

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Митохондриальный геном *Dendrobaena tellermanica* Perel, 1966 (Annelida: Lumbricidae)

С.В. Шеховцов^{1,2}✉, Г.В. Васильев¹, Р. Латиф³, Т.В. Полубаярова¹, С.Е. Пельтек¹, И.Б. Рапопорт⁴

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук, Магадан, Россия

³ Университет Семнана, Семнан, Иран

⁴ Институт экологии горных территорий им. А.К. Темботова Российской академии наук, Нальчик, Россия

✉ shekhovtsov@bionet.nsc.ru

Аннотация. Дождевые черви – важная экологическая группа, которая оказывает значительное влияние как на состав почвенной фауны, так и на растительность. Генетическое разнообразие и филогения дождевых червей при этом остаются относительно слабо изученными. В настоящее время большинство работ по генетическому разнообразию дождевых червей основывается на единичных митохондриальных и ядерных генах. В связи с этим для реконструкции филогенетических отношений у дождевых червей перспективными становятся митохондриальные геномы. Почти все работы по этой теме посвящены видам из Западной Европы или Восточной Азии, другие регионы практически не затронуты. В настоящей работе мы провели секвенирование, сборку и анализ митохондриального генома *Dendrobaena tellermanica* Perel, 1966. Этот вид ранее входил в состав кавказского вида *D. schmidtii* (Michaelsen, 1907) – политипического вида, в пределах которого выделяли множество таксонов. Геном был собран в виде одного контига длиной 15 298 п. н., содержащего типичный набор генов: 13 белок-кодирующих генов (три субъединицы цитохромоксидазы, семь субъединиц NADH дегидрогеназы, две субъединицы АТФ синтетазы, цитохром *b*), гены *12S* и *16S* рибосомальной РНК и 22 гена тРНК. Все гены были расположены на одной цепи ДНК. На контрольный регион, находящийся между генами *tRNA-Arg* и *tRNA-His*, приходилось 727 п. н. Контрольный регион содержал множество шпилек, а также тандемные повторы мономера AACGCTT. Филогенетический анализ на основе полных митохондриальных геномов показал, что род *Dendrobaena* является базальным в семействе Lumbricidae. *D. tellermanica* оказалась довольно далеким родственником космополитного вида *D. octaedra*, что говорит о высоком генетическом разнообразии в этом роде. Вид *D. schmidtii* был парафилетичным по отношению к *D. tellermanica*. Поскольку для *D. schmidtii* характерна очень высокая генетическая изменчивость, можно рассматривать эти данные как свидетельство в пользу разделения *D. schmidtii* на несколько видов. Ключевые слова: дождевые черви; Lumbricidae; *Dendrobaena tellermanica*; митохондриальные геномы.

Для цитирования: Шеховцов С.В., Васильев Г.В., Латиф Р., Полубаярова Т.В., Пельтек С.Е., Рапопорт И.Б. Митохондриальный геном *Dendrobaena tellermanica* Perel, 1966 (Annelida: Lumbricidae). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(2):146-152. DOI 10.18699/VJGB-23-20

The mitochondrial genome of *Dendrobaena tellermanica* Perel, 1966 (Annelida: Lumbricidae) and its phylogenetic position

S.V. Shekhovtsov^{1,2}✉, G.V. Vasiliev¹, R. Latif³, T.V. Poluboyarova¹, S.E. Peltek¹, I.B. Rapoport⁴

¹ Institute of Biological Problems of the North of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Magadan, Russia

² Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³ Semnan University, Semnan, Iran

⁴ Tembotov Institute of Ecology of Mountain Territories of Russian Academy of Sciences, Nalchik, Russia

✉ shekhovtsov@bionet.nsc.ru

Abstract. Earthworms are an important ecological group that has a significant impact on soil fauna as well as plant communities. Despite their importance, genetic diversity and phylogeny of earthworms are still insufficiently studied. Most studies on earthworm genetic diversity are currently based on a few mitochondrial and nuclear genes. Mitochondrial genomes are becoming a promising target for phylogeny reconstruction in earthworms. However, most studies on earthworm mitochondrial genomes were made on West European and East Asian species, with much less sampling from other regions. In this study, we performed sequencing, assembly, and analysis of the mitochondrial genome of *Dendrobaena tellermanica* Perel, 1966 from the Northern Caucasus. This species was earlier included into *D. schmidtii* (Michaelsen, 1907), a polytypic species with many subspecies. The genome was assembled as a single contig 15,298 bp long which contained a typical gene set: 13 protein-coding genes (three subunits of cytochrome *c* oxidase, seven subunits of NADH dehydrogenase, two subunits of ATP synthetase, and cytochrome *b*), *12S* and *16S* ribosomal RNA genes, and 22 tRNA genes. All genes were located on one DNA strand. The assembled part of the control region, located between the *tRNA-Arg* and *tRNA-His* genes, was 727 bp long. The control region contained multiple hairpins, as well as tandem repeats of the AACGCTT monomer. Phylogenetic analysis based on the complete mitochondrial genomes

indicated that the genus *Dendrobaena* occupied the basal position within Lumbricidae. *D. tellermanica* was a rather distant relative of the cosmopolitan *D. octaedra*, suggesting high genetic diversity in this genus. *D. schmidtii* turned out to be paraphyletic with respect to *D. tellermanica*. Since *D. schmidtii* is known to contain very high genetic diversity, these results may indicate that it may be split into several species.

