

УДК 575.852'113:599.742.4

**СИСТЕМАТИКА И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВО ВЬЕТНАМЕ
ХОРЬКОВЫХ БАРСУКОВ РОДА *Melogale* (Mammalia, Mustelidae):
ПЕРВЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ**

Академик РАН В. В. Рожнов^{1,2,*}, М. П. Кораблев¹, А. В. Абрамов^{2,3}

Поступило 04.12.2018 г.

Впервые проведенные генетические исследования хорьковых барсуков *Melogale* Вьетнама показали, что на его территории обитают три вида — *M. moschata*, *M. personata* и *M. cucphuongensis*, которые могут быть отнесены к категории видов-двойников (криптовидов). Установлено, что *M. personata* широко распространён не только в южном и центральном Вьетнаме, но и в северных провинциях (Лангшон, Хазянг, Ниньбинь), а *M. cucphuongensis*, кроме провинции Ниньбинь, откуда был описан, отмечен в провинциях Лангшон, Хазянг, Каобанг и Даклак. Полученные данные свидетельствуют о симпатричном распространении всех трёх видов на территории Вьетнама, а для *M. personata* и *M. moschata* подтверждают ранее установленную по морфологическим данным симпатрию в южном Вьетнаме.

Ключевые слова: хорьковые барсуки, *Melogale*, систематика, цитохром *b*, Вьетнам.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524854523-528>

Хорьковые барсуки рода *Melogale* широко распространены в Юго-Восточной Азии, Южном Китае и Индии. До недавнего времени в состав рода включали четыре вида [1], морфологически трудно различимых: *M. moschata* (Китай, Индия, Лаос, Тайвань, Вьетнам), *M. personata* (Мьянма, Китай, Непал, Индия, Малайзия, Таиланд, Вьетнам), *M. everetti* (о-в Калимантан) и *M. orientalis* (о-в Ява). В 2011 г. из северного Вьетнама был описан ещё один вид — *M. cucphuongensis* [2], известный лишь из типового местообитания в национальном парке Кукфьюнг (провинция Ниньбинь).

В системе Mustelidae род *Melogale* по морфологическим признакам ближе к подсемействам Mustelinae и Lutrinae, чем Melinae, в которое его обычно включают [3]. Своеобразие положения рода подтверждается и результатами исследования филогенетических связей на основе анализа частичных последовательностей ядерных генов RAG1 и IRBP [4]. Таким образом, выделение *Melogale* в отдельное подсемейство Helictidinae в семействе Mustelidae [4] выглядит вполне оправданным. Что касается генетических

отношений внутри рода *Melogale*, сведения об этом в литературе практически отсутствуют.

Во Вьетнаме ранее отмечали два вида хорьковых барсуков — *M. moschata* и *M. personata*. Считалось, что *M. moschata* населяет только северную и центральную части Вьетнама, а *M. personata* — центральную и южную [5–7], причём данные о характере распределения этих видов в зоне возможной симпатрии отсутствовали. Наши исследования [8] показали, что в южном Вьетнаме эти виды синтопичны. После описания *M. cucphuongensis* фауна Вьетнама пополнилась ещё одним видом, у которого хотя и имеется ряд краниологических особенностей, в целом его череп и зубы сходны с *M. moschata*. Анализ последовательности гена цитохрома *b* мтДНК у *M. cucphuongensis*, *M. moschata* и *M. personata* показал базальную позицию и сестринское отношение *M. cucphuongensis* к филогенетической кладе, объединяющей *M. moschata* и *M. personata* [2].

Сравнительный анализ мтДНК *M. moschata* из Вьетнама и с о-ва Тайвань выявил значительные генетические различия, сопоставимые с межвидовыми в семействе Mustelidae. Хотя две исследованные особи были отнесены к разным подвидам (*M. moschata taxilla* и *M. moschata subaurantiaca*), исходя из столь больших генетических различий между ними, авторы работы [9] поставили вопрос о пересмотре внутривидовой таксономической структуры *M. moschata*, но не сделали этого.

