

polymorphism. Many-year studies of natural landsnail populations were carried out in 1968–2009 in various biotops of the PreUrals (1-the preKama forest near Sarapul, 2 – Bashkir steppe near Sterlitamak) and the TransUrals (the prePyshma forest, Sverdlovsk region, near Belsky settlement). The effects of climate and fluctuating weather conditions in various years on the ratios of single-band (aa) and bandless (AA and Aa) morphs were found to be different in geographically different habitats. The effects were stronger in extreme habitats. Balanced polymorphism was stable in natural populations; colour type frequencies might exist for a long time; stabilizing selection was observed. Thus, the genetic variability of populations was realized by spatial and temporal variabilities, it was closely connected with the environment heterogeneity. A polymorphic population was less specialized than a monomorphic one, its greater genetic variability allowed to effectively use the environmental resources. The polymorphic structure significantly increased the population adaptive abilities.

Key words: Bush snail, ecology, polymorphism, genetics, banding, habitat types, PreUrals, TransUrals, bioindication

УДК 594.382.5:575. 2(477)

Т. Н. ЧЕРНЫШОВА, А. В. ГАРБАР

Житомирский государственный университет им. Ивана Франко
ул. Большая Бердичевская, 40, Житомир, 10008, Украина

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ *LIMAX CINEREONIGER* WOLF, 1803 (*LIMACIDAE*) НА ТЕРИТОРИИ УКРАИНЫ

В результате анализа аллозимной изменчивости установлено, что у *L. cinereoniger* амфимиксис характерен для природных популяций, тогда как синантропные популяции представлены генетическими линиями с фиксированными гомо- и гетерозиготными генотипами. Отсутствие промежуточных аллозимных спектров в условиях сосуществования доказывает репродуктивную изоляцию последних. Хромосомный набор *L. cinereoniger* характеризуется стабильностью и консервативностью ($2n=62$; $n=31$). Амфимиктическая форма существенно отличается от других по параметрам половой системы (уровень дискриминации 81,82%).

Ключевые слова: слизни, амфимиксис, генотип, биотип, кариотип

Limax cinereoniger Wolf, 1803, является типичным представителем наземной малакофауны Украины и распространен в северных, центральных и западных областях [1]. Это стенобионтный лесной вид, который преимущественно обитает в смешанных и широколиственных лесах, в городах встречается в лесопарках.

Генетические исследования рода *Limax* малочисленны [7]. Из представителей рода *Limax* генетически исследованы лишь несколько популяций *L. maximus* из Англии. Установлено, что характер генетической изменчивости в этом случае свидетельствует о размножении путем амфимиксиса, который является преобладающей системой размножения в семействе *Limacidae* [6, 7].

Хромосомные наборы слизней также практически не исследованы. На сегодня известны гаплоидные хромосомные числа (n) только около 20 видов из различных семейств [5, 8]. Лишь для двух видов – *Lehmania melitensis* [9] и *L. flavus* [5] определено диплоидное число ($2n$) и – хромосомная формула. Известно, что гаплоидный набор *L. cinereoniger* включает 31 бивалент [4]. Однако на территории Украины этот вид кариологически не исследован.

Учитывая вышеупомянутые факты, актуальным является комплексное исследование популяций *L. cinereoniger* с применением электрофоретических, кариологических и морфологических методов.

Материал и методы исследований

Исследовано семь выборок моллюсков, собранных на территории трех областей Украины (Житомирской, Тернопольской, Ровенской) в весенне-осенний периоды 2009–2010 г.г. Сбор и исследование моллюсков проводили по общепринятым методикам [3].

Для биохимического генного маркирования и морфологических исследований использовано 39 экз. слизней, идентифицированных как *L. cinereoniger* по определительным таблицам [3], причем от 15 экз. получены кариологические препараты, пригодные для анализа.

Методом электрофореза в полиакриламидном геле с использованием ТРИС-ЭДТА-боратной системы буферов в экстрактах из хвостовой части тела исследована электрофоретическая изменчивость спектров ферментов: аспаратаминотрансферазы (Aat), малатдегидрогеназы (Mdh), лактатдегидрогеназы (Ldh), неспецифических эстераз (Es) и супероксиддисмутазы (Sod).

Препараты хромосом изготавливали из тканей гонады по методике, которая ранее успешно использовалась для исследования кариотипов дождевых червей [2].

Морфологические исследования проводили на слизнях, фиксированных в 70%-ном растворе этанола. Вскрытие слизней проводили под микроскопом МБС-1 в 70%-ном растворе этанола по общепринятой методике [3]. Измеряли длину тела моллюска (L), яйцевода (Lov), семяприемника (Lsp), резервуара семяприемника (Lrs), пениса (Lp).

