

УДК 595:142.3

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОГО ДОЖДЕВОГО ЧЕРВЯ *EISENIELLA TETRAEDRA* (SAVIGNY, 1826) В ЕСТЕСТВЕННОЙ И УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЕ ОБИТАНИЯ

Межжерин С. В.¹, Коцюба И. Ю.², Жалай Е. И.¹, Гарбар А. В.²

Генетическая структура популяций партеногенетического дождевого червя *Eiseniella tetraedra* (Savigny, 1826) в естественной и урбанизированной среде обитания. — С. В. Межжерин¹, И. Ю. Коцюба², Е. И. Жалай¹, А. В. Гарбар². — Путем кариотипирования и аллозимного анализа установлено, что партеногенетический дождевой червь *Eiseniella tetraedra* на территории Украины представлен триплоидной ($3n = 54$) и тетраплоидными ($4n = 72$) расами и характеризуется чрезвычайно высоким показателем разнообразия: на 313 исследованных особей выявлено 96 клонов — в среднем около 3,54 особей на клон. В урбанизированных ландшафтах этот показатель в два раза выше (4,04), чем в естественных (2,11), что является свидетельством обеднения генетического разнообразия популяций вида в городах. Распределения числа особей на клон в большинстве выборок соответствует отрицательно биномиальному, что дает основание считать, что деление биотипов на редкие, представленные единичными экземплярами и массовые клоновые — не просто следствие стохастических процессов, а имеет определенный биологический смысл, связанный с различиями механизмов их воспроизводства.

Ключевые слова: аллозимы, клоновое разнообразие, кариотип, *Eiseniella tetraedra*.

Адрес: ¹— Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украина, ул. Б. Хмельницкого 15, Киев 01601; ²— Житомирский государственный университет им. Ивана Франко, вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир, Україна.

Генетична структура популяцій партеногенетичного дощового черва *Eiseniella tetraedra* (Savigny, 1826) у природному та урбанізованому середовищах існування. — С. В. Межжерин¹, І. Ю. Коцюба², О. І. Жалай¹, О. В. Гарбар². — Шляхом кариотипування і алозімного аналізу встановлено, що партеногенетичний дощовий черв *Eiseniella tetraedra* на території України представлений триплоїдною ($3n = 54$) і тетраплоїдною ($4n = 72$) расами і характеризується надзвичайно високим показником клонового різноманіття: на 313 досліджених особин виявлено 96 клонів — в середньому близько 3,54 особин на клон. В урбанізованих ландшафтах цей показник вдвічі вищий (4,04), ніж в природних (2,11), що є свідченням збіднення генетичного різноманіття популяцій виду в містах. Розподіл числа особин на клон в більшості вибірок відповідає негативно біноміальному, що дає підставу вважати, що поділ біотипів на рідкісні, представлені поодинокими екземплярами і масові клонові — не просто наслідок стохастичних процесів, а має певний біологічний сенс, пов'язаний з відмінностями механізмів їх відтворення.

Ключові слова: алозіми, клонове різноманіття, кариотип, *Eiseniella tetraedra*.

Адреса: ¹— Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, вул. Б. Хмельницького 15, Київ 01601; ²— Житомирський державний університет ім. Івана Франка, вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир, Україна.

Genetic structure of *Eiseniella tetraedra* (Savigny, 1826) parthenogenetic earthworm populations in natural and urbanistic environments. — S. Mezherin¹, I. Kotsyuba², E. Zhelay¹, O. Garbar². — Due to karyotyping and allozymic analysis parthenogenetic earthworm is established to be represented with triploid ($3n=54$) and tetraploid ($4n=72$) races on the territory of Ukraine. It is characterized with extremely high index of clone diversity: out of 313 researched specimens 96 clones are found — an average 3.54 specimens per clone. In urbanistic landscapes this index is twice higher (4.04) in comparison with natural ones (2.11) and testifies to the pooring at genetic diversity in this species population in cities. The distribution of specimens per clone in most samples corresponds to negative binomial, thus biotypes division on rare (represented with single specimens) and mass clone is not simply the result at stochastic processes but is determined by biological reasons connected with differences in mechanisms of their origin.

