

A LUMBRICIDAE CSALÁD FILOGENEZISE MORFOLÓGIAI ÉS MOLEKULÁRIS FILOGENETIKAI ÁTTEKINTÉS

Cech Gábor Szederjesi Timea

PhD, tudományos munkatárs,
MTA Agrártudományi Kutatóközpont
Állatorvos-tudományi Intézet
cechg@vivri.hu

PhD-hallgató,
ELTE Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

Csuzdi Csaba

az MTA doktora, docens,
Eszterházy Károly Főiskola Állattani Tanszék

Bevezetés

A gyűrűsféreg törzse (Annelida) több mint 17 000 fajjal az állatok országának fajokban egyik gazdag törzse. Nevüket a testükön végighúzódon homonóm szelvényekről kapták. A törzshez tartozó fajok széles körben terjedtek el az egész földön a mélytengerektől kezdve a parti zónákon át a szárazföldi, illetve édesvízi élőhelyekig.

A földigiliszták (*Lumbricidae*) a nyeregképző gyűrűsféreg (*Clitellata*) jellegzetes, holarktikus elterjedésű családja. Az ide tartozó fajok a talaj megafaunájának tagjai, méretük 1–100 cm között változhat. Szelvényeiken nyolc-nyolc serte található, amelyek elhelyezkedhetnek egyenként vagy párosával, gyakran szoros párokat alkotva. A hím ivarnyílás legtöbbször a 15. szelvényen van, emögött húzódik a többretegű nyereg (*clitellum*), amely gyakran párzási időszaktól függetlenül megtalálható. Hermafroditák, de önmegtermékenyítésre nem ismerünk adatokat. Szap-

rofág állatok, a talajban, illetve a talaj felszínén lévő elhalt növényi részekkel táplálkoznak, így a talajban lejátszódó dekomponálás fontos résztvevői.

A gyűrűsféreg rendszerezése: történeti áttekintés

A Lumbricidae család osztályozása hosszú idő óta komoly kihívás elé állítja a kutatókat. Az 1900-as évek közepéig a családon belüli rendszerezésekor főként ivari bélyegeket használtak (az ondóhólyagok száma, az ondótartók száma és nyílásának vertikális helyzete) kiegészítve néhány szomatikus bélyeggel, mint például a pigmentáció vagy a serték állása.

Wilhelm Michaelsen 1900-ban közzétett monográfiája volt az első teljességre törekvő munka, amelyben a Lumbricidae család addig leírt mintegy 250 fajtát öt nembe (*Eiseniella* Michaelsen, 1900, *Eisenia* Malm, 1877, *Octolasion* Örley, 1885, *Lumbricus* L. 1758, *Helodrilus* Hoffmeister, 1845) sorolta, továbbá a *Helodrilus* nemen belül négy alne-

met különböztetett meg (*Helodrilus* [*Helodrilus*] Hoffmeister, 1845, *Helodrilus* [*Allolobophora*] Eisen, 1874, *Helodrilus* [*Dendrobaena*] Eisen, 1874, *Helodrilus* [*Bimastus*] Moore, 1894). Néhány kisebb változtatással a negyvenes évek elejéig széles körűen használták ezt a filogenetikai alapokon nyugvónak tűnő rendszert, hiszen az időközben génusz rangra emelt algénuszokkal együtt (Svetlov, 1924) a nyolc nem világosan elhatárolódott egymástól.

