

7. Национальный план действий по развитию «зеленой» экономики в Республике Беларусь до 2020 года; утвержден Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 21.12.2016 № 1061. – Минск, 2016. – 14 с.
8. Стратегия Республики Беларусь по сохранению и устойчивому использованию биологического разнообразия. – Минск, 2015. – 27 с.
9. Ryby słodkowodne Polski / praca zbiorowa pod red. Marii Brylinskiej. – Warszawa : Wydawnictwo Naukowe PWN, 2000. – 523 s.

Дем'янчик Віктор. Моніторинг еколого-фауністичних ситуацій та нові підходи до розв'язання природоохоронних проблем в екосистемах транскордонного простору Полісся. Проаналізовано актуальні зміни фауністичних комплексів в екосистемах білорусько-українського прикордоння. Показано ризики біологічної безпеки з боку диких тварин. Розкрито актуальність транскордонного співробітництва на рівні кластера, моніторингу біорізноманіття, складання Червоної й Чорної книг Полісся. Показано ефективність як індикатор фауністичних та екосистемних змін методу регулярного аналізу живлення совоподібних Strigiformes на постійних територіях.

Ключові слова: фауна; екосистема, Західне Полісся, моніторинг, кластер, Червона книга, Strigiformes, Mammalia.

Demyanchik Viktor. Monitoring of Ecological and Faunistic Situation and New Ways of Solving Environmental Problems in the Ecosystems of Transboundary Territories of Polesia. Actual changes in faunal complexes in the ecosystem of the Belarusian-Ukrainian border are analyzed. The risks of biological safety from the wild animals are identified. The relevance of cross-border cooperation at the cluster level, monitoring of biodiversity, the compilation of Red Data Book and «Black book» of Polesie are discussed. The efficiency as indicators of fauna and ecosystem change method of regular analysis of food owls Strigiformes on permanent territories are proved.

Key words: fauna, ecosystem, West Polesie, monitoring, cluster, Red Data Book, Strigiformes. Mammalia.

Стаття поступила в редколлегию
19.10.2017 г.

УДК 595.384.16:591.492

**Віталій Костюк,
Сергій Межжерін,
Олександр Гарбар**

Генетична диференціація річкових раків із водойм басейну р. Прип'ять

На основі проведених досліджень алозимної мінливості доведено наявність у водоймах басейну річки Прип'ять трьох видів річкових раків: *A. astacus*, *A. angulosus* та *A. leptodactylus*. Установлено, що вид *A. astacus* генетично більш диференційований від довгопалих раків, ніж *A. angulosus* й *A. leptodactylus* між собою.

Ключові слова: річкові раки, алозимна мінливість, генетична диференціація, басейн Прип'яті.

Постановка наукової проблеми та її значення. Досі вважалося, що у водоймах басейну р. Прип'ять як на українській, так і білоруській стороні трапляються особини одного виду – довгопалого рака *Astacus (Pontastacus) leptodactylus*. Але зараз цей вид розглядають як комплекс, висока мінливість особин якого дає підставу дослідникам виокремлювати підвиди, види або навіть роди в його межах. Так, у 1950 р. довгопалого рака віднесено до роду *Astacus (Pontastacus)* разом з *A. (P.) pachypus*, *A. (P.) pylzovi*, *A. (P.) kessleri*. Довгопалого рака *A. (P.) leptodactylus* розділено на чотири підвиди: *leptodactylus*, *eichwaldi*, *cubanicus*, *salinus* [6, 9, 10]. У подальшому Я. С. Бродський [1] у роді *Pontastacus* виокремив п'ять підвидів довгопалого рака.

У 1995 р. Я. І. Старобогатов [15] проводить ревізію й виділяє в роді *Pontastacus* вісім видів і новий рід *Caspiastacus* із двома видами. Проте запропонована систематика залишає дуже багато питань і критичних зауважень. На думку західних учених, такий розподіл ґрунтується на невеликій кількості ознак, відсутності сучасних генетичних методів оцінки подібності й відмінності, тому запропоновану систематику не прийнято.

