

Генетическое разнообразие дождевого червя *Eisenia nordenskioldi* (Lumbricidae, Annelida)

С.В. Шеховцов¹✉, Д.И. Берман², Е.В. Голованова³, С.Е. Пельтек¹

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 Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия

Eisenia nordenskioldi (Eisen, 1879) – наиболее распространенный вид дождевых червей в Сибири. Он встречается в различных экосистемах, от тундр до лесостепей, и обладает значительной морфологической, экологической и кариотипической изменчивостью. *E. nordenskioldi* подразделяют на два подвида – пигментированный *E. n. nordenskioldi* и непигментированный *E. n. pallida*; известны также несколько видов рода *Eisenia* с близким диагнозом, ранее входивших в состав вида. Все это позволяет использовать данный вид в качестве удобной модели для изучения процессов видообразования и эволюции дождевых червей. В предлагаемой статье обобщена вся имеющаяся информация о генетической и экологической изменчивости *E. nordenskioldi*, в том числе и наши неопубликованные данные. Показано, что каждый из подвидов *E. nordenskioldi* (*E. n. nordenskioldi* и *E. n. pallida*) можно подразделить на несколько филогенетических линий на основании изменчивости митохондриальной и ядерной ДНК. Эти линии дивергировали несколько миллионов лет назад, а время расхождения популяций внутри каждой из линий может составлять несколько сотен тысяч лет. Для выявленных линий приведены ареалы и паттерны генетической изменчивости в разных регионах. Подвиды *E. n. nordenskioldi* и *E. n. pallida*, скорее всего, не монофилетичны, а признак пигментации может быть лабильным и, вполне возможно, несколько раз появлялся и исчезал в ходе эволюции различных филогенетических линий комплекса. Также мы выдвигаем предположения о связи наблюдаемой генетической изменчивости с морфологической и экологической и о степени родства *E. nordenskioldi* с некоторыми другими видами рода *Eisenia*. На основе полученных данных мы попытались выдвинуть гипотезы о генетической структуре вида *E. nordenskioldi* и предлагаем дальнейшие подходы к его изучению.

Ключевые слова: дождевые черви; *Eisenia nordenskioldi*; *Eisenia nordenskioldi pallida*; Lumbricidae; Россия; *cox1*.

Genetic diversity of the earthworm *Eisenia nordenskioldi* (Lumbricidae, Annelida)

S.V. Shekhovtsov¹✉, D.I. Berman²,
E.V. Golovanova³, S.E. Peltek¹

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute of Biological Problems of the North FEB RAS,
Magadan, Russia

³ Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

Eisenia nordenskioldi (Eisen, 1879) is the most widespread earthworm species in Siberia. It inhabits a wide range of habitats, from tundra to forest steppe, and is characterized by high morphological, ecological, and karyotypic diversity. *E. nordenskioldi* is usually divided into two subspecies, the pigmented *E. n. nordenskioldi* and the unpigmented *E. n. pallida*; a set of *Eisenia* species with a close diagnosis was also isolated from *E. nordenskioldi* in the last fifty years. This high diversity makes this species a promising model for studying earthworm speciation and evolution. In this study, we review all available information on the genetic and ecological diversity of *E. nordenskioldi*, including our published and unpublished data, as well as studies of other authors. We demonstrate that each subspecies of *E. nordenskioldi* (*E. n. nordenskioldi* and *E. n. pallida*) can be divided into several genetic lineages based on differences in mitochondrial and nuclear DNA. The studied lineages diverged several million years ago, and population groups within each lineage, hundreds of thousands years ago. We report distributions and genetic patterns for each of the detected genetic lineages. Subspecies *E. n. nordenskioldi* and *E. n. pallida* are most probably non-monophyletic, and the pigmentation character is labile and possibly independently evolved in different lineages. We also propose hypotheses on the interplay of its observed genetic diversity with morphological and ecological variation, as well as on the relationships of *E. nordenskioldi* with certain species of the genus *Eisenia*. Based on the available information, we attempt to present a general outlook on *E. nordenskioldi* genetic structure and further directions of its study.

Key words: earthworms; *Eisenia nordenskioldi*; *Eisenia nordenskioldi pallida*; Lumbricidae; Russia, *cox1*.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Шеховцов С.В., Берман Д.И., Голованова Е.В., Пельтек С.Е. Генетическое разнообразие дождевого червя *Eisenia nordenskioldi* (Lumbricidae, Annelida). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(5):588-595. DOI 10.18699/VJ17.24-0

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Shekhovtsov S.V., Berman D.I., Golovanova E.V., Peltek S.E. Genetic diversity of the earthworm *Eisenia nordenskioldi* (Lumbricidae, Annelida). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(5):588-595. DOI 10.18699/VJ17.24-0 (in Russian)

УДК 595.1:575.858

Поступила в редакцию 01.11.2016 г.

Принята к публикации 05.12.2016 г.

Опубликована онлайн 05.05.2017 г.

© АВТОРЫ, 2017

✉ e-mail: shekhovtsov@bionet.nsc.ru

В 1875 г. экспедиция под руководством Н.А.Э. Норденшюльда (Nils Adolf Erik Nordenskiöld) на судне «Превен» отправилась исследовать Северо-Восточный проход. В устье Енисея члены экспедиции отослали корабль обратно, а сами на лодках поднялись по реке до Красноярска и вернулись в Европу сухопутным путем. В ходе путешествия были собраны коллекции растений и животных, в том числе и дождевых червей. Вернувшись, Н.А.Э. Норденшюльд передал коллекции червей своему соотечественнику, А.Г. Эйзену (August Gustaf Eisen), который и обнаружил в образцах с о. Вайгач и ряда точек по течению Енисея новый вид, который назвал *Allolobophora nordenskioldi* (Eisen, 1879).

