

УДК 594.38:575.1+577.1

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПРУДОВИКА ОЗЕРНОГО, *LYMNAEA STAGNALIS* S. L. (GASTROPODA, LYMNAEIDAE), В ВОДОЕМАХ УКРАИНЫ

С. В. Межжерин¹, А. В. Гарбар², Е. Д. Коршунова², Е. И. Жалай¹¹ Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины,

ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев, 01601 Украина

² Житомирский государственный университет им. Ивана Франко,

ул. Б. Бердичевская, 40, Житомир, 10002 Украина

Принято 20 марта 2008

Морфологическая и генетическая изменчивость прудовика озерного, *Lymnaea stagnalis* s. l. (Gastropoda, Lymnaeidae), в пределах Украины Межжерин С. В., Гарбар А. В., Коршунова Е. Д., Жалай Е. И. — Анализ аллозимной и морфологической изменчивости прудовика озерного *Lymnaea stagnalis* s. l. проведен в водоемах Украины. Установлено, что в центральных и западных популяциях, с одной стороны, и в восточных, с другой, фиксированы альтернативные аллели локусов *Es-1*, *Es-4*, а приблизительно по руслу Днепра располагаются популяции, в равной пропорции содержащие оба аллеля. Обнаруженная ситуация отвечает модели двух алловидов, соединенных неширокой зоной генов интрогрессий, и противоречит концепции двух симпатрических видов *L. stagnalis* и *L. fragilis*. Анализ изменчивости морфологических признаков показал, что между западными и восточными алловидами существуют различия, проявляющиеся в укрупнении раковины, увеличении количества оборотов и осветлении окраски у восточной формы по сравнению с западной.

Ключевые слова: *Lymnaea stagnalis*, систематика, аллозимы, морфологическая изменчивость, филогеография.

The Analysis of Morphological and Genetic Variation of the Snail, *Lymnaea stagnalis* s. l. (Gastropoda, Lymnaeidae), in Ukraine. Mezherin S. V., Garbar A. V., Korshunova E. D., Zhalay E. I. — Analysis of allozyme and morphological variation of *Lymnaea stagnalis* s. l. is done within Ukraine. It is established that in central and western populations, on the one side, and in the eastern ones, on the other, alternative alleles of *Es-1*, *Es-4* loci are fixed, and in the Dnieper river-bed there are populations containing two alleles in equal proportion. The discovered situation corresponds to the model of two allospecies connected with rather narrow zone of gene introgression and contradicts the conception of two sympatric species (*L. stagnalis* and *L. fragilis*). The analysis of morphological characters variability shows differences between western and eastern allospecies in shell enlargement, turn quantity increase and coloring lightening in eastern forms in comparison with the western ones.

Key words: *Lymnaea stagnalis*, systematics, allozymes, morphological variation, phylogeography.

Введение

Прудовик озерный, *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758) — один из самых массовых пресноводных легочных моллюсков фауны Украины. Он обитает в водоемах самого разного типа, а его ареал охватывает почти всю умеренную зону Северного полушария, а потому нет ничего удивительного в его чрезвычайно высокой конхологической изменчивости, которая, в конце концов, и привела к возникновению неоднозначных взглядов на его систематику.

Первоначально считали, что на территории Восточной Европы, в том числе и в Украине, обитает один очень полиморфный вид (Жадин, 1933, 1952). Позднее, в соответствии со взглядами Я. И. Старобогатова и его последователей (Давыдов и др., 1981), придерживавшихся узкой концепции вида, было решено, что *L. stagnalis* — это сборный таксон, который в пределах Палеарктики состоит из шести преимущественно симпатрических видов. В соответствии с этой концепцией (Стадниченко, 2004) на территории Украины установлено три вида: *L. stagnalis* (L., 1758), *L. fragilis* (L., 1758) и

L. doriana (Bourguignat, 1862). Последний из них считается крайне редким. Следует учесть, что такая дробная система была признана только некоторыми малакологами бывшего СССР. Большинство же исследователей (Jackiewicz, 1998; Glöck, 2002 и др.) сохранило приверженность старой широкой концепции вида.

