

УДК 595.132

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ВИВЧЕННЯ СИСТЕМАТИКИ ТА ФІЛОГЕНІЇ КРУГЛИХ ЧЕРВІВ (NEMATODA)

В. О. Харченко

Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України

Современные подходы к изучению систематики и филогении круглых червей (Nematoda). Харченко В. А. — Краткий обзор современных методов реконструкции филогении и построения классификаций на примере нематод. Эволюция нематод шла не столько путем морфологической дифференциации, сколько биохимических приспособлений. Использование анализа последовательностей ДНК открывает новые перспективы при решении задач филогении и систематики этой группы. Однако и здесь перед исследователями возникают те же проблемы, что и при использовании морфологических признаков: параллелизмы и конвергенции в структуре ДНК, ограничения исследований определенными небольшими участками генома. Использование этих методов невозможно без формализованных кладистических методов обработки результатов анализа.

Ключевые слова: филогения, классификация, нематоды.

Modern Approaches to Classification and Phylogeny of Round Worms (Nematoda). Kharchenko V. A. — This is a brief overview of modern methods for phylogeny reconstruction and classification creation by the example of nematodes. Evolution of nematodes went on not so by mean of morphological differentiation as by biochemical adaptations, and the use of DNA consequences analysis opens new prospectives in solution of philogenetic and systematics tasks in this group. However, here researchers are faced the same problems as in morphological features using: parallelisms and convergences in DNA structure, study limitations by particular small genome areas. These methods are impossible to be used without formalized cladistic methods in results processing.

Key words: phylogeny, classification, Nematodes.

Клас нематод — одна з найчисельніших і найпоширеніших груп тварин. Вони зустрічаються в морі, прісних водах, ґрунті, паразитують у тварин і рослин. Згідно з В. В. Малаховим (1986), відомо близько 20 тис. видів нематод, серед яких 5 тис. видів — паразити тварин, 2 тис. видів — фітогельмінти, 13 тис. — вільноживучі нематоди моря, прісних вод і ґрунту. Загальна кількість видів нематод оцінюється різними авторами від 80—100 тис. до 1 млн. За В. В. Малаховим «Немає іншої групи тварин, де частка неописаних видів могла бути б настільки ж великою» (Малахов, 1986: с. 3).

Тіло нематоди покрите міцною багаточисловою кутикулою, яка разом з порожнинною рідиною, що знаходиться під тиском, утворює гідростатичний «скелет». Будова і функціонування організму нематод обумовлені наявністю цього «скелета» і виглядають досить одноманітно. Уявна простота будови насправді є результатом глибокої спеціалізації. Вона підкреслює їхню надзвичайну пластичність, сприяє пристосуванню до найрізноманітніших умов існування, включаючи паразитичний спосіб життя. Тобто еволюція цієї групи йшла не стільки шляхом морфологічної диференціації, скільки біохімічних пристосувань. Це створює певні труднощі для зоологів, оскільки при побудові класифікації нематод відчувається значний дефіцит ключових морфологічних ознак.

Основна мета кожного таксономіста — побудова класифікації, яка відображала б спільність походження тієї чи іншої групи живих організмів і таким

чином мала б значну прогностичну цінність, завдяки чому висновки, зроблені на основі вивчення відомих тварин чи рослин, можна було б перенести на ті, що раніше не вивчалися. Отже, одним з основних завдань систематики є вивчення різноманітності і подібності живого та визначення тих ознак, що свідчать саме про спільність походження певної групи живих організмів, на відміну від тих, що виникли внаслідок пристосування до подібних умов існування. Тому значну частину часу систематик приділяє пошуку нових ознак, які могли б слугувати побудові класифікації, пошуку методів оцінки цих ознак і об'єднання таксонів у групи вищого рангу.

