

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОРАЗНООБРАЗИЯ НАЗЕМНОЙ
БИОТЫ ВОСТОЧНОЙ АЗИИ» ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

УДК 599.426

ГОРОБЕЙКО УЛЬЯНА ВАСИЛЬЕВНА

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ
ВОСТОЧНОЙ НОЧНИЦЫ *MYOTIS PETAH* HOLLISTER, 1912 НА ЮГЕ
ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ**

1.5.12 - зоология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

д.б.н., с.н.с. Картавцева Ирина Васильевна

НОВОСИБИРСК - 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	12
1.1 Рукокрылые Дальнего Востока России: изученность и проблематика	12
1.1.1. Особенности внутривидовой изменчивости рода <i>Myotis</i>	17
1.1.1.1. Морфологическая характеристика рода <i>Myotis</i>	17
1.1.1.2. Хромосомная изменчивость.....	18
1.1.1.3. Изменчивость нуклеотидных последовательностей.....	20
1.2 Характеристика объекта исследования.....	22
1.2.1. Описание и образ жизни	22
1.2.2. История исследования.....	23
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	27
2.1 Материал настоящего исследования	27
2.2 Кариологический анализ.....	34
2.2.1. Методика приготовления препаратов прямым методом	34
2.2.2. Кратковременная культура	35
2.2.3 Методы окрашивания хромосом.....	35
2.2.3.1 GTG-окрашивание хромосом.....	36
2.2.3.2 AgNOR-окрашивание хромосом.....	36
2.2.3.3 ЯО-активность.	37
2.2.3.4 CBG-окрашивание хромосом.....	38
2.2.4 Микроскопирование.....	39
2.2.5 Анализ метафазных хромосом.....	40
2.2.5. Особенности нумерации пар хромосом летучих мышей.....	41
2.3. Морфологический анализ	41
2.4. Молекулярно-генетический анализ.....	43
2.4.1 Выделение ДНК.....	44
2.4.2 Моделирование праймеров	45
2.4.3 Амплификация фрагмента митохондриальной ДНК.....	46
2.4.5 Очистка полученного фрагмента и секвенирование нуклеотидной последовательности	47
2.4.6 Анализ молекулярно-генетических данных.....	47
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	49
3.1. ДНК-штрихкодирование и изменчивость по последовательностям COI.....	49
3.2 Хромосомная изменчивость <i>M. petax</i> на юге Дальнего Востока России.....	55
3.3 Краниометрическая изменчивость восточных ночниц	63

3.3.1 Половой и возрастной диморфизм восточных ночниц.....	63
3.3.2 Географическая изменчивость восточной ночницы	65
3.3.2.1. Попарное сравнение региональных выборок по Т-критериям.....	69
3.3.2.2. Дискриминантный анализ	70
3.3.3 Подвидовая структура <i>M. petax</i> на юге Дальнего Востока России	75
3.4 Изменчивость <i>M. petax</i> по последовательностям контрольного региона.....	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	98
ВЫВОДЫ	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Расчёт активности ЯО-районов в кариотипе <i>Myotis petax</i>	125
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Промеры черепа рукокрылых.....	128
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Морфометрический анализ.	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Отряд Chiroptera Blumenbach, 1779 - одна из наиболее богатых в плане видового состава групп млекопитающих и одновременно одна из самых малоизученных групп. Рукокрылые играют важную роль в окружающей среде и в жизни человека, летучие мыши и их паразиты могут выступать в роли переносчиков многих опасных заболеваний. Доказана роль рукокрылых в распространении различных штаммов лиссавирусов, в частности, вирус Irkut впервые был изолирован от *Murina hilgendorfi* Peters, 1880 из Новосибирска (Botvinkin et al., 2003; Ботвинкин, 2011; Kuzmin et al., 2011). В Средней Азии рукокрылые семейства Vespertilionidae и, в особенности, виды рода *Myotis* Каур, 1829, являются основным природным резервуаром для таких опасных для человека буньявирусов, как вирус Иссык-Куль и вирус Узун-Агач (Альховский и др., 2013; Альховский и др., 2014; Walker et al., 2015, Яшина и др., 2019). Рукокрылые, по всей видимости, являются основными переносчиками многих вирусов семейства Coronaviridae. SARS-CoV был выделен из многих видов летучих мышей семейств Rhinolophidae Gray, 1825 и Vespertilionidae Gray, 1821 в южном Китае (Kuzmin et al., 2011), происхождение SARS-CoV-2 связывают с рукокрылыми (Bonі et al., 2020).

По разным оценкам, отряд Chiroptera насчитывает порядка 1400 видов, в фауне Дальнего Востока России - 18 видов, в том числе 6 видов рода *Myotis* - Ночниц (Тиунов, 2011; Крускоп, 2012; Тиунов и др., 2021).

Традиционная систематика рукокрылых во многом построена на морфологических признаках, что в некоторых группах рукокрылых способствовало объединению слабо различающихся по морфологии видов в единый широкоареальный политипический вид. Одна из таких групп - род *Myotis*: пять из шести дальневосточных видов ночниц изначально были описаны как восточные формы в составе видов с транс-палеарктическим распространением. Надежными диагностическими признаками в систематике рода *Myotis* могут служить молекулярно-генетические (Horaček, Hanak, 1984; Yoshiyuki, 1989; Matveev et al., 2005; Kruskop et al., 2012; Ruedi et al., 2015) и кариологические

характеристики, в особенности положение ядрышковых организаторов (ЯО-районы) и участков структурного гетерохроматина на хромосомах (Harada, Yoshida, 1978; Volleth, 1987; Ono, Obara, 1994; Volleth, Heller, 1994; 2012). Всё это позволяет говорить об актуальности комплексного подхода к анализу внутривидовой изменчивости при изучении данной группы.

Восточная ночница, *Myotis petax* Hollister, 1912, - один из наиболее распространенных азиатских видов рукокрылых и первый по встречаемости среди видов рукокрылых на юге Дальнего Востока России (Тиунов и др., 2021). До недавнего времени восточная ночница входила в состав водяной ночницы *M. daubentonii* Kuhl, 1819, но выделена в самостоятельный вид на основании совокупности морфометрических и молекулярно-генетических данных (Kruskop, 2004; Matveev et al., 2005). Восточная ночница имеет обширный ареал, включающий островные популяции, высокую плотность на зимовках и в кормовых станциях, что делает его потенциальным модельным объектом для изучения внутривидовой изменчивости. Вместе с тем, *M. petax* является слабоизученным видом, в особенности в генетическом аспекте, что делает актуальным изучение его внутривидовой изменчивости и структуры вида.

Степень разработанности темы. На основании морфологических данных, для вида *Myotis petax* описано 4 подвида – один номинативный для территории Сибири (Hollister, 1912), три для Дальнего Востока: *M. p. ussuriensis* Ognev, 1927, *M. p. loukashkini* Shamel, 1942, *M. p. chasanensis* Tiunov, 1997. Данные подвиды различаются по комплексу краниометрических параметров (Тиунов, 1997; Kruskop, 2004; Wang et al., 2010; Тиунов и др., 2021). Ранее было установлено, что границы распространения подвида *M. p. petax* охватывают южную Сибирь (Kruskop, 2004; Крускоп, 2012), *M. p. ussuriensis* распространён в прибрежной и островной части Дальнего Востока (Тиунов, 1997; Kruskop, 2004; Wang et al., 2010; Крускоп, 2012; Тиунов и др., 2021). *M. p. chasanensis* в части работ объединяли с *M. p. loukashkini* в один подвид, населяющий Забайкалье, Приамурье и, возможно, юг Приморья (Kruskop, 2004; Крускоп, 2012; Тиунов и др., 2021), в

других - *M. p. chasanensis* рассматривался как отдельный подвид, ареал которого ограничен Хасанским районом Приморского края (Тиунов, 1997).

Данные о внутривидовой генетической изменчивости восточной ночницы отсутствуют. Проведенные ранее молекулярно-генетические исследования в основном были направлены на поиск межвидовых различий между видами-двойниками *M. petax* и *M. daubentonii*, при этом с территории Дальнего Востока России в анализе были изучены только небольшие выборки *M. petax*. Так, анализ коротких диспергированных повторов ДНК (SINEs) проведён для особей восточной ночницы из Сибири и Дальнего Востока: Приморского края (n = 1), республики Бурятия (n = 1), республики Тыва (n = 1), республики Алтай (n = 3) и Алтайского края (n = 1), что позволило показать межвидовые различия *M. petax* и *M. daubentonii* (Matveev et al., 2005). ДНК-штрихкодирование с использованием частичной последовательности гена COI мтДНК проведено для 23 особей *M. petax* из республики Алтай (n = 4), Тывы (n = 7), Забайкальского края (n = 2), Приморского края (n = 1), Сахалинской области (n = 5), Монголии (n = 3) и Китая (провинция Хейлуцзян, n = 1) подтвердило, что из видов-двойников *M. petax* и *M. daubentonii* на территории Сибири и Дальнего Востока обитает только *M. petax* (Kruskop et al., 2012).

Оценить изменчивость на внутривидовом уровне и выявить структуру вида позволяют такие переменные последовательности, как ген *cyt b* и контрольный регион мтДНК. В тоже время, уровень различий по последовательностям гена *cyt b* мтДНК восточных ночниц с Дальнего Востока России (n = 1) и из Китая (n = 17) был низким (GD = 0,2%) (Wang et al., 2010), а частичная последовательность контрольного региона мтДНК известна лишь для одной особи из Китая (Lu et al., 2013). Для четырёх восточных ночниц из Южной Кореи секвенирована полная последовательность митохондриального генома (Hwang et al., 2016).

Филогенетический анализ, проведенный на основании последовательностей гена *cyt b* мтДНК и ядерного гена *Rag2* (n = 1, Новосибирск), показал, что наиболее близким к *Myotis petax* является не *M. daubentonii*, в состав которого он входил ранее, а дальневосточный вид *M. macrodactylus* (Temminck, 1840) и

восточноазиатские *M. pilosus* Peters, 1869 и *M. fimbriatus* (Peters, 1871) (Ruedi et al., 2013, Ruedi et al., 2015).

Кариотип *M. petax* слабо исследован, известна только рутинная окраска хромосом, с описанием числа и морфологии хромосом, для особей из Южной Кореи (Yoo, Yoon, 1992) и Приморского края РФ (Кораблев и др., 1989). Диплоидное число хромосом *M. petax* типично для видов рода *Myotis* и равно 44, число плеч аутосом (NFa) было различным у приморских (NFa = 50) и корейских особей (NFa = 52).

Цели и задачи исследования. Цель настоящей работы выяснить закономерности морфологической и генетической изменчивости *M. petax* на юге Дальнего Востока России, необходимые для уточнения внутривидовой структуры. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- исследовать особенности кариологической изменчивости с использованием методов дифференциально-окрашенных хромосом;
- изучить особенности половой, возрастной и географической изменчивости краниометрических параметров;
- проанализировать особенности изменчивости переменного участка контрольного региона мтДНК.