В последнее время начали активно проводить молекулярно-генетические исследования лимнеид (Remigio, Blair, 1997; Remigio, 2002; Bargues et al., 2003), направленные в основном на выяснение филогенетических связей. Тем не менее полученные данные по генетической структуре отдельных видов рода *Lymnaea* (Trouvè et al., 2003; Puurtinen et al., 2004) и отсутствие сопряженности между типом раковины и характером аллозимной изменчивости, установленные для *Lymnaea peregra* в северо-западной Ирландии (Evans, 1989), подтверждают точку зрения, что увеличение количества видов, вероятнее всего неадекватно естественной системе.

Ранее проведенный морфологический и геногеографический анализ еще одного широко распространенного пресноводного моллюска *Planorbarius corneus* (Межжерин и др., 2005, 2006), в пределах которого выделялось от 4 до 8 видов (Стадниченко, 1990; Определитель..., 2004), показал, что, на самом деле, это надвид, представленный в фауне Украины двумя алловидами, между которыми существует неширокая зона гибридизации. Полученный результат позволил в принципе изменить трактовку вида и вместо серии симпатрических репродуктивно изолированных видов предложить надвидовой комплекс викарных гибридирующих видов.

Учитывая изложенное выше, изучение генетической структуры поселений высоко изменчивых и массовых видов пресноводных моллюсков, примером которых и является *L. stagnalis*, представляет не только узкий таксономический интерес, но и как исследование модельной арены эволюционных преобразований даже в масштабе Украины — общебиологический. Задачей настоящего исследования и явилось изучение генетической и морфологической изменчивости этого моллюска в пределах Украины.

Материал и методы

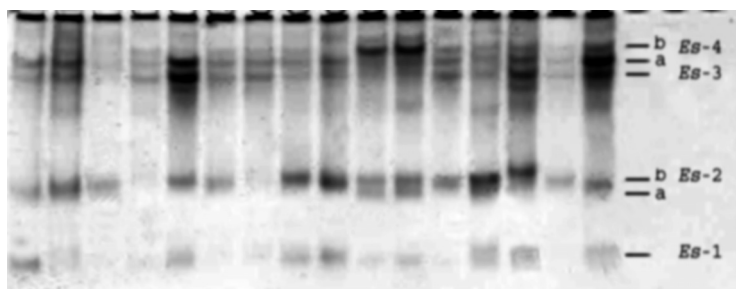
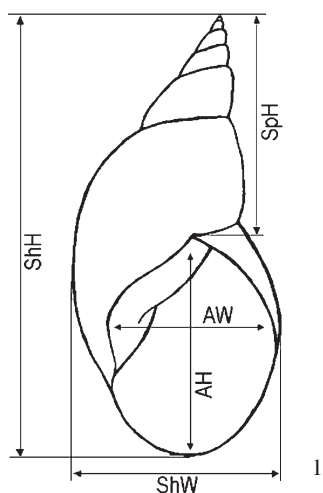
Основой данного исследования послужили рендомизированные выборки прудовиков, собранные в течение 2006—2007 гг. в водоемах Украины: Киевская обл. (Новобеличи, окр. Киева, 25 экз.; пгт Барышевка, 16 экз.; с. Боденьки, Вышгородский р-н, 20 экз.), Черниговская обл. (г. Нежин, 20 экз.; окр. Нежина, 19 экз.; с. Новый Быков, Бобровицкий р-н, 5 экз.; с. Батурин, Бахмацкий р-н, 30 экз.), Сумская обл. (г. Сумы, 9 экз.; Деснянско-Старогутский парк, с. Очкино, 10 экз.), Харьковская обл. (г. Харьков, 16 экз.), Полтавская обл. (г. Полтава, 25 экз.; с. Чутово, Полтавский р-н, 16 экз.; г. Лубны, 16 экз.), Житомирская обл. (г. Житомир, 10 экз.; с. Дубовец, Житомирский р-н, 25 экз.), Ровенская обл. (р. Корчик, Корецкий р-н, 17 экз.), Хмельницкая обл. (г. Славута, 28 экз.; г. Полонное, 19 экз.), Винницкая обл. (с. Кашперовка, Козятинский р-н, 27 экз.), Закарпатская обл. (р. Латорица, Ужгородский р-н, 12 экз.), Донецкая обл. (с. Райгородок, Славянский р-н, 14 экз.), Херсонская обл. (г. Голая Пристань, 15 экз.).

