

## Морфотипы и генетическая изменчивость *Dendrobaena schmidti* (Lumbricidae, Annelida)

С.В. Шеховцов<sup>1, 2, 3</sup>✉, И.Б. Рапопорт<sup>4</sup>, Т.В. Полубаярова<sup>1, 2</sup>, А.П. Гераскина<sup>5</sup>, Е.В. Голованова<sup>6</sup>, С.Е. Пельтек<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук, Магадан, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

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

<sup>5</sup> Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>6</sup> Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия

✉ e-mail: shekhovtsov@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** *Dendrobaena schmidti* – полиморфный вид дождевых червей, обитающий на Кавказе и в сопредельных регионах. Особи *D. schmidti* отличаются большим диапазоном размеров (от 1.5 до 10 см и более) и пигментации (от интенсивной пурпурово-фиолетовой окраски до полного ее отсутствия). В связи с этим исследователями описано множество подвидов *D. schmidti*, правомерность выделения большинства из которых в настоящее время оспаривается. В настоящей работе нами изучена генетическая изменчивость выборки *D. schmidti* из семи точек Северо-Западного Кавказа с использованием митохондриальной (фрагмент гена цитохромоксидазы I) и ядерной (внутренний рибосомальный транскрибируемый спейсер 2) ДНК. По обоим маркерам выборка разделилась на две группы. В первую вошли более крупные (3–7.5 см) черви, непигментированные или со слабо выраженной на передней половине тела окраской у зафиксированных в спирте особей. Вторую группу представляли только мелкие (1.7–3.5 см) особи с выраженной пурпурной пигментацией (тоже у фиксированных в спирте образцов). В одной из изученных географических точек обе группы сосуществовали в симпатрии. При этом абсолютных различий между данными видами ни по внешнему виду (пигментированные/непигментированные, мелкие/крупные), ни по диагностическим признакам установить не удалось: хотя выборки особей первой и второй групп различались по размеру (в первой группе большинство особей имело длину 5–6 см, во второй – 2–3 см), они, тем не менее, перекрывались по этому параметру. По пигментации между найденными группами также возможно заметное перекрытие, учитывая, что оценку окраски червей на практике осуществляют посмертно после фиксации, которая влияет на результаты анализа. Таким образом, на основании полученных нами данных можно заключить, что в пределах вида *D. schmidti* существуют как минимум два вида, сходных по диагностическим признакам, но различающихся внешне.

Ключевые слова: дождевые черви; *Dendrobaena schmidti*; *cox1*; ITS2; филогения.

**Для цитирования:** 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

## Morphotypes and genetic diversity of *Dendrobaena schmidti* (Lumbricidae, Annelida)

S.V. Shekhovtsov<sup>1, 2, 3</sup>✉, I.B. Rapoport<sup>4</sup>, T.V. Poluboyarova<sup>1, 2</sup>, A.P. Geraskina<sup>5</sup>, E.V. Golovanova<sup>6</sup>, S.E. Peltek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Institute of Biological Problems of the North of Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Magadan, Russia

<sup>3</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

<sup>4</sup> Tembotov Institute of Ecology of Mountain Territories of the Russian Academy of Sciences, Nalchik, Russia

<sup>5</sup> Center for Forest Ecology and Productivity of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>6</sup> Omsk State Paedagogical University, Omsk, Russia

✉ e-mail: shekhovtsov@bionet.nsc.ru

**Abstract.** *Dendrobaena schmidti* (Michaelsen, 1907) is a polymorphic earthworm species from the Caucasus and adjacent regions. Adult *D. schmidti* individuals have highly variable body size (from 1.5 to well over 10 cm) and color (from dark purple to total lack of pigmentation), so a lot of subspecies of *D. schmidti* have been described; however, the existence of most of them is currently under dispute. We studied the genetic diversity of *D. schmidti* from seven locations from the Western Caucasus using mitochondrial (a fragment of the cytochrome oxidase I gene) and nuclear (internal ribosomal transcribed spacer 2) DNA. For both genes studied, we found that our sample was split into two groups. The first group included somewhat bigger (3–7.5 cm) individuals that were only slightly pigmented or totally unpigmented (when fixed by ethanol). The second group contained small (1.7–3.5 cm) specimens with dark

purple pigmentation. In one of the studied locations these two groups were found in sympatry. However, there were no absolute differences either in general appearance (pigmented/unpigmented, small/big) or among diagnostic characters. Although the two groups differed in size (the majority of individuals from the first group were 5–6 cm long, and of the second one, 2–3 cm), the studied samples overlapped to a certain degree. Pigmentation, despite apparent differences, was also unreliable, since it was heavily affected by fixation of the specimens. Thus, based on the obtained data we can conclude that *D. schmidti* consists of at least two species that have identical states of diagnostic characters, but differ in general appearance.

