

УДК 575.17:599.323.45(477)

О видовом разнообразии мышей рода *Sylvaemus* в Украине

Сергей Гащак, Стивен Хуфер, Юлия Маклюк, Хезер Микс,
Джеф Викилф, Роберт Бейкер

Про видовое розмаїття мишей роду *Sylvaemus* в Україні. — Гащак С., Хуфер С., Маклюк Ю., Микс Х., Вікліфф Дж., Бейкер Р. — Результаты анализа последовательности гена цитохрому-*b* у 211 зразках, отриманих від мишей підроду *Sylvaemus* на території України, виявили наявність 4 видів: *S. flavicollis*, *S. sylvaticus*, *S. uralensis* та *S. witherbyi*. Вперше було показано, що на теренах України мешкає дві добре відокремлені генетичні форми *S. sylvaticus*: «північна» і «південна», — які раніше були виявлені в Західній Європі. Більш того, вперше виявлені місця їх симпатрії, на півночі України. Обговорюється валідність назв видів, відомих як *S. arianus* та *S. tauricus*.

Ключові слова: систематика, таксономія, філогеографія, цитохром-*b*, *Apodemus*, *Sylvaemus*

Адреса: а/с 151, вул. 77-ї Гвардійської дивізії, 7/1, м. Славутич, Київська обл., 07100, Україна.
E-mail: sgaschak@chornobyl.net.

On species diversity of wood mice of the genus *Sylvaemus* in Ukraine. — Gaschak S., Hooper S. R., Makluk Ju., Meeks H., Wickliffe J., Baker R. — Analysis of cytochrome-*b* sequence data in 211 specimens of mice genus *Sylvaemus* obtained in Ukraine revealed 4 species: *S. flavicollis*, *S. sylvaticus*, *S. uralensis*, and *S. witherbyi*. For the first time there was shown that 2 well separated genetic forms of *S. sylvaticus* inhabit in Ukraine: 'northern' and 'southern'. They were found out in Western Europe before. Moreover, area of their sympatric living was revealed in northern Ukraine. Validity of names for species known as *S. arianus* and *S. tauricus* is discussed.

Key words: *Apodemus*, cytochrome-*b*, phylogeography, *Sylvaemus*, systematics, taxonomy.

Address: P.O. Box 151, 7/1, 77th Gvardiiskoi Dyvizii str., Slavutych, Kyiv region, 07100, Ukraine.
E-mail: sgaschak@chornobyl.net.

Введение

Как известно, в результате морфологических, цитогенетических и генетических исследований последних десятилетий прежде монотипичные и широко распространенные в Палеарктике виды позвоночных в действительности оказались поливидовыми таксономическими системами с различной глубиной дифференцировки. Изучение их систематики и филогеографии позволяет раскрыть многие секреты видообразования, имевшие место в постледниковый период (Загороднюк, 2005). В частности, несмотря на длительную историю исследований мышей рода *Apodemus*, они по-прежнему остаются в центре внимания ввиду «размытости» морфологических, генетических и пространственных меж- и внутривидовых границ. Например, в западной Палеарктике, в зависимости от предпринятых методических подходов, различные авторы выделяли от 2 до 15 видов только рода *Sylvaemus* (Corbet, 1978; Воронцов и др., 1989, 1992; Filippucci et al., 1989, 1996; Орлов и др., 1996; Загороднюк и др., 1997; Mezherin, 1997; Musser, Carleton, 1993, 2005; Michaux et al., 2002; Musser et al., 1996), а различные популяции или отдельные коллекционные экземпляры лесной мыши описаны или определены более чем 50 различными видовыми названиями (Musser, Carleton, 2005).

Проблемы кроются в морфологическом крипсисе и ошибочном определении животных, в концептуальном понимании того, какие критерии являются достаточными для выделения нового вида и определения таксономического ранга. Современные технологии сравнительно-

генетического анализа предоставляют возможность более взвешенно подойти к решению проблемы идентификации популяций и их географической структуры, они также должны разрешить споры о таксономии и систематике *Apodemus*.

Для этих целей наиболее подходит метод анализа митохондриального цитохрома-*b* (МЦБ): и с позиции количественного анализа, и с позиции анализа филогенеза, и по стоимости, и по доступности. В настоящее время в генетическом банке GenBank¹ доступно более 700 известных частичных или полных последовательностей МЦБ, представляющих 18 видов рода *Apodemus*. Данные по МЦБ исключительно удобны для видовой идентификации, поскольку исключают внутри и межвидовое перекрытие за счет изменчивости и при этом включают филогенетический контекст (Bradley, Baker, 2001, Baker, Bradley, 2006). В частности, исследования *Apodemus* демонстрируют, что межвидовые различия по МЦБ в 3–4 раза превосходят внутривидовые (напр., Michaux et al., 2002).

Внимание авторов данного сообщения к изучению мышей рода *Sylvaemus* на всей территории Украины продиктовано тем, что в 1994–2002 гг. в ходе популяционно-генетических исследований мелких млекопитающих в Чернобыльской зоне и на прилегающих территориях у мышей *S. sylvaticus* были обнаружены признаки более глубоких межпопуляционных отличий, чем это характерно для внутривидового разнообразия. В то же время, согласно сводкам последних десятилетий (Baker et al., 1996; Mezhzherin, 1997; Гащак и др., 2000; Musser, Carleton 2005), на севере Киевской области может быть только два вида *Sylvaemus* (*S. flavicollis* = *S. tauricus*, *S. sylvaticus*) из 4 обитающих в Украине (*S. arianus*, *S. flavicollis*, *S. sylvaticus*, *S. uralensis*). Между тем, собственно генетических исследований данной группы на территории Украины никто не проводил, все выводы базировались на анализе морфологической, кариологической или аллозимной изменчивости. Кроме того, изучение литературной информации продемонстрировало не только разнообразие точек зрения на видовой состав этого рода (Воронцов и др., 1992; Musser, Carleton, 1993; Musser et al., 1996; Орлов и др., 1996; Загороднюк и др., 1997; Межжерин, 1997; Michaux et al., 2002), но и противоречивость номенклатурных решений (напр., Krystufek, 2002 и Zagorodnyuk, Tkach, 1996).

В настоящем сообщении изложено краткое и несколько измененное содержание работы того же авторского коллектива, опубликованной в начале 2007 г. в «Journal of Mammology» (Hooper et al., 2007). Основными целями исследования были:

- 1) идентификация видов *Sylvaemus* по последовательности МЦБ,
- 2) проверка предыдущих гипотез о разнообразии *Sylvaemus* в Украине,
- 3) изучение географического распространения *Sylvaemus* в Украине,
- 4) обсуждение полученных результатов в контексте прошлых и нынешних знаний о систематике и таксономии *Sylvaemus*.

