

УДК 595. 142: 576. 316 (477)

ПОХОДЖЕННЯ ПОЛІПЛОЇДІЇ ТА ОСОБЛИВОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ У ЧЕРВІВ РОДУ *OCTOLASION* (LUMBRICIDAE, OLIGOCHAETA)

Онищук І. П.

Походження поліплоїдії та особливості розмноження у черв'як роду Octolasion (Lumbricidae, Oligochaeta). — І. П. Онищук. — Аналізом каріотипів і алозимної мінливості дощових черв'як родів Octolasion встановлено, що материкова популяція Oct. tyrtaeum s. l. представлена генетично неоднорідною субтриплоїдною расою гібридного походження, для якої характерна тенденція до амфіміксису і факультативного (спорадично облігатного) партеногенезу. Еволюція каріотипів видового комплексу супроводжувалась поліплоїдизацією геному, що призвело до утворення поліплоїдних серій та переходу від амфімікτικού розмноження до факультативного та облігатного партеногенезу.

Ключові слова: дощові черви, каріотип, поліплоїдія, амфіміксис, партеногенез, *Octolasion*.

Адреса: Житомирський державний університет ім. Івана Франка, 10002, вул. В. Бердичівська, 40, Житомир, Україна, e-mail: irinashpin@gmail.com.

Origin of polyploidy and characteristics of reproduction worms of genus Octolasion (Lumbricidae, Oligochaeta). — І. П. Onyschuk. — An analysis of karyotypes and allozymes variability of earthworm families Octolasion established that the continental population of Oct. tyrtaeum s. l. represented by genetically heterogeneous subtriploid hybrid origin race, characterized by a tendency to amphimixis and sporadically obligate parthenogenesis. The evolution of species complex karyotype was accompanied with genome polyploidization which resulted in formation of polyploid series and transition from amphimictic reproduction to facultative and obligate parthenogenesis.

Key words: earthworms, *Octolasion*, polyploidy, karyotypes, amphimixis, parthenogenesis, polyploidy.

Address: Ivan Franko Zhytomyr State University, Velika Berdychevska 40, Zhytomyr 10008, Ukraine, e-mail: irinashpin@gmail.com.

Вступ

Для черв'як родини Lumbricidae характерним є явище поліплоїдії: такі особливості каріотипу виявлені у 19 видів із 58 досліджених [2]. Існує гіпотеза, що близько 70% видів люмбрицид могли виникнути шляхом алополіплоїдії, що є наслідком гібридизації на рівні первинних диплоїдів з наступним виникненням амфідиплоїдів. Всі поліплоїдні види черв'як розмножуються партеногенетично, доказом чого є часткова редукція у них сім'яних мішків або повна їх відсутність.

У більшості випадків, партеногенез у люмбрицид належить до мейотичного типу, для якого характерне ендомейотичне подвоєння хромосом. Ця форма партеногенезу відома для поліплоїдних форм, які відповідно до гіпотези О. Куеллара [9] та мають гібридне походження. Поліплоїдизація геному призводить до порушень у ході мейозу, тому наслідком поліплоїдії є партеногенетичний тип розмноження. Поліплоїдія і партеногенез є важливими еволюційними факторами оскільки поліплоїдні черви, більш резистентні до суттєвих змін умов існування, а партеногенез забезпечує можливість розмноження навіть при дуже низькій щільності популяції.

Можна припустити, що саме поліплоїдія є однією з форм миттєвого видоутворення, яке є основним способом виникнення видової різноманітності організмів в однорідних екологічних умовах. Для поліплоїдних черв'як характерною є поява нових фенотипових ознак, причиною чого можуть бути зміни у геномі (експресія генів, зміна дози генів).

Аналіз результатів здійсненого комплексного дослідження представників роду *Octolasion* свідчить про складну генетичну та каріологічну структуру їхніх популяцій. Виявлені поліплоїдні раси та субпопуляції з високим ступенем генетичного поліморфізму актуалізують питання про особливості розмноження, походження поліплоїдії та ймовірні мікроеволюційні процеси в досліджуваній нами групі живих організмів.

