

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-10

Оригинальное исследование

Митохондриальный геном *Eisenia altaica* (Lumbricidae, Annelida)

П.А. Леонов^{1, 2}, Г.В. Юрлова¹, Т.В. Полубоярова¹ , Г.В. Васильев¹, А.А. Шипова¹ , Е.В. Голованова³,
С.В. Шеховцов¹  , К.С. Зубко⁴

Аннотация: Дождевой червь *Eisenia altaica* (Perel, 1968) – один из узкоареальных эндемиков Алтая. Он обитает на севере Республики Алтай в долине р. Катунь. В данном исследовании мы получили образцы *E. altaica* с юга Алтайского края. Мы секвенировали ДНК образца *E. altaica* методом Illumina, собрали и проанализировали его митохондриальный геном. Митохондриальный геном собран в виде непрерывного контига длиной 15,248 п.н. Он содержал типичный для дождевых червей набор генов, кодирующих белки, рибосомальную и транспортную РНК. Все гены располагались на одной цепи ДНК. АТ-состав митохондриального генома (за исключением АТ-тракта) – 62.7 %. Белок-кодирующие гены *nd4* и *nd4l* перекрывались на 7 пар нуклеотидов. Выявлено, что АТГ является единственным старт-кодоном. Шесть белок-кодирующих генов (*cox1*, *atp8*, *cox3*, *nd6*, *nd1* и *nd2*) обладали укороченным стоп-кодоном (Т'). Филогенетический анализ, проведенный для видов рода *Eisenia* на основании полных митохондриальных геномов, показал, что виды *E. altaica* и *E. tracta* родственны к одной из ветвей линий комплекса *E. nordenskioldi* (*E. nordenskioldi sensu stricto*). Это указывает на необходимость дробления комплекса *E. nordenskioldi*. Также близость алтайских эндемиков к комплексу *E. nordenskioldi* может свидетельствовать о том, что центр видообразования сибирской ветви рода *Eisenia* находится на Алтае. Контрольный регион мтДНК содержит тракт микросателлита АТ длиной более 150 п.н., который не мог быть собран полностью. Мы провели поиск микросателлитов в митохондриальных геномах других видов дождевых червей и обнаружили, что микросателлит АТ встречается в контрольных регионах представителей других видов, родов и семейств дождевых червей, в то время как другие микросателлиты там не найдены, что указывает на особую роль именно этого типа повторов в функционировании контрольных регионов.

Ключевые слова: *Eisenia altaica*; митохондриальный геном; филогения; контрольный регион.

Для цитирования: Леонов П.А., Юрлова Г.В., Полубоярова Т.В., Васильев Г.В., Шипова А.А., Голованова Е.В., Шеховцов С.В., Зубко К.С. Митохондриальный геном *Eisenia altaica* (Lumbricidae, Annelida). Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. 2024;10(2): 93-98. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-10

Финансирование: Работа поддержана бюджетным проектом FWNR-2022-0022.

Original article

The mitochondrial genome of *Eisenia altaica* (Lumbricidae, Annelida)

P.A. Leonov^{1, 2}, G.V. Yurlova¹, T.V. Poluboyarova¹ , G.V. Vasiliev¹, A.A. Shipova¹ , E.V. Golovanova³,
S.V. Shekhovtsov¹  , K.S. Zubko⁴


Abstract: *Eisenia altaica* (Perel, 1968) is one of the local endemics of Altai. It is found in the north of the Altai Republic in the valley of the river Katun. In this study, we obtained samples of *E. altaica* from the south of the Altai Krai. We sequenced the DNA of the *E. altaica* sample using Illumina and assembled and analyzed its mitochondrial genome. The genome was assembled as a 15,248-bp contig. It contained a set of genes typical for earthworms, encoding proteins, ribosomal RNAs and transfer RNAs. All genes were located on


¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия
Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