Измерение раковины (рис. 1) проводили с помощью штангенциркуля с точностью до 0,1 мм по следующим параметрам: высота (ShH) и ширина (ShW) раковины, высота завитка (SpH), высота (AH) и ширина (AW) устья. Ширину раковины измеряли по перпендикуляру к ее оси. Определяли количество оборотов (NW — number of whorls) раковины. Цвет определяли по сухим раковинам визуально. Статистический анализ проведен с помощью программы STATISTICA. 6.

Электрофоретический анализ проводили в 7,5%-ном полиакриламидном геле и непрерывной системе буферов (Reasock et al., 1965). В водных экстрактах ткани ноги изучали изменчивость ферментов, предположительно кодируемых соответствующими локусами: аспартатаминотрансфераза (*Aat-1*), малатдегидрогеназа (*Mdh-1*), неспецифические эстеразы (*Es-1*, -2, -3, -4).

Результаты

Генетическая изменчивость. В результате электрофоретического анализа трех вышеуказанных белков была установлена аллозимная изменчивость двух локусов неспецифических эстераз (рис. 2), которая, как показал дальнейший анализ, имела явно выраженный географический характер. Причем, как и в случае с *Planorbarius corneus* (Межжерин и др., 2006), наблюдалась четкая дифференциация популяций этого моллюска в западно-восточном направлении. Так, в популяциях прудовика Левобережной Украины: Черниговской, Сумской, Харьковской и Полтавской областей имели место фиксации аллелей *Es-2^a*, *Es-3^b*. В правобережных популяциях уже явно доминировали альтернативные аллели, хотя их фиксации наблюдались далеко не в каждой из популяций и в некоторых выборках (р. Корчик, Ровенская обл.; г. Славута, Хмельницкая обл.) присутствовали аллели, характерные для восточных областей Украины. В выборках из



2

Рис. 1. Схема промеров раковины исследуемых моллюсков: ShH – высота раковины; ShW – ширина раковины; SpH – высота завитка; AH – высота устья; AW – ширина устья.

Fig. 1. The scheme of measurements of a shell of the studied molluscs: ShH – shell height; ShW – shell width; SpH – height of a spire; AH – apertural height; AW – apertural width.

Рис. 2. Изменчивость неспецифических эстераз прудовика озерного *L. stagnalis* s. l.

Fig. 2. Variations of nonspecific esterases of *L. stagnalis* s. l. specimens.