Key words: earthworms; Lumbricidae; *Dendrobaena tellermanica*; mitochondrial genomes.

For citation: Shekhovtsov S.V., Vasiliev G.V., Latif R., Poluboyarova T.V., Peltek S.E., Rapoport I.B. The mitochondrial genome of *Dendrobaena tellermanica* Perel, 1966 (Annelida: Lumbricidae) and its phylogenetic position. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(2):146-152. DOI 10.18699/VJGB-23-20

Введение

Дождевые черви – важная экологическая группа, занимающая в некоторых биотопах одно из первых мест по биомассе среди почвенных животных (Hendrix et al., 2008). Представители этой группы перерабатывают растительный опад, переводя его в гумус почвы и возвращая органику в круговорот веществ (Blouin et al., 2013). Дождевые черви также формируют структуру почвы, что оказывает важное влияние как на состав почвенной фауны, так и на растительность (Lavelle et al., 2016). В связи с этим они во многом определяют продуктивность экосистем.

Тем не менее слабо изученными остаются генетическое разнообразие и филогения дождевых червей (Marchán et al., 2018). В настоящее время большинство работ по генетическому разнообразию дождевых червей основывается на единичных митохондриальных и ядерных генах (Jamieson et al., 2002; Marchán et al., 2022). Мультигенный анализ на базе множества ядерных генов затруднен частой полиплоидией, характерной для данной группы (Viktorov, 1997; Всеволодова-Перель, Булатова, 2008; Межжерин и др., 2018), поэтому крайне сложно выявить и амплифицировать подходящие для этой цели ортологи.

Вследствие этого перспективной основой для реконструкции филогенетических отношений у дождевых червей становятся митохондриальные геномы. В последние годы появились работы по секвенированию и анализу митохондриальных геномов дождевых червей (Zhang L. et al., 2014–2016a, b; Wang et al., 2015; Conrado et al., 2017; Hong et al., 2017; Shekhovtsov, Peltek, 2019; Zhang Q. et al., 2019; Liu et al., 2020; Seto et al., 2021; Csuzdi et al., 2022; Kim, Hong, 2022), а также по филогении определенных групп (Shekhovtsov et al., 2020a; Liu et al., 2021). Практически все данные работы посвящены видам из Западной Европы или из Восточной Азии, другие регионы почти не затронуты.

В настоящей работе мы провели секвенирование, сборку и анализ митохондриального генома *Dendrobaena tellermanica* Perel, 1966. Этот вид ранее входил в состав *D. schmidtii* (Michaelsen, 1907) – политипического вида, в пределах которого выделяли множество подвидов (Michaelsen, 1907; Квавадзе, 1985). Ранее *D. tellermanica* считали партеногенетической формой *D. schmidtii* (Перель, 1966). Т.С. Всеволодова-Перель (2003) показала, что многие популяции *D. tellermanica* размножаются путем амфикисиса, и, таким образом, представляют собой отдельный вид. *D. tellermanica* отличается от *D. schmidtii* отсутствием пигментации, положением пояса и формой пубератных валиков (Всеволодова-Перель, 2003).

На данный момент в базах данных присутствует митохондриальный геном только одного вида рода *Dendro-*

baena, космополитного *D. octaedra* (Savigny, 1826). Митохондриальный геном *D. tellermanica* будет представлять собой первую известную последовательность кавказского вида дождевых червей и сыграет важную роль при изучении филогении люмбрицид.

Материалы и методы

Образцы *D. tellermanica* собраны в Карачаево-Черкесской Республике (правый берег р. Учкулан, дорога на перевал Чипер, высота 1483 м над уровнем моря, 4–5 км от пос. Актюбе, манжетково-гераниевый луг, N 43.410944, E 42.174538). Образцы были зафиксированы в этиловом спирте. Определение по морфологическим признакам проводили по ключу Т.С. Всеволодовой-Перель (1997).

ДНК экстрагировали стандартным фенол-хлороформным методом и фрагментировали на соникаторе Covaris M220 с расчетной средней длиной фрагментов 350 п. н., после чего очищали с применением 1.2 объема реагента AMPureXP (Beckman Coulter, США). Концентрацию обработанной ультразвуком ДНК определяли флуориметрически на приборе Qubit. Геномные библиотеки были получены из 100 нг ДНК набором Roche KAPA HyperPrep в соответствии с протоколом производителя с применением двойных баркодов KAPA UDI Adapter. Качество и молярность полученной геномной библиотеки определяли на биоанализаторе BA2100 набором Agilent DNA High Sensitivity. Библиотека была секвенирована на приборе Illumina NextSeq550 набором Mid Output Kit v. 2.5 (300 Cycles) парными чтениями 2×150 п. н.

Для обработки данных, полученных после секвенирования, использована программа TrimmomaticPE (Bolger et al., 2014) с опциями ILLUMINACLIP:TruSeq3-SE:2:30:10 SLIDINGWINDOW:4:15 MINLEN:36. Для сборки контигов использована программа SPAdes v. 3.14.1 (Bankevich et al., 2012) с опцией --isolate. Против собранного генома при помощи blastn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) были выровнены последовательности митохондриальных геномов, взятых из базы данных NCBI для поиска контига, представляющего собой митохондриальную последовательность.