Материалы и методы

Образцы животных. Летом 2004 г. в 17 пунктах северной (n=3), западной (4), центральной (2) и южной (8) Украины были отловлены 211 особей, относящихся к роду *Sylvaemus* (Рис. 1). У каждой особи отбирали образцы печени и помещали в 5 мл раствора лизис-буфера (Longmire et al., 1997) для стабилизации ДНК.

Шкурки и черепа животных после стандартной подготовки передавали на хранение в музей Техасского технологического университета (Лаббок, Техас, США) и в банк проб Международной радиоэкологической лаборатории (Славутич, Украина).

Для сравнения и оценки частоты распределения гаплотипов в Украине также использовали данные о последовательности МЦБ в 224 образцах из GenBank (см. Hooper et al., 2007). Из них 171 образец представлен *S. flavicollis* (98) и *S. sylvaticus* (73), отловленными возле Чернобыля в предыдущие годы (Dunina-Barkovskaya 2004; Makova et al. 2000), а также *S. flavi-*

¹ Информация доступна по адресу: www.ncbi.nlm.nih.gov.

collis (10) и *S. sylvaticus* (10) из других европейских стран. Кроме того использовали данные по другим видам рода *Sylvaemus* (3 *alpicola*, 4 *epimelas*, 2 *hermonensis*, 3 *iconicus*, 6 *mystacinus*, 2 *pallipes*, 5 *uralensis*). Еще 8 образцов, относящихся к родам *Gurkha* (3 *gurkha*) и *Apodemus* (3 *agrarius*, 2 *speciosus*), использовали в филогенетическом анализе как внешнюю по отношению к *Sylvaemus* группу видов (Chelomina 1998; Serizawa et al., 2000; Michaux et al., 2002; Filippucci et al. 2002; Liu et al., 2004). Описание последовательностей МЦБ, взятых из GenBank, принадлежит Jansa et al. (1999), Makova et al. (2000), Martin et al. (2000), Serizawa et al. (2000), Michaux et al. (2002, 2003, 2004, 2005a), Suzuki et al. (2003, 2004), Krystufek, Mozetic-Francky (2005). Список и подробное описание проанализированных животных можно найти в каждой из этих публикаций.

Молекулярные методы. ДНК экстрагировали из печени стандартным фенольным методом (Longmire et al. 1997). Для амплификации гена МЦБ использовали метод полимеразной цепной реакции (e.g., Liu et al., 2004) и праймеры L14724, H15915R (Irwin et al., 1991). Двойные цепочки ПЦР-ампликонов очищали с использованием наборов QIAquick PCR Purification Kit™ (Qiagen, Inc., Chatsworth, California), последовательность цепочки определяли с помощью Big-Dy™ ver.3.1 после электрофореза на анализаторе 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Inc., Foster City, California). В образцах определяли последовательность только первых 392 пар оснований с подходящим внешним праймером и праймером MVZ 04 (Smith, Patton 1993), поскольку большинство данных, доступных из GenBank, соответствует первым 392–800 парам оснований. Полученные перекрывающиеся фрагменты собраны с помощью AssemblyLIGN™ 1.0.9 software (Oxford Molecular Group PLC 1998).



Рис. 1. Пункты отловов животных в Украине (нумерация пунктов на схеме соответствует порядковому номеру пункта в табл. 1).

Филогенетический анализ. Множественная выверка последовательности выполнена с помощью Clustal X software (Thompson et al. 1997) и проверена с помощью MacClade software (ver.4.0; Maddison, Maddison 2002) для гарантии того, что вставки, делеции и стоп-кодены отсутствуют как в наших образцах, так и в тех, что получены из GenBank. Нуклеотиды рассматривались как неупорядоченные, дискретные характеристики, а множественные состояния – как полиморфизм. Уровень филогенетических сигналов оценен с помощью PAUP* software (4.0b10; Swofford 2002) и g1-statistic (Hillis, Huelsenbeck 1992) для 100 000 случайно построенных кладограмм. Количество и частота гаплотипов МЦБ определены с помощью Collapse 1.2 software (Posada 2004), исключив избыточность дальнейших анализов.

Для идентификации 211 неизвестных особей *Sylvaemus* построена Neighbor Joining дендрограмма (PAUP software, v.4.0b10; Swofford 2002). Для сравнения с результатами предыдущих исследований проведен расчет расстояний Kimura 2-parameter distances для всех парных сравнений гаплотипов. Затем был выполнен детальный филогенетический анализ для проверки достоверности выделения групп в Neighbor-Joining дендрограмме, и соответствия между фенетическим (Neighbor-Joining) и филогенетическим методами. Для этого использованы следующие анализы: Bayesian (MrBayes v.2.01; Huelsenbeck, Ronquist 2001) и Maximum Likelihood and Parsimony (PAUP v.4.0b10; Swofford 2002). Модель обратного времени (GTR), допускающая гамма-распределение для скорости изменчивости (G) и для инвариантных участков (I) наилучшим образом подходит для данных по МЦБ при использовании теста Akaike Information Criterion в программе Modeltest 3.06 software (Posada, Crandall 1998).

Исходя из предварительного анализа, исходный набор данных был уменьшен до тех, что включают 2–5 последовательностей на предполагаемый вид. Гаплотипы выбирали произвольно, чтобы наилучшим образом представить диапазон разнообразия внутри вида (т.е. наиболее дивергировавшие гаплотипы). Целью методического подхода было уменьшение числа таксонов и размера гомоплазии для обеспечения bootstrap анализа (250 итераций) по критериям Parsimony и Maximum Likelihood (Felsenstein 1985), а не только оценка надежности кладограммы по критерию Bayesian. Для анализа Maximum Likelihood использованы модель GTR+G+I и параметры Modeltest, дендрограмма Neighbor Joining и двухсекционный обмен ветвями. Для анализа Parsimony – все равновероятные варианты характеристик и подстановок, дендрограмма Neighbor Joining и двухсекционный обмен ветвями. Значения bootstrap анализа не менее 70 % и последующей вероятности $\geq 0,95$ принято считать значимыми.

Более подробное описание исходных образцов, а также методов исследования и анализа изложено в предшествующей статье (Hoover et al., 2007). Детальное описание первичных результатов и заключение о качестве выполненного анализа представлены в той же статье.

Результаты и их обсуждение

Филогеографические характеристики *Sylvaemus*. В ходе исследований установлено наличие 4-х видов мышей рода *Sylvaemus*: *S. flavicollis*, *S. sylvaticus*, *S. uralensis* и *S. witherbyi* (табл. 1, рис. 2). И, хотя применимость некоторых видовых названий остается предметом дискуссий (см. ниже), результаты исследований в целом согласуются с ранее опубликованными данными о составе и географическом распространении этой группы в Украине (Zagorodniuk, 1996; Межжерин и др., 2002; Musser, Carleton, 2005). *S. flavicollis* (n=121) пойманы во всех пунктах, за исключением южной материковой части; *S. sylvaticus* (n=34) — везде, кроме Крыма; *S. uralensis* (n = 16) и *S. witherbyi* (n=40) — только на юге Украины, включая материковую часть и Крым. Наиболее высокий уровень разнообразия гаплотипов (n=30) установлен у *S. flavicollis* (табл. 1), что согласуется с данными других авторов (Michaux et al., 2004, 2005b). У остальных трех видов *Sylvaemus* (*sylvaticus*, *uralensis*, *witherbyi*) выявлено только 10, 4 и 4 гаплотипа, соответственно. При этом частота и состав гаплотипов в пределах вида варьировали от региона к региону (табл. 1). Показано наличие как уникальных, так и широко распространенных гаплотипов.

