



УДК 575.17:595.14

© 2007

С. В. Межжерин, Р. П. Власенко, А. В. Гарбар

**Анализ клонового разнообразия двух видов
апомиктических дождевых червей (Lumbricidae:
Aporrectodea) и проблема изменчивости мелких
и крупных организмов**

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины И. А. Акимовым)

The comparative analysis of clone diversity of two triploid apomictic earthworms species of Aporrectodea genus is done in 44 samples from the territory of Ukraine. As a result, not only amphimictic A. caliginosa and A. longa, but also apomictic A. trapezoides (174 ind.) and A. rosea (235 ind.) represented with 17 and 96 clones respectively are found. Clone diversity indices calculated according to the Shannon – Weaver index differed in two latter species in the average sampling by 4 and in the overall sampling by 1.8 times. The results corroborate the tendency characteristic of apomictic earthworms: small species have higher level of genetic diversity than big ones. So, the tendency typical of all animals is confirmed: under same conditions, small organisms have higher level of genetic diversity in comparison with big ones. This universal tendency is explained by a higher speed of metabolic and physiological processes characteristic of quickly maturing small animals.

Вопрос сравнительной генетической изменчивости природных популяций организмов разных таксономических групп стал актуальным сразу же после накопления достаточного эмпирического материала. Уже из первых обзоров стало ясно, что для мелких животных характерен больший уровень гетерозиготности, определенной путем биохимического генного маркирования. Тенденция проявилась при сравнениях беспозвоночных и позвоночных [1], а также в пределах рыб, хвостатых амфибий, птиц и млекопитающих [2–5]. Обычно феномен объясняют тем, что мелкие животные многочисленнее и их популяции характеризуются большей плотностью населения, что позволяет быстрее накапливаться мутациям. Кроме того, у них обычно короче онтогенез, а значит, смены поколений происходят чаще, чем у крупных животных и, следовательно, их эволюция на уровне точковых мутаций должна проходить быстрее. Возможно и иное объяснение высоких темпов мутирования мелких животных, которое базируется на большей скорости их метаболизма [5], что должно, при прочих равных условиях, приводить к большему числу ошибок биосинтеза, в том числе

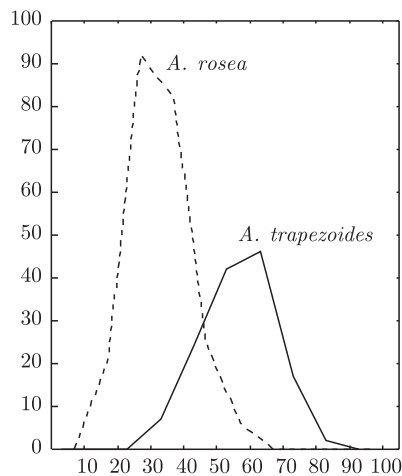


Рис. 1. Распределения двух видов дождевых червей по размерам тела

и ДНК. Тем не менее четко отделить влияние разных факторов при анализе природных популяций зачастую не представляется возможным.

В связи с вышеизложенным интерес представляют партеногенетические виды, при исследованиях которых снимается такой фактор, как плотность и размер популяций. Моделью сравнительного исследования по генетической изменчивости мелких и крупных животных могут стать дождевые черви, почти половина видов которых полиплоиды, размножающиеся путем партеногенеза. Проведенные исследования на уровне биохимических генных маркеров [6–11] позволили установить, что апомиктические виды характеризуются очень разной степенью клонового (генотипического) разнообразия. Причем, у мелких дождевых червей родов *Eiseniella*, *Dendrodrilus*, *Dendrobaena* число клонов в пределах достаточно ограниченной части ареала обычно исчисляется десятками, а у некоторых особо переменных видов — сотнями. Это значит, что каждую третью-четвертую особь такого партеногенетического вида формально следует относить к альтернативному клону. Тогда как у крупных апомиктических дождевых червей рода *Octalasion* уровень генетического разнообразия в несколько раз ниже и в пределах того же географического охвата насчитывается до десятка клонов. При этом только каждая 10–20-я особь представляет иной клон. Тем не менее результаты, полученные разными авторами, нельзя считать строго сопоставимыми, поскольку исследователи оперируют не только разноплоидными видами, неодинаковым набором и числом локусов, но и разными, в том числе и по размеру, участками в пределах ареалов этих чрезвычайно широко распространенных видов. Это приводит к тому, что оценки генотипического разнообразия по одному и тому же виду могут отличаться в 2–3 раза. Именно для того, чтобы исключить приведенные выше обстоятельства в пределах территории Украины, осуществлен строгий сравнительный анализ двух близких триплоидных видов дождевых червей — *Aporrectodea caliginosa* и *A. rosea*, которые отличаются по размерам (рис. 1).