Аналіз досліджень цієї проблеми. Астакологи продовжують відносити довгопалого рака до роду *Astacus*, не виокремлюючи підвиди, але визнають, що це видовий комплекс, який вимагає додаткових сучасних досліджень [8, 11, 14]. Такі дослідження проводяться. Зокрема, відзначимо, що у фауні України [2, 12] на підставі каріологічних і біохіміко-генетичних даних доводимо існування двох симпатричних розповсюджених видів – довгопалого рака *A. leptodactylus* і вугластого *A. angulosus*.

Мета й завдання статті. Мета роботи – на основі алозимного аналізу встановити особливості генетичної диференціації популяцій та визначити видову різноманітність річкових раків басейну р. Прип'ять.

Публікація містить результати досліджень, проведених за грантової підтримки Держаного фонду фундаментальних досліджень за конкурсним проектом Ф73/100-2016.

Для дослідження використано матеріал, зібраний авторами протягом 2008–2016 рр. Експедиційні збори проводили на території шести областей України (рис. 1): Житомирської, Рівненської, Волинської, Тернопільської, Хмельницької та Львівської. Проаналізовано 20 вибірок річкових раків (199 екз.).

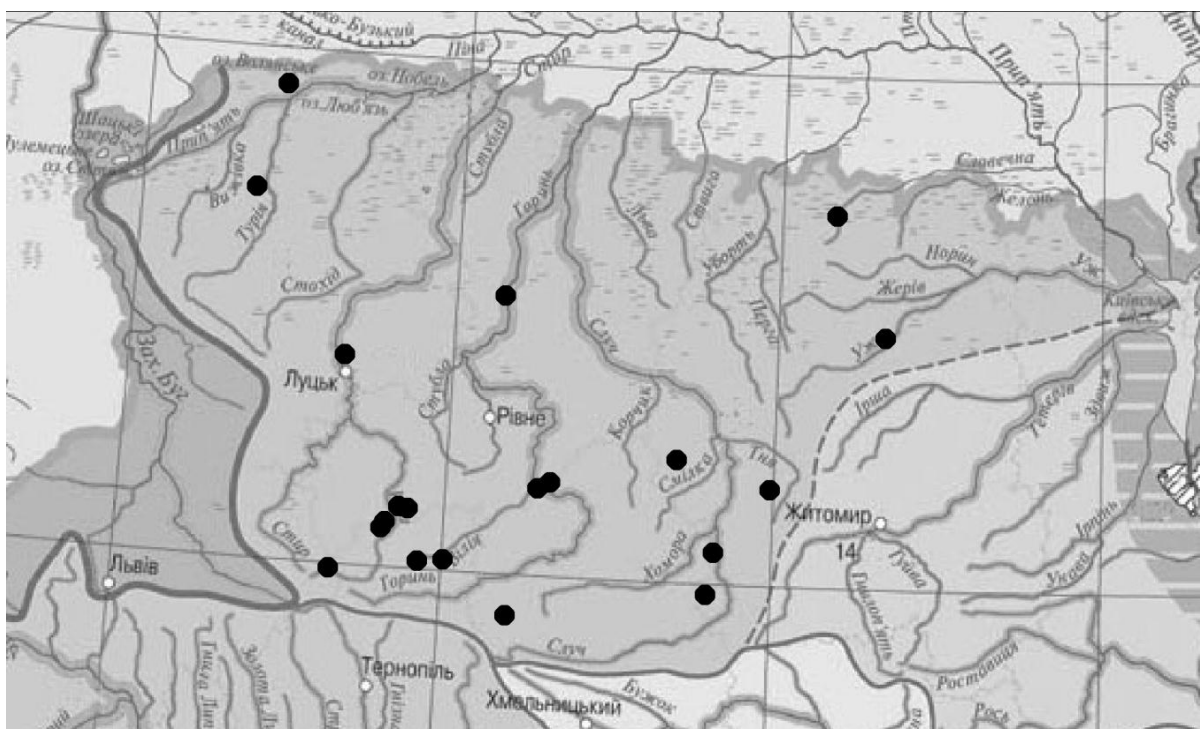


Рис. 1. Пункти збору річкових раків у басейні р. Прип'ять

Збір астацид здійснювали за допомогою стандартних раколовок відкритого типу, великих сачків, а також уручну в теплу пору року.

