

ЗООЛОГІЯ

Науковий часопис Національного педагогічного університету імені М.П. Драгоманова.
Серія 20. Біологія. – 2016. – випуск 6. – С. 27 - 33

УДК 594.575

Чернишова Т. М.

КАРІОТИПИ ВИДІВ РОДИНИ LIMACIDAE (GASTROPODA: PULMONATA)

Вперше з території України описані каріотиби молюсків роду *Limax* (*L. cinereoniger*, *L. Maximus*, *L. Flavus*). Визначені гаплоїдні ($n=31$), диплоїдні числа хромосом ($2n=6r$), а також основне число ($NF=124$).

Також було проаналізовано хромосомні числа представників різних родин слизнів, які варіюють в межах від $n=40$ у *L. Melitensis* до $2n= 68$ у *T. Cristata*.

Молюски, каріотип, каріологія, Limax, L. maximus, L. flavus, L. cinereoniger

До родини Limacidae Rafinesque, 1815 належать слизні великих та середніх розмірів. Вони мешкають в листяних, особливо широколистяних, і в мішаних лісах, в затінених місцях з багатою і достатньо вологою підстилкою або під густим трав'яним покривом, по ярам, ущелинам і вздовж лісних річок та струмків (*maximus* (Linnaeus, 1758), *Limax cinereoniger* (Wolf, 1803)). В чисто хвойних насадженнях мешкають лише декілька видів (*Malacolimax tenellus* (Müller, 1774), *L. cinereoniger*) і то лише при достатній вологості і наявності грибів і лишайників. Велика кількість видів слизнів заселяє гірські ліси в Карпатах України (*Lehmannia marginata* (Müller, 1774), *Bielzia coeruleans* (M. Bielz, 1851) та інші. Деякі слизні на зимовий період можуть поселятися у вологих погребках та теплицях (*L. cinereoniger*).

Родина Limacidae, до якої належить і рід *Limax* Linnaeus, 1758, як і більшість наземних черевоногих молюсків, каріологами практично не досліджена. Перші описи каріотипів деяких представників цієї групи були зроблені Г. Бесоном [6]. Він описав хромосомні числа (n) *L. cinereoniger* та *L. maximus* з Британії, використовуючи методику давлених препаратів. Це методика виготовлення препаратів без додаткового введення колхіцину у тварину, коли вирізану гонаду розчавлювали на предметному скельці, а потім розфарбовували. Він також визначив гаплоїдні числа ще для 16 видів слизнів. У досліджуваних видів число хромосом варіює від $n = 24$ у *L. marginata* до

$n=34$ у *Milax sowerbii* (Ferrusac, 1823). Останнім часом були описані каріотиби ще кількох видів слизнів з Італії: *Lehmannia melitensis* (Lessona & Pollonera, 1882) ($n=20$; $2n=22m+6sm+10st+2t$) та *Milax nigricans* (Philippi, 1836) ($n=33$; $2n=54m/sm+12st/t$) [10, 12], *Deroceras panormitanum* ($n=31$; $12m+13sm+6st$) [7], *Tandonia sowerbyi* (Férussac, 1823) ($n=33$; $21m+9sm+3st$) та *Limax flavus* (Linnaeus, 1758) ($n=31$; $15m+12sm+4st$) [7].

Отже, каріотиби молюсків роду *Limax* практично не досліджені. Вся інформація про хромосомні числа його представників базується на епізодичних дослідженнях здебільшого гаплоїдного набору, які датуються серединою минулого століття. Відомості про каріотиби більшості видів слизнів фауни Європи, в тому числі й з українських популяцій, на сьогодні відсутні. Тому вивчення каріотипів цих тварин є особливо актуальним.

Матеріал і методика досліджень

Об'єктом для каріологічних досліджень слугували три види молюсків роду *Limax*: *L. maximus*, *L. flavus* та *L. cinereoniger*, зібраних у період їх найбільшої статевої активності (квітень – червень, серпень – початок жовтня). Всього було зібрано 205 екз. тварин з 11 областей України. З них *L. maximus* – 105 екз. (Вінницька, Житомирська, Київська, Тернопільська та Чернівецька обл.), *L. flavus* – 55 екз. (Житомирська, Запорізька, Одеська, Рівненська, Черкаська та Херсонська обл.), *L. cinereoniger* – 45 екз. (Житомирська, Рівненська та Тернопільська обл.).

