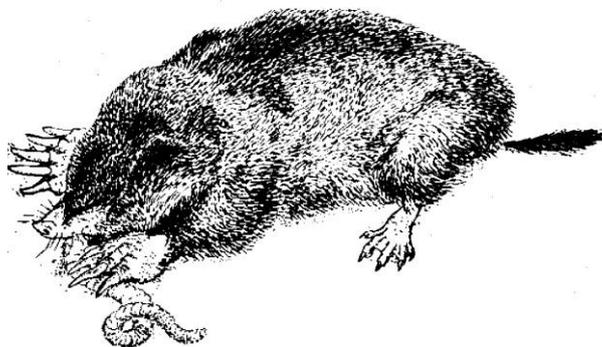


На правах рукописи

Землемерова



ЗЕМЛЕМЕРОВА ЕЛЕНА ДМИТРИЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ
КРОТОВ ТРИБЫ TALPINI
(MAMMALIA: TALPIDAE)**

03.02.04 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2015

Работа выполнена на кафедре зоологии позвоночных биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова

Научный руководитель:

кандидат биологических наук
Банникова Анна Андреевна

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук
Баклушинская Ирина Юрьевна
Институт биологии развития
имени Н.К. Кольцова РАН,
ведущий научный сотрудник
лаборатории цитогенетики

доктор биологических наук
Холодова Марина Владимировна
Институт проблем экологии и эволюции
имени А.Н. Северцова РАН,
заведующая кабинетом методов
молекулярной диагностики

Ведущая организация:

Зоологический институт РАН

Защита диссертации состоится «15» февраля 2016 г. в «15» часов «30» минут на заседании диссертационного совета Д 501.001.20 при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, д. 1 стр. 12, биологический факультет, ауд. М-1.

Факс: 8(495) 939-43-09; E-mail: ira-soldatova@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова

Автореферат разослан « » января 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

 **И.Б. Солдатова**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Кроты трибы *Talpini* (Lipotyphla, Talpidae) относятся к группе млекопитающих, эволюция которых связана со строго подземной экологической нишей. Специализированные к подземно-роющему образу жизни млекопитающие всегда привлекали внимание исследователей с точки зрения разных аспектов их эволюции: морфофизиологические адаптации, популяционная структура, генетическая и хромосомная изменчивость, филогения. Известно несколько групп строго подземных млекопитающих. Это слепыши (*Spalax*), цокоры (*Myospalax*), гоферы (*Geomyidae*) и землекопы (*Bathyergidae*) среди грызунов и златокроты (*Chrysochloridae*) из афросорицид (*Afrosoricida*). Среди кротовых только две группы – трибы *Talpini* и *Scalopini* – являются строгими подземниками. В то время как генетической изменчивости, видовой и филогенетической структурам подземных грызунов посвящена обширная литература (для обзора см. Nevo, 1979; Mason, 2001; Kryštufek et al., 2012; Zhang et al., 2013), кроты изучены значительно слабее.

Представления о филогении и систематике евроазиатской трибы *Talpini* до последнего момента были основаны, главным образом, на морфологии черепа, зубов и посткраниального скелета. Трудность определения, субъективность в оценке значимости различных морфологических диагностических признаков и неустойчивость основного диагностического признака – зубов – предопределили существенные расхождения во взглядах на объем, состав и взаимоотношения таксонов кротов не только видового, но и родового ранга. Поэтому изучение их филогенетических связей и построение объективной системы стало эффективным только в эпоху молекулярно-генетических маркеров.

Применение в последнее десятилетие подходов и методов молекулярной генетики в филогенетических и таксономических исследованиях кротовых (Shinohara et al., 2004, 2014; Colangelo et al., 2010; Землемерова и др., 2013; He et al., 2014; Bannikova et al., 2015) дало возможность ставить и решать задачи, не решаемые морфологическими, палеонтологическими и иными классическими методами, что во многом изменило представление о таксономическом разнообразии и эволюции этой группы. В настоящее время актуальным представляется пересмотр филогенетики и систематики трибы *Talpini* в контексте новых молекулярно-генетических данных и в рамках генетической концепции вида (Bateson, 1909; Dobzhansky, 1934; Muller, 1939; Bradley, Baker, 2001; Baker, Bradley, 2006), которой и придерживается автор в данной работе.

Использование молекулярно-генетических методов в филогенетике и систематике *Talpini* позволит сформировать объективное представление о генетическом и таксономическом разнообразии этой узкоспециализированной к подземному образу жизни группы млекопитающих, выявить морфологические параллелизмы в ее эволюции и воссоздать объективную таксономическую систему.

Цель и задачи исследования. Цель работы состоит в оценке генетического и таксономического разнообразия трибы *Talpini* и получении объективной филогенетической реконструкции, которая может быть положена в основу современной системы трибы. Для решения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Построить молекулярно-филогенетическую схему эволюции *Talpini* на основе последовательностей митохондриального и ядерных генов.

2. Сравнить полученные молекулярно-филогенетические отношения родов трибы *Talpini* с известными морфологическими данными.
3. По молекулярно-генетическим маркерам оценить видовую структуру и провести определение видовых границ в проблемных группах трибы.
4. Провести сравнительное исследование филогеографической структуры видов из родов *Talpa* и *Mogera*.
5. Предложить систему трибы *Talpini* с учетом полученных молекулярно-генетических данных.

Научная новизна. Результаты работы формируют новое представление о генетическом и таксономическом разнообразии кротов Кавказа и Восточной Азии. С помощью молекулярно-генетического анализа выявлено не менее шести новых форм видовой ранга, а также две новых группировки родового ранга. Впервые получены молекулярные данные для видов *Talpa davidiana*, *Euroscaptor subanura*, *Mogera latouchei* и определены филогенетические связи этих видов. На основании анализа ядерных генов подтверждена гипотеза азиатского происхождения общего предка современных линий рода *Talpa*. Показано, что выделение сибирского крота *T. altaica* в отдельный род или подрод нецелесообразно. Подтвержден видовой статус *M. latouchei*. Исследована филогеография ряда видов в родах *Talpa* и *Mogera*. Выявлено высокое скрытое разнообразие видов кротов в родах *Talpa* и *Euroscaptor*. Впервые на основании обширного оригинального материала по данным филогенетического анализа результатов секвенирования митохондриальных и ядерных генов предложена новая система трибы *Talpini*.

Теоретическое и практическое значение работы. Ввиду высокого морфологического сходства высокоспециализированных кротовых, обуславливающего трудности их диагностики и систематики по строению черепа, зубов и посткраниального скелета, полученные данные дают объективное представление о таксономическом разнообразии *Talpini* и указывают на необходимость пересмотра таксономического статуса многих групп в составе трибы.

Использование методов молекулярной ДНК-идентификации животных является необходимым условием адекватной оценки биологического разнообразия и разработки соответствующих природоохранных мер. Вследствие обширного оригинального материала по кротовым из различных природных зон, полученные в работе данные могут использоваться при инвентаризации и мониторинге общего видовой разнообразия мелких млекопитающих Европы и Юго-Восточной Азии.

Данные диссертации по филогении и систематике *Talpini* могут быть полезны при исследованиях проблем видообразования у подземно-роющих млекопитающих, а также использоваться в вузовских курсах общей зоологии, зоологии позвоночных и териологии.

Апробация работы. Основные результаты работы были доложены на 7 конференциях: «Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа» (Ереван, 2011), «Molecular Phylogenetics – 3» (Москва, 2012), «Ломоносов – 2013» (Москва, 2013), «Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии» (Ростов-на-Дону, 2013), «Modern achievements in population, evolutionary and ecological genetics – 2013» (Владивосток, 2013), «Систематика, филогения и палеонтология мелких млекопитающих» (Санкт-Петербург, 2013), «Структура вида у млекопитающих» (Москва, 2015). Также результаты работы обсуждались на семинарах лаборатории териологии и заседаниях кафедры зоологии позвоночных Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, и 6 тезисов конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материал и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Выводы», «Список литературы», включающий 261 источник и «Список работ, опубликованных по теме диссертации». Работа изложена на 212 страницах машинописного текста и содержит 32 таблицы и 71 рисунок. Приложения представлены на 11 страницах и содержат 5 таблиц и 1 рисунок.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

I ВВЕДЕНИЕ

Во Введении обоснована актуальность темы, сформулированы цели и задачи исследования.

II ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы дается общая характеристика трибы *Talpini*, включающая подробные описания истории изучения, современную видовую и подвидовую системы, распространение, морфологические характеристики и основные диагностические признаки видов и подвидов, цитогенетическую изменчивость и молекулярно-генетические исследования видов для каждого рода трибы. Рассматриваются особенности биологии кротов трибы *Talpini* как высокоспециализированных землероев. В заключении обсуждаются нерешенные проблемы современной систематики и филогенетики трибы *Talpini*.

III МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал исследования. Материалом для молекулярно-генетического исследования послужили: 101 особь *Talpa europaea*, 21 особь *T. altaica*, 7 особей *T. caucasica*, 9 особей *T. c. ognevi*, 12 особей *T. levantis*, 8 особей *T. l. minima*, 3 особи *T. l. talyschensis*, 4 особи *T. occidentalis*, 2 особи *T. romana*, 5 особей *T. caeca*, 3 особи *T. stankovici*, 6 особей *T. davidiana*, 17 особей *E. parvidens*, 6 особей *Euroscaptor* sp., 13 особей *E. subanura*, 34 особи *M. robusta*, 11 особей формы «*coreana*» и 7 особей *M. latouchei*. Морфологический анализ был проведен для ряда проблемных таксонов из родов *Talpa* (всего 82 экз.): *T. caucasica*, *T. c. ognevi*; *Euroscaptor* (всего 47 экз.): *E. parvidens*, *Euroscaptor* sp., *E. longirostris*, *E. subanura*; *Mogera* (всего 51 экз.): *M. wogura*, *M. robusta*, форма «*coreana*». В филогенетическом и филогеографическом анализе был использован материал из ГенБанка (346 последовательностей).

Часть образцов в виде спиртовых препаратов тканей получена от разных исследователей, любезно предоставивших свой материал для моей работы, за что я приношу им искреннюю благодарность. Выборки из Кабардино-Балкарии, Адыгеи, Армении и Московской области собраны при моем участии во время экспедиций в 2010 - 2011 г.

Выделение, амплификация и секвенирование ДНК. Геномную ДНК из фиксированных этанолом тканей (семенники, печень, почки, мышцы, пальцы) выделяли стандартным методом фенол-хлороформной депротеинизации после обработки гомогената тканей протеиназой К (Sambrook et al., 1989). Выделение ДНК из музейного материала проводили с использованием набора MinElute PCR Purification Kit (QIAGEN) в соответствии с рекомендациями Янга с соавторами (Yang et al., 1998).