Предварительную аннотацию генома выполняли с помощью программы MITOS 2 (Bernt et al., 2013), после чего вручную было проведено сравнение с аннотированными геномами дождевых червей. Митохондриальный геном *D. tellermanica* размещен в базе данных GenBank под номером ON960857. Карта генома построена при использовании программы Benchling (<https://www.benchling.com/>).

Вторичные структуры участков мтДНК реконструировали с помощью программы MITOS 2 (Bernt et al., 2013). Строение контрольного региона установлено с при-

менением RNAfold Web Server (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/NAWebSuite/RNAfold.cgi>) и forna (<http://rna.tbi.univie.ac.at/forna/forna.html>) (Gendron et al., 2001). Поиск tandemных повторов проводили с программой Tandem Repeats Finder (Benson, 1999). Выравнивание выполнено при использовании программы Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>); контрольный регион не был включен в выравнивание митохондриальных геномов. Затем программой gblocks 0.91b (Castresana, 2000) удаляли неоднозначно выровненные участки. Последовательности митохондриальных геномов дождевых червей и гена *COXI* рода *Dendrobaena* были взяты из базы данных GenBank. Филогенетические деревья были построены при помощи метода максимального правдоподобия (Maximum likelihood) в программе RAxML v. 8.2.12 (Stamatakis, 2014); при построении деревьев была взята модель нуклеотидных замен GTRCAT. Проведено 1000 бутстрепных реплик.

Результаты

По результатам полногеномного секвенирования paired-end получено 4.2 млн парных ридов. После обработки осталось 3.4 млн парных ридов. Медиана покрытия контигов генома длиной более 500 п. н. – 6 (среднее покрытие – 20), медианное покрытие митохондриального контига составило 20 (среднее – 30).

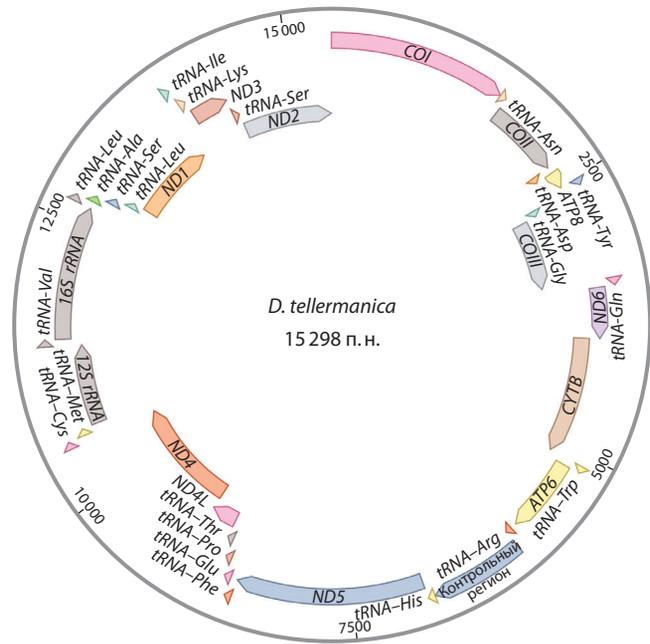
Собранный контиг имел длину 15298 п. н. и содержал типичный набор генов: 13 белок-кодирующих генов (3 субъединицы цитохромоксидазы, 7 субъединиц NADH дегидрогеназы, 2 субъединицы АТФ синтетазы, цитохром *b*), гены *12S* и *16S* рибосомальной РНК и 22 гена тРНК. Все гены были расположены на одной цепи ДНК (рис. 1). АТ-состав генома – 65.3 %. Кодированная цепь содержит 31.1 % А, 34.2 % Т, 13.9 % G и 20.8 % С. Гены *ND4* и *ND4L* перекрывались на 7 п. н. В качестве стартового кодона использовали только АТГ. Три белок-кодирующих гена (*COIII*, *ND1* и *ND2*) имели укороченный стоп-кодон. Гены тРНК имели длину от 60 до 69 п. н. Предполагаемые структуры тРНК показаны на рис. 2.

На контрольный регион, находящийся между генами *tRNA-Arg* и *tRNA-His*, приходилось 727 п. н. Контиг не замкнулся, т. е. контрольный регион был собран не полностью. Его АТ-состав (63.5 %) был сходным со средним по геному. Контрольный регион содержал множество шпилек (см. рис. 2). Кроме того, в его составе присутствовал участок AACGCTT, тандемно повторенный 11 раз.

Обсуждение

Строение митохондриального генома дождевых червей

Долгое время знания о митохондриальных геномах дождевых червей ограничивались работой J.L. Vooge и W.M. Brown (1995) по *Lumbricus terrestris*. Митохондриальный геном этого вида имел длину 14998 п. н. и содержал обычный набор генов, характерный для большинства животных. Отличительным признаком митохондриальных геномов кольчатых червей (за единичными исключениями) является то, что все гены располагаются на одной цепи (Weigert et al., 2016). Предположительно, митохондри-