Біохімічне генне маркування здійснювали методом електрофорезу у 7,5 %-му поліакриламідному гелі Тріс-ЕДТА·Na₂-боратній системі буферів із рН = 8,5 для неспецифічних естераз й альбумінів протягом 1 год 20 хв, а для інших ферментів – близько 2,5 год при напрузі 200 V і силі струму 140 mA [3, 13].

Дослідження виконували на ферментах з екстракту м'язів клешні, а саме аспаратамінотрансферази, ізоцитратдегідрогенази, лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази, малик ензиму, фосфоглюкомутази, фосфоглюконатдегідрогенази, двох структурних білків м'язів, а також альбумінів. Фарбування гелів проводили за стандартними методиками [7].

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Аналіз алозимної мінливості популяцій річкових раків різних видів проведено за сукупністю ферментних локусів, а також структурних білків м'язів.

Аспаратамінотрансфераза (ЕС 2. 6. 1. 1). Фермент на електрофореграмі представлено двома зонами активності. Більш мобільна фракція з відносно високою електрофоретичною рухливістю відповідає продуктам локусу *Aat-1*, мінорна фракція, яка міститься поблизу старту в катодній зоні, відповідає продуктові локусу *Aat-2* (рис. 2.1–2. 2).

Обидва локуси поліморфні. Локус *Aat-1* мінливий у двох видів: у вугластих і довгопалих раків. Причому спостерігаємо наявність двохалельної системи. Відповідно, трапляються три генотипи: два гомозиготні й один гетерозиготний. Локус *Aat-2*. Поліморфний – лише в довгопалих раків. Представлений двохалельною системою. Причому продукт одного алеля в таких умовах електрофорезу мігрує до анода, а іншого – до катода, тобто виходить за межі гелю.

Лактатдегідрогеназа (ЕС 1. 1. 1. 27). Цей фермент на електрофореграмах представлений двома дуплікованими локусами, які інтерпретовані як *Ldh-1* і *Ldh-2*. У межах видів ці локуси інваріантні, однак чітко відрізняються в широко- та довгопалих раків [4, 5], що підтверджує й проведений нами електрофоретичний аналіз (рис. 2. 3). Факт надзвичайно важливий, оскільки доводить правильність визначення широкопалих раків у цьому дослідженні та їхню ідентичність із широкопалими раками з популяцій Західної й Північної Європи.