Key words: allozymes, clone diversity, karyotype, *Eiseniella tetraedra*.

Address: ¹— I. Shmalhausen Institute of Zoology, National Academy of Sciences of Ukraine, B. Khmelnytsky str.15, Kyiv 01601; ²— I. Franco State Zhitomir University, Velyka Berdychivska str., 40, Zhitomir, Ukraine.

Вступление

Дождевые черви — один из основных объектов исследований почвенной зоологии, несомненно, являются и актуальной моделью эволюционно-генетических исследований. Причины — их многочисленность и разнообразие, и, самое главное, необычная для большинства животных структура генома: либо амфидиплоидная у "диплоидных" видов с числом хромосом $2n = 32, 36$, либо нечетно- (обычно $3n$ и $5n$) или четноплоидная ($4n$,

$6n, 8n$) у полиплоидных партеногенетических видов [1]. Причиной такой распространенности полиплоидии первоначально стала обширная гибридизация на уровне первичных диплоидов, приведшая к амфидиплоидии, а затем, путем возвратной гибридизации, вначале к триплоидии, затем к тетраплоидии и т. д. Поскольку все полиплоидные виды дождевых червей, вне зависимости от того, к какому типу полиплоидов они относятся, размножаются партеногенезом, на что указывает отсут-

ствие или недоразвитие семенных мешков, то можно сделать вывод, что у четноплоидных форм имеет место неравное соотношение хромосомных наборов родительских видов. Следовательно, это не амфидиплоиды, а нечетноплоиды, которые произошли в результате серии последовательных гибридизаций.

Одним из самых массовых и распространенных полиплоидных партеногенетических видов Палеарктики является ейзениелла четырехгранная *Eiseniella tetraedra* (Savigny, 1826) – червь, приуроченный к переувлажненным почвам. Исследования показали, что особи этого вида имеют, как правило, тетраплоидную, реже триплоидную структуру генома [4–6, 11], у них не образуются сперматеки [3], а их поселения – поликлоновые, характеризующиеся высоким уровнем биотипического (клонового) разнообразия [8–11]. Генетические особенности этого транспалеарктического вида изучены локально: кариотипирование осуществлено в Великобритании, Италии и Феноскандии, а клоновая структура поселений проанализирована только в Феноскандии. Такая ограниченная география исследований транспалеарктического вида делает необходимым расширение области научных изысканий, поскольку есть основания считать, что генетические параметры, полученные у разноплоидных особей, могут меняться по ареалу, а потому в разных его частях вполне вероятно появление рас иной пloidности или другого уровня клонового разнообразия. Дополнительный интерес вызывает эколого-генетический анализ поселений этого вида, который встречается как в урбанизированных, антропогенно нарушенных ландшафтах, так и естественных экосистемах.

Материал и методы

Основой исследования послужили серии ейзениелл, собранные в разных местах Украины (табл. 1). Все они были подвергнуты электрофоретическому и кариологическому анализу.

Таблица 1. Места взятия проб и объемы (N) исследованных выборок

Выборка	Широта	Долгота	N
с. Червонное, Львовская обл.	24,76721	49,80304	10
с. Тараканов, Ровенская обл.	25,71117	50,38565	7
с. Крылов, Ровенская обл.	26,99922	50,60192	19
с. Вийтивцы, Хмельницкая обл.	26,44436	49,49838	6
с. Рыжаны, Житомирская обл.	28,50368	50,65216	15
г. Ужгород (берег р. Уж)	22,29454	48,61215	51
г. Ровно (берег р. Устя)	26,22977	50,61246	68
г. Винница (берег р. Южный Буг)	28,47715	49,23117	31
г. Житомир ("Богуня", берег лесного ручья)	28,66755	50,27446	35
г. Киев (парк "Нивки")	30,52363	50,43621	16
г. Днепропетровск (парк им. Воронцова)	35,02680	48,46618	36
г. Харьков (берег р. Лопань)	36,29110	49,97780	14
г. Харьков (берег р. Харьков)	36,29100	49,97790	28
г. Симферополь (берег р. Салгир)	34,10123	44,95116	19

Электрофорез в 7,5% полиакриламидном геле и непрерывной трис-ЭДТА-Na₂-боратной pH 8,5 системе

буферов позволил оценить аллозимную изменчивость червей по следующим ферментным системам: малатдегидрогеназе (Mdh), неспецифическим эстеразам (Es) и супероксиддисмутазе (Sod).