Материалом послужили 797 экз. червей рода *Aporrectodea* из 44 выборок, охватывающих территорию Украины и собранных в течение сезона 2006 г. Видовая диагностика осуществлялась по морфологическим признакам, а также путем биохимического генного маркирования по пяти локусам: *Aat*, *Es-1*, *Es-2*, *Es-3*, *Mdh*. Принципиально важным для данной работы стало проведение границы между триплоидными апомиктическими видами *A. cali-*

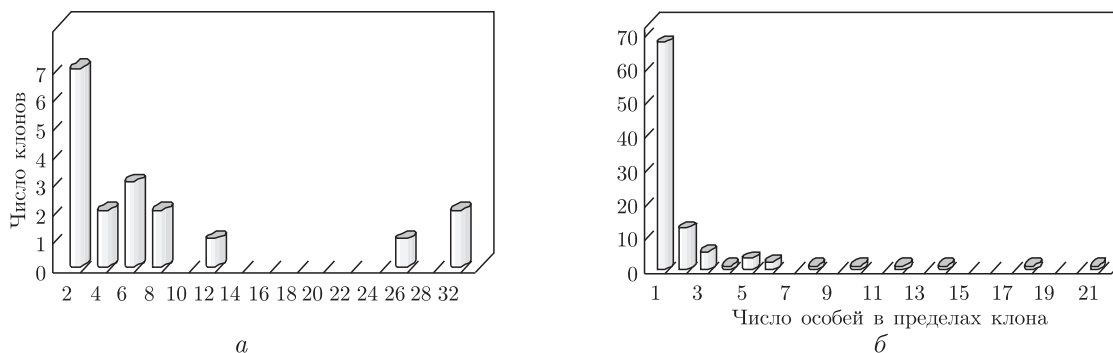


Рис. 2. Распределение клонов *A. trapezoides* (а) и *A. rosea* (б) по числу экземпляров

ginosa и *A. rosea*. К виду *A. rosea* относили червей длиной обычно до 40 мм и размещением пояска с 25-го по 32-й сегменты тела, у которых спинные поры начинаются между 4-м и 5-м сегментами, к *A. trapezoides* — особей длиной, как правило, свыше 40 мм, у которых поясок размещался с 26-го по 34-й сегменты, а поры начинались между 9-м и 10-м сегментами.

Формальная оценка клонового разнообразия рассчитана по индексу Шеннона–Уивера.

Всего в исследовании обнаружено четыре вида данного рода. Наряду с апомиктическими триплоидными *A. trapezoides* (143 экз.) и *A. rosea* (224 экз.) в выборках почти всегда присутствовали особи амфимиктических диплоидных — чаще *A. caliginosa* (336 экз.) и реже *A. longa* (94 экз.).

Разнообразие клонов *A. trapezoides*. Однозначный морфологический диагноз, позволяющий отличить представителей апомиктического вида *A. trapezoides* от амфимиктического *A. caliginosa*, отсутствует [12]. Поэтому отнесение червей к виду *A. trapezoides* проводили по константным электрофоретическим спектрам, а также триплоидному хромосомному набору, подтвержденному для трети выявленных клонов. Всего было выделено 17 генетических форм (клонов) этой апомиктической формы. При этом число особей в одном клоне колебалось от 1 до 32, в среднем на один клон приходилось 7,88 особей (табл. 1). Средневыворочное значение индекса Шеннона–Уивера, полученное для выборок, в которых было не менее пяти особей, составило 0,46. Причем только две выборки (из с. Вилково Одесской обл. и с. Григоровка Каневского р-на Черкасской обл.) из семи были поликлональны. В целом же для 143 обнаруженных особей *A. trapezoides* показатель клонового разнообразия по этому индексу составил 3,24.