Цель нашей работы состояла в оценке таксономического разнообразия и распространения *Melogale*

¹ Институт проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова

Российской Академии наук, Москва

² Совместный Российско-Вьетнамский Тропический
научно-исследовательский и технологический центр,
Ханой, Вьетнам

³ Зоологический институт

Российской Академии наук, Санкт-Петербург

*E-mail: rozhnov.v@gmail.com

во Вьетнаме на основании генетического анализа собранных в ходе экспедиционных исследований экземпляров.

Материалом для исследования послужили 22 образца тканей *Melogale* из разных географических точек северного, центрального и южного Вьетнама (рис. 1, табл. 1). Среди них 17 проб были представлены мягкими тканями, сохранёнными в этаноле, 5 — остеологическим материалом.

В работу были включены экземпляры из коллекционных фондов Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН), Зоологического института РАН (ЗИН РАН) и Зоологического музея МГУ (ЗММУ): LC12 (самец, провинция Хазянг (Ha Giang), уезд Банлиен (Ban Lien), 29.12.2013, ИПЭЭ РАН); LC20 (пол неизв., провинция Хазянг (Ha Giang), уезд Меовак (Meo Vac), 05.01.2014, ИПЭЭ РАН); СВ-100 (самец, провинция Каобанг (Caobang), уезд Халанг (Ha Lang), 07.03.2013, ИПЭЭ РАН); SP-1 (самка, провинция Лаокай (Lao Cai), уезд Шапа (Sa Pa), 11.09.2012, ИПЭЭ РАН); S-161135 (самец, провинция Лаокай (Lao Cai), уезд Шапа (Sa Pa), 11.03.1993, ЗММУ); HL48 (самка, провинция Лангшон (Lang Son), национальный парк Хуулиен (Huu Lien), 20.05.2012, ИПЭЭ РАН); HL49 (самка, провинция Лангшон (Lang Son), национальный парк Хуулиен (Huu Lien), 19.05.2012, ИПЭЭ РАН); HL-100 (самка, провинция Лангшон (Lang Son), национальный парк Хуулиен (Huu Lie), 06.2012, ИПЭЭ РАН); LD4 (самец, провинция Лангшон (Lang Son), национальный парк Хуулиен (Huu Lien), 19.05.2012, ИПЭЭ РАН); LD10 (пол неизв., провинция Лангшон (Lang Son), национальный парк Хуулиен (Huu Lien), 20.05.2012, ИПЭЭ РАН); AVA 13-169 (пол неизв., провинция Шонла (Son La), уезд Фуен (Phu Yen), 31.05.2013, ЗИН РАН); M12 (пол неизв., провинция Ниньбинь (Ninh Binh), национальный парк Кукфыонг (Cuc Phuong), 20.11.2013, ЗИН РАН); QB17-31 (пол неизв., провинция Куангбинь (Quang Binh), уезд Летхуй (Le Thuy), 12.03.2017, ИПЭЭ РАН); QB17-32 (пол неизв., провинция Куангбинь (Quang Binh), уезд Летхуй (Le Thuy), 12.03.2017, ИПЭЭ РАН); S-72616 (пол неизв., провинция Нгеан (Nghe An), 28.02.1962, ЗММУ), AVA 14-005 (самка, провинция Контум (Kon Tum), национальный парк Чумомрай (Chu Mom Ray), 01.05.2014, ИПЭЭ РАН); AVA 14-033 (самка, провинция Контум (Kon Tum), национальный парк Чумомрай (Chu Mom Ray), 12.05.2014, ИПЭЭ РАН); 28.03.13-1 (самец ad, провинция Даклак (Dak Lak), национальный парк Чуянгсин (Chu Yang Sin), 28.03.2013, ИПЭЭ РАН); M10 (пол неизвестен, про-



Рис. 1. Места сбора материала во Вьетнаме. 1 — уезд Меовак, провинция Хазянг; 2 — уезд Халанг, провинция Каобанг; 3 — уезд Банлиен, провинция Хазянг; 4 — уезд Шапа, провинция Лаокай; 5 — национальный парк Хуулиен, провинция Лангшон; 6 — уезд Фуен, провинция Шонла; 7 — национальный парк Кукфыонг, провинция Ниньбинь; 8 — провинция Нгеан; 9 — уезд Летхуй, провинция Куангбинь; 10 — национальный парк Чумомрай, провинция Контум; 11 — верховье междуречья р. Ба и р. Кон, провинция Зялай; 12 — национальный парк Чуянгсин, провинция Даклак; 13 — национальный парк Каттъян, провинция Донгнай.

