

A Lumbricidae család revíziója (Annelida: Oligochaeta)

OTKA 42745 ZÁRÓJELENTÉS

Bevezetés

A Lumbricidae család első tudományos igényű feldolgozását Michaelsen publikálta az 1900-as évek legelején. Ezt a munkát a gyarapodó ismeretek hatására sorozatos revízióknak vetették alá, mígnem Pop 1941-ben egy teljesen leegyszerűsített rendszert tett közzé, amely szisztematikai szempontból erősen vitatható volt (polifiletikus csoportokat tartalmazott), de jó áttekinthetősége révén (főleg az ökológusok, mint felhasználók között) széles körben elterjedt.

A lumbricida taxonómiában és szisztematikában is egyre inkább megnyilvánuló tudományos igény elengedhetetlenné tette Pop rendszerének revízió alá vételét, ezt azonban általánosan elfogadott módon a folyamatos próbálkozások ellenére sem sikerült megoldani. A legnagyobb problémát minden esetben a nem kellően átfogó (egy egy országra, régióra szorított) vizsgálatok okozták. A 80-as évek elejétől a szisztematikában végbemenő forradalmi változások – a numerikus, majd kladisztikus eljárások térnyerése – beindította "pezsgés" a földigiliszta kutatókra sem maradt hatástalan. Rövid időn belül két családrevisió látott napvilágot, amelyben már célként jelent meg egy filogenetikai alapokon álló rendszer felállítása. Mršić (1991) és Qiu & Bouché (2000) munkája azonban magán viseli mindazon jegyeket, amely alapján a Pop rendszerének megreformálására tett előző kísérletek is kudarcot vallottak. Sajnálatos módon egy-egy ország (Franciaország), régió (Balkán) faunájából kiindulva próbálták az egész Holarktikumban elterjedt Lumbricidae család rokonsági kapcsolatait feltárni, és ez alapján egy átfogó rendszert kialakítani. A másik nagy hiányossága ezen próbálkozásoknak, hogy pl. Mršić munkájában meg sem kísérelte a modern szisztematikai módszerek alkalmazását, revíziója az un. „hagyományos” szisztematikai megközelítésen alapult. Qiu & Bouché megpróbálkozott numerikus módszerek alkalmazásával, de kísérletét eleve korlátozta az a tény, hogy a már többszörösen megkérdőjelezett filenetikus módszert adoptálta, amely nélkülözi a bélyegek súlyozását, és gyakran para - illetve polifiletikus csoportokhoz vezet. Ennek következtében a XXI. század elejére szisztematikai és taxonómiai káosz alakult ki a földigiliszta családon belül. Kutatásaink célkitűzése ennek a káosznak mind taxonómiai mind szisztematikai értelemben vett csökkentése (lehetőség szerint megszüntetése) volt. E cél elérése érdekében kiinduló alapként egy taxon adatbázis létrehozását terveztük, amely minden a Lumbricidae családon belül publikált nevet tartalmaz.

Második lépcsőben a földigiliszta taxonok és bélyegek filogenetikai szempontú értékelését kívántuk elvégezni, amelyhez molekuláris módszereket (18S rDNS szekvencia analízis) kívántunk alkalmazni.

Eredmények

a.) taxon adatbázis

A tématervbén foglaltaknak megfelelően megtörtént a Lumbricidae család nomenklaturai adatbázisának kiépítése. Ez az ún. taxon adatbázis 1104 leírt Lumbricidae családhoz tartozó nevet tartalmaz a megfelelő irodalmi hivatkozásokkal és validitási megjegyzésekkel. Az adatbázist kiterjesztettük az egész „in extenso” földigiliszta csoportra, amely így a különböző földigiliszta családokban leírt 5837 nevet tartalmaz. Az adatbázist egy PHP keresőfelületen keresztül elérhetővé tettünk a web-en is, amely az <http://earthworm.uw.hu> oldalon tekinthető meg.