В дальнейшем дождевые черви, подходящие под диагноз этого вида (перенесенного впоследствии в род *Eisenia*), были собраны почти по всей Северной Азии, а также в некоторых регионах Средней и Восточной Азии, на Урале и востоке Восточной Европы. Со временем стало ясно, что *Eisenia nordenskioldi* – большой политипический вид. По морфологическим признакам из него было выделено несколько новых видов – *E. lagodechiensis* (Закавказье), *E. acystis* (Тянь-Шань) и *E. atlavinyteae* (Западная и Восточная Сибирь, Урал, Монголия). Но и в оставшемся объеме вида морфологическая изменчивость внутри *E. nordenskioldi* велика. В настоящее время в его пределах выделяют два подвида: пигментированный номинативный *E. n. nordenskioldi* и непигментированный *E. n. pallida*. Последний был описан И.И. Малевичем (1956) как форма *E. nordenskioldi*, но впоследствии повышен до статуса подвида *E. n. pallida* Malevič 1956 (Перель, 1994; Всеволодова-Перель, 1997; Всеволодова-Перель, Булатова, 2008).

По данным кариологического анализа, известно, что для *E. nordenskioldi* характерно большое число рас различной пloidности. Изначально считалось, что диплоидный набор этого вида содержит 24 хромосомы (Графодатский и др., 1982), однако затем было установлено, что на самом деле он больше (36 хромосом) (Булатова и др., 1987). *E. nordenskioldi* включает в себя ди-, тетра-, гекса- и октаплоидные расы (Viktorov, 1997; Всеволодова-Перель, Булатова, 2008).

Следует отметить, что ситуация с кариотипами *E. nordenskioldi* требует дальнейшего изучения. Во-первых, по нашему опыту, очень сложно получить препараты метафазных хромосом этого вида. Во-вторых, на метафазных пластинках полиплоидных рас почти никогда нельзя насчитать ожидаемого количества хромосом: как правило, 5–10 хромосом на каждой пластинке теряются либо накладываются друг на друга. Наконец, появились сведения о существовании предположительно декаплоидной расы *E. n. nordenskioldi* с числом хромосом около 180, найденной в Алтайском крае на берегу р. Чумыш около деревни Тальменка (К. Задесенец, неопубл. данные).

Т.В. Малинина и Т.С. Перель (1984) проанализировали несколько популяций *E. nordenskioldi* методом изоферментного анализа. Ограничения метода не позволяют однозначно проследить родственные отношения между популяциями. Тем не менее авторы предположили, что октаплоидные расы *E. nordenskioldi* в разных регионах, по-видимому, возникли независимо.

В начале XXI в. к дождевым червям начали применять методы молекулярной генетики. Пионерные работы были

посвящены лишь частным вопросам, например взаимоотношениям видов *Eisenia fetida* и *Eisenia andrei* (Pérez-Losada et al., 2005) или форм вида *Octolasion tyrtaeum* (Heethoff et al., 2004). Однако в первой же большой работе, включавшей в себя целый ряд европейских космополитов (King et al., 2008), было показано, что для дождевых червей характерна очень высокая генетическая изменчивость. Авторы исследовали генетическое разнообразие фрагмента гена *cox1* у девяти космополитных видов из нескольких точек Великобритании и обнаружили, что четыре из них на филогенетическом дереве представлены несколькими ветвями, которые были названы филогенетическими линиями (genetic lineages). Число попарных нуклеотидных замен между линиями составляет примерно 15 %, при том, что для большинства видов животных внутривидовая изменчивость редко превышает 2 %. Существование такой высокой внутривидовой изменчивости затем было подтверждено для различных видов множеством работ (например, Pérez-Losada et al., 2009; Fernández et al., 2015; Porco et al., 2013).

В целом эта изменчивость и ее причины до конца не поняты. Логично предположить, что обнаруживаемые филогенетические линии – это виды-двойники. В ряде случаев, вероятно, так и есть. Тем не менее картина иногда оказывается более сложной. Нередко филогенетические линии, различающиеся на 15 % и более по мтДНК, не имеют заметных отличий по ядерной ДНК (Martinsson et al., 2016). Также возможна ситуация, когда различия по ядерным генам все же есть, но выявляются редкие случаи скрещивания между линиями (Dupont et al., 2011; Shekhovtsov et al., 2014a). Если последнее может быть следствием неполного репродуктивного барьера между линиями, то полное отсутствие различий по ядерной ДНК часто объясняют интрогрессией, т.е. замещением митохондрий одного вида митохондриями другого. В последнем случае, правда, должен существовать источник интрогрессии, но ни в одной работе таковой пока обнаружен не был.

Вполне возможно, что для мтДНК дождевых червей характерна высокая скорость нуклеотидных замен по сравнению с большинством других животных. Хорошо известно, что мтДНК животных имеет более высокую скорость замен по сравнению с ядерной ДНК, что можно объяснить как большей частотой мутаций (например, из-за меньшего набора ферментов репарации и мутагенной среды в митохондриях), так и высокой скоростью их фиксации. Причины, по которым мтДНК именно дождевых червей имела бы повышенную скорость эволюции, пока не известны, но могут быть, вероятно, со временем объяснены. Тем не менее остается непонятным, почему в одних случаях наблюдается огромная генетическая изменчивость, а в других – отсутствие таковой (см. раздел «*E. n. pallida*»).

Одна из первых работ по изучению генетического разнообразия *E. nordenskioldi* проведена нами на популяциях номинативного подвида с юга Западной Сибири (Shekhovtsov et al., 2013). У него было выявлено шесть филогенетических линий; их назвали линиями 1–6 по порядку обнаружения. В дальнейшем мы продолжили собирать и генотипировать коллекцию дождевых червей из

