

УДК 595.713:574.32

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ *PARISOTOMA NOTABILIS* (COLLEMBOLA) В ГРАДИЕНТЕ УРБАНИЗАЦИИ

© 2023 г. А. В. Стрючкова^а, *

^аМосковский педагогический государственный университет, Россия 129164 Москва, ул. Кибальчича, 6, корп. 3

*e-mail: astr2502@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.10.2022 г.

После доработки 14.01.2023 г.

Принята к публикации 05.03.2023 г.

Ключевые слова: почвенная мезофауна, коллемболы, популяции, толерантность, экологическая специализация

DOI: 10.31857/S036705972304011X, **EDN:** RSRXAI

Почвенная фауна чувствительна к различным антропогенным воздействиям [1, 2]. Коллемболы — одна из самых разнообразных и распространенных групп мелких членистоногих в почве [3]. Они довольно ограничены в перемещении и хорошо отражают условия среды обитания [4]. Сообщества коллембол используют в качестве биоиндикаторов загрязнения городских почв [5], качества почвы в системах землепользования [6], степени антропогенной нагрузки на лесные экосистемы [7] и т.д. В биотестировании широко используют *Folsomia candida* (Willem, 1902), *Proisotoma minuta* (Tullberg, 1871) и другие виды, для которых оценивают различные параметры жизненного цикла [8, 9].

За последние десятилетия возросло число генетических исследований коллембол, которые позволили установить для многих морфологически однородных широко распространенных видов дифференциацию на генетические линии [10]. Подобные работы крайне редко имеют экологическую интерпретацию. Однако вполне вероятно, что повсеместное распространение таких видов связано с экологической специализацией внутривидовых генетических линий. Так, у *Lepidocyrtus lanuginosus* (Linnaeus, 1788) были обнаружены три линии: L1 была многочисленной и встречалась в каждом из трех исследуемых мест обитания (леса, пастбища, пахотные поля), L2 — только в лесах, L3 — только на пастбищах и пахотных полях [11].

Одним из модельных видов для генетических исследований коллембол стал *Parisotoma notabilis* (Schaeffer, 1896). Этот многочисленный космополитический партеногенетический вид в умеренных регионах западной Палеарктики присутствует практически в каждом биотопе и преобладает в большинстве сообществ коллембол [12], даже го-

родских почв [5]. Показано, что *P. notabilis* обнаруживает среднюю толерантность к нарушенным местообитаниям [13], устойчив к пестицидам [14], тяжелым металлам [15, 16], внесению различных удобрений [17] и умеренному вытаптыванию [18]. В Западной Европе было выявлено 6 генетических линий этого вида: L0–L3, L4-Hebert, L4-Saltzwedel [19–22]. Средние генетические *p*-дистанции между линиями высокие: от 15 до 18% — для гена COI, от 5 до 11% — для H3 и от 0.5 до 1.9% — для 28S [21], что соответствует межвидовому уровню [23]. Учитывая освоение видом различных местообитаний, широкое распространение и высокую численность, можно предположить, что генетические линии имеют различную толерантность к нарушениям среды. Для территории Московского региона известны линии L1, L2 и L4-Hebert [22].

Цель настоящей работы — проверка гипотезы о неоднородности распределения генетических линий *Parisotoma notabilis* в градиенте антропогенной нагрузки — урбанизации.

В г. Москве выбраны два градиента антропогенной нагрузки (Юго-Западный и Северо-Восточный), каждый из которых включал три различных по нарушенности местообитания: естественный лес, лесопарк, газон внутри городской застройки (рис. 1). В каждом местообитании выбирали прямоугольную площадку размером 100 × 100 м с местом отбора проб в центре и проводили количественную оценку степени урбанизации, основанную на видоизмененной методике [24]. С использованием спутниковых снимков и приложения QGIS [25] измеряли площади древостоя, газонов (в том числе косимое естественное разнотравье и почвы без растительного покрова), построек и поверхностей с покрытием (в основном дороги и парковки, тротуары, велодорожки) и за-