Key words: earthworms; *Dendrobaena schmidti*; *cox1*; ITS2; phylogeny.

**For citation:** 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 Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2020;24(1):48–54. DOI 10.18699/VJ20.594

## Введение

Среди всего разнообразия кольчатых червей дождевые черви изучены, пожалуй, наиболее хорошо и полно. Это связано с их важной ролью не только в почвах и почвообразовании, но и во многих наземных экосистемах в целом, а также с тем, что из всех кольчатых они представляют собой наиболее доступную для изучения группу. Оценки видового разнообразия фауны дождевых червей в отдельном регионе и принципы разделения видов у разных исследователей могут различаться. Причины этого – малое количество морфологических признаков при их большой внутривидовой изменчивости, нередко перекрывающей межвидовые различия; неприменимость биологической концепции вида в случае партеногенетических популяций и практическая сложность ее проверки в случае амфимиктических популяций.

Центральные морфологические видовые признаки дождевых червей – положение пояса и пубертатных валиков (Перель, 1979; Всеволодова-Перель, 1997). При этом иногда в одном районе и даже в одном биотопе могут встречаться особи, которые по этим признакам относятся к одному виду, но существенно различаются размерами и окраской. Интересный пример морфологического полиморфизма такого рода – *Dendrobaena schmidti* (Michaelsen, 1907), кавказский эндемик, который во многих биотопах является доминантным видом. Для этого вида Михаэльсен отметил существование пурпурных и неокрашенных форм и описал две из них как *D. schmidti* forma *surbienensis* и *D. schmidti* forma *montana* (Michaelsen, 1907). Широко варьируют и размеры тела (от 35 до 160 мм), причем разные формы часто встречаются симпатрично. В 1966 г. непигментированные особи, у которых начало пояса сдвинуто к головному концу тела на один сегмент, были выделены из *D. schmidti* как партеногенетический подвид *D. schmidti tellermanica* (Перель, 1966). Оказалось, что данный подвид имеет гораздо больший ареал, чем пигментированная форма, и встречается далеко за пределами Кавказа. Впоследствии были найдены популяции *D. schmidti tellermanica* со зрелыми сперматозоидами и сперматофорами, в связи с чем в 2003 г. он вынесен в отдельный вид *D. tellermanica* (Всеволодова-Перель, 2003).

Э.Ш. Квавадзе (1985) разделил *D. schmidti* на восемь подвидов: ранее существовавшие *D. schmidti schmidti* и *D. schmidti tellermanica*; описанные Михаэльсеном *D. schmidti surbienensis* и *D. schmidti montana*; и четыре новых подвида – *D. schmidti colchica*, *D. schmidti marinae*, *D. schmidti malevichi* и *D. schmidti jaloniensis*. Основами для разделения послужили изменчивость в

окраске, различия в положении пубертатных бугорков (которые могли объясняться разной стадией жизненного цикла исследованных особей), отверстий семяприемников относительно щетинок *d* и в количестве пар семенных пузырьков, а впоследствии – форма двигательных и половых щетинок, установленная при помощи сканирующей электронной микроскопии (Квавадзе, 1985; Kvavadze et al., 2007). Правомерность выделения этих подвидов оспаривалась, так как различие в диагнозах было весьма небольшим, за исключением окраски и количества пар семенных пузырьков (Всеволодова-Перель, 2003). К спорным родственным таксонам можно отнести и вид *Dendrobaena baksanensis* Pizl, 1984, описанный по образцам из Баксанского ущелья. Однако более поздними исследователями этот вид в данной точке не был обнаружен.

И. Рапопорт (Rapoport, 2009) разделила *D. schmidti* на три морфологические формы: подстилочную, почвенно-подстилочную и почвенную. Различия в условиях обитания этих форм отражаются в их размерах, окраске и форме тела и времени ответной реакции на раздражение. Кроме того, некоторые различия отмечены и по положению щетинок пучка *ab* на папиллах.