Earthworm species. A searchable database*

Family:

Genus:

Species:

Author:

Year:

Literature:

Valid genus:

Valid species:

* This database was compiled with a support from OTKA No. 42745

This database is updated continuously but far not complete and naturally contains many mistakes. USE IT AT YOUR OWN RISK

1. Ábra. A taxon adatbázis kereső felülete

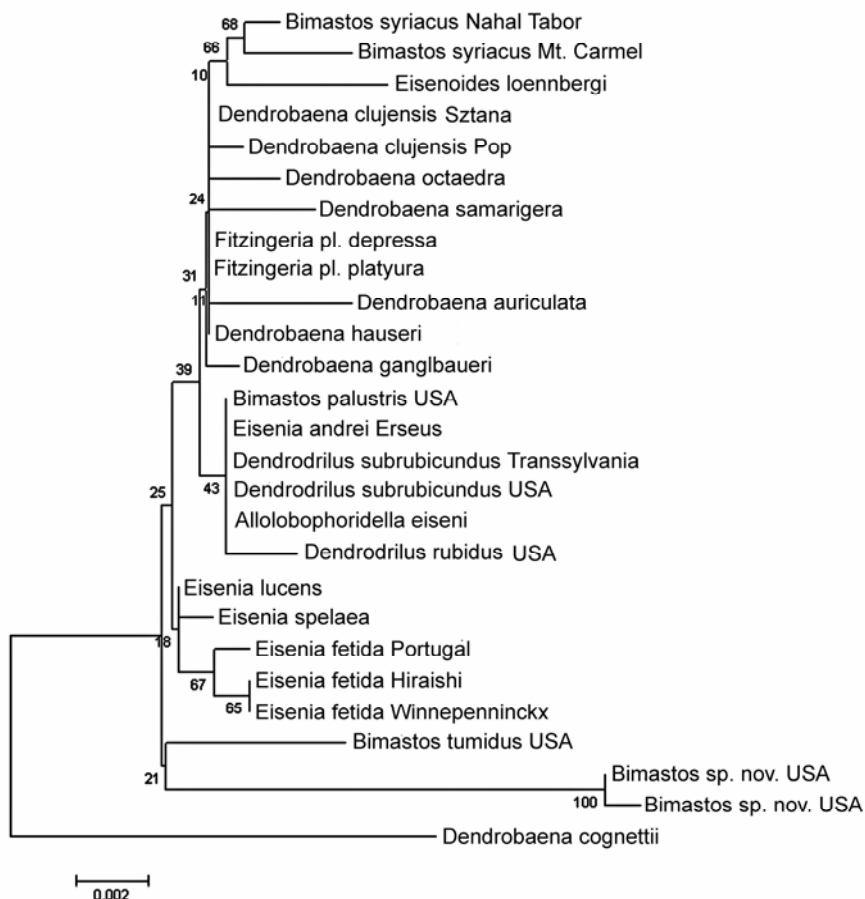
b.) a földigiliszta taxonok és bélyegeik és filogenetikai szempontú értékelése

A lumbricidák molekuláris filogenetikai vizsgálatának megkezdése előtt az irodalomban tájékozódunk a bevált és alkalmazott módszereket illetően. Mivel a Lumbricidae családon belül eddig viszonylag kevés molekuláris vizsgálatot végeztek, ezért igyekeztünk kitekintést kapni a más gyűrűsféreg családoknál használt módszerekről is.

Más Annelida csoportoknál az eukarióta riboszóma kisalegységének riboszómális RNS-ét kódoló 18S rDNS régióját, illetve a nagy alegységben található 28S rRNS génjét, a mitokondriális DNS 16S rDNS, illetve a mitokondriumban található citokróm oxidáz I alegységének génjeit használták. Mivel ez utóbbit inkább fajon illetve fajcsoporton belüli

elkülönítésére tudták jól felhasználni, a mitokondriális 16S rDNS-nél pedig fennáll a veszélye, hogy bakteriális eredetű DNS-sel szennyeződik a minta, választásunk a 18S rDNS-re esett.

Első lépésben a *Dendrobaena* nem és rokon fajait vizsgáltuk^{(6)*}. A filogenetikai analízist neighbour-joinig (NJ) maximum parszímónia (MP) és maximum likelihood módszerrel (ML) végeztük és a kapott fákot bootstrap analízissel ellenőriztük (2. ábra).



2. ábra. *Dendrobaena* és közelrokon fajok 18S rDNA alapú NJ módszerrel szerkesztett törzsfája.