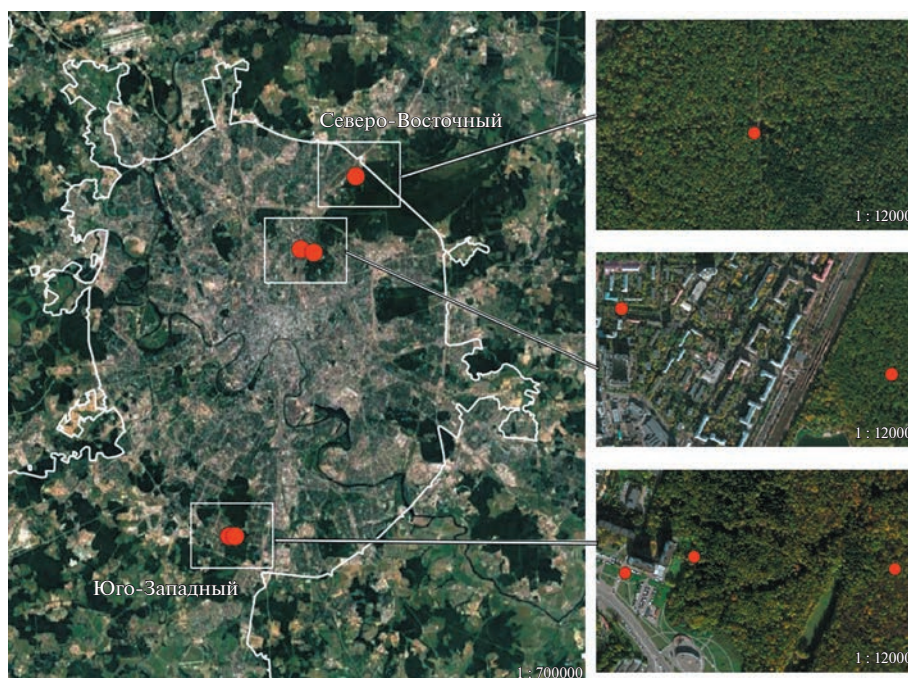


Рис. 1. Расположение участков градиентов в Северо-Восточном и Юго-Западном регионах г. Москвы.

тем представляли их в долях для всей площадки. Для площадки 10×10 м с пробой в центре указывали почву, преобладающие виды в растительном покрове и оценена степень замусоренности (наличие бытовых инородных плохо разлагающихся объектов): 0 баллов — отсутствие мусора, 1 балл — одна—три единицы мусора, 2 балла — четыре и более единиц мусора (табл. 1).

В каждом местообитании отбирали сборную пробу подстилки и верхнего слоя почвы объемом 2 л с площади 5×5 м. Выгонку коллембол проводили с использованием воронок Тульгрена в 96%-ный спирт. *P. notabilis* отбирали под биноклем по признакам, указанным в определителях [12, 26]. Спиртовые пробы хранили в холодильнике при $+4^\circ\text{C}$. Для выделения ДНК и постановки ПЦР использовали набор Phire tissue direct PCR master mix от Thermo Scientific. ДНК экстрагировали из целых образцов в 20 мкл DNA Dilution Buffer и 0.5 мкл DNARelease Additive и инкубировали при 98°C в течение 2 мин. Данная методика позволяет выделять ДНК при сравнительно малом повреждении исходного материала, поэтому после экстракции ДНК образцы извлекали и сохраняли.

В задачи работы входило выявление состава генетических линий *P. notabilis* в различных местообитаниях. Разделение уже известных линий этого вида одинаково успешно можно проводить как по митохондриальному гену COI, так и по рибосомальному 28S [20, 21]. Поскольку выход успешных ПЦР-продуктов обычно выше по гену 28S, мы ограничились использованием именно

этого гена. Амплификацию D3-D5 региона 28S рДНК производили с использованием праймеров 28Sa 5'-GAC CCG TCT TGA AGC ACG-3' и 28Sbout 5'-CCC ACA GCG CCA GTT CTG CTT ACC-3' [27, 28]. К мастер-миксу, состоящему из 7 мкл nuclease-free Water, 10 мкл Phire Tissue Direct PCR Master Mix, 1 мкл прямого и обратного праймера, добавляли 1 мкл ДНК особи.