Статистическая обработка материалов осуществлена с помощью пакета прикладных статистических программ STATISTICA 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение

Биохимическое генное маркирование *L. cinereoniger*.

У *L. cinereoniger* спектры Aat, Sod и Mdh, кодирующие соответствующие ферменты, при данных условиях электрофореза были мономорфными. Тогда как спектры неспецифических эстераз (Es-1 и Es-3) были изменчивыми (рис. 1).

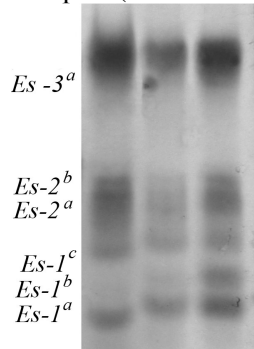


Рис. 1. Изменчивость неспецифических эстераз *L. cinereoniger*

В исследуемых семи выборках обнаружено четыре электроморфы локуса Es-1, три электроморфы локуса Es-2 и три электроморфы локуса Es-3. Полученные результаты доказывают, что шесть из семи исследованных популяций *L. cinereoniger* представлены моногенетическими линиями (биотипами). Только выборка из г. Кременец отвечает модели панмиктической популяции. Об этом свидетельствует низкое значение индекса фиксации и высокое соответствие фактического и ожидаемого по закону Харди-Вайнберга распределения генотипов в популяции *L. cinereoniger* из окрестностей г. Кременец (Тернопольская обл.).

Всего по характеру полиморфизма исследованных локусов можно выделить 8 биотипов *L. cinereoniger* (табл. 1).

Таблица 1

Генетическая структура и разнообразие биотипов *L. Cinereoniger*

Локус	Биотипы							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Es-1	ac	ab	ab	bb	ab	ab	ab	cc
Es-2	ab	ab	ab	aa	aa	ab	aa	aa
Es-3	ac	ac	ab	ac	ac	cc	ac	cc

Примечание. Мономорфные локусы – Mdh, Aat, Sod, Ldh.

Две из шести исследованных выборок были представлены одним биотипом. В четырех других выборках обнаружено по два биотипа, причем один из них явно преобладал, а другой был представлен единичным экземпляром.

Самыми многочисленными оказались биотипы *L. cinereoniger-VII* (36% исследованных особей), *L. cinereoniger-I* (20% исследованных особей) и *L. cinereoniger-III* (20% исслед. особей). Остальные биотипы были малочисленны, представлены единичными экземплярами и составляли всего 24% исследованных экземпляров.

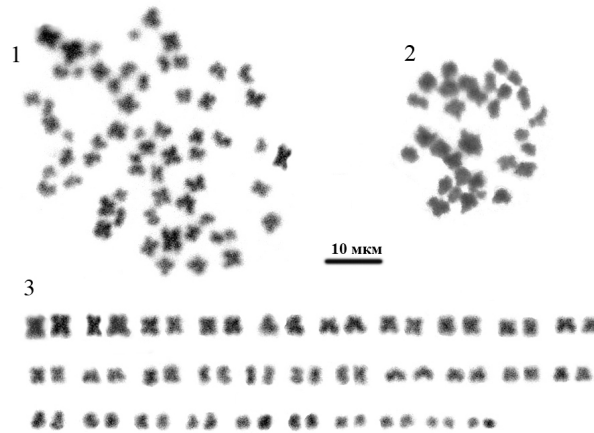


Рис. 2. Кариотип *L. cinereoniger*: 1 – митотическая метафаза ($2n=62$); 2–диакинез ($n=31$); 3 – кариограмма

В результате кариологического анализа впервые установлено, что диплоидный набор ($2n$) *L. cinereoniger* включает 62 хромосомы (рис. 2). Все хромосомы двуплечие и постепенно уменьшаются по размеру, основное число $NF = 124$. На стадии диакинеза мейоза наблюдался 31 бивалент ($n=31$), что подтверждает имеющиеся литературные данные [5].

Сравнительный анализ морфологических особенностей биотопов *L. cinereoniger*. Абсолютные значения исследуемых параметров трех биотипов *L. cinereoniger* в совокупной выборке из северо-западного региона страны варьируют в широких пределах, тогда как морфометрические индексы характеризуются большей консервативностью. Исследованные признаки не позволяют надежно идентифицировать выделенные биотипы, однако, результаты дисперсионного анализа (Lsd -тест) свидетельствуют о наличии достоверных различий ($p < 0,001$) между амфимиктическим (*L. cinereoniger*) и клоновыми биотипами (*L. cinereoniger-I* и *L. cinereoniger-VII*) по абсолютной (L_p) и относительной (L_p/L) длине пениса (рис. 3).