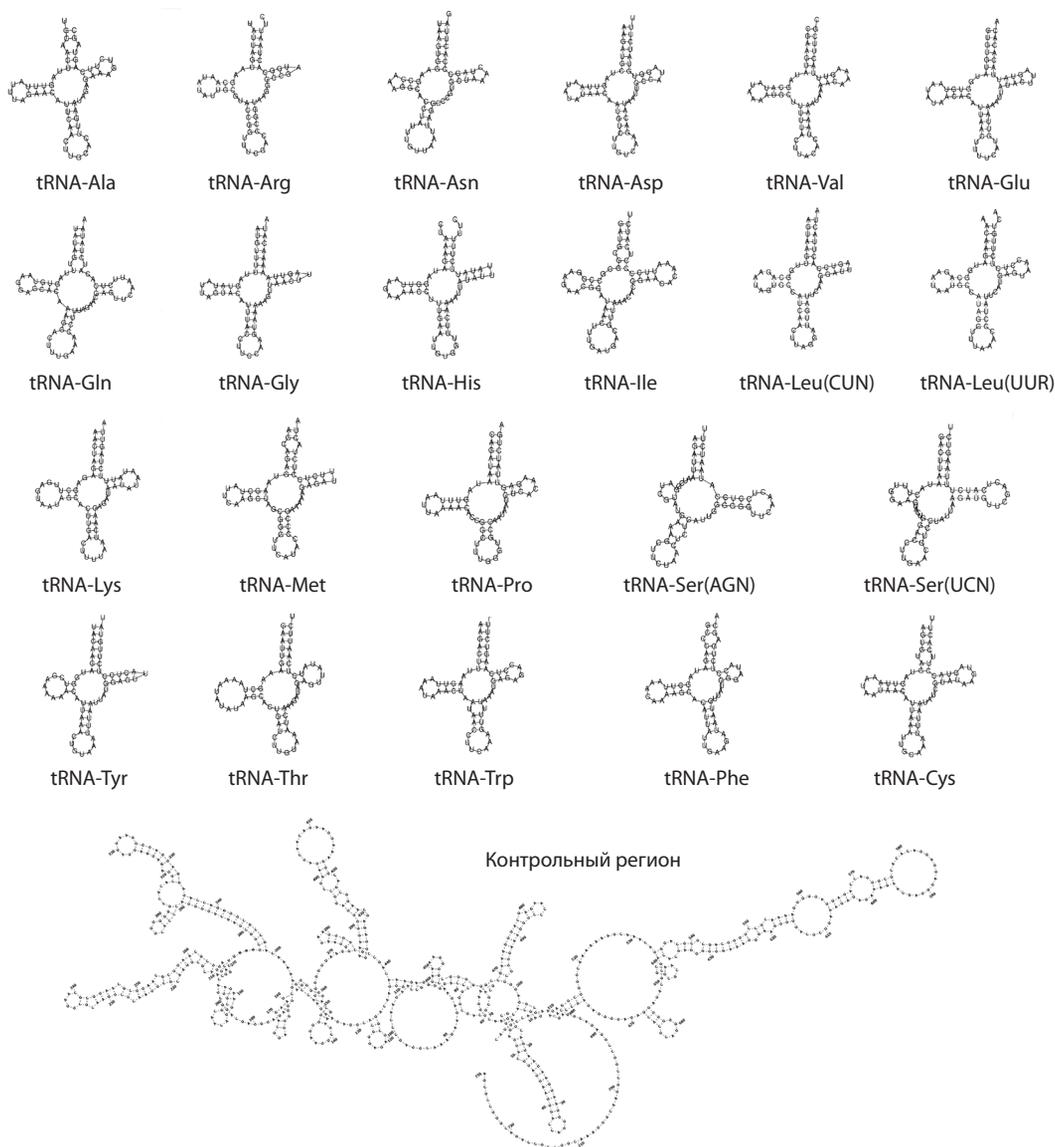


Рис. 2. Вторичные структуры тРНК и контрольного региона мтДНК *D. tellermanica*.

длиной или же со сложной вторичной структурой: можно видеть, что почти вся ее последовательность входит в состав шпилек (см. рис. 2).

Филогения дождевых червей на основе митохондриальных геномов и положение *D. tellermanica*

На полученном филогенетическом дереве (рис. 3) показано, что семейство Moniligastridae находится на значительном генетическом расстоянии от прочих семейств дождевых червей. Семейство Glossoscolecidae, представленное в выборке единственным видом *Pontoscolex corethrurus*, было базальной группой в отряде Crassicitellata. Два наиболее хорошо исследованных семейства, Megascolecidae и Lumbricidae, оказались сестринскими группами.

В пределах семейства Lumbricidae, к которому относится и *D. tellermanica*, род *Dendrobaena* оказался сестринским ко всем остальным родам этого семейства. В роде *Dendrobaena* последовательности митохондриальных геномов известны пока только для двух видов, космопо-

литного *D. octaedra* и изученного в нашей работе *D. tellermanica*. Род *D. tellermanica* объединяется в одну ветвь с *D. octaedra*, однако их разделяют довольно значительные генетические расстояния.

Таким образом, настоящее исследование представляет собой первый шаг в изучении базальных ветвей семейства Lumbricidae. Особый интерес в этом отношении вызывают кавказские виды рода *Dendrobaena*, на которые приходится значительная часть его видового разнообразия.