Анализировали последовательности митохондриальных генов *cytb* (цитохром *b*) и *COI* (1 субъединица цитохром оксидазы) и фрагменты пяти экзонов: *RAG1* (ген рекомбинационной активности), *BRCA1* (ген рака молочной железы 1), *BRCA2* (ген рака молочной железы 2), *ApoB* (ген аполипротеина Б), *A2ab* (ген α -2 Б адренергического рецептора). Амплификацию осуществляли на приборах My Cycler (Bio-Rad, США) и Mastercycler Gradient (Eppendorf, Германия). Автоматическое секвенирование было проведено на секвенаторе ABI 3100-Avant с использованием ABI PRISM®BigDye™ Terminator v. 3.1 в лаборатории ЦКП «ГЕНОМ». Основная часть экспериментальной работы выполнена в кабинете «Молекулярных методов в зоологии» кафедры зоологии позвоночных МГУ им. М.В. Ломоносова.

Обработка данных молекулярно-генетического анализа. Выравнивание последовательностей проводили вручную и с помощью программ DNASStar Lasergene SeqMan Pro v. 7.1.0 (Burland, 1999) и BioEdit v. 7.0.9.0 (Hall, 1999). Разбиение на партиции и определение оптимальной модели эволюции осуществлялось в программе PartitionFinder v1.0.1 (Lanfear et al., 2012).

Филогенетический анализ был выполнен методами максимальной экономии (MP) в программе PAUP, version 4.0b10 (Swofford, 2003) и максимального правдоподобия (ML, maximum likelihood) в программе пакета Treefinder, version October 2008 (Jobb, 2008). Байесов анализ (BI) проводили в программе MrBayes 3.1.2 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003). Видовое дерево было построено в программе *BEAST (Heled & Drummond, 2010). Сходимость оценивали с помощью статистики ESS (эффективный размер выборки) в Tracer 1.5 (Rambaut, Drummond, 2005). AU (Approximately Unbiased) - тест был проведен в Treefinder, version October 2008 (Jobb, 2008). Некорректированные K2P- и net-K2P-дистанции рассчитывали в программах пакета MEGA 5.1 (Tamura et al., 2011).

Анализ видовых границ (species delimitation) осуществлялся методами ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) (Puillandre et al., 2012) и GMYC (General Mixed Yule-coalescent) (Pons et al., 2006; Reid & Carstens, 2012). Для верификации подразделений в некоторых группах, использовали мультилокусный метод, реализованный в программе BPP 2.1 (Bayesian Phylogenetics and Phylogeography) (Rannala & Yang, 2003; Yang & Rannala, 2010).

Филогеографический анализ. Анализ по методу ближайшего связывания (neighbor-joining, NJ) был выполнен при использовании программ пакета MEGA 5.1 (Tamura et al., 2011). Для проведения тестов на нейтральность (Tajima's D test и Fu's FS test), анализа «Mismatch distribution», расчета количества гаплотипов, сегрегирующих сайтов (S), гаплотипического (H) и нуклеотидного (π) разнообразий, соотношения транзиций с трансверсиями (ts/tv) и параметра демографической экспансии *Tau* была использована программа Arlequin v.3.11 (Excoffier L, 2007). Определение связи между гаплотипами и представление их в виде медианной сети проводили при помощи программы Network v.4.6.0.0 (Bandelt et al., 1999).

Демографический анализ выполнен методом Bayesian Skyline plot (Drummond et al. 2005) в программе *BEAST (Heled & Drummond, 2010).

Для обсуждения исторической последовательности филогенетических и демографических событий использовали молекулярные датировки для кротовых, полученные в работах Тсучиа с соавторами (Tsuchiya et al., 2000), Коланжело с соавторами (Colangelo et al., 2010), Кирихара с соавторами (Kirihara et al., 2013), Хе с соавторами (He et al., 2014), Шиохара с соавторами

(Shinohara et al., 2014), Феуда с соавторами (Feuda et al., 2015) и Банниковой с соавторами (Bannikova et al., 2015).

Обработка данных морфологического анализа. В морфологическом анализе было исследовано 18 черепных признаков. Данные были обработаны методами главных компонент (PCA) и канонического дискриминантного анализа (DFA) в программе Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

IV РЕЗУЛЬТАТЫ

Филогенетические отношения родов в составе трибы Talpini

В комбинированном анализе митохондриального гена *cytb* и пяти ядерных генов конечное выравнивание составило 5812 п.н. В составе трибы Talpini обнаруживается четкая монофилия группировок, соответствующих родам *Talpa* и *Mogera* (рис. 1), в то время как род *Euroscaptor* оказывается парафилетическим в связи с обособленным положением *E. mizura* вне кластера остальных видов рода. Вся группа, включающая азиатские роды кротов (*Mogera*, *Euroscaptor*, *Scaptochirus* и *Parascaptor*), монофилетична.

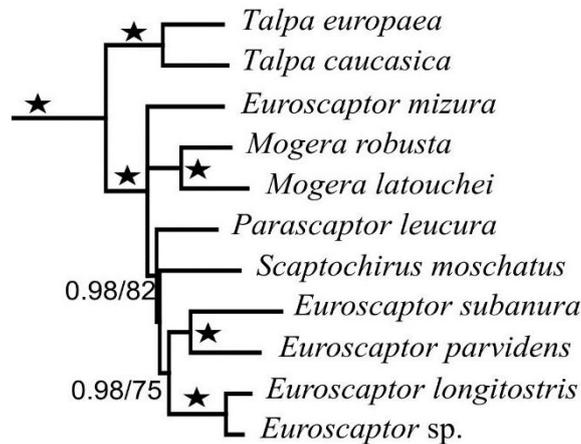


Рис. 1. Фрагмент ML дерева по результатам анализа комбинированной последовательности генов *AroB+BRCA1+BRCA2+RAG1+A2ab+cytb* (5812 п.н.). Числа вблизи узлов дерева – апостериорные вероятности в Байесовом анализе (BI) и бутстрэп-поддержки в анализе ML. Звездочка обозначает абсолютную поддержку в обоих анализах. Внешняя группа не показана.

Род *Talpa*

Филогенетические отношения видов в составе рода *Talpa*

Анализ митохондриального гена *cytb*

В итоговое выравнивание вошло 114 образцов рода *Talpa* (рис. 2).

С высокими поддержками подтверждается монофилия практически всех видов рода *Talpa*, за исключением двух случаев: (1) *T. europaea*, который оказался парафилетичным относительно *T. occidentalis* и (2) *T. levantis*, тальшская популяция которого (*Talpa* sp. на рис. 2), оказалась далеко отстоящей от остальных представителей малого крота.

Остальные образцы *T. europaea* составляют монофилетическую группу сестринскую с *T. occidentalis*. Другая поддерживаемая сестринская группа – *T. caeca* + *T. romana*. Клады *T. europaea/T. occidentalis* и *T. caeca/T. romana* являются сестринскими. Положение *T. stankovici* и *T. levantis* не разрешено. *T. altaica* занимает базальное положение при невысоких бутстрэп-

поддержках (0.96/64/- в BI, ML и MP - анализах, соответственно); AU-тест отвергает гипотезу о положении *T. altaica* внутри радиации рода ($p=0.033$). *T. davidiana* образует монофилетическую группу с *Talpa* sp. из Талыша. Генетические дистанции (K2P) между видами варьируют в пределах от 9.1 до 15.6%.

Для большинства видов выявлена четкая филогеографическая структура. Генетические дистанции между филогруппами варьируют от 2% (между апеннинской и европейской группировками *T. europaea*) до 10% (между двумя группировками *T. caucasica*).

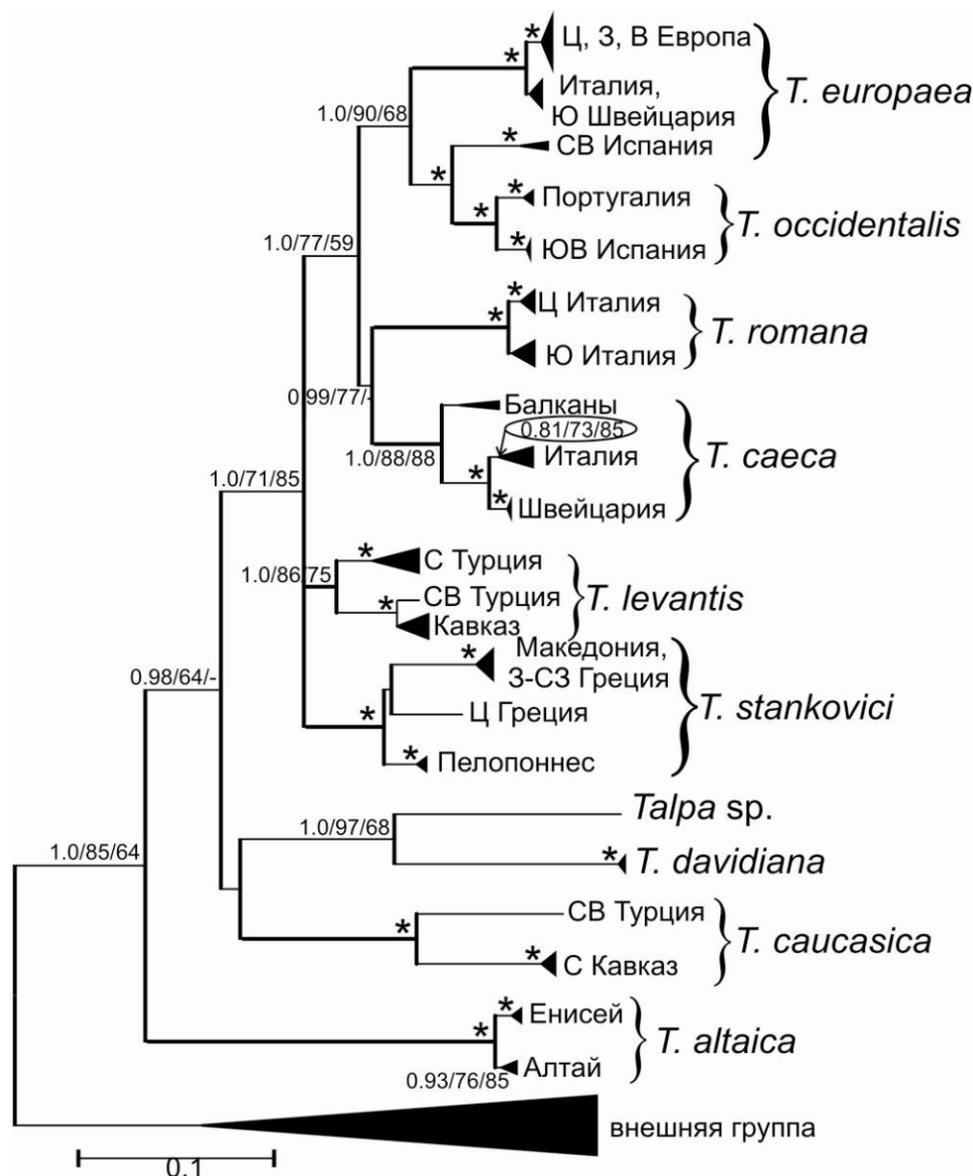


Рис. 2. Результаты ML анализа 1140 п.н. *cytb* рода *Talpa*. Числа вблизи узлов дерева – апостериорные вероятности в Байесовом анализе (BI) и бутстрэп-поддержки в анализах ML и MP. Звездочка обозначает абсолютную поддержку во всех анализах.