Кариологический анализ проведен по методикам, описанным ранее и успешно использованным для исследования дождевых червей [1–2]. В качестве источника получения делящихся клеток использована ткань семенных мешков.

Результаты и их обсуждение

Геномная структура

Несмотря на то, что кариотипирование было осуществлено у 217 червей, удалось получить только 24 метафазных пластинки от 9 особей из четырех популяций (табл. 2). При этом, семь особей были тетраплоидами (4n = 72) (рис. 1), причем одна из них представляла популяцию Крыма, и только две особи оказались триплоидами (3n = 54).

Таблица 2. Число особей (N₁) и число надежных метафазных пластинок (N₂), а также число хромосом у особей *E. tetraedra* разных популяций.

Место сбора	N ₁	N ₂	Число хромосом
г. Житомир	1	2	72
г. Ровно	1	2	54
	2	7	72
г. Винница	1	4	54
	3	5	72
г. Симферополь	1	4	72

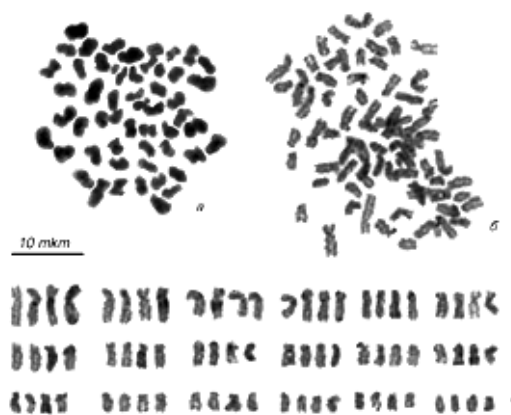


Рис. 1. Метафазные пластинки триплоидной (а) и тетраплоидной (б) особей *E. tetraedra* (г. Винница), кариотип тетраплоидной (в) особи (г. Симферополь)

Симптоматично, что во всех случаях триплоиды были примесью по отношению к тетраплоидам. Очевидно, что такая триплоидно-тетраплоидная геномная структура популяций, отмечавшаяся для этого вида [5–6, 11], является достаточно устойчивой, по крайней мере, в европейской части его ареала.

Генотипическая и клоновая структура популяций

Анализ структуры поселений вида по трем ферментным системам: Mdh, Es, Sod (последняя оказалась мономорфной) позволил установить, что исследо-

ванные выборки представлены особями разных генотипов, которые, судя по отсутствию промежуточных состояний спектров (рис. 2), должны трактоваться как клоновые биотипы, что для партеногенетического вида выглядит вполне естественным.

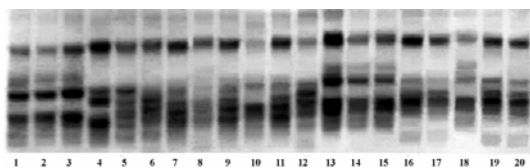


Рис. 2. Изменчивость спектров неспецифических эстераз у *E. tetraedra*: относительная клоновая стабильность в популяциях г. Житомир (1–3) и г. Винница (13–20), на фоне гипервариабельной изменчивости в г. Ровно (4–12)

Спектр Mdh кодируется одним умеренно полиморфным локусом, электрофоретический спектр продуктов которого в отдельных случаях представлен константной гетерозиготой, что свидетельствует о наличии дуплицированных локусов. При этом у червей из материковых популяций всегда присутствует общий аллельный вариант, тогда как в популяции из Крыма имела место фиксация альтернативного аллеля. Мультилокусная система неспецифических эстераз оказалась не просто высоко изменчивой, а, по сути, была гипервариабельной, поскольку каждая из выборок представлена особями разных типов, причем в каждой популяции наблюдался свой собственный набор генотипов локусов, кодирующих фермент. Исключение составили только популяции из г. Харькова с берегов р. Лопань и р. Харьков, в состав которых входили особи одних и тех же биотипов.

