



УДК 575.86:595.143.7

## Генетическая дивергенция палеарктических макрофаговых пиявок (*Arhynchobdellida*, *Hirudinea*)

И. А. Кайгородова<sup>1</sup>, Н. В. Сорокикова<sup>1</sup>, Е. С. Бузинаев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

<sup>2</sup> Иркутский государственный университет, Иркутск

E-mail: [irina@lin.irk.ru](mailto:irina@lin.irk.ru)

**Аннотация.** Анализ 111 нуклеотидных последовательностей гена первой субъединицы митохондриальной цитохром *C* оксидазы сибирских пиявок-эрпобделлид выявил три группы, соответствующие разным морфотипам, входящим в состав вида *Erpobdella octoculata*. Показано, что интервал генетических расстояний в 7–10 % отделяет сибирских представителей от филогенетически близких палеарктических видов.

**Ключевые слова:** молекулярный анализ, *Arhynchobdellida*, Восточная Сибирь.

### **Введение**

*Erpobdellidae* – одно из малоизученных семейств непаразитических пиявок-макрофагов, обитающих в пресных водоёмах и водотоках. До недавнего времени считалось, что в Сибири обитает единственный представитель этого семейства *Erpobdella octoculata* – вид с крайне высоким уровнем морфологической вариабельности, широко распространённый в Палеарктике [1]. Скудность внешних морфологических признаков и одновременно очень большая внутривидовая изменчивость, к тому же нечёткие описания многих видов и слабая изученность фауны затрудняют таксономическое определение в этой группе. Фаунистические исследования последних лет показали, что на территории Восточной Сибири обитает комплекс криптических видов рода *Erpobdella* [8–11]. С накоплением новых данных всё более очевидным становится необходимость применения современных молекулярно-генетических методов для построения филогенетически обоснованной структуры семейства и создания на её основе библиотеки молекулярных данных эрпобделлид, обитающих в Восточной Сибири.

### **Материалы и методы**

**Сбор и морфологический анализ материала.** Сбор материала проводился в 2011–2013 гг., главным образом, на территории Восточной Сибири, включая основные заливы Байкала, р. Ангару, Иркутское водохранилище, Ново-Ленинские болота в низовьях Иркуты, реки Каю, Ушаковку, Лену и её притоки (реки Чая, Киренга, Чечуй), р. Ниж. Тунгуску и её приток р. Ваку-

найку и озёра Волчье и Ярахта, водоёмы Куйтунского, Качугского и Эхирит-Булагатского районов Иркутской области и водоёмы Республики Бурятия, а также Амурской области России и Харьковской области Украины. Отловленные экземпляры фиксировались 80%-ным этанолом. Определение до вида проводилось согласно существующим систематическим ключам [1; 12].

**Молекулярный анализ.** При выделении ДНК следовали модифицированному методу Дойла-Диксона [5]. Фрагмент гена mtCOI длиной 710 п. н. амплифицирован с использованием универсальных праймеров [4]. Определение первичной структуры ДНК проведено в ЦКП «Геномика» (Новосибирск) и НПК «Синтол» (Москва).

**Филогенетический анализ.** Выравнивание набора нуклеотидных последовательностей проведено с помощью программы CLUSTAL W v. 2.0 [3], ассоциированной с программой BioEdit [7]. Для выявления областей локального сходства между нуклеотидными последовательностями и вычисления статистической значимости совпадений использовалась программа BLAST [2]. Филогенетический анализ выполнен с помощью PhyML v. 3.0 [6]. Графическое оформление филогенетических деревьев выполнялось с помощью программы TreeView X v. 4.5 [13].

### **Результаты и обсуждение**

До сих пор считалось, что в Сибири обитает единственный вид *Erpobdella octoculata*. Наличие пиявок разных размеров и имеющих разный рисунок на дорзальной стороне тела объяснялось экологической лабильностью вида и широкой морфологической вариабельностью [1].

Анализ собранных нами образцов выявил несколько морфологических типов эрпобделл, отличающихся между собой размерами, окраской и характером дорзальной пигментации. Анализ комбинации этих признаков оказался сложным. Уловить закономерность их распределения оказалось нелегко. Для уточнения общей картины эволюционных взаимоотношений сибирских видов был проведён филогенетический анализ на основе сравнения 111 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена mtCOI длиной 700 п. н. особей палеарктических бесхоботных пиявок. В качестве внешней группы приняты 8 гомологичных последовательностей близкородственных видов из международной базы генетических данных.