A 2. ábrán felismerhető néhány olyan csoport, amelyeknek filogenetikai tartalom tulajdonítható. Így például szembevetendő az észak-amerikai *Bimastos sp. nov.* és a *B. tumidus* határozott különállása az ázsiai *Bimastos syriacus*-tól. Egyértelmű tehát, hogy a *Bimastos* sensu lato (Zicsi, 1981) genus polifiletikus, a gyűrű alakú clitellum (amely alapján egyesítették az észak-amerikai és ázsiai fajokat) pedig egyértelműen homoplázikus eredetű^(2,6).

Ugyanígy feltűnően elválik a két *Dendrodrilus* faj, valamint az *Allolobophoridella eiseni* és a *Bimastos palustris* ám közéjük ékelődik a génbankból letöltött *Eisenia andrei*, ezt a fajt többen az *E. fetida* szinonimjának tekintik⁽¹⁾, tehát valószínűleg itt téves határozásról lehet szó. Ez felhívja a figyelmet arra, hogy a Génbankból letöltött szekvenciákat kellő óvatossággal kell kezelni. A *B. palustris* elhelyezkedése szintén figyelemre méltó, mivel viszonylag távol áll a többi észak-amerikai *Bimastos* fajtól, ez ismételen a gyűrű alakú clitellum homoplázikus voltára utalhat.

* A számok az OTKA támogatásával megjelent publikációs lista adott sorszámú közleményét jelenti.

Ugyancsak külön áll és jól elváló csoportot alkot az *Eisenia fetida*, illetve *E. lucens* és *E. spelaea*, tehát úgy tűnik az izomzat morfológiai különbségei (*E. fetida* tollas, *E. lucens* és *E. spelaea* nyalábos) miatt polifiletikusnak vélt *Eisenia* genus monofiletikus^(6,18).

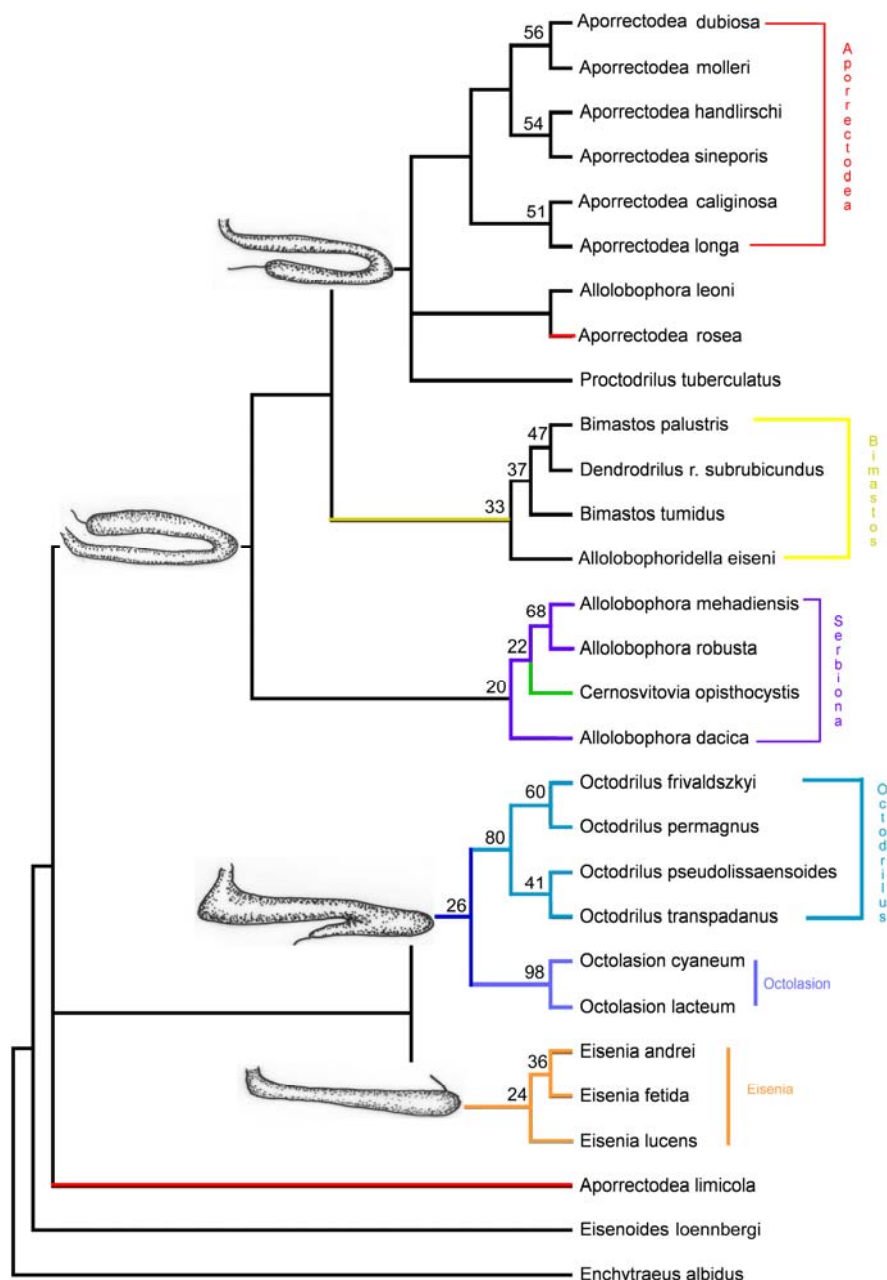
A *Dendrobaena cognetti* élesen elválik a többi *Dendrobaena*-tól, amit alátámaszt a teljesen eltérő morfológiájú nefridiális zsákja is. Szintén figyelemreméltó, hogy a két *Fitzingeria* faj beékelődött a *Dendrobaena*-k közé, ami bizonytalanná teszi a *Fitzingeria* nem validitását.