Матеріал та методи дослідження

Матеріал для дослідження збирали за загальноприйнятими методиками [2]. Каріологічні препарати готували методом відбитку, використовуючи при цьому тканини сім'яних мішків попередньо колхцинованих черв'як [4], раніше успішно використаним для каріотипування люмбрицид. Для аналізу використано 600 екз. *Oct. tyrtaeum* s. l. Для генного маркування черв'як *Oct. tyrtaeum* s. l. застосовували метод електрофорезу у 7,5%-му поліакрила-

мідному гелі Трис-ЕДТА- Na_2 -боратній системі з рН = 8,5 [5]. Дослідження здійснено на базі відділу еволюційно-генетичних основ систематики Інституту зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України.

Результати і обговорення

Поліплоїдія та особливості статевого розмноження черв'як роду *Octolasion*. Тривалий час вважалося, що *Oct. tyrtaeum* s. l. – це облігатний партеногенетичний диплоїдний вид. Ця точка зору сформувалася ще на початку каріологічних досліджень дощових черв'як – у середині минулого століття [8; 13]. Партеногенез у люмбрицид характерний для поліплоїдів з нерівним співвідношеннями геномів батьківських видів [2], тоді як для диплоїдних видів це явище є неможливим (виняток: початковий етап гібридного партеногенезу). Результати, отримані в ході каріологічних досліджень, підтверджують дані зарубіжних дослідників [2; 3], які свідчать, що у мітозі у метафазних пластинках переважної більшості екземплярів *Oct. tyrtaeum* s. l. налічується 38 хромосом. Можна припустити, що предкова форма *Oct. tyrtaeum* s. l., згідно існуючим моделям переходу до партеногенезу і поліплоїдності [1; 9; 11], була триплоїдом. У процесі еволюції цього виду частина триплоїдного набору втрачається (анеуплоїдія), і сучасна форма є субтриплоїдом ($2n+x=38$), тоді партеногенез стає закономірним. На користь триплоїдності *Oct. tyrtaeum* s. l. свідчить і картина сперматогоніального мейозу, яка нагадує мейоз триплоїдного *A. trapezoides* [6].

На користь гібридного походження субтриплоїдної раси *Oct. tyrtaeum* s. l. свідчать відмінності у розмірах і формі трьох найбільших хромосом у соматичному наборі, що може бути доказом негомологічності хромосомних наборів предкових видів. У цьому випадку виникає закономірне питання про механізм редукції числа хромосом з $3n=54$ до $2n+x=38$. Існуючі каріологічні та цитологічні дані не дозволяють однозначно на нього відповісти. У зв'язку з цим значний інтерес являє собою каріологічна структура близького до *Oct. tyrtaeum* s. l. виду – *Oct. cyaneum*. Каріотип його «диплоїдної» форми складається з 40 хромосом ($n=20$) [15]. Проте базове число хромосом поліплоїдних форм ($7n$ і $9n$) *Oct. cyaneum*, знайдених цим же автором [15], є $n=18$. Тому А. Ведовіні по аналогії з *Oct. tyrtaeum* s. l. вважає цю форму субтриплоїдною ($2n+x$). Мітичний набір хромосом ще однієї поліплоїдної раси, знайденої С. Мюльдалем [13], складався з 190 хромосом. Цей автор припустив, що це декаплоїд з базовим числом хромосом $n=19$. Проте, якщо базовим вважати число $n=18$, то цю расу слід розглядати як анеуплоїдну ($10n+x$). Враховуючи значну морфологічну схожість обговорюваних видів (у *Oct. tyrtaeum* s. l. поясок зміщений на 1 сегмент далі у порівнянні з *Oct. cyaneum*) і наявність проміжних форм по цьому параметру логічним є припущення, що вони є формами єдиного політипічного партеногенетичного виду [14]. У цьому випадку логічним є існування