Ранее мы проводили анализ генетического разнообразия морфологических форм *D. schmidtii* (Шеховцов и др., 2020), в результате которого выявлено, что *D. schmidtii* представляет собой как минимум два отдельных вида. На филогенетическом дереве, построенном по гену *COXI* (рис. 4), показано, что *D. tellermanica* оказывается внутри одной из ветвей *D. schmidtii*. Здесь необходимо отметить, что на уровне семейства отдельные митохондриальные гены, включая *COXI*, не пригодны для реконструкции филогенетических отношений (Klarica et al., 2012; She-

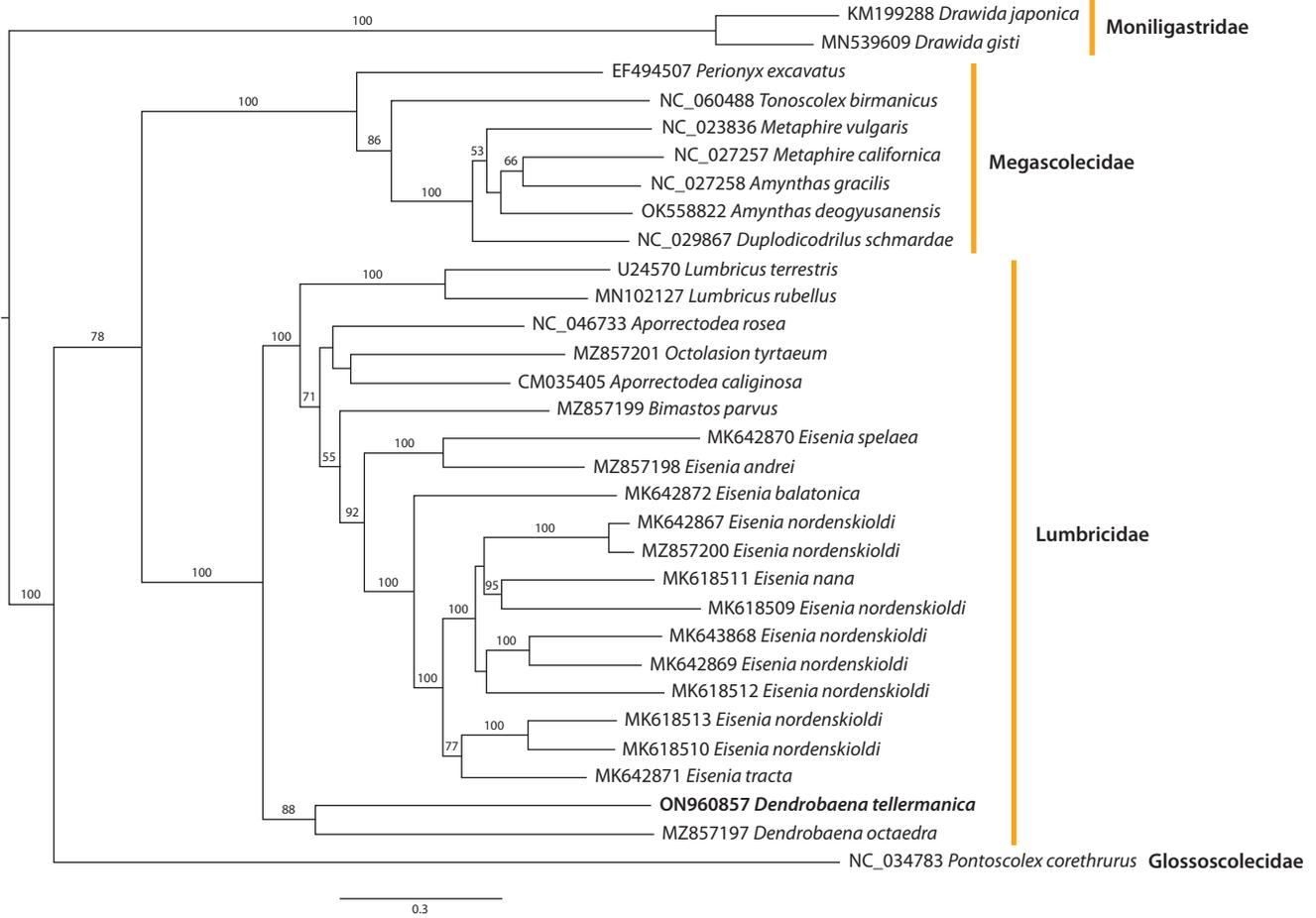


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное по митохондриальным геномам дождевых червей методом максимального правдоподобия. Здесь и на рис. 4: цифры возле ветвей обозначают бутстрепную поддержку.