винция Даклак (Dak Lak), национальный парк Чуянгсин (Chu Yang Sin-2), 11.04.2012, ИПЭЭ РАН); S-137607 (самка, провинция Зялай (Gia Lai), верхо-

Таблица 1. Результаты видовой идентификации образцов тканей *Melogale*

Образец	Вид по фенотипу	Вид по данным GenBank	Степень сходства с последовательностью из GenBank	№ на карте
LC20	<i>M. moschata</i>	<i>M. moschata</i>	92%, HM106328	1
CB-100	<i>M. moschata</i>	<i>M. moschata</i>	92%, HM106328	2
LC12	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	3
SP-1	<i>M. moschata</i>	<i>M. moschata</i>	99%, AF498158	4
*S-161135	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	4
HL49	<i>Melogale sp.</i>	<i>M. moschata</i>	92%, HM106328	5
HL-100	<i>M. moschata</i>	<i>M. moschata</i>	92%, HM106328	5
HL48	<i>Melogale sp.</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	5
LD4	<i>M. moschata</i> (?)	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	5
LD10	<i>M. moschata</i> (?)	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	5
AVA 13-169	<i>M. moschata</i>	<i>M. moschata</i>	99%, HM106328	6
M12	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	7
*S-72616	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	8
QB17-31	<i>Melogale sp.</i>	<i>M. personata</i>	98%, EF987756	9
QB17-32	<i>Melogale sp.</i>	<i>M. personata</i>	98%, EF987756	9
AVA 14-005	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	10
AVA 14-033	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	98%, EF987756	10
28.03.13-1	<i>M. personata</i>	<i>M. moschata</i>	92%, AF498158	12
*M10	<i>M. moschata</i>	<i>M. moschata</i>	99%, HM106328	12
*S-137607	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	11
M01	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	98%, EF987756	13
*S-77190	<i>M. personata</i>	<i>M. personata</i>	99%, EF987756	—

Примечание. *остеологический материал, остальные образцы — материал мягких тканей.

вье междуречья р. Ба и р. Кон, 28.04.1985, ЗММУ); M01 (самка, провинция Донгнай (Dong Nai), национальный парк Каттхен (Cat Tien), 05.12.2002, ИПЭЭ РАН); S-77190 (самец, 07.07.1962, ЗММУ).

По фенотипическим признакам животные предварительно были определены как *M. personata* (10 особей) и *M. moschata* (8 особей); четыре особи определены только до рода *Melogale*.

Выделение ДНК из образцов тканей осуществляли с использованием набора Diatom DNA Prep (ООО “Лаборатория ИЗОГЕН”, Россия) по протоколу изготовителя с некоторыми изменениями. Измельчённые мягкие ткани или костную стружку термостатировали в лизирующем буфере при 57 °C в течение 20 ч, остальные процедуры проводили, следуя рекомендациям производителя набора.

Для проведения молекулярно-генетического исследования анализировали фрагмент гена цитохрома *b* в мтДНК (553 п.н.). Амплификацию осуществляли с использованием ПЦР-смеси Master Mix 5X Mag^{dd} MIX2025 (“Диалат”, Россия) со специально разработанными прямым и обратным праймерами: MEL649F 5'-CATTCGTAACCCACCCAC-3' и MEL649R 5'-TGGGATTTTGTTCAGAGTCGG-3'. Очистку продукта амплификации выполняли с при-

менением осаждающего раствора ацетата натрия с последующей промывкой 70%-м этанолом.

Секвенирование последовательностей осуществляли с помощью автоматического анализатора ABI Prism 3500 (“Applied Biosystems”, США) с использованием набора реактивов BigDye Terminator v.3.1 (“Applied Biosystems”). Выравнивание полученных последовательностей осуществляли с помощью программы BioEdit v. 7.0.9.0 [10]. Филогенетические отношения между последовательностями оценивали на основе дендрограмм, построенных по методу ближайшего связывания (NJ) с использованием двухпараметрической модели Кимуры (K2P) в программе MEGA 6 [11]. Статистическую достоверность узлов дендрограммы оценивали на основе бутстреп-поддержки (10 000 реплик). Количество переменных сайтов, транзиций и трансверсий, среднее число парных различий между последовательностями рассчитывали в программе Arlequin v. 3.5 [12].