A giliszták anatómiai felépítésére vonatkozó ismeretek bővülésével egyre inkább tarthatatlanná vált ez a főként ivari bélyegekre alapuló rendszer. Georg Pool (1937) vizsgálataiban megállapította, hogy a hosszanti izomzat felépítését vizsgálva két nagy csoportot lehet elkülöníteni: a tollas, illetve a nyálábos szerkezettel rendelkező fajokat. Victor Pop (1941) kimutatta, hogy az ondóhólyagok száma a közeli rokon fajoknál, de akár fajon belül is variálhat, s ezért részletes revízió alá vetette a Michaelsen rendszerében használt egyes nemeket és fajokat. Munkájában a Lumbricidae családot két fő csoportra osztotta a bíborvörös (porphyrin) alapú pigment megléte, illetve hiánya alapján. Az előbbi csoportban a tág serteállással rendelkező fajokat a *Dendrobaena*, a szűk serteállású, tanylobikus fejformájúakat a *Lumbricus*, míg az epilobikus fejfelépítésűeket az *Eisenia* nembe sorolta. A pigment nélküli tág serteállásúak az *Octolasion*, a szűk serteállásúak pedig az *Allolobophora*, valamint az *Eiseniella* nemekbe kerültek. Ez utóbbi génusz megkülönböztethető volt a tetraedrikus testvég, továbbá az egy szelvényre kiterjedő izmos gyomor segítségével. A hosszanti izomzat felépítése szerint csupán az *Octolasion* és a *Lumbricus* nemek bizonyultak homogénnek (tollas), a többi génuszban mindkét típus fellelhető volt. Popnak csak a fajok töredéké-

nek izomzatáról voltak ismeretei, ezért nem vállalkozott rá, hogy filogenetikailag értelmezze a tollas és nyálábos típusokat.

A Pop (1941) rendszerét követő időkből a leírt nemek száma ugrásszerűen megnőtt, s az osztályozásnál olyan újabb bélyegeg kerütek előtérbe, melyeket több más földigiliszta családnál is sikeresen alkalmaztak a génuszok elkülönítésére. Így például Gordon E. Gates (1975) a nefridiális hólyagok alkalmazására hívta fel a figyelmet, amit Tamara S. Perel (1979) kiterjesztett az addig leírt fajokra, feltevélezve, hogy az evolúció folyamán egyre komplikáltabb hólyagtípusok jelentek meg. Az általa felállított rendszerben csupán a *Lumbricus*, az *Eisenia*, és az *Allolobophora* (*Svetlovia*) Perel alnem mutatkozott monofiletikusnak, az *Allolobophora* (*Allolobophora*) és a *Dendrobaena* nemek továbbra is igen heterogének maradtak. Revíziójának másik hibája volt, hogy csupán egy szűkebb terület, a volt Szovjetunió faunája alapján próbált megállapításokat tenni, így sok európai, illetve észak-amerikai faj kimaradt a vizsgálatokból.

A 80-as évek elején a szisztematikában a kladisztika térnyerése hozott változást, amely a földigiliszták rendszerezésére is kifejtette hatását, igényt teremtve egy filogenetikai alapú rendszer felállítására. Ezzel összefüggésben a leginkább zavaros *Allolobophora* és *Dendrobaena* génuszok revíziójára számos lépés irányult (Zicsi, 1978, 1981, 1985), de összességében a problémát nem sikerült megoldani.

Narcis Mršić (1991) vállalkozott az egész család újragondolására, azonban ő is elkövette elődei hibáját, és megint egy szűkebb régió, a Balkán fajai alapján végzett átfogó családrevíziót, ezt azzal is súlyosbítva, hogy nem foglalkozott a bélyegeg súlyozásával, és teljesen mellőzte az akkor már széleskörűen elterjedt modern szisztematikai módszereket, aminek

következtében para- és polifiletikus taxonok sorát hozta létre.

Ezt a rendszert vette át és alakította tovább Jian-Ping Qiu és Marcel Bouché (1998) egy újabb családrevízióban, amelyben a nemek közötti rokonsági viszonyok tisztázására is kísérletet tettek. A fenetikus klasszifikáció módszereit felhasználva a felsorolt mintegy 700 földigiliszta fajt három alcsaládba és 63 génuszba osztották be (16 új nemet és alnemet leírva), s munkájukban mintegy 70 új faj, alfaj és varietas (!!!) tűnik fel.

Sajnálatos módon ez a rendszer is bővelkedik a poli- és parafiletikus csoportokban, ami a fenetikus módszerek hibájának, így például a súlyozás mellőzésének tudható be. Emellett az egész családot felölelő revíziójuk szintén egy szűkebb földrajzi terület, Franciaország földigiliszta-faunáján alapult, s ennek eredményeiből kiindulva próbáltak következtetéseket levonni az egész Holarktiszból elterjedt család rokonsági kapcsolataira.