Анализ ядерных данных

В комбинированный анализ суммарной последовательности четырех ядерных генов (1011 п.н. *RAG1*, 1263 п.н. *BRCA1*, 1113 п.н. *BRCA2* и 975 п.н. *ApoB*) вошли последовательности 60

образцов, включая внешнюю группу (рис. 3). Общая длина полученного выравнивания составила 4362 п.н.

Выделяется 10 крупных монофилетических группировок с высокими бутстрэп-поддержками. Девять из них соответствуют основным видам рода, а образцы из Талыша формируют отдельную кладу. Самая крупная монофилетическая группировка с высокими поддержками во всех анализах включает шесть видов западно-европейского распространения: *T. europaea*, *T. occidentalis*, *T. romana*, *T. caeca*, *T. stankovici* и *T. levantis*. В составе этой клады *T. levantis* занимает базальное положение, следующим отходит *T. stankovici*; *T. europaea* и *T. occidentalis* образуют устойчивую сестринскую группу; положение *T. romana* и *T. caeca* не разрешено.

Сестринской ветвью к западному кластеру является *T. altaica* (0.95/65/86 в BI, ML и MP, соответственно). Базальное положение на ядерном дереве занимает *T. caucasica*, однако, поддержки этой топологии низкие (0.9/70/0). Гипотеза о базальном положении на дереве *T. altaica* (p=0.24) AU-тестом не отвергается.

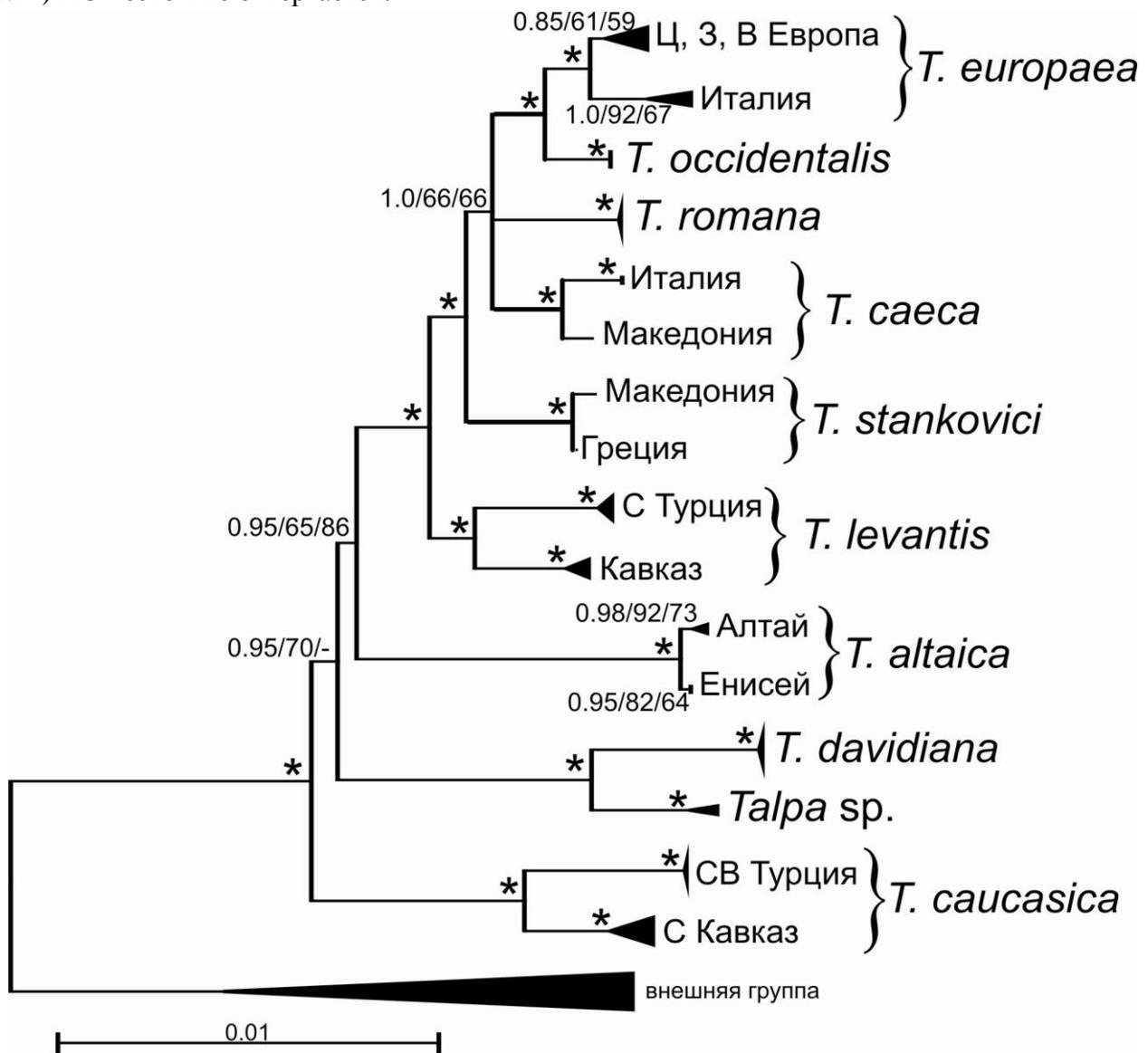


Рис. 3. ML дерево комбинированной последовательности генов RAG1, BRCA1, BRCA2 и AroB. Обозначения как на рис. 2.

T. davidiana и *Talpa* sp. из Талыша формируют сестринскую группировку с высокими бутстрэп-поддержками во всех анализах.

Для большинства видов обнаруживается деление на географические группировки, соответствующие гаплогруппам, выделенным при анализе мтДНК. Особенно сильно дифференцированные группировки с высокими поддержками обозначаются внутри *T. caucasica* и *T. levantis*. В составе *T. caucasica* - это образцы с Северного Кавказа с одной стороны и из северо-восточной Турции с другой. В составе *T. levantis* присутствует группа, образованная образцами с Северного Кавказа + Закавказья + северо-восточной Турции и группа из северной Турции. *T. caeca* разделяется на апеннинскую и балканскую клады.

Видовое дерево в полной мере отражает результаты митохондриального и ядерного анализов. Заслуживают внимания три различия. (1) *T. altaica* как на видовом дереве, так и на митохондриальном занимает базальное положение, но с низкой поддержкой, что мы не наблюдаем по яДНК. (2) Ядерное дерево не отвергает и не поддерживает группировку *T. caeca* + *T. romana*, которая обнаруживается на митохондриальном и видовом деревьях. (3) *T. levantis* с достаточно высокой поддержкой занимает базальное положение в западной кладе видов на ядерном и видовом деревьях, однако, по результатам митохондриального гена *cytb* положение *T. levantis* относительно *T. stankovici* не разрешено.

Анализ видовых границ

В связи с богатой внутривидовой структурой подавляющего большинства видов рода *Talpa* был проведен анализ видовых границ с целью выяснения таксономического статуса выявленных генетических линий.

По результатам ABGD-анализа можно выделить 16 групп, которые соответствуют видам *T. europaea* s.str., *Talpa* aff. *europaea* из Испании, *T. romana*, *T. occidentalis*, *T. altaica*, *T. davidiana*, *Talpa* sp. из Талыша, двум группам внутри *T. caucasica*, двум группам внутри *T. levantis*, двум группам внутри *T. caeca* и трем группам внутри *T. stankovici*.

Согласно bGMYC-анализу внутри рода *Talpa* можно выделить 19 групп, которые соответствуют всем потенциальным видам, выявленным в ABGD-анализе с добавлением группировок внутри *T. altaica*, *T. romana* и *T. europaea* s.str.

Результаты VPP-анализа со 100% поддержкой подтвердили деление *T. levantis* на группу из Кавказского региона и северо-восточной части Турции с одной стороны и северной Турции с другой. Такой же результат был получен для двух групп *T. caucasica* с Северного Кавказа и северо-восточной Турции.

Таксономическое разнообразие рода *Talpa*

Криптическое разнообразие и проблемы систематики кротов Кавказа

T. talyschensis Vereschagin, 1945. По молекулярным данным талышский крот *T. talyschensis* не имеет отношения к малому кроту *T. levantis*, а представляет собой самостоятельный вид, в противном случае, если его рассматривать в составе малого крота, вид оказывается полифилетическим. Генетическая дистанция между *T. talyschensis* и собственно *T. levantis* составляет 13.6%. Ареалы *T. levantis* и *T. talyschensis* сильно разобщены. По результатам молекулярного датирования (Bannikova et al., 2015) время обособления талышского крота от

сестринской группы *T. davidiana*, оценивается не менее чем в 2 млн. л. н., что соответствует межвидовому уровню дивергенции (Bannikova et al., 2015).

T. caucasica Satunin, 1908 и *T. ognevi* Stroganov, 1948. Генетическая дистанция между двумя аллопатричными линиями *T. caucasica* s.l. достигает 10%. Время дивергенции этих линий оценивается в 2.75 млн. л. н. (Bannikova et al., 2015), что соответствует межвидовому уровню дивергенции. Дополнительный анализ музейных образцов с юга Грузии (Батуми и Боржоми) - места, которое располагается в 20 км от типовой точки для подвида кавказского крота *T. c. ognevi* Stroganov, 1948 (Бакуриани, Грузия), показал, что они очень близки с турецкими образцами. Морфометрический анализ кротов *T. caucasica* s.l. по 18 краниометрическим признакам при использовании как параметрических, так и непараметрических методов показал, что кроты из Бакуриани и Батуми отличаются от кротов Северного Кавказа. Наиболее показательны длина зубного ряда и ширина черепа.

Учитывая молекулярные и морфологические различия кавказских кротов из Турции и Кавказа, турецкую популяцию кавказского крота следует рассматривать в качестве валидного вида *T. ognevi*.

Группа видов *T. levantis*. K2P-дистанция между двумя линиями *T. levantis* s.l. достигает 7%. Время их дивергенции оценивается в 2.68 млн. л. н. (Bannikova et al., 2015). Эти данные дают все основания для разделения *T. levantis* s.str. на два криптических вида, однако из-за отсутствия генетического материала из типового локалитета *T. levantis* (Алтын-Дере, Южный Трабзон), который располагается между территориями распространения восточной и западной линий, вопрос номенклатуры форм в составе *T. levantis* s.l. пока остается открытым.

Криптическое разнообразие кротов Западной Европы

T. caeca и *T. stankovici*. Внутри *T. caeca* и *T. stankovici* по результатам анализа мтДНК обнаружена сильная внутривидовая подразделенность. Две группировки выделено внутри *T. caeca* и три - внутри *T. stankovici*, однако из-за ограниченного количества генетического материала по ядерным генам для данных видов обсуждение таксономического статуса этих митохондриальных гаплогрупп пока преждевременно.

Испанская ветвь *T. europaea*. Парафилия *T. europaea* пока показана только по митохондриальным данным в связи с недостатком материала по ядерной ДНК, что затрудняет интерпретацию данной ситуации. Возможное объяснение, которое можно было бы предложить для объяснения парафилии обыкновенного крота – это историческая интрогрессия мтДНК *T. occidentalis* в геном *T. europaea*. Однако интрогрессия мтДНК для кротов никогда ранее не регистрировалась. Учитывая, что Пиренейский полуостров известен высокой степенью эндемизма, нельзя исключить, что испанская линия *T. europaea* представляет собой еще один криптический вид.

