

ОБЩАЯ
БИОЛОГИЯ

УДК 591.94:595.132

**ЖИЗНЕСПОСОБНЫЕ НЕМАТОДЫ ИЗ ПОЗДНЕПЛЕЙСТОЦЕНОВЫХ
МНОГОЛЕТНЕМЁРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ КОЛЫМСКОЙ
НИЗМЕННОСТИ**

© 2018 г. А. В. Шатилович^{1,*}, А. В. Чесунов², Т. В. Неретина³, И. П. Грабарник⁴, С. В. Губин¹,
Т. А. Вишневская¹, Т. С. Онстотт (T. C. Onstott)⁵, Е. М. Ривкина¹

Представлено академиком РАН А. Ю. Розановым 18.12.2017 г.

Поступило 18.12.2017 г.

Впервые получены данные, свидетельствующие о способности многоклеточных организмов к длительному криобиозу в вечномёрзлых отложениях Арктики. Живые почвенные нематоды *Panagrolaimus* aff. *detritophagus* (Rhabditida) и *Plectus* aff. *parvus* (Plectida) выделены из образцов плейстоценовых многолетнемёрзлых отложений Колымской низменности. Длительность естественной криоконсервации нематод соответствует возрасту отложений и составляет 30–40 тыс. лет.

DOI: 10.7868/S0869565218140256

Вечная мерзлота Арктики является уникальным криобанком генетических ресурсов. Многолетнемёрзлые толщи содержат значительное таксономическое разнообразие одноклеточных организмов, сохранивших жизнеспособность после десятков и сотен тысяч лет криобиоза. В мерзлоте обнаружены аэробные и анаэробные бактерии, цианобактерии, актиномицеты, одноклеточные зелёные водоросли, дрожжи, миксомицеты, голые амёбы, гетеротрофные жгутиконосцы, инфузории, споры мхов и семена высших растений, способные к прорастанию после длительной естественной криоконсервации [1].

В настоящей работе нам впервые удалось выделить из многолетнемёрзлых отложений жизнеспособные многоклеточные организмы – почвенные нематоды.

В ходе исследований палеобиоты мы проанализировали более 300 образцов многолетнемёрзлых отложений разного возраста и генезиса, погребённых почв и нор ископаемых грызунов. В двух образцах

были обнаружены жизнеспособные нематоды. Нематоды были выделены из материала погребённой норы суслика (нора Р-1320), отобранного из мёрзлой стенки обнажения Дуванный яр в низовьях р. Колыма (68°37' с.ш., 159°08' в.д.) в 2002 г. Ископаемая нора, состоящая из хода и крупной, до 25 см в диаметре, камеры, находилась на глубине около 30 м от дневной поверхности в слое вечномёрзлых отложений ледового комплекса. Ранее в этом слое была обнаружена серия подобных нор, радиоуглеродный возраст которых составлял около 32 тыс. лет [2]. Материал камеры содержал хорошо сохранившиеся измельчённые остатки травянистой и кустарничковой растительности, большой объём семян высших растений.

Нематоды были обнаружены также в образце многолетнемёрзлых отложений ледового комплекса, полученном при колонковом бурении в районе р. Алазея (69°20' с.ш., 154°60' в.д.) в 2015 г. Образец был отобран из керна с глубины 3,5 м (скв. АЛ3-15) и содержал слаборазложившиеся растительные остатки. Возраст мёрзлых отложений, из которых были изолированы нематоды, согласно данным радиоуглеродного датирования, составлял 41700 ± 1400 лет (AA109003, University of Arizona, AMS Laboratory).

Отбор образцов и их транспортировку осуществляли с соблюдением необходимого температурного режима и требований стерильности согласно методикам, многократно апробированным лабораторией криологии почв ИФХиБПП РАН при микробиологических исследованиях мёрзлых толщ [3]. В лаборатории образцы хранили при температуре -20°C .

¹ Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской Академии наук, Пушино Московской обл.