В анализ мы включили также последовательности гомологичных участков генома из базы данных GenBank: JN032659 [2], KP726273 (Tsai, Chang, не опубликовано), NC020644, HM106328 [13], AF498158 [14], EF987756 [15].

Получили 22 последовательности анализируемого фрагмента мтДНК. Эти последовательности мы депонировали в GenBank под номерами MN986726–MN986748. Обнаружили 61 полиморфную позицию, среди которых транзиций было 59, трансверсий — 3. Число информативных сайтов для парсимонии — 58. Выявили 13 гаплотипов, среднее число парных различий между которыми составило $22,79 \pm 10,41$.

Полученные материалы верифицировали в GenBank на предмет видовой принадлежности исследуемых образцов. Первичное видовое определение совпало с данными о видовой принадлежности по информации GenBank в 15 случаях (табл. 1).

Объём информации, содержащейся в GenBank по фрагментам гена цитохрома *b* и полному митохондриальному геному хорьковых барсуков *Melogale*, очень скуден. В настоящее время в указанной базе данных депонировано всего 9 последовательностей представителей рода, из них лишь 6 перекрываются с участком ДНК, исследованным нами. Таким образом, оценка видовой принадлежности на основе наибольшей идентичности с гомологичным сиквенсом известного вида может быть не достаточно достоверной. Наиболее вероятным объяснением низкого сходства (92%) некоторых образцов с последовательностями GenBank представляется ошибочная видовая идентификация системой BLAST вследствие отсутствия данных по гомологичному фрагменту ДНК анализируемого вида.

На основании выравнивания полученных нами последовательностей построили филогенетическое древо (рис. 2). На рисунке видно, что последовательности группируются в три основных кластера, подтверждённых высокими (≥ 99) значениями бутстреп-поддержки. Два из них соответствуют видам *M. personata* и *M. moschata*, в то время как третий кластер, отделённый от остальных наибольшей генетической дистанцией, объединяет последовательности особей, видовая идентификация которых вызывает вопросы. Значения взвешенных межгрупповых дистанций (net distance) между первым и вторым кластерами составили $2,5 \pm 0,6\%$, между первым и третьим кластерами $9,0 \pm 1,3\%$ и между вторым и третьим $8,6 \pm 1,3\%$. Эти показатели существенно превосходили внутривидовые генетические дистанции (π), составившие $0,57 \pm 0,35\%$ для первого кластера, $0,61 \pm 0,53\%$ — для второго и $0,33 \pm 0,26\%$ — для третьего.

При включении в анализ гомологичных участков (357 п.н.), депонированных в GenBank последовательностей, среди которых была последовательность недавно описанного вида *M. cucphuongensis* [2], структура филогенетического древа сохранилась

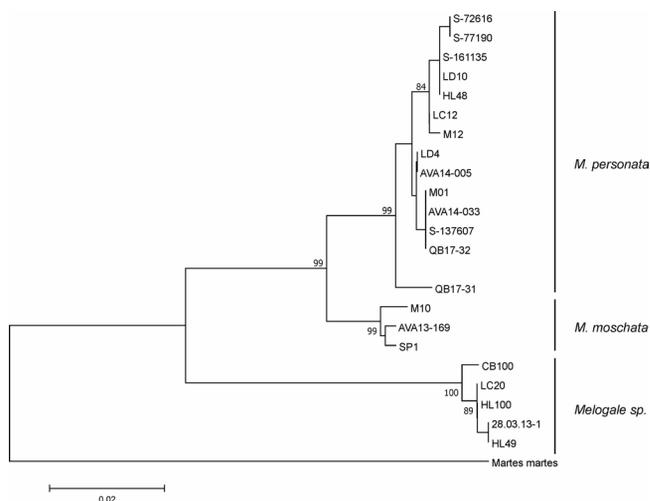


Рис. 2. Дендрограмма филогенетических отношений последовательностей *Melogale*, построенная на основании анализа последовательностей фрагмента гена цитохрома *b* (553 п.н.). NJ, K2P, Bootstrap 10000 reps.