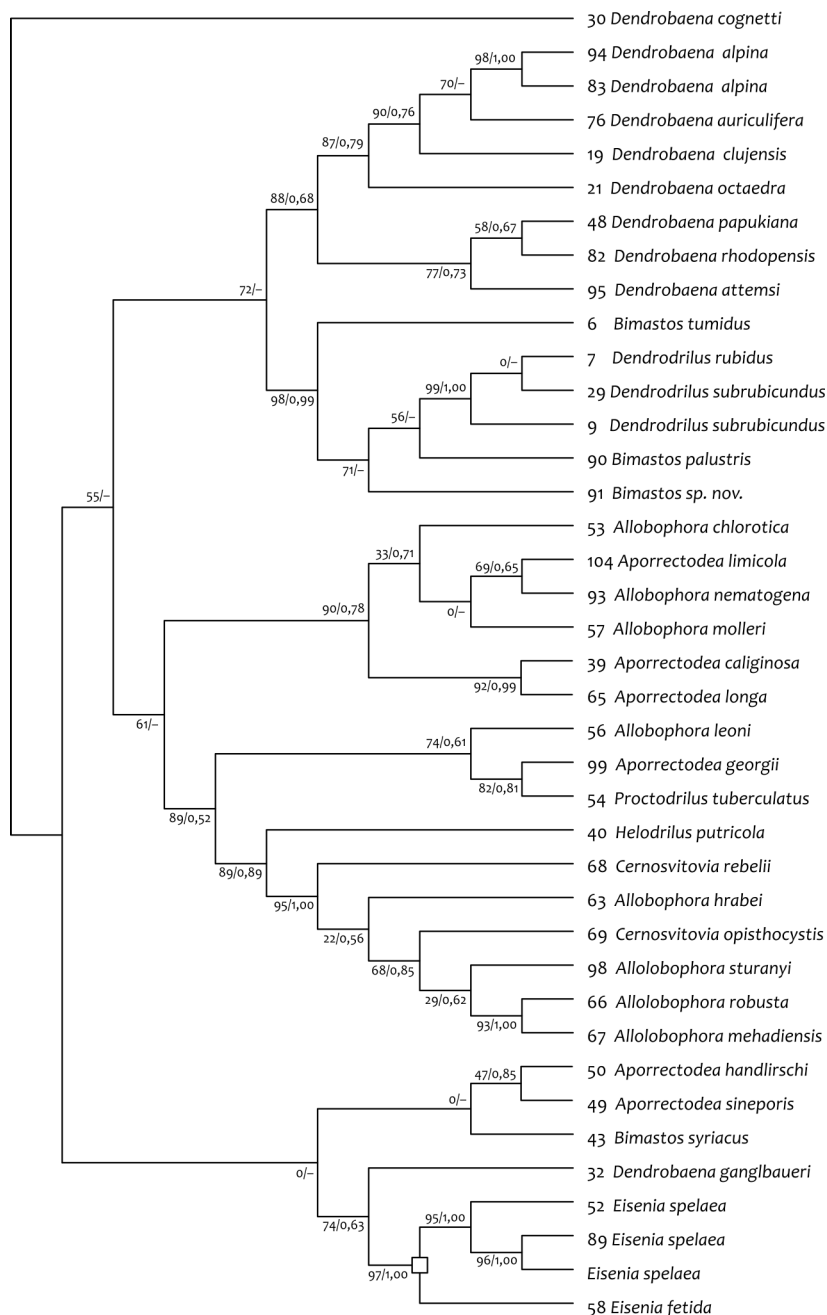
Új eredmények a földigiliszta-k molekuláris alapú rendszerezésében és filogenetikájában