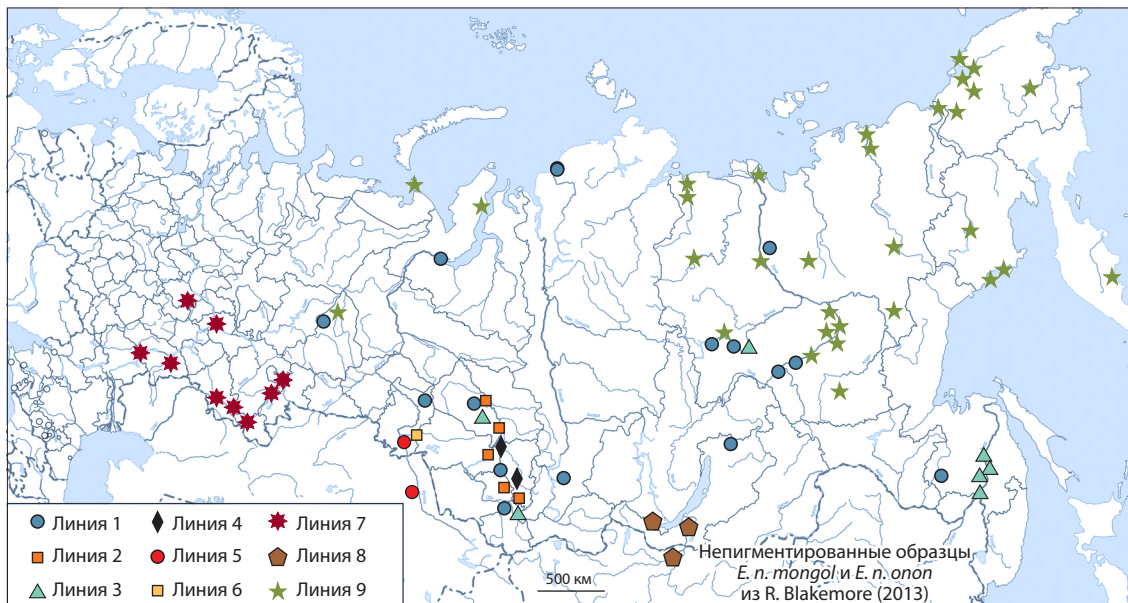


Рис. 1. Распространение филогенетических линий *E. n. nordenskioldi*.

разных регионов России. Результаты проведенной работы представлены на рис. 1. Ниже описана характерная для каждого региона картина, выявленная на текущий момент, и проанализированы полученные результаты. Цель настоящей работы – охарактеризовать генетику и вероятный эволюционный сценарий *E. nordenskioldi* как модельного политипического вида дождевых червей.

Западная Сибирь

В настоящее время относительно подробной информацией мы обладаем только для Новосибирской области и Алтайского края. Наибольший ареал здесь имеют линии 1 и 3, которые встречаются также и в других регионах Азии (см. рис. 1). Линия 2, названная так нами в исходной работе (Shekhovtsov et al., 2013), была затем отнесена к виду *E. sibirica*. Этот вид приурочен к Алтае-Саянской горной системе, в том числе к Салаирскому кряжу и Кузнецкому Алатау (Всеволодова-Перель, 1997); мы расширили ареал на прилегающую к названным кряжам равнинную часть, вплоть до р. Чая (Берман и др., 2016).

Филогенетическая линия 4 была обнаружена только на Салаирском кряже. Судя по последовательностям ДНК, она близка к линии 2 (*E. sibirica*) и встречается симпатрично с ней. Все остальные линии *E. nordenskioldi*, судя по мтДНК, заметно дивергировали друг от друга, и только линии 2 и 4 сохраняют следы близкого родства и могут быть использованы как пример не слишком сильной дивергенции.

В черте г. Омска найдены две филогенетические линии *E. n. nordenskioldi*, 5 и 6, соответственно на правом и левом берегах р. Иртыш. Линия 5 также была обнаружена в Казахстане вблизи с. Баянаул (см. рис. 1).

Представление о *E. n. nordenskioldi* как о комплексе филогенетических линий стало для нас еще более сложным после изучения популяций Республики Алтай. Известно, что эта горная страна – один из центров эндемизма люмбрицид (Перель, 1979; Всеволодова-Перель, 1997):

там обитает три эндемичных вида рода *Eisenia*. Морфологическое изучение собранной коллекции показало, что для дождевых червей региона характерна, прежде всего, высокая морфологическая изменчивость. Известно, что у обоих подвидов *E. nordenskioldi* пояска расположен на 27–33-м сегментах тела, а пубертатные валики – на 29–31-м сегментах; кроме того, у номинативного подвида на латеральных областях с 9-го по 11-й сегмент расположены светлые пятна. У близкородственного пигментированного вида *E. atlavinyteae* они занимают 26 (27)–33-й сегменты, а пубертатные валики – 28–31-й (Всеволодова-Перель, 1997). В популяциях из Республики Алтай встречалась смесь из всех этих форм. Кроме того, у образцов *E. n. nordenskioldi* с типичным положением пояска и пубертатных валиков светлые пятна на латеральных поверхностях тела 9–11-го сегментов обнаруживались не всегда, тогда как у особей с пубертатными валиками, расположенными с 28-го по 31-й сегмент, эти пятна присутствовали во всех случаях. Иными словами, фенотип пигментированных червей можно назвать промежуточным между *E. n. nordenskioldi* и *E. atlavinyteae*. Более того, встречались экземпляры, соответствовавшие диагнозу *E. sibirica*, но с «наплыванием» пубертатных валиков на 28 и 31-й сегменты. Также наряду с *E. n. pallida* встречались и непигментированные особи *E. atlavinyteae*.

Южный и Средний Урал и Предуралье

Как известно, множество европейских видов дождевых червей смогли успешно освоить Сибирь (Всеволодова-Перель, 1997), однако единственным сибирским видом, проникшим в Европу, можно считать только *E. nordenskioldi*, а точнее, его номинативный подвид. Известно, что граница вида заходит достаточно далеко на юг; в частности, он встречается в Крыму (Пышкин и др., 2005), Днепропетровской области (Жуков и др., 2007). На севере западная граница вида проходит приблизительно в районе бассейна Северной Двины (Всеволодова-Перель, 1997).

Точные границы ареала *E. n. nordenskioldi* в Европе установить непросто, так здесь он весьма редок (Перель, 1979).

Пока мы имеем выборки лишь из небольшого числа точек с Урала, а также с Восточно-Европейской равнины, самые западные из которых находятся в Саратовской и Владимирской областях (см. рис. 1). По данным проведенного нами анализа (Shekhovtsov et al., 2016a), на изучаемой территории обитает отдельная, 7-я, филогенетическая линия *E. n. nordenskioldi*, которая пока не найдена к западу от Урала. Филогенетический анализ показал, что ее популяции с Урала отличаются гораздо большим генетическим разнообразием, чем равнинные, которые представляют собой одну ветвь среди нескольких уральских. Можно утверждать, что 7-я линия *E. n. nordenskioldi* отделилась от прочих линий вида около полутора миллионов лет назад. Все исследованные нами выборки с Восточно-Европейской равнины происходят от одной популяции, которая, скорее всего, обитала на восточных склонах Южного Урала. Заселение Восточно-Европейской равнины происходило приблизительно полмиллиона лет назад. Таким образом, и уральские, и равнинные популяции пережили несколько циклов оледенения, что говорит об их высокой холодоустойчивости.