T. altaica* и возможная подродовая система рода *Talpa

Полученные нами данные свидетельствуют о нецелесообразности выделения сибирского крота в отдельный род или подрод. В противном случае подродовой или родовой ранг должен быть присвоен также линиям «*T. caucasica*+*T. ognevi*» и «*T. davidiana*+*Talpa talyschensis*». В этом случае следует распознавать уже целых четыре рода/подрода *Talpa sensu stricto*, *Asioscalops*, а также неописанные таксоны, включающие *T. caucasica*/*T. ognevi* и *T. davidiana*/*Talpa talyschensis*.

Род *Mogera*

Филогенетические отношения видов рода *Mogera*

Анализ митохондриального гена *cytb* и ядерных данных

Итоговое выравнивание по *cytb* включило 40 образцов рода *Mogera*. В комбинированный анализ суммарной последовательности пяти ядерных генов (1011 п.н. *RAG1*, 1155 п.н. *BRCA1*, 807 п.н. *BRCA2*, 960 п.н. *ApoB* и 849 п.н. *A2ab*) вошли последовательности 31 образца, в том числе внешняя группа. Общая длина полученного выравнивания составила 4782 п.н.

Митохондриальные и ядерные филогении (рис. 4) совпадают, на полученных деревьях распознаются две группировки. Первая включает континентальных приморских и островных японских мoger: видовой комплекс *M. wogura*/*M. robusta* и *M. imaizumi*, к которым без значимой поддержки присоединяется *M. tokudae*. Вторая группировка – это китайско-тайваньская ветвь, включающая *M. insularis*, *M. kanoana* и *M. latouchei*. По анализу митохондриального и ядерных генов *M. latouchei* образует сестринскую группу с видами *M. insularis* и *M. kanoana*. Межвидовые генетические дистанции для рода *Mogera* варьируют в пределах от 5.5 до 13.0%. Генетическая дистанция между *M. latouchei* и *M. insularis* равна $11.7 \pm 1.0\%$.

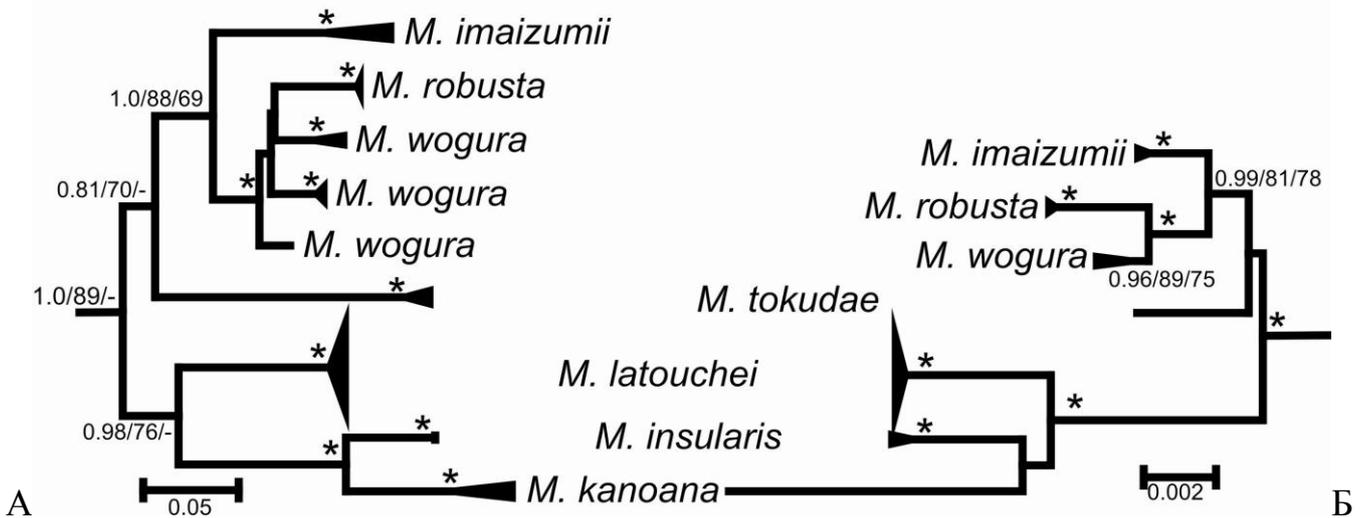


Рис. 4. Схемы филогенетических связей видов рода *Mogera* по данным анализа мтДНК (А) и анализа объединенных последовательностей ядерных генов (Б). Обозначения как на рис. 2.

Доказательство видового статуса *M. latouchei*

В современных сводках *M. i. latouchei* считается подвидом *M. insularis* (Hutterer, 2005). Ранее морфологические (Abe, 1995), морфометрические (Kawada et al., 2007, 2009), а также кариологические (Kawada et al., 2008) исследования уже показывали заметные различия между *M. i. latouchei* и *M. i. insularis*. Наши молекулярные данные подтверждают удаленность *M. insularis* от *M. latouchei*, которая составляет сестринскую ветвь к группировке *M. insularis*/*M. kanoana*. На основе наших генетических данных и учитывая географическую разобщенность и морфологические различия между типовой формой *insularis* и *latouchei*, можно заключить, что *M. latouchei* является отдельным видом, а не подвидом *M. insularis*.

M. wogura/M. robusta

Одна из нерешенных проблем систематики могоер – это взаимоотношения уссурийской могоеры (*M. robusta*) и японской могоеры (*M. wogura*) и таксономический статус первой формы. Одни авторы (Строганов, 1948; Abe, 1995; Hutterer, 2005) рассматривают уссурийскую могоеру как подвид *M. wogura*, другие (Охотина, 1966; Ohdachi et al., 2009) считают их разными видами. Видоспецифичность *M. robusta* утверждается на основании крупных размеров, структуры слуховых косточек, одонтологических признаков (Строганов, 1948), отличительной окраски волос, особенностей строения наружных гениталий самцов (Охотина, 1966; Юдин, 1971) и наличия прианальных желез, отсутствующих у японского крота (Охотина, 1966), приводятся также и экологические различия. Однако обитание в Южном Приморье и на Корейском п-ве *M. wogura* до сих пор нельзя считать доказанным, поскольку отсутствует информация о том, какие именно образцы (континентальные или островные) были использованы авторами при описании отличительных признаков *M. wogura*.

Проведенный в нашей работе сравнительный морфометрический анализ не выявил различий между двумя формами континентальных могоер, которые были рассмотрены Охотиной (1966) как два вида: японская и уссурийская могоеры. Между мелкими корейскими (форма «*coreana*») и приморскими могоерами выявлены только размерные различия.

В молекулярном анализе выборки континентальных могоер разного размера, которые могли бы претендовать на разные формы, тоже не было обнаружено различий между образцами как по мтДНК, так и по яДНК, включая выборку из Хасанского района, откуда Охотиной (1966) была описана континентальная форма *M. wogura*.

Возможно, для континентальных могоер характерна сильная морфологическая изменчивость, которая может быть связана с биотопическими и географическими факторами. Существует указание на то, что для горных районов характерны более мелкие экземпляры могоер (Abe, 1967), чем для равнин, что может объяснять мелкие размеры корейской формы.

Род *Euroscaptor*

Филогенетические отношения видов рода *Euroscaptor*

Анализ митохондриального гена *cytb*

В анализе митохондриального гена *cytb* (1140 п.н.) использовано 62 образца рода *Euroscaptor* (рис. 5).

Род *Euroscaptor* не монофилетичен из-за сильного обособления *E. mizura* относительно других представителей рода и положения *Scaptochirus moschatus* и одной из ветвей рода *Parascaptor*.

В составе *Euroscaptor* s.str. обнаруживаются две клады: (1) *E. klossi*+*E. malayana*+*E. longirostris* из Сычуани и предположительно два новых вида *Euroscaptor* sp.1 и *Euroscaptor* sp.2 из северного Вьетнама и южного Китая (Юньнань), морфологически похожие на *E. longirostris*; (2) *E. parvidens*+*E. subanura*. Генетическая дистанция между *E. longirostris* из Сычуани и *Euroscaptor* sp. из Вьетнама и Юньнани составляет $\approx 8\%$.

Генетическая дистанция между северо-западной формой *Euroscaptor* sp.1 и северо-восточной формой *Euroscaptor* sp.2 составляет 6%. Внутри каждой из них также обнаруживаются гаплогруппы, соответствующие определенным географическим локалитетам: Юньнань и Лаокай в составе первой, Каобанг и Винхпхук в составе второй.

Вторая клада рода *Euroscaptor* s.str. включает *E. parvidens* s.l. и *E. subanura*, K2P-дистанция между которыми составляет $\approx 17\%$. Группировка *E. parvidens* s.l. неоднородна, внутри нее обнаруживаются две митохондриальные линии. Первая – образцы из южной части Вьетнама (Ламдонг и Даклак), вторая – в основном образцы из центральной части Вьетнама (образцы из Контума, Куангнама и образцы Даклака из ГенБанка).