Для амплификаций использовали следующий протокол реакции ПЦР: одна начальная стадия активации при 98°C в течение 5 мин, затем 30 циклов амплификации: денатурация при 98°C в течение 5 с, отжиг праймеров при 57°C в течение 5 с, элонгация при 72°C в течение 20 с и заключительный этап элонгации при 72°C в течение 1 мин. Результат ПЦР оценивали с помощью проведения электрофореза в агарозном геле с бромистым этидием и очищали с помощью смеси ферментов экзонуклеазы I (Exo I) и рекомбинантной щелочной фосфатазы (rSAP). Высушенные ПЦР-продукты сдавали на секвенирование в лабораторию Синтол.

Полученные секвенограммы редактировали в программе Chromas Lite (версия 2.6.6) [29]. Затем последовательности выравнивали с использованием BioEdit (версия 7.2) [30]. В программе MEGA-X [31] выполняли построения дерева по алгоритму Maximum Likelihood с параметрической моделью Jukes-Cantor и Gamma Distributed (предложена программой; наименьшие BIC = 4062.822, AICc = 2586.707) и расчет генетических расстояний между линиями (*p*-distance). С каждой пробной площади было проанализировано по 7–11

Таблица 1. Характеристика пробных площадок с пробой в центре

Градиент нагрузки	Северо-Восточный				Юго-Западный	
	Лес	Лесопарк	Газон	Лес	Лесопарк	Газон
Местообитание						
Координаты	55°52.212' с.ш. 37°43.392' в.д.	55°48.822' с.ш. 37°40.068' в.д.	55°48.966' с.ш. 37°39.012' в.д.	55°36.126' с.ш. 37°33.804' в.д.	55°36.144' с.ш. 37°33.378' в.д.	55°36.12' с.ш. 37°33.234' в.д.
Преобладающие виды в растительном покрове	Древостой: береза повислая Подлесок: лещина обыкновенная, крушина ломкая Травостой: копытень европейский	Древостой: осина обыкновенная, береза повислая Подлесок: рябина обыкновенная Травостой: копытень европейский, кислица обыкновенная	Газон: мятлик луговой, одуванчик обыкновенный, подорожник большой	Древостой: липа сердцелистная, клен остролистный Подлесок: лещина обыкновенная Травостой: осока волосистая, зеленчук желтый, папоротник щитовник мужской	Древостой: клен остролистный, береза повислая Подлесок: черемуха обыкновенная, рябина обыкновенная, дуб черешчатый Травостой: сныть обыкновенная, крапива двудомная, одуванчик обыкновенный	Газон: мятлик луговой, одуванчик обыкновенный, будра плющевидная, подмаренник цепкий
Почва	Дерново-подзолистая	Дерново-подзолистая	Урбанозем	Дерново-подзолистая	Дерново-подзолистая	Урбанозем
Замусоренность	0	2	0	0	1	0
Размер площадки 100 × 100 м						
Площадь древостоя, доля	0.96	1	0.23	1	0.66	0.03
Площадь газона, доля	0	0	0.15	0	0.20	0.42
Площадь построек, доля	0	0	0.26	0	0.01	0.08
Площадь поверхности с покрытием, доля	0.04	0	0.36	0	0.13	0.47