Научная новизна. В диссертационной работе впервые реализован комплексный подход к анализу внутривидовой изменчивости *M. petax* в восточной части ареала, расположенной в материковой части юга Дальнего Востока России, включая морфологический, кариологический и молекулярно-генетический методы.

Применение методов дифференциальной окраски хромосом, впервые позволило показать кариологические отличия восточной ночницы от других видов рода *Myotis* и индивидуальные различия особей *M. petax* по содержанию и локализации гетерохроматина.

Впервые исследована переменность участка контрольного региона мтДНК восточной ночницы: выявлены вариации по длине последовательности в зависимости от числа повторов, географические различия по числу и вариантам

повторов, а также описан короткий дополнительный R1-повтор, встречающийся в отдельных выборках *M. petax*. Установлено, что особи *M. petax*, отловленные на зимовке, представлены различными генетическими линиями по последовательностям контрольного региона.

Сравнение генетических и морфометрических данных позволило показать, что на юге Дальнего Востока России, помимо двух известных подвидов: *M. p. ussuriensis* и *M. p. chasanensis*, обитает «приамурская» форма восточной ночницы, отличающаяся по совокупности краниометрических признаков и последовательностям мтДНК.

Теоретическая и практическая значимость. Мониторинг состояния природных популяций рукокрылых, в том числе и исследование их морфологической и генетической изменчивости, имеет важное прикладное значение, в особенности на Дальнем Востоке России, где рукокрылые остаются слабо исследованной группой. Проведенная работа вносит значительный вклад в изучение генетической изменчивости и внутривидовой структуры одного из наиболее распространенных и часто встречающихся азиатских видов рукокрылых восточной ночницы *M. petax*.

Установлено, что *M. petax* имеет уникальные для ночниц генетические особенности: высокую внутривидовую изменчивость по содержанию гетерохроматина в кариотипе и дополнительный R1-повтор в контрольном регионе мтДНК. Вид может быть использован как модельный объект при изучении изменчивости по тандемным повторам в контрольном регионе мтДНК, поскольку отличается от других видов рукокрылых низкой или отсутствующей гетероплазмией по длине нуклеотидной последовательности при высокой изменчивости контрольного региона.

Методология и методы исследования. В настоящей работе проведен анализ внутривидовой изменчивости восточной ночницы комплексом методов, включающих классический морфологический анализ, хромосомный анализ и молекулярно-генетические методики. Все применимые международные,

национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Дифференциальные GTG-, CBG- и AgNOR-окрашивания хромосом осуществлены по стандартным методикам (Seabright, 1971; Sumner, 1972; Howell et al., 1975; Miller et al., 1976). При анализе и микрофотографировании окрашенных препаратов использовали микроскоп AXIOSKOP 2 Plus (Zeiss, ФРГ), цифровую камеру и программное обеспечение META Systems (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия) Лаборатории микроскопии «Биотехнология и генетическая инженерия» (центра коллективного пользования ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН). Раскладки хромосом по парам сделаны в программе Adobe Photoshop CS3 Extended 10.0.

Обработку краниометрических данных по 16 параметрам производили методами пошагового дискриминантного анализа и анализа главных компонент в программе Statistica for Windows. Для сравнения с дальневосточными выборками был использован материал из коллекции ЗМ МГУ, в том числе проанализированный в предшествующих морфологических исследованиях (Kruskop, 2004; Matveev et al., 2005).

Аmplification фрагментов мтДНК осуществлялась стандартной ПЦР в термоциклере MyCycler™ Thermal Cycler (Biorad, США) с использованием пар праймеров, смоделированных в настоящем исследовании. Последовательности нуклеотидов определяли на автоматическом секвенаторе ABI Prizm 3130 (Applied Biosystems, США) ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (г. Владивосток).

Редактирование и выравнивание полученных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit 7.0.9.0. Внутривидовая нуклеотидная и гаплотипическая изменчивость подсчитаны при использовании программного обеспечения DnaSP6 (Hall, 1999). Филогенетические реконструкции с использованием метода максимального правдоподобия (ML) и расчет попарных р-дистанции, включая определение наиболее подходящей филогенетической модели с помощью программы ModelTest, выполнены в

программе MEGA 5.05. 100 (Tamura et al., 2011). При построении сети гаплотипов использовано программное обеспечение Network 10 и метод “median joining”.

Личный вклад. Отлов животных, отбор проб для молекулярно-генетического анализа, приготовление хромосомных суспензий, окраска и анализ кариотипов, анализ полученных нуклеотидных последовательностей, ручная очистка черепов для морфологического анализа, снятие краниометрических промеров и обработка морфологических данных выполнены автором самостоятельно. Выделение ДНК и секвенирование нуклеотидных последовательностей были выполнены при участии автора.

Положения, выносимые на защиту.

1. Выявление внутривидовой структуры восточной ночницы возможно комплексным морфометрическим анализом с акцентом на локализацию гетерохроматинового материала на хромосомах и изменчивость контрольного региона мтДНК.

2. Повышенное генетическое разнообразие восточных ночниц в Приморском крае обусловлено присутствием в зимовочных колониях особей различных генетических линий по последовательностям контрольного региона мтДНК.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обеспечена комплексным подходом к анализу изменчивости на разных уровнях: от анализа фенотипа классическим морфологическим методом до особенностей структуры хромосом и вариаций последовательностей мтДНК. Полученные разными методиками результаты согласуются между собой, подкреплены рисунками и данными в таблицах, все материалы настоящего исследования задокументированы и соответствуют протоколам исследования и записям в лабораторных журналах.

Апробация результатов работы. Материалы диссертации были представлены на III Всероссийской конференции молодых ученых (Улан-Удэ, 2013), VII Всероссийской научной конференции (Биробиджан, 2018), Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics: International

Symposium (Vladivostok, 2019), а также на ежегодных молодежных конференциях-конкурсах ФНЦ Биоразнообразие ДВО РАН (Владивосток, 2014, 2018, 2019).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 10 публикаций, в том числе 3 публикации в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК и входящих в базы цитирования Web of Science и Scopus.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка литературы, списка сокращений, а также трех приложений. Диссертация изложена на 136 страницах, содержит 34 таблицы и 18 рисунков. Список литературы содержит 151 источник, из них 112 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность и глубокую признательность своему научному руководителю, д.б.н. Картавцевой И.В. - за неоценимую помощь на всех этапах работы, к.б.н. Шереметьевой И.Н. - за помощь в работе над рукописью диссертации и овладении статистическим и молекулярно-генетическими методами анализа, Казакову Д.В. (Х-БИО, ТюмГУ) – за сотрудничество в полевых работах, к.б.н. Гуськову В.Ю. – за помощь в получении сиквенсов. Отдельная благодарность членам Владивостокского Спелеоклуба, сотрудникам Зейского и Комсомольского заповедников за помощь в организации экспедиций и полевых работ. Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ-18-34-00285 мол_а, рук. Горобейко У.В.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Рукокрылые Дальнего Востока России: изученность и проблематика

Дальний Восток России отличается своеобразием природных условий и, как следствие, богатой и разнообразной фауной. В настоящей работе рассмотрена материковая часть территории юга Дальнего Востока России, что в зоогеографическом районировании соответствует Амуру-Сахалинской стране, включающей в себя Приамурье, Приморье и о-в Сахалин (Гвоздецкий, Михайлов, 1978).

Первые сведения о летучих мышах (отряд Chiroptera), обитающих на Дальнем Востоке России, были получены ещё во второй половине 19 века, благодаря сборам известных путешественников и натуралистов: Л. И. Шренка, Р.К. Маака, Н.М. Пржевальского, Г.И. Радде, А.Ф. Миддендорфа (Schrenk, 1858; Маак, 1859; Радде, 1861; Пржевальский, 1870; Миддендорф, 1877). Однако собранные ими данные о рукокрылых были довольно разрозненными и зачастую носили отрывочный характер (Картавцева и др., 2014).

Одной из первых попыток систематизировать данные русской хироптерологии стал «Определитель млекопитающих Российской Империи» К.А. Сатунина (1914), где для Дальнего Востока России было показано обитание шести видов рукокрылых, из которых пять видов достоверно встречаются здесь в настоящее время, в том числе восточная ночница (= *Leuconoë daubentonii* Leisler.). Достоверные находки шестого вида, *Tadarida insignis* (Blyth, 1862) (= *Nyctinomus insignis*), до настоящего времени для территории Дальнего Востока не известны.

Первым исследователем, проанализировавшим и обобщившим все имеющиеся на то время материалы по рукокрылым СССР, был С.И. Огнёв. Примерно половину первого тома своего обширного труда «Звери Восточной Европы и Северной Азии» он посвятил рукокрылым (Огнёв, 1928). В данной монографии приведено описание практически всех видов и подвидов летучих мышей СССР, а также приведен ряд новых форм, описанных им ранее: в

частности *Murina ussuriensis* Ognev, 1913, *Myotis ikonnikovi* Ognev, 1912 и *M. longicaudatus* Ognev, 1927. Всего для территории Дальнего Востока России указано двенадцать видов: 11 видов и 12 подвидов семейства Vespertilionidae (Гладконосые), а также 1 вид семейства Molossidae Gervais, 1856 (Бульдоговые) – *T. insignis* (= *N. insignis*). Кроме того, С.И. Огнёв указывает на возможное обнаружение на юге Дальнего Востока России двух видов рукокрылых: *Rhinolophus ferrum-equinum nippon* Temminck, 1835 и *Nyctalus aviator* Thomas, 1811. Однако до настоящего времени эти виды на территории Дальнего Востока России не обнаружены.

Монография «Звери Восточной Европы и Северной Азии» значительно опередила своё время в данных, касающихся систематики и таксономии рукокрылых. Многие формы, описанные С.И. Огнёвым, не были признаны более поздними авторами. Однако при дальнейших детальнейших исследованиях часть из них вновь обрела самостоятельный статус, в том числе уссурийский и сибирский трубконосы, длиннохвостая ночница, японский ушан и алашаньский нетопырь.

Большая работа по исследованию рукокрылых СССР была проделана А.П. Кузьякиным. В своей монографии «Летучие мыши» (Кузьякин, 1950), оказавшей большое влияние на развитие российской хироптерологии, он приводит новые сведения, касающиеся географического распространения и биологии целого ряда видов, а также делает одну из первых попыток построения филогенетических деревьев разных семейств и родов рукокрылых. А.П. Кузьякин первым приводит данные об экологии и образе жизни рукокрылых Дальнего Востока России, расширяет список обитающих здесь видов до 14 за счёт новых находок для региона и так же, как и С.И. Огнёв, предполагает, что на юге Дальнего Востока возможно обитание японской вечерницы – *N. aviator*.

Будучи сторонником политипической концепции вида, А.П. Кузьякин провел таксономические исследования на основе морфологических данных, пересмотрев статус многих подвидовых и видовых форм, выделенных ранними исследователями. В частности, он свёл в единый полиморфный род *Vespertilio* группу близких родов: *Pipistrellus* Kaup, 1829, *Vespertilio* Linnaeus, 1758, *Eptesicus*

Rafinesque, 1820, *Hypsugo Kolenati*, 1856 и т.д.. Во многом благодаря этому, до середины прошлого века в российской хироптерологии господствовала точка зрения, что большинство видов рукокрылых, обитающих на территории России, имеет транс-палеарктическое распространение.