(рис. 3). Последовательность *M. cucphuongensis* объединялась в один кластер с образцами, видовая идентификация которых вызывала вопросы. Это дало основание отнести проанализированные нами образцы (LC20, СВ-100, HL49, HL-100, 28.03.13-1) к *M. cucphuongensis*. Данный кластер, как и в предыдущем случае (рис. 2), имел высокую статистическую поддержку (100) и характеризовался базальным положением по отношению к кладе, включающей *M. personata* и *M. moschata*, что согласуется с данными Nadler с соавт. [2]. Географическое распределение этих образцов свидетельствует о широ-

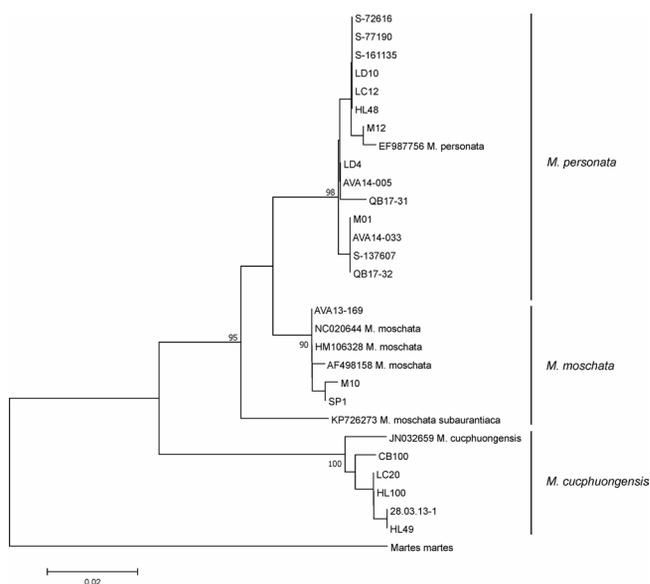


Рис. 3. Дендрограмма филогенетических отношений последовательностей *Melogale*, построенная на основании анализа последовательностей фрагмента гена цитохрома *b* (357 п.н.). NJ, K2P, Bootstrap 10000 reps.

ком распространении *M. cucphuongensis* на территории Вьетнама (рис. 1). Экземпляры, генотипически близкие к *M. cucphuongensis*, были зарегистрированы как в северной части страны (провинции Каобанг, Хазянг и Лангшон), так и в южной (провинция Даклак). Экземпляр с о-ва Тайвань, отнесённый к подвиду *M. moschata subaurantiaca*, занимал внешнегрупповое положение по отношению к кластеру, включавшему *M. personata* и остальные последовательности *M. moschata* (рис. 3). Высокий уровень генетических различий тайваньской формы (95) и *M. personata* и *M. moschata* подтвердил ранее высказанное предположение [9] о её возможном видовом статусе.

Таким образом, впервые проведённые нами генетические исследования хорьковых барсуков *Melogale* Вьетнама показали, что на его территории обитает три вида — *M. moschata*, *M. personata* и *M. cucphuongensis*, которые морфологически сходны и могут быть отнесены к категории видов-двойников (криптовидов). Мы установили, что *M. personata* широко распространён не только в южном и центральном Вьетнаме, но и в его северных провинциях (Лангшон, Хазянг, Ниньбинь). Полученные данные свидетельствуют о том, что *M. personata* и *M. moschata* во многих районах Вьетнама распространены симпатрично, и подтверждают их симпатрию в южном Вьетнаме, ранее установленную по морфологическим признакам [8]. Структура распространения рода *Melogale*, исходя из полученных нами данных, представляется сегодня следующим образом: *M. moschata* (Gray, 1831) (Китай, Индия, Лаос, Тайвань, Вьетнам); *M. personata* I. Geoffroy Saint-Hilaire, 1831 (Мьянма, Китай, Непал, Индия, Малайзия, Таиланд, Вьетнам); *M. cucphuongensis* Nadler, Streicher, Stefen, Schwierz et Roos, 2011 (Вьетнам); *M. everetti* (Thomas, 1895) (о-в Калимантан); *M. orientalis* (Horsfield, 1821) (о-в Ява); *M. subaurantiaca* (Swinhoe, 1862) (о-в Тайвань). Однако дальнейшие генетические и морфологические исследования могут внести изменения в эту структуру.