A bootstrap értékeket megvizsgálva látható, hogy sok esetben ezek elég alacsonyak, magyarán kevésbé megbízható információhoz jutunk. Ennek az az oka, hogy sokszor az egyes fajok 18S rDNS szekvenciájában alig van különbség, következésképpen ezek a fajok (pl. *Dendrobaena*) összetorlódnak a kladogramon, és filogenetikai következtetést nehezen lehet levonni az elhelyezkedésükből. A legfontosabb elágazási pontoknál azonban a bootstrap értékek nem értékelhetetlenül alacsonyak. Mindebből az következik, hogy az előzetes várakozásokkal ellentétben nem elégséges egyedül a 18S rDNS vizsgálat, mert mint az a fentiekből látható, genusokon belül, valamint egymáshoz közelebb álló genusok analizésére csak kevés eredménnyel használható, csak az egymástól távolabb eső fajcsoportok helyzetének feltárására hordoz megfelelő mennyiségű információt. Felvetődött tehát, hogy vizsgálatainkat ki kell terjeszteni más területekre is. Erre alkalmasnak látszott a jóval variábilisabb mitokondriális 16S rDNS és COI szekvencia. Ezen szekvenciák a 18S rDNS-nél relatíve gyorsabb evolúciós rátája segíthet olyan taxonok helyzetének feltárásában, amelyekre a 18S rDNS felbontása miatt már alkalmatlan.

A két gént a taxonómiaiilag legproblematisabb és erősen polifiletikusnak tartott *Allolobophora* sensu lato csoporton teszteltük.

A csoport morfológiai revíziója során megállapítottuk, hogy a *Perelia* Easton, 1983 nem típusfaja és a többi közép-ázsiai faj nem egyszerű „S” alakú nefridiális zsákokkal rendelkezik, mint ahogy az az eredeti leírásban szerepel, hanem un. szigmoid alakúval. Ezért a közelmúltban felállított *Alpodinaridella* Mršić, 1987 nem a *Perelia* junior szinonímája. A vörös pigmentációval és 3 pár vesiculával rendelkező tollas izomzatú *P. diplotetratheca* fajt leválasztottuk a pigmentáció nélküli, 2 vagy 4 vesiculával és nyalábos izomzattal rendelkező *Perelia* genustól és egy új nemet állítottunk fel *Riphaeodrilus* néven⁽⁴⁾.