Север Евразии

Северные части Сибири, Дальнего Востока и европейской части России мы рассматриваем отдельно в связи с климатическими особенностями этих регионов. Известно, что во время последнего оледенения (и, вероятно, предыдущих) север Европы и Северной Америки был покрыт ледниковыми щитами, что привело к «стиранию» всей биоты. В то же время считается, что на севере Азии сплошного ледникового щита не было, а имели место лишь локальные оледенения. При этом происходила смена сообществ с тундровых и бореальных на тундро-степные и обратно (Dubatolov, Kosterin, 2000).

На исследованной территории доминирует 9-я филогенетическая линия *E. n. nordenskioldi*. Ее филогеография изучена достаточно подробно, по крайней мере в северо-восточной части ареала. Наибольшее ее генетическое разнообразие приходится на верховья Лены. Отдельные популяции расселились по другим районам. В частности, можно выделить близкородственные группы популяций с Северного Урала, о. Вайгач и Обской губы, из бассейна Колымы и прилегающего побережья Восточно-Сибирского моря, а также тауйскую (по названию одноименной губы).

Время дивергенции между гаплотипами в пределах отдельных популяций может превышать сотни лет, а оценочный возраст всей собранной нами выборки 9-й линии превышает 1 млн лет. Хотя и ранее было известно, что северные популяции *E. n. nordenskioldi* обладают очень высокой устойчивостью к низким температурам и низкой влажности, мы показали, что многие популяции 9-й линии смогли пережить *in situ* несколько оледенений даже за полярным кругом, несмотря на неоднократную смену сообществ.

Восточная Сибирь

С юга Восточной Сибири в нашей коллекции есть черви пока лишь из двух точек: с западного побережья Байкала

(п. Большие Коты) и из окрестностей г. Улан-Удэ. Их мы предварительно отнесли к филогенетической линии 8 подвида *E. n. nordenskioldi*. R.J. Blakemore опубликовал работу (2013), в которой привел описание и последовательности ДНК образцов из Северной Монголии (аймак Хентий). На основании полученных данных автор выделил два новых подвида *E. nordenskioldi*: *E. n. mongol* и *E. n. onon*. Судя по последовательностям ДНК, оба подвида относятся к названной выше линии 8 *E. n. nordenskioldi*. Интересно, что при довольно близком генетическом родстве оба новых подвида имеют лишь розоватую окраску на передних 15 сегментах тела (Blakemore, 2013), в то время как наши образцы из Бурятии и Иркутской области имели бурую окраску. Эти данные также говорят о возможной лабильности признака пигментации. В описаниях морфологических отличий автор ссылается на S. Kobayashi (1940), T.S. Perel (1969) и A. Zicsi (1972), а не на более новые работы Т.С. Всеволодовой-Перель (возможно, из-за того, что они не были переведены на английский язык), вследствие чего дан неточный диагноз по сравнению с принятым сейчас. По-видимому, в Северной Монголии, как и на Алтае, имеет место значительный разброс морфологических признаков внутри комплекса *E. n. nordenskioldi*. В неопубликованных материалах Т.С. Всеволодовой-Перель за 1971–1973 гг. сообщается об обнаружении в аймаках Селенгэ и Дархан (Северная Монголия) *E. n. pallida* и *E. atlavinyteae* с положением пояска с 26-го по 33-й сегмент. *E. n. mongol* имеет то же положение пояска, в то время как у *E. n. onon* он начинается на 24-м–25-м сегментах. То, что эти очевидные морфологические различия не сопровождаются заметными генетическими отличиями, говорит, что положение пояска – действительно вполне лабильный признак.

Здесь также следует отметить разницу в подходах отечественных и зарубежных специалистов. Если в России четко принимается разделение на два подвида, непигментированный и пигментированный, то, например, Y. Hong и C. Csuzdi (2016) считают *pallida* всего лишь формой, называя свои непигментированные образцы *E. nordenskioldi*. R.J. Blakemore же предпочел описать два новых подвида наряду с *E. n. nordenskioldi* и *E. n. pallida*, также не рассматривая пигментацию как важный признак.

Дальний Восток

Данные по *E. n. nordenskioldi* с юга Дальнего Востока России немногочисленны. Пока мы можем сказать, что на этой территории встречаются филогенетические линии 1 и 3, причем эти популяции лишь отдаленно родственны таковым из Западной Сибири. Таким образом, расселение этих линий по Сибири происходило достаточно давно (сотни тысяч лет назад), как и в случае линии 9.

E. n. pallida

Как было сказано выше, *E. n. pallida* изначально считалась всего лишь непигментированной формой *E. nordenskioldi* (Малевич, 1956). Со временем накопилось достаточно данных и о прочих его отличиях от номинативного подвида. Последний относится к подстилочной экологической группе, а *E. n. pallida* – к почвенной. Есть различия и в ряде признаков внутреннего строения (Перель, 1982,



Рис. 2. Распространение филогенетических линий *E. n. pallida*.

1994; Perel, 1987; Всеволодова-Перель, 1997): в частоте и амплитуде спонтанной сократительной активности мышц мускульного желудка, а также в холинорецепторных и адренорецепторных характеристиках. Считается, что *E. n. pallida* имеет диплоидный набор хромосом ($2n = 36$), тогда как номинативный подвид – полиплоид (Kashmenskaia, Polyakov, 2008; Всеволодова-Перель, Лейрих, 2014). Оба подвида *E. nordenskioldi* имеют высокую холодоустойчивость, однако у *E. n. pallida* она несколько ниже (Берман, Мещерякова, 2013; Мещерякова, Берман, 2013).

