

УДК 595.422

НА О. КОЛГУЕВ ОБНАРУЖЕНЫ ДВЕ ЛИНИИ ПАНЦИРНЫХ КЛЕЩЕЙ, МОРФОЛОГИЧЕСКИ СООТВЕТСТВУЮЩИЕ ЦИРКУМПОЛЯРНОМУ ВИДУ *AMERONOTHRUS NIGROFEMORATUS* (ACARI, ORIBATIDA), НО ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧАЮЩИЕСЯ НА УРОВНЕ ВИДОВ

© 2023 г. В. С. Артамонова¹, М. С. Бизин^{1,*}, Б. Д. Ефейкин¹, О. Л. Макарова¹

Представлено академиком РАН Ю.Ю. Дгебуадзе

Поступило 25.06.2023 г.

После доработки 30.06.2023 г.

Принято к публикации 04.07.2023 г.

Генетические особенности орибатид вида *Ameronothrus nigrofemoratus*, обитающих циркумполярно на побережье арктических морей, до настоящего времени были известны только для клещей с территории Канады. Изучение частичной последовательности *COI* мтДНК особей, соответствующих данному виду по морфологическим признакам, показало, что на о. Колгуев совместно обитают клещи, относящиеся к двум сильно дивергировавшим филогенетическим линиям (7%), ни одна из которых на побережье Канады не обнаружена. Аминокислотная последовательность цитохромоксидазы I представителей одной из линий имеет четыре замены по сравнению с последовательностью североамериканских *A. nigrofemoratus*, что соответствует уровню различий между *A. nigrofemoratus* и сестринским видом *A. lineatus*.

Ключевые слова: Oribatida, Арктика, литораль, *COI*, филогеография, виды-двойники

DOI: 10.31857/S268673892370035X, **EDN:** SRXRBP

Клещи рода *Ameronothrus* обычны на морских литоральных в Голарктике. На большей части побережья Северного Ледовитого океана обитают только два представителя рода: *A. lineatus* (Thorell, 1871) и *A. nigrofemoratus* (L. Koch, 1879) [1, 2]. Последний населяет соленые марши, встречаясь практически циркумполярно (рис. 1), что делает его удобным модельным объектом для филогеографических исследований в Арктике. Однако генетически этот массовый вид был охарактеризован только в двух районах Канады [3–5] (рис. 1), а обширная евразийская часть ареала пока оставалась неизученной.

Видовую принадлежность клещей определяли, используя ключи [6, 2]. Сведения об изученных экземплярах представлены в табл. 1.

ДНК экстрагировали из отдельных особей, большая часть ваучеров смонтирована на предметные стекла для морфологического изучения. Амплификацию фрагмента гена *COI* мтДНК с парой праймеров LepF1/LepR1 [7] проводили по протоколу (<https://ccdb.ca/site/wp-con->

tent/uploads/2016/09/CCDB_Amplification.pdf). Секвенирование выполнено на базе ЦКП “Геном” ИМБ РАН.

Нуклеотидные последовательности анализировали в редакторе BioEdit 7.2, определяя наборы гаплотипов *COI* для представителей *Ameronothrus*, собранных в каждом локалитете. Последовательности, соответствующие этим гаплотипам, депонированы в базу данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) с присвоением номеров (табл. 1).

В GenBank (Nucleotide collection) проведен поиск последовательностей, сходных с полученными нами. Те последовательности, которые перекрывали участок мтДНК, изученный нами, представлены в табл. 2. Наряду с последовательностями, охарактеризованными в этой работе, они использованы для построения сети гаплотипов (Network 10.2.0.0, www.fluxus-engineering.com) с применением опции “Median Joining” (вес нуклеотидных позиций, где имели место транзиции, составлял 10, трансверсии — 20; вес позиций, замены в которых приводили к заменам в аминокислотной последовательности — 30). Для построения сети гаплотипов использовали участок последовательности длиной 647 п.н. Места сбора использованного материала представлены на рис. 1, в табл. 1 и табл. 2.