Таблица 1. Распределение гаплотипов МЦБ у 4-х видов *Sylvaemus* в 17 пунктах Украины. Показаны порядковые номера гаплотипов и в скобках — количество особей. Выделенным шрифтом показаны гаплотипы *S. sylvaticus* «северной» формы, остальные — «южной» формы.

Пункт отлова	<i>S. sylvaticus</i> (n=115) As	<i>S. uralensis</i> (n=16) Au	<i>S. witherbyi</i> (n=40) Aw	<i>S. flavicollis</i> (n=220) Afl
Запад				
1. Рахов				2 (1), 11 (1), 12 (1), 13 (4), 15 (3), 16 (1), 17 (1), 18 (2), 19 (1), 20 (1), 21 (1)
2. Кельменцы	7 (2), 9 (1)			3 (4), 13 (1), 19 (1), 22 (1), 23 (1)
3. Тереховля				7 (2), 11 (5), 12 (1), 13 (1), 14 (1)
4. Изяслав	8 (1)			1 (2), 2 (1), 10 (1)
Север				
5. Коростышев	7 (9)			1 (1), 9 (2)
6. Чернобыль	1 (47), 2 (9), 3 (8), 4 (1), 5 (7), 6 (1)			1 (56), 2 (29), 3 (5), 4 (1), 5 (1), 6 (5), 7 (1)
7. Неданчичи	1 (2), 7 (6), 9 (1), 10 (1)			8 (1), 27 (5)
Центр				
8. Печера	10 (1)			3 (2), 13 (2), 19 (9), 24 (4), 25 (1)
9. Смела	10 (1)			3 (1), 26 (1)
Юг (материк)				
10. Гладковка		1 (5), 2 (4), 3 (2), 4 (3)		
11. Красное	7 (12), 9 (3)		1 (2), 2 (2)	
12. Озерное	9 (2)		1 (1)	
Юг (полуостров)				
13. Оленевка			1 (10), 2 (1), 3 (1)	
14. Ключевое		4 (1)	1 (5), 2 (1)	3 (8), 28 (1)
15. Насыпное			1 (12), 4 (1)	3 (3)
16. Старый Крым		4 (1)		3 (20), 28 (3), 29 (1)
17. Солнечная Долина			1 (4)	3 (13), 28 (4), 30 (1)

Анализ (Neighbor-joining) установил наличие 11 кластеров видового уровня (рис. 2): *S. agrarius*, *S. alpicola*, *S. epimelas*, *S. flavicollis*, *S. gorkha*, *S. mystacinus*, *S. pallipes*, *S. speciosus*, *S. sylvaticus*, *S. uralensis* и *S. witherbyi*. Расстояние по критерию Kimura 2-parameter внутри каждого из 11 кластеров в среднем составило 1,64 %, изменяясь от 0,00 % (*alpicola*) до 3,55 % (*sylvaticus*), тогда как между кластерами — 13,9 %, варьируя от 5,43 % (*pallipes-uralensis*) до 18,8 % (*epimelas-speciosus*) (табл. 2).

Таким образом, расстояние между близкородственными видами в 5–6 раз превышает расстояние внутри каждого из них. Тем не менее, нижний предел межвидового сравнения был только в 1,3 раза больше дистанции между особями внутри видов: 6,35 % — максимальная дистанция внутри *S. sylvaticus*, тогда как минимальная дистанция между *S. sylvaticus* и *S. flavicollis* составила 8,37 %. Bayesian анализ всей совокупности данных дал подобную структуру.

Таблица 2. Среднее генетическое расстояние (%) (Kimura 2-parameter) внутри (диагональ) и между видами рода *Apodemus* по результатам анализа гена цитохрома-b.

Таксон	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. <i>agrarius</i>	0,59									
2. <i>speciosus</i>	13,47	1,81								
3. <i>epimelas</i>	17,45	18,79	0,89							
4. <i>mystacinus</i>	17,88	17,28	12,88	2,04						
5. <i>alpicola</i>	13,43	16,09	16,40	14,49	0,00					
6. <i>pallipes</i>	13,15	12,67	18,07	15,31	8,14	2,00				
7. <i>uralensis</i>	14,69	15,17	16,95	15,10	9,12	5,43	1,48			
8. <i>flavicollis</i>	16,68	16,28	18,06	16,61	8,08	7,88	10,01	1,01		
9. <i>sylvaticus</i>	17,01	17,12	18,67	17,39	12,94	11,27	14,12	10,91	3,35	
10. <i>witherbyi</i>	15,29	16,55	16,08	17,02	9,83	11,76	11,36	12,75	12,66	1,00

Пригодность анализа МЦБ для оценки филогенетических связей. Несмотря на надежность идентификации мышей посредством анализа последовательности МЦБ, он пока не позволяет оценить филогенетические связи внутри рода (более подробно об этом в: Hoofer et al., 2007). Вполне возможно, что это будет по силам с помощью анализа оставшихся 2/3 гена МЦБ (напр., Liu et al., 2004). Тем не менее, установленные кластеры видового уровня имеют более чем в 2,7 раз большее генетическое отличие, чем между особями внутри кластеров (Табл. 2). Это значение включает по крайней мере 1 близкородственную связь, отмеченную в предыдущих исследованиях (напр., *pallipes*–*uralensis* (Darviche et al., 1979) или *sylvaticus*–*uralensis* (Межжерин, Зыков, 1991; Mezhzherin, 1997).

Распространение *S. sylvaticus*

Как ранее уже обсуждалось (Michaux et al., 2003, 2005b), континентальная европейская популяция *S. sylvaticus* характеризуется высоким уровнем внутривидового полиморфизма МЦБ, и состоит из 2 генетических форм, разделение которых, по-видимому, произошло 1,5–1,6 млн лет назад (5,4% maximum Kimura 2-parameter distance). Согласно этим авторам, ареал «северной» формы (названная «подкластером 2b») охватывает значительную часть Европы, от юга Испании до Швеции на севере и Украины на востоке, тогда как «южная» форма («подкластер 1a») встречается только в Италии, Балканах и западной части Турции (рис. 3).