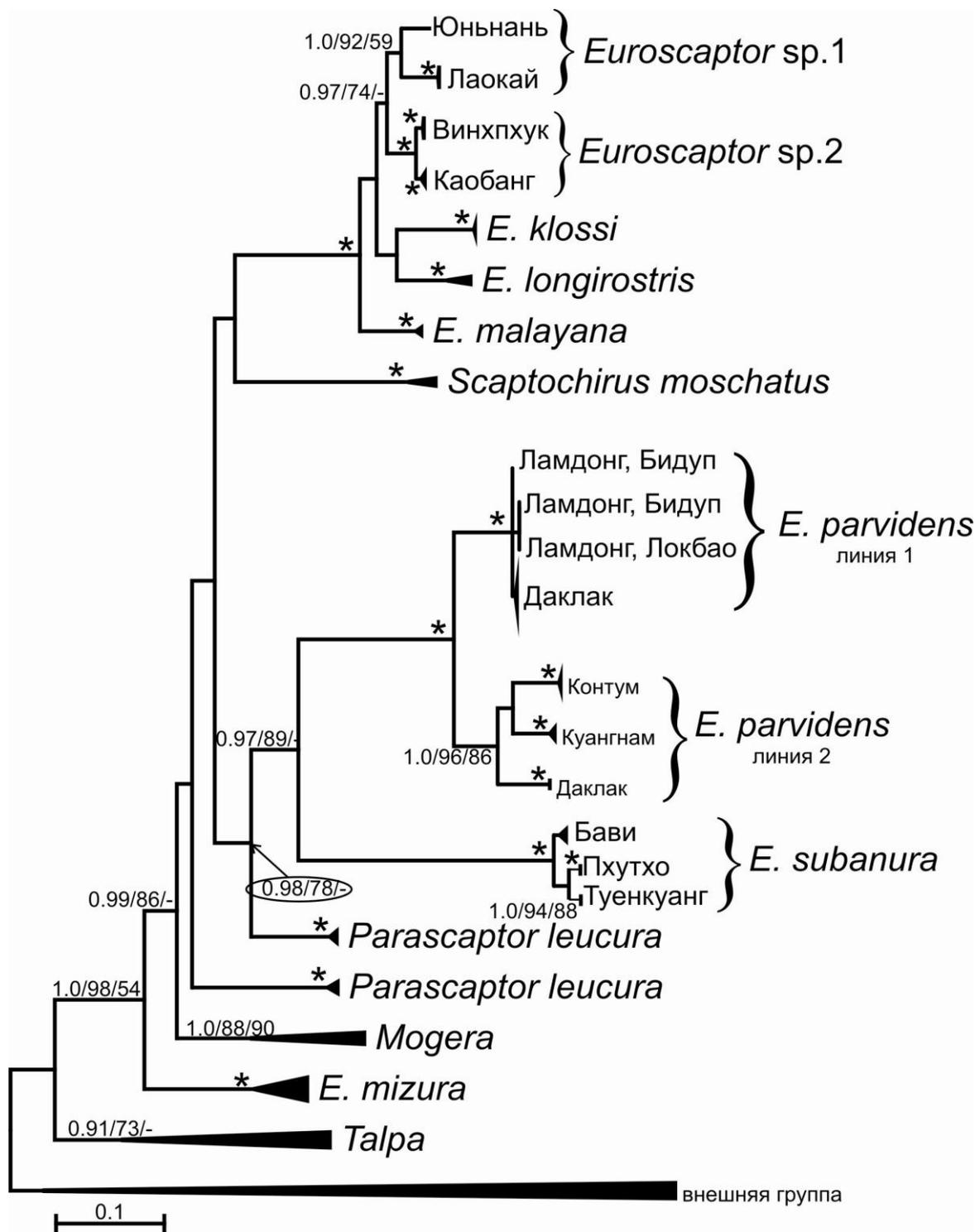


Рис. 5. Результаты ML анализа 1140 п.н. *cytb* для рода *Euroscaptor*. Обозначения как на рис. 2.

Анализ ядерных данных

В комбинированный анализ суммарной последовательности пяти ядерных генов (1011 п.н. *RAG1*, 1206 п.н. *BRCA1*, 816 п.н. *BRCA2*, 951 п.н. *ApoB* и 906 п.н. *A2ab*) вошли последовательности 71 образца, включая внешнюю группу. Общая длина полученного выравнивания составила 4890 п.н. (рис. 6).

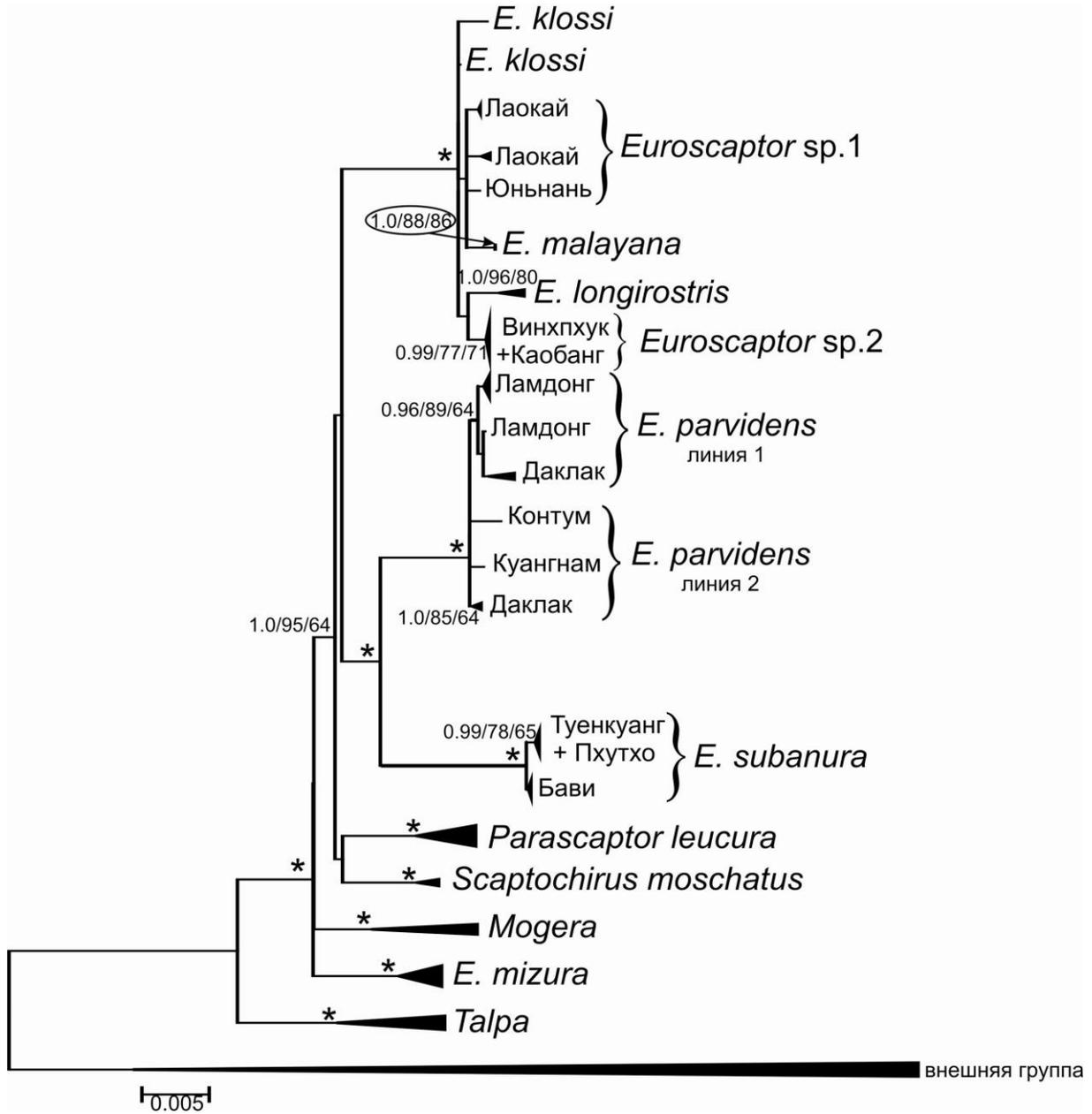


Рис. 6. ML дерево комбинированной последовательности генов *RAG1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *ApoB* и *A2ab*, 4890 п.н. Обозначения как на рис. 2.

Род *Euroscaptor* при исключении из него *E. mizura* монофилетичен относительно *Scaptochirus moschatus* и монофилетической группировки рода *Parascaptor*. В составе *Euroscaptor* обнаруживаются две клады: (1) *E. klossi*+*E. malayana*+*E. longirostris* из Моупинга+*Euroscaptor* sp.1 и *Euroscaptor* sp.2 из северного Вьетнама и южного Китая (Юньнань); (2) *E. parvidens* s.l.+*E. subanura*.

Образцы *Euroscaptor* sp.1 и *Euroscaptor* sp.2 не составляют монофилетической группы. Вьетнамские образцы (Лаокай) и образцы из Юньнани (*Euroscaptor* sp.1) с низкой поддержкой группируются с *E. malayana*. Генбанковские образцы *E. longirostris* из Сычуани группируются с вьетнамскими образцами из Каобанга и Винхпхука (*Euroscaptor* sp.2) с низкой поддержкой в BI и ML анализах.

В линии *E. parvidens* s.l.+*E. subanura* разделение южно- и центрально-вьетнамских образцов тоже не столь очевидно, как на митохондриальном дереве. Южная клада *E. parvidens* (Ламдонг и Даклак) образует монофилетическую группировку, а поддержка монофилии линии центрально-вьетнамской клады *E. parvidens* (Контум, Куангнам) на ядерном дереве отсутствует.

Видовое дерево сходно с ядерным по составу и взаимоотношению основных монофилетических группировок: базальная ветвь всех восточноазиатских кротов – *E. mizura*; остальные виды эуроскапторов, образуют две высоко поддерживаемые сестринские клады. Структура взаимоотношений видов и географических линий внутри двух основных клад эуроскапторов обозначается более четко, чем на ядерном дереве, а от митохондриального отклоняется только в случае слабо поддерживаемых узлов.

Морфологический анализ кротов рода *Euroscaptor* показал, что внутри *E. parvidens* s.l. можно выделить три группы, соответствующие географическому распределению образцов: первая – из Ламдонга, вторая – из Даклака, третья – из Контума. Образцы *E. longirostris* из Сычуани занимают обособленное положение относительно других видов. Внутри *Euroscaptor* sp.1 и *Euroscaptor* sp.2 различаются географические группировки из Лаокая+Юньнань и Винхпхука.

Криптическое разнообразие кротов Юго-Восточной Азии

Парафилия рода *Euroscaptor*. Наши оригинальные молекулярные результаты с учетом данных ГенБанка (топология деревьев и $K2P > 14\%$) и морфологические данные (Imaizumi, 1998; Motokawa, 2004) показывают, что *E. mizura* представляет собой самостоятельную относительно рода *Euroscaptor* ветвь.

Две крупные группы в составе *Euroscaptor* s.str. являются монофилетическими и высоко поддерживаемыми во всех анализах как по результатам митохондриальных, так и по результатам ядерных данных. Ранее было отмечено обособленное положение *E. parvidens* относительно других видов рода (He et al., 2014); время дивергенции между *E. parvidens* и остальными видами рода (9.22 млн. л. н.), определенное по этим данным, соответствует времени дивергенции между родами *Scaptochirus* и *Parascaptor*. Ранее время расхождения двух этих групп может быть связано с геологическими и климатическими изменениями в Юго-Восточной Азии. Возможно, в позднем миоцене «западная» группа быстро распространилась по всей Юго-Восточной Азии от Китая до Малайзии (He et al., 2014), а «восточная», в свою очередь, является потомком радиации кротов, которые сохранились в рефугиумах на востоке Индокитая.

Совокупность всех имеющихся данных дает основание предполагать, что эти две группы эуроскапторов следует возвести в ранг родов.

E. parvidens описан из Дилиня (Южный Вьетнам), который располагается в 40-45 км к северо-западу от Ламдонга – места сбора нашего материала, поэтому мы полагаем, что кроты первой линии являются настоящими *E. parvidens*, в то время как кроты второй, вероятно, должны относиться к отдельному, еще не описанному виду. Между данными линиями есть и морфологические различия. Они относятся к разным горным массивам, разделенным понижением

рельефа, и, скорее всего, были сформированы в результате давней географической изоляции их местообитаний. Невысокая дивергенция линий на уровне ядерных генов объясняется неполной сортировкой ядерных аллелей.

E. longirostris и *Euroscaptor* sp. Образцы *E. longirostris* из Моупинга по молекулярным данным значительно обособлены от эуроскапторов из северного Вьетнама и южного Китая (Юньнань), K2P-дистанция между ними составляет $\approx 6.5\%$. Сравнительный морфометрический анализ также выявил различия между ними. Таким образом, результаты нашего исследования не позволяют сделать вывод о конспецифичности *E. longirostris* и *Euroscaptor* sp.1 и *Euroscaptor* sp.2.