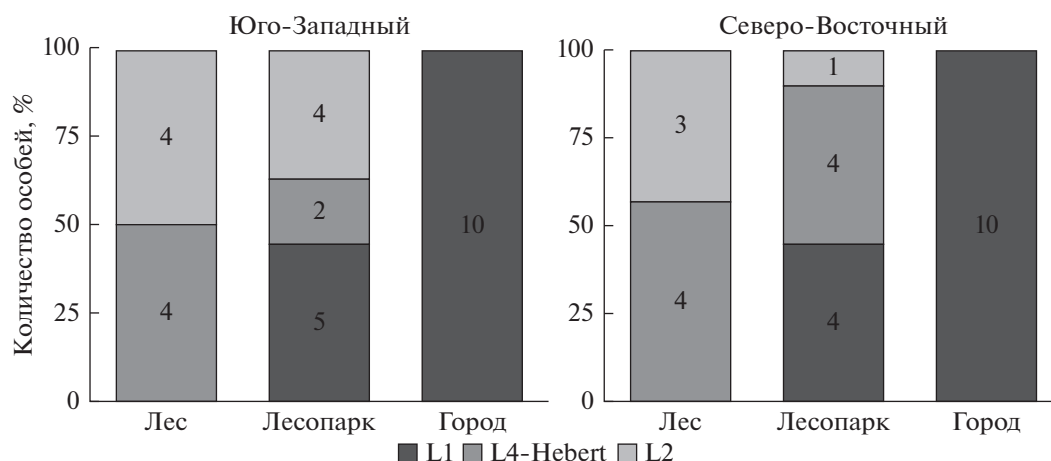


Рис. 2. Соотношение разных генетических линий *P. notabilis* в различных местообитаниях Юго-Западного и Северо-Восточного градиентов урбанизации (% от общего числа особей; цифры внутри столбцов — число особей отдельных генетических линий).

экз. этого вида (55 особей). Сравнение генетической структуры выборок проводили с помощью точного критерия Фишера в программе R [32]. Данные загружены в GenBank: OR643622—OR643676.

В двух градиентах были обнаружены все известные для г. Москвы генетические линии *P. notabilis*: генетическое расстояние между линиями L1 и L2 — 1.41%, между L1 и L4-Hebert — 0.90%, между L2 и L4-Hebert — 1.03%. Внутрилинейная изменчивость не обнаружена. Результаты показали сходное распределение генетических линий в обоих градиентах урбанизации (рис. 2). Расчет точного критерия Фишера подтвердил различия местообитаний по распределению этих линий как в целом, так и по каждому градиенту отдельно ($p < 0.0005$).

По усредненным данным обоих градиентов в естественных лесах встречаются линии L2 (43–50%) и L4-Hebert (50–57%); в лесопарках — L2 (10–36%), L4-Hebert (18–45%), L1 (45%); на газонах внутри городской застройки — L1 (100%). Распределение генетических линий *P. notabilis* различалось в местообитаниях градиента урбанизации: L2 и L4-Hebert предпочитали естественные леса, L1 — газоны, а в лесопарках обнаружили все три линии. Экология генетических линий *P. notabilis* на данный момент не известна, но можно предположить, что на распределение линий влияют те же факторы, что на сообщества коллембол в целом [33]. На газонах из-за кошения и сбора листового опада уменьшен объем подстилки, которая является как кормовой базой, так и средой обитания представителей почвенной фауны [34], и снижены колебания температуры и влажности [35]. Показано [36, 37], что почвы газонов и лесопарков из-за деятельности человека могут иметь более высокий pH, чем почвы естественных лесов, а также содержать различные поллютанты.

Изученные генетические линии различаются по толерантности к каким-то из вышеперечисленных факторов. Более точные выводы можно сделать только после специальных исследований. Наименее устойчива к нарушениям линия L2, наиболее — L1, промежуточное положение занимает линия L4-Hebert.