Примерно, с середины 60-х годов 20 века концепция "широкого" политипического вида постепенно сменяется концепцией "узкого" понимания вида. Новые подходы и методы: вовлечение в исследования новых морфологических структур, использование серийного материала и его статистическая обработка, а также кариологический анализ позволили выявить серьёзные различия внутри политипических видов (Стрелков, 2006). Тем не менее, до начала 80х годов большинство дальневосточных рукокрылых не выделяли в самостоятельные виды, а продолжали относить к европейским видам-двойникам (Стрелков, 1963; Тиунов, 1984).

Исследования середины 60 – конца 80-х годов прошлого века расширили знания об экологии, численности и распространении рукокрылых на Дальнем Востоке России. В тот же период на юге Приморского края впервые была обнаружена популяция длиннокрылов – *Miniopterus fuliginosus* Hodgson, 1835, что позволило дополнить список рукокрылых Дальнего Востока (Охотина, Бромлей, 1970, Охотина, Фёдоров, 1978). Так, список видов монографии М.П. Тиунова «Рукокрылые Дальнего Востока России» включал уже два семейства, 15 видов и 18 подвидов рукокрылых, причём три подвида описаны впервые (Тиунов, 1997). Монография стала первой научной работой, систематизирующей знания о дальневосточных рукокрылых и освещающей вопросы их распространения, экологии, биоценотические отношения, а также историю формирования фауны рукокрылых этого региона.

В это же время публикуются первые работы, связанные с изучением хромосомных наборов дальневосточных видов рукокрылых. Хромосомные исследования рукокрылых Дальнего Востока России были начаты Н.Н. Воронцовым (Воронцов и др., 1969) и продолжены его коллегами и учениками (Волобуев, Стрелков, 1971; Кораблев и др., 1989; Картавцева, Докучаев, 1998). В

тот период для 10 дальневосточных видов рукокрылых были описаны кариотипы с использованием рутинного метода. Преобладало мнение, что кариотип, описанный для европейских представителей вида, идентичен кариотипу сибирских и дальневосточных популяций, поскольку для рукокрылых характерна низкая внутривидовая и внутривидовая изменчивость кариотипа (Воронцов и др., 1969; Волобуев, Стрелков, 1971), а большинство российских видов рукокрылых на тот момент относили к широкоареальным транс-палеарктическим видам.

Действительно, при сравнительном анализе кариотипов рукокрылых сложно руководствоваться простым подсчётом числа хромосом и определением их морфологии, так как у многих летучих мышей внутри рода хромосомные наборы внешне практически идентичны. В эволюции кариотипа рукокрылых, и в частности, семейства *Vespertilionidae*, где значительную роль играют робертсоновские перестройки (центрические слияния и разделения), что проявляется в постоянстве числа хромосомных плеч, при различном диплоидном числе. Благодаря этому, рукокрылым свойственен высокий консерватизм кариотипа на родовом уровне и низкая хромосомная изменчивость на внутривидовом уровне: например, для родов *Myotis*, *Eptesicus*, *Vespertilio*, *Barbastella* Gray, 1821, *Plecotus* Gray, 1866 (Воронцов и др., 1969; Baker, 1970; Baker, Vickham, 1980; Volleth, Heller, 1994, 2012). В таком случае, на первый план выходят признаки, выявляемые специальными методами окрашивания хромосом и позволяющие различить виды с одинаковой хромосомной формулой. Как было показано рядом исследователей, для семейств *Vespertilionidae* и *Miniopteridae* Dobson, 1875 наиболее важными признаками при исследовании кариотипа оказываются число и локализация ядрышкообразующих районов (ЯО-районов), в которых расположены кластеры рРНК генов, и распределение участков структурного гетерохроматина на хромосомах (Harada, Yoshida, 1978, Volleth, 1987; Ono, Obara, 1994, Volleth, Heller, 1994, 2012). Данные признаки видоспецифичны и выявляются последовательным применением методов дифференциального окрашивания структурного гетерохроматина (СВГ-окраска), ЯО-районов (AgNOR-окраска) и GTG-окраски, выявляющей блочную структуру

хромосом, что в ряде случаев позволило дифференцировать виды с одинаковой хромосомной формулой для европейских (Volleth, 1987; Volleth, Heller, 1994, 2012; Volleth et al., 2001; Volleth et al., 2006), африканских (Kearney et al., 2002), китайских (Ao et al., 2007) и японских рукокрылых (Harada, Yoshida, 1978; Ono, Obara, 1994). Для филогенетического анализа рукокрылых также применяется метод межвидовой перекрестной флуоресцентной гибридизации (FISH) целых хромосом *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) или *Aselliscus stoliczkanus* (Dobson, 1871) на хромосомы исследуемого вида (Mao et al., 2010; Kulemzina et al., 2011; Volleth, 2013), что позволяет идентифицировать целые хромосомные плечи в кариотипе другого вида.

С середины 90х 20 века, благодаря широкому использованию в систематике рукокрылых молекулярно-генетических методов, было показано, что многие европейские и азиатские подвиды, входившие в состав политипических видов с транс-палеарктическим распространением, являются самостоятельными видами, зачастую даже не близкородственными. В том числе, пересмотрено таксономическое положение 14 из 18 видов рукокрылых Дальнего Востока России (Maeda, 1980; Horaček, Hanak, 1984; Yoshiyuki, 1989; Horaček et al., 2000; Kawai et al., 2003; Tian et al., 2004; Matveev et al., 2005; Kawai et al., 2006; Spitzenberger et al., 2006; Benda et al., 2008; Artyushin et al., 2009; Krusko et al., 2012; Ruedi et al., 2015, Krusko et al., 2019). Если ранее для большинства видов рукокрылых России предполагалось транс-палеарктическое распространение, то в настоящее время установлено, что ареал большинства дальневосточных видов ограничен Северо-Восточной Азией, а западная граница распространения в России проходит по Забайкалью или Алтаю. Исключение составляют два транс-палеарктических вида - *Eptesicus nilssonii* (Keyserling, Blasius, 1839) и *Vespertilio murinus* Linnaeus, 1758 (Тиунов, 2011; Крускоп, 2012).

По последним данным (Тиунов, 2011; Крускоп, 2012; Krusko et al., 2012; Ruedi et al., 2015; Krusko et al., 2019; Тиунов и др., 2021), считается, что на Дальнем Востоке России обитает 17 видов отряда Chiroptera, которые принадлежат к двум семействам подотряда Yangochiroptera Koopman, 1985:

- семейству Vespertilionidae – Гладконосые (8 родов, 16 видов),
- семейству Miniopteridae – Длиннокрылые (1 род, 1 вид).

Большая часть видового разнообразия летучих мышей на Дальнем Востоке России приходится на род *Myotis* – Ночницы, семейства Vespertilionidae. Ночницы - один из самых обширных родов млекопитающих, насчитывающий порядка 100 видов, основной центр разнообразия которого приходится на тропическую и субтропическую Азию (Крускоп, 2012). В фауне Дальнего Востока России шесть видов, - почти треть всех видов рукокрылых региона, в том числе объект настоящего исследования – *M. petax*, поэтому остановимся подробнее на особенностях внутривидовой изменчивости ночниц.

1.1.1. Особенности внутривидовой изменчивости рода Myotis

1.1.1.1. Морфологическая характеристика рода Myotis

Род *Myotis* – рукокрылые средних и мелких размеров. Длина тела 3,5–10 см, масса 2,5–45 г. Шерсть длинная и густая, окраска варьирует от почти чёрной до светло-песчаной и ярко-рыжей (Крускоп, 2004). Основные диагностические морфологические признаки – длина предплечья, голени, форма уха, место прикрепления и рисунок жилкования на межбедренной перепонке (Тиунов, 1997; Kawai et al., 2006; Dokuchaev, 2015; Тиунов и др., 2021).

По мнению многих исследователей, род *Myotis* - один из наиболее примитивных и базальных в семействе Vespertilionidae, в частности ночницы характеризуются очень примитивной зубной системой, простыми по строению ушами, широкими крыльями и примитивным кариотипом с диплоидным числом равным 44 (Tate, 1942; Кузякин, 1950; Bickham, 1979; Findley, 1972; Goodawa Stormark, 1998). Род *Myotis* – очень богатая по числу видов, но морфологически довольно однородная группа (Кузякин, 1950). Традиционная систематика рода сложна, запутана и до сих пор разработана недостаточно (Крускоп, 2012; Volleth, Heller, 2012).

1.1.1.2. Хромосомная изменчивость

Важность кариологических характеристик в видовой идентификации ночниц была показана на японских (Harada, Yoshida, 1978; Ono, Obara, 1994) и европейских представителях рода (Volleth, 1987; Volleth, Heller, 1994, 2012). Кариотипы всех шести видов рода *Myotis*, обитающих на Дальнем Востоке России, одинаковы по числу хромосом: $2n = 44$, в то время как число плеч аутосом в разных работах варьирует от 50 до 52 (Воронцов и др., 1969; Волобуев, Стрелков, 1971; Volleth, 1987; Volleth, Heller, 1994, 2012). Одна из причин заключаются в том, что часть исследователей учитывает короткие эухроматиновые плечи на 7 паре аутосом (Volleth, Heller, 1994, 2012), в то время как другие считают седьмую пару аутосом акроцентрической (Волобуев, Стрелков, 1971; Obara et al., 1976; Harada, Yoshida, 1978; Park, Won, 1978; Ando et al., 1980; Ando et al., 1987; Кораблев и др., 1989; Ono, Obara, 1994; Картавцева, Докучаев, 1998). В то же время, некоторые авторы включают в NFa добавочные гетерохроматиновые короткие плечи на 24 или 25 паре акроцентриков (Tsuchiya et al., 1972; Harada, 1973; Harada, Yoshida, 1978; Ando et al., 1980; Yoo, Yoon, 1992; Ono, Obara, 1994).

Для ночниц характерен прицентромерный тип распределения ядрышковых организаторов - множественные ядрышковые организаторы, расположенные прицентромерно на коротких плечах акроцентрических хромосом, при котором распределение ЯО-районов в кариотипе будет видоспецифичным (Volleth, 1987; Ono, Obara, 1994; Volleth, Heller, 2012). Различия в числе и локализации прицентромерных ЯО-районов, как правило, показывают межродовую и межвидовую изменчивость, однако некоторым европейским видам ночниц, например, *M. myotis*, свойственная индивидуальная изменчивость в активности ЯО-районов (Volleth, 1987).

Показано, что локализация ЯО-районов в кариотипе различна у четырех дальневосточных видов ночниц, обитающих на японских островах: у *M. bombinus* Thomas, 1906 - одиннадцать ЯО-районов на акроцентрических парах №№7-15, 19 и 22; у *M. ikonnikovi* - пять и расположены на аутосомных парах №№7, 13, 14, 22 и

23; у *M. longicaudatus* – тринадцать, выявленных на аутосомных парах №№ 8-11, 13-15, 18-23; у *M. macrodactylus* – шесть и локализованы на 18-23 аутосомных парах (Ono, Obara, 1994).