Различия между *Euroscaptor* sp.1 и *Euroscaptor* sp.2 наблюдаются как по молекулярным, так и по морфологическим и морфометрическим данным. Формирование в северном Вьетнаме этих двух групп, по-видимому, связано с наличием географического барьера - Красной реки, препятствующей свободному генному обмену.

Филогеография ключевых видов трибы *Talpini*

Филогеография видов рода *Talpa*

T. europaea

T. europaea содержит две основные группы гаплотипов: 1) гаплотипы с Апеннинского п-ва («итальянские») и 2) гаплотипы из всех остальных регионов Европы («не итальянские») (рис. 2). Внутри «итальянской» гаплогруппы выделяются два кластера: образцы из центральной и северной Италии. Для более подробного рассмотрения взаимоотношения гаплотипов «не итальянской» подгруппы была построена сеть гаплотипов (рис. 7), на которой виден один центральный гаплотип (H1), несколько отдельных групп гаплотипов, остальные гаплотипы группируются вокруг центрального, формируя звездообразную структуру. Всего на 77 образцов из 17 локалитетов найдено 41 гаплотип.

Учитывая время расхождения и формирования «итальянской» и «не итальянской» групп (0.7 – 0.8 млн. л. н.) (Feuda et al., 2015), базальное положение «итальянской» линии по отношению ко всем остальным внутривидовым группировкам, дополнительную четкую географическую структуру, соответствующую северной и центральной Италии, высокое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие (что обычно характерно для стабильных популяций), большее число трансверсий (характерно для более древних популяций), высокое значение показателя *Tau*, а также результаты анализа «Mismatch distribution» и тестов на нейтральность, можно предположить, что популяция из Италии сформировалась раньше.

Две группировки Украина+Крым и Балканы, для которых результаты анализов «Mismatch distribution» показали стабильность, а показатели генетического разнообразия высокие, на медианной сети обособлены (гаплотипы Ucr, Cr, Tur, Bos). Вероятно, они тоже более древние, чем другие группировки. Можно предположить, что именно Балканы, Карпаты и Крым послужили местами плейстоценовых рефугиумов для обыкновенного крота, заселившего Центральную и Восточную Европу. Данные палеоэкологического моделирования (Feuda et al., 2015) подтверждают наше предположение. Базальное положение «французской» группировки на филогенетическом дереве и данные палеоэкологического моделирования (Feuda et al., 2015) дают возможность предположить, что юг Франции также был благоприятен для кротов во времена периодов плейстоценового оледенения и мог являться одним из плейстоценовых рефугиумов.

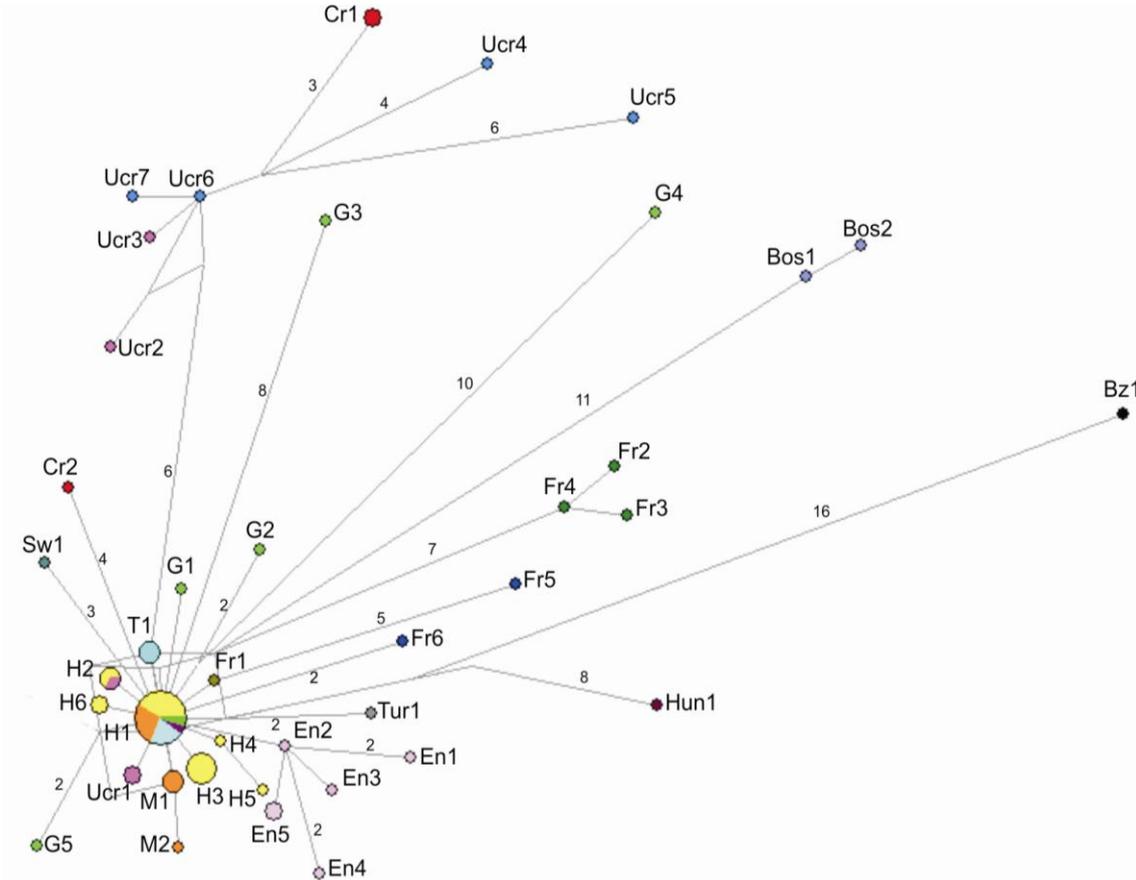


Рис. 7. Медианная сеть гаплотипов «не итальянской» подгруппы *T. euroraea* по анализу 1140 п.н. сytb. Приведены шифры гаплотипов, разными цветами показаны географические локалитеты, цифрами обозначено количество замен.

В целом, классическая гипотеза средиземноморских рефугиумов в случае *T. euroraea* в значительной степени верна. Результаты наших анализов показывают, что рефугиумы этого вида, скорее всего, находились в северной Италии, на Балканах, на северном и восточном побережье Черного моря и юге Франции.

T. altaica

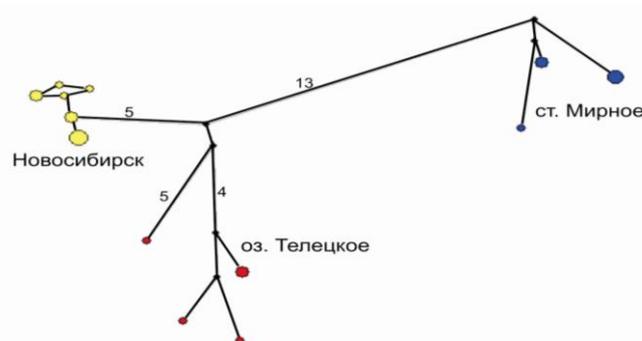


Рис. 8. Медианная сеть гаплотипов *T. altaica* по анализу 1140 п.н. сytb. Обозначения как на рис. 7.

На медианной сети гаплотипов *T. altaica* (рис. 8) можно выделить три внутривидовые группировки, соответствующие трем географическим локалитетам, однако уровень их дивергенции невысок. Вероятно, как и в случае обыкновенного крота, преимущественно

равнинное распространение сибирского крота определило широкое распространение этого вида и относительно слабую филогеографическую структуру.

Другие виды *Talpa* обнаруживают еще более сильную филогеографическую структуру, несмотря на меньшие ареалы: *T. caeca* включает апеннинскую и балканскую филогруппы; *T. romana* – филогруппы из центральной и южной Италии; *T. occidentalis* – группировку из Португалии и юго-восточной Испании; в составе *T. stankovici* обнаруживаются три филогруппы, соответствующие Пелопоннесу, Македонии с западной и северо-западной Грецией и гаплогруппе из центральной Греции.

Филогеография *M. robusta*

Отсутствие выраженной филогеографической структуры отмечено для уссурийской моперы, которая, как и обыкновенный крот, имеет относительно большой равнинный ареал. На полученной сети гаплотипов (рис. 9) виден один гаплотип (Pr1), который несут образцы из Приморья, Южной Кореи и Китая. Остальные образцы группируются вокруг него и отличаются на 2-4 замены. Помимо этого, часть образцов из Приморья имеет несколько общих гаплотипов. Всего на 44 образца из трех локалитетов найдено 25 гаплотипов. К2Р-дистанции между выборками из Приморья, Южной Кореи и Китая составили $\approx 0.23\%$.

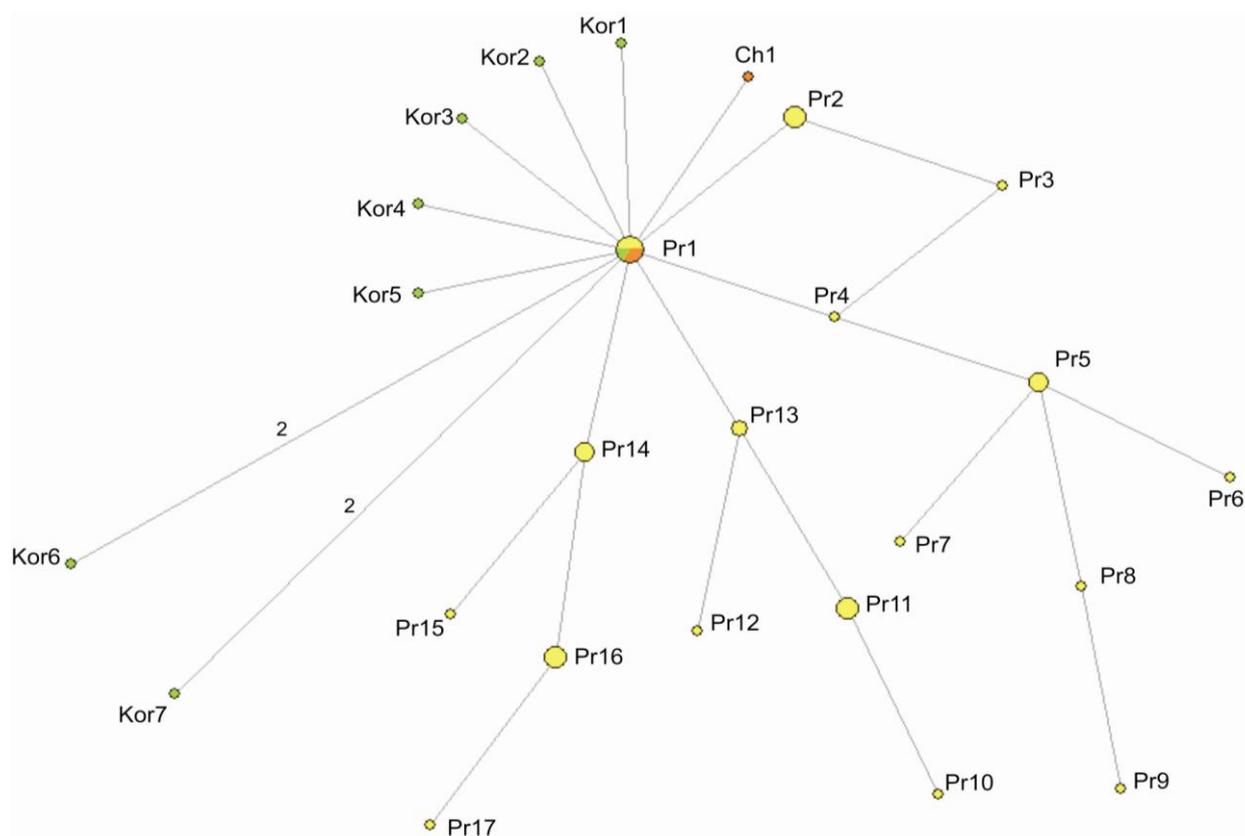


Рис. 9. Медианная сеть гаплотипов *M. robusta* по анализу 1140 п.н. cyt**b**. Обозначения как на рис. 7.