триплоїдної форми *Oct. tyrtaeum* s. l., яка була описана П. Омодео [14]. Оскільки відомі тільки непарноплоїдні раси цих видів, їх поліплоїдія, ймовірно, має гібридну природу. При цьому субтриплоїдні раси могли утворитися у результаті запліднення диплоїдної (утвореної шляхом ендомітотичного подвоєння хромосом) гамет партеногенетичної форми гаплоїдним спермієм, що супроводжувалося елімінацією більшої частини хромосом гаплоїдного набору. Це підтверджується наявністю в сперматогоніальному мейозі, окрім нормальних бівалентів, також і тривалентів. Подібний механізм редукції числа хромосом виявлений у деяких планарій [10]. Отримані результати добре узгоджуються з гіпотезою, висунутою О. Куелларом [9], за якою всі поліплоїдні види мають гібридне походження, тобто є аллополіплоїдами (у нашому випадку *Oct. tyrtaeum* s. l. є аллотриплоїдом). Цей автор запропонував розглядати перехід від аллополіплоїдії до аллодиплоїдії (для *Oct. tyrtaeum* s. l. утворення соматичного набору з 38 хромосом ($2n+x$) від триплоїдного $3n=54$) як результат втрати одного материнського геному (у нашому випадку лише його частини).

Оскільки два виявлені субтриплоїдні «види» відрізняються за числом хромосом можна припустити, що в їх утворенні брали участь різні предкові форми. У будь-якому випадку гібридизація і пов'язана з нею непарноплоїдність повинні призводити до істотних порушень мейозу і партеногенезу, що, очевидно, і має місце у *Oct. tyrtaeum* s. l. У принципі, цю гіпотезу підтверджує структура поселень цих люмбрицид на півдні України, які там представлені низкою триплоїдних дискретних генетичних типів (клонів). Існування партеногенетичних, триплоїдних електрофоретично відмінних клонів, субпопуляції яких географічно досить віддалені, можна пояснити утворенням їх у результаті різних актів гібридизації, тобто походженням від різних батьківських біотипів. Хоча слід враховувати, що наявність генетичного поліморфізму у представників північних масових субтриплоїдних біотипів, що нехай і супроводжується відхиленнями у розподілах генотипів від моделі класичної панміктичної популяції, не дає однаке, підстави вважати, що всі представники цього видового комплексу у цілому є облігатними партеногенетами. Можна констатувати, що у субтриплоїдних північних форм немає ні строгого партеногенезу, ні типового амфіміксису. Навпаки, щодо наймасовіших біотипів *Oct. tyrtaeum* s. l., то для них вимальовується тенденція до амфіміктичного розмноження. Дійсно у особин різних форм *Oct. tyrtaeum* s. l. має місце мінливість спектрів естераз, зокрема, локусу *Es-4*, яка не може бути інтерпретована ні як клонова мінливість, ні як типовий випадок амфіміксису. З одного боку, підставою для такого суперечливого висновку є наявність відповідних гомо- і гетерозиготних генотипів (у даному випадку за локусами *Es-4*), які розподіляються у частині досліджених вибірок відповідно до закону Харді-Вайнберга, як це типово для амфіміктичних диплоїдних видів

дошових черв'їв [6], тоді як при клоновій структурі поселень повинні спостерігатися фіксації певних генотипів [5]. Слід відзначити, що як дві наймасовіші форми *Oct. tyrtaeum* s. l., так і ті, що зустрічаються спорадично, мешкають разом, але мають достатньо надійну репродуктивну ізоляцію. А це може відбуватися тільки за рахунок обмеження амфіміксису. Причому репродуктивна ізоляція *Oct. tyrtaeum* s. l. найімовірніше підтримується за рахунок географічної альтернативності партеногенезу для цих черв'їв.

