



FORSKNINGSRAPPORT FRÅN SVENSKA ARTPROJEKTET

Projektperiod: 2011–2012

Christer Erséus
Göteborgs universitet

RINGMASKAR:

Artavgränsningar inom svenska artkomplex av fåborstmaskar (Oligochaeta)

Sammanfattning

Vi har utrett artgränserna för ett antal svenska fåborstmaskar (Oligochaeta). Vi har analyserat genetiska data (DNA-sekvenser) inom nominella morfoarter; d.v.s. namngivna taxa som kan kännas igen på sina morfologiska kännetecken. Syftet har varit att testa om dessa taxa var för sig verkligen är panmiktiska metapopulationer, eller om de innehåller olika separat evolverande utvecklingslinjer som borde betraktas som olika arter, d.v.s. utvecklingslinjer som helt saknar – eller möjligen har ett mycket begränsat – genflöde sig emellan.

Idag finns gott om studier som visat att dessa s.k. kryptiska arter är vanliga bland ryggradslösa djur, inte minst bland ringmaskar. Samtidigt har idéer utvecklats om att DNA-streckkodning (för djuren främst genom att jämföra sekvenser av den mitokondriella COI-genen) ska kunna användas för att identifiera arter i allmänhet, och kryptiska arter i synnerhet.

I vårt projekt har vi i detta sammanhang demonstrerat två viktiga, men på ett sätt paradoxala resultat.

(1) Med komplementära studier av nukleära markörer (ITS och Histone 3 = H3) har vi visat att ibland finns det gott ITS/H3-stöd för att de kluster av individer som tydligt avgränsas av barcodinggenen COI också är separat utvecklade linjer i ITS/H3. Ofta har vi då också funnit att små morfologiska skillnader faktiskt är i samklang med denna slutsats; individerna i de olika klustren ser lite olika ut trots allt. I våra fåborstmaskars fall rör det sig om egenskaper som tidigare tolkats som besvärande inomartsvariation, men som nu får sin förklaring: ett antal, mer eller mindre kryptiska arter har tidigare gömt sig under ett och samma taxonomiska namn.

(2) I ett par av våra studier kommer vi till dock en annan slutsats. Vi har där tydliga COI-kluster, som i streckkodningssammanhang skulle kunna tolkas som olika arter, men i genträden för ITS/H3 bryts dessa kluster upp i helt andra grupper av individer.

Den sammanfattande slutsatsen är att COI-streckkodning med på förhand bestämda tröskelvärden för artskillnader inte fungerar generellt, inte ens inom en och samma djurgrupp. Alla arter och artkomplex måste först studeras var och en för sig, och i ett perspektiv, där morfologiska, mitokondriella och nukleära mönster integreras med varandra. Först därefter kan COI-streckkodning bli det kraftfulla verktyg som det är menat att vara. Om vi korrekt ska kunna beskriva diversiteten i den svenska oligochaetafaunan är denna insikt avgörande.

Introduktion och bakgrund

Syftet med projektet var att reda ut ett antal artavgränsningsproblem, främst inom familjerna Naididae, Lumbriculidae och Lumbricidae, alla s.k. oligochaeter (fåborstmaskar) inom annelidgruppen Clitellata (gördelmaskar). I praktiken kom också en fjärde familj, Enchytraeidae att ingå.

Inom forskargruppen har vi länge fokuserat på svensk – och nu också norsk – fauna, för att aktivt kunna bidra till Artprojekten i de två länderna. Utifrån traditionella kriterier anses kunskapsläget generellt sett vara ganska hyggligt, men jag menar att de skandinaviska oligochaet-arterna inte så lätt låter sig kartläggas om inte morfologisk information kombineras med omfattande genetisk sådan.

Dagens artnomenklatur ger ingen korrekt bild av hur många eller exakt vilka arter vi har här. Daggmaskarna t.ex., som utgör 90 % av alla evertebraters biomassa i Sverige, är inte 23 arter som man trott tidigare, utan snarare 50 eller fler.

I många fall räcker dock inte bara DNA-streckkodning (COI-genen för djur) för att rätt avgränsa arter inom alla grupper av fåborstmaskar. Antalet kryptiska arter är visserligen högt, inte minst bland de vanligaste morfoarterna, men ibland visar sig även individer som representerar klart skilda COI-kluster tillhöra samma (panmiktiska) metapopulation. Det är i sådana fall nödvändigt att studera även genträdd baserade på nukleära markörer.