Ареал *E. n. pallida* значительно меньше, чем у номинативного подвида: он лежит севернее 60-й–62-й параллели только в долине Енисея, а также не встречается на Урале и в Европе. По данным Т.С. Всеволодовой-Перель и А.Н. Лейрих (2014), есть лишь единичные находки этого вида на Иртыше и Тоболе (в районе Омска и Тюмени соответственно), в то время как вдоль Оби он повсеместно распространен к югу от Томска (56° с. ш.). На юге границы распространения обоих подвидов, по-видимому, приблизительно совпадает (Курчева, 1977; Всеволодова-Перель, 1997; Бессолицына, 2012).

E. n. pallida пока изучен гораздо хуже, чем номинативный подвид. В недавно опубликованной работе исследованная выборка образцов данного подвида из 18 точек (рис. 2) разделена на пять филогенетических линий, которые были также пронумерованы нами как линии 1–5 независимо от линий *E. n. nordenskioldi* с тем же номером (Shekhovtsov et al., 2016c). Их географическое распространение показано на рис. 1. Хотя количество точек пока невелико, уже можно предположить, что линия 1 широко распространена и, вероятно, захватывает значительную часть Восточной Сибири. Линии 2 и 3 приурочены к горной системе Сихотэ-Алинь и прилегающим территориям, линия 4 найдена только в окрестностях Олёкминска (Якутия), а линия 5 – в Казахстане.

Филогенетическая линия 1 *E. n. pallida* выбивается из картины, характерной для остальных линий *E. nordenskioldi*.

Последние характеризуются большими генетическими расстояниями внутри популяций, тогда как у представителей линии 1 *E. n. pallida* обнаружен лишь один гаплотип *cox1*, несмотря на большие географические расстояния между обследованными популяциями (см. рис. 2). Генетическое разнообразие по ядерным последовательностям также было меньше, чем у других филогенетических линий *E. nordenskioldi*. Здесь следует добавить, что наименьшее генетическое разнообразие обычно отмечают у широко распространенных космополитных видов, популяции которых обычно имеют малое число особей-основателей. Однако настолько низкого генетического разнообразия не имеют даже филогенетические линии широко распространенных космополитных видов (например, Cameron et al., 2008; Fernández et al., 2011a, 2013; Porco et al., 2013; Shekhovtsov et al., 2014a, 2016b). Это заставляет предположить, что линия 1 – космополитная, расселилась по территории Сибири и Дальнего Востока, по-видимому, в результате деятельности человека, и подтверждается тем, что собранные черви были приурочены к антропогенным местообитаниям: в Хакасии, Якутии и Магадане они найдены на огородах, в Архаре – на заросшей лесом свалке, а на Камчатке – в роще, часто посещаемой людьми. Кроме того, в окрестностях Магадана *E. n. pallida* обычен на огородах, но отсутствует здесь, как и в континентальных районах Магаданской области в природных биотопах.

Высокая холодоустойчивость позволяет линии 1 *E. n. pallida* переживать суровые зимы: черви с огородов окрестностей Магадана выдерживают до -28°C , их коконы – до -23°C . Благодаря столь высокой холодоустойчивости она занимает на изучаемой территории экологическую нишу, аналогичную в более теплых условиях нише европейского космополита *Aporrectodea caliginosa*, особи которого выдерживают охлаждение лишь до -5°C (коконы до -15°C).

В горной системе Сихотэ-Алинь и на прилегающих равнинных территориях мы обнаружили митохондриальные

линии 2 и 3. Сихотэ-Алинь относится к Маньчжурскому субрегиону Палеарктики, в то время как остальная часть ареала *E. n. pallida* – к Сибирскому субрегиону (Wallace, 1876). Фауны дождевых червей этих субрегионов сильно различаются (Всеволодова-Перель, 1997).

На филогенетическом дереве, построенном по митохондриальному гену *cox1*, эти линии значительно отстоят друг от друга (средние нуклеотидные расстояния между ветвями, вычисленные при помощи матрицы Kimura-2-parameter, составляют 24.2 %) (Shekhovtsov et al., 2016c). Однако на филогенетическом дереве, построенном по последовательностям ядерных рибосомальных спейсеров ITS2, они относятся к одной ветви. Как уже упоминалось, такие случаи нередки у дождевых червей.

Линия 2 *E. n. pallida*, так же как и представители линии 1, часто обнаруживается и в природных ландшафтах, и на сельскохозяйственных землях, причем в последнем случае зачастую вместе с космополитом *A. caliginosa* (линия 3 найдена пока только в лесах). Сказанное подтверждает сообщение (Всеволодова-Перель, Лейрих, 2014) о том, что этот подвид в Приморье адаптировался к жизни в синантропных местообитаниях.

Черви *E. n. pallida* митохондриальной филогенетической линии 4 найдены только вблизи г. Олёминск. Пока мы можем лишь предполагать, что ареал этой вполне устойчивой к холоду линии не слишком велик, так как она не была обнаружена в других точках нашей выборки.

E. n. pallida распространена и в Казахстане (Всеволодова-Перель, 1997; Abukenova, 2010). Червей этого подвида из Центральной и Восточного Казахстана мы отнесли к линии 5. На филогенетическом дереве, построенном по ядерным последовательностям, линия не вошла в группу линий *E. n. pallida* и *E. n. nordenskioldi* (Shekhovtsov et al., 2016c). Более того, последовательности филогенетической линии 5 оказались очень близки к неидентифицированному образцу Lumbricidae sp. из центральной Венгрии. Это весьма неожиданно, так как в Венгрии не встречаются ни *E. n. nordenskioldi*, ни *E. n. pallida*. Поэтому можно предположить, что казахстанская *E. n. pallida* – некий европейский вид, отличный от комплекса *E. nordenskioldi*.

Кроме того, в работу (Shekhovtsov et al., 2016c) не вошли образцы из Западной Сибири: с Салаирского кряжа и горных хребтов Алтая. По предварительным данным, в них обнаружено как минимум еще три линии *E. n. pallida*. Одна из них была ошибочно описана нами (Shekhovtsov et al., 2013) как *A. rosea* (диагнозы видов перекрываются; при положении пояса с 27-го по 33-й сегменты они отличаются только формой нефридных пузырей и расположением спинной поры, что не всегда можно увидеть в спиртовых плохо сохранившихся препаратах). Однако, как было сказано выше, ситуация с образцами *E. nordenskioldi* с Алтая и Салаира весьма сложна, и потому мы пока не квалифицируем их как новые линии этого вида.