Az *Allolobophora* sensu Pop 1941 nem molekuláris analízise is megerősítette, hogy a feltételezéseknek megfelelően egy erősen polifiletikus csoportról van szó, amelyből több monofiletikusnak tűnő klád választható le⁽¹³⁾.

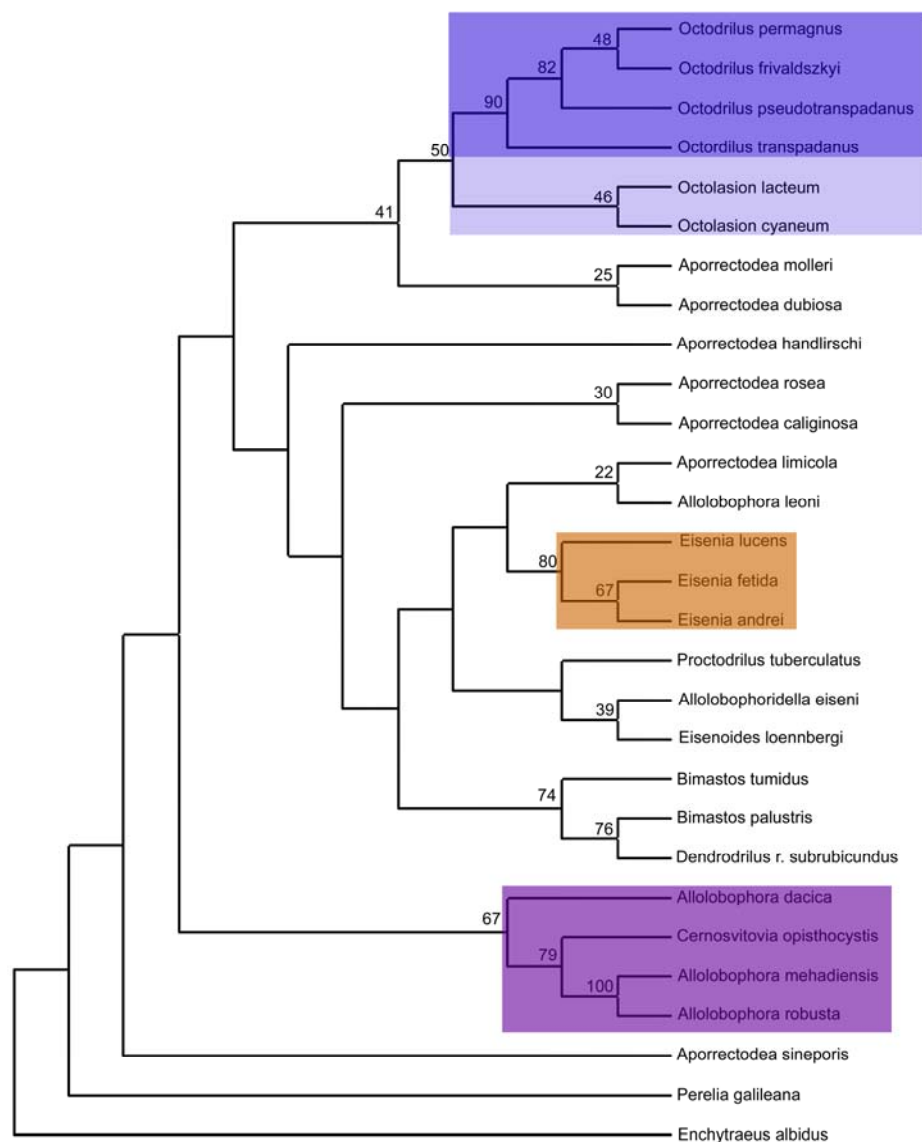


3. Ábra. Az *Allolobophora* sensu lato nem 16S rDNS alapú Maximum Parszimónia módszerrel készült törzsfája az elágazások bootstrap értékeivel.