Определенный интерес вызывает и распределение клонов по числу особей (рис. 2, а), которое оказалось близким к распределению редких событий (распределению Пуассона),

Таблица 1. Сравнительная характеристика клонового разнообразия двух клоновых видов дождевых червей

Показатели	<i>A. trapezoides</i>	<i>A. rosea</i>
<i>n</i>	143	224
<i>N</i>	17	96
<i>M</i>	7,88	2,33
σ	10,73	3,63
<i>h</i>	0,46	1,85
<i>H</i>	3,24	5,72

Примечание. *n* — число обнаруженных особей; *N* — число клонов; *M* — среднее значение в распределении клонов по числу экземпляров; σ — нормированное отклонение для этого распределения; *h* — среднее повыборочное значение индекса Шеннона–Уивера; *H* — тот же индекс для общей выборки.

т. е. подчиняется стохастическим закономерностям. Это подтверждается близкими значениями средней величины ($M = 7,88$) и стандартного отклонения ($\sigma = 10,33$). Тенденция к отрицательно биномиальному характеру распределения объясняется субъективным характером взятия некоторых проб, в частности, заведомо большими объемами выборок червей из сел Вилково и Григоровка, где было выявлено самое высокое разнообразие клонов, что должно было привести к перерассеянности распределения.

Разнообразие клонов *A. rosea*. Генетическое маркирование 224 червей по морфологическим признакам, определенных как *A. rosea*, выявило их явно большее разнообразие, чем предыдущего апомиктического вида (см. табл. 1). Кариологический анализ показал, что в пределах этого комплекса встречаются три- ($2n = 36$), ди- ($2n = 54$) и миксоплоидные ($2n = 40-148$) расы. Всего путем биохимического генного маркирования было определено 96 клонов. Причем больше половины (67) — это единичные встречи, что является нормальным для высокоизменчивых апомиктических видов дождевых червей [8–11]. Максимальное число особей одного клона — 25 экз. (см. рис. 2, б) обнаружено в серии сезонных выборок из Национального ботанического сада им. А. В. Фомина (Киев).

Среднее число особей, представляющих один клон, для всех выборок *A. rosea* составило только 2,33 при стандартном отклонении 3,63, что подтверждает тенденцию к случайному распределению особей по клонам. Некоторая перерассеянность в данном случае вызвана нерендомизированными выборками, в частности из ботанического сада, что привело к непропорционально большей представленности клонов из этого места. Оценки разнообразия составили: по средневыборочному показателю 1,85 (для выборок, в которых было от 5 экз. и больше), а в целом для всех исследованных червей 5,72, что для индекса Шеннона-Уивера является показателем очень высокого разнообразия. Следует обратить внимание еще и на дополнительные обстоятельства, характеризующие экстраординарно высокую генетическую гетерогенность этого небольшого по размерам дождевого червя, которая дает основание отнести этот вид к так называемым гипервариабельным таксонам, которые, как выяснилось [13], часто встречаются среди мелких агамных беспозвоночных.

Первое, в отличие от *A. trapezoides*, отсутствовали выборки от пяти и более экземпляров, в которых все особи принадлежали к одному генотипу (клону). Более того, наблюдались случаи, когда в выборке каждая особь имела свой генотип: например, в серии из 10 экз. из с. Новый Быков (Бобровицкий р-н) и 5 экз. из с. Галица (Нежинский р-н).

Второе, в каждой географической выборке отмечался свой набор клонов *A. rosea*, тогда как у *A. trapezoides* некоторые клоны встречались в географически весьма отдаленных выборках, например, из Киевской (с. Кожуховка Васильковского р-на) и Донецкой (г. Краматорск) областей.