Michaux et al. (2003, 2005b) сделали вывод, что эти две формы представляют собой популяции одного вида, дивергировавшие в результате изоляции в 2 рефугиумах (Иберийский полуостров и Итало-Балканский регион) в течение ледникового периода кайнозоя. Авторы выдвинули гипотезу, что существующая ныне «северная» форма — результат последнеледниковой реколонизации и быстрой экспансии вида с юго-запада Европы через почти всю западную Палеарктику, тогда как «южная» форма — результат более медленного, возможно, ограниченного Альпами и Карпатами, восстановления ареала из Итало-Балканского центра на восток до Турции. Этими авторами (Michaux et al., 2003, 2005b) проанализированы только 4 образца с Восточной Европы (взятые из GenBank), полученные от животных из района Чернобыля в конце 90-х годов. Все они относились к «северной» форме и представляли наиболее восточный установленный предел ее распространения в Европе. Michaux et al. (2003, 2005b) заключили, что ареалы «северной» и «южной» форм, по имеющимся на тот момент времени данным, нигде не перекрываются.

Настоящее исследование не только подтвердило существование ранее описанной генетической структуры *S. sylvaticus*, но и установило присутствие в Украине как «северной» формы (гаплотипы As 1–6), так и «южной» (гаплотипы As 7–10). Нами установлено, что все 73 особи из района Чернобыля относятся к «северной» форме. В то же время особи из южных, центральных и западных регионов Украины, а также из одного пункта северной Украины (Коростышев), принадлежат к «южной» форме (табл. 1, рис. 2, 3).

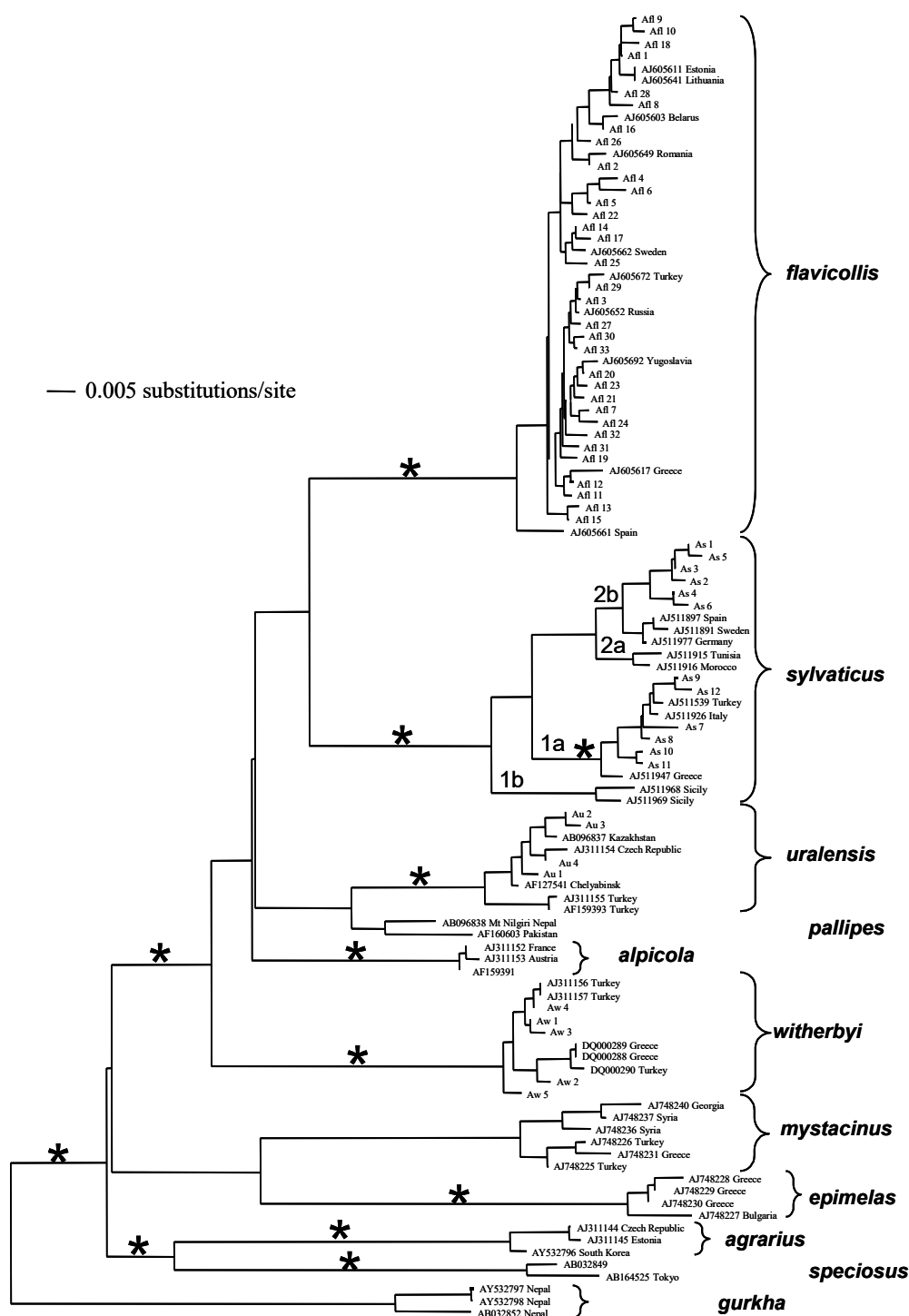


Рис. 2. Кладограмма генетических дистанций (Kimura 2-parameter) у мышей рода *Apodemus*, включая данные по животным, отловленным в Украине (указаны названия гаплотипов), и взятые из GenBank (указаны регистрационные номера гаплотипов). Звездочкой (*) обозначены вероятности Bayesian posterior probabilities ≥ 0.95 . Группы 1a, 1b, 2a, и 2b соответствуют генетическим формам *S. sylvaticus* (Michaux et al., 2003, 2005b), из которых «северная» (2b) и «южная» (1a) континентальные формы присутствуют в Украине.

Более того, в одном и том же пункте: возле с. Неданчичи (северный регион), в 3 км от Днестра и 40 км на северо-восток от Чернобыля, отловлены особи, принадлежащие как к «северной», так и к «южной» форме. Таким образом обнаружена зона симпатрии двух форм.

Возникает естественный вопрос: а не являются ли эти генетические формы самостоятельными «хорошими» видами или, по крайней мере, «малыми» видами? Michaux et al. (2003) пришли к такому выводу на основе сравнения других значений генетической дивергенции, представленных в литературе (Bradley, Baker, 2001; Michaux et al., 2002). Существуют и другие свидетельства в пользу этого вывода. Например, «южная» форма может соответствовать *A. vohlynensis* Migulin, 1938, описанному несколько десятилетий назад на основе морфологических признаков (типовое местонахождение в Житомирской области).