Аналіз сукупної вибірки *Oct. tyrtaeum* s. l. свідчить про дефіцит гетерозигот по відношенню до очікуваного (за законом Харді-Вайнберга), а це можна пояснити наслідком інбридингу, або самозапліднення, можливість якого не варто відкидати.

Отже, у субтриплоїдних черв'їв *Oct. tyrtaeum* s. l., які мешкають у північних регіонах України, ніби поєднується амфіміксис (можливе як перехресне, так і самозапліднення) та партеногенетичне розмноження, тому їх правильніше називати факультативними партеногенетами. Що стосується рідкісних малочисельних форм, то для них, не дивлячись на їх субтриплоїдну природу, партеногенез має очевидно більшою мірою облігатний характер.

Оскільки всі виявлені біотипи *Oct. tyrtaeum* s. l. характеризуються аномальним мейозом, це, на перший погляд, мало б істотно обмежувати або навіть унеможливити амфіміксис, оскільки нормальні гамети майже не утворюються. Однак характер алозимної мінливості свідчить, що у ряді випадків цей процес все ж таки відбувається. Ймовірно, не дивлячись на порушення у мейозі, анеуплоїдні дошові черви зберігають здатність до перехресного запліднення.

Дослідження хромосомних механізмів успадкування разом із вивченням явища партеногенезу, поліплоїдії та використання біохімічного генного маркування дають можливість виявити імовірні шляхи видотворчого процесу [15], що, на нашу думку, триває у популяціях *Oct. tyrtaeum* s. l. Виявлені за допомогою генетичних маркерів та каріологічних досліджень нові біотипи та клонові форми у популяціях *Oct. tyrtaeum* s. l. можуть мати переваги під час опанування цією групою лямбріцид нових ареалів із певними екологічними умовами. Кожен біотип чи клон оптимально пристосований саме до тих конкретних екологічних умов, в яких перебуває, а це призводить

до утворення нових екотипів, кожен з яких в силу специфіки механізмів хромосомного успадкування та способів розмноження з часом імовірно може еволюціонувати у новий вид [7].

Так, більшість клонових форм може проявляти деякі властивості видів (морфологічна однорідність, репродуктивна ізоляція). Прикладом може бути виявлена клонова триплоїдна раса *Oct. tyrtaeum* (с. Мостове, АР Крим): перебуваючи на окраїні ареалу партеногенетичні триплоїдні черви набули ознак, які суттєво відрізняють їх від субтриплоїдних рас цього виду, тому вони і заслуговують на статус виду. Іншим прикладом можуть бути триплоїдні раси *Oct. tyrtaeum* s. l. виявлені російськими дослідниками [3, 12] у Західному Сибіру.

Подальші дослідження генетичних процесів у субпопуляціях *Oct. tyrtaeum* s. l., можуть дати відповіді на питання про походження цього виду та допомогти зрозуміти механізми мікроеволюційних процесів, що безперервно тривають у його популяціях. Складність таких досліджень полягає у тому, що зазвичай вивчаються не реальні популяції, а випадкові вибірки. Тому досить складно реально оцінити ступінь морфологічного і генетичного поліморфізму, максимальну плідність та способи розмноження у природних популяціях.

Висновки

Аналіз всіх вищенаведених фактів, показав, що популяції дослідженого нами видового комплексу *Oct. tyrtaeum* s. l. на території України представлені сукупністю локальних субпопуляцій, кожна з яких має особливий генетичний та каріологічний профіль, фенотипні і екологічні відмінності.

Материкова популяція *Oct. tyrtaeum* s. l. представлена генетично неоднорідною субтриплоїдною расою гібридного походження, для якої характерна тенденція до амфіміксису і факультативного (спорадично облігатного) партеногенезу. Партеногенез, скоріше всього, носить характер аутоміктичної телітокії. Півострівна (с. Мостове АР, Крим) та ряд південних субпопуляцій *Oct. tyrtaeum* s. l. мають клонову структуру (виявлено два клони *Oct. tyrtaeum-IIIa* та *Oct. tyrtaeum-IIIb*), всі представники якої є партеногенетичними триплоїдами гібридного походження, що підтверджується їх генетичними особливостями.