⁴ Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия
Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

 shekhovtsov@bionet.nsc.ru

 Леонов П.А., Юрлова Г.В., Полубоярова Т.В., Васильев Г.В., Шипова А.А., Голованова Е.В., Шеховцов С.В., Зубко К.С., 2024

the same DNA strand. AT composition of the genome (except for the AT tract) was 62.7 %. The protein-coding genes *nd4* and *nd4l* overlapped by 7 base pairs. The analysis revealed that the ATG codon is the only start codon. Six protein-coding genes (*cox1*, *atp8*, *cox3*, *nd6*, *nd1*, *nd2*) had an abbreviated stop codon (T). Phylogenetic analysis carried out for mitochondrial genomes of the species of the genus *Eisenia* showed that the *E. altaica* and *E. tracta* form a sister group to one of the branches of the *E. nordenskioldi* species complex (*E. nordenskioldi sensu stricto*). This indicates the need for fragmentation of the *E. nordenskioldi* complex. Also, the affinity of the Altai endemics to the *E. nordenskioldi* complex may indicate that the center of speciation of the Siberian branch of the genus *Eisenia* is located in Altai. The mtDNA control region contains an AT microsatellite tract longer than 150 bp, which could not be completely assembled. We searched for microsatellites in the mitochondrial genomes of other earthworm species and found that AT microsatellites occurs in control regions of other many earthworm species belonging to different genera, and families, whereas other microsatellites were not found there. This indicates a special role for this type of repeat in the functioning of control regions.

Key words: *Eisenia altaica*; mitochondrial genome; phylogeny; control region.

For citation: Leonov P.A., Yurlova G.V., Poluboyarova T.V., Vasiliev G.V., Shipova A.A., Golovanova E.V., Shekhovtsov S.V., Zubko K.S. The mitochondrial genome of *Eisenia altaica* (Lumbricidae, Annelida). *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;10(2):93-98. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-10 (in Russian)

Funding: Работа поддержана бюджетным проектом FWNR-2022-0022.

Введение

Дождевые черви – важнейшая группа почвенной фауны, оказывающая значительное влияние на растительность и продуктивность почв. Из-за отсутствия ископаемой летописи для представителей этой группы и невозможности надежно реконструировать филогению при помощи только морфологических признаков (Briones et al., 2009) молекулярно-генетические методы играют важную роль в лямбрикологии. В связи с тем что отдельные гены дают слишком мало информации, а секвенирование наборов ядерных локусов затруднено из-за широко распространенной полиплоидии у дождевых червей, митохондриальные геномы часто используют в качестве основы для филогенетических построений у этой группы. В настоящее время информация о последовательностях мтДНК в основном получена для видов, обитающих в Европе и некоторых регионах Восточной Азии. В связи с этим стало актуальным получение данных для таксонов из других регионов с высоким эндемизмом.

Eisenia altaica (Perel, 1968) – один из узкоареальных эндемиков Алтая. По данным Т.С. Всеволодовой-Перель (1979), он обитает на севере Республики Алтай в долине р. Катунь. Известно, что в Горном Алтае была обнаружена большая генетическая (Шеховцов и др., 2016; Shekhovtsov et al., 2020a) и морфологическая (Е.В. Голованова, неопубл. данные) изменчивость представителей комплекса *Eisenia nordenskioldi* (Eisen, 1879). Исследования показали, что комплекс *E. nordenskioldi* можно разделить на несколько филогенетических линий, возможно, представляющих собой близкородственные виды (Shekhovtsov et al., 2019, 2020a). При этом Т.С. Всеволодовой-Перель (Перель, 1979; Всеволодова-Перель, 1997) на Алтае и Салаирском кряже обнаружено множество эндемичных видов рода *Eisenia*. Степень родства этих эндемиков к комплексу *E. nordenskioldi* непонятна. Этот вопрос могли бы прояснить молекулярно-генетические исследования.

