

УДК: 594.38

Особливості каріології представників родини Bithyniidae (Mollusca: Gastropoda: Pectinibranchia) фауни України

І.О.Першко

Житомирський державний університет імені Івана Франка (Житомир, Україна)
iperszko@op.pl

Досліджено каріотиби п'ять видів родини Bithyniidae фауни України: *B. (Bithynia) curta*; *B. (Milletelona) decipiens*; *B. (Bithynia) producta*; *B. (Bithynia) tentaculata*; *Digyracidum bourguignati*. Кількість хромосом у всіх видів становить 17 пар, хромосомна формула представлена метацентричними, субметацентричними та субтелоцентричними морфологічними типами хромосом. Основне число $NF=68$. Проаналізовано можливість використання морфологічних типів хромосом, середніх значень центромерного індексу та абсолютної довжини хромосом як інтегруючих та диференціюючих факторів в межах родини Bithyniidae. Виявлено по одній маркерній хромосомі для кожного досліджуваного виду. Решта хромосомних пар за своєю морфологічною структурою виявилися подібними для видів родини Bithyniidae.

Ключові слова: молюски, Bithyniidae, каріологія.**Особенности каріології представителів семейства Bithyniidae (Mollusca: Gastropoda: Pectinibranchia) фауни України**

И.А.Першко

Исследованы каріотиби пяти видов семейства Bithyniidae фауны Украины: *B. (Bithynia) curta*; *B. (Milletelona) decipiens*; *B. (Bithynia) producta*; *B. (Bithynia) tentaculata*; *Digyracidum bourguignati*. Количество хромосом у всех видов составляет 17 пар, хромосомная формула представлена метацентрическими, субметацентрическими и субтелоцентрическими морфологическими типами хромосом. Основное число $NF=68$. Проанализирована возможность использования морфологических типов хромосом, средних значений центромерного индекса и абсолютной длины хромосом как интегрирующих и дифференцирующих факторов в пределах семейства Bithyniidae. Обнаружено по одной маркерной хромосоме для каждого исследуемого вида. Остальные хромосомные пары по морфологической структуре оказались одинаковыми для видов исследуемого семейства.

Ключевые слова: моллюски, Bithyniidae, каріологія.**Karyological features of family Bithyniidae (Mollusca: Gastropoda: Pectinibranchia) in the fauna of Ukraine**

I.A.Pershko

Karyotypes of five species of family Bithyniidae in the fauna of Ukraine: *B. (Bithynia) curta*; *B. (Milletelona) decipiens*; *B. (Bithynia) producta*; *B. (Bithynia) tentaculata*; *B. (Bithynia) bourguignati* have been investigated. The quantity of chromosomes makes 17 pairs; chromosomal formula is presented by metacentric, submetacentric and subtelocentric morphological types of chromosomes. The basic number is $NF=68$. Possibility of using of morphological types of chromosomes, mean values of centromeric index and absolute lengths of chromosomes as integrating and differentiating factors within the family Bithyniidae has been analyzed. One marker chromosome for each investigated species has been revealed. The rest of chromosomal pairs for their morphological structure were similar for the species of family Bithyniidae.

Key words: mollusca, Bithyniidae, karyology.**Вступ**

Хромосоми вперше були виявлені у клітині на стадії мітозу у кінці 19 ст. класиками цитології В.Флеммінгом і Е.Страсбургером (Fleming, 1882). Це відкриття стимулювало появу нового напрямку у вивченні живих організмів та розробку і вдосконалення методів дослідження цього аспекту. Цитогенетичні та каріологічні методи дослідження відкривають нові можливості для побудови природної системи організмів та при прогнозуванні можливих шляхів еволюційних процесів. Каріотип вважають консервативною ознакою, котра може використовуватися як систематична характеристика для таксонів різного рангу (Орлов, Булатова, 1983).

На сьогодні цитогенетичними та каріологічними дослідженнями охоплено різні групи безхребетних: одноклітинні тварини (Пяткявичюте и др., 1989), трематоди (Баршене, 1992), олігохети та поліхети. Досить перспективним в плані вивчення каріології та цитогенетики є тип Mollusca. Слід відмітити значний науковий доробок щодо висвітлення цього аспекту для різних груп як двостулкових, так і червононогих його представників.