A *Lumbricidae* családban az első molekuláris vizsgálatok meglepően későn láttak napvilágot. Antonia Pop és munkatársai (2003) három génszakaszra fókuszáltak, a nukleáris 18S rDNS-re, valamint a mitokondriális 16S RNS és a citokróm c oxidáz I génjére (COI). Bár ez a dolgozat kizárólag Románia területéről származó mintákat vizsgált, több figyelemre méltó megállapítást tett. A COI-n alapuló analízis alátámasztotta az *Octodrilus* génusz monofiletikus voltát, ugyanakkor az *Allolobophora* nem erősen heterogénnek mutatkozott. Ezzel szemben a 16S rDNS-szekvenciák kizárólagos vizsgálata több kládusra szakította az *Octodrilus* nemet. A *Lumbricus terrestris* és

az *Eisenia* nembe tartozó fajok helye a 16S rDNS-fán megfelelt a klasszikus koncepciónak. A 18S rDNS-t dolgozatukban részletesen nem elemezték, mivel csak három (+ három, génbankból letöltött) faj esetében állt rendelkezésre szekvencia, ám megállapították, hogy a 1818 bázispárból 43% mutat variabilitást.

Vizsgálatainkkal ezen a ponton kapcsolódunk be a kutatásokba. Az ELTE Mikrobiológia Tanszékének molekuláris laboratóriumában folytattuk a 18S RNS-gén szekvenciáanalízisét, s csatlakoztunk a Heidelbergben folyó 16S- és COI-vizsgálatokhoz.

A 18S rDNS-szekvenciák az előzetesen vártnál jóval alacsonyabb variabilitást eredményeztek. Az 1806 bázispár hosszúságú illesztésben csak 139 nukleotidpozíció volt variábilis, ebből negyvenhárom parszimóniailag informatív. Így a 18S rDNS-szekvenciavizsgálatok során a fajok rokonsági kapcsolatainak nagy része feloldatlan maradt, amiből leszűrhető, hogy a 18S rDNS nem elégséges egyedül a családon belüli filogenetikai kapcsolatok feltárására. Ezt a megfigyelést erősítik a fákön látható mérsékelt *bootstrap*-értékek is, ami nyilvánvaló következménye a tapasztalt alacsony variabilitásnak. Ezért kutatásainkat kiterjesztettük a sejtmagi 5,8S rDNS–ITS2-szakasz vizsgálatára is. E szakaszok vizsgálatakor a 685 bázispár hosszúságú illesztésben 285 bázispár volt konzervatív, amelyek főként az 5,8S rDNS-szakaszra koncentráálódtak, 351 nukleotidpozíció volt variábilis, ebből 228 parszimóniailag informatív. A lókuszt nagyobb variabilitása tükröződött a kapott fákön is, a *bootstrap*-értékek jóval magasabbak lettek, mint amit a 18S rDNS esetében kaptunk. A legjobb feloldást azonban a három szakasz (18S, 5,8S–ITS2) együttes vizsgálata eredményezte (1. ábra). Az *Eisenia* fajok, ahogy az a 18S rDNS- és az 5,8S rDNS–ITS2-régió ön-



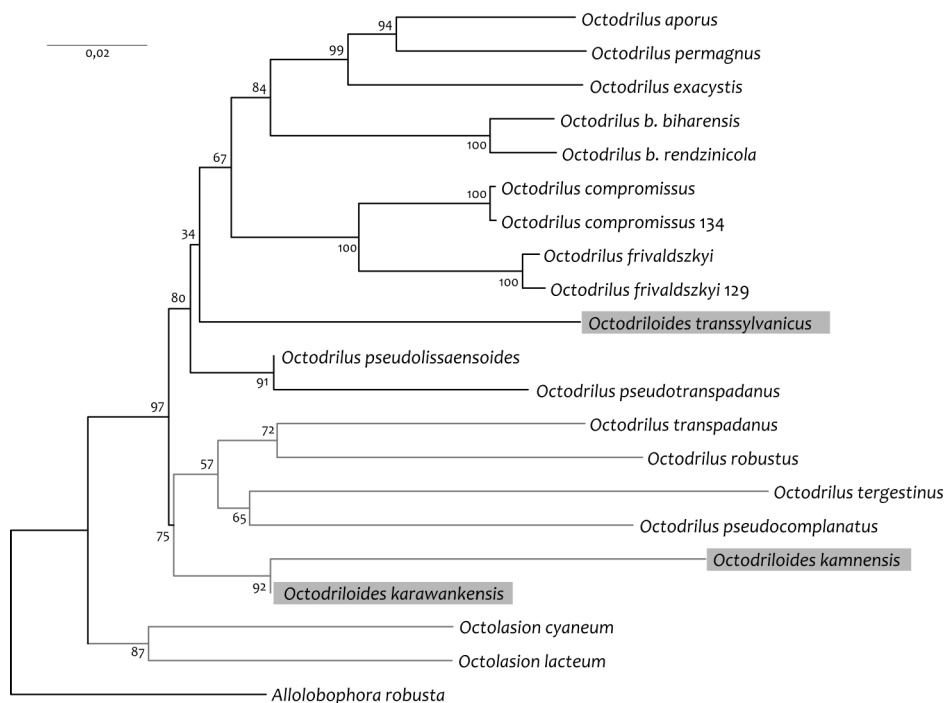
I. ábra • A Lumbricidae család filogenetikai rekonstrukciója *maximum likelihood* módszerrel (18S rDNS- és 5,8S rDNS-ITS2-lókuszek). Az elágazásokban a ML-*bootstrap* és a BI *posterior probabilities* értékek találhatóak • □: Nem támogatott elágazások.

