vol. 147. – P. 1451–1455.
13. Pinceel J. Molecular and morphological data reveal cryptic taxonomic diversity in the terrestrial slug complex *Arion subfuscus* / *fuscus* (Mollusca, Pulmonata, Arionidae) in continental north-west Europe / J. Pinceel, K. Joardens, N.Van Houtte, A. J De Winter, T. Backeljau // Biological Journal of the Linnean Society. – 2004. – Vol. 83. – P. 23–38.
14. Simroth H. Versuch einer Naturgeschichte der deutschen Nacktschnecken und ihrer europaischen Verwandten / H. Simroth // Zeitschrift fur wissenschaftliche Zoologie. – 1885 a. – Vol. 42. – P. 203–366.
15. Wiktor A. The slugs of Bulgaria (Arionidae, Milacidae, Limacidae, Agriolimacidae – Gastropoda, Stylommatophora) / A. Wiktor // Ann Zool. – 1983. – Vol. 37. – P. 71–206.
16. Wiktor A. Limacoidea et Zonitoidea nuda. Slimaki pomrowicksztaltne (Gastropoda: Stylommatophora) / A. Wiktor // Fauna Polski. – Warszawa, 1989. – T. 12. – 207 p.

Прийнято до друку: 16.06.2016