Препарати готували із тканин гонади за методикою, раніше успішно використаною для дослідження каріотипів молюсків [1, 3, 11] та люмбріцид [4, 8]. Молюскам вводили шляхом ін'єкції у м'яз ноги 0,5 мл 0,05%-го розчину колхіцину за 23 години до розтину. Вилучений шматочок гонади гіпотонували 45 хв. в дистилаті і фіксували в суміші льодяної оцтової кислоти й етанолу у співвідношенні 1:3.

Препарати хромосом виготовляли методом відбитків [5]. Висушені мікропрепарати фарбували 4%-ним розчином азур-еозину за Романовським, виготовленому на фосфатному буфері (рН = 6,8).

Аналіз препаратів здійснювали під мікроскопами „Біолам Ломо-Д”, „Біолам Л-212” (об 20, ок. 10). Метафазні пластинки фотографували за допомогою цифрової фотокамери Student Cam. Clear One Communications Inc. (Salt Lake City, Utah, USA).

Результати дослідження та їх обговорення

Каріотип виду *Limax maximus* (Linnaeus, 1758)

Як відомо з літературних джерел [6] гаплоїдний набір хромосом для *L. maximus* становить ($n=31$). Нами вперше здійснено каріологічне дослідження представників цього виду, зібраних на території України.

В результаті каріологічного аналізу встановлено хромосомні числа в гаплоїдному ($n=31$) та диплоїдному ($2n=62$) наборах (рис. 1).

Всі хромосоми в каріотипі *L. maximus* двоплечі, основне число NF = 124. За розмірами чітко виділяється 1-а пара хромосом, довжина інших пар поступово зменшується.