Найбільша кількість робіт каріологічного плану присвячена червононогим молюскам, зокрема легенеvim (Burch, 1960 та ін.). Каріологічні дослідження червононогих на території України довгий час не проводилися. Піонером у цій галузі можна вважати О.В.Гарбара, якому належить значний науковий доробок щодо особливостей каріології 16 видів *Lymnaea* (Гарбар, 2001). В його роботах наведено детальні описи каріотипів європейських ставковиків, встановлено їх хромосомні формули та основні лінійні параметри, проаналізовано можливість використання каріологічного критерію для видової ідентифікації, висвітлено ймовірні шляхи еволюційних перетворень каріотипів цієї групи.

Перші роботи по вивченню каріологічних особливостей передньозябрових молюсків датуються другою половиною 20 століття. Так, детально описано дві каріологічні раси *Melanioides tuberculatus*: диплоїдну ($2n=32$) та гексаплоїдну ($2n=90-94$) (Ieyama, 1977).

Аналіз літературних даних свідчить про недостатню розробленість даної теми для видів родини Bithyniidae. Єдине, для одного виду цієї родини встановлено гаплоїдне число хромосом ($n=17$) та досліджено поведінку хромосом при сперматогенезі (Chung, 1984). З огляду на це не викликає сумніву необхідність детального вивчення каріологічних особливостей вищезгаданої родини молюсків та аналіз можливостей використання каріологічного критерію для видової ідентифікації в межах групи.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктом каріологічних досліджень були п'ять видів родини Bithyniidae: *B. (Bithynia) curta* Moquin-Tandon, 1855; *B. (Milletelona) decipiens* Millet, 1843; *B. (Bithynia) producta* Moquin-Tandon, 1855; *B. (Bithynia) tentaculata* (Linnaeus, 1758); *Digyracidum bourguignati* (Paladilhe, 1896).

Матеріал походить з територій Вінницької, Волинської, Житомирської, Миколаївської, Одеської, Рівненської, Херсонської та Хмельницької областей України. Молюсків для каріологічних досліджень збирали у період їх максимальної статевої активності (травень-серпень).

Препарати хромосом готували за методикою висушених препаратів із попереднім колхіцинуванням тварин (Gogman, 1973). Молодих тварин протягом 16–19 год. витримували у 0,001–0,002%-ому розчині колхіцину. Для дослідження хромосомних наборів брали зразки тканин гонад. Їх подрібнювали, гіпотонували 15–20 хв. в дистильованій воді. Матеріал фіксували в суміші метанолу та льодяної оцтової кислоти (3:1). Шматочки тканин мацерували в суміші кислот: льодяної оцтової та 60% молочної (6:1) (Побережний, Ситникова, 1978). Клітинну суспензію розкапували за допомогою капілярної піпетки на підігрітій до 50°C чистій предметній скельця. Препарати висушували на повітрі при кімнатній температурі. Фарбували їх за Романовським у 10% розчині азур-еозину на 0,01 М фосфатному буфері (рН 6,8) протягом 20–25 хв.