Оскільки таксономічна ознака – це будь-яка особливість члена певного таксона, за якою він відрізняється, чи може відрізнитись від члена іншого таксону, то ознаками можуть бути майже всі характеристики живих організмів. Дуже часто через брак морфологічних ознак для класифікаційних побудов можуть використовуватися фізіологічні, екологічні, етологічні та ін. характеристики організмів і популяцій. Протягом останніх років завдяки розвитку молекулярної біології і обчислювальної техніки в систематиці широко використовуються результати аналізу структури ланцюгів ДНК, яка вважається чи не абсолютним мірилом подібності живого. Цей підхід відкрив нові перспективи розвитку систематики, забезпечив додаткові ознаки як для ідентифікації окремих видів, так і для їх групування у таксони вищого рангу, особливо у невивчених або морфологічно монотонних групах. Хоч це може звучати дивно, але його використання виявляється дешевшим, ніж виховання та робота кваліфікованого спеціаліста з певної систематичної групи, а отримані результати виглядають більш зрозумілими і обґрунтованими. Однак слід зауважити, що сьогодні при використанні цього підходу дослідникам, через рідкісність або брак представників значної кількості таксонів (музейні екземпляри часто виявляються непридатними), доводиться обмежуватися лише окремими представниками певних таксономічних груп, що не може не позначитись на якості результатів. При вивченні ДНК перед дослідниками постають ті ж самі проблеми, що і при використанні морфологічних ознак: паралелізми та конвергенції в структурі ДНК, обмеження досліджень певними невеликими ділянками геному.

За Е. Майром (1971), існує кілька методологічних підходів до об'єднання видів у таксони вищого порядку: класичний, фенетичний та кладистичний.

Класичний, або еволюціоністський підхід, при побудові класифікації, ґрунтуючись на апостеріорній оцінці подібності, враховує не лише родинні зв'язки окремих таксонів, але й ступінь їх відмінності, яка пов'язана зі швидкістю еволюції. Як наслідок, таксони, що швидко еволюціонували, отримують вищий ранг. Сам процес апостеріорної оцінки важливості ознак проходить за ряд ітерацій, шляхом проб і помилок і може виглядати як такий, що ґрунтується на інтуїції дослідника і носить суб'єктивний характер.

Фенетичний підхід характеризується об'єднанням таксонів у групи за незваженою подібністю. При цьому припускається, що всі ознаки організму однаково важливі. З розвитком комп'ютерної техніки й удосконаленням методів групування цей підхід успішно застосовується при побудові класифікацій за біохімічними ознаками та на основі аналізу ДНК, особливо у маловивчених групах. Зараз цей метод розглядається як один із напрямів філогенетичного підходу.

В основу (тепер уже можна казати класичного) кладистичного, або філогенетичного, підходу покладено принцип бритви Оккама – не множ сутностей без необхідності. Природними, або найбільш вірогідними, вважаються філогенетичні схеми, які можна побудувати за найменшу кількість кроків, кожен з яких припускає зміну таксономічної ознаки. Таким чином встановлюється порядок галуження таксонів.

Свого часу викликав шок кладистичний аналіз філогенії хребетних, який показав, що крокодили більше споріднені з птахами, ніж з іншими рептиліями, і, таким чином, останні не мають спільного предка та не можуть розглядатися як споріднена група. Це, мабуть, найяскравіший приклад тих суперечностей, які виникають в роботі таксономіста. Але встановлення ймовірних шляхів історичного розвитку зовсім необов'язково викликає зміни в обґрунтованих, усталених класифікаціях добре вивчених груп. На захисті стабільності класифікації стоїть здоровий консерватизм Кодексу зоологічної номенклатури.

Впровадження в таксономічні дослідження аналізу ДНК поновило інтерес до вивчення еволюції нематод. Систематика нематод тепер переживає своє «відродження». У 1933 р. клас нематод був розділений Чітвудами (цит. за: Chitwood, Chitwood, 1974) на 2 підкласи, що зараз мають назви *Adenophorea* та *Secernentea*. Основна різниця між ними полягала в наявності чи відсутності спеціальних залоз в основі хвоста – фазмід. Оскільки до *Secernentea* належить переважна кількість нематод, що паразитують у тварин та рослин, то саме цю групу вивчають і продовжують вивчати найбільш інтенсивно. У подальшому при вивченні різноманітності круглих червів було описано велику кількість вільноживучих видів, зокрема морських, і чіткий поділ на *Secernentea* та *Adenophorea* став зникати. До уваги стали брати інші таксономічні ознаки, як-то: будова кутикули, головних рецепторів тощо. В. В. Малахов на основі вивчення ембріології, структури кутикули та рецепторних органів, розділив нематод на 3 підкласи: *Eoplia*, *Chromadoria* та *Rhabditia*.

