

**СТРУКТУРА КОМПЛЕКСУ *ARION SUBFUSCUS* (GASTROPODA, ARIONIDAE)
НА ТЕРИТОРІЇ ПРАВОБЕРЕЖНОГО ПОЛІССЯ ТА ЛІСОСТЕПУ**

О. Гарбар, Н. Кадлубовська, Д. Гарбар

*Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир 10008, Україна
e-mail: saguaroklub@mail.ru*

Комплекс *A. subfuscus* на території Правобережного Полісся і Лісостепу представлений видом *A. fuscus*, який характеризується невеликою темнозабарвленою гонадою. За характером мінливості неспецифічних естераз виділено дві групи генетичних форм даного виду: *A. fuscus*-А і *A. fuscus*-В. Група *A. fuscus*-А представлена двома генотипами, *A. fuscus*-В – шістьма генотипами.

Ключові слова: *Arion subfuscus* sensu lato, алозимна мінливість естерази, генетична структура популяцій.

Рід слизнів *Arion* включає, за різними оцінками, від 30 до 50 видів, багато з яких представлені комплексами криптичних видів. Ідентифікація та виділення окремих видів із таких комплексів дотепер викликає дискусії [6]. Окрім цього, деякі види вважаються серйозними шкідниками сільськогосподарських рослин [5], тому помилкова таксономія може перешкоджати ідентифікації шкідників і регуляції їх чисельності. Види роду *Arion* можна розрізнити за структурою статевої системи, проте вона може мати значну онтогенетичну, сезонну та фізіологічну мінливість [7]. Через ці обмеження особливо популярними для вирішення таксономічних проблем роду *Arion* є генетичні методи (алозимний аналіз, аналіз послідовностей ДНК та ін.).

Arion subfuscus sensu lato початково був описаний із Південної Франції виключно на основі зовнішньої морфології [11]. Форкарт у 1966 р. пропонував застосовувати до особин із популяцій, розташованих північніше Альп і до Скандинавії, які відрізняються від типових екземплярів, назву *Arion fuscus* Muller, 1774. На жаль, він не виділив морфологічні ознаки, які б підтверджували його висновок, і ця пропозиція не була прийнята. На основі аналізу алозимних даних Мак Кракен і 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 [8]. Незалежно від них Де Вінтер звернув увагу на наявність двох форм гонади у *A. subfuscus* та запропонував вважати його видовим комплексом [4].

Оскільки відносно добре дослідженими є лише популяції з північно-західної Європи, то видовий склад цього комплексу остаточно не з'ясовано. На території України подібні дослідження не проводились, тому дотепер більшість дослідників використовують назву *A. subfuscus* для всіх представників цього комплексу.

Метою дослідження було з'ясувати структуру видового комплексу *A. subfuscus* sensu lato на території Правобережного Полісся та Лісостепу. Для досягнення мети були поставлені такі завдання: здійснити анатомічне й електрофоретичне дослідження молюсків видового комплексу *A. subfuscus* sensu lato і на основі отриманих даних встановити його видовий склад.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження були слизні видового комплексу *A. subfuscus sensu lato* (табл. 1), зібрані протягом 2008–2010 років. Для досліджень використовували дорослі особини аріонід, які транспортували й утримували у пластмасових чи скляних банках, заповнених вологою трухлявою деревиною та листям, прикритих вологою марлею [2]. Під час експериментальних досліджень використовували тільки живий матеріал із власних зборів.

Таблиця 1

Слизні видового комплексу *Arion subfuscus sensu lato*

| Пункт збору | Географічні координати | Кількість екземплярів |
|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| Бондарівка (Ж.) | 50°53'31" пн. ш. 28°14'21" сх. д. | 8 |
| Вінниця | 49°14'14" пн. ш. 28°28'02" сх. д. | 5 |
| Дениші (Ж.) | 50°12'55" пн. ш. 28°24'28" сх. д. | 1 |
| Довбиш (Ж.) | 50°22'24" пн. ш. 27°59'05" сх. д. | 17 |
| Довжик (Ж.) | 50°18'05" пн. ш. 28°35'05" сх. д. | 47 |
| Житомир | 50°15'16" пн. ш. 28°39'28" сх. д. | 2 |
| Іванків (Ж.) | 50°23'46" пн. ш. 28°34'08" сх. д. | 1 |
| Київ | 50°27'00" пн. ш. 30°31'25" сх. д. | 10 |
| Смига (Р.) | 50°14'24" пн. ш. 25°45'57" сх. д. | 7 |
| Романів (Ж.) | 50°09'06" пн. ш. 27°56'21" сх. д. | 6 |
| Рудня Озерянська (Ж.) | 51°16'39" пн. ш. 28°03'53" сх. д. | 6 |
| Станишівка (Ж.) | 50°13'13" пн. ш. 28°42'58" сх. д. | 2 |
| Залісці (Т.) | 49°57'57" пн. ш. 25°38'57" сх. д. | 39 |