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: microtus@list.ru

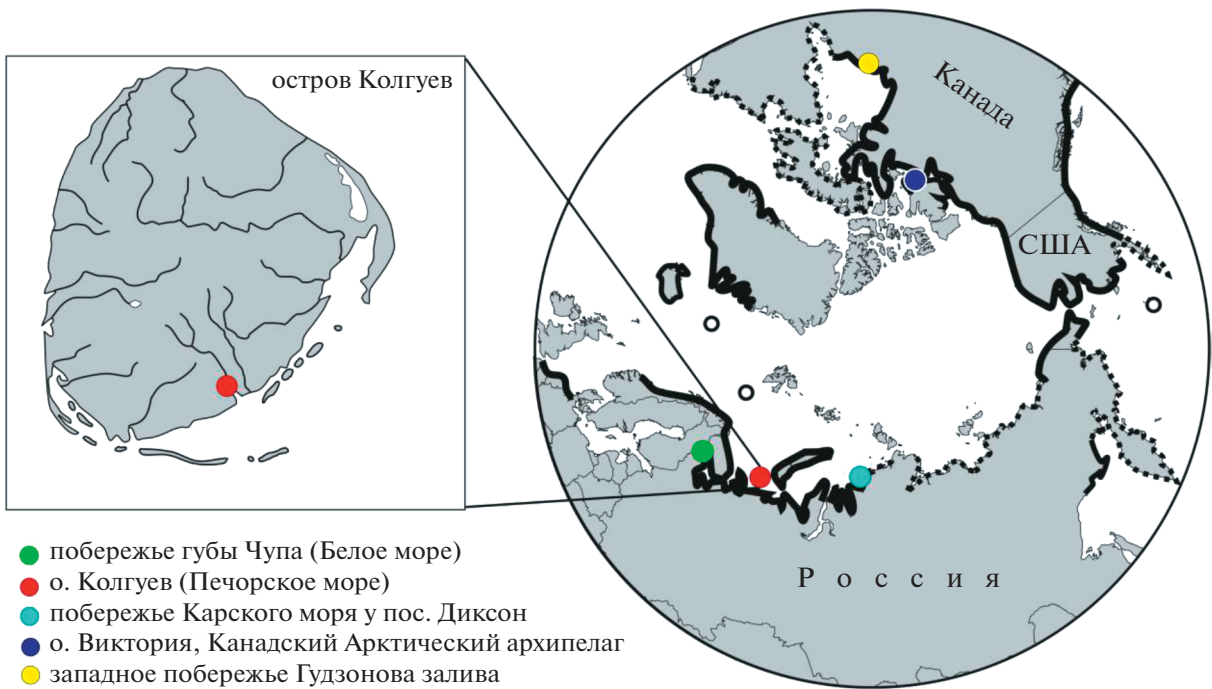


Рис. 1. Ареал *Ameronothrus nigrofemoratus*: сплошная линия — участки побережья, где обитание вида подтверждено сборами; пунктир — районы предполагаемого обитания. Цветными кружками отмечены места сбора проанализированного материала. Белые кружки — отметки вида на островах.

Для особей, смонтированных на предметных стеклах (табл. 1), отмечали пол и изучали изменчивость следующих морфологических признаков: длина тела и ног (без тазиков и амбулакрумов); длина и ширина створок генитального и анально-

го клапанов; длина роstralных (*ro*), ламеллярных (*le*) и ботридиальных щетинок (*ss*) и расстояние между ними в парах; длина нотогастральных щетинок *c1*, *c2*, *c3*; максимальная длина нотогастральных щетинок в сериях *d* (*da*, *dm*, *dp*), *l* (*la*,

Таблица 1. Характеристика материала, исследованного экспериментально

Место сбора материала	Дата сбора материала	Координаты точки сбора материала	Число образцов (F/M/N) *	Выявленные гаплотипы для (F, M, N) *	№ в GenBank
О. Колгуев (Печорское море)	2018	68°47'32.9" с.ш. 49°19'17.9" в.д.	(0/0/8)	N: A1 – 6, B1 – 2	—
	2022		(5/9/0)	E: A1 – 4, B1 – 1 M: A1 – 8, B1 – 1	E: A1 – OQ976918, B1 – OQ976920 M: A1 – OQ976919, B1 – OQ976921
Побережье губы Чупа (Белое море)	2017	66°16'03.3" с.ш. 33°03'54.8" в.д.	(1/1/4)	E: B1 – 1 M: B2 – 1 N: C2 – 2, C5 – 2	E: B1 – OQ976910 M: B2 – OQ976909 N: C2 – OQ976912, C5 – OQ976911
Пос. Диксон (Карское море)	2017	73°30'36.1" с.ш. 80°30'12.0" в.д.	(2/3/2)	E: C11 – 1, CD1 – 1 M: C7 – 1, CD1 – 2 N: C7 – 1, C10 – 1	E: C11 – OQ976917, CD1 – OQ976913 M: C7 – OQ976915, CD1 – OQ976914 N: C10 – OQ976916

* – F – самки, M – самцы, N – особи, пол которых не определяли.