Распределение районов структурного гетерохроматина на хромосомах ночниц европейских популяций (Volleth, Heller, 2012) и островов Японии (Ando et al., 1980; Ando et al., 1987; Harada, Yoshida, 1978; Ono, Obara, 1994) варьирует как на межвидовом, так и внутривидовом уровне. Наиболее характерны для ночниц небольшие блоки структурного гетерохроматина, как правило, локализованные прицентромерно на всех парах аутосом. К видоспецифичным признакам относятся вариации размеров и морфологии Y хромосомы, наличие или отсутствие интерстициальных блоков и коротких полностью гетерохроматиновых плеч на некоторых хромосомных парах и прителомерные блоки гетерохроматина (Ando et al., 1980; Ando et al., 1987; Harada, Yoshida, 1978; Ono, Obara, 1994; Li et al., 2007; Wang et al., 2009; Peng et al., 2011; Volleth, Heller, 2012).

Различное содержание гетерохроматина в Y хромосоме, за счет чего размер гетеросомы варьирует от маленького акроцентрика (примерно равного 25 паре аутосом) до крупного субмета- или субтелоцентрика (примерно равного 23 паре аутосом) - одна из особенностей кариотипа евразийских ночниц (Volleth, Heller, 2012). Для некоторых европейских видов характерны небольшие интерстициальные блоки гетерохроматина, расположенные вблизи центромеры в длинном плече акроцентрической хромосомы 15 или в коротком плече пары №16/17 и X хромосомы, что проявляется в увеличении этой аутосомной пары (Volleth, Heller, 2012). Характерная черта кариотипов азиатских ночниц – гетерохроматиновые короткие плечи на 24 или 25 аутосомной паре, причем размер таких плеч может варьировать от почти неразличимых до довольно крупных, в несколько раз превышающих эухроматиновую часть хромосомы. Гетерохроматиновое плечо может присутствовать только на одном гомологе из пары (Harada, Yoshida, 1978; Ono, Obara, 1994; Volleth, Heller, 2012). Поскольку рисунок G-бэндов 24 и 25 аутосомной пары схож, довольно сложно дифференцировать данные пары методом GTG-окрашивания. В частности, для

азиатского вида *M. montivagus* Dobson, 1874 методом FISH доказано присутствие гетерохроматиновых плеч на 24 паре (Volleth, Heller, 2012).

Изменчивость по содержанию гетерохроматина в кариотипе и, в особенности, полиморфизм по наличию или отсутствию гетерохроматинового плеча на 25 паре акроцентриков, исследована для четырех видов Японских островов: *M. longicaudatus*, *M. bombinus*, *M. ikonnikovi* и *M. macrodactylus* (Harada, Yoshida, 1978; Ando et al., 1980; Ando et al., 1987; Ono, Obara, 1994). Морфология самой маленькой пары аутосом варьировала от точечной хромосомы неясной морфологии (А-тип) до отчетливо двуплечей (М-тип). Исходным типом, вероятно, был акроцентрик А-типа, наблюдаемый у *M. bombinus*, который благодаря добавочному конститутивному хроматину у *M. ikonnikovi* приобретает вид мелкого метацентрика с полностью гетерохроматиновыми плечами (M^h-тип) или субметацентрика с гетерохроматиновыми длинными плечами (SM^h-тип), характерного для *M. longicaudatus* и некоторых особей *M. macrodactylus* (Harada, Yoshida, 1978). В последнем случае, мелкий субметацентрик в результате перичентрической инверсии может изменить морфологию на метацентрическую М-типа (Harada, Yoshida, 1978).

Наличие в кариотипе небольших прителомерных гетерохроматиновых сегментов, показано для китайских видов ночниц: *M. altarium* Thomas, 1911 (Li et al. 2007), *M. cf. siligorensis* (= *M. dividii*), *M. cf. daubentonii* (Peng et al., 2011), *M. fimbriatus* (Wang et al., 2009).

1.1.1.3. Изменчивость нуклеотидных последовательностей

Внутривидовая изменчивость ночниц по молекулярно-генетическим маркерам слабо изучена. Анализ особей из выводковых колоний демонстрирует низкий уровень изменчивости в пределах одной колонии и более высокий между разными колониями, что показано по последовательностям контрольного региона или *cyt b* мтДНК для *M. myotis* (Petri et al., 1996; Ruedi, Castella, 2003), *M. bechsteinii* Kuhl, 1817 (Kerth et al., 2000), *M. dasycneme* (Boie, 1825) (Andersen et al., 2018) и *M. macrodactylus* (Kim et al., 2016), а также по ядерным

микросателлитным локусам для *M. myotis* (Ruedi, Castella, 2003) и *M. daubentonii* (Atterby et al., 2010).

В случаях, когда анализировали особей, отловленных в кормовых станциях либо в местах гибернации, уровень различий между локальными популяциями по генам мтДНК также был сравнительно высоким, например, у *M. ikonnikovi* в Южной Корее (Park et al., 2019), *M. macrodactylus* в Японии (Kobayashi et al., 2012), у европейского вида *M. dasycneme* (Andersen et al. 2018) и североамериканских *M. lucifugus* (Le Conte, 1831) и *M. serpenrionalis* Trouessart, 1897 (Johnson et al., 2015).

Отличительной чертой рода *Myotis* является присутствие множественных тандемных повторов длиной 81-82 п.н. близ гена тРНК-Pro в ETAS-домене (Petri et al., 1996; Wilkinson et al., 1997). Число повторов у разных особей может варьировать от 3 до 9 и влияет на длину секвенированной последовательности контрольного региона (Petri et al., 1996; Wilkinson et al., 1997; Kerth et al., 2000, Liu et al., 2009, Iida et al., 2017).

Для *M. lucifugus*, *M. myotis* и *M. bechsteinii* описано явление гетероплазмии: явления, при котором в клетках одного организма существуют два и более митохондриальных геномов, отличающихся по нуклеотидной последовательности. В случае рукокрылых гетероплазмия связана с вариациями по длине контрольного региона и обусловлена различным числом R1-повторов (Wilkinson et al., 1997). Такого рода гетероплазмия выявляется при электрофорезе мтДНК: в агарозном геле исследуемый фрагмент разделяется на две и более полосы, доля гетероплазматических особей в популяции может достигать 15-38%. Гетероплазмия имеет материнское наследование и передается от матери к детенышу (Wilkinson, Chapman, 1991; Petri et al., 1996; Kerth et al., 2000, Mayer, Kerth, 2005).

1.2 Характеристика объекта исследования

1.2.1. Описание и образ жизни

Myotis petax Hollister, 1912 - Ночница восточная, ночница водяная восточная.

Синонимы: *ussuriensis* Ognev, 1927; *loukashkini* Shamel, 1942; *abei* Yoshikura, 1944; *chasanensis* Tiunov, 1997.

Подвиды: *M. p. petax* Hollister, 1912, *M. p. ussuriensis* Ognev, 1927, *M. p. loukashkini* Shamel, 1942, *M. p. chasanensis* Tiunov, 1997.

Морфологическое описание. Некрупный азиатский вид ночниц. Масса тела от 4 до 10 г, длина тела – 40-60 мм, длина хвоста – 27-45 мм, длина предплечья – 34-42 мм, размах крыльев - около 24-27 см (Тавровский и др., 1971; Охотина, Федоров, 1978; Yoshiyuki, 1989; Тиунов, 1997; Kruskoп, 2004; Yoon, 2010; Wang et al., 2010; Тиунов и др., 2021). Ухо средней длины, маска почти голая, с розоватой кожей; ступня с когтями равна половине голени или немного короче, крыловая перепонка крепится к средней части плюсны, эпиблема отсутствует (Тиунов, 1997; Крускоп, 2004; Тиунов и др., 2021). Мех густой, ровный, окрашен преимущественно в бурые и серо-коричневые тона на спине и светло-серые, белесые со стороны живота; граница между темным верхом и светлым низом обычно довольно отчетлива (Тиунов, 1997; Крускоп, 2004; Tiunov, Makarikova, 2007). Разными исследователями было показано, что особи из Хасанского района Приморского края, относящиеся к подвиду *M. p. chasanensis*, отличаются сравнительно более крупными размерами тела и черепа от других особей из Приморского края, относящихся к подвиду *M. p. ussuriensis* (Охотина, Федоров, 1978; Тиунов, 1997).

Образ жизни. Селится восточная ночница обычно по речным поймам. Убежищами служат дупла, постройки человека, скальные трещины (Тиунов, 1997; Крускоп, 2004; Тиунов и др., 2021). Летом образует выводковые колонии около 15-100 самок, у подвида *M. p. chasanensis* - до нескольких тысяч особей (Охотина, Федоров, 1978; Тиунов и др., 2021). Самцы держатся обособленно или вместе с самками. Восточная ночница относится к оседлым видам и остается на зимовку в

пределах летних местообитаний, зимует в пещерах, трещинах скал и искусственных подземных сооружениях, часто большими скоплениями (Стрелков, 1970; Тиунов, 1985; Тиунов и др., 2021). Спаривание, вероятно, происходит на зимовках. Беременность длится около 2 месяцев, роды в июне-июле, в выводке 1 детеныш, лактация около 6-8 недель (Крускоп, 2004; Тиунов, Макарикoва, 2007; Тиунов и др., 2021). Вылетает на охоту в сумерках. Места охоты связаны с водоемами, полянами и лугами, во время кормления летает очень низко (10-15 см) над водой, охотясь на различных мелких насекомых, которых ловит в воздухе или собирает с поверхности воды (Крускоп, 2004). Эхолокационные сигналы средней или низкой интенсивности в диапазоне 37,8-49,5 кГц (Kawai, 2009).

Распространение. Восточная ночница, *M. petax*, - широко распространённый обычный вид рукокрылых. Область распространения *M. petax* включает околородные биотопы лесной, лесостепной и степной зоны восточной Евразии от восточного Казахстана и Западной Сибири до Сахалина, Курильских о-вов и Японии, а также Туву, Монголию, северо-восточный Китай и Корею (Wallin, 1969; Ботвинкин, 2002; Kawai, 2009; Берников и др., 2011; Крускоп, 2012).

1.2.2. История исследования.

Вид *M. petax* описан Н. Холлистером в 1912 году из окрестностей посёлка Кош-Агач в Чуйской степи республики Алтай. Однако на протяжении практически 100 лет восточную ночницу рассматривали в составе широкоареального политипического вида водяной ночницы, *M. daubentonii* Kuhl, 1819, включающего в себя по разным оценкам от 3 до 6 подвидов (Огнев, 1928; Кузякин, 1950; Стрелков, 1963, Тиунов, 1984, 1997; Yoshiyuki, 1989; Bogdanowicz, 1994; Koorman, 1994). К «западным» подвидам *M. daubentonii* относили: номинативный, описанный из Германии, *M. d. volgeensis* (Eversman, 1840), описанный с Урала, *M. d. nathalinae* Turpinier, 1977, описанный из Испании, и собственно *M. d. petax* Hollister, 1912. Как «азиатские» формы водяной ночницы были описаны: *M. d. ussuriensis* Ognev, 1927 – по серии экземпляров из окрестностей Владивостока, *M. d. loukashkini* Shamel, 1942 – как подвид *M. petax*

по двум экземплярам, отловленным в окрестностях Удалянчи (провинция Хейлуцзян, Китай) и *M. d. chasanensis* Tiunov, 1997 – из Хасанского района Приморского края. Также к восточным формам водяной ночницы причисляли виды *M. laniger* Peters, 1871 и *M. abei* Yoshikura, 1944. Первый – был выделен в самостоятельный вид (Torál, 1997), для второго – показано, что типовой образец *M. abei* неотличим от молодой особи *M. d. ussuriensis* и должен быть отнесен к младшему синониму данного подвида (Tsytulina, 2004).