Таким образом, в настоящее время не существует общепринятого разделения *D. schmidti sensu lato* на более мелкие таксоны (за исключением *D. tellermanica*), так как их разграничение затруднено отсутствием четких морфологических отличий и возможной географической изменчивостью: результаты разных авторов зависят от изученной популяции и использованных методов. Т.С. Перель (1982) предположила, что различия между формами, возможно, обусловлены разной пloidностью. В то же время, по данным Н. Бахтадзе с соавторами (Bakhtadze et al., 2003, 2005, 2008), число хромосом у разных подвидов *D. schmidti* одинаково ( $2n = 36$ ), тогда как *D. tellermanica* является тетраплоидом ( $4n = 72$ ).

Важнейшим дополнительным методом в систематике давно стал анализ последовательностей ДНК. Они универсальны и лучше отражают филогению, чем признаки, выявляемые методами цитогенетики, хемосистематики или электронной микроскопии. Особенно справедливо это в отношении дождевых червей, для которых было показано и описано очень большое скрытое генетическое разнообразие (King et al., 2008; Pérez-Losada et al., 2009; Shekhovtsov et al., 2016b, 2019). В этой работе мы исследовали генетическое разнообразие особей *D. schmidti*, различающихся размерами и окраской, из нескольких популяций Западного Кавказа.



Рис. 1. Точки сбора образцов. Номера точек соответствуют номерам в таблице.

## Материалы и методы

Образцы *D. schmidti* были собраны в семи точках на Западном Кавказе (рис. 1, см. таблицу). Морфологическое определение проводили по ключу Всеволодовой-Перель (1997). С хвостового конца каждой особи был вырезан фрагмент ткани массой 10–50 мкг таким образом, чтобы сохранялась возможность проводить морфологическое определение, измерение длины тела и количества сегментов. Геномную ДНК выделяли на колонках фирмы «БиоСилика»

(Новосибирск) в соответствии с рекомендациями изготовителя.

Для амплификации фрагмента митохондриального гена *cox1* использовали универсальные праймеры HCO2198 (5'-TAAAC-TTCAG-GGTGA-CCAAA-AAATC-A-3') и LCO1490m (5'-ТАСТС-ААСАА-АТСАС-ААА GA-TATTG-G-3') (Folmer et al., 1994; Shekhovtsov et al., 2013). Смесь для амплификации содержала 1.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 65 мМ Tris-HCl (pH 8.8), 16 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.05 % Tween-20, 0.2 мМ смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов, 0.3 мМ праймеров и 1 ед. рекомбинантной полимеразы TaqSE («Сибэнзим», Новосибирск).

Фрагмент рибосомальной ДНК, содержащий последовательность внутреннего транскрибируемого спейсера 2 (ITS2) и фрагменты фланкирующих генов 5,8S и 28S рРНК, нарабатывали при помощи универсальных праймеров E28S-2 (5'-CC(G/T)CT-TCACT-CGCCG-TTA-3') и E58S-F1 (5'-ATCAC-TGGGT-TCGTG-CGT-3') (Shekhovtsov et al., 2016a). В смесь

### Исследованная выборка *D. schmidti*

Точка	Место сбора	N	Длина × ширина (см)	Окраска
Группа I				
1	Хоста	2	5.1 × 0.5 6.4 × 0.8	Не пигментированы
2	Солохаул	3	7.5 × 0.8 7.0 × 0.7 –	Буроватая пигментация на дорзальной части передней половины тела
		1	–	Не пигментированы
3	Гуамское ущелье	3	5.1 × 0.5 5.1 × 0.5 5.3 × 0.5	Буроватая пигментация на дорзальной части передней половины тела
		1	5.1 × 0.5	Не пигментирован
5	Уруп	1	2.9 × 0.6	Не пигментирован
6	Преградная	4	7.0 × 0.6 4.8 × 0.5 5.3 × 0.5 3.6 × 0.5	Слабо пигментированы до пояса Не пигментированы
7	Эльбрусский	2	5.4 × 0.7 5.5 × 0.7	Пурпурная пигментация до пояса
Группа II				
1	Хоста	2	2.9 × 0.2 2.1 × 0.2	Выраженная пурпурная пигментация на передней половине тела, заходит и на вентральную часть
		1	2.5 × 0.2	Полностью пурпурная пигментация до хвоста
4	Мезмай	4	1.7 × 0.2 3.5 × 0.2 2.6 × 0.2 2.2 × 2.0	Полностью пурпурная пигментация до хвоста

Примечание. Номера точек сбора соответствуют номерам на рис. 1. N – число особей; прочерк – червь был оборван, поэтому длина не указана.