Число обнаруженных клонов в пределах каждой выборки колебалось от 3 до 22, что определялось как генетическими особенностями популяции, так и объемом исследованного материала (чем более объемная выборка, тем больше в ней клонов). Всего идентифицировано 96 клонов из них 50 (52%) были представлены единичными экземплярами (рис. 3). Таким образом, среднее число особей на клон в украинских популяциях *E. tetraedra* составило 3,26, что свидетельствует о существенно большем уровне клонового разнообразия, чем в Феноскандии, где по разным оценкам среднее число особей на клон варьировало от 4,8 [9] до 10,7 [11]. При этом в Северной Европе самые массовые клоны эйзениелл были одновременно и наиболее распространенными, так как обнаруживались повсеместно, чего в украинских популяциях практически не отмечалось. В конечном счете, это означает, что на северном пределе европейского ареала вида клоновое разнообразие меньше, чем на южном.

Из-за того, что большая часть биотипов представлена единичными экземплярами, то распределение числа особей по клонам можно трактовать как распределение редких событий, которое, однако, не подчиняется формуле Пуассона, а значит и простым стохастическим закономерностям. Это находит свое отражение в превышении дисперсии математическо-

го ожидания, что наблюдается как в большинстве выборок (табл. 3), так и в суммарном распределении (рис. 3), в котором при среднем значении на уровне 3,26 дисперсия составила 19,89, то есть превысила ее в более чем в 5 раз, что свойственно отрицательно биномиальному распределению. Отсюда можно сделать вывод, что разделение биотипов на массовые и единичные – в данном случае процедура не формальная, а, очевидно, имеет под собой определенный биологический смысл.

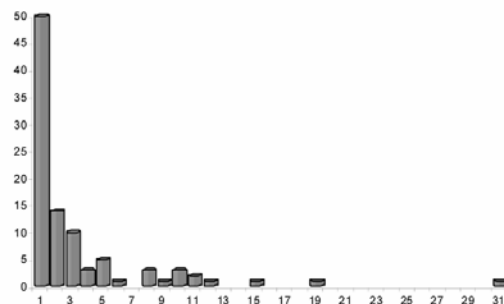


Рис. 3. Распределение клонов *E. tetraedra* по числу особей его составляющих: по оси абсцисс число особей в клоне, по оси ординат – число клонов.

Таблица 3. Статистические показатели клоновой изменчивости в популяциях *E. tetraedra*

Выборка	n	M	σ^2	min	max	N
с. Червоное	8	1,25	0,21	1	2	10
с. Тараканов	3	2,33	5,33	1	5	7
с. Крылов	11	2,00	4,40	1	8	22
с. Вийтивцы	3	2,00	3,00	1	4	6
с. Рыжаны	5	3,00	4,00	1	5	15
г. Ужгород	12	4,25	15,29	1	10	51
г. Ровно	27	2,52	7,64	1	11	68
г. Винница	5	4,00	15,00	1	15	30
г. Житомир	10	3,44	21,02	1	12	37
г. Киев	5	3,20	14,70	1	10	16
г. Днепропетровск	6	6,00	47,20	1	19	36
р. Лопань	4	3,50	13,67	1	9	14
р. Харьков	6	4,67	72,30	1	22	28
г. Симферополь	4	4,75	23,60	2	12	19
В среднем	7,8	3,35	17,67	1,1	10,3	25,6

Примечание: n – количество биотипов (клонов); M – среднее количество особей на клон; σ^2 – дисперсия средней; min – минимальное количество особей в клоне, max – максимальное количество особей в клоне; N – количество исследованных особей

Можно предположить, что массовые клоновые биотипы – это потомки родительских особей, образование гамет у которых идет амейотически. Наличие же особей редких или единично встречающихся биотипов может быть интерпретировано как проявление генетической нестабильности, вызванной либо мутационным процессом, либо, что более вероятно, внутригенной рекомбинацией. Последняя все же происходит при гаметогенезе даже у партеногенетических организмов. Именно появление большого числа единичных неклоновых особей и является причиной гипервариабельности.