Орлов и соавторы (1996), приняв во внимание существенные отличия хромосомного гетерохроматина у лесных мышей, обитающих в южной части Восточной Европы (Болгария, Украина, Брянская область России), и у мышей из центральной Европы (Германия), пришли к выводу о видовом уровне их дифференциации, разделив на *A. vohlynensis* и *A. sylvaticus*. Географически, точки, для которых получено описание «*vohlynensis*», совпадают с областью распространения «южной» генетической формы лесных мышей, тогда как «*sylvaticus*» — с «северной». Вместе с тем в работе С. В. Межжерина (Mezhzherin, 1997) представлено прямо противоположное распределение «*vohlynensis*» и «*sylvaticus*» на карте Восточной Европы. Правда в этой работе автор не указывает почему он отнес проанализированные популяции к данным гетерохроматиновым формам.

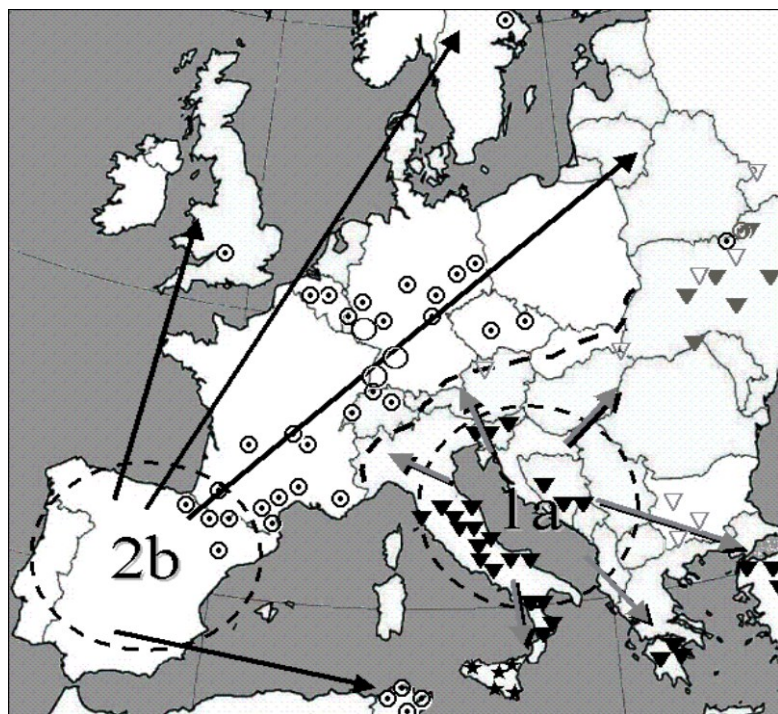


Рис. 3. Географическое распределение «северной» (2b, кружок с точкой) и «южной» (1a, черный треугольник) генетических форм *Sylvaemus sylvaticus* (по: Michaux et al., 2003, 2005b) на территории Европы. На территории Украины — эти же формы по материалам данного исследования. Пунктирными окружностями указаны места возможного нахождения древних рефугиумов этих форм, а стрелками — возможные направления их постледниковой реколонизации. Кружками без точек указаны места описания гетерохроматиновой формы «*sylvaticus*», а белыми треугольниками — формы «*vohlynensis*» (по: Орлов и др., 1996).

Это исследование также поставило другие важные вопросы, независимо от проблемы видового и конспецифичного статуса двух форм. Какие пределы распространения вида в целом, и какова природа и размеры зон интеграции? До какой степени скрещиваются особи разных форм? Представляет ли «южная» форма популяции, распространившиеся в послеледниковый период с Итало-Балканского региона (Michaux et al., 2003, 2005b) или из рефугиумов на юге, юго-востоке от Украины (Bilton et al., 1998)? Для разрешения этих и других вопросов необходимы дополнительные исследования, включающие анализ полиморфизма ядерной ДНК, параллельный кариологический анализ, тщательную ревизию существующих типовых экземпляров и предыдущих номенклатурных решений.

Таксономия

В таксономии мышей рода *Sylvaemus*, несмотря на длительную историю ее исследований, остается еще немало поводов для продолжающихся дискуссий. В связи с этим данные о МЦБ могли бы помочь в поиске возможных решений.

Один пример — это кластер, определенный в наших исследованиях как *S. witherbyi* (Thomas, 1902), внутри которого присутствует четыре гаплотипа (40 особей) из южной материковой Украины (n=5) и Крымского полуострова (n=35), и пять гаплотипов из GenBank (рис. 2): 2 ранее идентифицированы как *A. hermonensis* (Michaux et al. 2002; из Турции, AJ311156–AJ311157); три — как *A. iconicus* (Krystufek, Mozetic Francky 2005; о. Родес, Греция, DQ000288–DQ000289; о. Босцаада, Турция, DQ000290).

В XX веке *S. witherbyi* рассматривали в основном как синоним других видов *Sylvaemus*, или как подвид *S. sylvaticus* (Ellerman 1941) или *S. arianus* (Musser, Carleton, 1993). Сейчас (Musser, Carleton, 2005) это название рассматривается как наиболее старое известное для мелких *Sylvaemus* из юго-восточной Европы и Ближнего Востока и соответствующее по диагностическим признакам *S. hermonensis* (Storch: в Filippucci et al., 1996) и *S. iconicus* (Krystufek, 2002). Эти признаки включают характерный стефанодонт M1 (и M2, но с меньшей частотой), форму задненебной вырезки, длины ушных барабанов и зубных рядов, а также форму грудного пятна.

Присутствие этого вида на территории Украины установлено еще в 80-х годах (Межжерин, 1987; Межжерин, Загороднюк, 1989), однако под иным именем — *Apodemus falzfeini*. В последующем, после исследований аллозимной и морфологической изменчивости украинской популяции и популяций кавказского, ближневосточного и среднеазиатского регионов, а также после изучения типовых экземпляров и первых описаний, авторы пришли к выводу, что это — *Sylvaemus arianus*, с младшими синонимами *fulvipectus*, *hermonensis* и *chorassanicus* (Загороднюк и др., 1997; Межжерин, 1997). Тем не менее, использование названия «*arianus*», по-видимому, вызвано ошибкой при изучении типовых экземпляров.

Позднее Б. Криштуфек (Krystufek, 2002) на основе сравнения 365 черепов от 3 видов из Турции (*flavicollis*, *hermonensis*, *uralensis*) и типовых экземпляров *Sylvaemus* (*arianus*, *iconicus*, *sylvaticus*, *witherbyi*) показал, что: (1) *S. arianus* (Blanford, 1881) не является частью *S. uralensis* или *S. hermonensis* (а следовательно, не относится к степной мыши с юга Украины) и возможно является младшим синонимом *S. flavicollis*; (2) *S. hermonensis* ранее был описан под несколькими именами и не является новым видом; (3) *S. witherbyi* из Ирана «близок и возможно идентичен *S. hermonensis*» (а следовательно, и степной мыши с юга Украины, а также *S. iconicus*), немного отличаясь более короткими слуховыми барабанами и более короткими нижними зубными рядами; если они идентичны, то тогда *S. witherbyi* — валидное имя, имеющее приоритет перед *S. hermonensis* и *S. iconicus*. В последующем генетическая идентичность *S. hermonensis* и *S. iconicus* установлена посредством анализа МЦБ в трех образцах с островов Греции и Турции, морфологически определенных как *S. iconicus* (все они использованы в нашем исследовании), а также при сравнении их с пятью образцами *S. hermonensis* и четырьмя другими видами *Sylvaemus* (Krystufek, Mozetic Francky, 2005).

