

УДК 595.142.3

ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ЭНДЕМИК *DRAWIDA GHILAROVII* (MONILIGASTRIDAE, OLIGOSCHAETA): ПОЛИМОРФИЗМ, ОСОБЕННОСТИ ЭКОЛОГИИ И КАРИОТИП

© 2014 г. Г. Н. Ганин¹, А. П. Анисимов², Г. В. Рослик³,
Д. М. Атопкин², Е. Н. Соколова¹

¹Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, Хабаровск 680000, Россия

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690950, Россия

³Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток 690069, Россия

e-mail: Ganin@ivep.as.khb.ru

Поступила в редакцию 24.04.2013 г.

Эндемик российского Дальнего Востока почвенные олигохеты *Drawida ghilarovi* Gates 1969 из тропического семейства представлены двумя морфо-экологическими группами, различающимися окраской, особенностями фенологии, экологии, биологии. Они относятся к двум формам: лугово-болотные обитатели являются почвенно-подстилочными, лесные черви – норники. Симпатрия у представителей этих двух групп не наблюдается. Ареал черной морфы находится в пределах бассейна пра-Амура позднего неогена, где, вероятно, в речной пойме уже существовали типичные для этих животных места обитания. Представители разных морф лесных и лугово-болотных *Drawida* имеют один и тот же уровень плоидности как по числу хромосом (диплоиды), так и по показателю массы ДНК: $2n = 20$; $2c = 2.2$ пг. Полиплоидия как видообразующий (или расообразующий) фактор у этих олигохет в российской части ареала не выявлена. Учитывая существующие различия у лесных и лугово-болотных червей, можно предположить наличие у них молекулярно-генетических различий видового статуса.

Ключевые слова: полиморфизм, морфо-экологические группы, *Drawida ghilarovi*, фенология, экология, паразитизм, кариотип, видовой статус, юг российского Дальнего Востока.

DOI: 10.7868/S0044513414090049

В России эндемик *Drawida ghilarovi* Gates 1969 (Moniligastridae, Oligochaeta) встречается только на юге Дальнего Востока. Как единственный представитель тропического рода, вид был занесен в Красные книги РФ (2001) и Хабаровского края (2008). Вид был найден в лесных биотопах заповедников “Кедровая Падь” и “Уссурийский” и описан как новый для науки (Гейтс, 1969; Гиляров, Перель, 1973). О биологии и экологии вида до сих пор известно мало (Перель, 1979; Ганин, 1997; Берман и др., 2010; Ганин, Соколова, 2012, 2012а).

Представители семейства Moniligastridae предположительно вторглись в Юго-Восточную Азию после столкновения индийского и азиатского геологических плато в ходе третичного периода, т.е. около 70 млн. лет назад (Easton, 1981). “Ареал *Drawida* – от Приморского края СССР, Китая, Кореи, Японии, через Малайзию и Восточную Азию до южной оконечности Индостана (если не до Цейлона) – обширнее, чем у какого-либо иного рода дождевых червей” (Гейтс, 1969; с. 676). В ближайших к России провинциях Северо-Во-

сточного Китая дравиды представлены 6 видами. На Корейском п-ове отмечено 4, на Японских о-вах – 8 видов (Blakemore, 2003, 2007). О возможности нахождения в российском Приморье нескольких видов данного рода упоминала еще в середине 70-х гг. Курчева (1977). Для покровов *D. ghilarovi*, обитающих в этом регионе, характерны цветовые вариации (Гейтс, 1969; Всеволодова-Перель, 1997; Ганин, 1997; 2013). Лугово-болотные черви всегда черные, а у лесных обитателей окраска либо коричневатая, либо возможны разные сочетания серого, голубого и зеленого цветов.

Полиморфизм, как известно, сопровождается полиплоидией. Среди исследованных видов Lumbricidae полиплоидные кариотипы дождевых червей представлены приблизительно с той же частотой, что и диплоидные (Викторов, 1993). Сравнительный анализ географического распространения ди- и полиплоидных форм показывает, что партеногенетические полиплоидные расы встречаются обычно на границах и за пределами видовых ареалов. В случае симпатрии разноплоидных рас одного вида отмечается их существование в разных