Как отдельный таксон *M. petax* фигурировал только в классической работе Финдли, посвящённой фенетическому анализу рода *Myotis*: в том числе, предполагалось его близкое родство с *M. volans* (Allen, 1866) и некоторыми другими американскими видами (Findley, 1972).

Впервые на морфологические различия «западного» и «восточного» комплекса форм водяной ночницы обратил внимание С.В. Крускоп (2004). Основываясь на краниометрических признаках и некоторых промерах тела, он показал существование трёх хорошо различающихся форм в азиатской части ареала: *M. d. petax* – обитающий в южной Сибири; *M. d. ussuriensis* – распространённый в прибрежной и островной части Дальнего Востока; *M. d. loukaskini* – населяющий Забайкалье, Приамурье и, возможно, юг Приморья (Kruskop, 2004; Крускоп, 2012). При этом подвид *M. d. petax* был морфологически сходен с азиатскими подвидами, а не с европейскими *M. d. volgeensis* и *M. d. daubentonii*, с которыми его традиционно сближали.

В 2005 году В.А. Матвеевым с коллегами было показано, что *M. daubentonii* и *M. petax* отличаются морфологически и генетически. По краниометрическим признакам восточная ночница отличается от водяной ночницы меньшей длиной верхнего и нижнего зубного ряда, меньшей длиной черепа, а также меньшей высотой черепной коробки. В то же время, ширина роострума и верхнего клыка больше у восточной ночницы. Межглазничная ширина и ширина третьего премоляра незначительно перекрываются. По внешним параметрам для водяной ночницы характерна несколько большая длина предплечья и стопы, кроме того выявлены отличия по морфологии бакулюма (Kruskop, 2004; Matveev et al., 2005).

Анализ коротких диспергированных повторов ДНК (SINEs) включал шесть особей водяной нощницы и семь особей восточной нощницы из Приморского края ($n = 1$), республики Бурятия ($n = 1$), республики Тыва ($n = 1$), республики Алтай ($n = 3$) и Алтайского края ($n = 1$) и показал существенную генетическую обособленность двух видов: уровень межвидовых различий составил 0,83-0,89. Внутривидовые генетические дистанции (GD) между особями *M. daubentonii* варьировали в пределах 0,18-0,28, в то время как для *M. petax* наибольшие отличия наблюдали между особями из республики Алтай и Приморского края (GD = 0,44-0,55), Алтая и Тывы (GD=0,4-0,49), Приморья и Алтайского края (GD = 0,45), Тывы и Алтайского края (GD=0,44), Бурятии и Алтайского края (GD = 0,32-0,43) (Matveev et al., 2005). Сходные данные получены для 23 особей *M. petax* из разных частей ареала методом ДНК-штрихкодирования с использованием частичной последовательности гена COI мтДНК: внутривидовые дистанции по последовательности COI варьировали от 0,28 до 1,16%, а межвидовое генетическое расстояние между *M. petax* и *M. daubentonii* составило 12% (Kruskop et al., 2012). В филогенетических построениях, основанных на последовательностях гена *cyt b* мтДНК и ядерного гена *Rag2*, наиболее близкими к *M. petax* видами являются не *M. daubentonii*, а дальневосточный вид *M. macrodactylus* и восточноазиатские *M. pilosus* и *M. fimbriatus*. Наиболее генетически близки к *M. daubentonii* - *M. frater*, *M. bechsteinii* и *M. longicaudatus* (Ruedi et al., 2013, Ruedi et al., 2015).

Тем не менее, внутривидовая генетическая изменчивость *M. petax* к началу данного исследования оставалась слабо изученной. За исключением изменчивости по SINEs, были подсчитаны только внутривидовые генетические дистанции по последовательностям гена *cyt b* мтДНК (0,2%) для восточных нощниц с Дальнего Востока России ($n = 1$) и из Китая ($n = 17$) (Wang et al., 2010). Частичная последовательность контрольного региона мтДНК – варибельного гена, часто применяемого для установления внутривидовой структуры, известна лишь для одной особи из Китая (Lu et al., 2013), еще для четырёх восточных

ночниц из Южной Кореи секвенирована полная последовательность митохондриального генома (Hwang et al., 2016).

Хотя кариотипы других дальневосточных видов ночниц достаточно хорошо исследованы с Японских островов, хромосомные данные *M. petax* из Японии не известны. Из материковой части ареала для восточной ночницы была исследована только рутинная окраска хромосом из нескольких локалитетов Приморского края и Южной Кореи (Кораблев и др., 1989; Yoo, Yoon, 1992). Кариотип восточной ночницы ($2n = 44$) типичен для ночниц, однако число плеч аутосом (NFa = 50-52) отличалось в этих работах (Кораблев и др., 1989; Yoo, Yoon, 1992). На раскладке рутинно окрашенного кариотипа, приведенной в статье D.H. Yoo и M.H. Yoon (1992), действительно можно увидеть присутствие коротких плеч на самой маленькой паре аутосом, в тоже время, наличие коротких эухроматиновых плеч на седьмой паре аутосом не очевидно из-за сильной спирализации. В статье В.П. Кораблева с соавторами (1989) раскладка кариотипа не приведена, однако, в описании кариотипа нет упоминаний о присутствии коротких плеч на какой-либо паре аутосом. Распределение ядрышковых организаторов и гетерохроматина на хромосомах *M. petax* неизвестно.

Восточная ночница - один из наиболее распространенных видов дальневосточных рукокрылых, отличающийся сравнительно высокой численностью на все ареале, обладающий островными популяциями. Тем не менее, долгое причисление *M. petax* к *M. daubentonii* привело к тому, что в большинстве работ особей данного вида включали в анализ вместе с особями водяной ночницы и до сих пор имеются только обрывочные данные о биологии, образе жизни и изменчивости природных популяций восточной ночницы. Всё это обеспечило выбор нами восточной ночницы, как объекта исследования с одной стороны, и с другой - слабая внутривидовая изученность вида на территории Дальнего Востока России.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материал настоящего исследования

В основу работы легли оригинальные материалы, собранные автором и коллегами в 2012-2018 гг. Экспедиционные работы на территории Амурской области проведены совместно с И.В. Картавцевой, гл.н.с., д.б.н. лаборатории эволюционной зоологии и генетики ФНЦ Биоразнообразия РАН (при частичной поддержке гранта РФФИ-12-04-00662а, рук. Картавцева И.В.). Полевые работы в Хабаровском крае и республике Бурятия проведены совместно с Д.В. Казаковым, м.н.с. лаборатории антимикробной резистентности Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-ВЮ) ТюмГУ (при частичной поддержке гранта РФФИ-18-34-00285 мол_а, рук. Горобейко У.В.). Материал на территории Приморского края собран автором самостоятельно (при частичной поддержке гранта ДВО РАН:15-П-6-062, рук. Горобейко У.В.)

Отлов в летнее время производили паутинными сетями (7м x 2,5м, ячея 16мм, Ecotone, Poland) в кормовых станциях, зимой - ручным сбором в местах гибернации (зимней спячки). Всего отловлено 30 особей *M. petax*, у каждого зверька на месте отлова были взяты ткани на молекулярно-генетический анализ (мышцы, сердце или печень), череп для морфологического анализа, для некоторых животных также были получены суспензии хромосом для кариологического анализа. Все животные были умерщвлены методом цервикальной дислокации. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Собранный материал хранится в лаборатории эволюционной зоологии и генетики ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

В Таблице 1 указаны координаты мест отлова, коллектор, а также каким методом была проанализирована каждая особь. В рамках морфологического анализа, помимо собственных данных, в работе исследован обширный краниометрический материал из коллекции Зоологического музея Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова (ЗМ МГУ). Всего

промерено 92 черепа восточной попки из 28 регионов, места отлова и половозрастной состав указаны в таблице 2 и на рисунке 1А.

Таблица 1. Собственный материал.

№	пол	возраст	Методы исследования						Дата отлова	Коллектор	
			Кариотип рут			Морф-я	COI	CR			
			G	C	NOR						
PR11	Приморский край, Партизанский р-н, пещ. Приморский Великан (43°17.133' N 133°36.8' E)										
3240	m	ad	-	-	-	-	+	+	+	08.12.2012	1
3400	f	ad	+	+	-	+	+	+	+	02.11.2013	1
3864	m	ad	-	-	-	-	+	-	+	15.12.2014	1
3865	f	ad	+	+	+	-	+	+	+	15.12.2014	1
3867	m	ad	+	+	+	-	+	-	+	15.12.2014	1
3869	f	ad	-	-	-	-	+	+	+	15.12.2014	1
3873	f	ad	-	-	-	-	+	-	+	15.12.2014	1
PR12	Приморский край, окр-ти г. Спасск-Дальний, пещ. Спасская (44°34.883' N 132°46.083'E)										
3258	m	ad	+	-	-	+	+	+	+	13.04.2013	1
3259	m	ad	+	+	+	+	+	+	+	13.04.2013	1
КОМ1	Хабаровский край, Комсомольский зап., Таландинские штольни (50°50.1' N, 137°28.7' E)										
UG16-18	m	ad	-	-	-	-	+	+	+	8-9.08.18	2
UG21-18	m	sad	-	-	-	-	+	+	+	9-10.08.18	2
КОМ2	Хабаровский край, Комсомольск-на-Амуре, р. Галичная (50°42.114' N 137°12.291' E)										
UG28-18	m	ad	-	-	-	-	+	+	+	14.08.2018	2
UG36-18	f	ad	-	-	-	-	+	+	+	14.08.2018	2
UG37-18	m	ad	-	-	-	-	+	-	-	14.08.2018	2
UG39-18	m	ad	-	-	-	-	+	-	-	14.08.2018	2
UG40-18	m	ad	-	-	-	-	+	-	-	14.08.2018	2
UG41-18	m	ad	-	-	-	-	+	-	-	14.08.2018	2
ЗЕА	Амурская обл., в 10 км на запад от г. Зея, заброшенные ангары (53°45.667' N 126°53.533'E)										
3331	f	ad	-	-	-	-	+	-	+	20.08.2013	3
3332	m	ad	-	-	-	-	+	+	+	20.08.2013	3
3333	m	ad	+	-	-	-	+	+	+	20.08.2013	3
3334	f	ad	-	-	-	-	+	+	+	20.08.2013	3
3335	f	ad	-	-	-	-	+	+	+	20.08.2013	3
3336	f	ad	+	+	-	+	+	+	+	20.08.2013	3
3337	m	ad	-	-	-	-	+	+	+	20.08.2013	3
3338	f	ad	+	+	+	+	+	+	+	20.08.2013	3
3339	f	ad	-	-	-	-	+	+	+	20.08.2013	3
BUR	респ. Бурятия, с. Багдарин, пещ. Долганская яма (54°28.488' N 113°47.703' E)										
UG50-18	m	ad	-	-	-	-	-	-	+	21-22.08.18	2
UG51-18	f	ad	-	-	-	-	-	-	+	21-22.08.18	2
UG65-18	m	ad	-	-	-	-	-	-	+	23-24.08.18	2
UG66-18	m	ad	-	-	-	-	-	-	+	23-24.08.18	2
Итого:			8	6	4	5	26	18	26		

Примечание. 1 – У.В. Горобейко, 2 – Д.В. Казаков, У.В. Горобейко, 3 – И.В. Картавцева, У.В. Горобейко. m – самец, f – самка; ad – взрослый, sad – сеголеток.