Таблица 2. Последовательности из GenBank, использованные при построении медианной сети гаплотипов

№ п/п	Вид по GenBank	№ в GenBank	Координаты точки сбора материала	Гаплотипы (обозначения на Network)	Литературный источник
1	<i>Ameronothrus</i> sp.	MN358653.1	58.786 с.ш. 94.202 з.д.	C1	[3]
2	<i>Ameronothrus</i> sp.	MN357728.1	58.786 с.ш. 94.202 з.д.	C2	[3]
3	<i>A. nigrofemoratus</i>	HQ558524.1	58.7524 с.ш. 93.26 з.д.	C3	iBOL Data Release (Unpublished)
4	<i>A. nigrofemoratus</i>	MN665624.1	69.1214 с.ш. 103.209 з.д.	C4	[5]
5	<i>A. nigrofemoratus</i>	MN674986.1	69.1214 с.ш. 103.209 з.д.	C4	[5]
6	<i>A. nigrofemoratus</i>	MN675575.1	69.1214 с.ш. 103.209 з.д.	C4	[5]
7	<i>Ameronothrus</i> sp.	JX834611.1	58.771 с.ш. 93.844 з.д.	C6	[4]
8	<i>A. nigrofemoratus</i>	JX835019.1	58.769 с.ш. 93.845 з.д.	C6	[4]
9	<i>Ameronothrus</i> sp.	JX836451.1	58.769 с.ш. 93.845 з.д.	C6	[4]
10	<i>A. nigrofemoratus</i>	JX836478.1	58.769 с.ш. 93.845 з.д.	C6	[4]
11	<i>A. nigrofemoratus</i>	JX836498.1	58.781 с.ш. 94.199 з.д.	C6	[4]
12	<i>A. nigrofemoratus</i>	HQ558525.1	58.7524 с.ш. 93.26 з.д.	C6	iBOL Data Release (Unpublished)
13	<i>Ameronothrus</i> sp.	JX834650.1	58.771 с.ш. 93.844 з.д.	C7	[4]
14	<i>Ameronothrus</i> sp.	JX836006.1	58.769 с.ш. 93.862 з.д.	C7	[4]
15	<i>A. nigrofemoratus</i>	HQ558526.1	58.7524 с.ш. 93.26 з.д.	C7	iBOL Data Release (Unpublished)
16	<i>Ameronothrus</i> sp.	JX833692.1	58.781 с.ш. 94.199 з.д.	C8	[4]
17	<i>Ameronothrus</i> sp.	JX836609.1	58.771 с.ш. 93.843 з.д.	C9	[4]
18	<i>A. nigrofemoratus</i>	JX837098.1	58.769 с.ш. 93.862 з.д.	C9	[4]

lm, *lp*), *h* (*h1*–3); длина коготков и члеников ног I–IV (бедро, голень, лапка); длина брахиотрахей на бедрах и голнях I–IV; длина соленидиев ω' , ω'' на лапке I и соленидия ϕ на голени I; длина щетинок *pv'* на лапках I–II, щетинок *v'* на голнях I–II, щетинок *l'* на бедрах I–II, щетинок *d* и *l''* на бедрах и голнях I–IV; минимальная длина щетинок *tc* на лапках I–II и максимальная длина *tc* на лапках III–IV; степень опушения щетинок *pv'* на лапках, *v'* на голнях, *l'* и *d* на бедрах ног I–II. Ординацию

выполняли в программе PAST 3.26 методом главных компонент [8].

Анализ частичной последовательности *COI* мтДНК клещей, собранных в 2018 г. на о. Колгуев и определенных по морфологии как *A. nigrofemoratus*, показал, что в выборке присутствуют носители только двух гаплотипов: A1 – шесть особей и B1 – две особи. Последовательности этих вариантов различаются на 45 нуклеотидов (около 7%). Это значительно превышает стандартный уро-