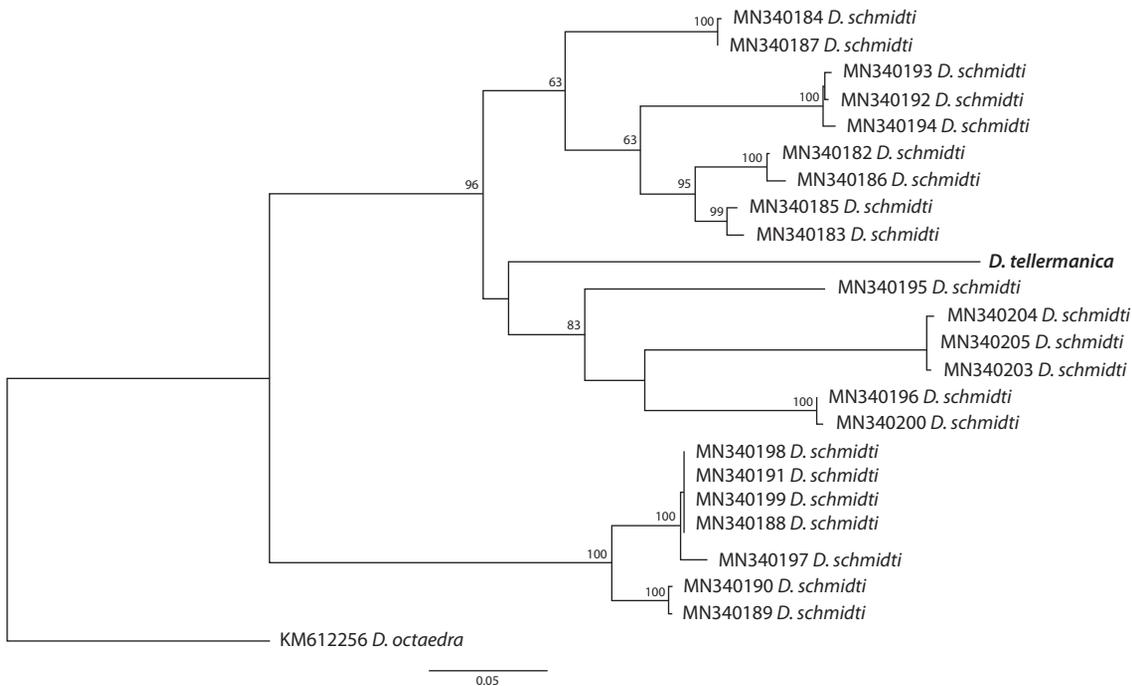


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное по гену *COX1* образцов рода *Dendrobaena* методом максимального правдоподобия.

khovtsov et al., 2016, 2020b): отсутствует какое-либо достоверное разрешение отношений между видами, вне зависимости от используемых деревьев, и не поддерживается монофилия большинства родов. При этом ген *COXI* полезен для поиска относительно близкородственных видов/филогенетических линий. Кроме того, в базах данных есть тысячи последовательностей *COXI* и только единичные митохондриальные геномы; в частности мтДНК *D. schmidti* пока не секвенирована. В связи с этим дерево на рис. 4 приведено только для демонстрации близости *D. tellermanica* и *D. schmidti*.

Заключение

Полученные предварительные результаты указывают на то, что можно было бы рассматривать *D. tellermanica* как подвид *D. schmidti*, как считалось ранее, либо разделить *D. schmidti* на несколько видов. Вторая точка зрения имеет право на жизнь, если принять во внимание большую генетическую и морфологическую изменчивость внутри этого вида. Следует отметить, что для таких выводов потребуется анализ на основе нескольких генов, включая ядерные.