Третье, в выборках *A. rosea*, взятых в течение одного сезона в одном и том же месте, имеют место резкие изменения клонового состава. Причем речь идет о смене клон-доминанта, а не о единично встречающихся генетически отличных особях. Например, в Ботаническом саду им. А. В. Фомина доминирующие в начале лета клоны в конце сезона просто не были обнаружены, а их место заняли специфические осенние.

Таким образом, проведенное сравнительное исследование, базирующееся на едином наборе генных маркеров и выполненное в пределах одного региона, однозначно показало, что клоновое (генотипическое) разнообразие у мелких по размеру червей гораздо выше, чем у крупных. Так, у *A. rosea* клоны насчитывают в среднем в 3,4 раза меньше особей, чем у *A. trapezoides*, при этом показатели разнообразия у них на уровне выборок больше в 4, а в целом по совокупной выборке в 1,8 раза. Эта тенденция подтверждает результаты по

сравнительным генетическим исследованиям мелких и крупных дождевых червей других родов [6–11], а также *A. rosea* из Феноскандии [14] и *A. trapezoides* из Средиземноморья [15]. Хотя в проведенном исследовании на территории Украины уровень разнообразия клонов по этим двум видам был гораздо выше.

Традиционно причины разного уровня клонового разнообразия дождевых червей объясняют разными экологическими валентностями видов, оценка которой очень условна. И в данном случае просто невозможно определить, какой из видов “генералист”, а какой “специалист”, так как по своим экологическим предпочтениям они альтернативны. Так, *A. rosea* приурочен к северным, влажным местам обитания (на юге к поймам рек), тогда как *A. trapezoides* — вид открытых ландшафтов и целинных биотопов и в целом имеет южное распространение. Поэтому эвристичнее пытаться объяснить масштабные различия уровней генетического разнообразия этих двух видов не разной стратегией приспособления, а генетическими особенностями видов. В этой связи следует выделить два фактора, однозначно обуславливающие разную степень генетического разнообразия аллопloidных видов: разное число родительских видов, при гибридизации которых образовались полипloidные формы, и неоднозначные темпы мутирования. У партеногенетических позвоночных, число клонов которых невелико, главным фактором, определяющим разнообразие, следует считать исходное число родительских видов. У беспозвоночных, особенно у гипервариабельных видов, у которых каждая вторая-третья особи имеют альтернативный генотип, ведущим фактором диверсификации, несомненно, является высокая мутабельность. Причем не только на уровне точковых мутаций, но и на хромосомном и геномном уровнях. В последнем случае будет возникать серия из разнопloidных форм. В данном случае к этому следует еще и добавить, что род *Aporrectodea* видами небогат, а *A. rosea* вообще резко выделяется из этой группы и не имеет близких видов, которые могли бы рассматриваться как родительские формы. Вероятнее всего, *A. rosea* — это древний вид, который, в отличие от *A. trapezoides*, утратил прямые родственные связи с диплоидными рецентными видами.

К этому следует добавить, что поскольку из 96 генотипических форм 67 — это единично встречающиеся особи, то к ним понятие клон просто неприменимо. Появление таких особей — это следствие точковых или иных мутаций, которые достаточно свободно накапливаются у полипloidных организмов и возникают либо спонтанно, либо при межгеномных взаимодействиях мобильных элементов, либо в результате внутригенных рекомбинаций.

Таким образом, и в случае с дождевыми червями подтверждается общее правило, постулирующее отрицательную связь между размерами животного организма и уровнем его генетической изменчивости. Причем в случае партеногенетических видов размер и плотность популяций не определяют темпа накопления мутаций и решающим остается фактор большей скорости биологических процессов, в том числе и возраст созревания. Это однозначно следует из того, что у мелких организмов всегда выше скорость метаболизма, а значит, быстрее идет биосинтез белка и ДНК, следовательно, выше скорость клеточных делений, роста и дифференцировки что, в конечном счете, обеспечивает большую скорость созревания, короткий онтогенез и ускоренную смену поколений. При этом вопрос о том, что больше определяет уровень генетического разнообразия — разная скорость метаболизма, приводящая к неодинаковым темпам мутирования, или скорость созревания, также позволяющая быстрее их накапливать, — некорректен, поскольку одно вытекает из другого, хотя ведущим все же является скорость метаболизма на клеточном уровне. Иными словами, у мелких организмов биологические часы идут быстрее, чем у круп-

ных, а это должно проявляться на всех уровнях организации, в том числе и на молекулярном.