álló vizsgálatok is látható volt, egyértelműen monofiletikusnak bizonyultak, tehát valószínűleg ténylegesen egy érvényes génuszt alkotnak. Ugyanígy, az észak-amerikai *Bimastosok* és a *Dendrodriilus* fajok is egy kláduszt formálnak, amely azonban a közel-keleti *B. syriacus*t nem foglalja magában. Az *Allolobophora* és a belőle leválasztott *Aporrectodea* génusz számos faja egy közös nagy kláduszt alkot, aminek közepes a támogatottsága. Csak az *Aporrectodea sineporis* és az *Ap. handlirschi* található kívül ezen az elágazáson. Érdekes, hogy korábban Pietro Omodeo (1956) ezen fajokat az *Eiseniona* nembe javasolta elkülöníteni.

Az „*Allolobophora*” kláduson belül feltűnik egy monofiletikus csoport, melyet az *A. robusta*, *A. mehadiensis*, *A. sturanyi*, *A. hrabei*,

C. opisthocystis, *C. rebeli* alkot. Ezeket a nagytű *Allolobophora* fajokat korábban Mršić (1991) a *Serbiona* génuszba különítette el, azonban ez magába foglalja a két *Cernovitovia* fajt is, így ebben az esetben a klád érvényes neve a *Cernovitovia*. Szintén közös kláduszt alkot az *A. chlorotica*, *A. molleri*, *A. nematogena* és az *Ap. limicola*, noha ennek a csoportnak meglehetősen alacsony a támogatottsága. Stabílnak látszik az *Ap. caliginosa* és az *Ap. longa* kapcsolata, továbbá megfigyelhető még az *A. leoni*, *Ap. georgii* és a *P. tuberculatus* csoportosulása a nagy „*Allolobophora*” kládon belül.

Szemben az eddigiekkel a *Dendrobaena* fajok vizsgálata azt mutatja, hogy a vizsgált fajok többsége a típusfaj *D. octaedrával* együtt egyetlen monofiletikus kláduszbba tömörült,



2. ábra • Az *Octodrilus* génusz csoport filogenetikai rekonstrukciója szomszéd-összevonó (NJ) módszerrel (COI-lókuszt). Az elágazásokban a *bootstrap* értékek találhatóak.

magas támogatottság mellett. A kláduszon kívül maradó két faj közül a *D. cognettii* nemcsak a nemen belül, de az egész családon belül is meglehetősen egyedül bélyegekkkel bír, így vörös pigmentáció és tág serteállás jellemzi, ugyanakkor kétkarú nefridiális hólyagokkal rendelkezik. Így nem meglepő, hogy a többi *Dendrobaena* fajtól távol található. A *D. ganglbaueri* a *D. byblica* testvérfaja. Eristo Kvavadze (1993) a *D. byblica* és rokon fajai számára felállított egy új génuszt, *Omodeoia* néven különítve el az ide tartozó fajokat a klasszikus értelemben vett *Dendrobaenától*, s ezt a *D. ganglbaueri* pozíciója is alátámasztja.