Список литературы / References

- Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви России: кадастр и определитель. М.: Наука, 1997.
[Vsevolodova-Perel T.S. The Earthworms of the Russian Fauna: Caddaster and Key. Moscow: Nauka Publ., 1997. (in Russian)]
- Всеволодова-Перель Т.С. Дополнение к фауне дождевых червей (Oligochaeta, Lumbricidae) Северного Кавказа. *Зоол. журнал*. 2003;82(2):275-280.
[Vsevolodova-Perel T.S. Addition to the fauna of earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae) of the Northern Caucasus. *Zoologicheskii Zhurnal = Zoological Journal*. 2003;82(2):275-280. (in Russian)]
- Всеволодова-Перель Т.С., Булатова Н.Ш. Полиплоидные расы дождевых червей (Lumbricidae, Oligochaeta), распространенные в пределах Восточно-Европейской равнины и в Сибири. *Изв. РАН*. 2008;4:448-452.
[Vsevolodova-Perel T.S., Bulatova N.Sh. Polyploid races of earthworms (Lumbricidae, Oligochaeta) in the East European Plain and Siberia. *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 2008;35(4):385-388. DOI 10.1134/S1062359008040092.]
- Квавадзе Э.Ш. Дождевые черви (Lumbricidae) Кавказа. Тбилиси: Метсниереба, 1985.
[Kvavadze E.Sh. The Earthworms (Lumbricidae) of the Caucasus. Tbilisi: Metsniereba Publ., 1985. (in Russian)]
- Межжерин С.В., Гарбар А.В., Власенко Р.П., Онищук И.П., Коцюба И.Ю., Жалай Е.И. Эволюционный парадокс партеногенетических дождевых червей. Киев: Наук. думка, 2018.
[Mezhzherin S.V., Garbar A.V., Vlasenko R.P., Onishchuk I.P., Kotsyuba I.Yu., Zhalai E.I. The Evolutionary Paradox of Parthenogenetic Earthworms. Kiev: Naukova Dumka Publ., 2018. (in Ukrainian)]
- Перель Т.С. Дождевые черви в почвах лесов Северо-Западного Кавказа. В: Влияние животных на продуктивность лесных биогеоценозов. М.: Наука, 1966;146-165.
[Perel T.S. Earthworms in forest soils of the Northwestern Caucasus. In: The Impact of Animals on the Productivity of Forest Cenoses. Moscow: Nauka Publ., 1966;146-165. (in Russian)]
- Шеховцов С.В., Рапопорт И.Б., Полубаярова Т.В., Гераскина А.П., Голованова Е.В., Пельтек С.Е. Морфотипы и генетическая изменчивость *Dendrobaena schmidti* (Lumbricidae, Annelida). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(1):48-54. DOI 10.18699/VJ20.594.
[Shekhovtsov S.V., Rapoport I.B., Poluboyarova T.V., Geraskina A.P., Golovanova E.V., Peltek S.E. Morphotypes and genetic diversity of *Dendrobaena schmidti* (Lumbricidae, Annelida). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(1):48-54. DOI 10.18699/VJ20.594. (in Russian)]
- Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012;19(5):455-477. DOI 10.1089/cmb.2012.0021.
- Benson G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res.* 1999;27(2):573-580. DOI 10.1093/nar/27.2.573.
- Bernt M., Donath A., Jühling F., Externbrink F., Florentz C., Fritzsche G., Pütz J., Middendorf M., Stadler P.F. MITOS: Improved *de novo* metazoan mitochondrial genome annotation. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2013;69(2):313-319. DOI 10.1016/j.ympev.2012.08.023.
- Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Peres G., Tondoh J.E., Cluzeau D., Brun J.-J. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *Eur. J. Soil Sci.* 2013;64(2):161-182. DOI 10.1111/ejss.12025.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30(15):2114-2120. DOI 10.1093/bioinformatics/btu170.
- Boore J.L., Brown W.M. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the annelid worm *Lumbricus terrestris*. *Genetics*. 1995;141(1):305-319. DOI 10.1093/genetics/141.1.305.
- Castresana J. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.* 2000;17(4):540-552. DOI 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334.
- Clayton D.A. Transcription and replication of animal mitochondrial DNAs. *Int. Rev. Cytol.* 1992;141:217-232. DOI 10.1016/S0074-7696(08)62067-7.
- Conrado A.C., Arruda H., Stanton D.W.G., James S.W., Kille P., Brown G., Silva E., Dupont L., Taheri S., Morgan A.J., Simões N., Rodrigues A., Montiel R., Cunha L. The complete mitochondrial DNA sequence of the pantropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Rhindrilidae, Clitellata): Mitogenome characterization and phylogenetic positioning. *ZooKeys*. 2017;688:1-13. DOI 10.3897/zookeys.688.13721.
- Csuzdi C., Koo J., Hong Y. The complete mitochondrial DNA sequences of two sibling species of lumbricid earthworms, *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) (Annelida, Crassiditellata): comparison of mitogenomes and phylogenetic positioning. *ZooKeys*. 2022;1097:167-181. DOI 10.3897/zookeys.1097.80216.
- Gendron P., Lemieux S., Major F. Quantitative analysis of nucleic acid three-dimensional structures. *J. Mol. Biol.* 2001;308(5):919-936. DOI 10.1006/jmbi.2001.4626.
- Hendrix P.F., Callahan M.A., Drake J.M., Huang C.-Y., James S.W., Snyder B.A., Zhang W. Pandora's box contained bait: the global problem of introduced earthworms. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 2008;39(1):593-613. DOI 10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173426.
- Hong Y., Kim M.J., Wang A.R., Kim I. Complete mitochondrial genome of the earthworm. *Amyntas jiriensis* (Clitellata: Megascolecidae). *Mitochondrial DNA A DNA Mapp. Seq. Anal.* 2017;28(2):163-164. DOI 10.3109/19401736.2015.1115491.
- Jamieson B.G.M., Tillier S., Tillier A., Justine J.-L., Ling E., James S., McDonald K., Hugall A.F. Phylogeny of the Megascolecidae and Crassiditellata (Annelida, Oligochaeta): combined versus partitioned analysis using nuclear (28S) and mitochondrial (12S, 16S) rDNA. *Zoosystema*. 2002;24(4):707-734.
- Kim M.J., Hong Y. Complete mitochondrial genome of the earthworm *Amyntas seungpanensis* (Clitellata: Megascolecidae). *Mitochondrial DNA B Resour.* 2022;7(6):989-991. DOI 10.1080/23802359.2022.2080604.