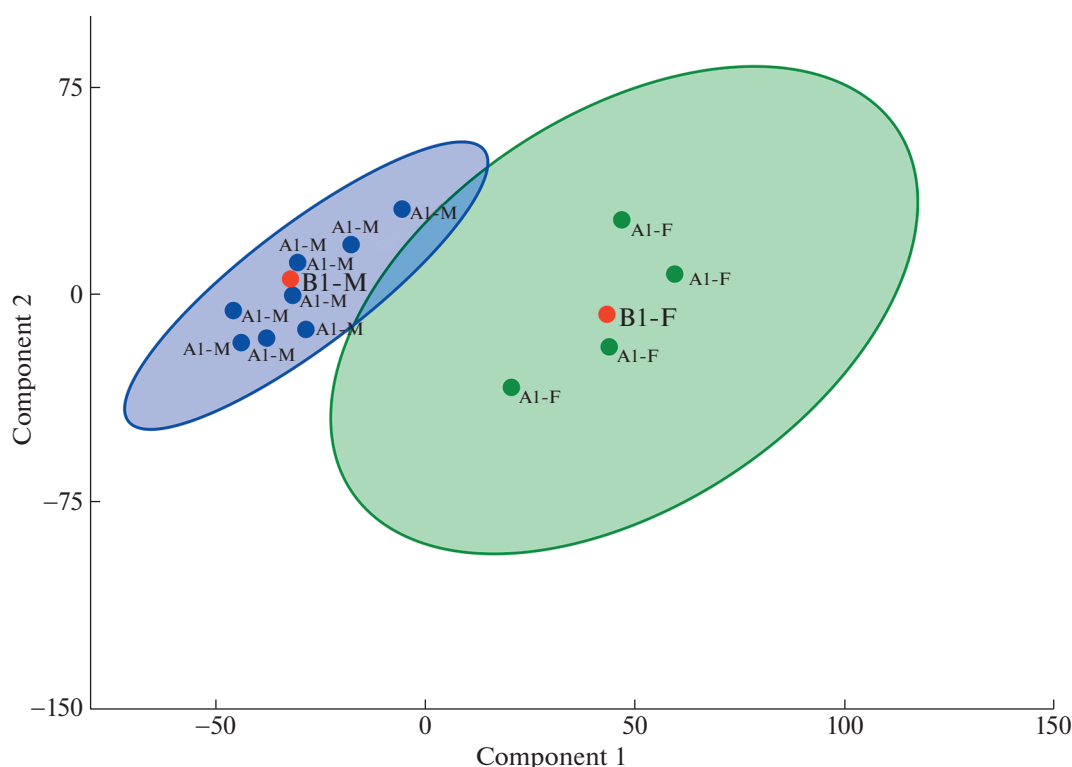


Рис. 2. Ординация (метод главных компонент) изученных особей, соответствующих по морфологическим признакам *A. nigrofemoratus*, с о. Колгуев (2022 г.) по комплексу морфологических признаков. Самцы имеют индекс “М”, самки — “F”. A1 и B1 — гаплотипы особей, для которых были изучены морфологические признаки.

вень различий между близкими видами, который в 98% случаев составляет около 2% [9]. Более того, частичные аминокислотные последовательности, кодируемые данными вариантами, различались на четыре аминокислотных остатка, что ставит под сомнение принадлежность выявленных гаплотипов представителям одного и того же вида.

В 2022 г. мы получили пробы из того же локалитета на о. Колгуев, что позволило проверить предварительный результат, а также исключить возможное присутствие на острове локальных партеногенетических популяций. Для каждой особи из этих сборов были проверены все диагностические признаки *A. nigrofemoratus* и определен пол. Среди пяти изученных самок четыре оказались носителями гаплотипа A1, а одна — носителем гаплотипа B1. Среди самцов восемь имели гаплотип A1 и один — гаплотип B1. Исследование внешнего строения этих самцов и самок показало отсутствие морфологических различий между особями, относящимися к филогенетическим линиям А и В (рис. 2).

Сеть гаплотипов (рис. 3) иллюстрирует взаимоотношения между филогенетическими линиями А и В и группой гаплотипов С, распространенных на побережье Канады. Линии А и В самостоятельны,

хотя аминокислотная последовательность, кодируемая вариантом B1, полностью соответствует таковой для последовательностей, кодируемых гаплотипами группы С, а аминокислотная последовательность для A1 отличается от них на четыре аминокислотных остатка. Любопытно, что различия в аминокислотных последовательностях такого же уровня наблюдаются между *A. nigrofemoratus* (гаплотипы группы С) и сестринским *A. lineatus* (MZ626323.1). При этом различия между аминокислотными последовательностями носителей гаплотипа A1 с о. Колгуев и *A. lineatus* составляют восемь аминокислотных остатков.