Следует упомянуть данные, приведенные в недавней статье Y. Hong и C. Suzudi (2016). Авторы описали последовательности *cox1* *E. n. pallida* из Южной Кореи. Они не имеют близкого сходства ни с одной линией *E. nordenskioldi*. Таким образом, *E. n. pallida* отличается не меньшим генетическим разнообразием, чем номинативный подвид.

Взаимоотношения между подвидами

На филогенетическом дереве, построенном по последовательностям ITS2 вместо двух ветвей, соответствующих подвидам *E. n. nordenskioldi*, все филогенетические линии перемешаны. Воздерживаясь от окончательных выводов до получения материалов по еще нескольким ядерным генам, можно между тем предполагать, что признак пигментации мог появляться и исчезать несколько раз в ходе эволюции комплекса *E. nordenskioldi*. В пользу этого говорят случаи, когда пигментация у червей *E. n. nordenskioldi* не выражена либо наоборот особи *E. n. pallida* имеют заметную пигментацию. В качестве примера последнего можно привести червей линии 1 *E. n. pallida* с Камчатки, которые имели светло-бурую окраску на переднем конце тела. Кроме того, по сообщениям D. Porco, среди непигментированных особей *E. n. pallida* с огородов окрестностей Магадана им были найдены представители линии 9 *E. n. nordenskioldi*. Еще один пример приведен в разделе «Восточная Сибирь».

В работе Т.С. Всеволодовой-Перель и А.Н. Лейрих (2014) сообщается, что *E. n. pallida* имеет диплоидный набор хромосом ($2n = 36$), а *E. n. nordenskioldi* – полиплоидный. Из этого следует, что *E. n. pallida* – изначальная форма, от которой путем полиплоидизации произошли пигментированные формы, возможно, несколько раз и независимо друг от друга. Нам кажется, что такое утверждение нельзя считать доказанным, так как кариотипы имеются только для небольшого ряда популяций (относящихся, соответственно, только к нескольким филогенетическим линиям из известных нам). Кроме того, по предварительным данным (К. Задесенец, неопубл.), *E. n. pallida* линии 1 из Магадана – тетраплоид.

Потребуется дальнейшие исследования, чтобы прояснить эволюцию всего комплекса филогенетических линий *E. nordenskioldi*.

Как устроен комплекс *E. nordenskioldi*?

Пока мы только начинаем понимать структуру комплекса *E. nordenskioldi*. Сейчас она более или менее полно описана лишь на уровне митохондриальных линий. Этот уровень весьма полезен, поскольку позволяет сделать некоторые предварительные выводы. Можно уже говорить о том, что почти каждая филогенетическая линия имеет региональную приуроченность, причем большинство из них (за исключением линий 1 обоих подвигов) не расселялись на новые территории с начала голоцена. Случаи совместного обнаружения линий, по-видимому, окажутся результатом вторичной симпатрии. Хотя и ранее было понятно, что вид *E. nordenskioldi* устроен сложно, можно сказать, что генетические различия связаны не только с плоидностью, но и с палеогеографией. Можно утверждать, что линии имели свои исходные, неперекрывающиеся ареалы, в пределах которых происходила независимая эволюция.

На данном этапе целесообразно поставить следующие вопросы, а также привести предполагаемые ответы на них: 1) подтверждаются ли различия митохондриальной ДНК на уровне ядерного генома? На основании уже полученных данных можно сказать, что в большинстве случаев ответ на этот вопрос будет положительный;

- 2) существуют ли выраженные морфологические либо экологические различия между филогенетическими линиями? Предварительные данные говорят о том, что некоторые линии отличаются и по морфологии, и по некоторым экологическим признакам. Так, например, линии 2 и 9, как, вероятно, еще и линии 1 и 3, имеют различную холодоустойчивость;
- 3) существует ли поток генов между филогенетическими линиями? Основываясь на данных, полученных на других видах дождевых червей (Dupont et al., 2011; Shekhovtsov et al., 2014b; Giska et al., 2015; Martinsson et al., 2016), вполне можно ожидать, что это так. Соответственно, стоит оценить его величину в каждом конкретном случае, когда разные линии обнаруживаются симпатрично;
- 4) каковы филогенетические отношения между филогенетическими линиями внутри вида? Ответ на данный вопрос потребует анализа филогении на основании нескольких ядерных генов. Подобный анализ в нашем случае затруднен в связи с тем, что многие филогенетические линии, по-видимому, являются полиплоидами. Полученные предварительные данные (см. раздел «*E. n. pallida*») свидетельствуют о том, что деление вида на подвиды по признаку присутствия пигмента может не соответствовать его филогении. В таком случае можно предполагать, что в ходе эволюции несколько раз происходили потеря и приобретение пигментации, а также смена горизонта обитания, пищевой специализации, т. е. жизненной формы.
- Если в ходе предлагаемого филогенетического анализа ядерных генов будет показано, что вид действительно разделяется на взаимно монофилетичные группы, возникнут основания для пересмотра его систематики.

Неразрешенным остается вопрос с видом *E. atlavinyteae*. Скорее всего, под ним кроется несколько уже известных нам линий *E. nordenskioldi*. Это явно не одна линия, так как ареалы ни одной из филогенетических линий не соответствуют обширному ареалу *E. atlavinyteae*. Кроме того, большое число обнаруженных промежуточных морфологических форм между *E. atlavinyteae* и *E. nordenskioldi* не позволило нам до сих пор собрать коллекцию червей ряда несомненных популяций *E. atlavinyteae*, необходимую для уверенных выводов.

Реальная картина может оказаться еще сложнее. На других видах дождевых червей показано, что зачастую филогенетические линии могут быть практически полностью репродуктивно изолированы довольно длительное время, однако редкие межлинейные скрещивания приводят к небольшому потоку генов, который может быть детектирован современными методами молекулярной генетики (Dupont et al., 2011; Shekhovtsov et al., 2014b; Giska et al., 2015; и др.), а важнейшие признаки (например, наличие/утрата мужского полового аппарата) могут быть в разном состоянии у разных популяций одного вида (Fernández et al., 2011b).