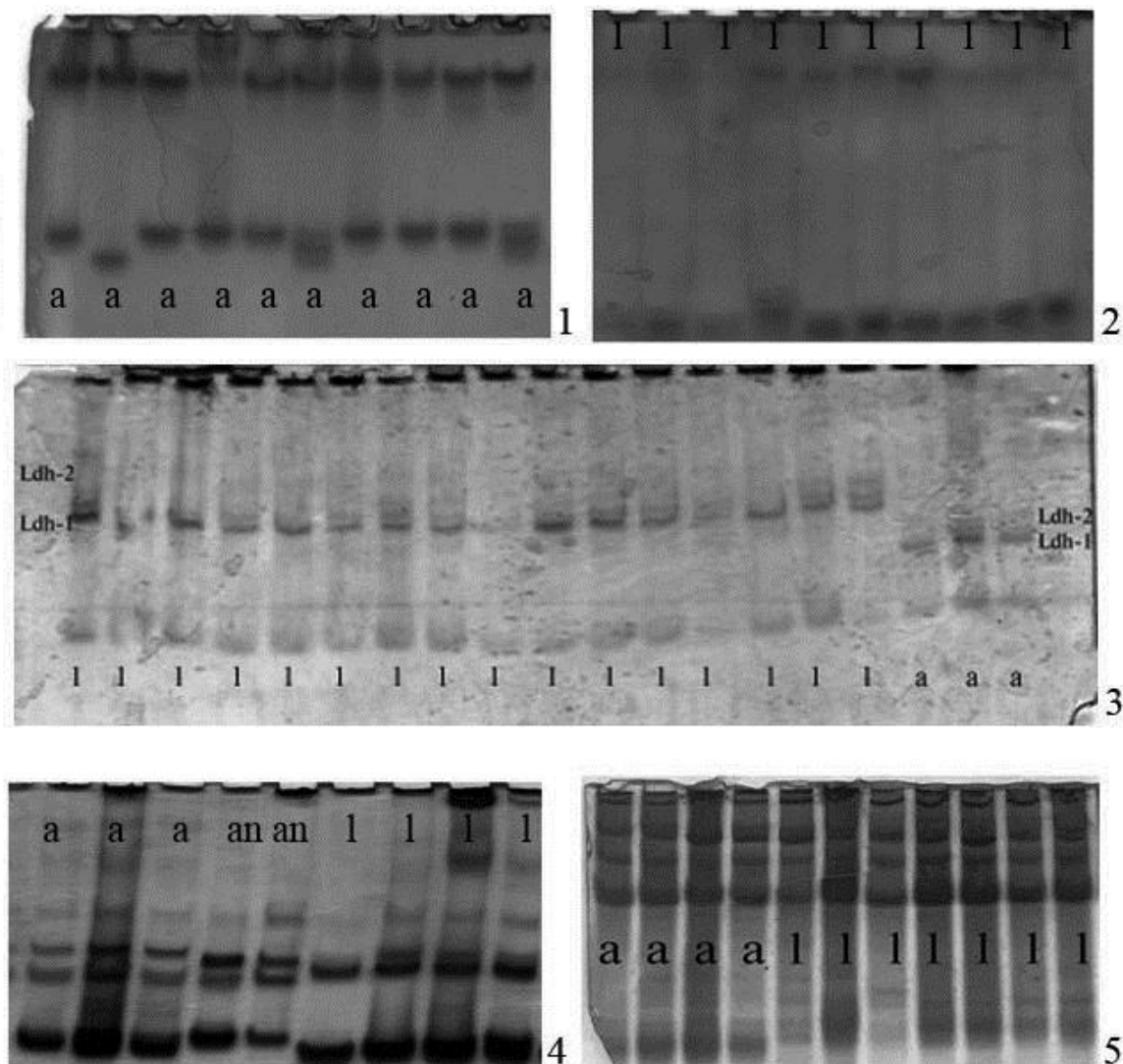


Рис. 2. Мінливість електрофоретичних спектрів річкових раків: аспаратамінотрансферази (1, 2) (зверху на гелях – продукти локусу *Aat-2*, знизу – *Aat-1*); лактатдегідрогенази (3); неспецифічних естераз (4); структурних білків м'язів (5) (*l* – особини *A. leptodactylus*, *an* – особини *A. angulosus*, *a* – особини *A. astacus*)

Неспецифічні естерази (ЕС 3. 1. 1. 1). У м'язах цей фермент представлено в річкових раків щонайменше трьома локусами. Позначені вони нумерацією, яка збільшується в міру зменшення електрофоретичної рухливості (рис. 2. 4.). Усі три локуси мінливі. При чому локус *Es-1* поліморфний як у межах виду (у тому числі в популяціях *A. leptodactylus*), так і характеризується видоспецифічними алелями в довго- і широкопалих раків. Інтерпретація мінливості стандартна. Певні труднощі викликала нетрадиційна інтерпретація мінливості локусу *Es-2*. Тут можливі два варіанти генної інтерпретації. Перший: у *A. angulosus* цей локус активний, в *A. leptodactylus* – нульовий алель. Другий варіант: в обох видів локуси активні й виробляють функціональні білкові продукти, але в особин *A. leptodactylus* цей продукт збігається в рухливості з продуктом локусу *Es-3*. Отже, у будь-якому випадку аналіз мінливості цього локусу досить важливий для інтерпретації видової належності, оскільки дає змогу відрізнити ці два види один від одного.

