

УДК 575.17:595.14

І. О. ПЕРШКО

Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. В. Бердичівська, 40, Житомир, 10008

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА РОДУ *MICROCOLPIA* (MOLLUSCA: GASTROPODA: MELANOPSIDAE)

Здійснено дослідження генетичної структури популяцій трьох видів роду *Microcolpia*, що сумісно проживають в одному біотопі. Встановлено відсутність фіксованих генних відмінностей та достовірних відмінностей у частотах між цими вибірками. Виявлено повну відповідність очікуваного та наявного розподілу генотипів поліморфного локусу у сумісній вибірці трьох видів роду *Microcolpia*.

Ключові слова: рід *Microcolpia*, генетична структура роду *Microcolpia*

У наш час важливого значення набувають генетичні методи систематичного аналізу. Це пов'язано з об'єктивністю результатів генетичних досліджень, які дозволяють, спираючись на фіксації альтернативних алельних станів, робити однозначні висновки про еволюційно-генетичну дискретність групи особин.

Саме тому все більшого значення у практиці систематичних досліджень набуває біологічна концепція виду, що трактує вид як генетичну перервність, яка виникає тільки у процесі історичного розвитку і протягом історично значущого періоду часу.

Застосування генетичних методів є особливо актуальним у групах із традиційно суперечливою систематикою, коли дослідники схильні по-різному трактувати статус одних і тих же форм. У таких випадках фіксація альтернативних алелей у різних груп особин дає однозначно позитивну відповідь на наявність репродуктивної ізоляції. Остання виглядає особливо переконливо у випадку симпатричного (симбіотопічного) існування видів.

Однак, на практиці значимість морфологічних ознак як критеріїв виділення виду в еволюційній концепції не втратила свого значення, а доповнилась аналізом ознак на молекулярно-генетичному рівні організації, прояви яких не залежать від середовища існування та онтогенетичної стадії, а індивідуальна мінливість на цьому рівні строго регламентується законами спадковості. Варто наголосити на тому, що на практиці систематика більшості груп тварин була, є і буде типологічною, оскільки впровадження генетичних методів, з огляду на їх трудомісткість, доцільно здійснювати тільки у дослідженнях модельних груп, систематика яких викликає особливий інтерес. В останньому випадку саме результати генетичного аналізу виступають критерієм істини. В останні десятиліття саме генетичні дослідження дозволили встановити систематичну структуру багатьох груп моллюсків [1-5].

Саме з метою уточнення систематичної структури роду *Microcolpia*, підтвердження або заперечення результатів конхіологічних та каріологічних досліджень [6-7], нами здійснено біохімічне генне маркування представників даної групи моллюсків.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для цієї роботи слугували вибірки популяцій *M. ucrainica*, *M. canaliculata*, *M. potamoctebia*, що сумісно проживають, зібраних у смт Вилкове (Одеська обл.). Електрофоретичному аналізу було піддано по 20 екз. кожного виду. Досліджено наступні ферменти: малатдегідрогеназу, аспартатамінотрансферазу, неспецифічні естерази, а також структурні білки м'язів. Електрофоретичний аналіз здійснювався у 7,5% поліакриламідному гелі і неперервній системі буферів.

Всього ідентифіковано 4 локуси неспецифічних естераз, по одному локусу малатдегідрогенази (*sMdh*) і аспартатамінотрансферази (*sAat*) та 4-5 локусів структурних білків м'язів. Електрофоретичне розділення проведено в поліакриламідному гелі в трис-ЕДТА-боратному буфері. Умови електрофоретичного розділення і забарвлення ферментів стандартні.

Результати досліджень та їх обговорення

Рід *Microcolpia* у фауні України згідно запропонованої Я. І. Старобогатовим класифікації, що ґрунтується на компараторному методі, представлений трьома видами – *M. ucrainica*, *M. canaliculata*, *M. potamoctebia* [8]. Натомість, здійснені комплексний каріологічний та конхіологічний аналіз не виявив суттєвих відмінностей у будові черепашки та особливостях каріотипу між представниками цих видів, які б однозначно дозволили стверджувати про їх валідність [6-7].

У результаті електрофоретичного аналізу досліджуваних ферментів було встановлено, що всі локуси, за винятком *sMdh*, є інваріантними. У тому числі надзвичайно мінливими і, як правило, такими, що мають високу видоспецифічність, були локуси, що кодують неспецифічні естерази (рис. 1).

Поліморфним виявився тільки той локус (*sMdh*), який кодує розчинну форму малатдегідрогенази. Він представлений у вибірці двома алелями, частота яких не відрізнялась у досліджуваних видів (табл. 1).