В ходе филогенетического анализа была произведена оценка длин ветвей и выбрано максимально правдоподобное древо из 693 возможных вариантов (рис.). Топология древа визуализирует характер эволюционных взаимоотношений в группе исследуемых видов. Проведённый анализ показывает, что на территории Восточной Сибири обитает комплекс видов рода *Erpobdella*, состоящий как минимум из трёх групп.

**Группу 1** составляют 54 особи, обитающие в тёплых заливах Байкала (Чивыркуйский залив, Посольский сор), Иркутском водохранилище, реках Ангара и Ушаковка. Генетически эта группа оказалась близка к азиатским эрпобделлам *E. japonica*, относительно которых они имеют 10 % замен.

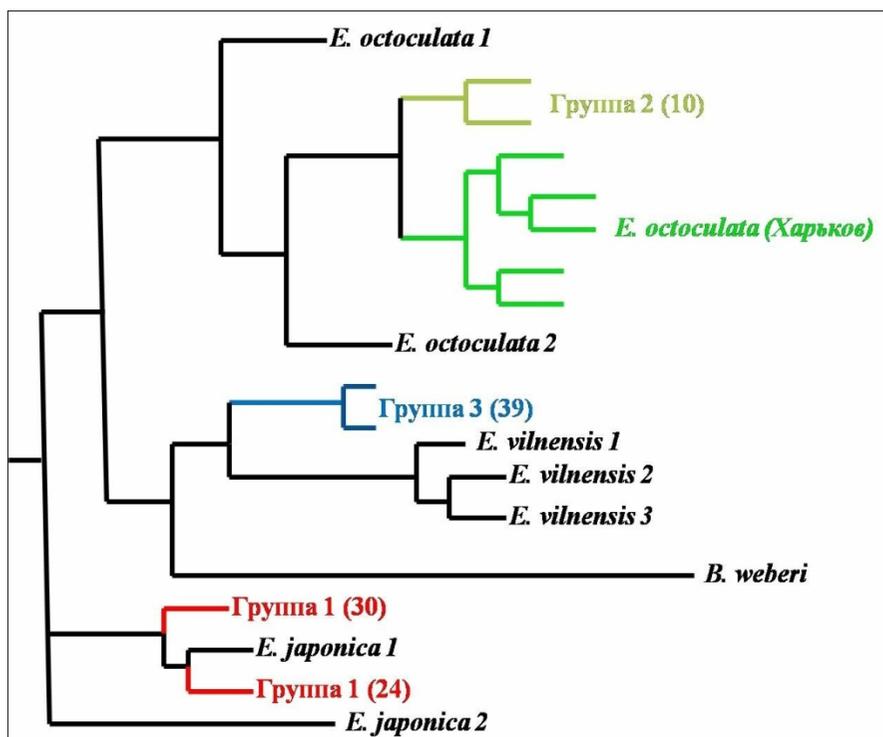


Рис. Упрощённая схема максимально правдоподобного дерева, полученного на основе сравнения нуклеотидных последовательностей COI. В скобках указано количество ДНК последовательностей, соответствующее каждой группе исследованных особей

Группа 2 состоит из 10 пиявок, отловленных в р. Кударейка (Эхирит-Булагатский район Иркутской области), и в водоёмах близ с. Горхон, пос. Манзурка (Качугский район Иркутской области), с. Амур (Куйтунский район Иркутской области). Морфологически и генетически пиявки этой группы близки к *E. octoculata*: генетическое расстояние между ними составляет 6–9 %.

Группа 3 состоит из 39 особей, относящихся к наиболее широко распространённому в Восточной Сибири морфотипу, массово встречающемуся в тёплых бухтах Чивыркуйского залива и Малого моря (оз. Байкал), в реках Ангара, Кударейка, Ушаковка, Белая, Лена, Ниж. Тунгуска, озёрах Волчье, Северное (заповедник «Байкало-Ленский») и др. Генетический анализ выявил близкое родство пиявок группы с редким европейским видом *E. vilnensis*, имеющим ограниченный ареал в Карпатах. Тем не менее сибирские пиявки генетически отличаются от *E. vilnensis* на 6–7 %.

Высокий уровень накопления нуклеотидных замен в исследуемых группах свидетельствует о длительном периоде их генетической изоляции. 111 нуклеотидных последовательностей, полученных в ходе исследований, пополняют международную базу генетических данных.