для амплификации был добавлен 5 % ДМСО, необходимый для разрушения стабильных вторичных структур, образуемых этим фрагментом ДНК.

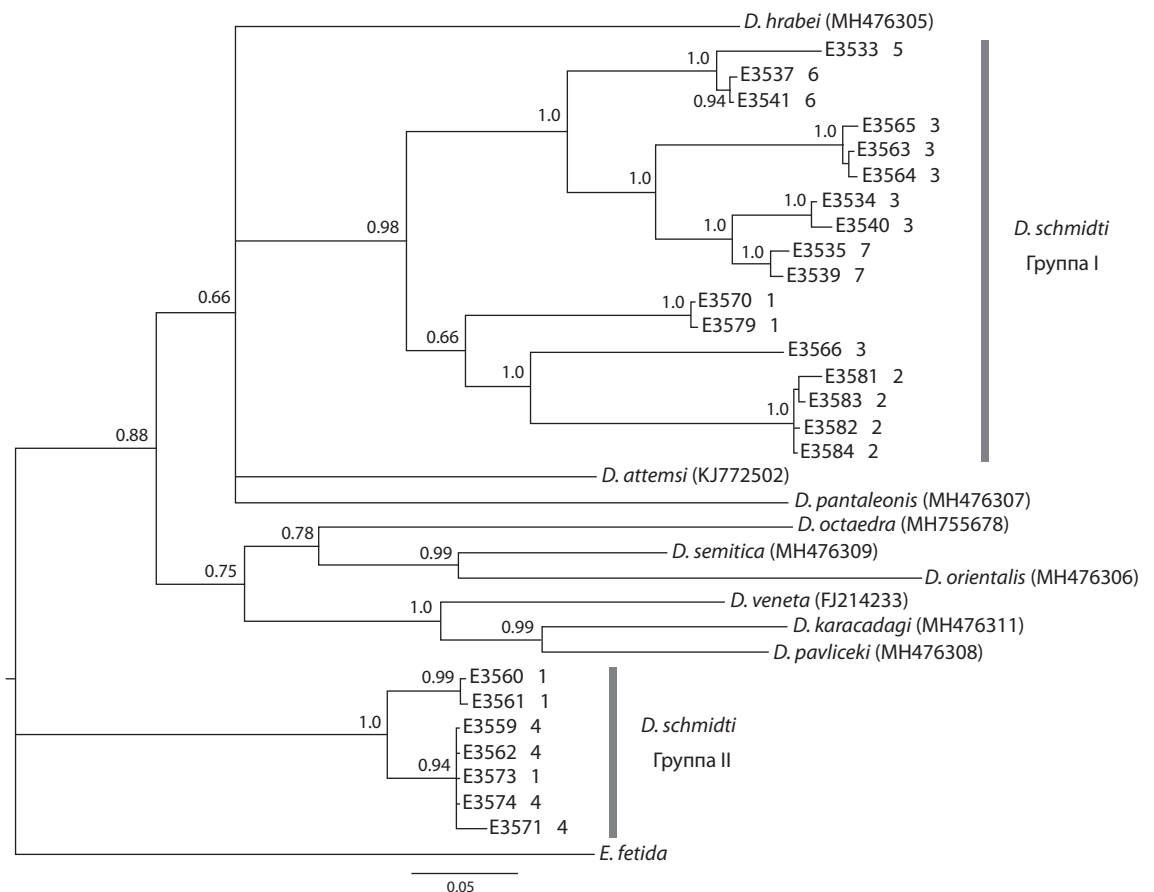
Образцы секвенировали по методу Сэнгера при помощи набора BigDye 3.1 (Applied Biosystems, США). Капиллярный электрофорез полученных продуктов проведен в Межинститутском центре секвенирования СО РАН. Обработку и редактирование секвенограмм выполняли в программе Chromas (Technelysium Pty Ltd). Полученные последовательности были депонированы в базу данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) под номерами MN340181–MN340200, MN340202–MN340205 (*cox1*) и MN340207–MN340230 (ITS2). Выравнивание последовательностей проводили при помощи программы Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Филогенетические деревья строили байесовским методом в программе MrBayes v.3.2.6 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003). В качестве внешних групп использовали последовательности из базы данных GenBank, относящиеся к различным видам рода *Dendrobaena*; для *cox1*: *D. octaedra* (MH755678), *D. attemsi* (KJ772502), *D. veneta* (FJ214233), *D. karacadagi* (MH476311), *D. semitica* (MH476309), *D. pavlicecki* (MH476308), *D. pantaleonis* (MH476307), *D. orientalis* (MH476306), *D. hrabei* (MH476305); для ITS2: *D. octaedra* (KX651399), *D. byblica* (KX651415), *D. attemsi* (KX651397), *D. platyura* (KT823916), *D. pen-*

