

УДК595.142.3

## ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ТА СИСТЕМАТИЧНЕ ПОЛОЖЕННЯ *APORRECTODEA LONGA*, UDE, 1826

Власенко Р. П.

*Генетична структура та систематичне положення Aporectodea longa (Ude, 1826). — Р. П. Власенко. — У результаті проведення біохімічного та каріологічного досліджень встановлено, що A. longa має амфідиплоїдну природу, а різні популяції – незалежне походження, що підтверджує морфологічний аналіз.*

**Ключові слова:** дощові черви, Aporectodea, A. longa.

**Адреса:** Житомирський державний університет ім. Івана Франка, вул. В. Бердичівська, 40, Житомир, 10002, Україна, e-mail: vlasenko\_r@mail.ru.

*Genetic structure and taxonomy Aporectodea longa (Ude, 1826). — R. P. Vlasenko — Biochemical and kariological investigation of A. longa indicate its amphidiploid nature and independent origin of its individual populations. It is confirmed also by the results of morphological analysis.*

**Key words:** earthworm, Aporectodea, A. longa.

**Address:** Ivan Franko State University, Velyka Berdichivska st., 40, Zhytomyr, 10008, Ukraine, e-mail: vlasenko\_r@mail.ru.

### Вступ

За літературними даними, на території України зустрічається вісім видів роду *Aporrectodea*: *A. caliginosa* (Savigny, 1826), *A. trapezoides* (Duges, 1828), *A. longa* (Ude, 1885), *A. rosea* (Savigny, 1826), *A. georgii* (Michaelsen, 1890), *A. dubiosa* (Öerley, 1880), *A. jassyensis* (Michaelsen, 1891) та *A. handlirschi* (Rosa, 1897) [1; 4]. У результаті останніх досліджень їх виявлено шість: *A. caliginosa*, *A. trapezoides*, *A. longa*, *A. rosea*, *A. georgii* та *A. dubiosa*. Більшість представників роду *Aporrectodea* є диплоїдними, а для деяких описані поліплоїдні раси (*A. trapezoides*, *A. rosea*), рівень плоїдності яких може варіювати від 2x до 10x [2; 6; 7].

Основні завдання дослідження: а) визначення амфіміктичності виду, яка полягає у проведенні популяційного тесту на панміктичність; б) визначення числа хромосом; в) порівняння черв'яків із різних місць за генетичними та морфологічними ознаками.

### Матеріал і методи дослідження

Збір та транспортування дощових черв'яків здійснювали за загальноприйнятими методиками. Біохімічне генне маркування проведено методом електрофорезу у 7,5%-ому поліакриламідному гелі (Трис-ЕДГА-Na<sub>2</sub>-боратна система з рН=8,5). Визначали електрофоретичну мінливість спектрів ферментів – аспаратамінотрансферази (*Aat-1*), малатдегідрогенази (*Mdh-1*) та неспецифічних естераз (*Es-1, -2, -3, -4*) [5].

Хромосомні препарати готували за методикою висушених препаратів із попереднім колхцинуванням

тварин [7]. Дослідженням охоплено три популяції з Житомира, Ніжина та Києва. Всього проаналізовано 116 екз. представників даного виду. Для дослідження особливостей каріотипу було використано 60 екз. *A. longa*.

### Результати та їх обговорення

У фауні України *A. longa* є досить малочисельним видом. Знайдений у трьох містах України – Житомирі, Києві (у Національному ботанічному саду ім. А. В. Фоміна) та Ніжині, що свідчить про його синантропну та, ймовірно, інвазійну природу [1].

Неспецифічні естерази були представлені серіями спектрів, що кодуються, принаймні, 4-ма локусами. Усі вони поліморфні. Найбільш адекватною є інтерпретація аельної мінливості за локусом *Es-4*, який кодує найбільш повільно мігруючий продукт. Тут можна виділити три алелі, що теоретично утворюють 6 генотипів. Зокрема у низці випадків присутній ефект дози гена, який вказує на амфідиплоїдну структуру генома цього виду. Реально спостерігали 5 генотипів цього локусу, що поширювались у відповідності з моделлю панміксної популяції (табл. 1).

Також необхідно підкреслити відсутність будь-яких асоціацій генотипів за різними локусами неспецифічних естераз між собою, а також генотипів естераз з генотипами інших поліморфних локусів. Це вказує на відсутність клоновості у структурі популяції цього виду та підтверджує його амфіміктичність, зокрема, у найбільшій за об'ємом вибірці з Національного ботанічного саду ім. А. В. Фоміна.

