

Φυλογένεση του γένους *Apodemus* (Kaup, 1829) στον ελληνικό χώρο

Νιόβη Μυρσίνη Ρώσσιου

Επιβλέπων: Νίκος Πουλακάκης

Περίληψη

Το γένος *Apodemus* (Kaup, 1829) αποτελείται από μικρά τρωκτικά, ανήκει στην οικογένεια Muridae και αριθμεί είκοσι είδη που εξαπλώνονται σε όλη την περιοχή της Παλαιαρκτικής. Χωρίζονται σε τρία υπογένη, το *Apodemus*, που περιλαμβάνει κυρίως ασιατικά είδη, το *Sylvaemus*, με είδη που έχουν ευρεία κατανομή στην Ευρασία και το *Karstomys* που εξαπλώνεται στη Μέση Ανατολή και τα Βαλκάνια. Στην Ελλάδα εντοπίζονται τα είδη *A. agrarius*, *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *A. witherbyi*, *A. epimelas* και *A. mystacinus*. Η παρούσα εργασία στοχεύει στη διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων του γένους στον ελληνικό χώρο, χρησιμοποιώντας έξι γενετικούς δείκτες, δύο μιτοχονδριακούς (*cyt b* και 16S) και τρεις πυρηνικούς (IRBP, GHR και BDNF). Βάσει κάποιων φυλογενετικών και χρονοφυλογενετικών αναλύσεων προκύπτει ότι το γένος είναι μονοφυλετικό. Δημιουργούνται 3 κύριοι κλάδοι, σύμφωνα με τα υπογένη που έχουν αναγνωρισθεί, με το υπογένος *Apodemus* να διαφοροποιείται πρώτο και τα *Sylvaemus* και *Karstomys* να είναι πιο συγγενικά μεταξύ τους. Επιπροσθέτως, κάθε είδος δημιουργεί έναν ξεχωριστό κλάδο, γεγονός που συμφωνεί με την υπάρχουσα ταξινόμηση. Εντός των *Sylvaemus* οι σχέσεις των ειδών επιλύονται, με το *A. witherbyi* να διαχωρίζεται πρώτο και τα *A. flavicollis* και *A. sylvaticus* να είναι αδερφά τάξα. Το μόνο είδος που εμφανίζει ενδοειδική δομή είναι το *A. flavicollis*, όπου δημιουργούνται δυο καλά υποστηριζόμενοι κλάδοι, ένας με τα άτομα από την ηπειρωτική χώρα και ένας με το δείγμα από τη Λέσβο. Η διαφοροποίηση των ειδών φαίνεται να λαμβάνει χώρα κατά το Μειόκαινο και το Πλειόκαινο. Κατά την παρούσα μελέτη καταγράφηκαν για πρώτη φορά άτομα του είδους *A. witherbyi* στην περιοχή του Έβρου και στα νησιά Αстуπάλαιο, Χίος και Νάξος, καθώς και άτομο το είδους *A. agrarius* στην περιοχή της Θεσπρωτίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι μοριακές μελέτες δεν συμφωνούν με τις μορφολογικές κλειδίες όσον αφορά τα είδη *A. flavicollis* και *A. sylvaticus*, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη αναθεώρησης των κλειδίων.