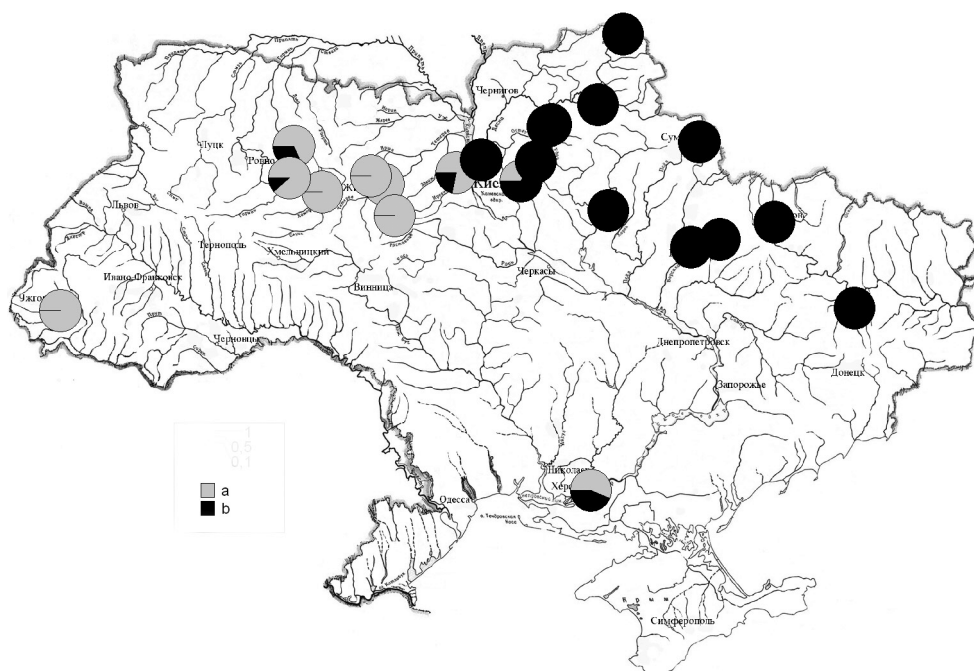


Рис. 3. Распределение аллелей локуса *Es-4* по территории Украины.

Fig. 3. Distribution of *Es-4* alleles to territories of Ukraine.

Киевской обл., находящейся как бы на стыке западной и восточной форм, в одних случаях (популяции Новобеличей и Барышевки) присутствовали оба аллеля, а в других (с. Боденьки) имела место фиксация восточных аллелей. Кроме того, гибридная популяция обнаружена на Нижнем Днепре. В целом полученная картина распределения аллелей неспецифических эстераз, и в частности

локуса *Es-4* (рис. 3), очень напоминает картину, полученную для *Planorbarius corneus* (Межжерин и др., 2006), и отвечает модели викарирования двух видов с относительно небольшой зоной гибридизации и достаточно широкой генных интрогрессий. И в этом случае гены восточной формы проникают в популяции западной на многие километры, тогда как обратная интрогрессия ограничена, что, очевидно, связано с разными миграционными потенциалами этих форм.

Поскольку два предполагаемых «конхологических вида» практически равномерно распределены по всей Украине, а генофонд вида *L. stagnalis* s. l. четко разделен на восточные и западные популяции, то можно однозначно утверждать, что его дифференциация на *L. fragilis* и *L. stagnalis* не отвечает эволюционно-генетической дискретности, а потому эти конхологические формы нельзя считать отдельными видами.

Морфологический анализ. Сравнение изменчивости *L. stagnalis* и *L. fragilis* по ряду количественных конхологических признаков показало (табл. 1), что эти морфы в высшей степени достоверно отличаются по всем признакам кроме абсолютной длины раковины. Полученные различия между «видами» по пропорциям раковины в принципе ожидаемы и должны восприниматься как нечто само собой разумеющееся, поскольку изначально отбирали особей с разными пропорциями раковины. Тем не менее большой интерес вызывает характер распределения признаков в общей для этих двух форм выборке. Ведь, если разделение в выборке на *L. stagnalis* и *L. fragilis* объективно, то при объединении этих форм в одну совокупность по многим индексам будут наблю-

Таблица 1. Средние значения (M) и стандартные ошибки (m), а также результаты однофакторного дисперсионного анализа (F, p), полученные у разных конхологических форм прудовиков

Table 1. Means (M) and standard errors (m), and also results of the analysis of variance (F, p), received at different conchological forms of lymnaeid snails

Признак*	<i>L. stagnalis</i> (n = 252)		<i>L. fragilis</i> (n = 142)		F	p
	M	m	M	m		
ShH	41,73	0,41	40,59	0,59	2,7	0,101
ShW	20,93	0,23	19,32	0,32	17,4	0,000
AH	23,92	0,24	21,37	0,32	42,2	0,000
AW	16,52	0,23	14,70	0,25	25,6	0,000
SpH	21,61	0,23	23,24	0,34	17,0	0,000
SpH/AH	0,91	0,00	1,09	0,01	558,5	0,000
ShH/ShW	2,01	0,01	2,12	0,01	36,3	0,000
ShH/SpH	1,94	0,01	1,75	0,01	248,1	0,000
NW	4,82	0,03	5,01	0,05	10,2	0,001

* В таблицах 1 и 2 обозначение признаков дано в разделе «Материалы и методы».