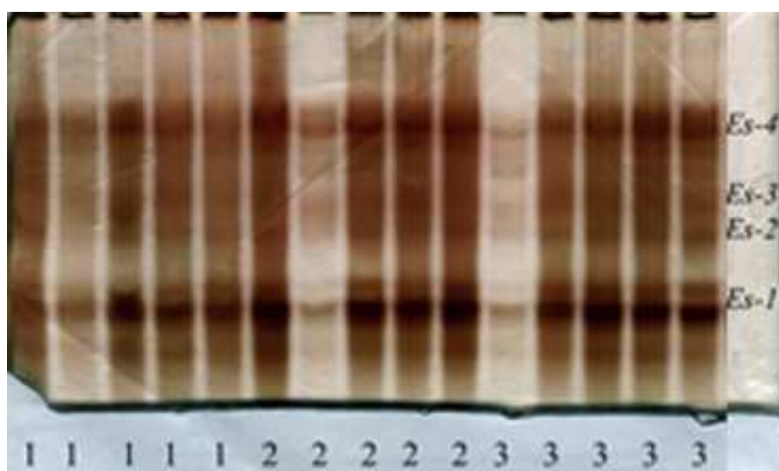


Рис. 1. Інваріантність електрофоретичних спектрів неспецифічних естераз м'язів трьох видів молюсків роду *Microcolpia*: 1 – *M. ucrainica*, 2 – *M. canaliculata*, 3 – *M. potamoctebia*, Es-1, Es-2, Es-3, Es-4 - відповідні локуси.

Таблиця 1

Частоти алеля з низькою електрофоретичною рухливістю *sMdh^S* у видів роду *Microcolpia*

<i>M. ucrainica</i>	<i>M. canaliculata</i>	<i>M. potamoctebia</i>
0,825 ± 0,08	0,825 ± 0,08	0,925 ± 0,08

Проведений тест на відповідність розподілу генотипів локусу *sMdh* моделі панміксової популяції показує, що розподіл генотипів у змішаній вибірці відповідає очікуваному розподілу (табл. 2). Про це свідчить дуже низьке значення критерію χ^2 . Такий результат можна отримати у двох випадках: у ситуації вільних схрещувань між трьома передбачуваними видами, що у практиці популяційно-генетичних досліджень дотепер не було відомо, або у випадку єдиної панміксової популяції, особини якої схрещуються один із одним без обмежень.

Таблиця 2

Розподіл генотипів локусів *sMdh* у змішаній вибірці видів роду *Microcolpia*

<i>sMdh^{S/S}</i>	<i>sMdh^{S/F}</i>	<i>sMdh^{F/F}</i>	χ^2
58 (57)	19 (21)	3 (1,95)	0,79

Примітка: напівжирним шрифтом позначено розподіл, що спостерігається, у дужках – розподіл, що очікується.

Висновки

Отже, дослідження генетичної структури популяцій видів роду *Microcolpia*, що проживають сумісно, показало відсутність фіксованих генних відмінностей, а також достовірних відмінностей у частотах між цими вибірками. Встановлено повну відповідність очікуваного та наявного розподілу генотипів поліморфного локусу у сумісній вибірці трьох видів, зібраних із одного і того ж біотопу. Це дає підстави вважати, що три передбачувані види є морфологічними формами одного і того ж виду. У перспективі, для підтвердження цієї гіпотези необхідними вбачаємо здійснення генетичних досліджень різних популяцій *Microcolpia*.

1. Гарбар О. В. Генетическая структура популяций и морфологическая изменчивость *Limax maximus* (Linnaeus, 1758) (Pulmonata, Limacidae) Правобережной Украины / О. В. Гарбар, Т. М. Чернишова, Д. А. Гарбар // *Ruthenica*. — 2011. — Том 21, № 1. — С. 1—8.
2. Гарбар О. В. Алозимна та морфологічна мінливість видів роду *Fagotia* Bourguignat, 1884 (Gastropoda, Pectinibranchia, Melanopsidae) / О. В. Гарбар, Н. М. Стельмашук, Д. А. Гарбар // *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка*. — 2012. — Том 51, № 2. — С. 66—70.
3. Межжерин С. В. Механизмы стабилизации гибридных зон у пресноводных моллюсков: тестирование гипотез путем моделирования экологической ниши (Gastropoda, Pulmonata) / [С. В. Межжерин, В. М. Титар, Д. А. Гарбар та ін.] // *Доповіді національної академії наук України*. — 2010. — № 12. — С. 144—149.
4. Межжерин С. В. Генетическая изменчивость и филогеография двух видов пресноводных легочных моллюсков (Gastropoda, Pulmonata) фауны Украины / [С. В. Межжерин, А. В. Гарбар, Д. А. Гарбар та ін.] // *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 82—87.
5. Кадлубовська, Н. С., Гарбар, О. В. (2016) *Видовий склад комплексу Arion Subfuscus (Gastropoda, Arionidae) в Україні*. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія (40). pp. 55—59.
6. Першко І. О. Особливості каріології представників родів *Fagotia* і *Microcolpia* (Gastropoda, Pectinibranchia, Melanopsidae) фауни України / Першко І. О. // *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. — 2011. — Вип. 54. — С. 33—44.
7. Першко І. О. Систематична структура родини *Melanopsidae* (Mollusca: Gastropoda: Pectinibranchia) з урахуванням конхіологічних, анатомічних та каріологічних ознак / Першко І. О. // *Вісник Тернопільського пед. університету. Серія Біологія*. — 2011. — Вип. 3 (48). — С. 31—38.
8. Старобогатов Я. И. *Fagotia* и *Microcolpia* (Gastropoda, Pectinibranchia, Melanopsidae) и их представители в современной фауне / Старобогатов Я. И., Алексенко Т. Л., Левина О. В. // *Бюл. МОИП. Отд. биол.* 1992. Т. 97, № 3. С. 57—72.