**Таблиця 1.** Наявний та очікуваний (в дужках) розподіл генотипів локусу *Es-4* у популяції *A. longa* з Національного ботанічного саду ім. А. В. Фоміна

**Table 1.** Existing and expected (in parentheses) the distribution of genotypes locus *Es-4* in populations of *A. longa* National Botanic Garden of them. A. Fomin

Генотипи <i>Es-4</i>						$\chi^2$
aa	ab	bb	ac	bc	cc	
10 (11)	29 (34)	16 (17)	4 (3,7)	5 (4,6)	0 (0,3)	1,25

Особливий інтерес викликає порівняння генних пулів червів з трьох різних місцезнаходжень, між якими можна прослідкувати певні відмінності, пов'язані з відсутністю алеля *Es-4<sup>c</sup>*, що рідко зустрічається у популяціях Ніжина та Житомира, а також тенденцію до появи великої кількості особин з ефектом дози гена у Національному ботанічному саду ім. А. В. Фоміна (табл. 2). Необхідно підкреслити, що ці відмінності не мають якісного характеру, а віддзеркалюють лише популяційну специфіку.

Аспаратамінотрансфераза кодується чотирма алелями і ймовірно представлена двома ізолюсами, про що свідчить асиметричність розподілу алельних продуктів, тобто наявність ефекту дози гена. Перевірка на панміктичність розподілу генотипів, яка була проведена на матеріалах з Національного ботанічного саду ім.

А. В. Фоміна (табл. 3), підтвердила відповідність моделі популяції, що базується на випадкових схрещуваннях.

**Таблиця 2.** Розподіл генотипів локусу *Es-4* у популяціях *A. longa* з різних міст

**Table 2.** The distribution of genotypes *Es-4* locus in populations of *A. longa* from different cities

Генотипи	Житомир	Київ*	Ніжин
aa	4	10	3
ab	2	29	5
bb	2	16	3
ac		4	
bc		5	

Примітка: \* – окрім того, у цій популяції зустрічаються особини зі спектрами з дозами генів.

**Таблиця 3.** Наявний та очікуваний (в дужках) розподіл генотипів локусу *Aat-1* у популяції *A. longa* з Національного ботанічного саду ім. А. В. Фоміна

**Table 3.** Existing and expected (in parentheses) distribution of genotypes *Aat-1* locus in a population of *A. longa* from National Botanic Garden of them. A. Fomin

Генотипи <i>Aat</i>						$\chi^2$
bb	bc	cc	bd	cd	dd	
8 (9,3)	7 (6)	1 (1)	11 (9,3)	2 (3)	2 (2,3)	1,03

Цей факт, а також відсутність стійких поєднань генотипів цього локусу з генотипами *Es-4*, у свою чергу, підтверджує, що *A. longa* – це амфіміктичний вид, у якого не буває навіть факультативного партеногенезу.

Аналізуючи характер розподілу генотипів у різних популяціях, можна відзначити певні відмінності, зокрема, велику різноманітність генотипів цього локусу в популяції з Києва і наявність там унікального алеля, який не було знайдено в популяціях з Житомира та Ніжина (табл. 4). Наразі говорити про кількісні відмінності у цьому випадку не доводиться.

**Таблиця 4.** Розподіл генотипів локусу *Aat* в популяціях *A. longa* з різних міст

**Table 4.** The distribution of genotypes of loci *Aat* *A. longa* in populations from different cities

Генотипи	Житомир	Київ	Ніжин
abb	2	1	
abc	3		
bb		8	2
bbc	3		3
bcc	2		
bc		7	4
cc		1	1
cd		2	
bd		11	
cdd		1	
dd		2	

Малатдегідрогеназа у двох популяціях (з Житомира та Києва) характеризується константною гетерозиготністю з проявом у окремих випадках ефекту дози гена. У вибірці з Ніжина зафіксований спектр із одиничною фракцією, що може свідчити про наявність двох ізолюсів (табл. 5). Результат надзвичайно цікавий, оскільки доводить незалежне походження правобережних (Житомир, Київ) та лівобережних (Ніжин) форм *A. longa* або їх істотну історичну відособленість.