Таким образом, на уровне ДНК *E. nordenskioldi* представляет собой комплекс филогенетических линий, дивергировавших более миллиона лет назад и полностью или частично изолированных репродуктивно. Тем не менее

пока не удастся привести изученные линии к однозначному соответствию «одна филогенетическая линия – одна раса определенной ploidy – комплекс морфологических отличий (положение пояса и т. д.)». Скорее всего, отношения между этими признаками более сложные, а морфологическим признакам свойственна определенная лабильность.

Благодарности

Работа поддержана бюджетным финансированием по государственному заданию (проект № 0324-2016-0003), грантом Президента Российской Федерации МК-6685. 2015.4 и грантом РФФИ 14-04-01121_a.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Список литературы

- Берман Д.И., Булахова Н.А., Мещерякова Е.Н. Холодоустойчивость и ареал дождевого червя *Eisenia sibirica* (Oligochaeta, Lumbricidae). Сиб. экол. журн. 2016;9:56-64.
- Берман Д.И., Мещерякова Е.Н. Ареалы и холодоустойчивость двух подвидов дождевого червя *Eisenia nordenskioldi* (Lumbricidae, Oligochaeta). Зоол. журн. 2013;92:771-780. DOI 10.7868/S0044513413070039.
- Бессолицына Е.П. Эколого-географические закономерности распределения дождевых червей (Oligochaeta, Lumbricidae) в ландшафтах юга Средней Сибири. Экология. 2012;1:70-73.
- Булатова Н.Ш., Графодатский А.С., Перель Т.С. О постоянстве хромосомного набора у полиплоидных дождевых червей (на примере *Eisenia nordenskioldi*). Генетика. 1987;23:571-574.
- Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви России: кадастр и определитель. М.: Наука, 1997.
- Всеволодова-Перель Т.С., Булатова Н.Ш. Полиплоидные расы дождевых червей (Lumbricidae, Oligochaeta), распространенные в пределах Восточно-Европейской равнины и в Сибири. Изв. РАН. Сер. биол. 2008;4:448-452.
- Всеволодова-Перель Т.С., Лейрих А.Н. Распространение и экология дождевого червя *Eisenia nordenskioldi pallida* (Oligochaeta, Lumbricidae), массового на юге Сибири и Дальнего Востока. Зоол. журн. 2014;93:45-52.
- Графодатский А.С., Перель Т.С., Раджабли С.И. Хромосомные наборы двух форм *Eisenia nordenskioldi* (Eisen.) (Oligochaeta, Lumbricidae). Докл. Акад. наук СССР. 1982;262:1514-1516.
- Жуков О.В., Пахомов О.С., Кунах О.М. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Дошові черв'яки (Lumbricidae). Дніпропетровск. Вид-во Дніпропетр. Нац. Ун-ту, 2007.
- Курчева Г.Ф. Почвенные беспозвоночные советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1977.
- Малевиц И.И. К познанию дождевых червей Дальнего Востока. Ученые записки МГПИ им. В.П. Потемкина. 1956;61:439-449.
- Малинина Т.В., Перель Т.С. Характеристика хромосомных рас *Eisenia nordenskioldi* (Oligochaeta, Lumbricidae) с использованием биохимических маркеров. Докл. Акад. наук СССР. 1984;279:1265-1269.
- Мещерякова Е.Н., Берман Д.И. Устойчивость к отрицательным температурам и географическое распространение дождевых червей (Oligochaeta, Lumbricidae, Moniligastridae). Зоол. журн. 2013;93:53-64.
- Перель Т.С. Распространение и закономерности распределения дождевых червей фауны СССР. М.: Наука, 1979.
- Перель Т.С. Географические особенности размножения дождевых червей сем. Lumbricidae (Oligochaeta). Зоол. журн. 1982;43:649-658.
- Перель Т.С. Дождевые черви в лесах Западного Саяна (с описанием нового вида). Зоол. журн. 1994;73:18-22.