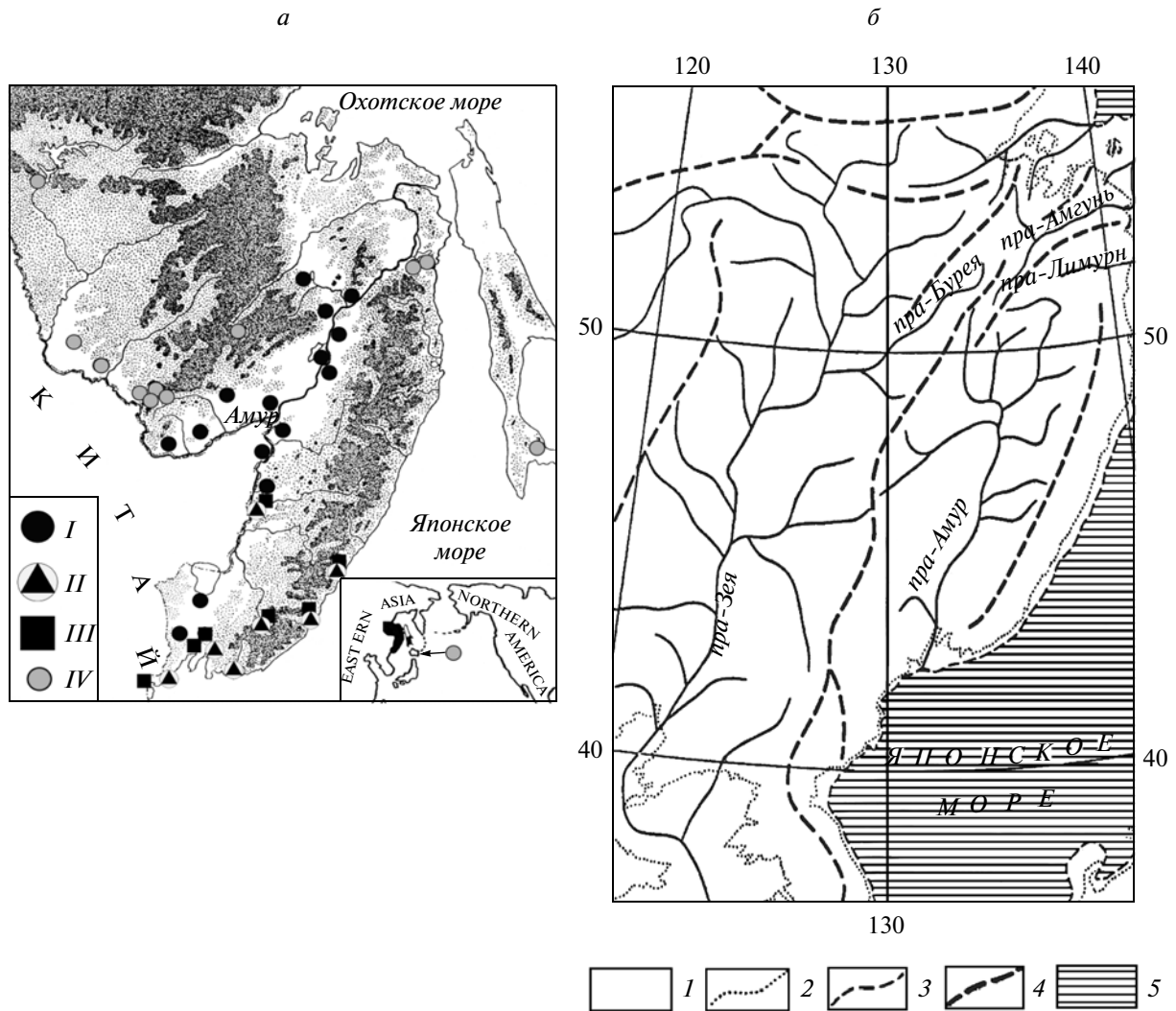


Рис. 1. Картограмма района исследований. *а* – находки разных морф тропического рода земляных червей *Drawida ghilarovi* на юге российского Дальнего Востока.

I – черные, *II* – коричневатые, *III* – зеленовато-голубые, голубовато-серые, серые, коричнево-голубые.

IV – только дождевые черви семейства Lumbricidae с пурпуровой пигментацией.

б – схема реконструкции речной сети бассейна Амура в позднем неогене (по: Чемяков, 1964): 1 – суша, 2 – современная береговая линия, 3 – предполагаемая древняя береговая линия, 4 – линия основных водоразделов, 5 – море.

экологических нишах. Известно широкое расселение по Сибири и Дальнему Востоку октоплоидной амфимиктической формы *Eisenia nordenskioldi* (Eisen 1873), в Приамурье и Приморье сосуществующей с диплоидной формой этого вида (Всеволодова-Перель, Булатова, 2008). Полиплоидные расы при этом обнаруживают большую изменчивость окраски и размеров. Подобные сведения относительно *D. ghilarovi*, находящегося на северном пределе распространения, отсутствуют.

Цель данной работы – показать существование на юге российского Дальнего Востока различных морфо-экологических групп дравид, дополнить сведения об их ареале, типичных местах обитания, особенностях биологии и экологии, а также

исследовать плоидность кариотипа *D. ghilarovi* из разных географических районов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал для исследования отобран на юге российского Дальнего Востока (рис. 1*а*). В Приамурье собирали в лугово-болотных биотопах: в северной части ареала вида – вблизи Анюйского национального парка и в окрестностях пос. Славянка (Нанайский р-н, Хабаровский край), на западном пределе распространения вида – заповедник "Бастак", пойма р. Самара у подножья хребта Помпеевский (Еврейская АО), в центре ареала – в заповеднике "Большехехцирский" и в его

окрестностях, в пойме р. Шивки (Прямая Падь, Бикинский р-н). Кроме того, прикопки проводили в южном Приморье: в предгорных и горных хвойных и хвойно-широколиственных биотопах заповедников "Уссурийский" и "Кедровая Падь", окрестностях пос. Барабаш, МБС "Восток" (побережье Японского моря), хребет Лазовский (около 1000 м над ур. м., Партизанский р-н), а также в луговых биотопах поймы р. Раздольная (Надежденский р-н) и р. Илистая (Спасский р-н).

Сбор червей и их содержание в лабораторных условиях осуществляли в соответствии с методикой (Количественные методы..., 1987). Понятие морфы соответствует определению в Биологическом энциклопедическом словаре (1986).

Для изучения особенностей фенологии (наличие зимней диапаузы) в ходе полевого сезона в трех лугово-болотных биотопах Приамурья и Приморья было отобрано по 50–150 экз. смоляно-черной морфы *D. ghilarovi* разного возрастного состава. Из лесных биотопов Приморья были отобраны несколько десятков червей иной окраски (серые, коричневатые). Одновременно были взяты пробы почвы, в которой черви собраны: лугово-глеевые/болотные, подбурые и бурые горно-лесные (Иванов, 1976).

В лаборатории наблюдения велись с осени до лета следующего года. С плотностью, близкой к природной (5–10 экз./м²), животные были рассажены в боксы, имеющие глубину 20 и 40 см, с почвой натурной влажности и разделены по условиям эксперимента на две группы: "незимующие" – без промораживания и "зимующие" – с промораживанием. "Незимующих" червей (лесных и лугово-болотных) содержали в течение всего опыта в хладотермостате ХТ-3/40-2 при оптимальной летней температуре 16–17° ± 1°С и освещенности в режиме 8/16. "Зимующих" олигохет (только лугово-болотные), в целях моделирования природного хода температур, в начале эксперимента в течение 30 суток (октябрь–ноябрь) содержали в хладотермостате, начиная с +16°С и постепенно понижая ее до +7°С. В это время черви могли подготовиться к диапаузе, некоторые при этом сворачивались в клубок. Затем боксы были перемещены в холодильник, где температуру в почве продолжали постепенно понижать от +7 до 0°С в течение еще одного месяца (ноябрь–декабрь). Далее в морозильной камере в течение суток осуществляли плавный переход от 0 до –3°С. Затем боксы перенесли в неотопляемое помещение, где в течение 25 сут (январь–февраль) проходила собственно зимовка при –4°С с краткосрочным пребыванием при температуре –5°С. Позже в течение марта–мая в обратном порядке моделировали выход олигохет из зимовки, адаптируя к положительным температурам. По завершении каждого из этапов эксперимента олигохет пересчитывали. В течение опыта наблю-

дали за питанием, поведением и состоянием земляных червей во всех группах.