Примітка. Ж – Житомирська обл., Р – Рівненська обл., Т – Тернопільська обл.

Видову приналежність тварин визначали, користуючись визначниками для території колишнього СРСР та України [1].

Усі морфологічні дослідження проводили на фіксованих слизнях. Розтин моллюсків проводили за загальноприйнятими методиками під мікроскопом МБС–1 у 70%-ному розчині етанолу.

Генетичне маркування здійснювали методом електрофорезу в 7,5%-му поліакриламідному гелі Тріс-ЕДТА·Na₂-боратній системі з рН=8,5 1 год 20 хв при напрузі 200 V і силі струму 180 mA [9]. Форез було відпрацьовано на ферментах з екстракту гепатопанкреасу слизняків. Визначали електрофоретичну мінливість спектрів ферментів аспаратамінотрансферази (Aat), неспецифічних естераз (Es-1, -2, -3, -4), малатдегідрогенази (Mdh), супероксиддисмутази (Sod) та лактатдегідрогенази (Ldh), що кодуються відповідними локусами.

Статистичну обробку матеріалів здійснювали за допомогою пакетів прикладних статистичних програм PAST та Microsoft Excel v. 9. 0. Для географічного аналізу записів бази було використано програмний ГІС пакет DIVA GIS. Для аналізу генетичних даних використано програмний пакет POPGENE 1.32.

Результати і їхнє обговорення

Дослідниками у 1994 р. було виділено дві суттєво відмінні генетичні форми аріонід, які позначили як F- та S-типи, оскільки вони відрізнялися швидкими та повільними електроморфами фосфоглюкомутази (Pgm) [3]. F-слизняки характеризувалися невеликою темнотозабарвленою гонадою, тоді як S-слизняки мали більшу і світлішу гонаду (рис. 1, А, В).

Пізніше ці факти отримали підтвердження і на основі аналізу ДНК. У результаті за F-слизняками було закріплено назву *A. fuscus*, а за слизняками S-типу – назву *A. subfuscus* [10].

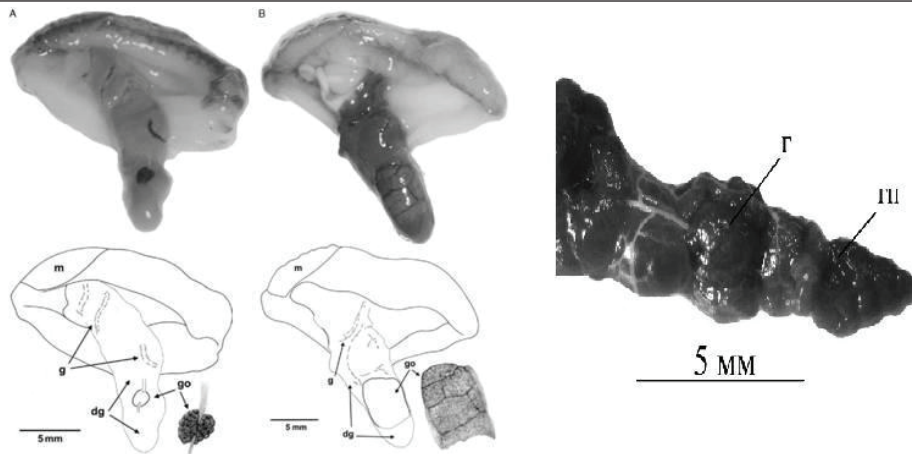


Рис.1. Два типи гонади у *Arion subfuscus* s.l.: А – *A. fuscus*; В – *A. subfuscus* s.s. Скорочення: dg (digestive gland) – гепатопанкреас; g (gut) – кишка; m (mantle) – мантия; go (gonad) – гонада [10], С – *A. fuscus* (с. Довжик, Ж.). Скорочення: гп – гепатопанкреас; г – гонада.