В данной работе мы изучили мтДНК образца *E. altaica* из Алтайского края. Мы секвенировали и собрали митохондриальный геном *E. altaica*, а также проанализировали отношения этого вида с другими видами рода *Eisenia*. Эта информация важна как для понимания появления и эволюции алтайских эндемиков, так и отношений между ними и другими группами лямбрицид.

Материалы и методы

Образцы *E. altaica* собраны в июле 2022 г. в окрестностях с. Никольское Алтайского района Алтайского края (~51.8°N, 85°E). ДНК выделяли стандартным фенол-хлороформным методом (Porebski et al., 1997). ПЦР фрагмента гена *cox1* проведена по методике, описанной S.V. Shekhovtsov и коллегами (2020a). Секвенирование ампликона *cox1* выполнено в ЦКП «Геномика» СО РАН.

После проверки видовой принадлежности образца ДНК фрагментировали при помощи соникатора Covaris M220. Затем проведена очистка с применением 1.2 объема реагента AMPureXP (Beckman Coulter, США). Концентрацию ДНК определяли флуориметрически на приборе Qubit (Thermo Fisher Scientific, США). Геномные библиотеки получены из 100 нг ДНК набором Roche KAPA Hyper Prep (Roche Holding, Швейцария) в соответствии с протоколом, представленным производителем, с применением двойных баркодов KAPA UDI Adapter. Качество и молярность полученной геномной библиотеки определяли на биоанализаторе BA2100 (Agilent Technologies, США) набором Agilent DNA High Sensitivity (Agilent Technologies, США). Библиотеку секвенировали на приборе Illumina NextSeq550 набором Mid Output Kit v. 2.5 (300 Cycles) парными чтениями 2 × 150 п.н. В результате получено 30,625,495 прочтений.

Для сборки митохондриального генома использовали программу GetOrganelle 1.7.4.1 (Jin et al., 2020). Предварительную аннотацию митохондриального генома выполняли с помощью программы MITOS 2 (Bernt et al., 2013), затем вручную проведено сравнение с аннотированными геномами дождевых червей. Карта генома построена с использованием программы Benchling (<https://www.benchling.com/>). Вторичные структуры тРНК реконструировали программой MITOS 2 (Bernt et al., 2013). Поиск tandemных повторов проводили при помощи Tandem repeats finder (Benson, 1999). Строение контрольного региона установлено с применением программ RNAfold Web Server (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>) и forna (<http://rna.tbi.univie.ac.at/forna/forna.html>) (Gendron et al., 2001).

Филогенетические деревья реконструированы при помощи методов максимального правдоподобия (maximum likelihood) и байесовского анализа для конкатенированных белковых последовательностей. Использованы последова-

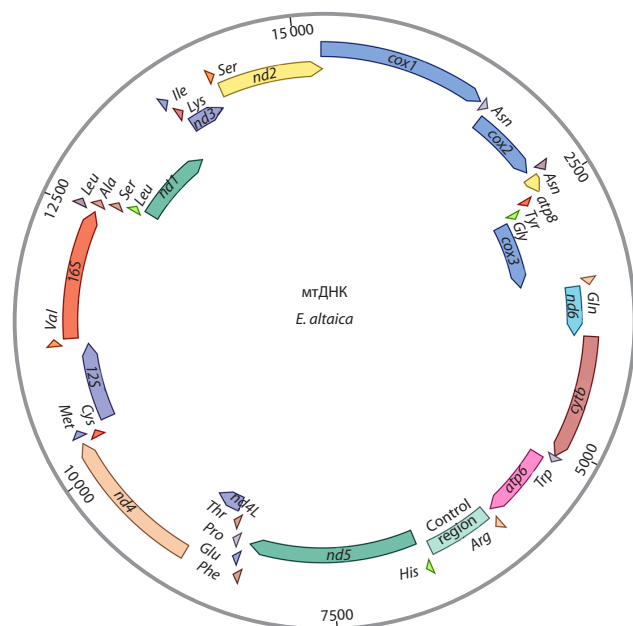


Рис. 1. Организация митохондриального генома *E. altaica*. Стрелками показано направление транскрипции генов. Маленькие стрелки обозначают гены тРНК