*theri* (KT823915), *D. ganglbaueri* (KT823909), *D. alpina* (KX651396, MH469554), *D. pantaleonis* (MH469555), *D. orientalis* (MH469553), *D. hortensis* (MH469549), *D. semitica* (MH469552), *D. karacadagi* (MH469547), *D. veneta* (MH469546). Кроме того, мы взяли последовательности вида *Eisenia fetida* (*cox1*: JX531618; ITS2: JX531571). Для обоих маркеров программой MrModeltest v.2 (Nylander, 2004) выбрана модель замен GTR+I+G. Проведено по 10 млн реплик анализа, разделенных на две цепи; первые 25 % реплик были отброшены. После выполнения анализов значения среднееквadraticкого отклонения расщепленных частот составили менее 0.01. Узлы с апостериорными вероятностями меньше 0.5 были сведены в полиномию.

Значения критериев Стьюдента и Крамера–Уэлча вычисляли при помощи пакета программ MathPortal ([www.mathportal.org](http://www.mathportal.org)).

## Результаты

Нами получены нуклеотидные последовательности *cox1* и ITS2 для 24 половозрелых особей *D. schmidti* с выраженными половыми признаками. Все последовательности *cox1* имели идентичную длину (658 п. н.). На филогенетическом дереве образцы разбиваются на две клады, названные нами группой I и группой II (рис. 2). Обе клады характеризовались высокими значениями апостериорных



**Рис. 2.** Филогенетическое дерево, построенное по последовательностям *cox1* байесовским методом.

Здесь и на рис. 3: в узлах приведены значения апостериорных вероятностей >0.5; цифры возле OTE обозначают номера популяций, указанные в таблице и на рис. 1.