И. А. Першко

Житомирский государственный университет имени Ивана Франко

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РОДА *MICROCOLPIA* (MOLLUSCA: GASTROPODA: MELANOPSIDAE)

Осуществлено исследование генетической структуры популяций совместно проживающих в одном биотопе трех видов рода *Microcolpia*. Установлено отсутствие фиксированных генных отличий и достоверных отличий в частотах между данными выборками. Выявлено полное соответствие ожидаемого и имеющегося распределения генотипов полиморфного локусу в совместимой выборке трех видов рода *Microcolpia*.

Ключевые слова: род *Microcolpia*, генетическая структура рода *Microcolpia*

I. Pershko

Zhytomyr Ivan Franko State University, Ukraine

THE GENETIC STRUCTURE OF *MICROCOLPIA* GENUS (MOLLUSCA: GASTROPODA: MELANOPSIDAE)

Nowadays the genetic methods of the systematic analysis get a great importance. It is connected with the objectivity of the results of genetic researches, which allow, relying on fixation of alternative allelic conditions, to draw definite conclusions about an evolutionary-genetic discretion of the group of individuals.

It is therefore increasingly important in the practice of the systematic researches acquires the biological species concept, which treats the species as a genetic discontinuity, which appear only in the process of historical development and for a historically significant period of time.

The application of the genetic methods is particularly important in groups, with traditionally contradictory systematics, when the researchers are inclined to interpret the status of the same forms in different ways. In such cases, the fixation of the alternative alleles in the different groups of individuals definitely gives a positive response to the availability of reproductive isolation. The last looks especially convincing in the case of simpatrical (simbiotopical) of the existence of the species.

However in practice the importance of morphological characteristics as the criteria for identifying species in evolutionary concept did not lost its importance, but supplemented with an analysis of the signs at the molecular genetics level of the organizations, the manifestations of which does not depend on habitat and ontogenetic stages and individual variability at this level is strictly governed by the laws of heredity. It should be emphasized that in practice the taxonomy of the most groups of animals was, is and will be typological, inasmuch as the introduction of genetic methods, because of their complexity, it is advisable to realize only in researches of model groups, taxonomy of which is particular interesting. Exactly the results of genetic analysis are the criterion of truth in the last case. In the recent decades, namely genetic researchers allowed to establish the systematic structure of many groups of the mollusks.

We realized biochemical genetic marking of the representatives of the available group of molluscs exactly for making more precise the systematic structure of the *Microcolpia* genus, confirmation or denial of the results of the conchological and kariological researches.

The selections of the mollusks *M. ucrainica*, *M. canaliculata*, *M. potamoctebia*., which live together and was gathered in the village Vylkove (Odessa region) were as the material for this work. The 20 copies of each species were studied by electrophoretic analysis. Was researched the next ferments: malate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, nonspecific esterases and structural proteins of muscles. Electrophoretic analysis was carried out in 7.5% poliakrylamidnome gels and continuous system of the buffers.

The 4 loci of the nonspecific esterase, one locus of the malate dehydrogenase (*sMdh*) and the aspartate aminotransferase (*sAat*) and 4-5 loci of the structural muscle proteins were totally identified. Electrophoretic separation was carried out in poliakrylamidnome gels in tris-EDTA buffer. Conditions of the electrophoretic separation and coloring of the ferments are typical.

As a result of electrophoretic analysis of the researched ferments was found that all loci, except for *sMdh*, are invariant. Including extremely changing and as usually those that are highly species-specific, were the loci that are encoding of the nonspecific esterases.

Only one locus (*sMdh*), which encodes a soluble form malate dehydrogenase was polymorphic. It is represented in the selections with two alleles, the frequency of which did not differ in the researched species.

The conducted test for conformity of the distribution of the genotypes of the locus *sMdh* population panmixia model, indicates that the distribution of genotypes in mixed selection corresponds to the expected distribution. This is evidenced by the very low value of the χ^2 criterion. This result can be obtained in two cases: in a situation of free interbreeding between the three predictable species, which in the practice of population-genetic researches are still not known, or in the case of a single population panmixia, individuals of which interbreed with each other without restrictions.

Consequently researching of the genetic structure of species of the *Microcolpia* genus, which live together, was revealed the absence of the fixed genetic differences and reliable differences in the frequencies between the given selections. The full conformity with existing and anticipated distribution of genotypes of polymorphic loci in a joint selection of three species which was gathered in a biotope was established. This gives the reason to believe that the three predictable species are the morphological forms of the same species. To confirm this hypothesis in the future are necessary to see the actualization of the genetic studies of different populations *Microcolpia*.

Key words: the Microcolpia genus, the genetic structure of Microcolpia genus