Структурні білки м'язів. Традиційно вважаються дуже консервативною білковою системою, а тому найчастіше використовуються при міжвидових порівняннях, що в цьому дослідженні цілком актуально. Під час аналізу можна чітко ідентифікувати швидко мігруючу фракцію, яка відповідає білкам-альбумінам, а також три смуги спектра власне структурних білків м'язів (рис. 2. 5). У цьому випадку запропоновано двохлокусну інтерпретацію, хоча цілком можлива й трьохлокусна. Варто відзначити, що оскільки спектри структурних білків річкових раків були цілком інваріантними, то кількість локусів в інтерпретації не настільки вже й важлива. Локус альбуміну був мінливим, що пов'язано з фіксаціями альтернативних алелів як у довго-, так і в широкопалих раків.

Отже, у результаті проведеного аналізу електрофоретичних спектрів восьми ферментів і групи структурних білків виявлено 17 локусів різного ступеня варіабельності. При цьому мінливими виявилися лише вісім локусів із 17. Саме цю поліморфну частину геному використано для ідентифікації видів і встановлення рівня їх генетичної диференціації.

У результаті дослідження в басейні р. Прип'ять ідентифіковано три види річкових раків – *A. astacus*, *A. angulosus* та *A. leptodactylus* (рис. 3).

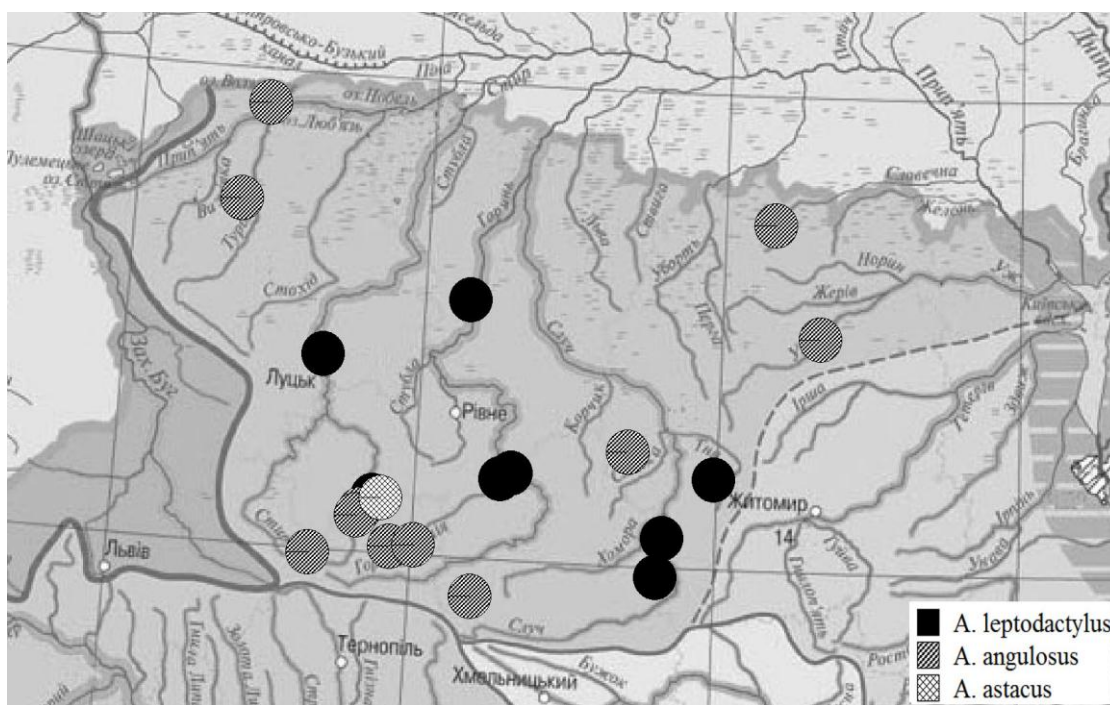


Рис. 3. Розподіл виявлених видів річкових раків у водоймах басейну р. Прип'ять

Розрахунки генетичних дистанцій між цими симпатричними видами проведено за узагальненими частотами (табл. 1). Найменша генетична дистанція була, як і очікувалося, між *A. angulosus* та *A. leptodactylus* ($D_{Nei} = 0,101$), тоді як генетичні дистанції між цими двома видами й *A. astacus* виявилися суттєво вищими ($D_{Nei} = 0,399$ для *A. leptodactylus* і $D_{Nei} = 0,348$ для *A. angulosus*).