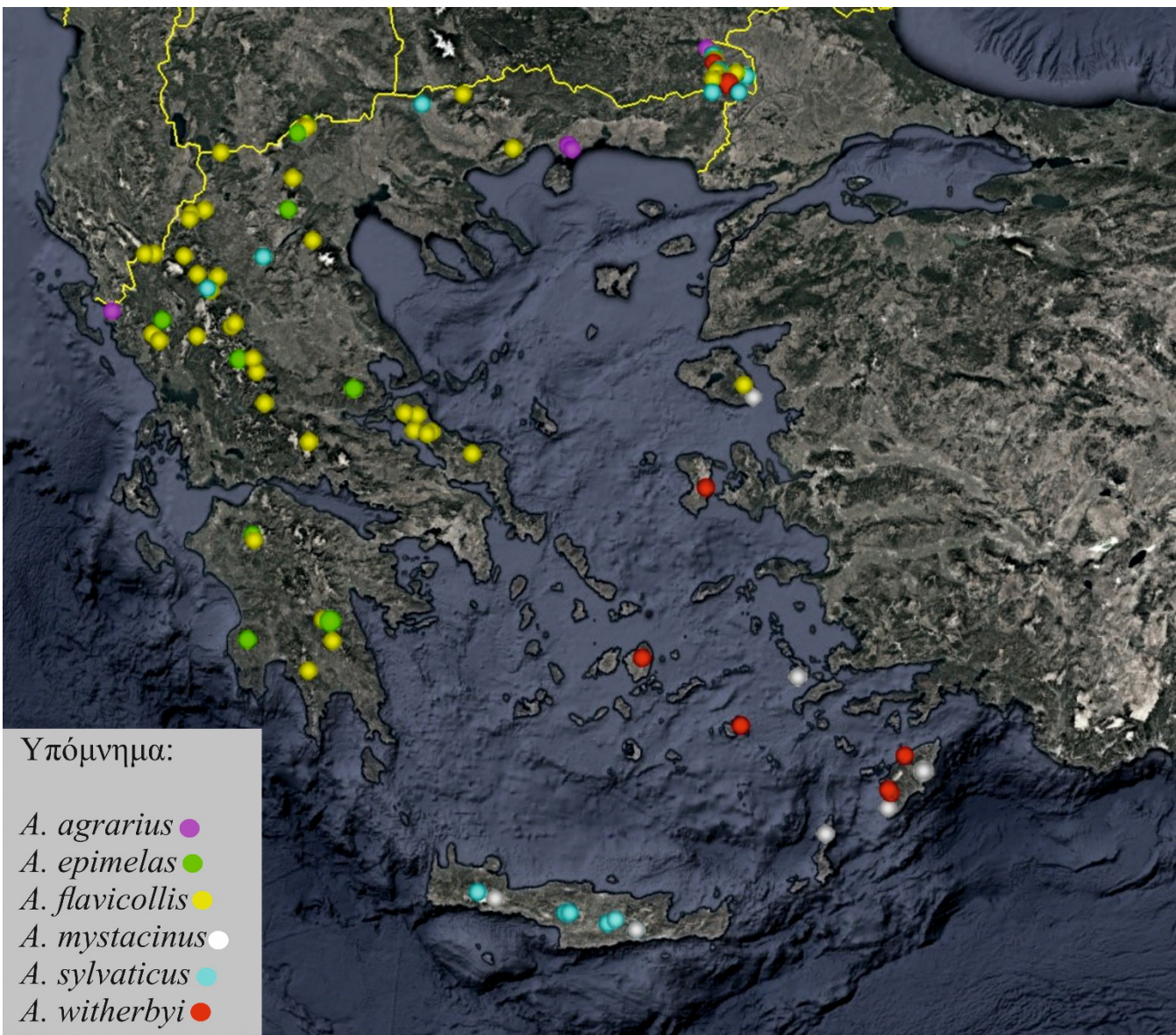
Εισαγωγή

Τα ποντίκια του γένους *Apodemus* (Kaup, 1829) είναι τα μικρά τρωκτικά με τη μεγαλύτερη εξάπλωση σε φυσικούς βιότοπους (π.χ. πλατύφυλλα δάση και αγρούς) στην εύκρατη ζώνη της Παλαιαρκτικής (Corbet and Ovenden 1980; Orlov et al. 1996). Η πλειοψηφία συμφωνεί με τον διαχωρισμό του γένους σε δύο υπογένη, το *Sylvaemus* (Ognev, 1924) και το *Apodemus* (Musser & Carleton, 2005; Krystufek and Vohralik, 2009). Ωστόσο τα είδη *A. mystacinus* και *A. epimelas* είναι αρκετά διακριτά τόσο μορφολογικά όσο και γενετικά, επομένως θεωρείται ότι ανήκουν σε ένα ξεχωριστό υπογένος, το *Karstomys*. Στην Ελλάδα εντοπίζονται τα είδη *A. agrarius* (υπογένος *Apodemus*), *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *A. witherbyi* (υπογένος *Sylvaemus*), *A. epimelas* και *A. mystacinus* (υπογένος *Karstomys*). Το *A. flavicollis* είναι ποντίκι μεσαίου μεγέθους, έχει τρίχωμα καφέ ραχιαία και λευκό κοιλιακά και έχει ένα κίτρινο-πορτοκαλί θωρακικό «κολλάρο», που