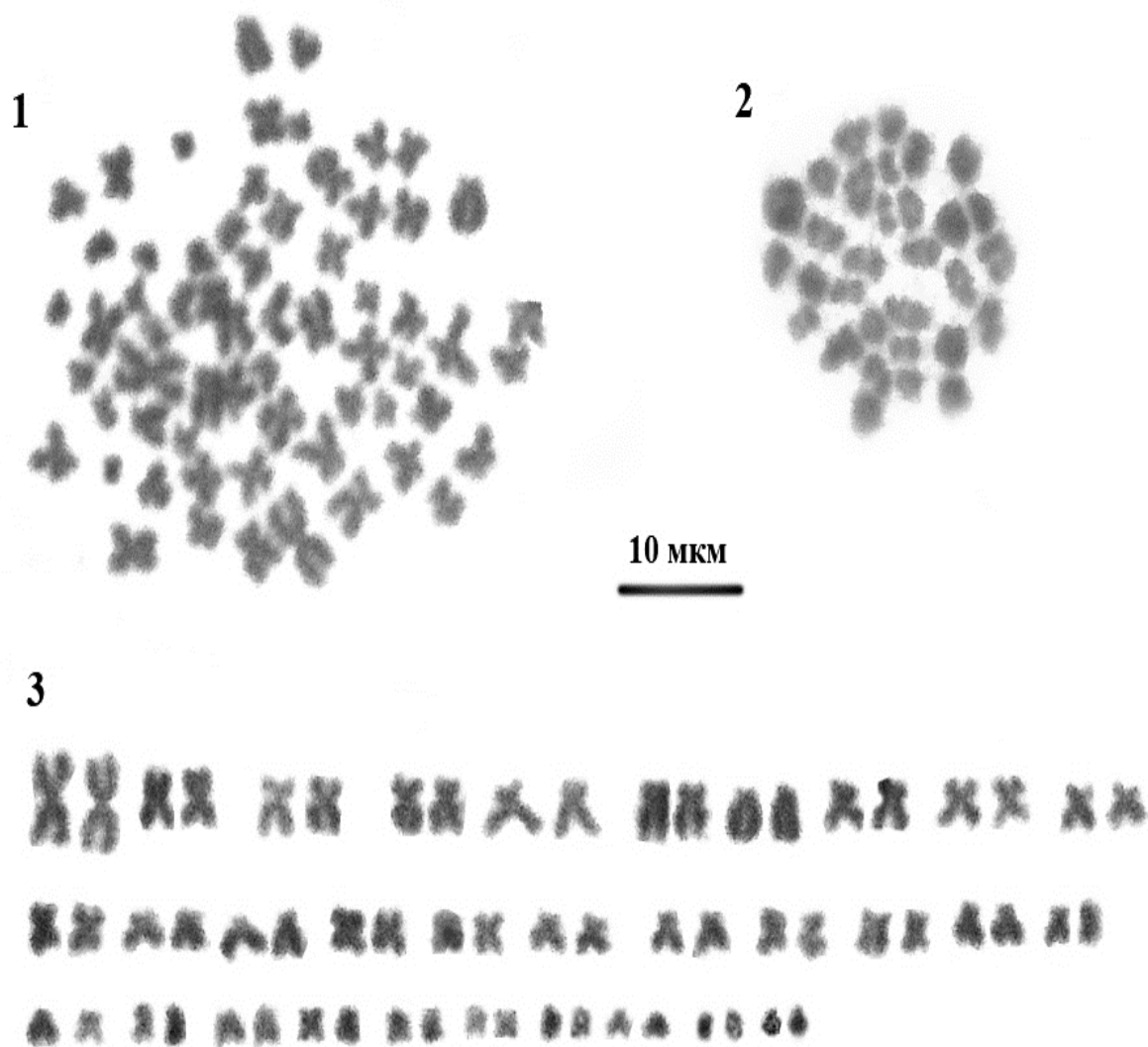


Рис. 1. Каріотип виду *Limax maximus*
1 – мітотична метафаза ($2n=62$); 2 – діакінез ($n=31$); 3 – каріограма

Каріотип виду *Limax cinereoniger* (Wolf, 1803)

В результаті каріологічного дослідження представників цього виду, зібраних на території України. Вперше встановлено, що його диплоїдний набір ($2n$) включає 62 хромосоми (рис. 2. 1.). Всі хромосоми двоплечі і поступово зменшуються за розміром, основне число $NF = 124$ (рис. 2. 3.).

На стадії діакінезу мейозу спостерігається 31 бівалент ($n=31$) (рис. 2. 2), що підтверджує наявні в літературі дані [6].

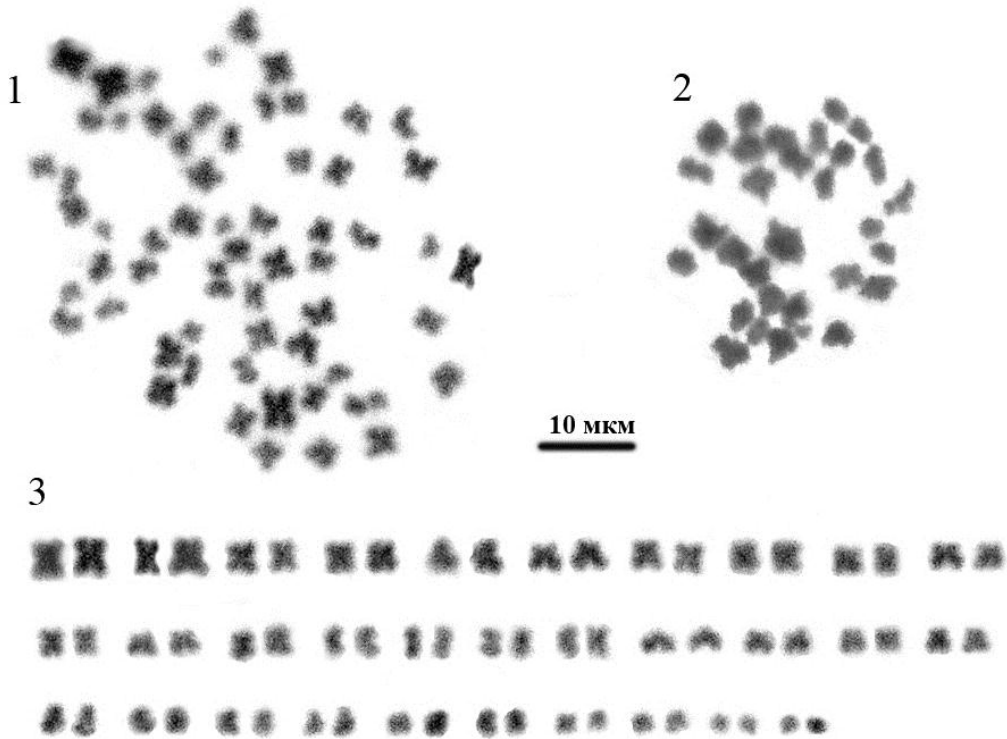


Рис. 2. Каріотип виду *Limax cinereoniger*
1 – мітотична метафаза ($2n=62$); 2–діакінез ($n=31$); 3 – каріограма.