Az *Allolobophora* Eisen, 1874 nemtől leválasztott *Aporrectodea* Örley, 1885 genus (Gates, 1975) egyértelműen polifiletikusnak tűnik, mivel az *Ap. limicola* messze bazálisan helyezkedik el a többi, egy kládba tömörülő *Aporrectodea*-hoz képest. A csaknem egységes *Aporrectodea* klád is azonban parafiletikus, mert az *Aporrectodea* fajok közé beékelődik az *Allolobophora leoni*. A 1980-as években leválasztott *Proctodrilus* Zicsi, 1985 nem egyetlen vizsgált faja jól elkülönül a többi *Aporrectodea* -tól, ami megerősíti a genus validitását. Szintén egy egységes (bár alacsony bootstrap értékű) kládot alkot a 18S rDNS analízisnél is feltűnt *Bimastos*-*Allolobophoridella*-*Dendrodrilus* csoport, amely beékelődött a *Serbiona*-*Cernosvitovia* klád és a többi *Allolobophora* sensu lato faj közé, s ezzel egy U-alakú a 10. szelvényben mézsmirigy kiöblösődéssel rendelkező fajokat tömörítő csoportot alkot. A *Proctodrilus*

pozíciója ebben a csoportban arra utal (amint azt már morfológiai vizsgálatok is felvetették⁽²⁾), hogy a nefridiális hólyagok hiánya a földigilisztáknál nem plesiomorf bélyeg.

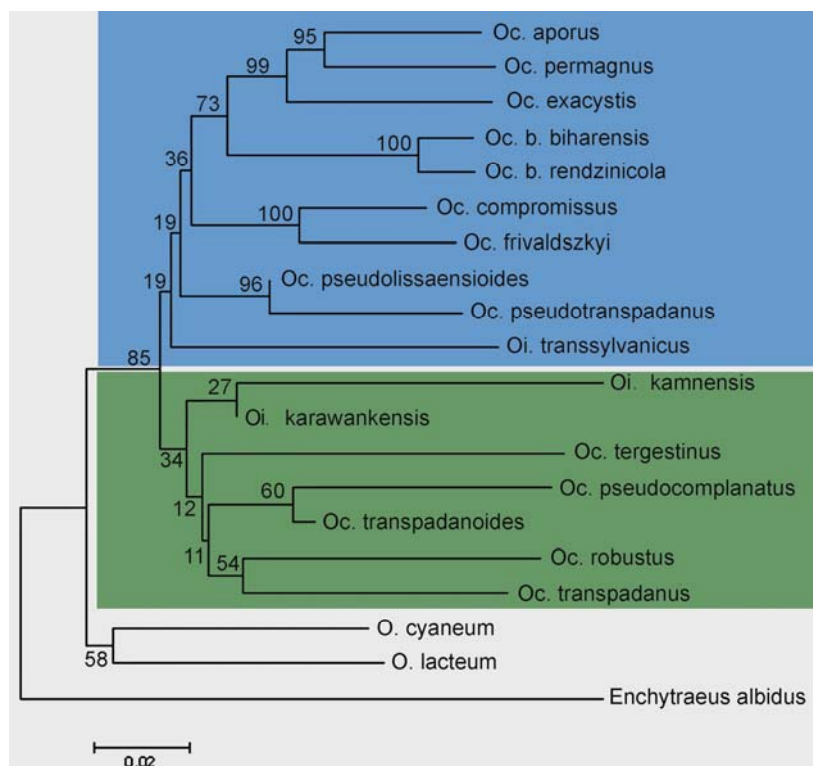
A *Serbiona* fajok között válik le a *Cernosvitovia opisthocystis* is, ami megkérdőjelezi a genus validitását. Az *Octodrilus*, *Octolasion* és *Eisenia* nemek azonban monofiletikusnak tűnnek.



4. Ábra. Az Allolobophora sensu lato nem COI gén alapú Maximum Parszimónia módszerrel készült törzsfája az elágazások bootstrap értékeivel.

A citokrom oxidáz I alegység génjének analízise során csak a közel rokon csoportok esetében kaptunk értékelhető eredményt. Így pl. az *Octodrilus*-*Octolasion* klád itt is monofiletikusnak bizonyult, hasonlóan a 80%-os bootstrap támogatással rendelkező *Eisenia* kládhoz. A *Serbiona* fajok (a *Cernosvitovia opisthocystis* fajjal együtt) itt is, a többi *Allolobophora* sensu lato fajtól jól elkülönülő önálló kládot alkotnak.