Таблица 3. Метрические признаки немолодых *Sylvaemus*, мм (среднее $\pm$ стандартная ошибка, в скобках – диапазон значений. Пять внешних характеристик измерены в полевых условиях у всех животных (121 *S. flavicollis*, 34 *S. sylvaticus*, 16 *S. uralensis*, 40 *S. witherbyi*), характеристики черепа — в музее, с точностью 0,1 мм (29 *S. flavicollis*, 13 *S. sylvaticus*, 13 *S. uralensis*, 27 *S. witherbyi*).

Морфологическая характеристика	Таксон			
	<i>S. flavicollis</i>	<i>S. sylvaticus</i>	<i>S. uralensis</i>	<i>S. witherbyi</i>
L+Ca	214,67 $\pm$ 1,40 (178–246)	177,42 $\pm$ 1,92 (155–200)	181,25 $\pm$ 2,55 (172–203)	181,35 $\pm$ 1,86 (148–200)
Ca	107,42 $\pm$ 0,83 (83–130)	84,13 $\pm$ 1,07 (72–97)	87,25 $\pm$ 2,01 (73–98)	89,70 $\pm$ 1,20 (68–101)
Pl	25,03 $\pm$ 0,09 (22–27)	21,65 $\pm$ 1,36 (17–24)	20,67 $\pm$ 0,31 (18–22)	21,28 $\pm$ 0,14 (19–23)
Au	17,46 $\pm$ 0,15 (11–22)	15,45 $\pm$ 1,18 (12–18)	13,83 $\pm$ 0,52 (11–16)	14,38 $\pm$ 0,24 (12–17)
CbL	25,85 $\pm$ 0,25 (22,8–28,3)	21,91 $\pm$ 0,28 (20,3–23,5)	21,64 $\pm$ 0,17 (20,9–22,9)	21,90 $\pm$ 0,20 (19,8–23,4)
M ₁₋₃	4,22 $\pm$ 0,02 (4,0–4,5)	3,66 $\pm$ 0,02 (3,5–3,8)	3,48 $\pm$ 0,02 (3,3–3,6)	3,64 $\pm$ 0,02 (3,4–3,9)
LBul	5,05 $\pm$ 0,03 (4,7–5,3)	4,34 $\pm$ 0,03 (4,2–4,5)	4,06 $\pm$ 0,05 (3,8–4,2)	4,27 $\pm$ 0,01 (3,9–4,6)

Результаты настоящего исследования подтверждают морфологическую и генетическую идентичность *S. hermonensis* и *S. iconicus* (1,18–1,48 % Kimura 2-parameter distance), а также этих животных и тех, что пойманы в Украине (40 особей, 4 гаплотипа) (табл. 1, рис. 2). По окраске шкурок (13) и краниальным признакам (27) (табл. 3), находящихся в музее Техасского Технологического университета, они все соответствуют диагностическим морфологическим признакам *S. hermonensis* – *S. iconicus* – *S. witherbyi* (Filippucci et al., 1996; Krystufek, 2002), включая стефанодонт M1, конфигурацию заднечелюстной вырезки и вид грудного пятна. Аналогично тому, как это отмечено ранее (Filippucci et al., 1996), частота стефанодонта M1 была немного меньше 100 %, этот признак отсутствовал только у 2 из 27 изученных нами черепов. Кроме того, длина слуховых барабанов у животных из Украины в среднем составила 4,3 мм (3,9–4,6), а нижнего зубного ряда — 3,6 мм (3,4–3,9) (табл. 3), попадая в диапазон значений типовых экземпляров и топотипов *hermonensis*, *iconicus*, *witherbyi* (Storch в: Filippucci et al., 1996; Krystufek, 2002; Krystufek, Mozetic Francky, 2005; Musser, Carleton, 2005). Таким образом, на основе морфологического и филогенетического анализов, мы вслед за Musser, Carleton (2005) рассматриваем *S. hermonensis*, *S. iconicus* и *S. fulvipectus* как младшие синонимы *S. witherbyi*.

Окончательную точку в этой проблеме могла бы поставить проверка ДНК от всех типовых экземпляров, и простой сравнительный анализ результатов наших исследований с данными по иранским животным, у которых есть стефанодонт M1 (т. е. топотипов *S. witherbyi*).

Еще один таксономический вопрос связан с результатами анализа кластера *S. uralensis*, содержащего 4 гаплотипа (16 особей) с южной (материковой) Украины (n=14) и Крымского полуострова (n=2), и 5 — из генетического банка (рис. 2): три из них ранее идентифицированы как *S. uralensis* (Michaux et al., 2002, Чехия, AJ311154; Турция, AJ311155; и Suzuki et al., 2003, Казахстан, AB096837), а два — как *S. microps* (Makova et al., 2000, Челябинск, Россия, AF127541; Martin et al., 2000, Турция, AF159393). *S. uralensis* ныне рассматривают как валидное название мышей мелкого размера рода *Sylvaemus*, ранее имевших название *S. microps* и *S. mosquensis* (Musser, Carleton, 2005).

Синонимия *S. microps* и *S. uralensis* неоднократно отмечалась в морфологических и молекулярных исследованиях мышей этой группы (Межжерин, Михайленко, 1991; Межжерин, Зыков, 1991; Межжерин и др., 1992; Filippucci et al., 1996; Mezhzherin, 1997; Bellinvia et al.,

1999; Macholán et al., 2001; Reutter et al., 2003). Орлов с соавторами (1996) при рассмотрении экземпляров с юга Украины и Крыма рассматривал *S. mosquensis* как отличную форму от *S. uralensis*, но классифицировал ее как вид в пределах «надвида *S. uralensis*».

Настоящее исследование поддерживает идею идентичности *S. microps* и *S. uralensis*, поскольку включает образцы из Челябинска, Россия (AF127541, обозначенные как *S. microps*), которые являются топотипом *S. uralensis* («Россия, Южный Урал»), образцы из Чехии (недалеко от типового местонахождения *S. microps*), а также — из Украины (Крым и левобережная Украина), Казахстана и Турции. Все вместе они различаются не более чем на 1,0 % (Kimura 2-parameter distance), что характерно для типичных конспецифичных вариаций (Bradley, Baker, 2001). Морфологические характеристики шкурок (n=5) и черепов (n=15) от этих животных, соответствуют ранее приведенным описаниям *S. microps* и *S. uralensis* (Filippucci et al., 1996), включая полное отсутствие стефанодонта M1, конфигурацию задненебной вырезки и отсутствие грудного пятна. В нашей коллекции нет ничего, что бы указывало на симпатрическое обитание в южной Украине каких-либо двух мелких видов *Sylvaemus* с подобной комбинацией признаков. Более того, *S. mosquensis* характеризуется теми же морфологическими признаками, что и *S. microps* и *S. uralensis* (Storch в: Filippucci et al., 1996).