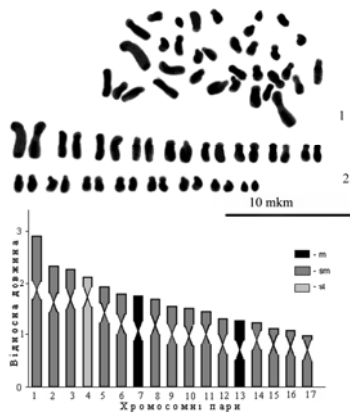
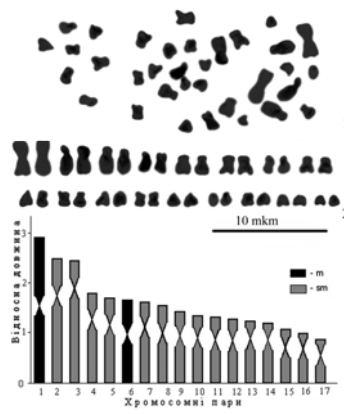
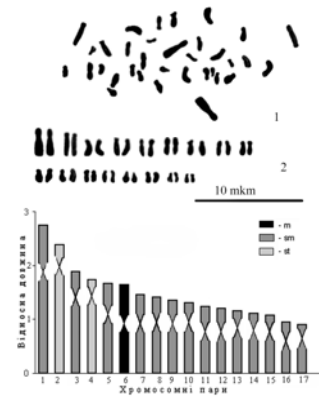
Перегляд готових препаратів здійснювали за допомогою мікроскопів «Біолам–Л-212» та «Мікмед» при збільшенні 900 (об. 90, ок. 10). Для дослідження відбирали метафазні пластинки ($2n$) із задовільним розміщенням хромосом та приблизно однаковим ступенем їх спіралізації. Аналізували не менше 50 метафаз кожного виду. Для каріотипування фотографували 8–10 метафазних пластинок. Фотозйомку для визначення розмірів хромосом здійснювали цифровою відеокамерою. Для кожної хромосоми розраховували центромерний індекс (Ci =довжина короткого плеча / довжина хромосоми · 100%), визначали довжину диплоїдного набору (TCL) та відносну довжину хромосом (RL =загальна довжина хромосомної пари / TCL · 100%). Лінійні параметри хромосомних наборів оброблено методами варіаційної статистики (Microsoft Excel 97).

Результати та обговорення

У результаті дослідження встановлено особливості каріотипу 5 видів родини Bithyniidae фауни України.

B. (Bithynia) curta

Диплоїдний набір ($2n$) включає 34 хромосоми. Довжина диплоїдного набору $TCL=28,05\pm 3,18$ мкм. Відносна довжина хромосом варіює від 2,75 (1-а пара) до 0,89 (17-а пара). У каріотипі виду представлено три морфологічні типи хромосом (рис. 1, табл. 1). Метацентричними є 7-а та 6-а пари хромосом. Центромера 4-ї хромосомної пари займає субтелоцентричне положення. Решта хромосом – субметацентричні. Хромосомна формула $2n=4m+28sm+2st=34$. Основне число $NF=68$.

Рис. 1. Хромосоми *B. curta*Рис. 2. Хромосоми *B. decipiens*:
1 – мітотична метафаза;
2 – каріограма; 3 – ідіограмаРис. 3. Хромосоми *B. producta****B. (Milletelona) decipiens***

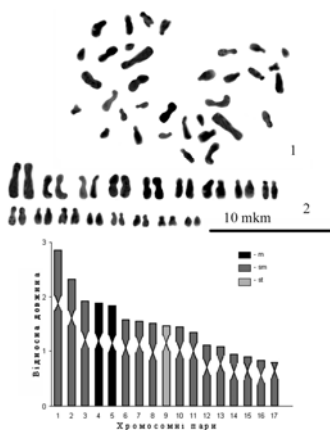
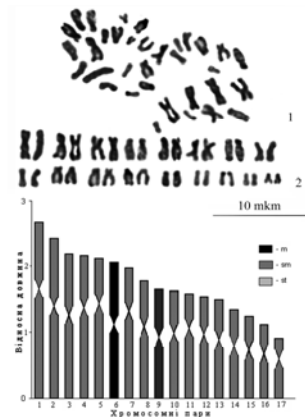
Диплоїдний набір (2n) включає 34 хромосоми. Довжина диплоїдного набору $TCL=26,62\pm 2,52$ мкм. Відносна довжина хромосом варіює від 2,89 (1-а пара) до 0,84 (17-а пара). Каріотип представлений хромосомами двох морфологічних типів (рис. 2, табл. 1). Метацентричними є 1-а та 6-а пари хромосом. Решта хромосом – субметацентричні. Хромосомна формула $2n=4m+30sm=34$. Основне число $NF=68$.

B. (Bithynia) producta

Диплоїдний набір (2n) включає 34 хромосоми. Довжина диплоїдного набору $TCL=25,13\pm 2,65$ мкм. Відносна довжина хромосом варіює від 2,89 (1-а пара) до 0,96 (17-а пара). Каріотип виду представлений хромосомами трьох морфологічних типів (рис. 3, табл. 1). Метацентричною є 6-а пара хромосом, субтелоцентрична – 2-та 4-а, решта хромосомних пар – субметацентрики. Хромосомна формула $2n=2m+28sm+4st=34$. Основне число $NF=68$.