**Таблиця 5.** Розподіл генотипів локусу *Mdh-1-2* в популяціях *A. longa*

**Table 5.** The distribution of genotypes *Mdh-1-2* locus in populations of *A. longa*

Електроморфи	Житомир	Київ	Ніжин
aa			12
aab		1	
ab	8	4	
abb		5	
abc	1		

Це означає, що в основі появи правобережної форми лежить або гібридизація двох видів, які мають альтернативні алелі по *Mdh*, або у процесі дивергенції відбулася мутація одного локусу, у

результаті якої утворився так званий нуль-алель, що могло відбутися внаслідок досить тривалої ізоляції.

Для дослідження особливостей каріотипу було використано 60 екземплярів *A. longa* з трьох популяцій, з 28 екземплярів були отримані хромосомні препарати задовільної якості. Вони містили метафазні пластинки  $2n = 36$ ,  $NF=72$ , що підтверджує їх диплоїдну природу (табл. 6) і відповідає каріологічним описам цього виду [6]. За зовнішнім виглядом, розмірами і забарвленням досліджені дощові черви були типовими представниками виду *A. longa*.

Середні значення лінійних параметрів трьох масових вибірок з міст Житомира, Ніжина та Києва представлені у таблиці 7. Здійснено порівняльний аналіз якісних ознак *A. longa* з Житомира, Ніжина та Києва. Мінливість параметрів спостерігалась за такими ознаками: положення пояска, розташування папіл на передній частині тіла та на пояску (табл. 8). За пігментацією тіла (темно-коричнева, іррадіює) та

пояска (коричнева), а також за положенням пубертатних валиків (32–34 с.) у цих популяцій мінливість не спостерігається, спинні пори розміщені у міжсегментній борозні 12/13-го сегментів.

Дисперсійний аналіз (LSD-Тест) показав наявність достовірних відмінностей між ними за багатьма ознаками. Так, *A. longa* з Житомира достовірно відрізняється від цього ж виду з Ніжина за 11-ма параметрами, з них 9 – з високим рівнем достовірності ( $p < 0,001$ ) та по одному з середнім ( $p < 0,01$ ) і низьким ( $p < 0,05$ ), а з Києва – за дев'ятьма параметрами: чотири – з високим, 2 – з середнім, 3 – з низьким рівнями достовірності. Ніжинські ж *A. longa* достовірно відрізняються від київських за чотирма параметрами і всі з високим ( $p < 0,001$ ) рівнем достовірності.

Дискримінантний аналіз за сукупністю якісних та кількісних ознак показав, що досліджені популяції *A. longa* надійно дискримінуються (табл. 9).

Таблиця 6. Каріотипи представників *A. longa*

Table 6. Karyotype of representatives *A. longa*

Місце збору матеріалу	Каріотип	Кількість досліджених пластинок	Кількість екземплярів
м. Київ (Нац. бот. сад ім. А.В.Фоміна)	$2n=36$	104/1*	15
м. Ніжин (Чернігівська обл.)	$2n=36$	29	1
м. Житомир	$2n=36$	10	3

Примітка: \* – пластинка мейозу.

Таблиця 7. Основні параметрипопуляцій *A. longa*

Table 7. The main parameters of populations of *A. longa*

Ознаки	<i>A. longa</i> , м. Житомир (N = 11)		<i>A. longa</i> , м. Ніжин (N = 18)		<i>A. longa</i> , м. Київ (N = 87)	
	M ± m	Lim	M ± m	Lim	M ± m	Lim
L, мм	108,7±4,38	80 – 134	72,5 ± 3,43	40 – 90	91,75 ± 1,2	63 – 114
n <sub>1</sub>	177,18± 6,1	128 – 200	160,0 ± 5,9	99 – 193	159,69±2,1	95 – 196
l <sub>1</sub> , мм	9,3 ± 0,38	7 – 10	7,86 ± 0,11	7,0 – 8,6	9,19 ± 0,15	7 – 11
l <sub>2</sub> , мм	28,86 ± 0,56	25,5 – 31	24,00 ± 0,26	21 – 25	25,47±0,35	20 – 32
D, мм	4,37±0,06	4,0 – 4,8	3,79 ± 0,08	3,1 – 4,5	4,27 ± 0,03	4 – 5
l <sub>2</sub> /D, мм	6,61±0,17	5,31 – 7,38	6,36±0,11	5,56 – 7,74	5,99±0,09	4 – 8
n <sub>1</sub> /L	1,67 ± 0,05	1,46 – 1,92	2,85±0,08	2,02 – 2,67	1,72 ± 0,05	1,48 – 1,94
n <sub>2</sub> /l <sub>2</sub>	1,61±0,47	1,36 – 1,92	2,24±0,06	1,84 – 2,67	1,75±0,02	1,39 – 2,17

Примітка: N – кількість екземплярів, L – довжина тіла, n<sub>1</sub> – загальна кількість сегментів, n<sub>2</sub> – кількість сегментів до пояска, l<sub>1</sub> – довжина тіла до пояска, l<sub>2</sub> – відстань від передньої частини тіла до пояска, D – максимальний діаметр тіла поза пояском.