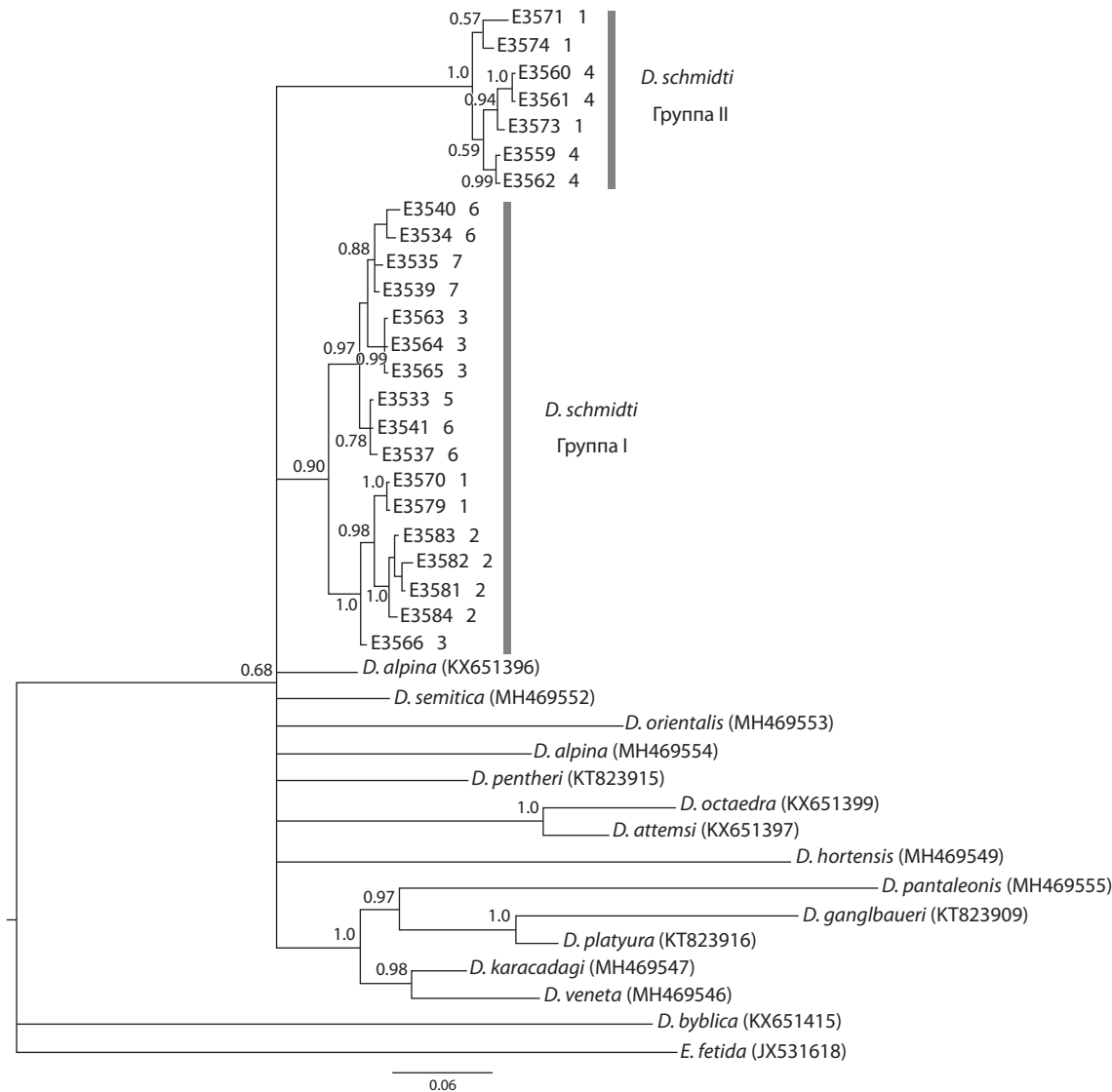


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное по последовательностям ITS2 байесовским методом.

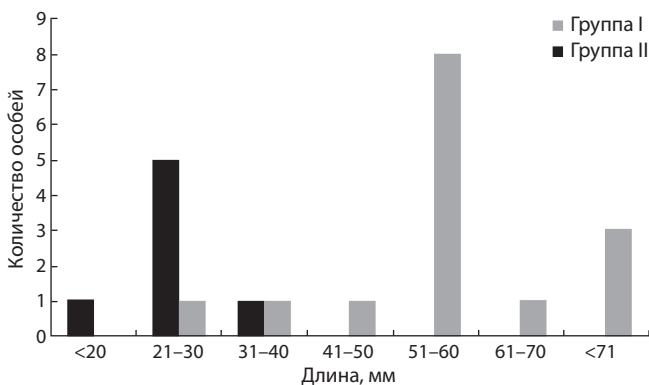


Рис. 4. Гистограмма распределения длин исследованных особей.

вероятностей. Каждая из ветвей *D. schmidti*, в свою очередь, подразделяется на ряд более мелких групп.

Длина последовательностей ITS2 варьировала в широких пределах (549–621 п. н.). Необходимо отметить,

что как гены рибосомальной РНК, так и разделяющие их транскрибируемые спейсеры обладают сложной вторичной структурой. Из-за этого их амплификация проблематична и не проходит без добавления денатурирующих агентов, например ДМСО. Но даже с его добавлением в последовательностях группы II образовывалась шпилька, из-за чего некоторые последовательности при синтезе их секвензой были укорочены и содержали внутреннюю делецию длиной около 78 нуклеотидов. В связи с этим данный участок не мог быть прочитан качественно и в полученных последовательностях нами пропущен и исключен также из выравнивания.