*Авторы признательны сотрудникам Лимнологического института Е. В. Дзюба, А. В. Широкой, А. В. Натягановой, И. В. Томберг, доценту Харьковского национального университета С. Ю. Утевскому, а также студентам Н. Мандзяк (ИГУ), Е. Петряевой (ИГУ), Л. Фёдоровой (ИрГСХА), Е. Агееву (ИрГСХА) за помощь в сборе материала. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 11-04-01394\_а, 14-04-00345) и СО РАН (проекты № 9-Э, 11-Э).*

#### Список литературы

1. Лукин Е. И. Пиявки пресных и солоноватых водоемов / Е. И. Лукин // Фауна СССР. Пиявки / АН СССР. Зоол. ин-т. – 1976. – Т. 1. – С. 1–484.
2. Basic local alignment search tool. / S. F. Altschul [et al.] // J. Mol. Biol. – 1990. – Vol. 215. – P. 403–410.
3. Clustal W and Clustal X version 2.0 / M. A. Larkin [et al.] // Bioinformatics. – 2007. – Vol. 23. – P. 2947–2948.
4. DNA primer for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates / O. Folmer [et al.] // Mol. Mar. Biol. Biotech. – 1994. – Vol. 3. – P. 294–299.
5. Doyle J.J. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis / J. J. Doyle, E. Dickson // Taxon. – 1987. – Vol. 36. – P. 715–722.
6. Guindon S. A simple, fast and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood / S. Guindon, O. Gascuel // Systematic Biology. – 2003. – Vol. 52, N 5. – P. 696–704.
7. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T. A. Hall // Nucl. Acids. Symp. Ser. – 1999. – Vol. 41. – P. 95–98.
8. Kaygorodova I. A. A revised checklist of the Lake Baikal leech fauna / I. A. Kaygorodova // Lauterbornia. – 2012. – Vol. 75. – P. 49–62.
9. Kaygorodova I. A. An illustrated checklist of leech species from Lake Baikal (East Siberia, Russia) / I. A. Kaygorodova // Dataset Papers in Zoology. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–4.
10. Kaygorodova I. A. First records of potamic leech fauna of Eastern Siberia / I. A. Kaygorodova, E. V. Dzyuba, N. V. Sorokovikova // Dataset Papers in Biology. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–6.
11. Kaygorodova I. A. Species composition and distribution of leech fauna in Chivyrkuy Gulf (Lake Baikal, Russia) / I. A. Kaygorodova, N. M. Pronin // The Scientific World Journal. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–10.
12. Neseemann H. Clitellata, Branchiobdellida, Acanthobdellida, Hirudinea / H. Neseemann, E. Neubert // Süßwasserfauna von Mitteleuropa. – Heidelberg: Spectrum Akademischer Verlag, 1999. – Vol. 6, N 2. – P. 1–178.
13. Page R. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers / R. Page // Computer Applications in the Biosciences. – 1996. – Vol. 12. – P. 357–358.

## Genetic Divergence of Macrophagous Leeches (Arhynchobdellida, Hirudinea) in Palearctic

I. A. Kaygorodova<sup>1</sup>, N. V. Sorokovikova<sup>1</sup>, E. S. Buzinaev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Limnological Institute SB RAS, Irkutsk*

<sup>2</sup> *Irkutsk State University, Irkutsk*

**Abstract.** Analysis of the 111 nucleotide sequences of the first subunit of the mitochondrial cytochrome C oxidase gene of Siberian erpobdellids revealed three groups corresponding to distinct morphotypes, that are considered as a part of the *E. octoculata*. The range of genetic distances of 7–10 % separates the Siberian representatives from phylogenetically close Palearctic species.

**Keywords:** molecular analysis, Arhynchobdellida, Eastern Siberia.

*Кайгородова Ирина Александровна*  
кандидат биологических наук  
старший научный сотрудник  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
тел.: (3952) 42–29–23  
e-mail: irina@lin.irk.ru

*Kaygorodova Irina Aleksandrovna*  
Candidate of Sciences (Biology)  
Senior Research Scientist  
Limnological Institute SB RAS  
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033  
tel.: (3952) 42–29–23  
e-mail: irina@lin.irk.ru

*Сороковикова Наталья Вениаминовна*  
ведущий инженер  
Лимнологический институт СО РАН  
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
тел.: (3952) 42–29–23  
e-mail: nataja@lin.irk.ru

*Sorokovikova Natalja Venyaminovna*  
Leading Engineer  
Limnological Institute SB RAS  
3, Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033  
tel.: (3952) 42–29–23  
e-mail: nataja@lin.irk.ru

*Бузинаев Евгений Степанович*  
студент  
Иркутский государственный университет  
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1  
тел.: (3952) 24–18–55  
e-mail: irina@lin.irk.ru

*Buzinaev Evugeny Stepanovich*  
student  
Irkutsk State University  
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003  
tel.: (3952) 24–18–55  
e-mail: irina@lin.irk.ru