- Klarica J., Kloss-Brandstätter A., Traugott M., Juen A. Comparing four mitochondrial genes in earthworms – Implications for identification, phylogenetics, and discovery of cryptic species. *Soil Biol. Biochem.* 2012;45:23-30. DOI 10.1016/j.soilbio.2011.09.018.
- Lavelle P., Spain A., Blouin M., Brown G., Decaëns T., Grimaldi M., Jiménez J.J., McKey D., Mathieu J., Velasquez E., Zangerlé A. Ecosystem engineers in a self-organized soil. *Soil Sci.* 2016;181(3/4): 91-109. DOI 10.1097/SS.0000000000001155.
- Liu H., Xu N., Zhang Q., Wang G., Xu H., Ruan H. Characterization of the complete mitochondrial genome of *Drawida gisti* (Metagynophora, Moniligastridae) and comparison with other Metagynophora species. *Genomics.* 2020;112(5):3056-3064. DOI 10.1016/j.ygeno.2020.05.020.
- Liu H., Zhang Y., Xu W., Fang Y., Ruan H. Characterization of five new earthworm mitogenomes (Oligochaeta: Lumbricidae): mitochondrial phylogeny of Lumbricidae. *Diversity.* 2021;13(11):580. DOI 10.3390/d13110580.
- Marchán D.F., Cosín D.J.D., Novo M. Why are we blind to cryptic species? Lessons from the eyeless. *Eur. J. Soil Biol.* 2018;86:49-51. DOI 10.1016/j.ejsobi.2018.03.004.
- Marchán D.F., Decaëns T., Domínguez J., Novo M. Perspectives in earthworm molecular phylogeny: recent advances in Lumbricoidea and standing questions. *Diversity.* 2022;14(1):30. DOI 10.3390/d14010030.
- Michaelsen W. Die Lumbriciden des Kaukasischen Museums in Tiflis. *Mitteilungen des Kaukasischen Museums.* 1907;3:81-93.
- Seto A., Endo H., Minamiya Y., Matsuda M. The complete mitochondrial genome sequences of Japanese earthworms *Metaphire hilgendorfi* and *Amyntas yunoshimensis* (Clitellata: Megascolecidae). *Mitochondrial DNA B. Resour.* 2021;6(3):965-967. DOI 10.1080/23802359.2020.1830728.
- Shekhovtsov S., Berman D.I., Bazarova N.E., Bulakhova N.A., Porco D., Peltek S.E. Cryptic genetic lineages in *Eisenia nordenskioldi pallida* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Eur. J. Soil Biol.* 2016;75:151-156. DOI 10.1016/j.ejsobi.2016.06.004.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Ershov N.I., Poluboyarova T.V., Berman D.I., Bulakhova N.A., Szederjesi T., Peltek S.E. Phylogeny of the *Eisenia nordenskioldi* complex based on mitochondrial genomes. *Eur. J. Soil Biol.* 2020a;96:103137. DOI 10.1016/j.ejsobi.2019.103137.
- Shekhovtsov S.V., Peltek S.E. The complete mitochondrial genome of *Aporrectodea rosea* (Annelida: Lumbricidae). *Mitochondrial DNA Part B.* 2019;4(1):1752-1753. DOI 10.1080/23802359.2019.1610091.
- Shekhovtsov S.V., Shipova A.A., Poluboyarova T.V., Vasiliev G.V., Golovanova E.V., Geraskina A.P., Bulakhova N.A., Szederjesi T., Peltek S.E. Species delimitation of the *Eisenia nordenskioldi* complex (Oligochaeta, Lumbricidae) using transcriptomic data. *Front. Genet.* 2020b;11:1508. DOI 10.3389/fgene.2020.598196.
- Stamatakis A. RAXML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics.* 2014;30(9): 1312-1313. DOI 10.1093/bioinformatics/btu033.
- Vallès Y., Boore J.L. Lophotrochozoan mitochondrial genomes. *Integr. Comp. Biol.* 2006;46(4):544-557. DOI 10.1093/icb/icj056.
- Viktorov A.G. Diversity of polyploid races in the family Lumbricidae. *Soil Biol. Biochem.* 1997;29(3-4):217-221. DOI 10.1016/S0038-0717(96)00086-7.
- Wang A.R., Hong Y., Win T.M., Kim I. Complete mitochondrial genome of the Burmese giant earthworm, *Tonoscolex birmanicus* (Clitellata: Megascolecidae). *Mitochondrial DNA.* 2015;26(3):467-468. DOI 10.3109/19401736.2013.830300.
- Weigert A., Golombek A., Gerth M., Schwarz F., Struck T.H., Bleidorn C. Evolution of mitochondrial gene order in Annelida. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2016;94(Pt. A):196-206. DOI 10.1016/j.ympev.2015.08.008.
- Zhang L., Jiang J., Dong Y., Qiu J. Complete mitochondrial genome of an *Amyntas* earthworm, *Amyntas aspergillus* (Oligochaeta: Megascolecidae). *Mitochondrial DNA A DNA Mapp. Seq. Anal.* 2014; 27(3):1-2. DOI 10.3109/19401736.2014.971267.
- Zhang L., Jiang J., Dong Y., Qiu J. Complete mitochondrial genome of four pheretimoid earthworms (Clitellata: Oligochaeta) and their phylogenetic reconstruction. *Gene.* 2015;574(2):308-316. DOI 10.1016/j.gene.2015.08.020.
- Zhang L., Jiang J., Dong Y., Qiu J. Complete mitochondrial genome of a Pheretimoid earthworm *Metaphire vulgaris* (Oligochaeta: Megascolecidae). *Mitochondrial DNA.* 2016a;27(1):297-298. DOI 10.3109/19401736.2014.892085.
- Zhang L., Sechi P., Yuan M., Jiang J., Dong Y., Qiu J. Fifteen new earthworm mitogenomes shed new light on phylogeny within the *Pheretima* complex. *Sci. Rep.* 2016b;6:20096. DOI 10.1038/srep20096.
- Zhang Q., Liu H., Zhang Y., Ruan H. The complete mitochondrial genome of *Lumbricus rubellus* (Oligochaeta, Lumbricidae) and its phylogenetic analysis. *Mitochondrial DNA Part B.* 2019;4(2):2677-2678. DOI 10.1080/23802359.2019.1644242.
- Zhao H., Fan S., Aspe N.M., Feng L., Zhang Y. Characterization of four earthworm mitogenomes from Northeast China and phylogenetic implication (Oligochaeta: Lumbricidae, Moniligastridae). *Diversity.* 2022;14(9):714. DOI 10.3390/d14090714.

ORCID ID

S.V. Shekhovtsov orcid.org/0000-0001-5604-5601
R. Latif orcid.org/0000-0002-7201-5426
T.V. Poluboyarova orcid.org/0000-0002-5652-0553
S.E. Peltek orcid.org/0000-0002-3524-0456
I.B. Rapoport orcid.org/0000-0002-6766-1482

Благодарности. Работа поддержана грантом РФФИ № 20-54-5603_Иран_т и грантом Национального научного фонда Ирана № 99003929, а также бюджетными проектами № AAAA-A18-122011900453-0 и FWNR-2022-0022.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 29.07.2022. После доработки 30.09.2022. Принята к публикации 30.09.2022.