Результаты филогеографического анализа, анализа генетического разнообразия, демографического анализа и анализа «Mismatch distribution» указывают на то, что популяция уссурийских мопер относительно молодая и находится в стадии экспансии. На ее внутривидовую изменчивость, вероятнее всего, повлияла эпоха плейстоценовых оледенений. Плейстоценовые

рефугиумы Корейского полуострова – горный хребет Баекдудаеган (Baekdudaegan) (Chung et al., 2014) или северного Китая в районе Желтого моря (Kangming et al., 2008) могли сыграть важную роль в видообразовании и расселении континентальных могов.

У ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение молекулярных и морфологических гипотез о филогенетических связях в трибе *Talpini*

Наши молекулярные данные соответствуют результатам двух независимых морфологических анализов черепных и скелетных признаков, которые поддерживают монофилию трибы *Talpini* (Motokawa, 2004; Sanchez-Villagra et al., 2006).

Род *Mogera*, который ранее по морфологическим признакам рассматривался как подрод рода *Talpa* (Corbet, 1978; Гуреев, 1979; Corbet, Hill, 1992), по молекулярным данным составляет самостоятельную монофилетическую группу родового ранга.

Полученные в генетическом анализе филогенетические группировки рода *Talpa* противоречат представлениям о родственных связях видов этого рода, основанных на строении черепа и зубов (Martino, Martino, 1931; Niethammer, Krapp, 1990; Rohlf et al., 1996). Надо отметить, что разные наборы морфологических признаков дают разное представление о родственных отношениях видов: при рассмотрении качественных признаков посткраниального скелета обнаруживается иное группирование видов, чем при сравнении черепа и зубов: *T. europaea* и *T. occidentalis* объединяются на основе европоидного таза, в то время как все остальные виды *Talpa* – имеют цекоидный таз. Возможно, европоидный таз – это апоморфия *T. europaea/T. occidentalis*.

Несоответствие между молекулярными и морфологическими данными о взаимоотношении видов может объясняться морфологической конвергенцией в связи с адаптацией к подземному образу жизни, а также с типом использованных в анализах морфологических признаков и способами их кодирования.

Обобщая полученные молекулярные данные и известную информацию по морфологии современных видов и ископаемых форм кротов, можно отметить следующие важные факторы в исторической эволюции строго подземных кротовых: низкая скорость морфологической эволюции и высокое криптическое разнообразие близкородственных видов, которое может быть выявлено только на генетическом уровне.

Так, несмотря на известное заметное видовое разнообразие кротов рода *Talpa* в раннем миоцене Европы (Ziegler, 1990; Fortelius et al., 2002, 2003), молекулярные данные показывают, что все современное разнообразие рода сформировалось заново из единственной поздне-миоценовой линии, а миоценовые виды, филогенетически, скорее всего, довольно далеко отстоят от современных (Vannikova et al., 2015). Но морфология этих кротов настолько мало изменилась с того времени вследствие универсальности адаптаций к подземно-роющему образу жизни, что за многие миллионы лет не появилось синапоморфий, позволяющих разнести современных и миоценовых кротов по разным родам.

Более того, род *Talpa* s.l. (включая ископаемых ранне-миоценовых кротов) оказывается парафилетическим по отношению к остальным *Talpini* (например, *Mogera*, *Euroscaptor*), потому что в палеонтологической летописи он отмечается с начала миоцена (Ziegler, 1990), в то время как существование последнего общего предка всей трибы по молекулярным данным относится к

середине миоцена (12 - 15 млн. л. н.) (Bannikova et al., 2015). Этот факт особенно ярко высвечивает специфику морфологической эволюции *Talpa*, которая характеризуется очень низкой скоростью.

С другой стороны, в эволюции не только *Talpa*, но и восточноазиатских родов обнаруживается высокое криптическое разнообразие близкородственных видов, которое может быть выявлено только на генетическом уровне.

Связь биологии, филогеографии и криптического разнообразия кротов

Как показали результаты нашего исследования, интересной особенностью кротов является их глубокая внутривидовая генетическая подразделенность. Практически все виды характеризуются выраженной филогеографической структурой при высоких генетических дистанциях, разделяющих гаплогруппы, которые нередко превышают среднее внутривидовое значение для млекопитающих (Baker, Bradley, 2006).

Наиболее критическим лимитирующим фактором для кротов является, видимо, степень сухости почв. Действие засухи на кротов осуществляется через изменения кормовой базы. При недостатке необходимой пищи - дождевых червей, кроты поедают большое количество насекомых и пауков. Следствием этого является большая зараженность кротов внутренними паразитами, приводящими к гибели популяции.

Помимо этого, одним из основных факторов, также лимитирующих распространение кротов, является наличие соленых водоемов. Видимо, этот фактор объясняет исторические корни двух линий *T. stankovici* и двух групп видового уровня *Euroscaptor* sp.

Эуроскапторы связаны в своем распространении с умеренным климатом высокогорных местообитаний и избегают равнинных местностей, где для них, видимо, слишком жарко (Kawada, 2005). В этом случае, наоборот, пригодные для жизни кротов высокогорные местообитания оказываются изолированными непригодными или малопригодными для них равнинными местообитаниями. В условиях же умеренного климата Европы горные хребты Альп, Пиренеев, Апеннин и Кавказа не являются непроходимой преградой для кротов.

Относительная или даже полная географическая изоляция и известные для кротов ограниченные возможности миграций и высокий уровень территориальности (Огнев, 1928; Stein, 1950; Loy et al., 1994), ведут к быстрой нейтральной генетической эволюции. Морфология при этом сильно не меняется, потому что подземно-роющий образ жизни накладывает строгие ограничения на выход изменчивости за пределы адаптивной нормы.

Проблема распознавания видовых границ у кротов

Распознавание видовых границ в родах *Talpa* и *Euroscaptor* затруднено из-за особенностей биологии кротов. Подземный образ жизни требует морфологической специализации, но в то же время предоставляет мало возможностей для разделения пищевых ресурсов (Nevo, 1979). По этой причине процессы видообразования, как правило, не сопровождаются выраженными морфологическими изменениями, кроме умеренных изменений размеров. Из-за конкурентного сосуществования виды кротов могут достичь симпатрии только после длительного периода эволюции в зонах аллопатрии, после того как достигается высокий уровень дивергенции. Эта гипотеза согласуется с тем, что все симпатрические виды кротов сформировались в доплейстоценовый период (Bannikova et al., 2015). Это также объясняет отсутствие потока генов в зонах симпатрии и парапатрии кротов.

Согласно генетической концепции вида (Bradley, Baker, 2001; Baker, Bradley, 2006), межвидовая граница определяется на основании уровня генетических дистанций между известными генетически изолированными линиями, которые сохранили свою генетическую целостность при симпатрическом или парапатрическом существовании (обмен генами отсутствует или незначителен). Однако если у кротов симпатрическое существование возможно только для давно разошедшихся форм, то прямое применение генетической концепции может привести к переоценке разрыва между межвидовой и внутривидовой изменчивостью. Например, в случае рода *Talpa* очевидная симпатрия характеризует пару видов – *T. levantis* и *T. caucasica*, возраст дивергенции которых относится к миоцену (Bannikova et al., 2015), а межвидовая дистанция составляет около 14%. С учетом этого, границу между внутривидовой и межвидовой изменчивостью в роде *Talpa* мы определяли на основе сопоставления с генетической дистанцией и временем дивергенции пары ближайших сестринских видов, видовой статус которых никогда не подвергался сомнению: *T. europaea* и *T. occidentalis*. Эти виды, однако, аллопатричны, что соответствует относительно небольшому времени их дивергенции (около 2 млн. л. н.) (Bannikova et al., 2015).

Основная проблема методов, основанных на мультилокусной коалесценции (GMYC, BPP) заключается в том, что они предполагают панмиксию внутри популяций (Camargo, Sites, 2013). Однако это условие не соблюдается в случае кротов, по причине ограниченности миграций (Огнев, 1928; Stein, 1950; Gorman, Stone, 1990) и, как следствие, сильно выраженной филогеографической структуры. Поэтому использование данных методов может приводить к разделению вида на множество аллопатрических линий. В то же время, высокий уровень пространственной структурированности, типичной для подземных млекопитающих, может увеличить скорость диверсификации (Reig et al., 1990) и тем самым привести к увеличению числа линий с неоднозначным таксономическим статусом.

Тем не менее, даже при консервативном подходе к видовому разграничению, представляется разумным присвоить статус вида трем линиям в составе рода *Talpa* в дополнение к девяти ранее описанным и трем линиям в составе рода *Euroscaptor* s.l. в дополнение к восьми ранее описанным.

Таксономическая интерпретация генетического разнообразия кротов трибы Talpini

Genus *Talpa*

T. europaea Linnaeus, 1758
T. occidentalis Cabrera, 1907
T. romana Thomas, 1902
T. caeca Savi, 1822
T. stankovici V. Martino & E. Martino, 1931
T. levantis Thomas, 1906
Talpa ex gr. *levantis*
T. talyschensis Vereschagin, 1945
T. caucasica Satunin, 1908
T. ognevi Stroganov, 1948
T. davidiana Milne-Edwards, 1884
T. altaica Nikolsky, 1883

Genus *Mogera*

M. insularis Swinhoe, 1862
M. latouchei Thomas, 1907
M. kanoana Kawada, Shinohara, Kobayashi, Harada, Oda, Lin, 2007
M. imaizumii Kuroda, 1957
M. tokudae Kuroda, 1940
M. uchidai Abe, Shiraishi and Arai, 1991
M. wogura Temminck, 1833
M. robusta Nehring, 1891

Genus *Euroscaptor*

E. klossi Thomas, 1929
E. grandis Miller, 1940
E. micrura Hodgson, 1840
E. malayana Chasen, 1940
E. longirostris Milne-Edwards, 1870
Euroscaptor sp.1
Euroscaptor sp.2

Genus *A*

Genus *A mizura* Gunther, 1880

Genus *B*

Genus *B subanura* Kawada, Son, Can, 2012
Genus *B parvidens* Miller, 1940
Genus *B* sp.

Предполагаемый исторический сценарий радиации основных родов в трибе *Talpini*

Время существования последнего общего предка для трибы *Talpini* оценивается средним миоценом, а время дивергенции рода *Talpa* от предка остальных азиатских видов кротов приходится на поздний миоцен (He et al., 2014; Bannikova et al., 2015).