Таблиця 8. Частоти (%) якісних ознак у популяції *A. longa*

Table 8. Frequency (%) of quality parameters in populations of *A. longa*

Ознаки	Варіанти параметрів	м. Житомир (N = 11)	м. Ніжин (N = 18)	м. Київ (N = 87)
Початок пояска (сегм.)	27	0	33	55
	28	91	61	43
	29	9	6	2
Кінець пояска (сегм.)	34	9	0	22
	35	36,5	78	63
	35,5	0	0	5
	36	45,5	22	10
	37	9	0	0
Папіли на передній частині тіла (сегм.)	9 – 11	9	100	100
	9 – 10	91	0	0
Папіли на пояску (сегм.)	28, 30, 32 – 34	0	72	94
	30 – 34	9	28	6
	30, 32, 33, 34	45,5	0	0
	30, 32, 33	45,5	0	0

**Таблиця 9.** Надійність дискримінації (%) популяцій *A. longa* за сукупністю кількісних та якісних ознак

**Table 9.** Reliability of discrimination (%) of *A. longa* populations on the set of quantitative and qualitative features

Популяція	Всього	<i>A. longa</i> , Житомир	<i>A. longa</i> , Ніжин	<i>A. longa</i> , Київ
<i>A. longa</i> , Житомир	100	11	0	0
<i>A. longa</i> , Ніжин	83,3	0	15	3
<i>A. longa</i> , Київ	97,7	0	2	85
<b>В цілому</b>	<b>95,7</b>	<b>11</b>	<b>17</b>	<b>88</b>

### Висновок

Амфіміктичний *A. longa* у межах України має стандартний для диплоїдного виду дощових черв'яків набір хромосом ( $2n = 36$ ). Характер мінливості спектрів цього генетично високополіморфного

виду доводить наявність у геномі значного числа ізо- і дуплікованих локусів, що є свідченням амфідиплоїдної природи, причому різні популяції, імовірно, мають незалежне походження, що підтверджує і морфологічний аналіз.

1. Власенко Р. П. Морфологічна характеристика дощових черв'яків роду *Aporrectodea* Öerley, 1885 (Oligochaeta: Lumbricidae) фауни України / Р. П. Власенко // Вісник ДАУ. – 2008. – №2. – С. 245–255.
2. Коцюба І. Ю. Каріотиби дощових черв'яків роду *Aporrectodea* (Oligochaeta, Lumbricidae) фауни України / І. Ю. Коцюба, А. В. Гарбар, Р. П. Власенко // Вісник зоології. – 2010. – Т. 44, №5. – С. 387–392.
3. Межжерин С. В. Клоновое разнообразие партеногенетических видов дождевых червей в фауне Украины / С. В. Межжерин, А. В. Гарбар, И. П. Онищук, Р. П. Власенко, Е. И. Жалай // Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів. Том 5, №1. – Київ. – 2008. – С. 88–92.
4. Межжерин С. В. Анализ клонового разнообразия двух видов апомиктических дождевых червей (Lumbricidae: Aporrectodea) и проблемы изменчивости мелких и крупных организмов / С. В. Межжерин, Р. П. Власенко, А. В. Гарбар // Доповіді Національної академії наук України. – 2007. – №8. – С. 151–156.
5. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие) / Л. А. Остерман. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
6. Vlasenko R. P. Polyploid races, genetic structure and morphological features of earthworm *Aporrectodea rosea* (Savigny, 1826) (Oligochaeta: Lumbricidae) in Ukraine / R. P. Vlasenko, S. V. Mezherin, A. V. Garbar, Yu. Kotsuba // Comparative Cytogenetics. – 2011. – Vol.5, №2. – P. 91–103.
7. Garbar A. V. Karyotypes of three species of the genus *Aporrectodea* (Oligochaeta, Lumbricidae) of Ukrainian fauna / A. V. Garbar, R. P. Vlasenko // Comparative Cytogenetics. – 2007. – 1, N 1. – P. 59–62.

Отримано: 10 червня 2016 р.

Прийнято до друку: 16.06.2016