Различия между последовательностями особей из Канады (гаплотипы группы С) и последовательностью гаплотипа B1 с о. Колгуев достигали почти 3%, указывая либо на то, что их носители принадлежат к разным видам, либо на то, что один из вариантов происходит от некоего изолята, возможно, подвидового ранга. Однако, поскольку аминокислотные последовательности для гаплотипов группы С и линии В оказались идентичными, более вероятно, что все носители этих гаплотипов — особи одного вида.

Чтобы понять, какие варианты *COI A. nigrofemoratus* (близкие к B1 или относящиеся к группе С) обычны для региона, мы дополнительно изучили

материал из двух других районов побережья Северного Ледовитого океана к западу и востоку от о. Колгуев: губы Чупа Белого моря и берега Карского моря вблизи пос. Диксон (табл. 1, рис. 1).

На этой части ареала клещи, определенные морфологически как *A. nigrofemoratus*, генетически гораздо разнообразнее, чем в Северной Америке (рис. 3). Так, у особей из обследованных районов найдены варианты последовательностей, точно соответствующие североамериканским, и близкие к ним (1–2 нуклеотидные замены). В то же время у пос. Диксон встречались особи, относящиеся к самостоятельной филогенетической линии (гаплотип CD1, 1 аминокислотная замена по сравнению с последовательностями группы С). У клещей с побережья Чупинской губы, наряду с вариантами из кластера С, обнаружили также варианты, относящиеся к линии В (рис. 3).

Нельзя исключать, что при увеличении выборок в этих локалитетах могут обнаружиться носители гаплотипов и других филогенетических линий. Однако понятно, что носители гаплотипов группы С имеют циркумполярное распространение. Интересно, что при этом на о. Колгуев носители гаплотипов данной группы не обнаружены, несмотря на двукратные сборы материала и значительное число изученных экземпляров (22).

Выполненное исследование позволяет предполагать, что в Евразии, помимо собственно вида *A. nigrofemoratus*, обитает, по крайней мере, еще один, не описанный ранее вид панцирных клещей, близкий *A. nigrofemoratus* по морфологическим и экологическим характеристикам, но имеющий генетические отличия, сопоставимые с различиями между “несомненными” видами *A. nigrofemoratus* и *A. lineatus*. Нельзя исключить, что в данном случае речь идет о так называемых видах-двойниках. Однако для уточнения таксономического статуса носителей гаплотипа А1 с о. Колгуев необходимо сравнение морфологических признаков этих клещей с признаками особей, относящихся к группе С, причем обитающих в разных регионах, чтобы исключить географическую составляющую изменчивости.

В этой связи интересно, что фауна Колгуева в целом обладает рядом особенностей: здесь отсутствуют мышевидные млекопитающие [10], обитают сразу два вида корюшек — европейская и азиатская [11]; отсюда же был описан новый род пиявок (*Hyperboreomyzon*), найденный только в двух арктических регионах [12]. Наши данные также указывают на своеобразие фауногенетических процессов на острове.