Результати аналізу ДНК, проведеного лабораторією М. Блэкстера, певною мірою підтвердили дані морфологічних досліджень і показали, що зоо- і фітопаразитизм виникав незалежно в різних філогенетичних гілках нематод. Отже, зрозуміло, що класифікація нематод є предметом запеклих дискусій (Blaxter et al., 1998). Залишаються невизначеними межі навіть рядів нематод. Представлена класифікація є компромісним варіантом, що прийнятий на сьогоднішній день (Dorris et al., 1999). Уже зрозуміло, що *Adenophorea* є парафілетичною групою, але через розмитість меж *Chromadorida*, від яких, гадають, пішли *Secernentea*, поки вважається більш доцільним не міняти звичного розподілу нематод на 2 групи. Достатньо проблем лишається і на нижчих щаблях класифікації нематод.

Об'єктом наших досліджень є відносно невелика, близько 70 видів, монофілетична група нематод з ряду стронгілід, що паразитують у коней, ослів та зебр. Переважна більшість видів цієї групи є космополітами. Але деякі з них ендемічні і зустрічаються лише в Азії або Африці. Існує також певна різниця у приуроченості окремих видів паразитів до певних видів хазяїв. Надзвичайно цікавим явищем, що потребує пояснення, є одночасне паразитування у кишечнику одного хазяїна більш ніж 20 споріднених видів гельмінтів.

Актуальність теми полягає в тому, що: значно почастишали хвороби, викликані личинками, які призводять до смерті хазяїна; личинки спричиняють утворення аневризми у судинах, розрив яких є летальним; стійкість паразитів до певних антигельмінтиків поступово поширюється на весь світ; використання хижих грибів відкриває багатообіцяючі перспективи біологічного контролю нематод. В той же час морфологія групи залишається недостатньо вивченою, існують суперечності між класифікаціями групи, створеними різними дослідниками на основі морфологічних і молекулярних даних, ветеринарним паразитологам вкрай необхідний сучасний визначник стронгілід коней.

Історія вивчення групи починається з 1900 р., коли Артур Лоосс (Looss, 1900) встановив, що під назвою *Cyathostomum tetracanthum* ховається принаймні 11 різних видів червів. До початку 30-х років минулого століття було описано більшість існуючих видів цієї групи.

З описом нових видів з'являлись і нові спроби їх класифікації (Ihle, 1922; Cram, 1925; Ершов, 1943; Lichtenfels, 1975; Hartwich, 1986; Двойнос, Харченко, 1994). У 1997 р. на спільній нараді в Сан-Сіті (Південна Африка) був запропонований тимчасовий компромісний варіант класифікації групи та намічені шляхи вирішення існуючих проблем і суперечностей (Lichtenfels et al., 1998). В рамках проекту перед нами стоять завдання: вивчити морфологію статевозрілих стронгілід еквід та їх паразитичних личинок; обґрунтувати гіпотезу щодо шляхів їх еволюції, на цій основі провести ревізію стронгілід.

Ми опрацювали колекції стронгілід з України, Казахстану, музеїв Росії, Великобританії, Нідерландів, Південної Африки, США. За результатами вивчення морфології паразитичних личинок та нематод на стадії линьки, нами ідентифіковані зі статевозрілими стадіями личинки більш ніж 30 видів.

Було створено матрицю, яка містить 46 морфологічних ознак для кожного з 19 родів циатостомін, а також матрицю цих ознак для 38 видів циатостомін, групування яких за родами за допомогою методів аналізу ДНК виявилось суперечливим.