Fig. 1. The organization of *E. altaica* mitochondrial genome. Arrows indicate gene transcription directions; small arrows stand for tRNA

тельности митохондриальных геномов дождевых червей, взятые из базы данных GenBank (NC_001673, OL840314, NC_066399, OL840315, MK618509, MK618511, MK618512, MK618513, OM687888, OM687887, OM687890, OM687889, MK642867, MZ857200, MK642869, MK642868, MK642870, NC_065212, OK513069, MZ857198, NC_065213, OK513070, MK642872, OM213999, OM213998, MK618510, MK642871). Для удаления неоднозначно выровненных участков применяли программу Gblocks v. 0.91b (Castresana, 2000). Деревья на основе метода максимального правдоподобия построены при помощи программы RAxML v. 8.2.12 (Stamatakis, 2014), в качестве модели замен автоматически выбрана модель MTMAM, проведено 100 бутстрепных реплик. Байесовский анализ проведен в программе 3.2.7a (Ronquist et al., 2012), выполнено 2 млн реплик.

Результаты

Собранный митохондриальный геном *E. altaica* размещен в базе данных GenBank под номером OR489164. Митохондриальный контиг имел длину 15,148 п.н. со средним покрытием 1910,7. Митохондриальный геном *E. altaica* состоял из характерного набора генов: 13 белок-кодирующих генов (три субъединицы цитохром оксидазы, семь субъединиц дегидрогеназы, две субъединицы АТФ-синтетазы и цитохром b), генов 12S и 16S рибосомальной РНК и 22 генов транспортной РНК. Все гены располагались на одной цепи ДНК (рис. 1). АТ-состав митохондриального генома (за исключением АТ-тракта) – 62.7%; нуклеотидный состав кодирующей цепи: аденин (А) – 32.2%, тимин (Т) – 30.5%, гуанин (G) – 22.8%, цитозин (С) – 14.5%.

Белок-кодирующие гены *nd4* и *nd4l* перекрывались на 7 пар нуклеотидов, как и у большинства животных (Shtolz, Mishmar, 2023). При анализе выявлено, что АТГ является единственным старт-кодонам. Шесть белок-кодирующих генов (*cox1*, *atp8*, *cox3*, *nd6*, *nd1* и *nd2*) обладали укороченным стоп-кодонам (Т), который, как считается, достраивается до стоп-кодона ТАА путем полиаденилирования. Длина генов транспортных РНК варьировала в пределах от 62 до 73 нуклеотидов, как и в других митохондриальных геномах животных, их предсказанные вторичные структуры изображены на рис. 2.

Контрольный регион прочитан частично: 42 пары нуклеотидов после гена тРНК *Arg* и 540 пар нуклеотидов перед геном тРНК *His*. Он содержал большое количество шпилек (см. рис. 2). Контрольный регион содержал участок микросателлита АТ неизвестной длины, но более 150 п.н., из-за чего митохондриальный геном *E. altaica* не удалось собрать полностью.

Поиск микросателлитов в митохондриальных геномах других дождевых червей, представленных в GenBank, показал от 15 до 459 повторов микросателлита АТ в контрольных регионах *Dendrobaena veneta* (OQ763213), *E. nordenskioldi f. pallida*, (OM213998 и OM213999), *Lumbricus rubellus* (OX243829 и MN102127), *L. terrestris* (OX457054), *Eisenia fetida* (OK513070), *Aporrectodea caliginosa* (CM035405), *A. icterica* (OY744618), *A. tuberculata* (OM687883) и *A. rosea* (NC_046733). Также они были найдены и у представителей других семейств: различных видах рода *Amyntas* (OR161103, NC_065012, NC_063588, NC_029879, NC_029872, NC_029870, NC_029868, KT429007, KT429008, KT429010, KT429012–KT429014, KM199290, KP688582, NC_025292, NC_029863, NC_027832, NC_027258, NC_029866, KT429016), *Metaphire guillelmi* (NC_029869), *M. californica* (NC_027257), *Tonoscolex birmanicus* (NC_060488), *Duplodicrodrius schmardeae* (NC_029867), *Perionyx excavatus* (NC_009631) и *Drawida ghilarovi* (NC_066398, OL840312, OL840313). При этом другие микросателлиты в контрольных регионах не обнаружены.