χρησιμοποιείται ως ταξινομικός χαρακτήρας. Στην Ελλάδα απαντάται στην ηπειρωτική χώρα, τα επτάνησα και νησιά του ανατολικού Αιγαίου. Το *A. sylvaticus* έχει κατά βάση μικρό μέγεθος, καστανό ή γκρι τρίχωμα ραχιαία και γκρι/λευκό κοιλιακά που διαφέρει γεωγραφικά (Wilson, Lacher & Mittermeier, 2017). Κατανέμεται σε όλο τον ελληνικό χώρο. Το *A. witherbyi* έχει περίπλοκη ταξινομική ιστορία. Μορφολογικά μοιάζει πολύ με τα υπόλοιπα *Sylvaemus*. Στην Ελλάδα έχει βρεθεί στη Ρόδο και την Κω. Το *A. mystacinus* έχει ραχιαίο τρίχωμα χρώματος γκριζοκαφέ και κοιλιακό λευκό ή πολύ ανοιχτό γκρι. Στην Ελλάδα βρίσκεται στην Κρήτη και σε νησιά του Αιγαίου. Το *A. epimelas* θεωρούνταν μέχρι πρόσφατα υποείδος του *A. mystacinus*, με το οποίο μοιάζει μορφολογικά. Συναντάται στην Ηπειρωτική Ελλάδα, σε νησιά του Ιονίου και νησιά του Αιγαίου. Το *A. agrarius* είναι αρκετά διακριτό μορφολογικά, καθώς έχει μια μαύρη γραμμή κάτω στη ράχη του. Στην Ελλάδα συναντάται στη Θράκη και στην Ανατολική και Κεντρική Μακεδονία.