Для кариологических исследований образцы *D. ghilarovi* отобраны из 13 популяций из Приамурья и Приморья (всего 39 экз.). Черви были отнесены к двум фенотипическим группам: черные (лугово-болотные) и все остальные (лесные). При цитогенетических исследованиях животным в полость тела вводили 0.04% раствор колхицина на 18–20 ч (Графодатский и др., 1982). Готовили цитологические препараты из клеточной суспензии семенных капсул (Булатова и др., 1987) и целомиической жидкости, а также давленные препараты по оригинальной методике (Анисимов, 1992). Воздушно-высушенные препараты и часть давленных препаратов окрашивали по Гимза. На других препаратах, полученных из семенных капсул и целомиической жидкости, проводили реакцию Фельгена, окрашивающую исключительно ДНК. Последнее позволяет методом цитофотометрии измерить в ядрах содержание ДНК и оценить уровень ploидности клеток. Для определения массы ДНК исследуемых олигохет в пикограммах (пг) параллельно фиксировали, окрашивали и фотометрировали в идентичных условиях культивируемые клетки эмбрионального мозга крысы, масса генома которых известна (Gregory, 2005). Выборки из 100–150 клеток от каждого червя фотографировали цифровой фотокамерой на микроскопе AxioImagerA1 (Carl Zeiss), после чего проводили хромосомный анализ и компьютерную цитофотометрию ядер на содержание в них ДНК с использованием программы Adobe Photoshop CS3. Статистическую обработку и построение гистограмм выполняли в программе Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полиморфизм. Распространение. Особенности экологии

Места наших многолетних сборов мегадририд показаны на картосхеме (рис. 1а). На сегодня можно говорить, как минимум, о двух морфо-экологических группах земляных червей рода *Drawida*, обитающих в уссурийской тайге (Ганин и др., 2012; Ганин, 2013). Эти монилигастриды отчетливо различаются по окраске и типичным для них местам обитания (рис. 2, 3): черная морфа – обитатели лугово-болотных пойменных биотопов Приамурья и Приморья с лугово-глеевыми или торфяными почвами; коричневатая морфа и черви с различными сочетаниями серой, голубой, зеленой окраски покровов – обитатели лесных биотопов Приморья с подбурыми и бурыми горно-лесными почвами.

Земляных червей принято делить на несколько жизненных форм: норников, собственно почвенных, подстилочных и почвенно-подстилочных

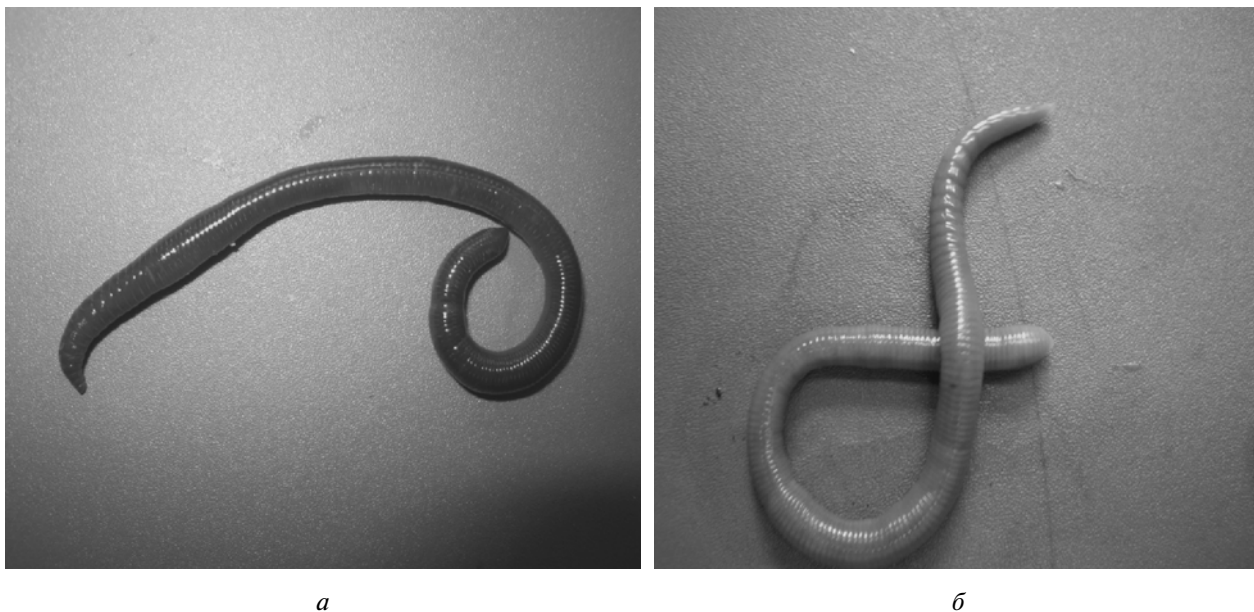


Рис. 2. Морфы *D. ghilarovi*: а – черная лугово-болотная, б – коричневатая лесная.



Рис. 3. Типичные местообитания двух морф *D. ghilarovi*: а – лугово-болотный биотоп (Нижний Амур, Вандан), б – лесной биотоп (Приморье, заповедник “Кедровая Падь”).

(Перель, 1977). К норникам относят червей, имеющих в почве построенную из копролитов камеру, от которой к поверхности в лесную подстилку поднимается ход, по которому они перемещаются, питаясь слаборазложившимся листовым опадом. Норники лучше приспособлены к перенесению периодического пересыхания почвы, но могут обитать лишь в хорошо дренированном грунте. К почвенно-подстилочным относят червей, способных совершать горизонтальные и не столь глубокие вертикальные перемещения в гумусовом горизонте почвы, и заглатывающих из-

бирательно растительные остатки вместе с перегноем. Почвенно-подстилочные виды более влаголюбивы и лучше мирятся с переувлажнением. У некоторых видов люмбрицид известна способность длительно находиться в воде (Бызова, 2007). Норники и почвенно-подстилочные виды рассматриваются как группы взаимозамещающие, так как крайние условия влажности, в которых они могут быть встречены, различны. Так, некоторые норники могут обитать в сухих субтропиках, а почвенно-подстилочные формы заходят далеко на север, в тайгу, причем способны насе-

лять заболоченные почвы. Морфологические различия почвенно-подстилочных червей и норников сводятся в основном к различиям в размерах и окраске, которая у норников хорошо выражена лишь в предпоясковой части, а у почвенно-подстилочных форм распределяется более равномерно (Перель, 1977).