Till detta kommer komplikationen att morfologisk beskrivning och identifiering av fåborstmaskar till största delen kräver könsmogna exemplar och mikroskopisk undersökning av dessas inre organ. Vår taxonomiska forskning kräver tillgång till många olika exemplar från olika delar av arternas utbredningsområden (omfattande fältarbete), och en mödosam datainsamling (mikopreparering och sekvensering).

Material och metoder

Materialet i detta projekt har insamlats i hela Sverige under många år, och till en mindre del under den nu aktuella projektperioden. Vi har samlat på alla ställen där fåborstmaskar finns: i hav, havsstränder, sjöar, dammar, rinnande vatten, källor, våt och torr jord, torv.

Vi har vi idag egna genetiska data tillgängliga för drygt 5 600 svenska och 2 500 norska gördelmaskar; här ingår då 72 individer av iglar. Antalet arter i detta stora material kan jag bara uppskatta grovt, till drygt 400.

Ur materialet plockar jag och mina studenter ut lämpliga portioner för systematisk och taxonomisk bearbetning, och vi använder en kombination av morfologiska observationer, mitokondriella (främst COI) och nukleära markörer (ITS, H3) för att på bästa sätt kunna avgränsa fylogenetiska arter.

Resultat och publikationer

Flera delprojekt har slutförts under perioden 2011–2013. De redovisas i korthet här.

Envall, I., Gustavsson, L. M., & Erséus, C. 2012. Genetic and chaetal variation in *Nais* worms (Annelida: Clitellata: Naididae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 165: 495-520. (doi: 10.1111/j.1096-3642.2012.00828.x)

Merparten av arbetet med denna publikation gjordes innan 2011, men 75 individer (vouchers – som mikropreparat) av de nio *Nais*-arter som arbetet behandlar, tillsammans med detaljerade fynddata, har nu införlivats i Naturhistoriska riksmuseets samlingar och samlingsdatabas.

Achurra, A. & Erséus, C. 2013. DNA barcoding and species delimitation: the *Stygodrilus heringianus* case (Annelida, Clitellata, Lumbriculidae). *Invertebrate Systematics* 27:118-128. [<http://gup.ub.gu.se/records/fulltext/176727/176727.pdf>]

Vi visade här att en av Sveriges allra vanligaste sötvattensoligochaeter, *Stygodrilus heringianus*, trots stor variation i COI-genen, bara är en enda art. Artikeln är en varning att DNA-barcoding inte alltid är så enkelt som en del kanske tror! Vouchers av 45 svenska individer nu i Naturhistoriska riksmuseet

Martinsson, S., Achurra, A., Svensson, M. & Erséus, C. 2013. Integrative taxonomy of the freshwater worm *Rhyacodrilus falciformis* s.l. (Clitellata: Naididae), with the description of a new species. *Zoologica Scripta* 42: 612-622. (doi:10.1111/zsc.12032).

Även här visade sig att en välspredd och genetiskt variabel morfoart, *Rhyacodrilus falciformis*, som är en viktig indikator för utsipprande grundvatten, bara är en biologisk art. I samma arbete beskrivs en närstående, ny art från franska Alperna som skiljer sig från *R. falciformis* i både COI och nukleärt DNA (ITS-regionen); den uppvisar också en liten men distinkt morfologisk skillnad, som tidigare varit svår att "tro på" utan det genetiska stödet. Vouchers av 30 individer från olika delar av Sverige nu i Naturhistoriska riksmuseet.