Таблица 2. Средние значения (M) и стандартные ошибки (m), а также результаты однофакторного дисперсионного анализа (F, p), полученные у прудовиков с разными генотипами *Es-1*

Table 2. Mean (M) and standard errors (m), and also results of the analysis of variance (F, p), received at lymnaeid snails with different genotypes *Es-1*

Признак	<i>Es-1^{aa}</i> (n = 145)		<i>Es-1^{ab}</i> (n = 34)		<i>Es-1^{bb}</i> (n = 215)		F	p
	M	m	M	m	M	m		
ShH	38,22	0,53	41,04	0,95	43,45	0,42	30,70	0,000
ShW	18,90	0,31	20,16	0,50	21,36	0,24	20,41	0,000
AH	21,24	0,31	22,88	0,52	24,20	0,26	28,01	0,000
AW	14,67	0,28	15,12	0,43	16,79	0,24	17,72	0,000
SpH	20,79	0,33	22,16	0,59	23,16	0,24	18,00	0,000
SpH/AH	0,98	0,01	0,97	0,02	0,96	0,01	1,26	0,286
ShH/ShW	2,05	0,02	2,04	0,03	2,05	0,01	0,01	0,987
ShH/SpH	1,85	0,01	1,86	0,02	1,89	0,01	2,38	0,094
NW	4,60	0,05	5,12	0,08	5,05	0,03	36,18	0,000

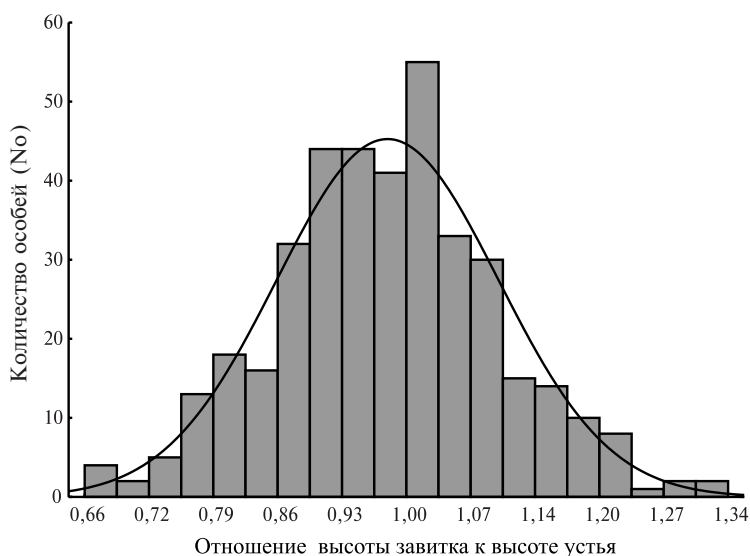


Рис. 4. Распределение значений индекса ShH/АН в обобщенной выборке всех исследованных моллюсков.

Fig. 4. Distribution of value of SpH/AN index in the generalized sample of all studied *L. stagnalis* s. l. specimens.

даться два трансгрессирующих распределения, а по диагностическому индексу SpH/АН (Стадниченко, 2004) вообще должен быть хиатус. Тем не менее тестирование обобщенного распределения для этого индекса (рис. 4), проведенное по критерию Колмогорова—Смирнова, на его нормальность, показало хорошее соответствие ($d = 0,04$; $p > 0,20$) случаю положительно биномиального распределения равновероятностных событий, описываемых кривой Гаусса. Действительно, распределение этого индекса строго унимодально и не имеет ни асимметрии ($As = 0,10 \pm 0,12$), ни эксцесса ($E = 0,16 \pm 0,24$). Таким образом, несмотря на морфологическую привлекательность такого параметра «как устье превышает или не превышает завиток» за ним не стоит морфологическая дискретность. Более того, этот подход просто идеологически опасен для систематики, поскольку таким образом по всякому варьирующему признаку можно совершенно произвольно разбить любой вид на несколько.