Следует сказать, что выборки даже большого объема, существенно отличались по параметрам клонового разнообразия. Незначительный его уровень выявлен в Днепропетровске, Симферополе, Харькове, Ужгороде. Здесь, в популяциях ейзениеллы, число особей на клон колебалось от 4 до 6, тогда как в Ровно, где разнообразие генотипов было весьма значительным, этот показатель составил около 2,5. Причем в последнем случае повышенная вариабельность была явно выраженной (табл. 3). Вообще же, если сравнивать популяции урбанизированных территорий, то среднее число особей на клон у них почти в два раза выше ($4,04 \pm 0,34$), чем в выборках, взятых в сельской местности из относительно нативных биотопов ($2,11 \pm 0,28$). Такая тенденция выглядит вполне логичной, если учесть, что в крупных городах дождевые черви этого вида, как правило, концентрируются в агрегированных изолированных поселениях, в образовании которых очевидно большую роль играет эффект основателя.

Выводы

На основании полученных результатов могут быть сделаны следующие выводы.

1. Популяции дождевого червя *Eiseniella tetraedra* на территории Украины – это поликлоновые образования с высоким уровнем биотипического разнообразия, причем в урбанизированных популяциях показатели разнообразия существенно ниже, чем в естественных ландшафтах.

2. Биотипы дождевых червей четко делятся на две группы: единично встречающиеся и массовые, причем это деление – отражение их генетической разнокачественности.

3. Исследованные особи, как и в других частях ареала, были тетраплоидами и триплоидами, причем последние встречались гораздо реже.

4. У многих партеногенетических дождевых червей, в частности, и у исследованного вида имеет место гипервариабельность, причиной которой является либо нарушение мейоза, либо вообще переход на амейотический тип размножения.

1. Викторов А. Г. Разнообразие полиплоидных рас в семействе дождевых червей Lumbricidae // Успехи современной биологии. – 1993. – 113, вып. 3. – С. 304–312.
2. Гарбар А. В., Онищук И. П. Хромосомный гетероморфизм *Octolasion lacteum* (Orley, 1885) (Oligochaeta, Lumbricidae) как результат гибридизации // Доповіді НАН України. – 2007. – № 9. – С. 136–140.
3. Перель Т. С. Географические особенности размножения дождевых червей сем. Lumbricidae // Журн. общей биол. – 1982. – 43, № 5. – С. 649–658.
4. Muldal S. The chromosomes of the earthworms I. The evolution of polyploidy // Heredity. – 1952. – №6. – P. 55–76.
5. Omodeo P. Caryology of the Lumbricidae // Caryologia. – 1952. – 4. – P. 173–275.
6. Omodeo P. Contributo alla revisione Lumbricidae // Arch. Zool. Ital. – 1956. – 41. – P. 129–212.

7. Terhivuo J., Saura A. Clone pool structure and morphometric variation in endogeic and epigeic North-European parthenogenetic earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae) // Pedobiologia. – 1996. – 40 – P. 226–239.
8. Terhivuo J., Saura A. Island biogeography of a North European parthenogenetic earthworm: Fugitive clones of *Eiseniella tetraedra* (Sav.) (Lumbricidae) // Pedobiologia. – 1999. – 43. – P. 481–486.
9. Terhivuo J., Saura A. Dispersal and clonal diversity of North-European parthenogenetic earthworms // Biol. Invasions. – 2006. – 8. – P. 1205–1218.
10. Terhivuo J., Saura A., Hongell K. Genetic and morphological variation in the parthenogenetic earthworm *Eiseniella tetraedra* (Sav.) (Oligochaeta: Lumbricidae) from South Finland and North Norway // Pedobiologia. – 1994 – 38. – P. 81–96.

Отримано: 21 квітня 2010 р.

Прийнято до друку: 24 червня 2010 р.