B. (Bithynia) tentaculata

Диплоїдний набір (2n) включає 34 хромосоми. Довжина диплоїдного набору $TCL=24,93\pm 2,72$ мкм. Відносна довжина хромосом варіює від 2,84 (1-а пара) до 0,78 (17-а пара) (рис. 4, табл. 1). Метацентричними є 4-а та 5-а хромосомні пари, 9-а пара хромосом є субтелоцентричною. Центромера решти хромосомних пар займає субметацентричне положення. Хромосомна формула $2n=4m+28sm+2st=34$. Основне число $NF=68$.

Рис. 4. Хромосоми *B. tentaculata*Рис. 5. Хромосоми *D. bourguignati*:
1 – мітотична метафаза; 2 – каріограма; 3 – ідіограма

Таблиця 1.

Основні параметри каріотипів видів родини Bithyniidae

Вид	Хромосомна формула	NF	TCL, мкм
<i>B. (Bithynia) curta</i>	$2n=4m+28sm+2st=34$	68	28,05±3,18
<i>B. (Milletelona) decipiens</i>	$2n=4m+30sm=34$	68	26,62±2,52
<i>B. (Bithynia) producta</i>	$2n=2m+28sm+4st=34$	68	25,13±2,65
<i>B. (Bithynia) tentaculata</i>	$2n=4m+28sm+2st=34$	68	25,93±2,72
<i>D. bourguignati</i>	$2n=4m+30sm=34$	68	28,80±2,83

Digyracidum bourguignati

Диплоїдний набір (2n) включає 34 хромосоми. Довжина диплоїдного набору $TCL=28,80\pm 2,83$ мкм. Хромосоми поступово зменшуються в розмірах від 1-ї до 17-ї пари. Відносна довжина хромосом варіює від 2,67 (1-а пара) до 0,89 (17-а пара) (рис. 5, табл. 1). Метацентричними є 6-а та 9-а, решта хромосом є субметацентричними. Хромосомна формула $2n=4m+30m=34$. Основне число $NF=68$.

Проведений каріологічний аналіз виявив подібність за кількістю хромосом диплоїдного набору ($2n=34$) та його довжиною (TCL) п'яти видів родини Bithyniidae фауни України (*B. (Bithynia) curta*, *B. (Milletelona) decipiens*, *B. (Bithynia) producta*, *B. (Bithynia) tentaculata*, *D. bourguignati*) (табл. 1).

При порівнянні морфологічних типів хромосом видів родини Bithyniidae виявлено відсутність субтелоцентриків у *B. (Milletelona) decipiens* та *D. bourguignati*. Подібні хромосомні формули та наявність трьох морфологічних типів хромосом (m, sm, st) встановлено для *B. (Bithynia) producta*, *B. (Bithynia) tentaculata* та *B. (Bithynia) curta*.

Аналіз хромосомних формул дозволяє говорити про наявність у межах родини трьох умовних груп видів: I – *B. (Milletelona) decipiens*–*D. bourguignati*, II – *B. (Bithynia) curta*–*B. (Bithynia) tentaculata* та III – *B. (Bithynia) producta*.

Для статистичної обробки використано середні значення центромерного індексу, відносну довжину та морфологічний тип хромосом видів родини Bithyniidae (табл. 2, рис. 6, 7). Для статистичного аналізу використано проміри 10 метафазних пластинок кожного виду.

Таблиця 2.