Таким образом, соотношение генетических линий повсеместно встречающегося вида почвенных коллембол *P. notabilis* показывает, что, вероятно, биоиндикация состояния среды возможна не только на уровне сообществ и отдельных чувствительных видов, но и на внутривидовом уровне. Однако эти данные носят предварительный характер и необходима их проверка на других градиентах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-24-00984).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Koehler H.H. The use of soil mesofauna for the judgement of chemical impact on ecosystems // Agriculture, Ecosystems & Environment. 1992. V. 40. № 1. P. 193–205. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(92\)90092-P](https://doi.org/10.1016/0167-8809(92)90092-P)
2. Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). Екатеринбург: Наука, 1994. P. 280.
3. Hopkin S.P. Biology of the springtails (Insecta: Collembola). Oxford: University Press, 1997. P. 340.
4. Van Straalen N. Community structure of soil arthropods as a bioindicator of soil health // Biol. Indic. Soil Health. 1997. P. 235–264.
5. Fiera C. Biodiversity of Collembola in urban soils and their use as bioindicators for pollution // Pesqui. Agropecuária Bras. 2009. V. 44. P. 868–873. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000800010>
6. Machado J. da S., Oliveira L.C.I., Santos J.C.P. et al. Morphological diversity of springtails (Hexapoda: Collembola) in urban soils // Pedobiologia. 2015. V. 58. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2014.08.001>