По последовательностям ITS2 исследованные образцы разделились на те же две группы, что и на дереве, построенном по фрагменту гена *cox1* (рис. 3). Представители обеих групп были найдены только в точке 1 (см. рис. 1).

Все изученные особи имели типичный для *D. schmidti* диагноз. Некоторые морфологические отличия наблюдались у представителей выявленных групп I и II (см.

таблицу). Группа I в основном включает в себя непигментированных и слабо пигментированных червей. В случае наличия бурой (пурпурной) окраски она доходит только до пояса, в то время как черви группы II пигментированы полностью или почти полностью, а сама окраска выражена заметно сильнее. Наблюдаются и некоторые различия в размерах тела: у большей части особей, относящихся к группе I, длина тела более 5 см, а у относящихся к группе II – менее 3 см (рис. 4). Значения критериев Стьюдента и Крамера–Уэлча для имеющихся выборок показали, что различия между ними достоверны при  $p < 0.01$ .

### Обсуждение

Систематика и морфологическая идентификация дождевых червей бывают проблематичными в тех случаях, когда в группе близкородственных видов внутривидовая изменчивость перекрывает межвидовую. Применение молекулярно-генетических методов позволило повысить надежность идентификации, однако вновь подняло проблему применения концепции вида к данной группе: внутривидовая нуклеотидная изменчивость часто бывает весьма велика (Shekhovtsov et al., 2018), что и было отмечено нами для *D. schmidti*. Это влечет за собой вопрос, где же проводить границу между потенциальными видами-двойниками. По нашему мнению, на данном этапе молекулярно-генетические данные могут быть основой для дробления вида лишь в случае его полифилии. В связи с этим можно констатировать, что в изученной нами выборке с Западного Кавказа выделяются две группы, которые следовало бы считать отдельными видами; тем не менее пока мы воздержимся от их формального описания. При этом нуклеотидная изменчивость внутри этих групп также велика, особенно в случае группы I, нуклеотидные дистанции между образцами которой по гену *cox1* выше чем, например, между видами *D. karacadagi* и *D. pavlicei* (см. рис. 2), так что потенциальное количество видов внутри *D. schmidti* может оказаться и выше.

В пользу последнего утверждения говорит и тот факт, что в рассматриваемой выборке все особи имели типичное состояние диагностических признаков, характерное для *D. s. schmidti*. Почти все описанные в литературе подвиды несколько отличаются от типового диагноза и распространены в южной части ареала, главным образом в Грузии, а следовательно, более обширная по географическому охвату выборка наверняка выявит еще более глубокое генетическое разнообразие этого комплекса.

Несмотря на отсутствие изменчивости по диагностическим признакам между группами I и II, их представители характеризуются различиями по размеру и окраске тела. Эти различия несомненны и статистически достоверны, но тем не менее перекрываются. Таким образом, дифференциация выявленных групп только по внешнему виду проблематична и может быть применена лишь для больших выборок.

### Заключение

На основании полученных данных мы пришли к заключению, что из *D. schmidti* можно выделить как минимум два отдельных вида, сходных по диагностическим признакам, но различающихся внешним видом и последова-

тельными ДНК. Выскажем предположение, что таковых видов может оказаться больше, так как нами исследована лишь малая часть обширного ареала *D. schmidti*.