Лесная морфа *D. ghilarovi* относится к экологической группе норников (Всеволодова-Перель, 1997). Почвенный слой в сопках в местах обитания этого червя под чернопихтарниками, темнохвойными и кедрово-широколиственными лесами на юге Приморья редко достигает 25–35 см. Глубже, как правило, находится каменистая материнская порода. В ходе раскопок в подстилке можно наблюдать появляющийся на поверхности почвы головной конец червя, остающегося при этом внутри уходящего вглубь хода. В период летней засухи, нередко случающейся на юге российского Дальнего Востока, в нижних слоях почвы встречаются свернутые в клубок черви, находящиеся в состоянии факультативной диапаузы — состоянии эстивации, или кратковременного летнего покоя (по: Проссер, 1977).

Лугово-болотная *D. ghilarovi* в отличие от лесной, судя по нашим многолетним наблюдениям (Ганин, 1997, 2011), относится не к норникам, а к почвенно-подстилочным обитателям. В Приамурье на затопляемых кочковатых осоково-вейниковых лугах или заболоченных участках поймы 15–25-сантиметровый слой дернины подстилается водоупорным глинистым горизонтом или аллювиальными наносами (Прозоров, 1985; Махинов, 2006). Именно эта дернина и травянистый опад являются основным местом обитания смоляно-черной дравиды. Возникающая здесь верховодка (пространство между дерниной и подстилающим слоем, затопленное водой) в жаркий засушливый период используется червем как станция переживания неблагоприятных условий. В период затяжных затоплений поймы дравиду нередко можно обнаружить в возвышающейся над водой кочке. При этом никаких постоянных ходов и капсул черви здесь не устраивают, что просто невозможно в связи с особенностями этой среды обитания.

Болота, относящиеся к интразональным элементам ландшафта, способствуют проникновению на север более теплолюбивых южных видов. В пойменных и заболочиваемых почвах наблюдается эффект сглаживания неблагоприятных флуктуаций среды, показанный в частности Черновым (1978) для арктических сообществ. Здесь теплолюбивые представители фауны менее чем где-либо подвергаются резким гидротермическим колебаниям. Это относится и к смоляно-черным монилигастридам, которые обнаружены нами даже на широте Комсомольска-на-Амуре (около 51.5° с.ш.).

Основные места обитания черной морфы (рис. 1а) находятся в пределах бассейна палео-Сунгари (по: Махинов, 2006) или пра-Амура (по: Чемяков, 1964) в позднем неогене (рис. 1б). Около 12.5 млн. лет назад с запада и востока распространение этого червя могло быть ограничено, судя по схеме реконструкции речной сети, древними водоразделами — современными хребтами Мало-го Хингана и Сихотэ-Алиня. На самом юге Приморья, как уже говорилось, черная морфа дравиды обитает лишь в пойме р. Раздольная и р. Илистая вблизи оз. Ханка, которые в то время входили в бассейн пра-Амура. По одной из гипотез Амур в прошлом имел сток с севера на юг по долине р. Уссури и, пересекая оз. Ханка, впадал в Амурский залив Японского моря. Это дает основание, как нам представляется, считать исходным древним ареалом черной морфы дравиды именно эту часть бассейна пра-Амура с характерными для него лугово-болотными биотопами. Ныне такие места обитания большей частью характерны для бассейна Уссури, Среднего и Нижнего Амура, а также локально встречаются на Приханкайской низменности и пойме р. Раздольной (рис. 1а).

В других условиях на юге Приморья обитают широко распространенные лесные *D. ghilarovi*, обладающие иной окраской покровов (коричневатые, голубовато-серые, зеленовато-землистые). Две последние морфы и были впервые найдены в желтоземах под чернопихтарниками “Кедровой Пади” (а точнее в Черных горах, ранее входивших в состав заповедника, которые на приграничной китайской и корейской территории являются частью системы горных хребтов, примыкающих к плоскогорью Чанбайшань) и в буроземах под кедровниками заповедника “Уссурийский”, расположенного на юго-западных отрогах Сихотэ-Алиня (Гиляров, Перель, 1973). Эти две самостоятельные горные системы, в соответствии со схемой реконструкции (рис. 1б), миллионы лет были отделены друг от друга пра-Амуром.

Обособление Японских о-вов от материковой части произошло во второй половине третичного периода — в плиоцене—миоцене, т.е. 12.5–27.5 млн. лет назад (Watanabe, 1938; цит. по: Гиляров, Перель, 1973; Безверхний и др., 2002), что совпадает с периодом активной экспансии монилигастрид в Юго-Восточную Азию (Easton, 1981). Этим можно объяснить современное обитание на о-ве Хонсю нескольких видов рода *Drawida* (Blakemore, 2003). В частности, в переувлажненных биотопах острова отмечается достигающий метровой длины, но весьма похожий по окраске на нашего лугово-болотного червя, иссиня-черный *Drawida hattamimizu* Hattai 1930, занесенный в Красную книгу Японии (Red Data Book of Japan, 2007; цит. по: Blakemore et al., 2010).

Таблица 1. Выживаемость (число экземпляров) лесной и лугово-болотной *D. ghilarovi* при положительной (16–17°C) температуре в условиях лабораторного эксперимента с сентября по май следующего года

Показатель	Лесной биотоп		Лугово-болотный пойменный биотоп		
	кедровая Падь + + Барабаш (серые)	МБС “Восток” + хребет Лазовский (коричневатые)	раздольная	Чирки + Одыр	Анжуй
В начале опыта	30	30	50	50	50
В конце опыта	0	0	47	50	49

Особенности фенологии и биологии

Длительные лабораторные эксперименты с лесной и лугово-болотной дравидами показали, вопреки ожиданиям, что серые и коричневатые лесные черви без зимней диапаузы гибнут (табл. 1). Находясь с осени в микрокосмах (боксы с бурой и подбурой лесной почвой из мест обитания червей) при оптимальных положительной температуре, влажности и освещенности, эти олигохеты, не подвергшиеся действию отрицательных температур, вскоре перестают питаться, теряют активность и большинство из них сворачивается в клубок. В дальнейшем из этого состояния они уже не выходят. В то же время лугово-болотные черные черви в своих микрокосмах (натурной торфяной почве из мест обитания) в течение 8–9 месяцев наблюдений оставались активными. Болотные дравиды не прекращали перемещаться по боксу, питались и не теряли тургор, а отродившаяся из отложенных ранее здесь же коконов молодь нормально развивалась (Ганин, Соколова, 2012а).