Каріотип виду *Limax flavus* (Linnaeus, 1758)

В результаті аналізу для *L. flavus* встановлені хромосомні числа в гаплоїдному ($n=31$) і диплоїдному ($2n=62$) наборі (рис. 3). У всіх досліджених екземплярів кількість хромосом була стабільною. Отримані результати підтверджують дані попередніх дослідників [6, 7].

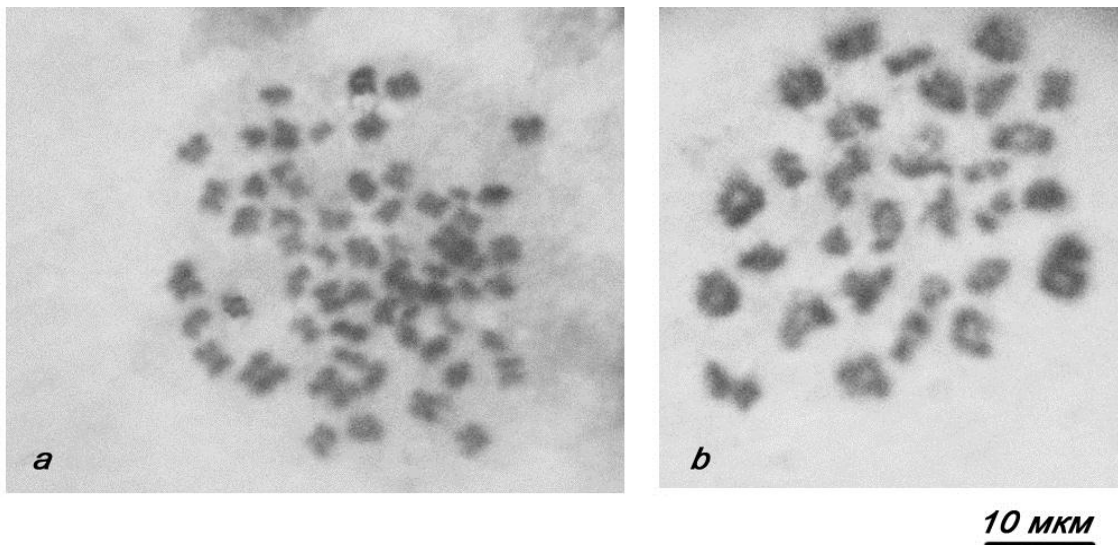


Рис. 3. Каріотип виду *Limax flavus*: а – мітотична метафаза; b – діакінез

ЗООЛОГІЯ

У таблиці наведено хромосомні числа (n та $2n$) представників різних родин слизнів, які варіюють у межах від $2n=40$ у (*L. melitensis*) до $2n= 68$ у (*T. cristata*).