Результати кладистичного аналізу, на противагу даним аналізу ДНК досить чітко розрізняють окремі роди групи. У той же час вони цілком узгоджуються з молекулярними даними стосовно того, що ряд родів з підродина стронгілін слід віднести до підродина циатостомін і в тому, що один з видів роду *Cylicocycylus* ближчий до зовсім іншої групи видів. На відміну від морфологічних досліджень, молекулярний аналіз дозволив точніше встановити родинні зв'язки в роді *Strongylus* і звести в його синоніми 2 близьких роди.

Підсумовуючи, слід сказати, що використання методів аналізу ДНК відкриває нові перспективи розвитку систематики, дозволяє швидко отримати результати при вивченні нових груп, намітити шляхи подальших морфологічних, екологічних, географічних досліджень для пошуку ключових характеристик таксонів.

Використання цих методів неможливе без формалізованих кладистичних методів обробки результатів аналізу і, приймаючи перше, ми мусимо прийняти і друге, і, навпаки – відкидаючи кладистичні методи ми мусимо відкинути і можливість використання молекулярних методів для задач таксономії.

Класичні морфологічні дослідження ніколи не зможуть бути замінені молекулярними методами, оскільки, зважаючи на специфіку сприйняття світу людиною, саме морфологічні ознаки є для неї ключовими в процесі пізнання. Після закінчення ейфорії від випробовування молекулярних методів все більше дослідників схилиються до розумного паралельного використання в таксономії підходів, що включають як молекулярні, так і морфологічні дані.

Використання аналізу ДНК ніякою мірою не звільняє від вирішення тих самих проблем систематики, що постають при використанні інших таксономічних ознак, а саме: паралелізмів, конвергенцій, мозаїчної еволюції тощо.

Математичні підходи до аналізу як молекулярних так і морфологічних, географічних або інших ознак дозволяють оцінити ймовірність різних шляхів еволюційного процесу.

Двойнос Г. М., Харченко В. А. Стронгилиды домашних и диких лошадей. – Киев : Наук. думка, 1994. – 234 с.

Ершов В. С. К перестройке систематики семейства Strongylidae Baird, 1853 // Тр. Киров. зоовет. ин-та. – 1943. – 5, вып. 1 (17). – С. 87–96.

Майр Э. Принципы зоологической систематики. – М. : Мир, 1971. – 454 с.

Малахов В. В. Нематоды: строение, развитие, система и филогения. – М. : Наука, 1986. – 216 с.

Blaxter M. L., De Ley P., Garey J. R. et al. A molecular evolutionary framework for the phylum nematoda // Nature. – 1998. – 392, N 6671. – P. 71–75.

- Chitwood B. G., Chitwood M. B.* Introduction to nematology. – Baltimore e. n. : Univ. Park Press, 1974. – 334 p.
- Cram E. B.* A new genus *Cylicostomias* and notes on other genera of the cylicostomes of horses // Proc. Helm. Soc. Wash. – 1925. – 7. – P. 229–230.
- Dorris M., De Ley P., Blaxter M. L.* Molecular analysis of nematode diversity and the evolution of parasitism // Parasitol. Today. – 1999. – 15, N 5. – P. 188–193.
- Hartwich G.* On the *Strongylus tetracanthus* problem and the systematics of the Cyathostominae (Nematoda: Strongyloidea) // Mitt. Zoologischen Museum in Berlin. – 1986. – 62, N 1. – P. 61–102.
- Ihle J. E. W.* The adult strongylids (*Sclerostomes*) inhabiting the large intestine of the horse // Rap. Com. Sclerostomiasis-onders Nederland. I. Zool. Part. – 1. – 1922. – 118 p.
- Lichtenfels J. R.* Helminths of domestic Equids. Illustrated keys to genera and species with emphasis on North American forms // Proc. Helm. Soc. Wash. – 1975. – 12, N 1. – P. 1–92.
- Lichtenfels J. R., Kharchenko V. A., Krecek R. C., Gibbons L. M.* An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (nematoda: strongyloidea: cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. // Vet. Parasitol. – 1998. – 79, N 1. – P. 65–79.
- Looss A.* Notizen zur Helminthologie Egyptens. III. Die *Sclerostomen* der Pferde und Esel in Egypten // Zbl. Bact. Parasitenk. I. Abt. Orig. – 1900. – 27. – C. 50–160, 184–192.