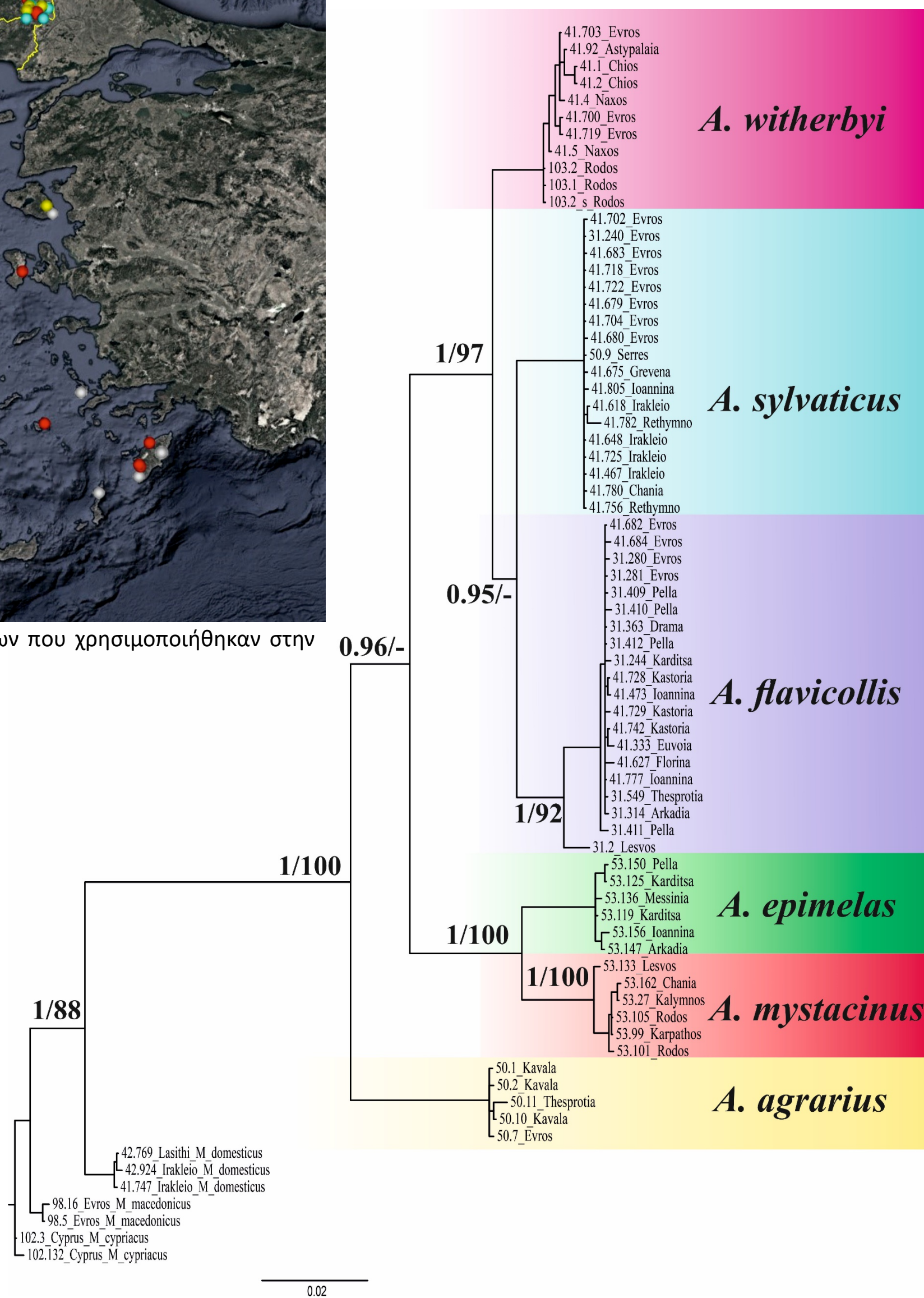
Υλικά και Μέθοδοι

- Εξαγωγή ολικού γενωμικού DNA από 129 δείγματα ***Apodemus*** (συντηρημένα σε αιθανόλη και κρανία από εμέσματα ***T. alba***) από τη συλλογή του ΜΦΙΚ
- Χρήση 7 δειγμάτων του γένους ***Mus*** ως εξωομάδες
- Πολλαπλασιασμός 2 μιτοχονδριακών (***cytb*** και **16S**) και 3 πυρηνικών (**GHR, IRBP, BDNF**) γενετικών δεικτών με τη χρήση PCR
- Αλληλούχηση των δειγμάτων με τη μέθοδο ***Sanger***
- Έλεγχος των αλληλουχιών με τον αλγόριθμο **BLAST**
- Κατασκευή φυλογενετικών δέντρων με τις μεθοδολογίες **μπεϋζιανής συμπερασματολογίας (MrBayes)** και **μέγιστης πιθανοφάνειας (RaxML)**
- Ανάλυση μοριακής χρονολόγησης στο πρόγραμμα **BEAST**