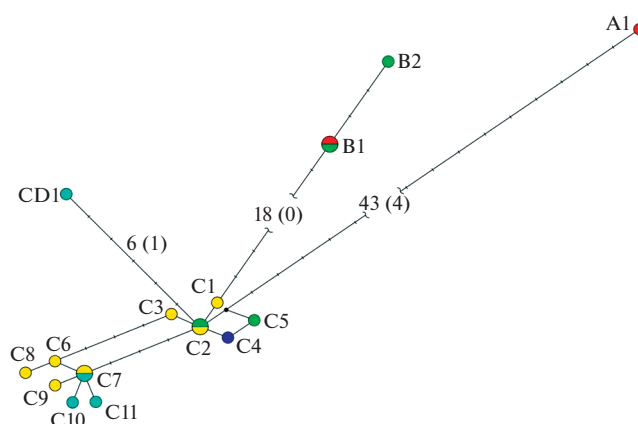


Рис. 3. Сеть гаплотипов для частичной последовательности мтДНК *COI* клещей, соответствующих по морфологическим признакам *A. nigrofemoratus*, и особей, аннотированных в GenBank как *Ameronothrus* sp., но имеющих последовательности мтДНК *COI*, отличающиеся от соответствующих последовательностей *A. nigrofemoratus* не более, чем на один нуклеотид. Цвет кругов соответствует цвету точек на карте (рис. 1), в которых носители данных гаплотипов были найдены. Площади кругов пропорциональны числу локалитетов, где обнаружены особи с данным гаплотипом. Длины отрезков пропорциональны числу нуклеотидных замен. Для длинных ветвей число нуклеотидных замен приведено в точках разрыва ветви. Цифрами в скобках обозначено число аминокислотных замен в белке, кодируемом последовательностью.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы очень признательны коллегам, собравшим материал: Г.С. Потапову, А.А. Махрову и С.В. Чиненко, а также С.Э. Спиридонову за возможность работы на оборудовании Центра паразитологии ИПЭЭ РАН, всестороннюю поддержку и консультации.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа О.Л. Макаровой и М.С. Бизина частично поддержана грантом РФФИ № 20-54-56054 Iran_t.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Makarova O., Behan-Pelletier V. Oribatida (=Cryptostigmata, Beetle Mites) // The Greenland Entomofauna. An Identification Manual of Insects, Spiders and Their Allies Leiden: Brill. 2015. P. 802–845.
2. Behan-Pelletier V., Lindo Z. Oribatid Mites: Biodiversity, Taxonomy and Ecology. Boca Raton: CRC Press. 2022. 494 pp.
3. Young M.R., Proctor H.C., deWaard J.R., et al. DNA barcodes expose unexpected diversity in Canadian mites // Mol. Ecol. 2019. V. 28. P. 5347–5359.
4. Young M.R., Behan-Pelletier V.M., Hebert P.D.N. Revealing the hyperdiverse mite fauna of subarctic Canada through DNA barcoding // PLoS ONE. 2012. V. 7 (11). P. e48755.

5. Pentinsaari M., Blagoev G.A., Hogg I.D., et al. A DNA Barcoding survey of an Arctic arthropod community: implications for future monitoring // *Insects*. 2020. V. 11. № 1. P. 1–18.
6. Schubart H. Morphologische Grundlagen für die Klärung der Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Milbenfamilie Ameronothridae (Acari, Oribatei) // *Zoologica*. 1975. V. 123. S. 23–91.
7. Hebert P.D.N., Penton E.H., Burns J.M., et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator* // *PNAS*. 2004. V. 101 (41). P. 14812–14817.
8. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontol. Electron*. 2001. V. 4 (1). P. 1–9.
9. Hebert P.D.N., Ratnasingham S., deWaard J.R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species // *Proc. R. Soc. B (Suppl.)*. 2003. V. 270. P. S96–S99.
10. Ануфриев В.В. Наземные млекопитающие островов Печорского моря // *Зоол. журн.* Т. 98. № 6. С. 684–690.
11. Артамонова В.С., Махров А.А., Попов И.Ю. и др. Европейская корюшка *Osmerus eperlanus* (Linnaeus, 1758) на острове Колгуев (Баренцево море) и причины, ограничивающие распространение этого вида в Арктике // *Сиб. экол. журн.* 2020. Т. 27. № 2. С. 160–166.
12. Bolotov I.N., Kondakov A.V., Eliseeva T.A., et al. Cryptic taxonomic diversity and high-latitude melanism in the glossiphoniid leech assemblage from the Eurasian Arctic // *Sci. Rep.* 2022. V. 12. P. 20630.

TWO LINEAGES OF ORIBATID MITES MORPHOLOGICALLY CORESPOND TO THE CIRCUMPOLAR SPECIES *AMERONOTHRUS NIGROFEMORATUS* (ACARI, ORIBATIDA) BUT DIFFER GENETICALLY AS DISTINCT SPECIES ARE REVEALED ON THE KOLGUEV ISLAND

V. S. Artamonova^a, M. S. Bizin^{a, #}, B. D. Efeykin^a, and O. L. Makarova^a

^a*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: microtus@list.ru*

Presented by Academician of the RAS Yu.Yu. Dgebuadze

Until recently, data on the genetic characteristics of the oribatid mite *Ameronothrus nigrofemoratus* have been reported only from the Northern Canada. Analysis of the partial cytochrome oxidase I gene (*COI*) mtDNA sequence of the mites from Kolguev Island that morphologically correspond to this species has revealed two highly divergent phylogenetic lineages of *A. nigrofemoratus* (divergence of 7%), neither of which was found on the Canadian coast. One lineage differs by four *COI* amino acid substitutions from North American *A. nigrofemoratus*. This corresponds to the degree of difference between *A. nigrofemoratus* and its sister species *A. lineatus*.

Keywords: Oribatida, Arctic, littoral, *COI*, phylogeography, cryptic species