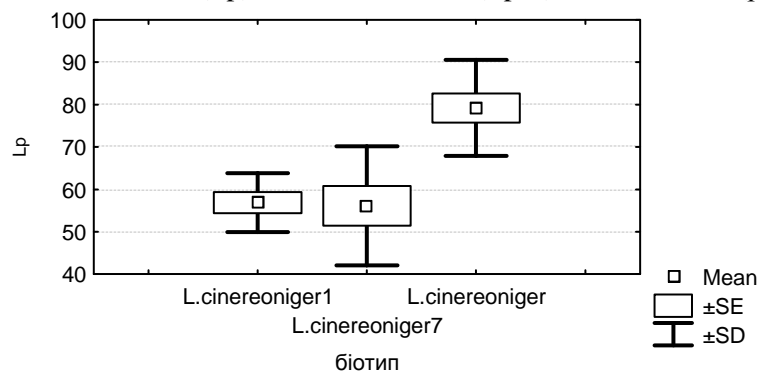


Рис. 3. Средние значения (M) и их стандартная ошибка (m) абсолютной длины пениса у биотипов *L. Cinereoniger*

Подобные результаты показывает дискриминантный анализ (табл. 2). Общий уровень дискриминации – 71,43% – невысокий, а, следовательно, по совокупности анализируемых признаков биотипы *L. cinereoniger* надежно не идентифицируются, хотя и имеют определенную морфологическую индивидуальность.

Надежность дискриминации наиболее массовых биотипов *L. cinereoniger*

Биотип	%	<i>L. cinereoniger</i> -I	<i>L. cinereoniger</i> -VII	<i>L. cinereoniger</i>
<i>L. cinereoniger</i> I	75	6	2	0
<i>L. cinereoniger</i> -VII	55,55	1	5	3
<i>L. cinereoniger</i>	81,82	1	1	9
В целом	71,43	8	8	12

Диаграмма рассеяния выборок наиболее массовых биотипов в поле первых двух канонических функций (рис. 4) также свидетельствует о наличии определенной морфологической обособленности этих групп. Облака рассеяния достаточно компактны, и почти не перекрываются. При этом значения первой канонической функции хорошо коррелируют со значениями абсолютной (L_p) и относительной (L_p/L) длины пениса, а значение второй - с длиной сперматеки (L_{sp}).

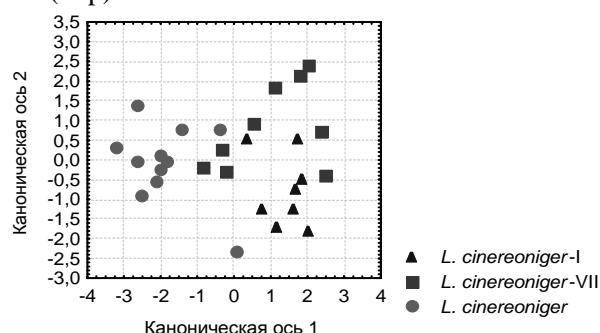


Рис. 4. Диаграмма рассеяния выборок наиболее массовых биотипов *L. cinereoniger* в поле первых двух канонических функций

Выводы

В результате проведенного исследования установлено, что *L. cinereoniger* в фауне Украины представлен амфимиктической формой, которая распространена преимущественно в естественных биотопах и популяциями, особи которых характеризуются фиксированными генотипами. Такие популяции распространены преимущественно в изолированных биотопах (погребов и подвалов) и представлены преимущественно одним, или, реже, несколькими биотипами.

В результате кариологического анализа впервые установлено число хромосом ($2n=62$) в диплоидном наборе *L. cinereoniger*. На стадии диакинеза мейоза число элементов было стабильным у всех исследованных экземпляров ($n=31$).

Анализ морфологических параметров биотипов *L. cinereoniger* показал, что исследованные признаки не позволяют надежно их идентифицировать, хотя общий уровень дискриминации достаточно высок (71,43%). Характерно, что клоновые биотипы хорошо дифференцируются от амфимиктического *L. cinereoniger* по параметрам половой системы.

В дальнейшем считаем целесообразным расширить географию исследований и спектр исследуемых ферментов с целью уточнения биотипической и таксономической структуры вида.