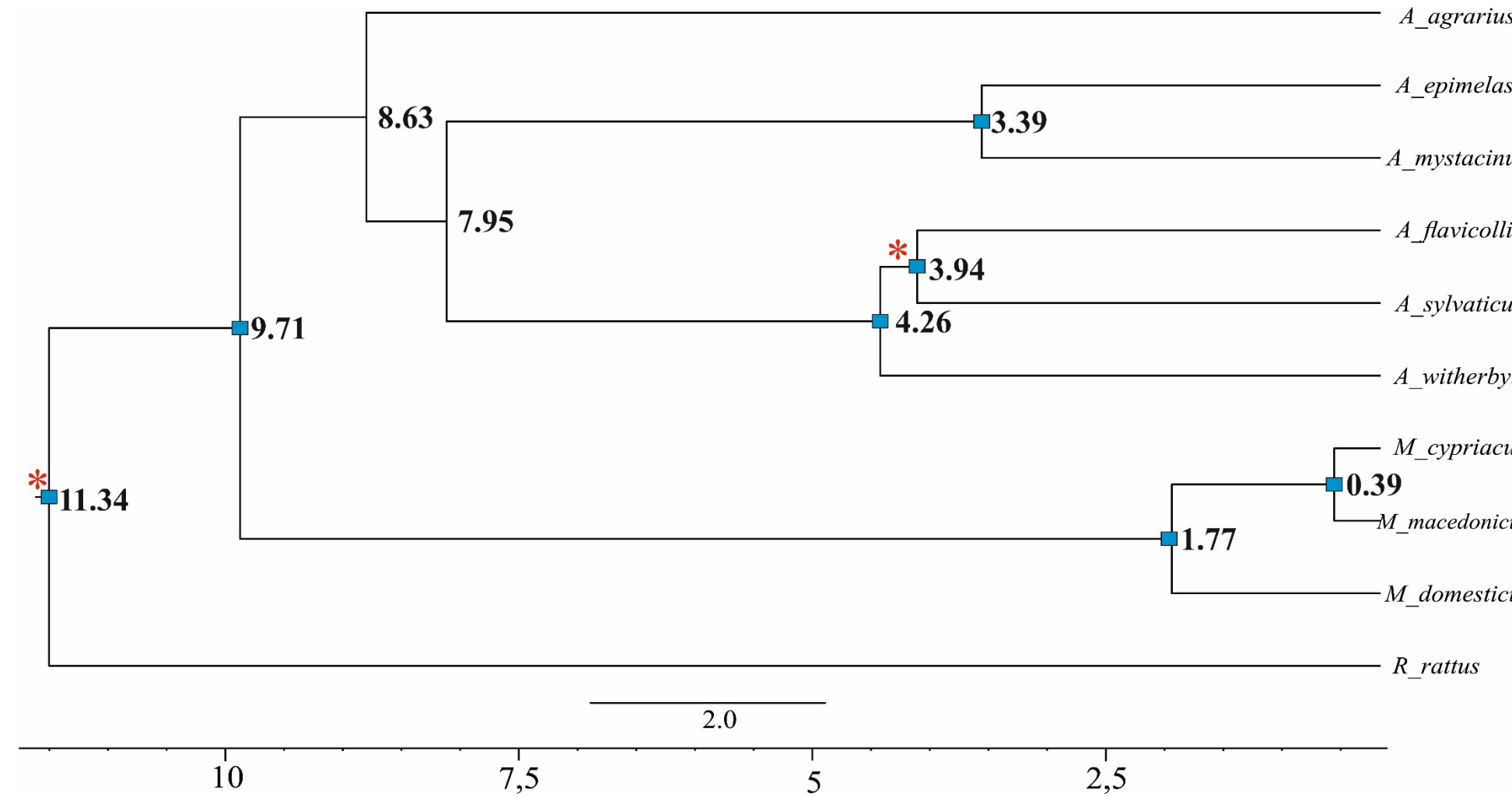
Αποτελέσματα



Σχήμα 1. Χάρτης κατανομής των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία



Σχήμα 2. Συναινετικό φυλογενετικό δέντρο με τις μεθόδους BI και ML



Σχήμα 3. Δέντρο ειδών μοριακής χρονολόγησης. Με κόκκινο αστερίσκο συμβολίζονται τα σημεία βαθμονόμησης (Michaux J.R. et al., 2002; Darvish J. et al., 2015) και με μπλε τετράγωνο οι καλά υποστηριζόμενοι κλάδοι