Таблиця

Хромосомні числа ($2n$, n) та структура каріотипів видів родини *Limacidae*

Класифікація	Місце збору	Число хромосом		Опис каріотипу	Літературні джерела
		n	$2n$		
<u>Arionidae</u>					
<i>Arion subfuscus</i>	Britain	25		–	Beeson, 1960
// - // - //	Ukraine	26	52	–	Гарбар и др., 2010
<i>A. fasciatus</i>	Ukraine	29	58	–	Гарбар и др., 2010
<i>A. ater</i>	Britain	26		–	Beeson, 1960
<i>A. rufus</i>	France	26		–	Beeson, 1960
<i>A. hortensis</i>	Britain	28		–	Beeson, 1960
<i>A. intermedius</i>	Britain	28		–	Beeson, 1960
<i>A. circumscriptus</i>	Britain	29		–	Beeson, 1960
<u>Milacidae</u>					
<i>Milax gracilis</i>	Britain	33		–	Beeson, 1960
<i>M. gagates</i>	Britain	33		–	Beeson, 1960
<i>M. sowerbii</i>	Britain	34	66	–	Beeson, 1960
<i>M. nigricans</i>	Italy	33	66	27m/sm, 6st/t	Vitturi, 1992
// - // - //	Italy	33	66	–	Vitturi et al., 2004
<i>Tandonia cristata</i>	Ukraine	–	68	–	Гарбар и др., 2010
<i>Tandonia sowerbyi</i>	Britain	34	66	–	Beeson, 1960
// - // - //	Italy	33		21m+9sm+3st	Colomba et al., 2009
<u>Limacidae</u>					
<i>Lehmannia marginata</i>	Britain	24		–	Beeson, 1960
<i>L. melitensis</i>	Italy	20	40	11m, 3sm, 5st, 1t	Vitturi and Sparacio, 1993
<i>Deroceras agreste</i>	Britain	30		–	Beeson, 1960
<i>D. caruanae</i>	Britain	30		–	Beeson, 1960
<i>D. leave</i>	Britain	30		–	Beeson, 1960
<i>D. reticulatum</i>	Britain	30		–	Beeson, 1960
<i>D. panormitanum</i>	Italy	31	62	12m+13sm+6st	Colomba et al., 2009
<i>Limax cinereoniger</i>	Britain	31		–	Beeson, 1960
<i>L. flavus</i>	Britain	31		–	Beeson, 1960
// - // - //	Italy	31	62	15m+12sm+4st	Colomba et al., 2009
<i>L. maximus</i>	Britain	31		–	Beeson, 1960
<u>Philomycidae</u>					
<i>Incilaria confusum</i>	Japan	24		–	Inaba, 1959
<i>I. fruhtorferi</i>	Japan	24		–	Inaba, 1959

Встановлено, що представники українських популяцій роду *Limax* (*L. maximus*, *L. cinereoniger* та *L. flavus*) характеризуються гаплоїдним набором хромосом $p=31$, що підтверджує данні Г. Бесона [6]. Диплоїдний набір ($2n$) цих видів складається із 62 двоплечих, хромосом. Стосовно представників роду *Arion* Férussac, 1819 з території України, то їх диплоїдний набір ($2n$) *Arion subfuscus* (Draparnaud, 1805) містить 52 хромосоми. В гаплоїдному наборі (n) виявлено 26 хромосом. Ці результати не узгоджуються з даними Г. Бесона (табл.), який вказував для цього виду гаплоїдне число

$n = 25$. Досліджений каріотип виду *A. fasciatus* (Nilsson, 1823) ($n=29$; $2n=58$) з українських популяцій виявився за гаплоїдним числом хромосом ідентичним іншому близькоспорідненому виду - *A. circumscriptus* Johnston, 1828, дослідженого Г. Бесоном [6] з території Великобританії. Також досліджений каріотип виду *Tandonia cristata* (Kaleniczenko, 1851) з території України, який характеризується диплоїдним набором хромосом ($2n = 68$). Мейотичні хромосоми на препаратах були відсутні [2].

Отже, аналіз літературних даних та результати власних досліджень свідчать про сталий набір хромосом всередині роду і про значну варіабельність хромосомних чисел слизнів на різних таксономічних рівнях. Враховуючи той факт, що систематика цієї групи останнім часом переглядається, каріологічні дані можуть виявитися корисними для уточнення систематичного положення деяких таксонів.

Висновки

1. Вперше з території України описано каріотиби моллюсків роду *Limax* (*L. maximus*, *L. cinereoniger* та *L. flavus*). Визначено гаплоїдне ($n=31$) та диплоїдне число хромосом ($2n=62$) та основне число (NF). Диплоїдні хромосомні числа ($2n=62$) та число хромосомних плеч (NF=124) для *L. maximus* та *L. cinereoniger* встановлено вперше. А характеристики диплоїдного набору *L. flavus* ($2n=62$, NF=124) вперше були встановлені для українських популяцій.

2. Значна подібність хромосомних наборів не дозволяє використовувати параметри каріотипу для диференціації видів роду *Limax*.

3. Хромосомні числа (n та $2n$) представників різних родин слизнів варіюють у досить широких межах від $2n=40$ у *L. melitensis* до $2n=68$ у *T. cristata*.