- Пышкин В.Б., Евстафьев А.И., Громенко В.М., Рыбка Т.С. Биоразнообразие и функциональная роль лумбрицид (Oligochaeta: Lumbricidae) в наземных экосистемах Крыма. Zoocenosis Біо-різноманіття та роль зооценозу в природних і антропогенних екосистемах: матеріали III Міжнародної наукової конференції. Днепропетровск: Вид-во ДНУ, 2005;209-211.
- Abukenova V.S. Earthworm fauna of Kazakh upland. Zoology in the Middle East. 2010;51:161-169. DOI 10.1080/09397140.2010.10638469.
- Blakemore R.J. Earthworms newly from Mongolia (Oligochaeta, Lumbricidae, *Eisenia*). ZooKeys. 2013;285:1-21. DOI 10.3897/zookeys.285.4502.
- Cameron E.K., Bayne E.M., Coltman D.W. Genetic structure of invasive earthworms *Dendrobaena octaedra* in the boreal forest of Alberta: insights into introduction mechanisms. Mol. Ecol. 2008;17:1189-1197. DOI 10.1111/j.1365-294X.2007.03603.x.
- Dubatolov V.V., Kosterin O.E. Nemoral species of Lepidoptera (Insecta) in Siberia: a novel view on their history and the timing of their disjunctions. Entomologica Fennica. 2000;11:141-166.
- Dupont L., Lazrek F., Porco D., King R.A., Rougerie R., Symondson W.O.C., Livet A., Richard B., Decaëns T., Butt K.R., Mathieu J. New insight into the genetic structure of the *Allolobophora chlorotica* aggregate in Europe using microsatellite and mitochondrial data. Pedobiologia. 2011;54:217-224. DOI 10.1016/j.pedobi.2011.03.004.
- Eisen G. On the Oligochaeta collected during the Swedish Expeditions to the Arctic regions in the years 1870, 1875 and 1876. Kongl. Sv. Vetensk. Akad. Handl. 1879;15:1-49.
- Fernández R., Almodóvar A., Novo M., Gutiérrez M., Díaz Cosín D.J. A vagrant clone in a peregrine species: Phylogeography, high clonal diversity and geographical distribution in the earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828). Soil Biol. Biochem. 2011a;43:2085-2093. DOI 10.1016/j.soilbio.2011.06.007.
- Fernández R., Almodóvar A., Novo M., Gutiérrez M., Díaz Cosín D.J. Earthworms, good indicators for palaeogeographical studies? Testing the genetic structure and demographic history in the peregrine earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828) in southern Europe. Soil Biol. Biochem. 2013;58:127-135. DOI 10.1016/j.soilbio.2012.10.021.
- Fernández R., Bergmann P., Almodóvar A., Cosín D.J.D., Heethoff M. Ultrastructural and molecular insights into three populations of *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828) (Oligochaeta, Lumbricidae) with different reproductive modes. Pedobiologia. 2011b;54:281-290. DOI 10.1016/j.pedobi.2011.04.003.
- Fernández R., Novo M., Marchán D.F., Díaz Cosín D.J. Diversification patterns in cosmopolitan earthworms: similar mode but different tempo. Mol. Phylogenet. Evol. 2015;94:701-708. DOI 10.1016/j.ympev.2015.07.017.
- Giska I., Sechi P., Babik W. Deeply divergent sympatric mitochondrial lineages of the earthworm *Lumbricus rubellus* are not reproductively isolated. BMC Evol. Biol. 2015;15:217. DOI 10.1186/s12862-015-0488-9.
- Heethoff M., Etzold K., Scheu S. Mitochondrial COII sequences indicate that the parthenogenetic earthworm *Octolasion tyraeum* (Savigny, 1826) constitutes of two lineages differing in body size and genotype. Pedobiologia. 2004;48:9-13. DOI 10.1016/j.pedobi.2003.04.001.
- Hong Y., Csuzdi C. New data to the earthworm fauna of the Korean Peninsula with redescription of *Eisenia koreana* (Zicsi) and remarks on the *Eisenia nordenskioldi* species group (Oligochaeta, Lumbricidae). Zoological Studies. 2016;55:12. DOI 10.6620/zs.2016.55-12.
- Kashmenskaya M.N., Polyakov A.V. Karyotype analysis of five species of earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae). Comp. Cytogenet. 2008;2:121-125.
- King R.A., Tibble A.L., Symondson W.O.C. Opening a can of worms: unprecedented sympatric cryptic diversity within British lumbricid earthworms. Mol. Ecol. 2008;17(21):4684-4698. DOI 10.1111/j.1365-294X.2008.03931.x.
- Kobayashi S. Terrestrial Oligochaeta from Manchoukuo. The Science Reports of the Tohoku Imperial University. IV Series. 1940;15:256-261.
- Martinsson S., Rhodén C., Erséus C. Barcoding gap, but no support for cryptic speciation in the earthworm *Aporrectodea longa* (Clitellata: Lumbricidae). Mitochondrial DNA. 2016. DOI 10.3109/19401736.2015.1115487.
- Perel T.S. Die Regenwürmer (Lumbricidae) des Gebirgigen Mittelasiens. Pedobiologia. 1969;9:55-68.
- Perel T.S. The nature of eurytopy of polyploid earthworm species in relation to their use in biological soil amelioration. Biol. Fert. Soils. 1987;3:103-105.
- Pérez-Losada M., Eiroa J., Mato S., Domínguez J. Phylogenetic species delimitation of the earthworms *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* Bouché, 1972 (Oligochaeta, Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Pedobiologia. 2005;49:317-324. DOI 10.1016/j.pedobi.2005.02.004.
- Pérez-Losada M., Ricoy M., Marshall J.C., Domínguez J. Phylogenetic assessment of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* species complex (Oligochaeta: Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 2009;52:293-302. DOI 10.1016/j.ympev.2009.04.003.
- Porco D., Decaëns T., Deharveng L., James S.W., Skarzynski D., Erséus C., Butt K.R., Richard B., Hebert P.D.N. Biological invasions in soil: DNA barcoding as a monitoring tool in a multiple taxa survey targeting European earthworms and springtails in North America. Biol. Invasions. 2013;15:899-910. DOI 10.1007/s10530-012-0338-2.
- Shekhovtsov S.V., Berman D.I., Peltek S.E. Phylogeography of the earthworm *Eisenia nordenskioldi nordenskioldi* (Lumbricidae, Oligochaeta) in Northeastern Eurasia. Dokl. Biol. Sci. 2015;461:1-4. DOI 10.1134/S0012496615020039.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Cryptic diversity within the Nordenskiöld's earthworm, *Eisenia nordenskioldi* subsp. *nordenskioldi* (Lumbricidae, Annelida). Eur. J. Soil Biol. 2013;58:13-18. DOI 10.1016/j.ejsobi.2013.05.004.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Genetic diversity of the earthworm *Octolasion tyraeum* (Lumbricidae, Annelida). Pedobiologia. 2014a;57:245-250. DOI 10.1016/j.pedobi.2014.09.002.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Invasive lumbricid earthworms of Kamchatka (Oligochaeta). Zoological Studies. 2014b;53:52. DOI 10.1186/s40555-014-0052-0.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Mitochondrial DNA variation in *Eisenia n. nordenskioldi* (Lumbricidae) in Europe and Southern Urals. Mitochondrial DNA. 2016a. DOI 10.3109/19401736.2015.1101594.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Different dispersal histories of lineages of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* (Lumbricidae, Annelida) in the Palearctic. Biol. Invasions. 2016b;18:751-761. DOI 10.1007/s10530-015-1045-6.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Cryptic genetic lineages in *Eisenia nordenskioldi pallida* (Oligochaeta, Lumbricidae). Eur. J. Soil Biol. 2016c;75:151-156. DOI 10.1016/j.ejsobi.2016.06.004.
- Viktorov A.G. Diversity of polyploid races in the family Lumbricidae. Soil Biol. Biochem. 1997;29:217-221.
- Wallace A.R. The Geographical Distribution of Animals. N. Y.: Harper and Brothers, 1876.
- Zicsi A. *Eiseniella koreana*, eine neue Regenwurm-Art (Oligochaeta: Lumbricidae). Ann. Hist.-Nat. Mus. Nat. Hung. 1972;64:129-132.