1. Боркин Л. Я. Сетчастое (гибридогенное) видообразование у позвоночных / Л. Я. Боркин, И. С. Даревский // Журн. общ. биологии. – 1980. – Т. 41, №4. – С. 485–505.
2. Викторов А. Г. Разнообразие полиплоидных рас в семействе дождевых червей Lumbricidae / А. Г. Викторов // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, Вып. 3. – С. 304–312.
3. Всеволодова-Перель Т. С. Полиплоидные расы дождевых червей (Lumbricidae, Oligochaeta), распространенные в пределах Восточно-Европейской равнины и в Сибири / Т. С. Всеволодова-Перель, Н. Ш. Булатова // Известия РАН. Серия биологическая. – 2008. – № 4. – С. 448–452.
4. Гарбар О. В. Хромосомный гетероморфизм *Octolasion lacteum* (Oerley, 1885) (*Oligochaeta*, *Lumbricidae*) как результат гибридогенеза / О. В. Гарбар, И. П. Онищук // Доповіді Національної Академії наук України. – 2007. – № 9. – С. 136–140.
5. Гарбар О. В. Видовой состав и генетическая структура рода *Octolasion* (Oligochaeta : Lumbricidae) на территории Украины / О. В. Гарбар, И. П. Онищук, С. В. Межжерин // Материалы XV Всероссийского совещания по почвенной зоологии, (Москва, 17–21 ноя. 2008 г.). – Москва, 2008. – С. 34–36.
6. Клоновое разнообразие партеногенетических видов дождевых червей в фауне Украины / [С. В. Межжерин, О. В. Гарбар, И. П. Онищук и др.] // Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2008. – Т. 6, № 1. – С. 88–92.
7. Beukeboom L. W. Evolutionary genetics and ecology of sperm-dependent parthenogenesis / L. W. Beukeboom, R. C. Vrijenhoek // J. Evol. Biol. – 1998. № 11. – P. 755–782.
8. Casellato S. On polyploidy in oligochaetes with particular reference to lumbricids / S. Casellato // Prac. Int. Sump. Earthworms. – Modena : Mucchi, 1987. – P. 75–87.

9. Cuellar O. Animal parthenogenesis / O. Cuellar // *Science*. – 1977. – Vol. 197. – P. 837–843.
10. D'Souza T. G. Genetic signatures of occasional sex in parthenogenetic subpopulations of the freshwater planarian *Schmidtea polychroa* / T. G. D'Souza, N. K. Michiels // *Freshw. Biol.* – 2006. – № 51. – P. 1890–1900.
11. Jaenike J. Clonal niche structure in parthenogenetic earthworm *Octolasion tyrtaeum* / Jaenike J., Parker E. D., Selander R. K. // *Amer. Natur.* – 1980. – Vol. 116. – P. 196–205.
12. Kashmenskaya M. N. Karyotype analysis of five species of earthworms (Oligochaeta : Lubricidae) / M. N. Kashmenskaya, A. V. Polyakov // *Comparative Cytogenetic*. – 2008. – Vol. 2, № 2. – P. 121–125.
13. Muldal S. The chromosomes of the earthworms I. The evolution of polyploidy / S. Muldal // *Heredity*. – 1952 – № 6. – P. 55–76.
14. Omodeo P. Cariologia dei Lumbricidae. II. Contributo / P. Omodeo // *Caryologia*. – 1955. – Vol. 8. – P. 135–178.
15. Vedovini A. Systematique, caryologie et ecologie des Oligochetes Terrestres de la région Provencale / A. Vedovini // *Nat. Univ. Provence*. – 1973. – 150 p.

Отримано: 10 червня 2016 р.

Прийнято до друку: 16.06.2016