Гораздо больший интерес представляет факт различий генотипических форм, фиксирующих разные аллели *Es-1*, ведь априорно эти моллюски могут морфологически и не различаться. Проведенный однофакторный дисперсионный анализ показал (табл. 2), что и в этом случае различия имеют место, причем их характер явно иной, чем в предыдущем случае. В первую очередь меняются абсолютные размеры и особенно количество оборотов раковины, показатели которых однозначно увеличиваются у восточных форм. При этом гибридные особи с генотипами *Es-1^{ab}* имеют промежуточные значения. Кроме того, для восточной формы характерна более светлая окраска раковины по сравнению с западной.

Обсуждение

Проведенное исследование пресноводного легочного моллюска *L. stagnalis* s. l. показало ту же картину географической аллозимной изменчивости, что и у ранее изученного вида *P. corneus* s. l. (Межжерин и др., 2006), а именно: дифференциацию на западную и восточную формы, сопровождающуюся фиксациями альтернативных аллелей, и наличие неширокой гибридной зоны, проходящей

приблизительно по руслу Среднего Днепра, а также генными интрогрессиями, направленными от восточной формы к западной. Очевидно, что как *L. stagnalis*, так и *P. corneus* s. l. политипичны и образуют надвидовые комплексы, представленные викарными видами, эволюционно-генетическая дискретность которых поддерживается исключительно географической изоляцией. Ведь совершенно очевидно, что при той легкости, с которой аллоиды в зонах контакта гибридизуют, в условия симбиотопии они бы просто генетически «растворились друг в друге».

Общей особенностью генетической структуры поселений этих двух моллюсков является не только похожая география ареалов и расположение зоны гибридизации, но и асимметричность генных интрогрессий, которая проявляется, прежде всего, в достаточно резком ограничении продвижения генов западных форм в восточном направлении и достаточно свободном — в противоположном. Очевидно, что в данном случае основным фактором, стабилизирующим гибридную зону, являются экологические особенности викарных форм, в частности их неоднозначная способность к жизни в регионах с разным уровнем риска засухи. Так, особи западных форм, приспособленные к более влажным условиям обитания, просто не способны активно мигрировать в восточном направлении, тогда как продвижение восточных форм на запад, хотя и ограничено, но все же имеет место, что и приводит к появлению интрогрессий «восточных» генов в поселениях западных форм прудовиков и катушек.

Несмотря на явно общие тенденции в характере дифференциации, в географии этих двух видовых комплексов есть и свои различия. Так, популяции *P. corneus* s. l. в Черниговской обл. содержат аллели либо только западной формы (окр. г. Нежина), либо представляют случаи гибридных популяций (с. Ядуты, Борзненский р-н, Чернигов и Прилуки), либо по своему составу это типичные восточные формы (г. Чернигов). Тогда как у *Lymnaea* во всех изученных выборках Черниговской обл. обнаружены фиксации генов восточной формы. Более того, даже в Киевской обл. (с. Боденьки) обнаружена популяция, в которой фиксированы гены именно восточной формы. Это означает, что у прудовика, по сравнению с катушкой гибридная зона сдвинута на запад приблизительно на 100 км, что может быть связано с экологическими особенностями этих видовых комплексов, разной численностью популяций или даже просто историческими особенностями формирования ареалов.

Значительный интерес представляет также некоторый параллелизм в характере морфологических отличий между аллоидами *L. stagnalis* s. l. и *P. corneus* s. l. Так, у моллюсков обоих видов в первую очередь наблюдаются различия по абсолютным размерам раковины и ее окраске. При этом уровень различий по индексам у аллоидов значительно ниже, чем у конхологических видов. И у первых, и у вторых отсутствует хиатус по диагностическим признакам. В случае аллоидов это объясняется наличием более или менее плавного перехода от одной формы к другой, обусловленного гибридной зоной и генными интрогрессиями. У конхологических видов отсутствие хиатуса свидетельствует о произвольности их выделения на основании искусственно установленных границ морфологических параметров. Так, в соответствии с концепцией Я. И. Старобагатова экземпляры *L. stagnalis* s. l., у которых высота завитка равна высоте устья, должны быть отнесены к *L. stagnalis* s. str. Если в пределах той же выборки обнаружатся особи, у которых высота завитка превышает высоту устья — это уже будет *L. fragilis*, а если высота завитка будет значительно меньше высоты устья или 0,5 высоты раковины — *L. doriana*. При этом наблюдаются всевозможные промежуточные формы между этими «видами», образующие непрерывный вариационный ряд, соответствующий нормальному распределе-

нию. Следовательно, более редкие «виды» *L. fragilis* и *L. doriana* являются всего лишь крайними морфологическими вариантами *L. stagnalis* s. l., появление которых имеет сугубо стохастичную природу и за этим не стоит только эволюционно-генетическая, но даже морфологическая дискретность.