Зимние температуры в местах обитания лесной дравиды в верхних 20–40 см горных почв южной части Сихотэ-Алиня в течение 4 месяцев отрицательные и опускаются до уровня от –3 до –7°C (Справочник... Вып. 26, 1966). Это, очевидно, приводит к генетическому закреплению диапаузы, становлению облигатной диапаузы (Проссер, 1977). Зимние температуры в северной части ареала лугово-болотной дравиды на травянистых осоково-вейниковых болотах Нижнего Амура на такой же глубине отрицательные в течение 6–7 месяцев и опускаются от –0.2 до –5.1°C (Ресурсы..., 1970). При этом, как показывают наши исследования, у этих червей нет необходимости в зимней диапаузе. Надо отметить, что выживаемость черной морфы дравиды в условиях лабораторного эксперимента так же высока и после промораживания (табл. 2). Вскоре после оттаивания черви начинали активно питаться (Ганин, Соколова, 2012а). Результаты экспериментального изучения холодоустойчивости *D. ghilarovi* (Берман и др., 2010), судя по описанию фенотипа червей и месту сбора материала, относятся именно к почвенно-подстилочным лугово-болотным дравидам. Эти исследования показали 50% смертность взятых для опытов дравид лишь при –12°C.

Таким образом, очевидны различия и в особенностях фенологии лесной и лугово-болотной дравиды.

В этом отношении интересны также данные по биологии гельминтов *D. ghilarovi*. Известно, что паразитические нематоды надсемейства Drilonematoidea узко специализированы в отношении хозяина (Спиридонов, Иванова, 2005). Они паразитируют в полости тела и репродуктивных органах дождевых червей. Российскими исследователями были выявлены разные виды дрилонематоидей (Ungellidae, Synoespeminae) в целоме голубовато-серой и черной морфы дравиды (Ivanova, Spiridonov, 2011; Ivanova et al., 2014). Улесных *D. ghilarovi*, обитающих в почве горных кедровников, найден вид *Drasico nemoralis*. Лугово-болотные черви, собранные на юге Приморья в пойме р. Раздольная, а также в биотопах нижних притоков Усури и на Нижнем Амуре в Нанайском р-не Хабаровского края, были инфицированы другим видом нематоды – *Drasico paludigenus*. Это косвенно подтверждает предположение, что рассматриваемые морфы р. *Drawida* могут относиться к разным видам.

Данные о кариотипе

Цитогенетические исследования *D. ghilarovi* из географически отдаленных популяций северной, западной и некоторых биотопов южной части ареала имели целью установить наличие полиплоидных кариотипов у данного вида.

Половые клетки из семенных капсул имели в основном предмейотическую компактизацию хроматина: лептотенную (редко), зиготенную и пахитенную (сперматоциты I порядка). Встреча-

Таблица 2. Влияние на выживаемость (число экземпляров) лугово-болотной *D. ghilarovi* 30-суточных отрицательных (от –4 до –5°C) температур в условиях лабораторного эксперимента с сентября по май следующего года

Показатель	Заболоченный луг	Пойменный вторичный лес
В начале опыта	84 + 2 кокона	62 без коконов
В конце опыта	81 + 2 кокона	55 без коконов
Выжившие, %	96.4	80.7

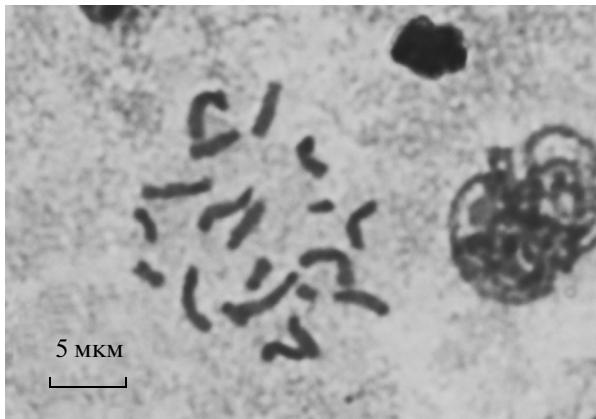


Рис. 4. Метафазная пластинка хромосом сперматогония лесного *D. ghilarovi* (зап-к “Кедровая Падь”, лесной, голубовато-серый), диплоидное число хромосом $2n = 20$. Справа ядро сперматоцита I порядка в стадии диплотены. Давленный препарат, окраска по Гимза.

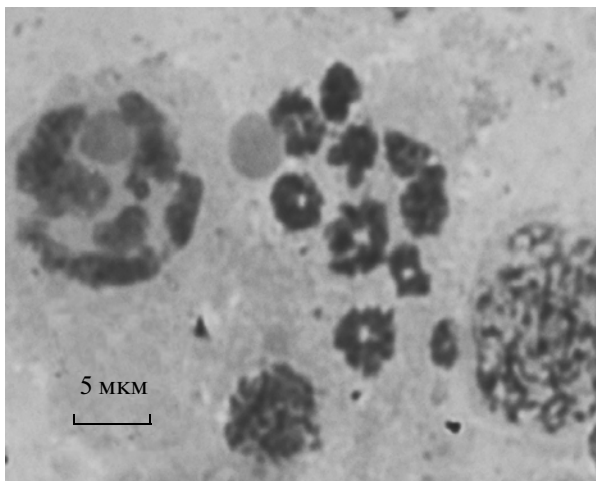


Рис. 5. Ранняя (слева) и поздняя (в центре) стадии диакинеза сперматоцитов I порядка *D. ghilarovi* (Найский р-н, болотный, черный), гаплоидное число бивалентов $n = 10$. Давленный препарат, окраска по Гимза.

лись диплотены и диакинезы, а также клетки в состоянии мейотических делений. Митозы сперматогоний, а также сперматиды и зрелые сперматозоиды обнаруживались в летние месяцы, у животных с хорошо выраженным пояском. В целом морфологическая картина цитологических препаратов свидетельствовала и о том, что гонады *D. ghilarovi*, взятые осенью или весной, находятся в состоянии половой инертности или раннего гаметогенеза, в них наблюдались дегенерирующие клетки разных стадий развития. В летние месяцы можно было наблюдать весь сперматогенез.