Филогенетическое дерево, построенное по последовательностям белков, представленных в базе данных GenBank полных последовательностей митохондриальных геномов любрицид (рис. 3), показало, что *E. altaica* – родственник *E. tracta* и одной из ветвей *E. nordenskioldi* (*E. nordenskioldi* s. str. по Shekhovtsov et al., 2020a).

Обсуждение

Каждая полученная и аннотированная последовательность митохондриальных геномов дождевых червей – вклад в исследование их глобальной филогении. Хотя деревья, основанные на последовательностях множества ядерных локусов, например при помощи транскриптомики (Novo et al., 2016; Anderson et al., 2017) или anchored phylogenomics (Marchán et al., 2022), имеют большее разрешение, в них крайне сложно было бы впоследствии включить новые данные, полученные другими авторами на других видах. В то же время митохондриальные геномы легко объединить в один массив данных для анализа. В настоящее время в сборе таксонов для секвенирования мтДНК отмечено преобладание

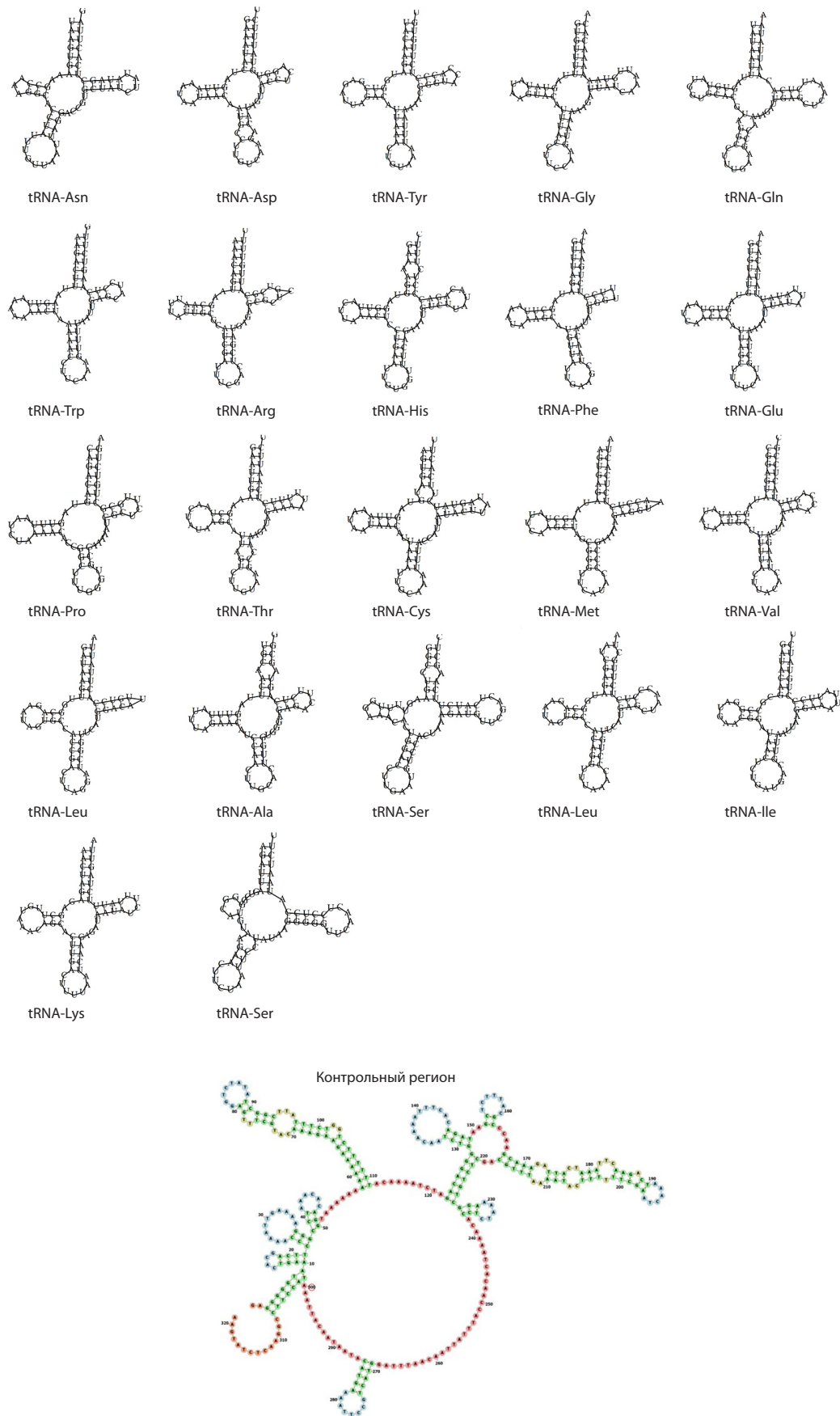


Рис. 2. Вторичные структуры тРНК и контрольного региона мтДНК *E. altaica*

Fig. 2. Secondary structures of tRNAs and the control region of *E. altaica* mitochondrial DNA