Алозимні пули річкових раків із басейну р. Прип'ять

Локус	Алель	Вид		
		<i>A. astacus</i>	<i>A. leptodactylus</i>	<i>A. angulosus</i>
Aat-1	90	0	0	0,05
	100	1	0,96	0,95
Aat-2	-100	0	0,5	0
	100	1	0,5	1
Ldh-1	100	0	1	1
	110	1	0	0
Ldh-2	100	0	1	1
	110	1	0	0
Es-1	100	0	0,41	0,99
	102	1	0,59	0,01
Es-2	null	0	0	0
	100	0	1	0
	115	1	0	1
Es-3	98	1	0	0
	100	0	1	1
	110	0	0	0
Alb	100	0	1	1
	105	1	0	0

Примітка. Мономорфні локуси: *Idh-1*, *Idh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Me-1*, *Pgdh*, *Pgm-1*, *Pt-1*, *Pt-2*.

Висновки та перспективи подальшого дослідження. Отже, на основі проведених досліджень алозимної мінливості доведено наявність у водоймах басейну річки Прип'ять трьох видів річкових раків: *A. astacus*, *A. angulosus* та *A. leptodactylus*. Установлено, що вид *A. astacus* генетично істотно більш диференційований від довгопалих раків, ніж *A. angulosus* й *A. leptodactylus* між собою. Це можна розглядати як доказ підродової, а можливо, і родової відокремленості цих раків. Наявність чітких алозимних відмінностей між симпатричними видами довгопалих раків *A. leptodactylus* та *A. angulosus* доводить їх репродуктивну ізоляцію й видову самостійність.

Джерела та література

1. Бродський С. Я. Фауна України. Вищі раки. Річкові раки / С. Я. Бродський. – Київ : Наук. думка, 1981. – Т. 26. – Вип. 3. – 212 с.
2. Межжерин С. В. Аллозимные и морфологические доказательства реальности двух симпатрических видов пресноводных раков в пределах *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) (Decapoda: Astacidae) / С. В. Межжерин, В. С. Костюк, Е. И. Жалай // Доповіді НАН України. – 2012. – № 9. – С. 131–135.
3. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование : [практ. пособие] / Л. А. Остерман. – Москва : Наука, 1981. – 288 с.
4. Attard J. Variabilite et differenciation genetiques chez cinq especes d'ecrevisses Astacidae / J. Attard, N. Pasteur // Biochem. Syst. Ecol. – 1984. – V. 12, №1. – P. 108–117.
5. Agerberg A. Genetic variation in three species of freshwater crayfishes: *Astacus astacus* L., *Astacus leptodactylus* Aesch. and *Pacifastacus leniusculus* (Dana) revealed by isozyme electrophoresis / A. Agerberg // Hereditas. – 1990. – V. 113. – P. 101–108.
6. Bott R. Besiedlungsgeschichte und Systematik der Astaciden West-Europas unter besonderer Berecksichtigung der Schweiz / R. Bott // Revue Suisse de Zoologie. – 1972. – № 79. – P. 397–408.
7. Harris H. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics / H. Harris, D. A. Hopkinson. – Amsterdam : North-Holland, 1976. – 257 p.
8. Holdich D. M. Distribution of crayfish in Europe and some adjoining countries / D. M. Holdich // Bull. Fr. Pêche Piscic. – 2002. – № 367. – P. 611–650.
9. Karaman M. S. Ein Beitrag zur Systematic der Astacidae (Decapoda) / M. S. Karaman // Crustaceana. – 1962. – № 3. – P. 173–191.
10. Karaman M. S. Studie der Astacidae (Crustacea, Decapoda) / M. S. Karaman // II Teil. Hydrobiologia. – 1963. – № 22. – P. 111–132.