Проведений нами аналіз морфології гонади доводить, що комплекс *A. subfuscus* s. l. на досліджуваній території представлений видом *A. fuscus* (F-тип), для якого характерна невелика темнозбарвлена гонада (рис. 1, С)

Алозимний аналіз показав, що у *A. fuscus* спектри Aat, Sod та Mdh, які кодують відповідні ферменти, при даних умовах електрофорезу були мономорфними, тоді як спектри неспецифічних естераз (*Es-1*, *Es-2* та *Es-3*) були поліморфними (рис. 2).

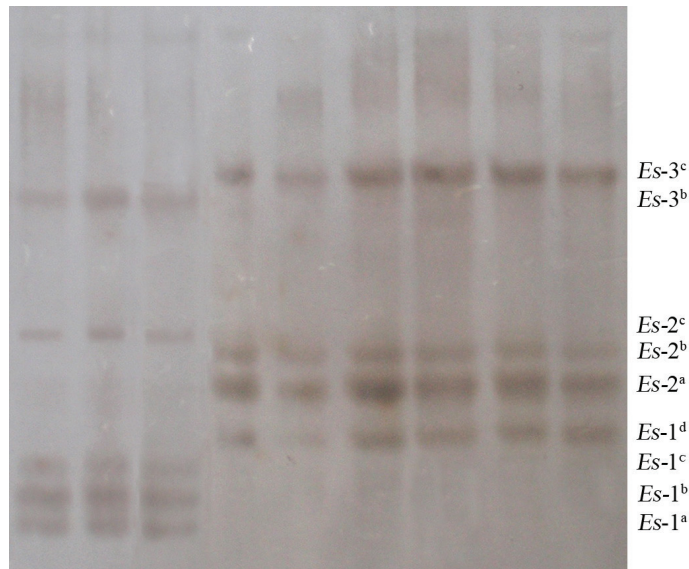


Рис. 2. Мінливість неспецифічних естераз *A. fuscus*.

За характером мінливості неспецифічних естераз у досліджених популяціях *A. fuscus* можна виділити дві групи генетичних форм, одна із яких (*A. fuscus*-А) характеризується фіксацією повільного алеля *Es-3^c*, тоді як у іншій (*A. fuscus*-В) наявні більш швидкі алелі цього локусу – *Es-3^a* та *Es-3^b* (табл. 2).

Досить нечисленна група *A. fuscus*-A представлена лише двома генотипами, які характеризуються фіксованим гетерозиготним генотипом *Es*-2^{ab} з ефектом дози гена (рис. 2). При цьому генотип *A. fuscus*-A1 відрізняється від *A. fuscus*-A2 за наявністю алеля *Es*-1^d. Слід зазначити, що жодного випадку співіснування особин із цими двома генотипами не зареєстровано (табл. 3).

Таблиця 2

Алельний склад виявлених генотипів *A. fuscus*

| Генотипи | Локуси, алелі | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|---------------|---|---|---|--------------|---|---|---|--------------|---|---|---|
| | <i>Es</i> -1 | | | | <i>Es</i> -2 | | | | <i>Es</i> -3 | | | |
| | a | b | c | d | A | B | c | D | A | b | C | |
| <i>A. fuscus</i> - A1 | | | | + | + | + | | | | | | + |
| <i>A. fuscus</i> - A2 | | | | | + | + | | | | | | + |
| <i>A. fuscus</i> - B1 | + | | + | | | | | + | | | + | |
| <i>A. fuscus</i> - B2 | | + | | | | | | + | | | + | |
| <i>A. fuscus</i> - B3 | + | | + | | | | | + | + | | + | |
| <i>A. fuscus</i> - B4 | + | + | + | | | | | + | | + | + | |
| <i>A. fuscus</i> - B5 | + | | + | | | | | + | | + | | |
| <i>A. fuscus</i> - B6 | + | | + | | | | | | | | | |