Martinsson, S., & Erséus, C. 2014. Cryptic diversity in the well-studied terrestrial worm *Cognettia sphagnetorum* (Clitellata: Enchytraeidae). *Pedobiologia* 57: 27-35. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.pedobi.2013.09.006>)

Det första arbetet i en serie om det vanliga terrestra enchytraeid-släktet *Cognettia*. Här visar vi med hjälp av genetiska data att det finns kryptiska arter inom två "välkända" morfoarter, *C. sphagnetorum* (fyra arter) och *C. glandulosa* (två arter). Materialet är främst från Norge och Sverige, men även från andra europeiska länder. Inom kort (våren 2014) kommer vi att skicka in ett taxonomiskt arbete som också beskriver morfologin och reder ut nomenklaturen för arterna i *sphagnetorum*-komplexet. Där kommer också en nyckel till dessa arter att presenteras. Två av dem kan dock inte alls urskiljas från varandra morfologiskt. Ett hundratal vouchers (svenskt material av våra fyra "*sphagnetorum*-arter") kommer snart att deponeras på Naturhistoriska riksmuseet. Min doktorand Svante Martinsson har även påbörjat beskrivningarna av de två arterna inom "*C. glandulosa*".

Martinsson, S., Rhodin, C. & Erséus, C. 2015. Barcoding gap, but no support for cryptic speciation in the earthworm *Aporrectodea longa* (Clitellata: Lumbricidae). Mitochondrial DNA. (<http://dx.doi.org/10.3109/19401736.2015.1115487>; published online)

Här visar vi att den "långa daggmasken" (*Aporrectodea longa*), som i Skandinavien förekommer som två distinkta grupper av individer (grupperna skiljer sig med 7-8% i streckkodnings-genen COI), ändå bara är och samma art. Detta baseras på data i de nukleära markörerna ITS och H3. Arbetet startade med en pilotsundersökning (ett kandidatarbete) av en student (Caroline Rhodin), och sedan fortsatte vi tillsammans med den slutgiltiga studien.

Andra pågående taxonomiska delprojekt

Jag har i tidigare redovisningar nämnt mitt arbete med den viktiga modellorganismen *Enchytraeus albidus*. Detta taxon innehåller minst fyra olika arter, varav tre finns i både Sverige och Norge, och studien borde vid det här laget redan varit publicerad. Den genetiska delen är färdigställd sedan länge, men tidsbrist har gjort att jag ännu inte klarat av att slutföra den morfologiska delen, som bl.a. ska innehålla en neotypifiering av *E. albidus* s. str.

Svante Martinsson kommer i en nästa fas av sitt avhandlingsarbete att ge sig på daggmasksläktet *Dendrodrilus*, som är vanligt i hela Skandinavien. De flesta specialister betraktar idag gruppen som en enda variabel art, *D. rubidus*. Vi tror dock, som Stöp-Bowitz föreslog på 1960-talet, att den representerar fem olika arter i vårt svensk-norska material. Vi har fem mitokondriella kluster (COI-genen) bland våra 657 individer, och även om distanserna mellan dem inte är särskilt höga (bara 3–5%), uppvisar maskarna morfologiska skillnader som stöder denna uppdelning.

Svante ska nu bl.a. försöka fastställa om det finns skillnader i kromosomantal mellan dessa grupper. Sekvensering av den nukleära ITS-regionen har inte fungerat på detta material; ITS förekommer troligen i olika kopior hos de olika utvecklingslinjerna.

Min andra doktorand, Yingkui Liu, skriver nu sin omfattande revision av artkomplexet "*Limnodrilus hoffmeisteri*" (Naididae), ett taxon som fått epitetet "the commonest, most widely distributed tubificid [idag =naidid]" (Brinkhurst & Jamieson, 1971). Yingkui har analyserat morfologi och DNA på totalt ca 300 individer, från ett 25-tal olika länder. Materialet representerar ett tiotal distinkt olika arter, och även om Sverige tillhandahållit oss de allra flesta proverna av *L. hoffmeisteri*, är det ändå förvånade att vi har så många som 7–8 stycken av dessa kryptiska arter i vårt lilla nyligen nedisade land! Flera av de kryptiska formerna av *L. hoffmeisteri* är tydligen mer eller mindre kosmopolitiska i sin utbredning.

Under 2011–2013 ägnade jag själv mycket tid åt att slutföra en kartläggning av svenska och norska daggmaskar (familjen Lumbricidae), som påbörjades redan 2007. Syftet har varit att med hjälp av COI-streckkoder identifiera alla i Sverige och Norge förekommande arter, inklusive potentiella kryptiska artlinjer.