Морфологічні типи хромосом видів родини Bithyniidae

Хромосомна пара	<i>B. curta</i>	<i>B. decipiens</i>	<i>B. producta</i>	<i>B. tentaculata</i>	<i>D. bourguignati</i>
1	sm	m	sm	sm	sm
2	sm	sm	st	sm	sm
3	sm	sm	sm	sm	sm
4	st	sm	st	m	sm
5	sm	sm	sm	m	sm
6	sm	m	m	sm	m
7	m	sm	sm	sm	sm
8	sm	sm	sm	sm	sm
9	sm	sm	sm	st	m
10	sm	sm	sm	sm	sm
11	sm	sm	sm	sm	sm
12	sm	sm	sm	sm	sm
13	m	sm	sm	sm	sm
14	sm	sm	sm	sm	sm
15	sm	sm	sm	sm	sm
16	sm	sm	sm	sm	sm
17	sm	sm	sm	sm	sm

Аналіз морфологічної структури хромосомних наборів видів родини Bithyniidae вказує на можливість використання даного параметру як диференціюючої ознаки у межах групи (табл. 2). Так, маркерною для *B. (Bithynia) producta* виявилася друга пара субтелоцентриків, у решти представників родини ця пара хромосом є метацентричною. Морфологічний тип сьомої (m) та тринадцятої (m) пари хромосом є специфічним для *B. (Bithynia) curta*. Для *B. tentaculata* виявлено достовірні відмінності за морфологічною будовою 4-ї (m), 5-ї (m) та 9-ї (st) хромосомних пар. Метацентрична морфологія

дев'ятої пари хромосом дозволяє відокремити від решти видів групи *D. bourguignati*. Маркерною для *B. (Milletelona) decipiens* є перша пара метацентриків. Решта хромосомних пар за своєю морфологічною структурою виявилися подібними для видів родини Bithyniidae.

Статистичний аналіз середніх значень центромерного індексу хромосомних пар представників родини Bithyniidae виявив можливість використання даного показника для диференціації окремих видів та як інтегруючий фактор (рис. 6). Від інших представників групи за значенням центромерного індексу другої пари хромосом відрізняється *B. (Bithynia) curta*. Центромерний індекс третьої хромосомної пари *D. bourguignati* є дещо більшим, ніж у решти видів бітиній. Значення досліджуваного параметра дев'ятої пари хромосом дозволяє надійно відмежувати *B. (Bithynia) tentaculata*.