Окраски хромосом: G – GTG-окраска, C – CBG-окраска, NOR – AgNOR-окраска.

Таблица 2. Материал краниометрического анализа (начало)

Код	Места сбора материала	Коллекционный номер	Всего	пол		Возраст		Кем и когда собран материал
				♂♂	♀♀	ad	sad	
HAS1	Приморский край, Хасанский р-н, оз. Хасан (42°27.15' N 130°36.433' E)	S104331-32, S104335, S104337, S104339-41, S104343-44, S104348-51, S104355-56, S104358-59	17	10	7	-	-	Панютин (1969)
HAS2	Приморский край, Хасанский р-н, пос. Краскино (42°42.5' N 130°46.917' E)	S55293	1	-	1	-	-	Кучерук (1947)
PRI1	Приморский край, Партизанский р-н, пещ. Приморский Великан (43°17.133' N 133°36.8' E)	3240, 3400, 3864, 3865, 3867, 3869, 3873, S177763	8	4	4	8	-	Горобейко (2012, 2013, 2014), Сотников (2004)
PRI2	Приморский край, окр-ти г. Спасск-Дальний, пещ. Спасская (44°34.883' N 132°46.083' E)	3258, 3259	2	2	-	2	-	Горобейко (2003)
PRI3	Приморский край, окр. п. ЛЗП-3, пещ. Приисковая (44°22.767' N 133°12.283' E)	S173255-59, S173261	6	5	1	6	-	Борисенко (2002)
PRI4	Приморский край, г. Уссурийск (43°48' N 131°57' E)	S84019, S84020	2	1	1	2	-	Кузякин (1940)
KIT1	Китай, бывш. КВЖД, ст. Хайлинь (44°33.883' N 129°22.783' E)	S84014, S84015	2	-	2	-	-	Люде (1937)
KUR	Курильские о-ва, о-в Итуруп (45°00' N 147°53' E)	S60140-42	3	2	1	-	-	Гудков (1956)
SAH1	о-в Сахалин, пойма реки Китосия (46°22,3' N 141°52.217' E)	S175223-26,	4	-	-	-	-	Паницкий, Редькин (2002)
SAH2	о-в Сахалин, бывший Средне-Сахалинский зап. (49°52' N 143°58' E)	S52492	1	1	-	-	-	Волкова (1949)
КОМ1	Хабаровский край, Комсомольский заповедник, Таландинские штольни (50°50.1' N, 137°28.7' E)	UG16-18, UG21-18,	2	2	-	1	1	Казаков, Горобейко (2018)
КОМ2	Хабаровский край, Комсомольск-на-Амуре, р. Галичная (50°42.114' N 137°12.291' E)	UG28-18, UG36-18, UG37-18, UG39-18, UG40-18, UG41-18	6	5	1	6	-	Казаков, Горобейко (2018)
AMU1	Амурская область, р.Грязная (48°54.162' N 130°30.534' E)	S197434	1	-	1	-	1	Кадетова (2014)
AMU2	Амурская область, мост через протоку оз. Долгое (49°21.172' N 129°45.704' E)	S195817, S197427-30	5	3	2	2	3	Кадетова (2011, 2014)
ЗЕА	Амурская обл., в 10 км на юго-запад от г. Зея, заброшенные ангары (53°41.767' N 127°4.317' E)	3331-39	9	3	6	6	-	Картавцева, Горобейко (2013)

Таблица 2. Материал краниометрического анализа (окончание)

СН1	Забайкальский край, левый берег р. Шилка, 46 створ (53°25.2' N 120°19.8' E) - бывш. Читинская обл.	S175362, S175363	2	1	1	2	-	Крускоп, Лисовский (2003)
MON	Внутренняя Монголия, Шинэ-Барга-Юци, оз. Далайнор (48°58.383' N 117°26.133' E)	S103842, S103843	2	-	2	-	-	колл. ЗМ МГУ
TYV	респ. Тыва, оз. Торе-Холь (50°02' N 95°04' E)	S167740-41, S168602-03	4	-	4	-	-	Редькин, Кобрин (1999), Редькин, Сотников (2000)
ALT1	респ. Алтай, Алтайский зап. (50°52' N 88°57' E)	S103861-62, S33154-55	4	1	3	-	-	колл. ЗМ МГУ (1935), Долгов (1960)
ALT2	респ. Алтай, Алтайский зап., Телецкое оз., кордон Челюш (51°29.767' N 87°44.983' E)	S173291	1	1	-	-	-	Матвеев (2002)
ALT3	респ. Алтай, Алтайский зап., Телецкое оз. (51°31.75' N 87°42.883' E)	S61858, S61859	2	-	-	-	-	Кучерук (1957)
ALT4	респ. Алтай, Алтайский зап., пос. Иогач (51°47' N 87°15.167' E)	S173296	1	1	-	-	-	Матвеев (2002)
ALT5	респ. Алтай, р. Куюм, Верхне-Куюмская пещера (51°38' N 86°20' E)	S154255	1	1	-	-	-	Марков (1984)
ALT6	Алтайский край (52°46' N 82°37' E)	S84021	1	1	-	-	-	Губарь (1940)
KAZ1	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., р. Бухтарма (49°44.436' N 83°59.418' E)	S144925-27	3	-	-	-	-	Прокопов (1988)
KAZ2	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., оз. Маркаколь (48°45' N 85°45' E)	S904706	1	1	-	-	-	Богданов (1966)
KAZ3	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., с. Боран (48°0.533' N 85°11.717' E)	S130766	1	-	-	-	-	Прокопов (1966-1967)
Итого:			92	45	37	35	5	

Примечание. ♂ – самец, ♀ – самка; ad – взрослый, sad – сеголеток. В графе «Коллекционный номер» жирным шрифтом выделен собственный материал.

Материалом для генетического анализа стали особи *M. petax* из собственных сборов (таблица 1). Для 23 особей получены последовательности первой субъединицы гена цитохромоксидазы (COI) мтДНК и депонированы в GenBank под номерами MT383996-384013, для 26 особей восточной ночницы - получены последовательности контрольного региона мтДНК. Для сравнительного

анализа использованы сиквенсы контрольного региона *M. petax* из GenBank, а также последовательности гена COI из GenBank, принадлежащие *M. petax*, пяти дальневосточным видам ночниц и европейскому виду-двойнику *M. daubentonii* (Таблица 3, рисунок 1Б). Последовательность гена COI сибирского трубконоса *Murina hilgendorfi* использована как внешняя группа.

Таблица 3. Данные GenBank, использованные в молекулярно-генетическом анализе (начало)

Код	Регион	COI	CR	Источник
<i>Myotis petax</i>				
PRI3	Приморский край, окр. п. ЛЗП-3, пещ. Приисковая (44°22.767' N 133°12.283' E)	JF443025	-	1
KIT2	Китай	-	JF806312	2
SAH1	о-в Сахалин, пойма реки Китосия (46°22,3' N 141°52.217' E)	JF443019, JF443032-35	-	1
CHI1	Забайкальский край, Могочинский р-н, р. Шилка (53°22.5' N 121°10.38' E)	JF443026	-	1
CHI2	Забайкальский край, левый берег р. Шилка, 46 створ (53°25.2' N 120°19.8' E)	JF443028	-	1
MON2	Монголия, Увэрхангай, 12 км к югу от Хархорина, правый берег Орхон Гол (47°5.783' N 102°46.38' E)	JX008075-77	-	1
TYV	респ. Тыва, оз. Торе-Холь (50°02' N 95°04' E)	JF443020, JF443029-31, JF443036-38	-	1
ALT7	респ. Алтай, Усть-Канский район, ок-рти б.о. "Черный Ануи" (51°22.2' N 84°43.8' E)	JF443024	-	1
ALT8	респ. Алтай, Усть-Канский район, 48 км на север от Усть-Канска (51°21.9' N 84°42.9' E)	JF443021	-	1
ALT9	респ. Алтай, Усть-Канский район, 10 км на восток от Каракола (пещ. Старокаракольская и Музейная) (51°17.22' N 84°43.92' E)	JF443039-40	-	1
KOREA	Южная Корея	KT199099-102	-	3
<i>M. macrodactylus</i>				
KOREA	Южная Корея	HQ580337-18, KT862813-14	-	4, 5
<i>M. longicaudatus</i>				
-	Республика Бурятия, Тункинский р-н, река Бугота (51°54' N 102°27' E)	JF442982-83	-	1
ALT9	респ. Алтай, Усть-Канский район, пещ. Музейная (51°17.22' N 84°43.92' E)	JF442989	-	1
<i>M. bombinus</i>				
KOREA	Южная Корея	HQ580336	-	4
PRI3	Приморский край, окр. п. ЛЗП-3, пещ. Приисковая (44°22.767' N 133°12.283' E)	JF442874, JF442876	-	1
<i>M. ikonnikovi</i>				
-	Россия	HQ974651-2	-	4
-	Китай, Хейлунцзян (45°24' N 127°40' E)	JF442993	-	1

Таблица 3. Данные GenBank, использованные в молекулярно-генетическом анализе (окончание)