### Список литературы / References

- Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви России: кадастр и определитель. М.: Наука, 1997.  
[Vsevolodova-Perel T.S. Earthworms of Russia: Inventory and Key. Moscow: Nauka Publ., 1997. (in Russian)]
- Всеволодова-Перель Т.С. Дополнение к фауне дождевых червей (Oligochaeta, Lumbricidae) Северного Кавказа. Зоол. журн. 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):275-80. (in Russian)]
- Квавадзе Э.Ш. Дождевые черви (Lumbricidae) Кавказа. Тбилиси: Мецниереба, 1985.  
[Kvavadze E.Sh. Earthworms (Lumbricidae) of the Caucasus. Tbilisi: Mezniereba Publ., 1985. (in Russian)]
- 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 Biogeocenoses. Moscow: Nauka Publ., 1966;146-165. (in Russian)]
- Перель Т.С. Распространение и закономерности распределения дождевых червей фауны СССР. М.: Наука, 1979.  
[Perel T.S. Range and Regularities in the Distribution of Earthworms of the USSR Fauna. Moscow: Nauka Publ., 1979. (in Russian)]
- Перель Т.С. Географические особенности размножения дождевых червей сем. Lumbricidae (Oligochaeta). Журн. общ. биологии. 1982;5:649-658.  
[Perel T.S. Geographical patterns of the reproduction of Lumbricidae earthworms (Oligochaeta). Zhurnal Obshchey Biologii = Journal of General Biology. 1982;5:649-658. (in Russian)]
- Bakhtadze N., Bakhtadze G., Kvavadze E. Results of karyologic investigation of *Dendrobaena (C.) marinae* Kvavadze, 1985 (Oligochaeta, Lumbricidae). Bull. Georgian Acad. Sci. 2003;167(2):315-316.
- Bakhtadze N., Bakhtadze G., Kvavadze E. The results of study of the genus *Dendrobaena* (Oligochaeta: Lumbricidae) species chromosome numbers. Bull. Georgian Acad. Sci. 2005;172(1):141-143.
- Bakhtadze N.G., Bakhtadze G.I., Kvavadze E.S. The chromosome numbers of Georgian earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae). Comp. Cytogenet. 2008;2(1):79-83.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 1994;3(5):294-299.
- 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.
- Kvavadze E., Bakhtadze N., Bakhtadze G. About validity of genus *Omodeoia* Kvavadze, 1993 (Oligochaeta, Lumbricidae). Proc. Georgian Acad. Sci. Ser. B. 2007;5:1-7.
- Michaelsen W. Die Lumbriciden des Kaukasisches Museum in Tiflis. Izv. Kavk. Mus. 1907;3:81-93.
- Nylander J.A.A. MrModeltest v2. Evol. Biol. Centre, Uppsala Univ. 2004.
- 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(2):293-302. DOI 10.1016/j.ympev.2009.04.003.
- Pizl V. *Dendrobaena baksanensis* sp. n. (Oligochaeta, Lumbricidae), a new earthworm from Caucasus, USSR. Vestn. Cesk. Spol. Zool. 1984;48(2):115-117.

- Rapoport I.B. Morpho-ecological forms of *Dendrobaena schmidti* Michaelsen, 1907 (Oligochaeta, Lumbricidae) of North Caucasus. In: Fourth International Oligochaete Taxonomy Meetings: Book of Abstracts. Diyarbakir, Turkey, 2009;39.
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic interference under mixed models. *Bioinformatics*. 2003;19:1572-1574. DOI 10.1093/bioinformatics/btg180.
- Shekhovtsov S.V., 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.* 2016a;75: 151-156. DOI 10.1016/j.ejsobi.2016.06.004.
- Shekhovtsov S.V., Berman D.I., Bulakhova N.A., Vinokurov N.N., Peltek S.E. Phylogeography of *Eisenia nordenskioldi nordenskioldi* (Lumbricidae, Oligochaeta) from the north of Asia. *Polar Biol.* 2018;41:237-247. DOI 10.1007/s00300-017-2184-2.
- Shekhovtsov S.V., Ershov N.I., Vasiliev G.N., Peltek S.E. Transcriptional analysis confirms differences among nuclear genomes of cryptic earthworm lineages living in sympatry. *BMC Evol. Biol.* 2019;19(S1):50. DOI 10.1186/s12862-019-1370-y.
- 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. Different dispersal histories of lineages of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* (Lumbricidae, Annelida) in the Palearctic. *Biol. Inv.* 2016b;18(3):751-761. DOI 10.1007/s10530-015-1045-6.

---

#### ORCID ID

S.V. Shekhovtsov orcid.org/0000-0001-5604-5601  
I.B. Rapoport orcid.org/0000-0002-6766-1482  
T.V. Poluboyarova orcid.org/0000-0002-5652-0553  
A.P. Geraskina orcid.org/0000-0002-8365-5787  
E.V. Golovanova orcid.org/0000-0003-0871-9274  
S.E. Peltek orcid.org/0000-0002-3524-0456

**Благодарности.** Авторы благодарят двух анонимных рецензентов за важные замечания. Работа поддержана РФФИ (гранты № 18-04-00961\_a и 19-04-00661\_a), а также бюджетным проектом 0324-2019-0040-С-01.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 24.07.2019. После доработки 23.08.2019. Принята к публикации 25.09.2019.