- bola) as soil quality bioindicators in land use systems // *Biota Neotropica*. 2019. V. 19. № 1. e20180618. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0618>
7. *Kopieszki H.* An active bioindication method for the diagnosis of soil properties using Collembola // *Pedobiologia*. 1997. V. 41. P. 159–166.
 8. *Sahana A.* Soil Pollution vs. Soil Collembola as a Bio-indicator: A review // *J. Sci.* 2018. V. 2. № 5. P. 1–11. <https://doi.org/10.47944/jos2.5.2018.1>
 9. ISO 11267, Soil quality — Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. Inter. Stand. Org. Ed. Genève, 1999. P. 1–16.
 10. *Porco D., Greenslade B.A.P., Janion C.* et al. Challenging species delimitation in Collembola: cryptic diversity among common springtails unveiled by DNA barcoding // *Invertebr. Syst.* 2012. V. 26. № 6. P. 470–477. <https://doi.org/10.1071/IS12026>
 11. *Zhang B., Chen T.-W., Mateos E.* et al. Cryptic species in *Lepidocyrtus lanuginosus* (Collembola: Entomobryidae) are sorted by habitat type // *Pedobiologia*. 2018. V. 68. P. 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2018.03.001>
 12. *Potapov M.B.* Synopses on Palaearctic Collembola: Isotomidae // *Abh. Berichte Naturkundemuseums Gorlitz*. 2001. V. 73. P. 1–603.
 13. *Kuznetsova N.* Biotopic groups of Collembolans in the mixed forest subzone of Eastern Europe // *Entomol. Rev.* 2002. V. 82. P. 1047–1057. <https://doi.org/10.1134/S0013873810080014>
 14. *Petersen H., Krogh P.H.* Effects of perturbing microarthropod communities of a permanent pasture and a ryefield by an insecticide and a fungicide // *Soil Fauna and Soil Fertility, proc. 9th int. Coll. Soil zool.*, 1987. P. 217–229.
 15. *Eitminaviciute I.* Microarthropod communities in anthropogenic urban soils. 1. Structure of microarthropod complexes in soils of roadside lawns // *Entomol. Rev.* 2006. V. 86. S128–S135. <https://doi.org/10.1134/S0013873806110029>
 16. *Winkler D., Bidló A., Bolodár-Varga B.* et al. Long-term ecological effects of the red mud disaster in Hungary: Regeneration of red mud flooded areas in a contaminated industrial region // *Sci. Total Environ.* 2018. V. 644. P. 1292–1303. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.059>
 17. *Buchholz J., Querner P., Paredes D.* et al. Soil biota in vineyards are more influenced by plants and soil quality than by tillage intensity or the surrounding landscape // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. 17445. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17601-w>
 18. *Таранец И.П.* Пространственное распределение почвенных коллембол в рекреационных лесах Подмосковья: Дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2013. P. 163.
 19. *Hebert P.D.N., Ratnasingham S., Zakharov E.V.* et al. *Parisotoma notabilis* L4 voucher BIOUG04875-G02 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial, NCBI. 2014. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KM622110>
 20. *Porco D., Potapov M., Bedos A.* et al. Cryptic diversity in the ubiquitous species *Parisotoma notabilis* (Collembola, Isotomidae): a long-used chimeric species? // *PLOS ONE*. 2012. V. 7. e46056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046056>
 21. *von Saltzwedel H., Scheu S., Schaefer I.* Genetic structure and distribution of *Parisotoma notabilis* (Collembola) in Europe: Cryptic diversity, split of lineages and colonization patterns // *PLOS ONE*. 2017. V. 12. e0170909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170909>
 22. *Striuchkova A., Malykh I., Potapov M., Kuznetsova N.* Sympatry of genetic lineages of *Parisotoma notabilis* s. l. (Collembola, Isotomidae) in the East European Plain // *ZooKeys*. 2022. V. 1137. P. 1–15. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1137.95769>
 23. *Sun X., Bedos A., Deharveng L.* Unusually low genetic divergence at COI barcode locus between two species of intertidal *Thalassaphorura* (Collembola: Onychiuridae) // *Peer J*. 2018. V. 6. e5021. <https://doi.org/10.7717/peerj.5021>
 24. *Liker A., Papp Z., Bókonyi V., Lendvai Á.Z.* Lean birds in the city: body size and condition of house sparrows along the urbanization gradient // *J. Anim. Ecol.* 2008. V. 77. P. 789–795. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01402.x>
 25. QGIS (version 3.18.3). 2020. <https://www.qgis.org/ru/site/> (accessed December 26, 2022).
 26. *Fjellberg A.* The Collembola of Fennoscandia and Denmark, Part II: Entomobryomorpha and Symphypleona // *BRILL*. 2007. P. 266. <https://brill.com/view/title/14147> (accessed September 27, 2022).
 27. *Whiting M.F.* Mecoptera is paraphyletic: multiple genes and phylogeny of Mecoptera and Siphonaptera // *Zool. Scr.* 2002. V. 31. P. 93–104. <https://doi.org/10.1046/j.0300-3256.2001.00095.x>
 28. *Prendini L., Weygoldt P., Wheeler W.C.* Systematics of the *Damon variegatus* group of African whip spiders (Chelicerata: Amblypygi): Evidence from behaviour, morphology and DNA // *Org. Divers. Evol.* 2005. V. 5. P. 203–236. <https://doi.org/10.1016/j.ode.2004.12.004>
 29. Chromas Lite (version 2.6.6) | Technelysium Pty Ltd. 2018. <http://technelysium.com.au/wp/chromas/> (accessed December 6, 2021).
 30. BioEdit (version 7.2). Softw. Inf. 2017. <http://bioedit.software.informer.com/> (accessed December 6, 2021).
 31. *Kumar S., Stecher G., Li M.* et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // *Mol. Biol. Evol.* 2018. V. 35. 1547.
 32. R Core Team. RStudio (version 4.2.1.). 2022. <https://www.r-project.org/> (accessed October 10, 2022).
 33. *Kuznetsova N.A.* Collembolan guild structure as an indicator of tree plantation conditions in urban areas // *Memorabilia Zoologica*. 1994. V. 49. P. 197–205.
 34. *Fujii S., Berg M.P., Cornelissen J.H.C.* Living litter: dynamic trait spectra predict fauna composition // *Trends Ecol. Evol.* 2020. V. 35. P. 886–896. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.05.007>
 35. *Huang Y., Yesilonis I., Szlavecz K.* Soil microarthropod communities of urban green spaces in Baltimore, Maryland, USA // *Urban For. Urban Green*. 2020. V. 53. 126676. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2020.126676>
 36. *Mao Q., Huang G., Buyantuev A.* et al. Spatial heterogeneity of urban soils: the case of the Beijing metropolitan region, China // *Ecol. Process*. 2014. V. 3. P. 23. <https://doi.org/10.1186/s13717-014-0023-8>
 37. *Qiao Z., Wang B., Yao H.* et al. Urbanization and green-space type as determinants of species and functional composition of collembolan communities // *Geoderma*. 2022. V. 428. 116175. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.116175>