Таблиця 3

Представленість генотипів *A. fuscus* у досліджених вибірках

| Вібірка | Генотип (екз.) | | | | | | | |
|-----------------------|----------------|----|----|----|----|----|----|----|
| | A1 | A2 | B1 | B2 | B3 | B4 | B5 | B6 |
| Бондарівка (Ж.) | 3 | | 3 | 2 | | | | |
| Вінниця | | 4 | | | 1 | | | |
| Дениші (Ж.) | | 1 | | | | | | |
| Довбиш (Ж.) | 3 | | 14 | | | | | |
| Довжик (Ж.) | | | | | | 47 | | |
| Житомир | | 2 | | | | | | |
| Іванків (Ж.) | | | | | | | 1 | |
| Київ | | 1 | 9 | | | | | |
| Смига (Р.) | 6 | | | | | 1 | | |
| Романів (Ж.) | 3 | | | | | | 3 | |
| Рудня Озерянська (Ж.) | | 5 | | | 1 | | | |
| Станишівка (Ж.) | | 2 | | | | | | |
| Залісці (Т.) | 2 | | | | | | | 7 |

Примітка: Ж – Житомирська обл., Р – Рівненська обл., Т - Тернопільська обл.

Більш поширена група *A. fuscus*-B представлена щонайменше шістьма генотипами (табл. 1). Як правило, у межах однієї вибірки представлений лише один генотип цієї групи. Виняток становить лише вибірка із с. Бондарівка Житомирської обл., де генотипи *A. fuscus*-B1 та *A. fuscus*-B2 співіснують. Разом із цим генотипи, що представляють різні генетичні групи, трапляються в умовах співіснування у більшості вибірок (табл. 2). При цьому жодних проміжних спектрів не виявлено, що доводить їх репродуктивну ізоляцію.

Серед генотипів групи «B» привертає увагу *A. fuscus*-B4. Усі 47 екземплярів із с. Довжик (Ж.) належали до цієї генетичної форми (рис. 3). У генетичній структурі цієї форми в першу чергу слід відмітити наявність фіксованого у тригетерозиготному стані генотипу

локусу *Es-1* з ефектом дози гена. Окрім цього, у *A. fuscus*-В4 в гетерозиготному стані фіксований локус *Es-3*. Така генетична структура характерна для поліплоїдних партеногенетичних видів і не узгоджується з наявними даними про системи розмноження (амфіміксис і самозапліднення) *A. fuscus*.

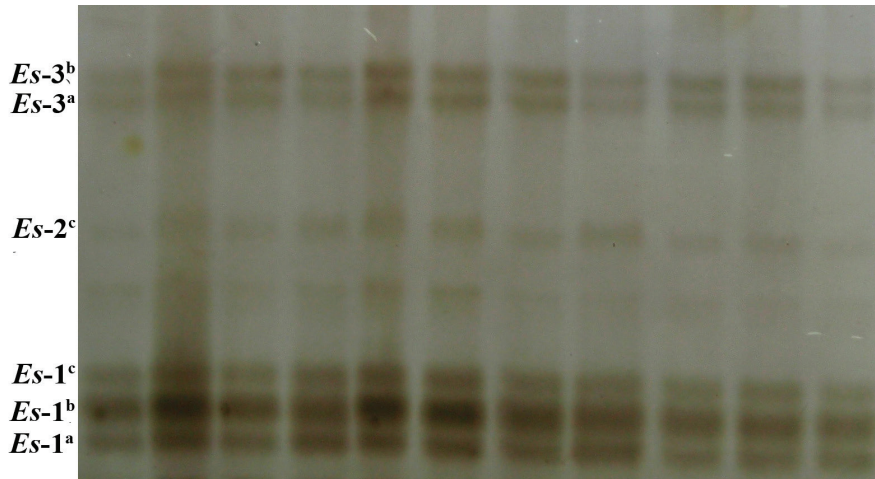


Рис. 3. Спектри неспецифічних естераз генотипу *A. fuscus*-В4.

Отже, аналіз морфології гонади доводить, що комплекс *A. subfuscus* s. l. на досліджуваній території представлений видом *A. fuscus* (F-тип), для якого характерна невелика темнозабарвлена гонада.