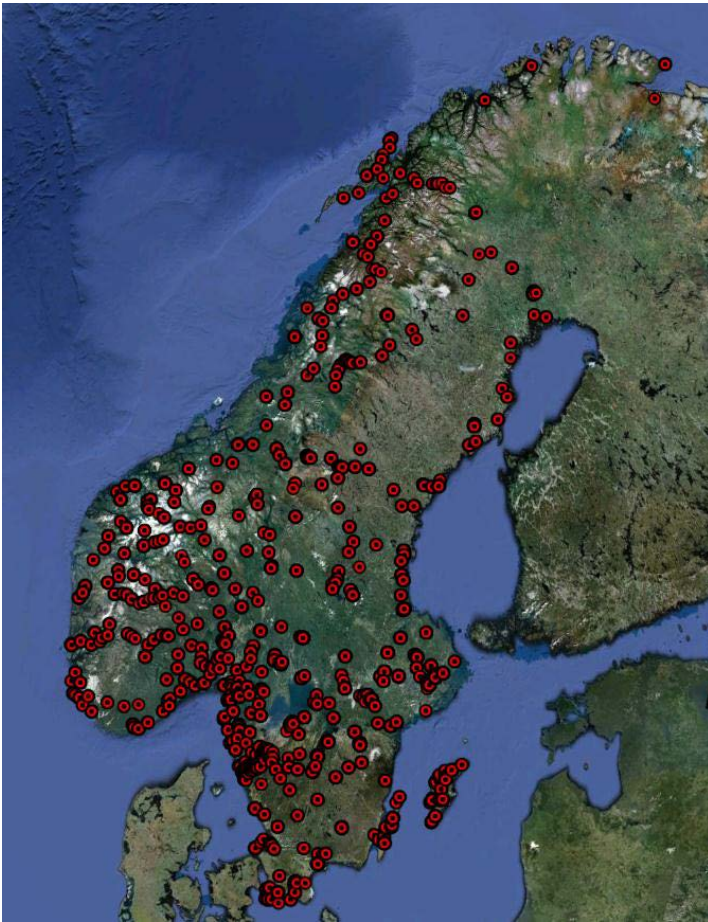
Totalt insamlade jag (med viss hjälp) ca 8 800 daggmaskar från 732 lokaler på Skandinaviska halvön (och Svalbard!); se karta nedan. Av individerna har ca 4 700 blivit streckkodade, och de delar upp sig i 50–60 kluster (potentiella arter), antalet beror på var man drar gränsen (8–10 %) för skillnad mellan klustren.

Syftet är nu att publicera dessa data (med prickkartor över alla arter/linjer) tillsammans i en gemensam publikation (Erséus & Willassen, under preparation). Detta material kommer också att lämpa sig mycket bra för registrering i Artportalen och motsvarande databas i Norge. Representativa streckkoder för de olika klustren har redan, och kommer även ytterligare, att registreras i BOLD, via NORBOL (för Norge) och förhoppningsvis den liknande databas som nu planeras i Sverige.

Nya fynd

Jag har uppdaterat den min egen Sverigelista för dagmaskar som jag tidigare bifogade min senaste redovisning till ArtDatabanken i mars 2013: nu gäller istället det bifogade dokumentet "Sverigelistan_Earthworms_Erseus_2014. Där framgår att jag i Sverige under 2013 insamlade och streckkodade även arten *Allolobophorida eiseni*. Den arten var känd från Skäralid (Söderåsens Nationalpark) i Skåne redan på 1940-talet, och jag återfann den just på denna lokal ifjol.

I dagmasklistan har jag även korrigerat ett par tidigare misstag: (1) Jag har justerat ner antalet kryptiska arter av *Dendrobaena attemsi* (nu tre, tidigare fyra) och *Lumbricus rubellus* (nu tre, tidigare fyra). (2) Jag har också kommit fram till att det jag tidigare kallat en fjärde kryptisk art av *Aporrectodea caliginosa*, nog bör identifieras som *Aporrectodea trapezoides*. För Sveriges del gäller detta ett enda fynd från Göteborg av en art som går under det namnet i andra delar av Europa.



Insamlingslokaler för skandinaviska (streckkodade) dagmaskar (2007–2012). [Kartan saknar 44 nya lokaler från 2013, de flesta i Norge, men även några i Blekinge, Skåne, Härjedalen, Lappland och Västerbotten.]

Rapport granskad och godkänd: 2016-03-15