- Давыдов А. Ф., Круглов Н. Д., Старобогатов Я. И. Экспериментальное скрещивание двух форм *Lymnaea stagnalis* и вопросы систематики подрода *Lymnaea* s. str. (Gastropoda, Pulmonata) // Зоол. журн. — 1981. — **60**, № 9. — С. 1325—1338.
- Жадин В. И. Пресноводные моллюски СССР. — Л., 1933. — 232 с.
- Жадин В. И. Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1952. — 376 с.
- Межжерин С. В., Гарбар Д. А., Гарбар О. В. Систематическая структура комплекса *Planorbarius corneus* s. l.: анализ аллозимных маркеров и морфометрических признаков // Вестн. зоологии. — 2005. — **39**, № 6. — С. 11—17.
- Межжерин С. В., Гарбар Д. А., Гарбар О. В. Ресистематика моллюсков рода *Planorbarius* (Gastropoda, Pulmonata) фауны Украины: опыт решения проблемы на основе геногеографического подхода // Доп. НАН України. — 2006. — № 9. — С. 170—175.
- Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Т. 6. Моллюски. Полихеты. Немертины / Под общ. ред. С. Я. Цалолыхина. — СПб.: Наука, 2004. — 528 с.
- Стадниченко А. П. Прудовиковообразные. — Киев: Наук. думка, 1990. — 289 с. — (Фауна Украины; Т. 29, вып. 4).
- Стадниченко А. П. Прудовиковые и чашечковые (Lymnaeidae, Acroloxidae) Украины. — Киев: Центр учебной литературы, 2004. — 327 с.
- Bargues M. D., Horák P., Patzner R. A et al. Insights into the relationships of Palearctic and Nearctic lymnaeids (Mollusca: Gastropoda) by rDNA ITS-2 sequencing and phylogeny of stagnicoline intermediate host species of *Fasciola hepatica* // Parasite. — 2003. — **10**, N 3. — P. 243—255.
- Evans N. J. Biochemical variation and shell shape in populations of the fresh-water snail *Lymnaea peregra* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) from south-west Ireland // Biol. J. Lin. Soc. — 1989. — **36**, N 1—2. — P. 65—78.
- Glöer P. Die Süßwassergastropoden Nord- und Mitteleuropas Bestimmungsschlüssel, Lebensweise, Verbreitung. — Conch Books, 2002. — 327 p.
- Jaskiewicz M. European species of the family Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata, Basommatophora) // Genus. — 1998. — **9**, N 1. — 93 p.
- Peacock A. C., Bunting S. L., Queen K. G. Serum protein electrophoresis in acrylamide gel // Science. — 1965. — N 147. — P. 1451.
- Puurinen M., Knott K. E., Suonpää S. et al. Genetic variability and drift load in populations of an aquatic snail // Evolution Int. J. Org. Evolution. — 2004. — **58**, N 4. — P. 749—756.
- Remigio E. A., Blair B. Molecular systematics of the freshwater snail family Lymnaeidae (Pulmonata, Basommatophora) utilising mitochondrial ribosomal DNA sequences // J. Moll. Stud. — 1997. — N 63. — P. 173—185.
- Remigio E. A. Molecular phylogenetic relationships in the aquatic snail genus *Lymnaea*, the intermediate host of the causative agent of fascioliasis: insights from broader taxon sampling // Parasitol. Res. — 2002. — **88**, N 7. — P. 687—696.
- Trouvè S., Degen L., Renaud F., Goudet J. Evolutionary implications of a high selfing rate in the freshwater snail *Lymnaea truncatula* // Evolution Int. J. Org. Evolution. — 2003. — **57**, N 10. — P. 2303—2314.