Хромосомный анализ. У всех червей, в семенных капсулах которых присутствуют делящиеся сперматогонии, при хорошем разбросе хромосом метафазных пластинок выявляется диплоидное

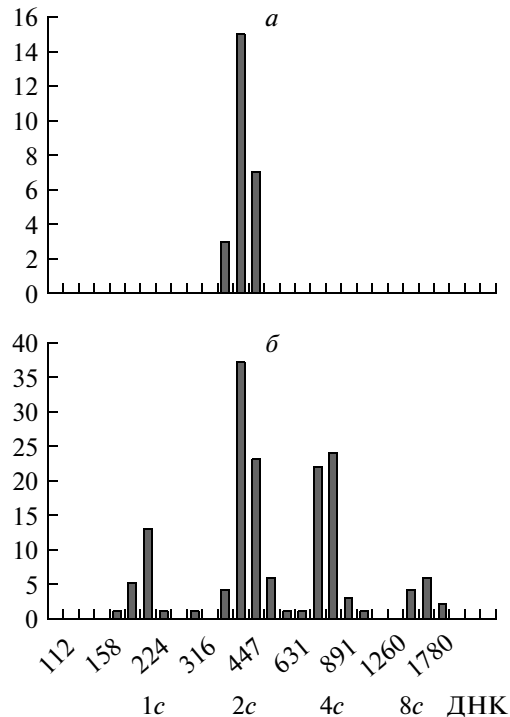


Рис. 6. Гистограммы распределения ядер целомицитов (*а*) и клеток сперматогенного ряда (*б*) по содержанию ДНК у *D. ghilarovi* (Одыр, болотный, черный). По оси абсцисс — масса ДНК в усл. ед. и в гаплоидных единицах “с”, по оси ординат — число ядер.

число хромосом $2n = 20$, парность гомологов хорошо видна (рис. 4). Анализ сперматоцитов I порядка на стадиях диакинез — метафаза I, содержащих гаплоидное число бивалентов, также показал, что все изученные экземпляры *D. ghilarovi* из разных популяций имеют одинаковый набор хромосом: $n = 10$ (рис. 5). В ранних сперматидях, соответственно, можно было видеть по 10 одинарных (монохроматидных) хромосом. Таким образом, по числу хромосом различия изученных популяций *D. ghilarovi* отсутствуют. Все они имеют гаплоидное число $n = 10$ и диплоидное $2n = 20$.

Диплоидная масса ДНК (2c) как цитохимический критерий ploidy измерялась на мазках клеток целомицитарной жидкости (целомицитов) и на давленных препаратах семенных капсул. По содержанию ядерной ДНК целомициты давали на гистограммах ожидаемое одномодальное распределение, а клетки сперматогенного ряда — трех- и, часто, четырехмодальные распределения с двукратными различиями между классами ядер (рис. 6). С учетом размеров и формы ядер, а также морфологии хроматина, было определено, что класс с наименьшим содержанием ДНК образован сперматидами и сперматозоидами, соответственно он является гаплоидным (1c). Следующий класс, диплоидный (2c), соответствует сперматогониям, сперматоцитам II порядка и соматическим клет-

кам семенников, такой же класс формируют и целомощиты. В тетраплоидный класс (4c) попадают предмейотические сперматоциты I порядка, в том числе диакинезы с 10 бивалентами хромосом. Нетипичный для популяций половых клеток четвертый класс 8c был сформирован ядрами профазно-мейотического вида, увеличенными в 2 раза против нормальных тетраплоидных ядер. Происхождение и последующая судьба таких полиплоидных сперматоцитов пока не ясны.

По совокупности цитофотометрических измерений клеток сперматогенного ряда были определены индивидуальные и усредненные для популяций диплоидные значения массы ДНК в условных единицах (табл. 3). Как видно, по 2c-массе ДНК стандартного (диплоидного) набора хромосом выборки из разных популяций *D. ghilarovi* существенно не различаются. Значения 2c варьировали от 442 ± 9 до 477 ± 5 условных единиц (усл. ед.) и иногда могли иметь статистические достоверные различия. Однако следует заметить, что и внутри выборок из одной популяции животных встречались такие же различия, которые могли быть обусловлены разными причинами. Можно предполагать неодинаковую сохранность ДНК в клетках активных и «отработавших» семенных капсул (вследствие массового апоптоза); на стадии активного гаметогенеза большая часть гониев находится в периоде синтеза ДНК, что завышает измеряемое значение класса 2c; могли различаться условия фиксации и хранения материала в разные годы и сезоны; возможны и другие системные методические отклонения. Во всяком случае, полученный результат указывает на отсутствие в каких-либо популяциях *D. ghilarovi* организменной полиплоидии – генетических различий на целые геномы, вероятность которых не исключалась при постановке настоящего исследования.

Размер генома *D. ghilarovi*, выраженный через натуральную массу ДНК (в пикограммах), рассчитывали исходя из следующих параметров. Среднее (по 13 выборкам) фотометрическое значение 2c ДНК *D. ghilarovi* составило 457 усл. ед., соответственно 1c = 228.5 усл. ед.; фотометрическое значение 2c ДНК крысы, измеренное на препаратах клеточной культуры при идентичных условиях окраски, определено в 1284 ± 14 усл. ед., соответственно 1c = 642 усл. ед.; натуральная масса ДНК генома крысы 1c = 3.1 пг (по базе данных Gregory, 2005). Расчет пропорции определил гаплоидную массу ДНК (размер генома) *D. ghilarovi* как 1c = 1.1 пг.