За характером мінливості неспецифічних естераз у досліджених популяціях *A. fuscus* ідентифікується дві групи генетичних форм: *A. fuscus*-А (2 генотипи) і *A. fuscus*-В (6 генотипів). Наявність фіксованих гетерозиготних генотипів з ефектом дози гена у окремих форм цього виду свідчить про подібність їх системи розмноження до поліплоїдних партеногенетичних видів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Лухарев И. М., Виктор А. Й. Слизни фауны СССР и сопредельных стран (Gastropoda terrestria nuda) // Фауна СССР. Л.: Наука, 1980. Т. 3. Вып. 5. 438 с.
2. Фасулати К. К. Полевое изучение наземных беспозвоночных. М.: Высшая шк., 1971. 424 с.
3. Backeljau T., Breugelmans K., Leirs H. Application of isoelectric focusing in molluscan systematics // The Nautilus. 1994. N 2. P. 156–167.
4. De Winter A. J. Little known and new south-west European slugs (Pulmonata: Agriolimacidae, Arionidae) // Zoologische Mededelingen, Leiden. 1986. N 6. P. 135–158.
5. Glen D. M., Moens R. Agriomilacidae, Arionidae and Milacidae as pests in West European cereals. In: Barker GM, ed. Molluscs as crop pests. Oxon, UK: CABI Publishing. 2002. P. 271–300.
6. Jordaens K., Geenen S., Reise H. Is there a geographical pattern in the breeding system of a complex of hermaphroditic slugs (Mollusca: Gastropoda: Carinarion)? // Heredity. 2000. Vol. 85. P. 571–579.
7. Lusi O. Changes induced in the reproductive system of *Arion ater rufus* L. by varying environmental conditions // Proceedings of the Malacological Society of London. 1966. Vol. 37. P. 19–26.

8. *McCracken G. F.* Self-fertilization and monogenic strains in natural populations of terrestrial slugs // *Proc. Nail. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 684–688.
9. *Peacock F. C., Bunting S. L., Queen K. G.* Serum protein electrophoresis in acrilamide gel patterns from normal human subjects // *Science.* 1965. Vol. 147. P. 1451–1455.
10. *Pinceel J., Jordaens K., Van Houtte N.* Molecular and morphological data reveal cryptic taxonomic diversity in the terrestrial slug complex *Arion subfuscus/fuscus* (Mollusca, Pulmonata, Arionidae) in continental north-west Europe // *Biol. J. Linnean Society.* 2004. N 83. P. 23–38.
11. *Wiktor A.* The slugs of Bulgaria (Arionidae, Milacidae, Limacidae, Agriolimacidae Gastropoda, Stylommatophora) // *Ann. Zool. Polska Akad. Nauk.* 1983. Vol. 37. P. 71–206.

Стаття: надійшла до редакції 27.01.14

доопрацьована 31.03.14

прийнята до друку 14.04.14

STRUCTURE OF *ARION SUBFUSCUS* COMPLEX (GASTROPODA, ARIONIDAE) FROM THE RIGHT BANK POLISSYA AND FOREST-STEPPE

A. Garbar, N. Kadlubovska, D. Garbar

Ivan Franko State University of Zhytomyr
40, Great Berdychivska St., Zhytomyr 10008, Ukraine
e-mail: saguaroklub@mail.ru

A. subfuscus complex in the territory of Right Bank Polissya and Forest-Steppe is represented by *A. fuscus* species, which characterized by a small dark-colored gonad. Two groups of reproductively isolated genetic forms is identified by the variability of nonspecific esterases: *A. fuscus*-A and *A. fuscus*-B. Group of *A. fuscus*-A comprises 2 genotypes and *A. fuscus*-B – 6 genotypes.

Keywords: *Arion subfuscus* sensu lato, allozyme variability of esterase, genetic structure of populations.

СТРУКТУРА КОМПЛЕКСА *ARION SUBFUSCUS* (GASTROPODA, ARIONIDAE) ПРАВОБЕРЕЖНОГО ПОЛЕСЬЯ И ЛЕСОСТЕПИ

А. Гарбар, Н. Кадлубовская, Д. Гарбар

Житомирский государственный университет имени Ивана Франко
ул. Большая Бердичевская, 40, Житомир 10008, Украина
e-mail: saguaroklub@mail.ru

Комплекс *A. subfuscus* на территории Правобережного Полесья и Лесостепи представлен видом *A. fuscus*, который характеризуется небольшой гонадой темного цвета. По характеру изменчивости неспецифических эстераз выделены две группы генетических форм: *A. fuscus*-А и *A. fuscus*-В. Группа *A. fuscus*-А представлена двумя генотипами, *A. fuscus*-В – шестью генотипами.

Ключевые слова: *Arion subfuscus* sensu lato, аллозимная изменчивость эстеразы, генетическая структура популяций.