Використана література:

1. Гарбар А. В. Каріотип *Lymnaea auricularia* (Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae) из центрального Полесья / А. В. Гарбар // Вестн. зоол. – 1998. – Т. 32. – № 5-6. – С. 137-138.
2. Гарбар А. В. Каріотиби слизней (Mollusca, Gastropoda) фауны Украины / А. В. Гарбар, Т. М. Чернышова, Д. А. Гарбар // Программа и материалы международной конференции [“Каріосистематика безпозвоночных V”], (Новосибирск, 16-20 августа, 2010г.) – Новосибирск, 2010. – С. 35.
3. Мельниченко Р. К. Каріотиби двох видів роду *Viviparus* (Mollusca: Gastropoda: Prosobranchia: Viviparidae) фауны Украины / Р. К. Мельниченко, Т. М. Вітюк // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск „Гідроекологія”. – 2005. – № 3 (26). – С. 295-297.
4. Онищук І. П. Перспективний метод отримання хромосомних препаратів у безхребетних / І. П. Онищук, О. В. Гарбар // Матеріали міжнародної наук.-практ. конф. [«Біорізноманіття : теорія, практика та методичні аспекти вивчення в загальноосвітній та вищій школі»], (Полтава, 7–8 лют. 2008р.). – Полтава, 2008. – С. 223-224.
5. Ситникова Т. Я. Новые результаты исследования полиплоидии у байкальских эндемичных моллюсков рода *Benedictia* (Gastropoda, Pectinibranchia, Benedictiidae) / Т. Я. Ситникова, Р. М. Островская, Е. С. Побережный, С. А. Козлова // Морфология и эволюция беспозвоночных. – Новосибирск: Наука. – 1991. – С. 266-281.
6. Beeson G. Chromosome Numbers of Slugs / G. Beeson // Nature. – 1960. – № 186. – P. 257-258.

7. Colomba M. Comparative cytogenetic analysis of three stylommatophoran slugs (Mollusca, Pulmonata) / M. Colomba, R. Vitturi, M. Rampin, A. Lannino, A. Taravella and A. Libertini // *Malacologia*. – 2009. – 51 (1). – P. 173-179.
8. A. V. Garbar Diploid-polyploid complexes of earthworms (Oligochaeta : Lumbricidae) in the fauna of Ukraine: genetic structure and morphological peculiarities / A. V. Garbar, S. V. Mezhzherin, I. P. Onishchuk // Fourth International Oligochaete Taxonomy Meeting (4th IOTM), (Diyarbakir, Turkey, April 20-24, 2009). – Diyarbakir, 2009. – P. 18.
9. Inaba A. Cytological studies in molluscs. II. A chromosome survey in the stylommatophoric Pulmonata / A. Inaba // *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B, div. I.* – 1959. – № 18. – P. 71-93.
10. Vitturi R. Conventinally stained chromosomes, constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Milax nigricans* (Gastropoda, Pulmonata) / R. Vitturi // *Chromatin* – 1992. – № 1. – P. 147-155.
11. Thiriot-Quievreux C. Chromosome studies in pelagic opisthobranch mollusks / C. Thiriot-Quievreux // *Can. J. Zool.* – 1988. – Vol. 6. – P. 1460-1477.
12. Vitturi R. Spermatocyte chromosome analysis of the *Lehmannia melitensis* (Lesson and Pollonera, 1891) (Mollusca, Pulmonata) using conventional, NOR- and C- banding techniques / R. Vitturi and I. Sparacio // *Caryologia* – 1993. – № 46. – P. 189 -199.

Т. Н. Чернышова

КАРИОТИПЫ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА LIMACIDAE (GASTROPODA: PULMONATA)

Впервые с территории Украины описаны кариотипы моллюсков рода *Limax* (*L. maximus*, *L. cinereoniger* и *L. flavus*). Определены гаплоидные ($n=31$), диплоидные числа хромосом ($2n=62$), а также основное число ($NF=124$).

Также было проанализировано хромосомные числа представителей разных семейств слизней, которые варьируют в пределах от $2n=40$ у *L. melitensis* до $2n=68$ у *T. cristata*.

T. M. Chernyshova

KARYOTYPES SPECIES OF THE LIMACIDAE FAMILY (GASTROPODA: PULMONATA)

For the first time karyotypes of mollusks of the species *Limax* (*L. maximus*, *L. cinereoniger* and *L. flavus*) from the territory of Ukraine are described. Haploid ($n=31$), diploid numbers of is chromosomes ($2n=62$) and also the main number (NF) are defined.

Also the chromosomal numbers of representatives of different families of slugs which vary ranging is from $2n=40$ at *L. melitensis* to $2n=68$ at *T. cristata* were analysed.

Надійшла 20.06. 2014 р.