Таким образом, можно заключить, что все обследованные особи из 13 популяций в российской части ареала *D. ghilarovi* имеют один и тот же уровень пloidности, как по числу хромосом, так и по показателю массы ДНК: $1n = 10$, $2n = 20$; $1c = 1.1$ пг, $2c = 2.2$ пг. Полиплоидия как видообразу-

Таблица 3. Цитофотометрические значения диплоидной массы ДНК лугово-болотной черной и разных морф лесной *D. ghilarovi* из обследованных популяций

Географическая локальность и морфа червя	2c-масса ДНК, усл. ед.
Нанайский р-н, болотный, черный	442 ± 9
Ануй, болотный, черный	458 ± 9
Чирки, болотный, черный	444 ± 8
Чирки, болотный, черный красноватый	465 ± 9
Одыр, болотный, черный	467 ± 8
Бастак, луговой, черный	463 ± 5
Раздольная, луговой, черный	467 ± 9
Зап-к «Кедровая Падь», лесной, голубовато-серый	477 ± 5
МБС «Восток», лесной, коричневатый, длинный	445 ± 8
МБС «Восток», лесной, коричневатый, короткий	442 ± 6
Хребет Лазовский, лесной, коричневатый, длинный	448 ± 8
Хребет Лазовский, лесной, коричневатый, короткий	460 ± 8
Зап-к «Уссурийский», лесной, зеленовато-землистый	462 ± 7

ющий (или расообразующий) фактор для этих дравид не характерна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодня можно говорить, как минимум, о двух морфо-экологических группах земляных червей тропического рода *Drawida*, обитающих на юге российского Дальнего Востока. Эти монилгастриды явно различаются по окраске, образу жизни и типичным для них местам обитания. Лугово-болотные пойменные биотопы Приамурья и юга Приморья заселяет почвенно-подстилочная черная морфа. В лесных биотопах Приморья обитают нечерные (коричневатые либо имеющие разные сочетания серого, голубого и зеленого цветов) морфы, которые относятся к норникам. Симпатрия у болотных и лесных червей не наблюдается. Основные места встречаемости черной морфы соотносятся с очертаниями бассейна пра-Амура в позднем неогене.

Серые и коричневатые лесные черви в условиях опыта без зимней диапаузы гибли. В то же время лугово-болотные черные черви смогли обходиться без промораживания.

В полости тела лесных и лугово-болотных червей паразитируют разные виды нематод дрилонематоидей (Ungellidae, Synoecneminae).

Хромосомный анализ клеток гонад *D. ghilarovi* из лесных и лугово-болотных популяций в российской части ареала показал, что все дравиды имеют один и тот же уровень пloidности, как по числу хромосом, так и по массе ДНК: $2n = 20$, $2c = 2.2$ пг. Это дает основание говорить об отсутствии полиплоидных кариотипов у обследованных животных.

Учитывая выявленные отличия лесных червей от лугово-болотных, можно предположить существование молекулярно-генетических различий видового статуса у дравид, обитающих в этом регионе.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы признательны Т.С. Всеволодовой-Перель за ценные советы при подготовке рукописи, А.А. Аверину за предоставленные экземпляры червей, А.В. Куприну за помощь в сборе материала, А.В. Соколову за помощь при оформлении статьи.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (12-04-00221) и ДВО РАН (12-1-П30-13).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анисимов А.П., 1992. Простой способ получения постоянных давленных препаратов с использованием целлофана // Цитология. Т. 34. № 11/12. С. 110–112.
- Безверхний В.Л., Плетнев С.П., Набиуллин А.А., 2002. Очерк геологического строения и развития Курильской островодужной системы и смежных территорий // Растительный и животный мир Курильских островов (материалы Междунар. курильского проекта). Владивосток: Дальнаука. С. 9–22.
- Берман Д.И., Мещерякова Е.Н., Лейрих А.Н., Куреницков Д.К., 2010. Ареал и холодоустойчивость дождевого червя *Drawida ghilarovi* (Oligochaeta, Moniligastridae) // Зоологический журнал. Т. 89. Вып. 9. С. 1027–1036.
- Биологический энциклопедический словарь, 1986. / Под ред. Гилярова М.С. М.: Советская энциклопедия. 831 с.
- Булатова Н.Ш., Графодатский А.С., Перель Т.С., 1987. О постоянстве хромосомного набора у полиплоидных дождевых червей (на примере *Eisenia nordenskioldi*) // Генетика. Т. 23. № 3. С. 571–574.
- Бызова Ю.Б., 2007. Дыхание почвенных беспозвоночных. М.: Товарищество научных изданий КМК. 328 с.
- Викторов А.Г., 1993. Разнообразие полиплоидных рас в семействе дождевых червей Lumbricidae // Успехи современной биологии Т. 113. Вып. 3. С. 304–312.
- Всеволодова-Перель Т.С., 1997. Дождевые черви фауны России: Кадастр и определитель. М.: Наука. 102 с.
- Всеволодова-Перель Т.С., Булатова Н.Ш., 2008. Полиплоидные расы дождевых червей (Lumbricidae, Oligochaeta), распространенные в пределах Восточно-Европейской равнины и в Сибири // Известия РАН. Серия биологическая. № 4. С. 448–452.
- Ганин Г.Н., 1997. Почвенные животные Уссурийского края. Владивосток; Хабаровск: Дальнаука. 160 с. – 2011. Структурно-функциональная организация сообществ мезопедобионтов юга Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука. 380 с. – 2013. Земляные черви *Drawida ghilarovi* Gates, 1969 (Moniligastridae, Oligochaeta): 1. Полиморфизм, распространение, особенности экологии // Амурский зоологический журнал. № 4. С. 401–404.
- Ганин Г.Н., Анисимов А.П., Атопкин Д.М., Рослик Г.В., Березкин Е.Х., 2012. Распространение и генетические исследования земляных червей *Drawida ghilarovi* Gates, 1969 (Moniligastridae, Oligochaeta) - эндемика Дальнего Востока России // Животные: экология, биология и охрана: материалы Всерос. науч. конф. с междунар. участием (29 нояб. 2012 г., Саранск). Саранск: Изд-во Мордов. ун-та. С. 82–85.
- Ганин Г.Н., Соколова Е.Н., 2012. К биологии земляного червя *Drawida ghilarovi* Gates, 1969 (Moniligastridae, Oligochaeta): откладка и развитие коконов // Горные экосистемы и их компоненты: Материалы IV Международной конференции, посвященной 80-летию основателя ИЭГТ КБНЦ РАН чл.-корр. РАН А.К. Темботова и 80-летию Абхазского государственного университета. С. 138–139. – 2012а. К биологии земляного червя *Drawida ghilarovi* Gates, 1969 (Moniligastridae, Oligochaeta): выживаемость приамурской популяции в условиях лабораторного эксперимента // Экология, эволюция и систематика животных: Материалы Международной научно-практической конференции (Рязань, 13–16 ноября 2012 г.). Рязань: НП “Голос губернии”. С. 59–60.
- Гейтс Г.Э., 1969. Новый вид дождевого червя семейства Moniligastridae из рода *Drawida* Michaelsen, 1900 // Зоологический журнал. Т. 48. № 5. С. 674–676.
- Гиляров М.С., Перель Т.С., 1973. Комплексы почвенных беспозвоночных хвойно-широколиственных лесов Дальнего Востока как показатель типа их почв // Экология почвенных беспозвоночных. М.: Наука. С. 40–59.
- Графодатский А.С., Перель Т.С., Раджабли С.И., 1982. Хромосомные наборы двух форм *Eisenia nordenskioldi* (Eisen) (Oligochaeta, Lumbricidae) // Доклады АН СССР. Т. 262. № 6. С. 1514–1516.
- Иванов Г.И., 1976. Почвообразование на юге Дальнего Востока. М.: Наука. 200 с.
- Количественные методы в почвенной зоологии, 1987. / Бызова Ю.Б., Гиляров М.С., Дунгер В. и др. М.: Наука. 288 с.
- Красная книга Российской Федерации (Животные), 2001. / Министерство природных ресурсов Российской Федерации; Российская академия наук. Пред. ред. совета В.И. Данилов-Данильян и др. М.: ООО “Издательство АСТ”; ООО “Издательство Астрель”. 864 с.
- Красная книга Хабаровского края: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и животных: официальное издание, 2008. / Министерство природных ресурсов Хабаровского края, Институт водных и экологических проблем ДВО