COI-vizsgálatainkkal elsősorban a balkáni-alpi-kárpáti elterjedésű *Octodrilus-Octodriloides* génuszpár és a széles elterjedésű *Octolasion* nem filogenetikai viszonyait kívántuk tisztázni. A 625 bázispár hosszúságú illesztésben 276 pozíció volt variabilis, ebből 222

parszimóniailag informatív. Az *Octolasion* fajok jól elkülönült monofiletikus kláduszt alkottak, ám az *Octodrilus* csak az *Octodriloides*-szel együtt bizonyult monofiletikusnak.

Az *Octodrilus-Octodriloides* fajok jól elkülönült csoportba rendeződtek egy kárpáti Kárpát-medencei (fekete) és egy balkáni-alpi (szürke) kláduszt alkotva. A három *Octodriloides* faj a földrajzi elterjedésének megfelelő kláduszbán foglalt helyet. Így valószínűleg a generikus bélyegnek tekintett hátratulódott hím ivarnyílás a két csoportban (hasonlóan a *Cernovitovia* nem esetéhez) párhuzamosan alakult ki, s az *Octodriloides* génusz érvénytelen.

Kulcsszavak: *nyeregképző gyűrűsférgék, hermafroditizmus, izomszerkezet, porphyrin pigment, filogenetikus rendszer, nukleáris 18S rDNS, mitokondriális 16S RNS, citokróm c oxidáz I (COI) gén*

IRODALOM

Gates, Gordon E. (1975): Contributions to a Revision of the Earthworm Family Lumbricidae XII. *Enterion mammale* Savigny, 1826 and Its Position in the Family. *Megadrilogica*. 2, 1–5.

Kvavadze, Eristo (1993): A New Genus of Earthworms *Omodeoia* gen. nov. (Oligochaeta: Lumbricidae). *Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzii / Bulletin of the Academy of Sciences of Georgia*. 148, 129–134.

Michaelsen, Wilhelm (1900): *Oligochaeta*. Friedländer & Sohn, Berlin • <https://archive.org/stream/oligochaetaoomich#page/n5/mode/2up>

Mršić, Narcis (1991): *Monographs on Earthworms (Lumbricidae) of the Balkans*. SAZU, Ljubljana

Omodeo, Pietro (1956): Contributo alla revisione dei Lumbricidae. *Archivio Zoologico Italiano*. 41, 129–242.

Perel, Tamara S. (1979): *Range and Regularities in the Distribution of Earthworms of the USSR Fauna*. Nauka, Moscow

Pool, Georg (1937): *Eiseniella tetraedra* (Sav.) Ein Beitrag zur vergleichenden Anatomie und Systematik der Lumbriciden. *Acta Zoologica Stockholm*. 18, 1–110. DOI: 10.1111/j.1463-6395.1937.tb00678.x

Pop, Victor (1941): Zur Phylogenie und Systematik der Lumbriciden. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere*. 74, 487–522.

Pop, Antonia A. – Wink, M. – Pop, V. V. (2003): Use 18S, 16S rDNA and Cytochrome c Oxidase Sequences in Earthworm Taxonomy (Oligochaeta, Lumbricidae). *Pedobiologia*. 47, 428–433.

Qiu, Jian-Ping – Bouché, Marcel B. (1998) Revision des taxons supraspécifiques de Lumbricoidea. *Documents Pédozoologiques et Intérogologiques*. 3, 6, 179–216.

Svetlov, P. G. (1924): Beobachtungen über Oligochaeten des Gouvernats Perm. I. Zur Systematik, Fauna und Ökologie der Regenwürmer. *Bulletin of the Institute of Biological Research Perm University*. 2, 313–328.

Zicsi András (1978): Revision der Art *Dendrobaena platyura* (Fitzinger, 1833) (Oligochaeta: Lumbricidae). *Acta Zoologica Hungarica*. 24, 439–449.

Zicsi András (1981): Probleme der Lumbriciden-Systematik sowie die revision zweier Gattungen (Oligochaeta). *Acta Zoologica Hungarica*. 27, 431–442.

Zicsi András (1985): Über die Gattungen *Helodrilus* Hoffmeister, 1845 und *Proctodrilus* gen. n. (Oligochaeta, Lumbricidae). *Acta Zool. Hung.* 31, 275–289.