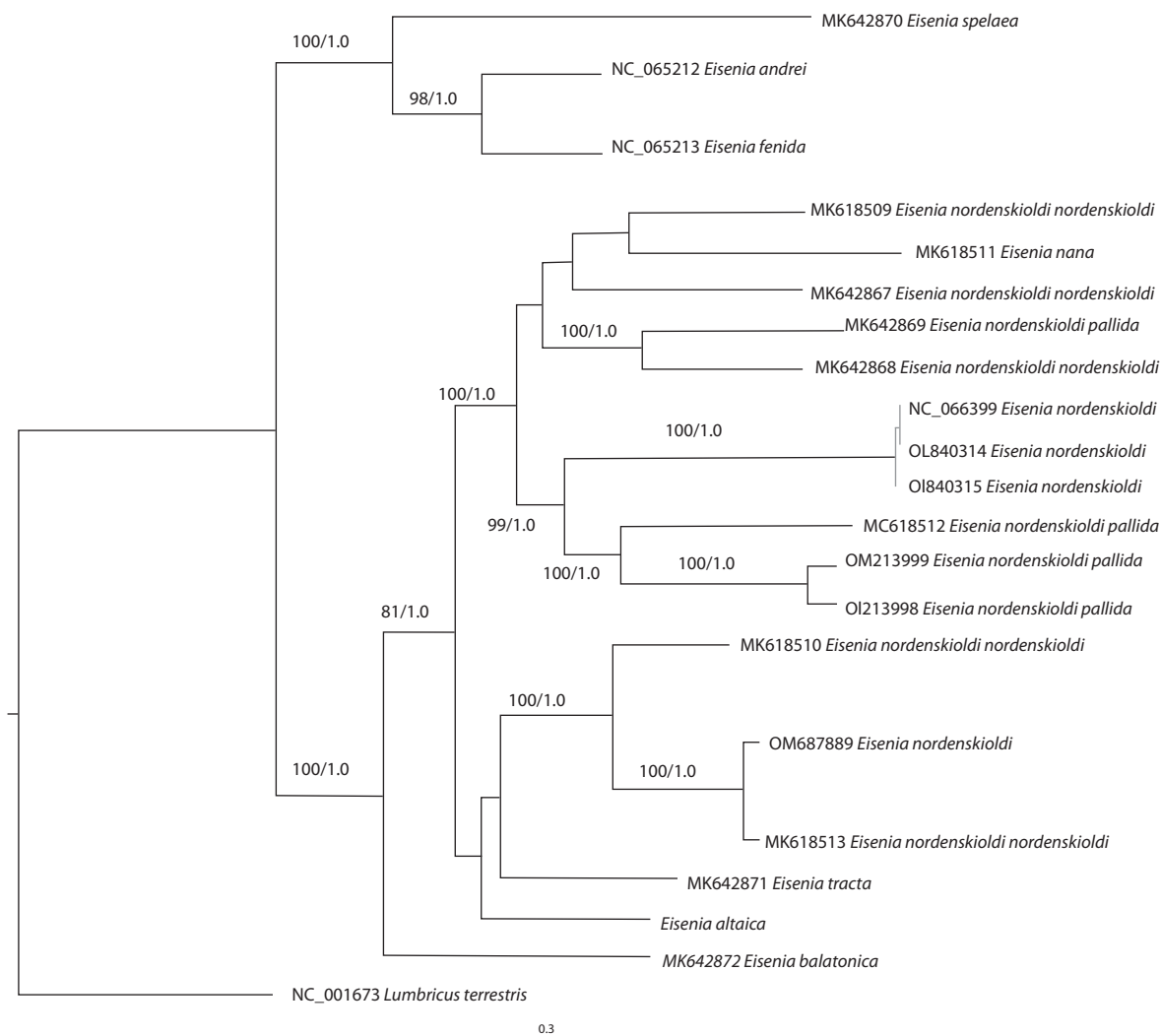


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное по белковым последовательностям митохондриальных геномов дождевых червей методом максимального правдоподобия. Цифрами обозначены бутстрепная поддержка / байесовская апостериорная вероятность

Fig. 3. Phylogenetic tree based on the amino acid sequences of earthworm mitochondrial protein-coding genes using the maximum likelihood method. Numbers on branches indicate bootstrap support / Bayesian posterior probabilities

Европы и некоторых стран Азии, в то время как многочисленные центры эндемизма по всему миру остаются почти неисследованными. Представленная нами работа призвана в какой-то степени закрыть недостаток данных для сибирских видов.

В данной работе обнаружено, что митохондриальный геном *E. altaica* имеет стандартное для мтДНК дождевых червей строение. Интересен факт нахождения микросателлита АТ в контрольном регионе: из известных на момент работы 48 митохондриальных геномов люмбрицид многие также содержат этот микросателлит в объеме от 15 до 459 повторов. При этом никакие другие микросателлиты в контрольных регионах дождевых червей не найдены. С одной стороны, можно было ожидать, что в контрольных регионах будет установлена именно АТ-богатая легкоплавающая последовательность. С другой стороны, другие возможные АТ-богатые тандемные повторы (например, ААТ или АТТ) не

были обнаружены. Таким образом, именно повторы АТ по какой-то причине закрепляются в контрольных регионах дождевых червей.

Результаты филогенетического анализа (рис. 3) интересны тем, что *E. nordenskioldi* разделился на две ветви, как показано и в других работах (Shekhovtsov et al., 2020a, 2020b), и *E. altaica* и *E. tracta* оказались родственны к одной из этих ветвей. Это может означать, что комплекс *E. nordenskioldi* в широком смысле может включать в себя значительное количество других сибирских эндемиков. Если это так, это будет еще одним аргументом для того, чтобы считать *E. nordenskioldi* не видом, а комплексом видов, объединяющим как виды с диагнозом, характерным для *E. nordenskioldi sensu lato*, так и другие виды с достаточными морфологическими отличиями. Для того чтобы прояснить этот вопрос, потребуются сборы других алтайских таксонов.