- РАН. Хабаровск: Издательский дом "Приамурские ведомости". 632 с.
- Курчева Г.Ф., 1977. Почвенные беспозвоночные советского Дальнего Востока. М.: Наука. 132 с.
- Махинов А.Н., 2006. Современное рельефообразование в условиях аллювиальной аккумуляции. Владивосток: Дальнаука. 232 с.
- Перель Т.С., 1977. Различия организации разных представителей дождевых червей (Lumbricidae, Oligochaeta) в связи с особенностями их экологии // Адаптация почвенных животных к условиям среды. М.: Наука. С. 129–144. — 1979. Распространение и закономерности распределения дождевых червей фауны СССР. М.: Наука. 272 с.
- Прозоров Ю.С., 1985. Закономерности развития, классификация и использование болотных биогеоценозов. М.: Наука. 208 с.
- Проссер Л., 1977. Сравнительная физиология животных. М.: Мир. Т. 2. 571 с.
- Ресурсы поверхностных вод СССР, 1970. Т. 18. Дальний Восток. Вып. 2. Нижний Амур. Л.: Гидрометиздат. 601 с.
- Спиридонов С.Э., Иванова Е.С., 2005. Нематоды надсемейства Drilonematoidea — паразиты дождевых червей. М.: Товарищество научных изданий КМК. 296 с.
- Справочник по климату СССР. Вып. 26. Приморский край. Ч. II. Температура воздуха и почвы, 1966. Л.: Гидрометеиздат. 220 с.
- Чемков Ю.Ф., 1964. История развития речной сети в бассейне р. Амура // Известия АН СССР. Серия географическая № 1. С. 81–93.
- Чернов Ю.И., 1978. Структура животного населения Субарктики. М.: Наука. 167 с.
- Blakemore R.J., 2003. Japanese Earthworms (Annelida: Oligochaeta): a Review and Checklist of Species. Organisms, Diversity and Evolution. V. 3 (3). P. 241–244. — 2007. Checklist of megadrile earthworms (Annelida: Oligochaeta) from mainland China plus Hainan Island. Yokohama: YNU. 47 p. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.annelida.net/earthworm/China.pdf>. Дата обновления: январь, 2007.
- Blakemore R.J., Kupriyanova E.K., Grygier M.J., 2010. Neotipification of *Drawida hattamimizu* Hatai, 1930 (Annelida, Oligochaeta, Megadrili, Moniligastridae) as a model linking mtDNA (COI) sequences to an earthworm type, with a response to the 'Can of Worms' theory of cryptic species // ZooKeys. V. 41. P. 1–29.
- Easton E.G., 1981. Japanese earthworms: a synopsis of the Megadrile species (Oligochaeta). Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology. V. 40 (2). P. 33–65.
- Gregory T.R., 2005. Animal genome size database. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.genomesize.com>. Дата обновления: март, 2010.
- Ivanova E.S., Spiridonov S.E., 2011. Two new species of creagrocercid nematodes parasitic in earthworms, with comments on the phylogenetic affiliations of the Creagrocercidae Baylis, 1943 // Systematic Parasitology. V. 78 (2). P. 81–94.
- Ivanova E.S., Ganin G.N., Spiridonov S.E., 2014. The new genus and two new nematode species (Drilonematoidea, Ungellidae, Synoecnemininae) parasitic in two morphs of *Drawida ghilarovi* Gates, 1969, endemic earthworm from the Russian Far East // Systematic Parasitology. V. 87. P. 231–238.

THE RUSSIAN FAR EAST ENDEMIC (*DRAWIDA GHILAROVII*, OLIGOCHAETA, MONILIGASTRIDAE): POLYMORPHISM, ECOLOGY SPECIFICS AND KARYOTYPE

G. N. Ganin¹, A. P. Anisimov², G. V. Roslik³, D. M. Atopkin², E. N. Sokolova¹

¹Institute of Water and Ecological Problems, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Khabarovsk 680000, Russia

²Far East Federal University, Vladivostok 690950, Russia

³Institute of Biology and Soil Science, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690069, Russia

e-mail: Ganin@ivep.as.khb.ru

Soil oligochaeta of the tropical family *Drawida ghilarovi* Gates, 1969 inhabiting the southern Russian Far East are represented by several morphs differing in color and specific features of their phenology, ecology, and biology. These Moniligastridae belong to two morpho-ecological groups. Meadow-swamp inhabitants are soil-litter species, while forest earthworms are aneciques. No sympatry of these oligochaeta was observed. The present area of the tar-black morph coincides with the pre-Amur basin in the Late Neogene about 12.5 million years ago. This probably can be explained by the presence of floodplain habitats typical for these species. In the Russian part of the area, representatives of different morphs of forest and meadow-swamp *Drawida* have the same ploidy level both in the number of chromosomes and the DNA mass: $2n = 20$, $2c = 2.2$ pg. This gives grounds to conclude of the absence of polyploidy karyotypes in the animals studied. Considering the objectively existing differences in forest and meadow-swamp earthworms, one can suppose molecular genetic differences of the species status in *Drawida* dwelling in this region.

Keywords: *Drawida ghilarovi*, polymorphism, morpho-ecological groups, phenology, ecology, parasitism, karyotype, species status, Russian Far East south.