Базальное положение *T. altaica*, *T. caucasica*, *T. talyschensis* и *T. davidiana* на дереве рода *Talpa* и их более восточное распространение свидетельствует в пользу ранее высказанной гипотезы об азиатском происхождении предка всех современных видов рода (Colangelo et al., 2010). Ранне-миоценовые ископаемые кроты *T. minuta*, *T. gilothi* и *T. vallesensis* полностью исчезают из палеонтологических находок конца миоцена (Fortelius, 2008). Резкое сокращение разнообразия кротов в Европе в этот период связывают с возрастанием сухости климата (Fortelius et al., 2002, 2006). Однако известные данные по растительности ряда горных районов Кавказа, Анатолии и западного Ирана (Kovar-Eder, 2003; Kovar-Eder et al., 2006) свидетельствуют о том, что в течение позднего миоцена и плиоцена здесь сохранялся достаточный уровень влажности, вследствие чего они могли послужить колыбелью будущего разнообразия кротов Европы. Средний плиоцен – ранний плейстоцен, характеризующийся усилением влажности (Fortelius et al., 2002, 2006) был, по-видимому, благоприятен для расселения кротов. Внутривидовая дифференциация кротов приходится на период раннего и среднего плейстоцена (Bannikova et al., 2015) и связана с тремя известными средиземноморскими рефугиональными очагами (Пиренейский, Балканский, Апеннинский) (Taberlet, 1998; Hewitt, 2001; Schmitt et al., 2007).

Отделение рода *Mogera* от предкового ствола кротов Восточной и Юго-Восточной Азии относится к позднему миоцену (13.69 – 10.37 млн. л. н.) (He et al., 2014) и, вероятно, связано с климатическими изменениями в Восточной Азии, обусловленными формированием Гималаев и усилением сезонных муссонов (An et al., 2001). Разделение рода *Mogera* на две линии – приморские континентальные/японские островные мogerы и китайско-тайваньская ветвь, приходится на период миоцена от 10.5 до 7.5 млн. л. н. (Shinohara et al., 2014; He et al., 2014), для которого характерны последующее увеличение высоты Гималаев и Тибета (Molnar et al., 1993) и усиление действия муссонов (An et al., 2001; Qiang et al., 2001; Song et al., 2007). Межвидовая дивергенция внутри островной и континентальной линиями приходится на поздний плиоцен – ранний плейстоцен и связана, по-видимому, с изменениями уровня моря и формированием перешейка через Корейский пролив (Kirihara et al., 2013; He et al., 2014). Время формирования тайваньской линии мoger (*M. insularis* + *M. kanoana*) составляет 4.5 млн. л. н. (Shinohara et al., 2014). Последующее заселение *M. latouchei* острова Тайвань, вероятнее, связано с этапами позднеплиоценовых оледенений, когда возникала связь острова с материком.

Оценки времени дивергенции *E. mizura* от предковой формы азиатских кротов по данным разных авторов отличаются в пределах от 17.6 до 5.2 млн. л. н. (Tsuchiya et al., 2000; Kirihara et al.,

2013; He et al., 2014; Shinohara et al., 2014) и связаны с процессом понижения уровня моря и формированием перешейка через Корейский пролив.

ВЫВОДЫ

1. Митохондриальная и ядерная филогении, полученные для трибы *Talpini* принципиально совпадают.
2. Несоответствие молекулярных данных морфологическим представлениям о взаимоотношениях видов и родов трибы, а также об уровне таксономического разнообразия объясняется тем, что в морфологической эволюции кротов, возможно, большую роль сыграла конвергенция; высокая степень скрытого разнообразия проявляется только на молекулярном уровне.
3. Криптическое разнообразие трибы *Talpini* находит отражение на всех таксономических уровнях и выражается в наличии глубоко дивергированных генетических линий родового, межвидового и внутривидового ранга, не диагностируемых или плохо диагностируемых морфологически.
4. Виды трибы *Talpini* характеризуются выраженной филогеографической структурой. Глубокая внутривидовая подразделенность кротов связана, по-видимому, с особенностями их биологии (парапатрическим или аллопатрическим распространением при ограниченных возможностях расселения). Высокие генетические дистанции, разделяющие внутривидовые группировки, в ряде случаев можно расценивать как сигнал начальных этапов видообразования.
5. Гипотеза азиатского происхождения общего предка современных линий рода *Talpa*, выдвинутая ранее на основе анализа мтДНК (Colangelo et al., 2010), подтверждается анализом ядерных генов.
6. На основе молекулярных данных предложена новая система трибы *Talpini*, учитывающая следующие факты:
 - a. роды *Mogera* и *Euroscaptor* не являются сестринскими;
 - b. род *Euroscaptor* не является монофилетическим, т.к. по уровню молекулярно-генетического своеобразия *E. mizura* соответствует самостоятельному роду;
 - c. без учета *E. mizura* род *Euroscaptor* распадается на две группы, которые, вероятно, заслуживают родового статуса, в частности *Euroscaptor* s.str. (Южная Азия, включая Китай, Непал, Лаос, Вьетнам, Бирма, Таиланд, п-ов Малайзия) и еще один ранее не описанный род (только Вьетнам);
 - d. род *Euroscaptor* s.str. содержит два не описанных ранее криптических вида, в составе нового рода обнаружена генетическая линия, также, вероятно, заслуживающая, ранга вида;
 - e. в составе рода *Talpa*, в дополнение к девяти принятым в настоящее время видам имеется по крайней мере еще три криптических вида: *T. talyschensis* Vereschagin, 1945, *T. ognevi* Stroganov, 1948 и *Talpa* ex gr. *levantis*;
 - f. выделение сибирского крота в отдельный род или подрод нецелесообразно;
 - g. подтверждается видовой статус *Mogera latouchei*;
 - h. не подтверждается присутствие в южном Приморье *Mogera wogura*.

БЛАГОДАРНОСТИ

Приношу искреннюю благодарность:

А.А. Банниковой за мудрое и чуткое научное руководство и всестороннюю помощь в работе. **В.С. Лебедеву, И.В. Артюшину** и **А.А. Распоповой** за помощь в освоении филогенетических, филогеографических и статистических компьютерных программ. **Р.И. Дзуеву, А.М. Сижажевой** и всем сотрудникам кафедры Общей биологии, экологии и природопользования КБГУ за помощь в сборе и обработке материала в Кабардино-Балкарии. **В.Г. Маликову, Х.У. Мелик-Адамьяну**, и семье **Хачатарян** за помощь и поддержку при сборе материала в Армении. **Литвинову Ю.Н.** и **Бурской В.О.** – за пробы алтайских кротов. **А.Е. Зыкову** – за пробы кротов с Украины, **А.А. Кидову** – за сборы талышских кротов, **А.В. Бобрецову** – за замечательную выборку кротов из Печоро-Илычского заповедника, **А.А. Абрамову** и **В.В. Рожнову** – за пробы кротов из Вьетнама и Южного Приморья, **А.П. Крюкову** – за пробы могов из Приморья, **Б. Кристуфику** и **П. Колланжелло** – за пробы кротов из Западной Европы, **М. Созену** – за выборку из Турции, **Сеоджин Ли** и **Мисук Мин** – за пробы могов из Кореи. Я благодарна всему коллективу кабинета «Молекулярных методов в зоологии» на кафедре зоологии позвоночных МГУ имени М. В. Ломоносова за помощь и интерес к моей работе.

ПУБЛИКАЦИИ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Землемерова, Е.Д.** Новые данные по молекулярной систематике кротов Восточной Азии / **Е.Д. Землемерова, А.А. Банникова, А.В. Абрамов, В.С. Лебедев, В.В. Рожнов** // Доклады АН. — 2013. — Т. 451. — № 6. — С. 707-710.
2. Feuda, R. Tracing the evolutionary history of the mole, *Talpa europaea*, through mitochondrial DNA phylogeography and species distribution modelling / R. Feuda, A.A. Bannikova, **E.D. Zemlemerova**, M. Di Febbraro, A. Loy, R. Hutterer, G. Aloise, A.E. Zykov, F. Annesi, P. Colangelo // Biological Journal of the Linnean Society. — 2015. — V. 114. — № 3. — P. 495-512.
3. Bannikova, A.A. An underground burst of diversity — a new look at the phylogeny and taxonomy of the genus *Talpa* Linnaeus, 1758 (Mammalia: Talpidae) as revealed by nuclear and mitochondrial genes / A.A. Bannikova, **E.D. Zemlemerova**, P. Colangelo, M. Sözen, M. Sevindik, A.A. Kidov, R.I. Dzuev, B. Kryštufek, V.S. Lebedev // Zoological Journal of the Linnean Society. — 2015. — V. 175. — P. 930-948.
4. Банникова, А.А. Филогенетическое положение ганьсуйского крота *Scapanulus oweni* Thomas, 1912 (Mammalia, Talpidae) и взаимоотношения высокоспециализированных подземных групп кротовых / А.А. Банникова, **Е.Д. Землемерова, В.С. Лебедев, Д.Ю. Александров, Ю. Фанг, Б.И. Шефтель** // Доклады АН. — 2015 — Т. 464. — № 2. — С. 238–242.

Материалы конференций:

1. **Землемерова, Е.Д.** Молекулярная филогения рода *Talpa* Linnaeus, 1758 и генетическое разнообразие кротов Кавказа / **Е.Д. Землемерова, А.А. Банникова, В.С. Лебедев, А.А. Кидов, Р.И. Дзуев** // Материалы международной научной конференции «Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа». — Ереван, 2011. — С. 152-155.

2. **Zemlemerova, E.D.** Molecular phylogeny of the mole tribe Talpini (Mammalia, Eulipotyphla, Talpidae) / **E.D. Zemlemerova**, A.A. Bannikova, A.V. Abramov, V.S. Lebedev // Abstracts of III Moscow International Conference «Molecular Phylogenetics MolPhy-3». — Moscow, 2012. — P. 28-29.
3. **Землемерова, Е.Д.** Молекулярная филогения и филогеография кротов трибы Talpini / **Е.Д. Землемерова** // Материалы XX международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов - 2013». — Москва, 2013. — С. 136-137.
4. **Землемерова, Е.Д.** Сравнительная филогеография кротов рода *Talpa* / **Е.Д. Землемерова**, А.А. Банникова, А.Е. Зыков, В.С. Лебедев // Материалы научной конференции «Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии». — Ростов-на-Дону, 2013. — С. 41.
5. **Zemlemerova, E.D.** New data on molecular systematics of the East Asian moles / **E.D. Zemlemerova**, A.A. Bannikova, A.V. Abramov, V.V. Rozhnov, V.S. Lebedev // Abstracts of MAPEEG-2013, — Владивосток, 2013. — P. 76.
6. **Землемерова, Е.Д.** Криптическое разнообразие кротов Вьетнама (Lypotyphla, Talpidae, *Euroscaptor*) / **Е.Д. Землемерова**, А.А. Банникова, В.С. Лебедев, А.В. Абрамов, В.В. Рожнов // Материалы научной конференции «Структура вида у млекопитающих», — Москва, 2015. — С. 33.