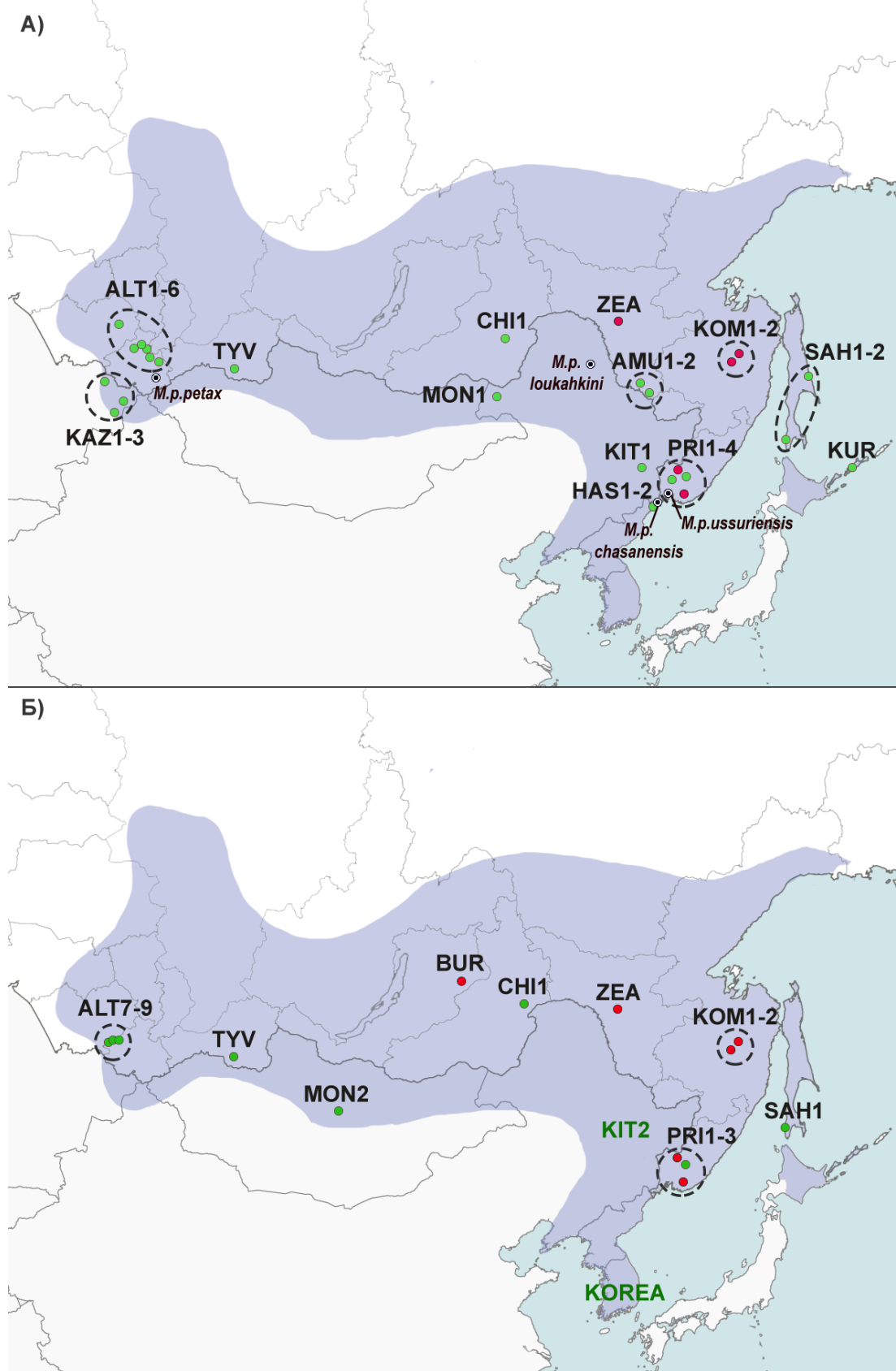
<i>M. sibirica</i>				
-	Забайкальский край, правый берег р. Шилка (53°25.5' N 121°10.38' E)	JF442902	-	1
-	Монголия, Селенга, р. Орхон (50°4.2' N 106°10.2' E)	JF442905	-	1
-	Сахалин, Ноглики (51°24.3' N 143°26.7' E)	JF442926	-	1
<i>M. daubentonii</i>				
-	Брянская область, Суземка (52°24.72' N 34°3.3' E)	JF442939	-	1
-	Московская область, Тучково (55°36.18' N 36°39.48' E)	JF442942-43	-	1
<i>Murina hilgendorfi</i>				
-	Китай, Хейлунцзян, Пиншань (45°18' N 127°24' E)	JF442830	-	1

Примечание. 1 - Kruskop et al. 2012, 2 - Lu et al., 2013, 3 - Hwang et al., 2016, 4 - International Barcode of Life, 5 – GenBank.

Рисунок 1А демонстрирует распределение на ареале *M. petax* точек, откуда был получен материал для краниометрического анализа. Красным цветом обозначены собственные сборы, зеленым – материалы из коллекции ЗМ МГУ. Обозначения локалитетов приведены в таблице 2. Близкие локалитеты были сгруппированы под одним кодом. Места первоописания подвидов восточной ночницы отмечены отдельно.

На рисунке 1Б показаны локалитеты, откуда были исследованы последовательности мтДНК восточной ночницы для молекулярно-генетического анализа. Красным отмечены места собственных сборов, зелеными точками обозначены локалитеты для последовательностей гена COI мтДНК *M. petax*. Коды регионов приведены в таблице 3. Для сиквенсов контрольного региона мтДНК из Китая (KIT2) и полных митохондриальных геномов из Кореи (KOREA) не известны координаты места сбора, потому данные регионы приблизительно обозначены на карте кодами зеленого цвета.

Рисунок 1. Карты мест сбора для морфологических (А) и молекулярных (Б) исследований.



Примечание. Фиолетовым цветом выделен ареал восточной ночницы. Красным обозначены собственные сборы, зеленым обозначены места сбора для экземпляров из коллекции ЗММГУ (А), либо для сиквенсов, полученных из GenBank (Б). Обозначения регионов приведены в Таблицах 2 и 3. Кружком с точкой обозначены места первоописания подвидов восточной ночницы.

2.2 Кариологический анализ

В данной работе использовали как прямой метод приготовления хромосомных препаратов из клеток красного костного мозга и селезенки по стандартной методике (Ford, Hamerton, 1956), так кратковременную культуру клеток красного костного мозга и селезенки (Графодатский, Раджабли, 1988).

Для стимуляции клеточного деления животным внутрибрюшинно вводили суспензию пекарских дрожжей за сутки до забоя (Lee, Elder, 1980). Свежие дрожжи помещали в концентрированный раствор сахара или глюкозы и ставили в теплое место. Летучим мышам вводили 0,2 мл раствора на 12 часов.

2.2.1. Методика приготовления препаратов прямым методом

Хромосомную суспензию готовили с предварительным колхицинированием животного. Колхицин (0,004% раствор) вводят внутрибрюшинно за 15-90 минут до забоя (в зависимости от вида животного) из расчета 1 мл на 100 г массы (Ford, Hamerton, 1956). Летучим мышам мы вводили примерно 0,5 мл, время колхицинирования - 30-40 мин. После забоя у животного вырезали трубчатые кости конечностей (плечевая кость, лучевая кость, бедренная кость), у костей отрезали эпифизы и костный мозг вымывали гипотоническим раствором (0,075M раствор KCl) с помощью шприца в центрифужную пробирку. На одно животное мы расходовали примерно 3-5 мл гипотонического раствора. Костный мозг тщательно ресуспендировали с помощью пастеровской пипетки и подвергали гипотонической обработке. Помимо красного костного мозга в работе использовали клетки селезенки. Селезенку помещали в чашку Петри с гипотоническим раствором, клетки из кусочка ткани выщелушивали скальпелем, взвесь переносили в центрифужную пробирку, тщательно ресуспендировали пипеткой.

Гипотоническую обработку клеток проводили 20 мин при комнатной температуре. После гипотонической обработки суспензию клеток центрифугировали 10 мин при 1000 ± 200 об/мин, надосадочную жидкость осторожно сливали и фиксировали осадок в смеси 96% этанол и ледяная уксусная кислота (в отношении 3:1). Фиксировали три раза. Общее время фиксации клеток

не менее 40 мин. Использовали только свежеприготовленный фиксатор, по возможности охлажденный до 4°C.

Зафиксированные клетки тщательно ресуспендировали в фиксаторе и по несколько капель наносили пастеровской пипеткой на холодное и мокрое чистое предметное стекло. Затем стекло высушивали над водяной баней при температуре 70°C в течение 10-20 минут с добавлением нескольких капель фиксатора для лучшего распластывания хромосом (Рубцов, 2006).

2.2.2. Кратковременная культура

Препараты готовили без предварительного колхицинирования животного. После забоя у животного вырезали трубчатые кости конечностей (плечевая кость, лучевая кость), у костей отрезали эпифизы и костный мозг вымывали смесью питательной среды № 199 с бычьей сывороткой (в соотношении 4 : 2) с помощью шприца в центрифужную пробирку, где тщательно ресуспендировали с помощью пастеровской пипетки. Помимо красного костного мозга в работе использовали клетки селезенки. Селезенку помещали в чашку Петри со смесью культуральной среды с сывороткой, клетки из кусочка ткани выщелушивали скальпелем, взвесь переносили в центрифужную пробирку, тщательно ресуспендировали пипеткой.

Пробирки культуральной средой и клетками помещали в термостат с температурой 37°C на 1,5-2 часа. Затем, в пробирки вносили 0,004% раствор колхицина, из расчета 0,1 мл на 1 мл среды, и инкубировали 50 мин в термостате при 37°C. После этого колхицинированную взвесь клеток центрифугировали 10 мин при 1000±200 об/мин, надосадочную жидкость сливали, к осадку приливали 5 мл гипотонического раствора (0,075М раствор KCl). Гипотоническую обработку и фиксацию клеток проводили по описанной выше методике.

2.2.3 Методы окрашивания хромосом

Для рутинной окраски хромосом мы применяли краситель Гимза (азур-эозин по Романовскому). Чтобы приготовить 2 % раствор красителя, брали 2 мл основного раствора Гимза и разводили в 100 мл фосфатного буфера (Na₂HPO₄×KH₂PO₄). Препараты окрашивали в течение 2-10 мин, после чего промывали дистиллированной водой. Для отмывания препарата перед

дифференциальным окрашиванием мы использовали 50% этиловый спирт или проводили через батарею спиртов, последовательно выдерживая препарат в 50%, 70% и 96% этиловом спирте.

2.2.3.1 GTG-окрашивание хромосом

Для определения нумерации хромосомных плеч в соответствии со стандартным *Myotis*-type кариотипом мы использовали дифференциальное GTG-окрашивание (Bickham, 1979).

GTG-окраска проводили по методике М. Сибрайт (Seabright, 1971). Отмытые от азотнокислого серебра препараты помещали на 1-2 минуты в 0,25% раствор трипсина, нагретый до 37°C. Время выдержки в трипсине подбирали эмпирически. Препараты инкубировали 20-60 минут в двукратном буфере SSC (стандартный солевой раствор: 0,3М NaCl, 0,03М цитрата натрия) при температуре 37°C. Затем в течение 10 минут окрашивали в 10% растворе красителя Гимза (5 мл основного раствора красителя Гимза на 50 мл фосфатного буфера).

2.2.3.2 AgNOR-окрашивание хромосом

Ядрышкообразующими районами называют хромосомные районы, формирующие и поддерживающие ядрышки в интерфазных ядрах. Они содержат множественные копии генов 18S и 26S рРНК (Howell et al., 1975; Miller et al., 1976). Активные ЯО-районы метафазных хромосом могут быть дифференциально окрашены азотнокислым серебром (Howell, Black, 1980). Под действием нитрата серебра, ЯО-районы окрашиваются интенсивно черным цветом при значительно более слабой коричневатой-желтой окраске хромосом. Субстанция, окрашиваемая серебром, является протеиновым компонентом рибонуклеопротеинового комплекса, окружающего районы ядрышкового организатора. Эти протеины связываются только с транскрипционно активной частью ДНК ядрышкового организатора и отсутствуют в районах нетранскрибируемых спейсеров. Предполагают, что ответственными за окраску серебром могут быть кислые протеины, богатые сульфгидридными и дисульфидными группами, протеины C23 и B23, а также одна из субъединиц РНК-полимеразы (Рубцов, 2006).