Συζήτηση

- Το γένος είναι μονοφυλετικό τόσο σε επίπεδο υπογενών, όσο και σε επίπεδο ειδών. Το υπογένος *Apodemus* διαχωρίστηκε πρώτο, κάνοντας τα *Karstomys* και *Sylvaemus* πιο συγγενικά μεταξύ τους. Εντός των *Sylvaemus* φαίνεται να διαχωρίζεται πρώτο το *A. witherbyi* και τα *A. flavicollis* και *A. sylvaticus* είναι αδερφά τάξα. Ενδοειδικά δεν επιλύονται οι φυλογενετικές σχέσεις καθώς δεν παρατηρείται κάποιο γεωγραφικό πρότυπο, με εξαίρεση το *A. flavicollis*, στο οποίο το άτομο από τη Λέσβο δημιουργεί έναν ξεχωριστό κλάδο σε σχέση με τα υπόλοιπα από την ηπειρωτική χώρα.
- Από το χρονοφυλογενετικό δέντρο προκύπτει ότι το γένος διαφοροποιήθηκε κατά το Μειόκαινο και το Πλειόκαινο.
- Παρατηρήθηκαν πολλές λανθασμένες, βάσει μορφολογικών χαρακτηριστικών, αναγνωρίσεις. Συγκεκριμένα 38 δείγματα που είχαν αναγνωρισθεί *A. sylvaticus* ήταν στην πραγματικότητα *A. flavicollis*.
- Νέες καταγραφές του είδους *A. agrarius* στη Θεσπρωτία και του είδους *A. witherbyi* στον Έβρο, την Αстуπάλαιο, τη Χίο και τη Νάξο.
- Πραγματοποιήθηκε επιτυχώς απομόνωση DNA από κρανία που αντλήθηκαν από εμέσματα *T. alba*, που σημαίνει ότι είχαν υποστεί περαιτέρω επεξεργασία από το πεπτικό σύστημα της κουκουβάγιας.

Μελλοντικά βήματα

- Πολλαπλασιασμός πυρηνικών δεικτών σε περισσότερα άτομα για επαρκή εκπροσώπηση όλων των τάξεων
- Πραγματοποίηση φυλογενετικών αναλύσεων για το *A. flavicollis* με περισσότερα δείγματα από νησιωτικές περιοχές και από την Τουρκία
- Περισσότερες αναλύσεις για τα είδη *A. witherbyi* και *A. agrarius* ώστε να αποσαφηνιστεί η πραγματική κατανομή τους στον ελληνικό χώρο

Αναφορές

- Corbet, G. B., & Ovenden, D. (1980). The mammals of Britain and Europe. (No Title)
- Orlov, A. M. (1996, November). Role of fishes in predator diets of the Pacific slope of the northern Kuril Islands and southeastern Kamchatka. In Forage fishes in marine ecosystems (p. 209).
- Musser, G. G., & Carleton, M. D. (2005). Superfamily Muridae. In Mammal Species of the World.
- Krystufek, B., & Vohralik, V. (2009). Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia II: Cricetinae, Muridae, Spalacidae, Calomyscidae, Capromyidae, Hystricidae, Castoridae," Journal of Mammalogy 91(6)
- Wilson, D.E., Lacher, T.E., Jr & Mittermeier, R.A. eds. (2017). Handbook of the Mammals of the World. Vol 7. Rodents II. Lynx Edicions, Barcelona
- Michaux, J. R., Chevret, P., Filippucci, M. G., & Macholan, M. (2002). 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, 23(2).
- Darvish, J., Mohammadi, Z., Ghorbani, F., Mahmoudi, A., & Dubey, S. (2015). Phylogenetic Relationships of Apodemus Kaup, 1829 (Rodentia: Muridae) Species in the Eastern Mediterranean Inferred from Mitochondrial DNA, with Emphasis on Iranian Species. Journal of Mammalian Evolution, 22(4).



ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΜΟΥΣΕΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ
ΙΣΤΟΡΙΑΣ ΚΡΗΤΗΣ