1. Nevo E., Beiles A., Ben-Shlomo R. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlated // Lect. Notes Biomath. – 1984. – **53**. – P. 13–213.
2. Mitton J. B., Lewis W. M. Relationships between genetic variability and life-history features of bony fishes // Evolution. – 1989. – **43**, No 8. – P. 1712–1723.
3. Nevo E., Beiles A. Genetic diversity and ecological heterogeneity in Amphibian evolution // Copeia. – 1991. – No 3. – P. 565–592.
4. Vaccus R., Ryman N., Smith M. H. et al. Genetic variability and differentiation of large grazing mammals // J. Mammal. – 1983. – **64**, No 1. – P. 109–120.
5. Межжерин С. В. Связь гетерозиготности аллозимных локусов с размерами тела у позвоночных животных // Генетика. – 2002. – **38**, № 9. – С. 1252–1258.
6. Jaenike J., Parker E. D., Selander R. K. Clonal niche structure in parthenogenetic earthworm *Octolasion tirtaeum* // Amer. Natur. – 1980. – **116**. – P. 196–205.
7. Jaenike J., Ausubel S., Grimaldi D. A. On the evolution of clonal diversity in parthenogenetic earthworms // Pedobiologia. – 1982. – **23**, H. 4. – P. 304–310.
8. Terhivuo J., Saura A. Allozyme variation in parthenogenetic *Dendrobaena octaedra* (Oligochaeta: Lumbricidae) populations of Eastern Fennoscandia // Pedobiologia. – 1990. – **34**, H. 2. – P. 113–139.
9. Terhivuo J., Saura A. Clonal and morphological variation in marginal populations of parthenogenetic earthworms *Octolasion tyrtaeum* and *O. cyaneum* (Oligochaeta, Lumbricidae) from eastern Fennoscandia // Boll. zool. – 1993. – **60**. – P. 87–96.
10. Terhivuo J., Lundqvist E., Saura A. Clone diversity of *Eiseniella tetraedra* (Lumbricidae: Oligochaeta) along regulated and free-flowing boreal rivers // Ecography. – 2002. – **25**. – P. 714–720.
11. Terhivuo J., Saura A. Low clonal diversity in *Octolasion cyaneum* (Oligochaeta: Lumbricidae) // Pedobiologia. – 2003. – **47**. – P. 434–439.
12. Перель Т. С. Распространение и закономерности распределения дождевых червей фауны СССР. – Москва: Наука, 1979. – 271 с.
13. Cywinska A., Hebert P. D. N. Origins of clonal diversity in the hypervariable asexual ostracode *Cyprodopsis vidua* // J. Evol. Biol. – 2002. – **15**, Is. 1. – P. 134–142.
14. Coboli Sbordoni M., de Matthaeus E., Omodeo P. et al. Allozyme variation and divergence between diploid and triploid populations of *Allobophora caliginosa* (Lumbricidae: Oligochaeta) // On earthworms / Eds. A. M. Bomvicini Pagliai, P. Omodeo / Selected Symposia and Monographs. – Modena: Mucchi, 1987. – P. 53–74.
15. Terhivuo J., Saura A. Genic and morphological variation of the parthenogenetic earthworm *Aporrectodea rosea* in Southern Finland (Oligochaeta, Lumbricidae) // Ann. Zool. Fenneci. – 1993. – **30**. – P. 215–224.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена
НАН Украины, Киев
Житомирский государственный университет
им. Ивана Франко

Поступило в редакцию 28.12.2006