Благодарности. Авторы благодарят А.В. Щинова, А.Е. Балакирева и А.Н. Тихонова за помощь в сборе материала.

Источники финансирования. Работа выполнена при частичной поддержке Программы Президиума РАН “Биоразнообразие природных систем” и гранта РФФИ 16–04–00085.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Wozencraft W.C.* In: *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd ed. Baltimore: Hopkins Univ. Press, 2005. P. 532–628.
2. *Nadler T., Streicher U., Stefen C., Schwierz E., Roos C.* // *Zool. Garten N.F.* 2011. V. 80. P. 271–286.
3. *Bryant H.N., Russell A.P., Fitch W.D.* // *Zool. J. Linn. Soc.* 1993. V. 108. P. 301–334.
4. *Sato J.J., Hosoda T., Wolsan M., Suzuki H.* // *Zool. Sci.* 2004. № 21. P. 111–118.
5. *Рожнов В.В.* // *Зоол. журн.* 1994. Т. 73. № 7/8. С. 227–232.
6. *Rozhnov V.V.* // *Small Carnivore Conservation*. 1994. № 10. P. 14.
7. *Dang N.C., Endo H., Nguyen T.S., Oshida T., et al.* [Checklist of Wild Mammal Species of Vietnam]. Shoukadoh, Kamigyo; Kyoto, 2008. (In Vietnamese).
8. *Abramov A.V., Rozhnov V.V.* // *Small Carnivore Conservation*. 2014. № 51. P. 68–70.
9. *Hosoda T., Sato J.J., Lin L.-K., Chen Y.-J., et al.* // *Canad. J. Zool.* 2011. V. 89. № 6. P. 559–569.
10. *Hall T.A.* // *Nucl. Acids Symp.* 1999. V. 41. P. 95–98.
11. *Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipowski A., Kumar S.* // *Mol. Biol. and Evolut.* 2013. V. 30. P. 2725–2729.
12. *Excoffier L., Laval G., Schneider S.* // *Evolut. Bioinf. Online*. 2005. V. 1. P. 47–50.
13. *Yu L., Peng D., Liu J., Luan P., et al.* // *BMC Biol.* 2011. V. 11. № 92. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/92>
14. *Koepfli K.-P., Wayne R.K.* // *Syst. Biol.* 2003. V. 52. № 5. P. 571–593.
15. *Koepfli K.-P., Deere K.A., Slater G.J., Begg C., et al.* // *BMC Biol.* 2008. V. 6. № 10. <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/6/10>

**SYSTEMATICS AND DISTRIBUTION OF FERRET BADGERS
Melogale (Mammalia, Mustelidae) IN VIETNAM: FIRST GENETIC DATA**

Academician of the RAS V. V. Rozhnov^{1,2}, M. P. Korablev¹, A. V. Abramov^{2,3}

¹*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation*

²*Joint Russian-Vietnamese Tropical Research and Technological Centre,
Hanoi, Vietnam*

³*Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg,
Russian Federation*

Received December 4, 2018

Genetic studies of the ferret badgers *Melogale* conducted in Vietnam have shown that this area is inhabited by three species, *M. moschata*, *M. personata*, and *M. cucphuongensis*, which can be attributed to sibling species (cryptic species). *M. personata* was found to be widespread not only in southern and central Vietnam, but also in the northern provinces (Lang Son, Ha Giang, Ninh Binh), while *M. cucphuongensis* was found in the provinces Lang Son, Ha Giang, Cao Bang, and Dak Lak, apart from Ninh Binh, from where it was described. The data obtained suggest a sympatric distribution of all three species over the Vietnam area and confirm sympatry of *M. personata* and *M. moschata* in southern Vietnam, which has been earlier established on the basis of morphological data.

Keywords: ferret badgers, *Melogale*, systematics, cytochrome *b*, Vietnam.