1. Байдашников А. А. Вертикальное распределение наземных моллюсков Украинских Карпат / А. А. Байдашников // Вестник зоологии. – 1989. – № 5. – С. 55–59.
2. Власенко Р. П. Клональная структура, кариологический и морфологический анализ изолированного поселения гипервариабильного вида дождевых червей *Aporrectodea rosea* (Oligochaeta : Lumbricidae) / Р. П. Власенко, А. В. Гарбар, С. В. Межжерин // Наук. вісник Ужгородського університету. Сер.: Біологія. – 2007. – Вип. 21. – С. 187–191.
3. Лихарев И. М. Слизни фауны СССР и сопредельных стран (Gastropoda terrestria nuda) / И. М. Лихарев, А. Й. Виктор // Фауна СССР. – Л.: Наука, 1980. – 438 с. – (Фауна СССР; т. 3; вып. 5).
4. Beeson G. Chromosome Numbers of Slugs / G. Beeson // Nature. – 1960. – № 186. – P. 257–258.

5. *Comparative cytogenetic analysis of three stylommatophoran slugs (Mollusca, Pulmonata) / M. Colomba [at el.] // Malacologia. – 2009. – Vol. 51, № 1. – P. 173–179.*
6. *Foltz D. Genetic diversity and breeding systems in terrestrial slugs of the families Limacidae and Arionidae / D. Foltz, H. Ochman and K. Selander // Malacologia. – 1984. – Vol. 25, № 2. – P. 593–605.*
7. *McCracken G. Self – fertilization and monogenic strains in natural populations of terrestrial slugs / G. McCracken, R. Selander // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1980. – Vol. 77, № 1. – P. 684 – 688.*
8. *Thiriot-Quievreux C. Advances in chromosomal studies of gastropod mollusks / C. Thiriot-Quievreux // J. Moll. Stud. – 2003. – Vol. 69. – P. 187–201.*
9. *Vitturi R. Spermatoocyte chromosome analysis of the *Lehmannia melitensis* (Lesson and Pollonera, 1891) (Mollusca, Pulmonata) using conventional, NOR – and C – banding techniques / R. Vitturi, I. Sparacio // Caryologia – 1993. – № 46. – P. 189–199.*

T. H. Чернишова, О. В. Гарбар

Житомирський державний університет ім. Івана Франка

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦІЙ І МОРФОЛОГІЧНА МІНЛИВІСТЬ *LIMAX CINEREONIGER* WOLF, 1803 (*LIMACIDAE*) НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

В результаті аналізу алозимної мінливості встановлено, що в *L. cinereoniger* амфіміксіс характерний для природних популяцій, тоді як синантропні популяції представлені генетичними лініями з фіксованими гомо- і гетерозиготними генотипами. Відсутність проміжних алозимних спектрів в умовах співіснування доводить репродуктивну ізоляцію останніх. Хромосомний набір *L. cinereoniger* характеризується стабільністю і консервативністю ($2n=62$; $n=31$). Амфіміктічна форма істотно відрізняється від інших по параметрах статеві системи (рівень дискримінації 81,82%).

Ключові слова: слизні, амфіміксіс, генотип, біотип, каріотип

T. N. Chernyshova, A. V. Garbar

Zhytomyr Ivan Franko State University

POPULATION GENETIC STRUCTURE AND MORPHOLOGICAL VARIABILITY OF *LIMAX L. CINEREONIGER*, 1803 (*LIMACIDAE*) ON THE TERRITORY OF UKRAINE

As a result of allozymic changeability analysis *L. cinereoniger* amphimixis is established to be characteristic for natural populations, while the synanthropic population are presented with genetic lines of fixed homo- and heterozygous genotypes. The absence of intermediate allozymic spectra in coexistence proves reproductive isolation of the latter. *L. cinereoniger* chromosome set is characterized with stability and conservatism ($2n=62$; $n=31$). Amphimictic form greatly differs from the other ones in reproductive system parameters (the discrimination level is 81,82 %)

Key words: slugs, amphimixis, genotype, biotype, karyotype

УДК 594.5:591.05

Г. Е. ШУЛЬМАН

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского НАН Украины
пр-т Нахимова, 2, Севастополь, 99011, Украина

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ГОЛОВОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ

Головоногие моллюски обладают специфическими особенностями метаболизма, выявленными, в основном, на пелагических кальмарах рода *Sthenoteuthis* в сопоставлении с другими представителями класса (каракатицами и осьминогами), а также с брюхоногими и двустворчатыми моллюсками. Отмечены: 1) чрезвычайно высокий уровень энергетического обмена; 2) значительная роль гепатопанкреаса в аккумуляции и использовании энергии; 3) доминирующая роль белков и азотистых продуктов в энергетическом метаболизме; 4) высокое