Благодарность

Настоящее сообщение подготовлено с согласия соавторов оригинальной работы.

Литература

- Воронцов Н. Н., Боескоров Г. Г., Межжерин С. В. и др. Систематика лесных мышей подрода *Sylvaemus* Кавказа (Mammalia, Rodentia, *Apodemus*) // Зоологический журнал. — 1992. — Том 71, № 3. — С. 119–131.
- Воронцов Н. Н., Межжерин С. В., Боескоров Г. Г., Ляпунова Е. А. Генетическая дифференциация видов-двойников лесных мышей (*Apodemus*) Кавказа и их диагностика // Доклады АН СССР. — 1989. — Том 309, № 5. — С. 1234–1238.
- Гаццак С. П., Бунтова Е. Г., Руденская Г. А., Чижевский И. В. Особенности видового состава насекомоядных (Insectivora) и грызунов (Rodentia) Чернобыльской зоны отчуждения // Вестник зоологии. — 2000. — Том 34, № 6. — С. 51–56.
- Загороднюк І. Біогеографія криптичних видів ссавців Східної Європи // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. — 2005. — Вип. 17. — С. 5–27.
- Загороднюк И. В., Боескоров Г. Г., Зыков А. Е. Изменчивость и таксономический статус степных форм мышей рода *Sylvaemus* (*fulvipesini-fulvipes-hermonensis-arianus*) // Вестник зоологии. — 1997. — Том 31, № 5–6. — С. 37–56.
- Межжерин С. В. Генетическая дивергенция лесных мышей подрода *Sylvimus* // Доклады АН СССР. — 1987. — Том 296, № 5. — С. 1255–1258.
- Межжерин С. В. Ревизия мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) Северной Евразии // Вестник зоологии. — 1997. — Том 31, № 4. — С. 29–41.
- Межжерин С. В., Боескоров Г. Г., Воронцов Н. Н. Генетические связи европейских и закавказских мышей рода *Apodemus* Каур // Генетика. — 1992. — Том 28, № 11. — С. 111–121.
- Межжерин С. В., Загороднюк И. В. Новый вид мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) // Вестник зоологии. — 1989. — № 4. — С. 55–59.
- Межжерин С. В., Зыков А. Е. Генетическая дивергенция и аллозимная изменчивость мышей рода *Apodemus* s. lato (Muridae, Rodentia) // Цитология и генетика. — 1991. — Том 25, № 4. — С. 51–59.
- Межжерин С. В., Лапкова Е. И., Товтинец Н. Н. Географическое распространение, численность и биотопическое распределение лесных мышей рода *Sylvaemus* (Rodentia, Muridae) на территории Украины // Вестник зоологии. — 2002. — Том 36, № 6. — С. 39–49.
- Межжерин С. В., Михайленко А. Г. О видовой принадлежности *Apodemus sylvaticus tschergeri* (Rodentia, Muridae) Алтая // Вестник зоологии. — 1991. — Том 25, № 3. — С. 35–44.
- Орлов В. Н., Козловский А. И., Наджафова Р. С., Булатова Н. Ш. Хромосомные диагнозы и место генетических таксонов в эволюционной классификации лесных мышей подрода *Sylvaemus* Европы (*Apodemus*, Muridae, Rodentia) // Зоологический журнал. — 1996. — Том 75 (1). — С. 88–102.

- Baker R. J., Hamilton M.J., Bussche R. et al. Small mammals from the most radioactive sites near the Chernobyl nuclear power plant // *Journal of Mammalogy*. — 1996. — Vol. 77 (1). — P. 155-170.
- Baker R. J., Bradley R. D. Speciation in mammals and the genetic species concept // *Journal of Mammalogy*, 2006. — Vol. 87. — P. 643–662.
- Bellinvia E., Munclinger P., Flegr J. Application of the RAPD technique for a study of the phylogenetic relationships among eight species of the genus *Apodemus* // *Folia Zoologica*. — 1999. — Vol. 48. — P. 241–248.
- Bilton D. T., Mirol P. M., Mascheretti S. et al. Mediterranean Europe as an area of endemism for small mammals rather than a source for northwards postglacial colonization // *Proceedings of the Royal Society of London (B)*, 1998. — Vol. 265. — P. 1219–1226.
- Bradley R. D., Baker R. J. A test of the genetic species concept: cytochrome b sequences and mammals // *Journal of Mammalogy*. — 2001. — Vol. 82. — P. 960–973.
- Chelomina G. N. Molecular phylogeny of forest and field mice of the genus *Apodemus* (Muridae, Rodentia) based on the data on restriction analysis of total nuclear DNA // *Genetika*. — 1998. — Vol. 34. — P. 1286–1292.
- Corbet G. B. The mammals of the Palaearctic Region: A taxonomic review. British Museum (Natural History), London, 1978. — 314 pp.
- Darviche D., Benmehdi F., Britton-Davidian J., Thaler L. Donnees preliminaries sur la systematique biochimique des genres *Mus* et *Apodemus* en Iran // *Mammalia*. — 1979. — Vol. 43. — P. 427–430.
- Dunina-Barkovskaya Y. V. Population genetics of rodents living in the Chernobyl environment based on mitochondrial and nuclear gene sequences: Unpublished master's thesis. — Texas Tech University, Lubbock, Texas, USA, 2004. — 66 pp.
- Ellerman J. R. The families and genera of living rodents. — London: British Museum (Natural History), 1941. — Volume 2. Family Muridae. — 690 pp.
- Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap // *Evolution*. — 1985. — Vol. 39. — P. 783–791.
- Filippucci M. G., Macholán M., Michaux J. R. Genetic variation and evolution in the genus *Apodemus* (Muridae: Rodentia) // *Biological Journal of the Linnean Society*. — 2002. — Vol. 75. — P. 395–419.
- Filippucci M. G., Simson S., Nevo E. Evolutionary biology of the genus *Apodemus* Kaup, 1829 in Israel. Allozymic and biometric analyses with description of a new species: *Apodemus hermonensis* (Rodentia, Muridae) // *Bollettino di Zoologia*. — 1989. — Vol. 56. — P. 361–376.
- Filippucci M. G., Storch G., Macholán M. Taxonomy of the genus *Sylvaemus* in western Anatolia—morphological and electrophoretic evidence // *Senckenbergiana Biologica*. — 1996. — Vol. 75. — P. 1–14.
- Hofer S. R., Gaschak S., Dunina-Barkovskaya Y. et al. New information for systematics, taxonomy, and phylogeography of the rodent genus *Apodemus* (*Sylvaemus*) in Ukraine // *J. Mammalogy*. — 2007. — Vol. 88 (2). — P. 330–342.
- Huelsenbeck J. P., Ronquist F. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny // *Bioinformatics*. — 2001. — Vol. 17. — P. 754–755.
- International Commission on Zoological Nomenclature. International code of zoological nomenclature. 4th edition. — International Trust for Zoological Nomenclature, 1999. — 306 pp.
- Irwin D. M., Kocher T. D., Wilson A. C. Evolution of the cytochrome-b gene of mammals // *Journal of Molecular Evolution*. — 1991. — Vol. 32. — P. 128–144.
- Jansa S. A., Goodman S. M., Tucker P. K. Molecular phylogeny and biogeography of the native rodents of Madagascar (Muridae: Nesomyinae): a test of the single-origin hypothesis // *Cladistics*. — 1999. — Vol. 15. — P. 253–270.
- Krystufek B. Identity of four *Apodemus* (*Sylvaemus*) types from the eastern Mediterranean and the Middle East // *Mammalia*. — 2002. — Vol. 66. — P. 43–51.
- Krystufek B., Mozetic Francky B. Mt. Hermon field mouse *Apodemus iconicus* is a member of the European mammal fauna // *Folia Zoologica*. — 2005. — Vol. 54. — P. 69–74.
- Liu X., Wei F., Li M. et al. Molecular phylogeny and taxonomy of wood mice (genus *Apodemus* Kaup, 1829) based on complete mtDNA cytochrome b sequences, with emphasis on Chinese species // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. — 2004. — Vol. 33. — P. 1–15.
- Longmire J. L., Maltbie M., Baker R. J. Use of “lysis buffer” in DNA isolation and its implication for museum collections // *Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University*. — 1997. — Vol. 163. — P. 1–3.
- Macholán M., Filippucci M. G., Benda P. et al. Allozyme variation and systematics of the genus *Apodemus* (Rodentia: Muridae) in Asia Minor and Iran // *Journal of Mammalogy*. — 2001. — Vol. 82. — P. 799–813.