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

³ Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

⁴ Национальный исследовательский университет “Высшая школа экономики”, Москва

⁵ Princeton University, Dept. Geosciences, USA

*E-mail: nastya.shat@rambler.ru

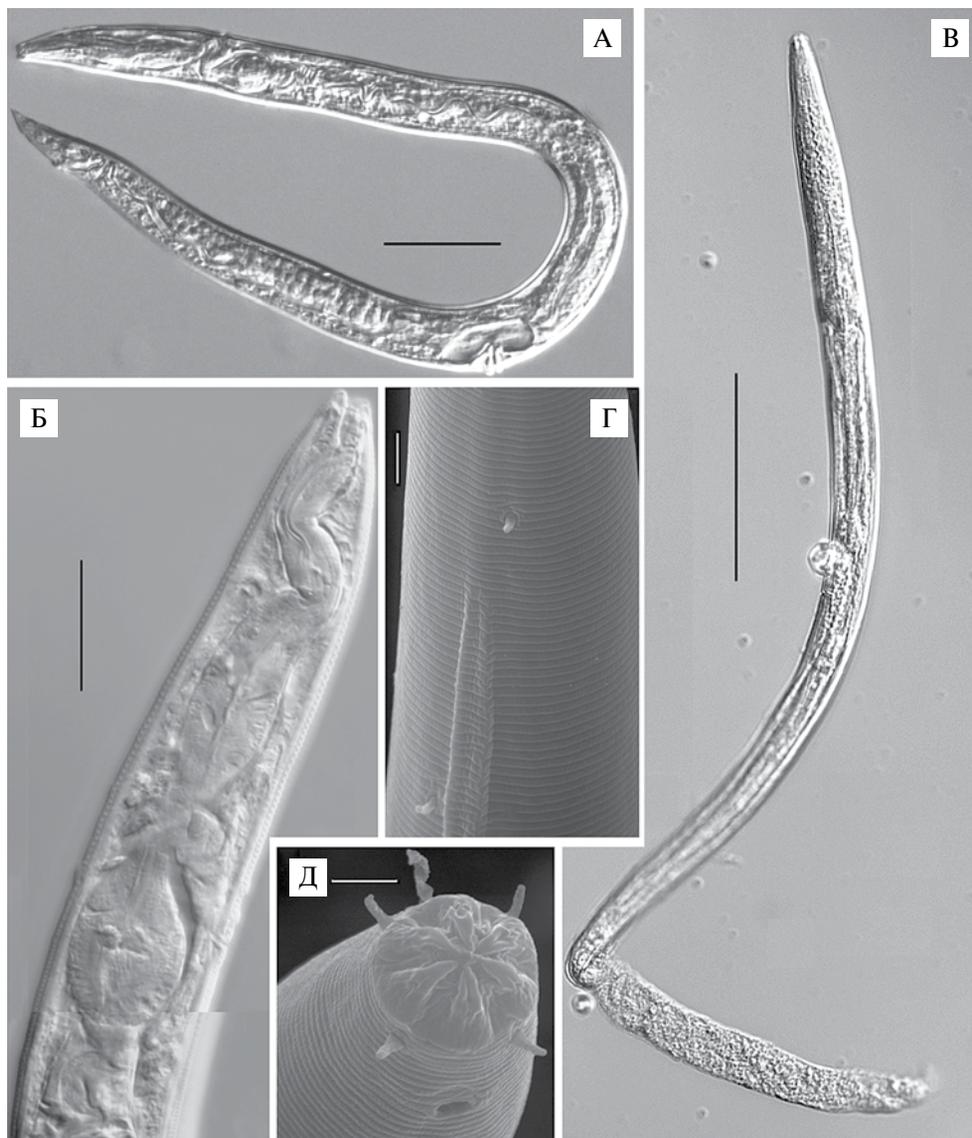


Рис. 1. Нематоды, выделенные из плейстоценовых многолетнемёрзлых отложений Колымской низменности. *Panagrolaimus* aff. *detritophagus* (А – общий вид самки, Б – фарингеальный отдел тела); *Plectus* aff. *parvus* (В – общий вид самки с остатком экзувиальной кутикулы у хвоста, Г – фотография, полученная с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), боковой поверхности тела на уровне середины глотки, представлены латеральный гребень и соматические щетинки, Д – СЭМ-фотография головного конца). Масштаб: А – 50, Б – 20, В – 100, Г – 3, Д – 3 мкм.

Выделение жизнеспособных нематод из многолетне-мёрзлых отложений проводили методом накопительного культивирования. Мёрзлые образцы (1–2 г) помещали в чашки Петри со средой Прескотта–Джеймса и культивировали при температуре 20 °С в течение нескольких недель [4]. Из накопительной культуры получали клональные культуры нематод. Дальнейшее культивирование проводили на агаризованных и жидких средах Прескотта–Джеймса с добавлением бактерий *Escherichia coli* в качестве пищевых объектов.

Определение таксономической принадлежности обнаруженных нематод проводили путём

микроскопического исследования морфологических и морфометрических признаков на постоянных препаратах, изготовленных по стандартной методике [5].

Дополнительно было проведено исследование генов 18S рибосомной РНК. Для этого с помощью ПЦР были получены три перекрывающихся фрагмента гена 18S рРНК. Используемые праймеры и условия проведения ПЦР описаны в статье [6]. Последовательность полученных фрагментов определяли с помощью секвенирования по Сэнгеру. Филогенетические построения проводили, используя полученные

нами последовательности и выборку из 47 последовательностей гена 18S РНК нематод, представленных в базе данных GenBank (www.ncbi.nih.gov).