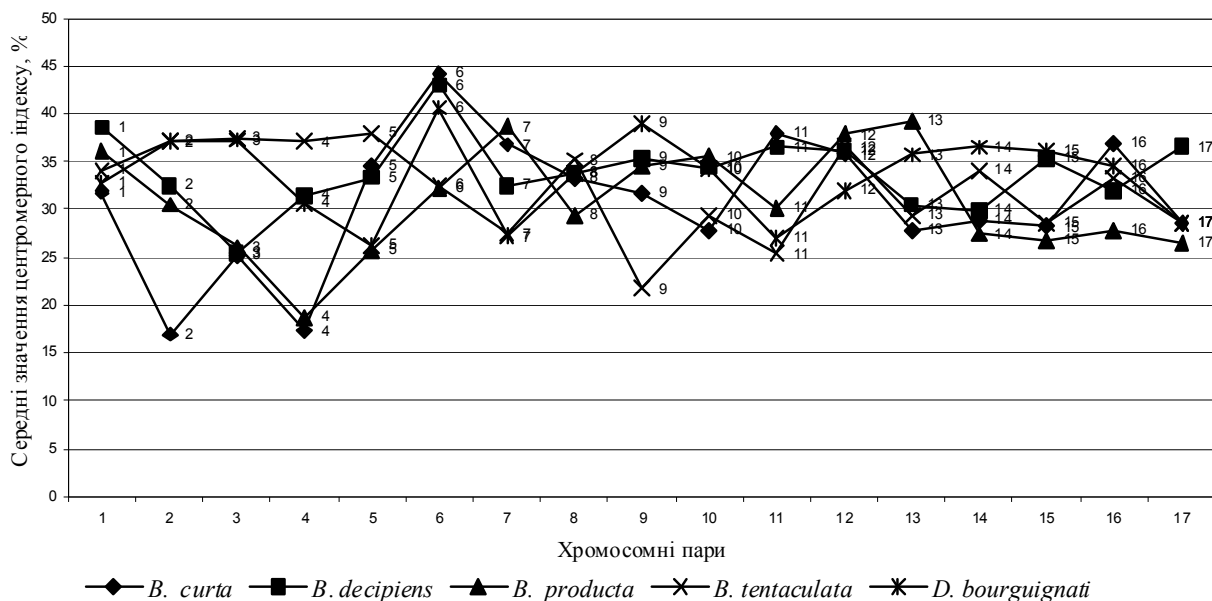


Рис. 6. Ідіограма центромерного індексу хромосом видів родини Bithyniidae

Разом з тим не менш важливою є інтегруюча роль центромерного індексу. Так, подібними значеннями досліджуваного параметру 3-, 4- та 7-ї пар хромосом характеризуються *B. (Bithynia) curta* та *B. (Milletelona) decipiens*. Центромерний індекс шостої пари хромосом об'єднує такі види як: *B. (Bithynia) curta*, *B. (Milletelona) decipiens* та *D. bourguignati*, дванадцятої пари – *B. (Bithynia) curta*, *B. (Milletelona) decipiens* та *B. (Bithynia) tentaculata*. Необхідно також відмітити стабільність досліджуваного параметру 1-, 10- та 12-ї хромосомних пар для всіх видів родини Bithyniidae.

Значну подібність між видами досліджуваної групи виявлено у результаті статистичного аналізу відносної довжини хромосом (рис. 7).

Всі види групи виявилися близькими за відносною довжиною першої пари хромосом. Значення досліджуваного параметру другої хромосомної пари дещо відрізняється лише у *B. (Bithynia) tentaculata*. Починаючи від четвертої пари хромосом, на графіку можна простежити деяку дистанцію між групою *B. (Bithynia) tentaculata*–*B. (Bithynia) curta*–*B. (Milletelona) decipiens*–*B. (Bithynia) producta* та *D. bourguignati*. Разом з тим необхідно відмітити, що характер зменшення відносної довжини хромосом суттєво не відрізняється у видів досліджуваної родини.

Проведені каріологічні дослідження та здійснений аналіз особливостей морфології хромосом видів родини Bithyniidae відкриває нові можливості для вирішення проблем систематики даної групи. Деякі з цих ознак мають однаковий стан у всіх досліджених видів, а по деяким родину Bithyniidae можна було б розділити на частини. Наприклад, відсутність ідентичних хромосомних формул підтверджує валідність досліджуваних видів. З іншого боку, значення основного числа (NF=68 для всіх видів родини), майже однакові значення довжини диплоїдного набору, недостатню кількість маркерних хромосом (1, 2 для кожного виду) можна розглядати як фактори, що ставлять під сумнів існуючу систематичну структуру родини Bithyniidae. Перспективним для подальших досліджень в даній групі вважаємо застосування генетичних методів систематичного аналізу, які дозволяють, спираючись на фіксації альтернативних аельних станів, робити однозначні висновки про еволюційно-генетичну дискретність сукупності особин.