- Maddison D. R., Maddison W. P. MacClade 4 (version 4.05). — Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 2002.
- Makova K. D., Nekrutenko A., Baker R. J. Evolution of microsatellite alleles in four species of mice (genus *Apodemus*) // *Molecular Ecology*. — 2000. — Vol. 51. — P. 166–172.
- Martin Y., Gerlach G., Schlötterer C., Meyer A. Molecular phylogeny of European muroid rodents based on complete cytochrome b sequences // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. — 2000. — Vol. 16. — P. 37–47.
- Mezhzherin S. V. Biochemical systematics of the Wood mouse, *Sylvaemus sylvaticus* (L., 1758) sensu lato (Rodentia, Muridae) from eastern Europe and Asia // *Zeitschrift für Säugetierkunde*. International journal of mammalian biology. — 1997. — Vol. 62. — P. 303–311.
- Michaux J. R., Bellinva E., Lymberakis P. Taxonomy, evolutionary history and biogeography of the broad-toothed field mouse (*Apodemus mystacinus*) in the eastern Mediterranean area based on mitochondrial and nuclear genes // *Biological Journal of the Linnean Society*. — 2005a. — Vol. 85. — P. 53–63.
- Michaux J. R., Magnanou E., Paradis E. et al. Mitochondrial phylogeography of the Woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region // *Molecular Ecology*. — 2003. — Vol. 12. — P. 685–697.
- Michaux J. R., Chevret P., Filippucci M.-G., Macholan M. Phylogeny of the genus *Apodemus* with a special emphasis on the subgenus *Sylvaemus* using the nuclear IRBP gene and two mitochondrial markers: cytochrome b and 12S rRNA // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. — 2002. — Vol. 23. — P. 123–136.
- Michaux J. R., Libois R., Paradis E., Filippucci M.-G. Phylogeographic history of the yellow-necked field mouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and Middle East // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. — 2004. — Vol. 32. — P. 788–798.
- Michaux J. R., Libois R., Filippucci M.-G. So close and so different: comparative phylogeography of two small mammal species, the Yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) and the Woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region // *Heredity*. — 2005b. — Vol. 94. — P. 52–63.
- Musser G. G., Brothers E. M., Carleton M. D., Hutterer R. Taxonomy and distributional records of Oriental and European *Apodemus*, with a review of the *Apodemus-Sylvaemus* problem // *Bonner Zoologische Beiträge*. — 1996. — Vol. 46. — P. 143–190.
- Musser G. G., Carleton M. D. Family Muridae // *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference* (D. E. Wilson, D. M. Reeder, eds.). 2nd edition. — Washington D.C.: Smithsonian Institution Press, 1993. — P. 501–755.
- Musser G. G., Carleton M. D. Superfamily Muroidea // *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference* (D. E. Wilson, D. A. Reeder, eds.). 3rd edition. — Baltimore, Maryland: The Johns Hopkins University Press, 2005. — Vol. 2. — P. 894–1531.
- Posada, D., Crandall K. A. Modeltest: Testing the model of DNA substitution // *Bioinformatics*, 1998. — Vol. 14. — P. 817–818.
- Reutter B. A., Petit E., Brünner H., Vogel P. Cytochrome b haplotype divergences in West European *Apodemus* // *Mammalian Biology*. — 2003. — Vol. 68. — P. 153–164.
- Serizawa K., Suzuki H., Tsuchiya K. A phylogenetic view on species radiation in *Apodemus* inferred from variation of nuclear and mitochondrial genes // *Biochemical Genetics*. — 2000. — Vol. 38. — P. 27–40.
- Smith M. F., Patton J. L. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe // *Biological Journal of the Linnean Society*. — 1993. — Vol. 50. — P. 149–177.
- Suzuki H., Sato J. J., Tsuchiya K. et al. Molecular phylogeny of wood mice (*Apodemus*, Muridae) in East Asia // *Biological Journal of the Linnean Society*. — 2003. — Vol. 80. — P. 469–481.
- Suzuki H., Yasuda S. P., Sakaizumi M. et al. Differential geographic patterns of mitochondrial DNA variation in two sympatric species of Japanese wood mice, *Apodemus speciosus* and *A. argenteus* // *Genes & Genetic Systems*. — 2004. — Vol. 79. — P. 165–176.
- Swofford D. L. PAUP* phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4. — Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, 2002.
- Thompson J. D., Gibson T. J., Plewniak F. et al. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools // *Nucleic Acids Research*. — 1997. — Vol. 24. — P. 4876–4882.
- Zagorodnyuk I. V. Sibling species of mice from Eastern Europe: taxonomy, diagnostics and distribution // *Доповіді НАН України*. — 1996. — № 12. — С. 166–173.
- Zagorodnyuk I., Tkach V. What *Apodemus sylvaticus arianus* (Blanford, 1881) is? // *Vestnik zoologii*. — 1996. — Vol. 30, N 3. — P. 20.