Филогенетический анализ показал, что нематоды, полученные из материала погребённой норы, входят в кладу рода *Panagrolaimus*, а нематоды, выделенные из мёрзлых отложений р. Алазея, относятся к кладе рода *Plectus*. По морфометрическим и структурным признакам обнаруженные нематоды соответствуют видам *Panagrolaimus detritophagus* Fuchs, 1930 (Rhabditida, Panagrolaimidae) и *Plectus parvus* Bastian, 1865 (Plectida, Plectidae). Хотя для обоих видов известны самцы [7–9], в исследуемых культурах мы зарегистрировали наличие только самок (очевидно, обоим видам свойственно факультативное партеногенетическое размножение). Поскольку самки не обладают всей полнотой диагностических признаков, наша идентификация пока сохраняет некоторую долю условности.

Ряд факторов позволяет исключить возможность проникновения нематод в многометровые мёрзлые толщи из расположенной выше современной тундровой почвы. Глубина сезонного оттаивания в районах исследования достигает 80 см и даже в термический оптимум голоцена, около 9 тыс. лет назад, не превышала 1,5 м. Ниже этого уровня, в многолетнемёрзлых, прочно сцементированных льдом отложениях позднеплейстоценового ледового комплекса, влияние внешних факторов резко ограничено. Термодиффузия и миграция нематод с плёнками незамёрзшей воды, толщина которых не превышает нескольких нанометров, невозможна. Наличие мощных жильных льдов служит доказательством того, что вмещающие их породы являются синкриогенными (в них осадкообразование и промерзание проходило одновременно) и никогда не оттаивали. Возраст биоты в синкриогенных толщах соответствует возрасту осадочных пород [10].

Известно, что некоторые нематоды способны переносить длительное воздействие неблагоприятных условий, в том числе отрицательной температуры (криобиоз) как в естественных местобитаниях (почвы и льды полярных регионов), так и в лабораторных условиях, сочетая разные стратегии выживания [11]. Нематоды *Tylenchus polyhyphus* сохраняли жизнеспособность в гербарном образце в течение 39 лет [12]. Антарктическая нематода *Plectus murrayi* сохранила жизнеспособность в течение 25,5 лет в образцах мха, хранившегося при температуре -20°C [13].

Нематоды семейств Panagrolaimidae и Plectidae, к которым принадлежат обнаруженные в многолетнемёрзлых отложениях виды, населяют почвенные и пресноводные биотопы, широко распространены на всех континентах, включая Антарктиду,

обладают высокой устойчивостью к высушиванию и замораживанию [14].

Таким образом, нами впервые получены данные, свидетельствующие о способности многоклеточных животных переживать длительный (десятки тысяч лет) криобиоз в условиях естественной криоконсервации. Очевидно, что эта способность предполагает наличие у плейстоценовых нематод адаптивных механизмов, дальнейшее изучение которых может иметь научное и практическое значение в смежных областях науки, таких как криомедицина, криобиология и астробиология.

Авторы благодарят В.Г. Гагарина (Институт биологии внутренних вод РАН) за помощь в морфологической идентификации видов нематод и В.В. Малахова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) за конструктивные замечания к рукописи.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 17–04–01397, 15–04–02597 и ПП22 “Эволюция органического мира и планетарных процессов”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gilichinsky D., Rivkina E.* Encyclopedia of Earth Sciences Series. В.: Springer, 2011. P. 726–732.
2. *Губин С.В., Занина О.Г.* // Криосфера Земли. 2013. Т 17. № 4. С. 48–56.
3. *Shi T., Reeve R., Gilichinsky D., Friedman E.I.* // Microbiol. Ecol. 1997. № 33. P. 169–179.
4. *Shatilovich A.V., Shmakova L.A., Mylnikov A.P., Gilichinsky D.A.* Soil Biol. В.: Springer, 2009. P. 97–115.
5. *Holovachov O.* // Ann. Zool. 2004. V. 54. P. 631–672.
6. *Rousset V., Pleijel F., Rouse G.W., Christer Erséus, Siddall M.E.* // Cladistic. 2006. V. 22. P. 1–23.
7. *Andrássy I.* // Acta Zool. Hung. 1985. V. 31. P. 1–52.
8. *Andrássy I.* // Hungar. Natural Museum. Budapest. 2005. V. 1. P. 518.
9. *Zell H.* // Andrias. 1993. № 11. P. 1–173.
10. *Гиличинский Д.А., Хлебникова Г.М., Звягинцев Д.Г., Федоров-Давыдов Д.Г., Кудрявцева Н.Н.* // Изв. АН СССР. Сер. геол. 1989. № 6. С. 114–126.
11. *McSorley R.* // Fl. Entomol. 2003. V. 86. № 2. P. 138–142.
12. *Steiner G.F., Albin F.M.* // J. Wash. Acad. Sci. 1946. V. 36. P. 97–99.
13. *Kagoshima H., Kito K., Aizu T., Shini T., Kanda H., Kobayashi S., Toyoda A., Fujiyama A., Kohara Y., Convey P., Niki H.* // CryoLetters. 2012. V. 33. № 4. P. 280–288.
14. *Wharton D.A.* // J. Comp. Physiol. В. 2003. V. 173. P. 621–628.