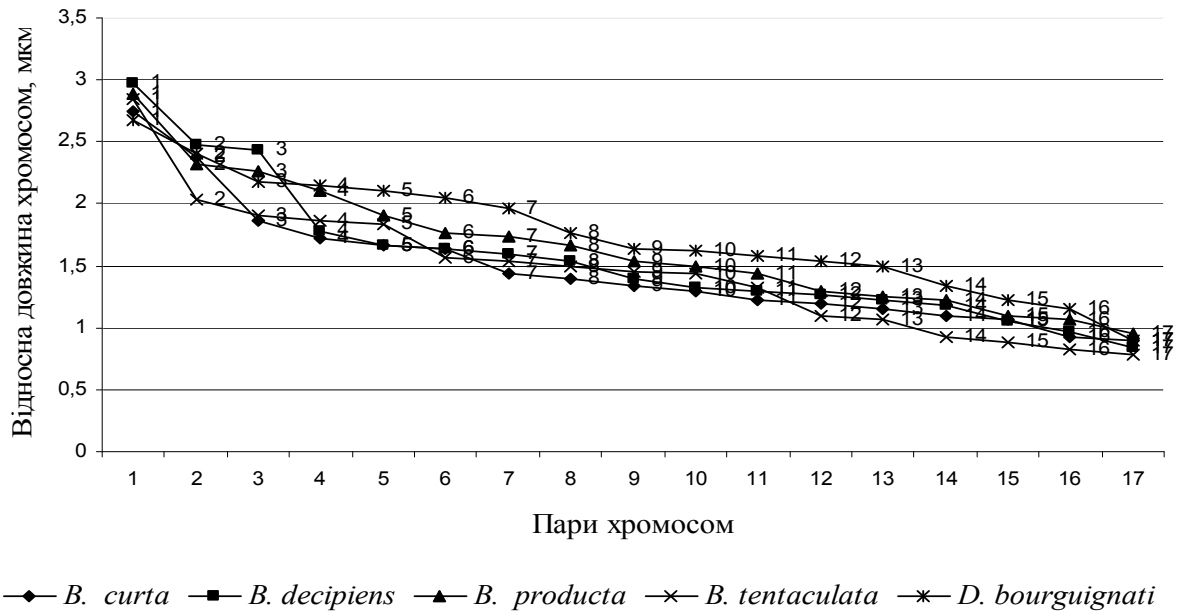


Рис. 7. Ідіограма відносної довжини хромосом видів родини Bithyniidae

Список літератури

- Баршене Я.В. Кариотипы трематод. – Вильнюс: «АСА ДЕМИА», 1992. – 371с. /Barshene Ya.V. Kariotipy trematod. – Vil'nyus: «ASA DEMIA», 1992. – 371s./
- Гарбар О.В. Комплексне кариологічне та морфологічне дослідження ставковиків фауни України. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 2001. – 20с. /Garbar O.V. Kompleksne kariologichne ta morfologichne doslidzhennya stavkovyviv fauny Ukrainy. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. – K., 2001. – 20s./
- Орлов В.Н., Булатова Н.Ш. Сравнительная цитогенетика и кариосистематика млекопитающих. – М.: Наука, 1983. – 405с. /Orlov V.N., Bulatova N.Sh. Sravnitel'naya tsitogenetika i kariosistematika mlekopitayushchikh. – M.: Nauka, 1983. – 405s./
- Побережный Е.С., Ситникова Т.Я. Хромосомы байкальского моллюска *Benedictia baicalinensis* (Gastropoda, Prosobranchia) // Зоол. журн. – 1978. – №8. – С. 1270–1273. /Poberezhnyy Ye.S., Sitnikova T.Ya. Hromosomy baykal'skogo mollyuska *Benedictia baicalinensis* (Gastropoda, Prosobranchia) // Zool. zhurn. – 1978. – №8. – S. 1270–1273/
- Пяткявичюте Р.Б., Киселене В.К., Стенько Р.П. Цитогенетический анализ двух популяций *Diplodiscus subclavatus* (Goeze, 1782) (Trematoda, Diplodiscidae) // Паразитология. – 1989. – Т.23, вып.6. – С. 489–495. /Pyatkyavichyute R.B., Kiselene V.K., Sten'ko R.P. Tsitogeneticheskiy analiz dvukh populyatsiy *Diplodiscus subclavatus* (Goeze, 1782) (Trematoda, Diplodiscidae) // Parazitologiya. – 1989. – T.23, vyp.6. – S. 489–495/
- Burch J.B. Chromosome studies of aquatic pulmonate snails // Nucleus. – Vol.3, №2. – P. 177–208.
- Chung P.R. A comparative study of three species of Bithyniidae (Mollusca: Prosobranchia) // Malacol. Rev. – 1984. – Vol.17, №1–2. – P. 1–66.
- Fleming W. Zellsubstanz kern, und zelltheilung. T. C. W. – Leipzig: Vogel, 1882. – S. 18–20.
- Gorman G.G. The chromosomes of Reptilia, a cytotoxic interpretation. – Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution // L., N., W.: Academie Press, 1973. – P. 43–57.
- Ieyama H. Studies on chromosomes of two species of the Mytilidae (Bivalvia, Pteriomorphia) // Venus. – 1977. – Vol.36, №1. – P. 25–28.

Представлено: О.П.Житовою / Presented by: O.P.Zhitova

Рекомендовано до друку: Д.А.Шабановим / Recommended for publishing by: D.A.Shabanov

Подано до редакції / Received: 02.12.2009.