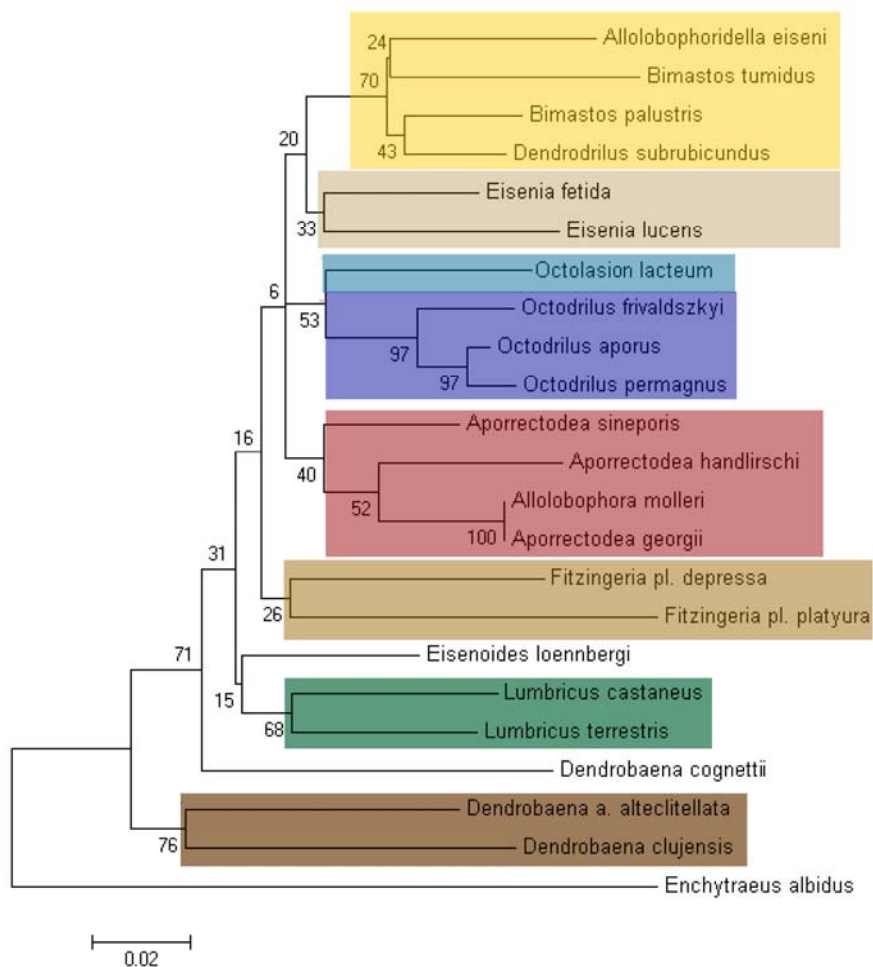
Az *Octodrilus*-*Octolasion* klád COI génen alapuló részletesebb analízise további érdekes eredményre vezetett.



5. Ábra. Az *Octodrilus* és *Octolasion* nemek COI gén alapú NJ módszerrel készült törzsfája az elágazások bootstrap értékeivel.

Az *Octolasion* nem minden analízisben monofiletikusnak bizonyult. Szintén monofiletikus az *Octodrilus* sensu lato nem is, azonban csak akkor, ha az *Octodriloides* fajokat is magába foglalja. Az 5. ábrán jól látható, hogy az *Octodrilus* klád két nagy szubkládot alkot, zölddel az alpi-balkáni elterjedésű fajok, kézzel a kárpáti fajokat jelöltük. Az *Octodriloides* nembe sorolt fajok mind a kárpáti mind az alpi-balkáni vonalon megjelennek. Ez azt mutatja, hogy a hím ivarnyílás hátratólódása nem szünapomorfa hanem homoplázia⁽²⁴⁾!

Vizsgálataink során a 3 génszakaszt (18S, 16S, COI) együttesen is analizáltuk, így összességében egy 2713 Bp hosszúságú szekvenciát kaptunk. Az analízist az előzőekben is alkalmazott módon végeztük⁽¹⁸⁾ (MEGA3 programcsomag, MP és NJ módszer, Kimura-2 paramétermodell). A 2713 bázispárból 2054 volt konstans, (75,71%), 317 (11,68%) variabilis de parsimonia szempontjából nem informatív és 342 (12,61%) volt parsimoniaiilag informatív. Az MP és NJ vizsgálatok alapján kapott bootstrap konszenzus fa topológiailag csaknem teljesen azonos volt, és néhány figyelemre méltó klád ebben a vizsgálatban is megjelent.