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: Cadaster and Key. Moscow: Nauka Publ., 1997 (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 Cenoses. Moscow: Nauka Publ., 1966;146-165 (in Russian)]
- Шеховцов С.В., Базарова Н.Э., Берман Д.И., Булахова Н.А., Голованова Е.В., Коняев С.В., Кругова Т.М., Любечанский И.И., Пельтек С.Е. ДНК-штрихкодирование: сколько видов дождевых червей живет на юге Западной Сибири? *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(1):125-130. DOI 10.18699/VJ15.110
[Shekhovtsov S.V., Bazarova N.E., Berman D.I., Bulakhova N.A., Golovanova E.V., Konyayev S.V., Krogova T.M., Lyubechanskii I.I., Peltek S.E. DNA barcoding: How many earthworm species are there in the south of West Siberia? *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2017;7(1):57-62. DOI 10.1134/S2079059717010130]
- Шеховцов С.В., Рапопорт И.Б., Полубоярова Т.В., Гераскина А.П., Голованова Е.В., Пельтек С.Е. Морфотипы и генетическая изменчивость *Dendrobaena schmidtii* (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 schmidtii* (Lumbricidae, Annelida). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(1):48-54. DOI 10.18699/VJ20.594 (in Russian)]
- Anderson F.E., Williams B.W., Horn K.M., Erséus C., Halanych K.M., Santos S.R., James S.W. Phylogenomic analyses of Crassidellata support major Northern and Southern Hemisphere clades and a Pangaeian origin for earthworms. *BMC Evol. Biol.* 2017;17(1):123. DOI 10.1186/s12862-017-0973-4
- 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
- Briones M.J.I., Morán P., Posada D. Are the sexual, somatic and genetic characters enough to solve nomenclatural problems in lumbricid taxonomy? *Soil Biol. Biochem.* 2009;41(11):2257-2271. DOI 10.1016/j.soilbio.2009.07.008
- 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
- 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
- Jin J.J., Yu W.B., Yang J.B., Song Y., DePamphilis C.W., Yi T.S., Li D.Z. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate *de novo* assembly of organelle genomes. *Genome Biol.* 2020;21:241. DOI 10.1186/s13059-020-02154-5
- Marchán D.F., James S.W., Lemmon A.R., Lemmon E.M., Novo M., Domínguez J., Cosín D.J.D., Trigo D. A strong backbone for an invertebrate group: anchored phylogenomics improves the resolution of genus-level relationships within the Lumbricidae (Annelida, Crassidellata). *Org. Divers. Evol.* 2022;22(4):915-924. DOI 10.1007/s13127-022-00570-y
- Novo M., Fernández R., Andrade S.C.S., Marchán D.F., Cunha L., Díaz Cosín D.J. Phylogenomic analyses of a Mediterranean earthworm family (Annelida: Hormogastridae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 2016;94(Pt. B):473-478. DOI 10.1016/j.ympev.2015.10.026
- Porebski S., Bailey L.G., Baum B.R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1997;15(1):8-15. DOI 10.1007/BF02772108
- Shtolz N., Mishmar D. The metazoan landscape of mitochondrial DNA gene order and content is shaped by selection and affects mitochondrial transcription. *Commun. Biol.* 2023;6(1):93. DOI 10.1038/s42003-023-04471-4
- Shekhovtsov S.V., Ershov N.I., Vasiliev G.V., Peltek S.E. Transcriptomic analysis confirms differences among nuclear genomes of cryptic earthworm lineages living in sympatry. *BMC Evol. Biol.* 2019;19(1):13-22. DOI 10.1186/s12862-019-1370-y
- 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 nordenskiöldi* complex (Oligochaeta, Lumbricidae) using transcriptomic data. *Front. Genet.* 2020a;11:598196. DOI 10.3389/fgene.2020.598196
- 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 nordenskiöldi* complex based on mitochondrial genomes. *Eur. J. Soil Biol.* 2020b;96:103137. DOI 10.1016/j.ejsobi.2019.103137
- 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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 04.12.2023. После доработки 18.02.2024. Принята к публикации 26.02.2024.