11. Machino Y. Distribution of crayfish in Europe and adjoining countries: updates and comments / Y. Machino, D. M. Holdich // *Freshwater Crayfish*. – 2006. – Vol. 15. – P. 292–323.
12. Kostyuk V. S. Karyotypes and morphological variability of crayfish *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholts, 1823) and *P. angulosus* (Rathke, 1837) / V. S. Kostyuk, A. V. Garbar, S. V. Mezhzherin // *Вестник зоологии*. – 2013. – Вып. 47, № 3. – P. 205–210.
13. Peacock F. C. Serum protein electrophoresis in acrilamyl gel: patterns from normal human subjects / F. C. Peacock, S. L. Bunting, K. G. Queen // *Science*. – 1965. – Vol. 147. – P. 1451–1455.
14. Souty-Grosset C. Atlas of Crayfish in Europe / C. Souty-Grosset, D. M. Holdich, P. Y. Noël, J. D. Reynolds, P. Hafner. – Paris : Muséum national d'Histoire naturelle, (Patrimoines naturels), 2006. – 64 p.
15. Starobogatov Y. I. Taxonomy and geographical distribution of crayfishes of Asia and East Europe (Crustacea, Decapoda, Astacoidei) / Y. I. Starobogatov // *Arthropoda Selecta*. – 1995. – Vol. 4 (3/4). – P. 3–25.

Костюк Віталій, Межжерин Сергей, Гарбар Александр. Генетическая дифференциация речных раков из водоемов бассейна р. Припять. На основе проведенных исследований аллозимной изменчивости доказано наличие в водоемах бассейна реки Припять трех видов речных раков: *A. astacus*, *A. angulosus* и *A. leptodactylus*. Установлено, что вид *A. astacus* генетически существенно более дифференцированный от длиннопалых раков, чем *A. angulosus* и *A. leptodactylus* между собой. Это может рассматриваться как доказательство подродовой, а возможно и родовой обособленности этих раков. Наличие четких аллозимных различий между симпатрическими видами длиннопалых раков *A. leptodactylus* и *A. angulosus* доводит их репродуктивную изоляцию и видовую самостоятельность.

Ключевые слова: речные раки, аллозимная изменчивость, генетическая дифференциация, бассейн Припяти.

Kostyuk Vitaliy, Mezhzherin Sergey, Garbar Alexander. Genetic Differentiation of River Crayfish From Reservoirs of the Pripyat River Basin. Based on the research of allozymes variability, the presence of three species of freshwater crayfish in the reservoirs of the Pripyat basin: *A. astacus*, *A. angulosus* and *A. leptodactylus* has been proved. It is established that the species *A. astacus* is genetically substantially more differentiated from narrow-clawed crayfish than *A. angulosus* and *A. leptodactylus* among themselves. This can be regard as evidence of the subfamily or possibly the generic level of differentiation of this crayfishes. The presence of clear allozymes differences between the sympatric species of narrow-clawed crayfish *A. leptodactylus* and *A. angulosus* proves their reproductive isolation and species autonomy. For the first time were analyzed the geographical distribution, abundance and biotopes dependence of species of crayfish in the Pripyat basin and neighboring territories of Ukraine. It has been established that angular crayfish more adapted to modern environmental conditions.

Key words: freshwater crayfish, allozymes variability, genetic differentiation, Pripyat basin.

Стаття надійшла до редколегії
22.10.2017 р.

УДК 594.32:576.89

Олена Уваєва

Вплив трематод на плодючість калюжниць

Уперше з'ясовано вплив трематоди *Neoacanthoparyphium echinatoides* (de Filippi, 1854) на плодючість двох видів молюсків родини Viviparidae. Виявилось, що ця трематода на партеногенетичній стадії розвитку достовірно знижує плодючість калюжниць. Паразитовання трематоди на стадії метацеркарій не впливає на відтворення популяції хазяїна.

Ключові слова: Viviparidae, плодючість, трематоди, партеніти, церкарії, метацеркарії.

Постановка наукової проблеми та її значення. Відносини між паразитом і хазяїном викликають великий загальнобіологічний інтерес. Молюски родини Viviparidae є obligатними проміжними й додатковими (другими проміжними) господарями личинкових форм трематод, марили яких паразитують у птахів [6]. Ця група прісноводних молюсків відіграє важливу роль в екосистемах, оскільки входить до складу різних трофічних ланцюгів і бере активну участь у колообігу речовини та енергії в біоценозах.

© Уваєва О., 2017