6. Ábra. A Lumbricidae család kombinált (COI, 16S és 18S) gén alapú NJ módszerrel készült törzsfája az elágazások bootstrap értékeivel.

A kombinált analízis alátámasztotta, a már a 18S rDNS vizsgálat során is kimutatott é-amerikai vörös epigeikus csoport monofiliáját amelyet, a *Bimastos-Dendrodrilus-Allolobophoridella* nembe sorolt fajok alkotnak. Érdekesség, hogy az *Allolobophoridella* és a *Dendrodrilus* fajok nélkül a *Bimastos* nem parafiletikusnak tűnik. Szintén figyelemre méltó, hogy a kombinált analízis egyértelműen monofiletikusnak mutatja a *Fitzingeria* nemet viszonylag távol a *Dendrobaena* fajoktól. Az *Eisenia* nem itt is (mint az összes korábbi analízis során) monofiletikus a *Bimastos-Dendrodrilus-Allolobophoridella* klád testvércsoportja. Ebben a vizsgálatban az *Aporrectodea* nem is monofiletikusnak tűnik, meg kell azonban jegyeznünk, hogy az *Allolobophora* „sensu lato” csoportból csak kevés fajból rendelkezünk mindhárom gén szekvenciájával. A 3 génszakasz együttes vizsgálata megerősítette a már morfológiailag is elég robusztusnak tekintett *Octodrilus* és *Lumbricus* nemek monofiletikus eredetét is. Összességében megállapíthatjuk, hogy a 3 gén együttes vizsgálata során sokkal jobb felbontású és realisztikusabb eredményeket kaptunk annál, mint amit korábban az egyes gének külön vizsgálata mutatott.

A fenti vizsgálatokból megállapíthatjuk, hogy más csoportokhoz hasonlóan a Lumbricidáknál is a molekuláris filogenetikai módszerek sikeresen alkalmazhatók a fennálló sziszematikai, taxonómiai problémák megoldásához. A különböző gének vizsgálata azonban más-más szintű filogenetikai szignált hordoz. Amíg a 18S rDNS gén főleg a családok közötti, illetve családon

belül távolabbi kapcsolatok kimutatására alkalmas, addig a COI gén (a gyors szaturáció miatt) csak a genuson belüli kapcsolatok esetében alkalmazható sikerrel. Vizsgálataink szerint a család nemei közötti kapcsolatok kimutatásában a 16S rDNS alkalmazható legjobban, de egy koherens filogenetikai kép kialakításához mindenképp még más géneket is be kell vonnunk a vizsgálatokba

Hivatkozott irodalom

- GATES, G.E. (1975): Contributions to a revision of the earthworm family Lumbricidae XII. Enterion mammale Savigny, 1826 and its position in the family. – *Megadrilologica*, 2(1): 1-5.
- MICHAELSEN, W. (1900): *Oligochaeta* – In: Das Tierreich X. Friedländer & Sohn, Berlin, pp. 575.
- MRŠIČ, N. (1991): *Monograph on earthworms (Lumbricidae) of the Balkans I-II*. – Slovenska Akademija Znanosti in Umetnosti, Zazred za Naravoslovne Vede Opera. 31. Ljubljana, pp. 757.
- POP, V. (1941): Zur phylogenie und Systematik der Lumbriciden. – *Zoologische Jahrbücher Abteilung für Systematik Ökologie und Geographie der Tiere*, 74: 487-522.
- QIU, J-P. & BOUCHÉ, M.B. (2000b): Révision des taxons supraspécifiques de Lumbricoidea. – *Documents pedozoologiques & integrologiques*, 3: 179-216.
- ZICSI, A. (1981): Probleme der Lumbriciden-Systematik sowie die Revision zweier Gattungen (Oligochaeta) – *Acta zoologica hungarica*, 27: 431-442.