По длине хромосомы ядрышковый организатор может быть локализован в коротких плечах акроцентрических хромосом (прицентромерный тип), в середине плеча или в районе вторичной перетяжки (интерстициальный тип), либо в теломерных концах хромосом (прителомерный тип). Ядрышкообразующие районы, как правило, выявляются на аутосомах, но обнаружены и на гетерохромосомах (Кораблев, 1987).

Окрашивание ЯО-районов проводили по упрощенной методике окрашивания серебром (Howell, Black, 1980) с модификациями по Рубцову (2006): для улучшения окраски приготовленный препарат помещали в 1% раствор муравьиной кислоты (1 мл HCOOH на 100 мл дистиллированной воды) при комнатной температуре на 30 минут. Данную процедуру не применяли, если AgNOR-окрашивание производилось в день забоя.

Затем на препарат наносили 2-3 капли раствора 50% р-ра нитрата серебра (5 г AgNO₃ на 10 мл дистиллированной воды), накрывали покровным стеклом и инкубировали в течение часа во влажной камере при температуре 60°C. При достижении необходимой интенсивности окрашивания хромосом, покровное стекло снимали, препарат промывали дистиллированной водой и высушивали.

Для облегчения просмотра препараты помещали в 2% р-р красителя Гимза. Через несколько минут препарат промывали в дистилляте и высушивали.

Препараты анализировали под микроскопом, окрашенные метафазы фотографировали. У рукокрылых идентификацию хромосомных пар, несущих ЯО-районы, осуществляют последовательными AgNOR- и GTG-окрашиваниями. Перед дальнейшим GTG-окрашиванием препараты отмывали от иммерсии в ксилоле, от азотнокислого серебра - в растворе красной кровяной соли, и проводили через батарею спиртов, последовательно выдерживая препарат в 50%, 70% и 96% этиловом спирте.

2.2.3.3 ЯО-активность.

При сравнении AgNOR-окрашенных кариотипов рукокрылых используется такая величина как активность ядрышкообразующих районов (ЯО-активность). ЯО-активность оценивали по методике, предложенной М. Воллет (1987): каждый

отчетливый ЯО-район считался за 1, слабозаметный ЯО-район – 0,5. Таким образом, если на пластинке окрашивались оба гомолога из пары, ЯО-активность равнялась 2, если один из гомологов красился слабо – 1,5, если обе хромосомы окрашивались бледно – ставилась ЯО-активность – 1 и т.д. Для вычисления ЯО-активности, число ядрышкообразующих районов каждой хромосомной пары делили на число исследованных метафаз (Volleth, 1987).

2.2.3.4 CBG-окрашивание хромосом

Гетерохроматин представляет собой особое конденсированное состояние хроматина, по ряду параметров отличное от эухроматина. Для конститутивного гетерохроматина характерны: спирализация на протяжении всего клеточного цикла, более поздняя и длительная репликация по сравнению с эухроматином, низкая частота мейотической рекомбинации и способность к генетической инактивации. Последнюю особенность связывают со свойственным гетерохроматину специфическим набором белков, инактивирующих транскрипцию. С-гетерохроматин состоит преимущественно из сателлитной ДНК, некоторого количества умеренных повторов, и, в частности, мобильных генетических элементов, а также небольшого числа уникальных генов, способных нормально функционировать только в гетерохроматиновом окружении (Прокофьева-Бельговская, 1977; Коряков, Жимулев, 2009).

Количество конститутивного гетерохроматина – сравнительно полиморфный признак и может проявлять как внутривидовую, межпопуляционную, так и индивидуальную изменчивость. У млекопитающих изменчивость гетерохроматина проявляется в изменении числа полностью гетерохроматиновых плеч или размеров прицентромерных, прителомерных и интерстициальных гетерохроматиновых районов (Прокофьева-Бельговская, 1977, Korobitsina, Korablev, 1980, Орлов, Булатова, 1983; Прокофьева-Бельговская, 1986; Tavares et al., 2015; Gomes Júnior et al., 2016; Oliveira Da Silva et al., 2017). Различное содержание С-гетерохроматина в гомологичных хромосомах может обуславливать гетероморфизм размеров некоторых пар (Орлов, Булатова, 1983; Рубцов, 2006).

C-окрашивание связано с дифференциальной потерей материала хромосом из разных районов в процессе предобработки перед окраской красителем Гимза. Во время предобработок цитологических препаратов NaOH или Ba(OH)₂ происходит денатурация белков и частичная депуринизация ДНК. При C-дифференциальной окраске более интенсивно окрашивается большинство районов хромосом, содержащих кластеры повторенных последовательностей ДНК (Рубцов, 2006).

Районы структурного гетерохроматина на хромосомах выявляли методом, предложенным А.Т. Самнером (Sumner, 1972). Предварительно проводилась G-окраска для установления нумерации хромосомных пар. GTG-окрашенные препараты просматривали под микроскопом, метафазы фотографировали, затем препарат омывали от иммерсии в ксилоле и проводили через батарею спиртов.

Препараты инкубировали в 0,1М растворе HCl при комнатной температуре в течение 10 минут, чтобы удалить излишки белка, не повреждая препарата. Затем препараты промывали в дистиллированной воде и в вертикальном положении помещали в свежеприготовленный насыщенный 5% раствор гидроксида бария (Ba(OH)₂×8H₂O), предварительно удалив пленку с его поверхности, на 3-5 минут при температуре 60°C. Далее препарат последовательно споласкивали в дистилляте, 0,1М растворе соляной кислоты и снова в дистилляте. Препараты инкубировали 1 час в буфере 2×SSC при температуре 60°C. После промывания дистиллированной водой препараты окрашивали в 2% растворе красителя Гимза (1 мл основного раствора красителя Гимза на 50 мл фосфатного буфера) в течение 10 мин. После окрашивания препараты промывали дистиллированной водой и высушивали.

2.2.4 Микроскопирование

При анализе и микрофотографировании окрашенных препаратов использовали микроскоп AXIOSKOP 2 Plus (Zeiss, ФРГ), цифровую камеру и программное обеспечение META Systems (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия) Лаборатории микроскопии «Биотехнология и генетическая инженерия» (центра коллективного пользования ФНЦ Биоразнообразия ДВО

РАН). Раскладки хромосом по парам сделаны в программе Adobe Photoshop CS3 Extended 10.0.

2.2.5 Анализ метафазных хромосом

Совокупность митотических хромосом организма, характеризующаяся определенным числом, формой и размером хромосом, называют кариотипом. Хромосомный набор соматической клетки млекопитающих диплоидный ($2n$), то есть состоит из гаплоидных наборов (n), вносимых в зиготу мужской и женской гаметами (Орлов, Булатова, 1983).

Гомологичные пары хромосом подбираются по принципу подобия, с учетом индивидуальных морфологических особенностей: размера, положения центromеры, расположения и количества полос при дифференциальной G-окраске.

Размер хромосом оценивается визуально без промеров, следуя общепринятой классификации, основанной на положении первичной перетяжки, или центromеры, соединяющей хроматиды (Орлов, Булатова, 1983).

- Метацентрические хромосомы, или метацентрики - плечи хромосом практически равной длины (M-тип);
- Субметацентрические хромосомы, или субметацентрики - плечи хромосом явно неравной длины (SM-тип);
- Субтелоцентрические, или субтелоцентрики - резко неравноплечие хромосомы (ST-тип);
- Акроцентрические хромосомы, или акроцентрики - центromера расположена очень близко к одному из концов хромосом (A-тип).

Акроцентрические и субтелоцентрические хромосомы условно считаются одноплечими, остальные - двухплечими. Обычно подсчитывают число плеч аутосом (основное число) - NFa . В данном случае морфология половых хромосом не учитывается, так как X- и Y- хромосомы могут иметь различную морфологию.

Вторичной перетяжкой называют промежуток между плечом и спутником - небольшое тельце, соединенное с плечом тонкой ножкой. В месте вторичной

перетяжки часто располагается кластер генов рибосомной РНК (Коряков, Жимулев, 2009).

2.2.5. Особенности нумерации пар хромосом летучих мышей

Примитивным кариотипом семейства Vespertilionidae принят т.н. *Myotis-type* кариотип с $2n = 44$ и числом плеч аутосом (NFa) равным 50 (Baker, 1970). Для нумерации плеч аутосом в соответствии со стандартным *Myotis-type* кариотипом применяют GTG-окрашивание хромосом (Bickham, 1979a). При обозначении двуплечих хромосом указывают номера хромосомных плеч, участвующих в слиянии. Так, например, двуплечие хромосомы, образованные акроцентрическими парами №№ 14 и 7 имеют номер 14/7.

2.3. Морфологический анализ

Поскольку в работе использован музейный материал, для которого не всегда представляется возможным измерить линейные размеры тела, в анализе были использованы только промеры черепа. Для сравнения с дальневосточными выборками был использован материал из коллекции ЗМ МГУ, в том числе проанализированный в предшествующих морфологических исследованиях (Kruskop, 2004; Matveev et al., 2005).

Для анализа применяли следующие краниометрические признаки: CBL – кондило-базальная длина, CCL – кондило-канинная длина, MW – ширина мастоидной области, BCW – ширина мозговой капсулы, BCH – высота мозговой капсулы, IOW – межглазничная ширина, RL – длина роstralной части кпереди от подглазничного отверстия, RW – ширина роstralной части между подглазничными отверстиями, C1C1- ширина между наружными краями верхних клыков, M3M3 - ширина между наружными краями последних верхних коренных, C1M3 – длина верхнего зубного ряда, IM3 - длина верхнего ряда зубов, включая резцы, C - длина основания коронки клыка, M3L - длина коронки последнего верхнего коренного, M3W - длина коронки последнего верхнего коренного, MdL - длина нижней челюсти до заднего края сочленовного отростка, MdH - высота

нижней челюсти до вершины венечного отростка. Очистку черепа осуществляли вручную или с использованием личинок насекомых. Промеры снимали под бинокляром с помощью электронного штангенциркуля с точностью до 0,01 мм. Схема промеров (по: Курсков, 1978) приведена на рисунке 1 Приложения Б.

На первом этапе работы нами были исключены возможный половой диморфизм и возрастная изменчивость в исследуемом материале. Затем 27 локальных выборок были объединены по географическому признаку в 13 региональных выборок: Хасанский район Приморского края (HAS), Приморский край (PRI), Китай (KIT), север Амурской области (ZEA), юг Амурская область (AMU), Забайкальский край (CHI), Внутренняя Монголия (MON), Курильские острова (KUR), о-в Сахалин (SAH), Хабаровский край (KOM), республика Тыва (TYV), горы Алтая (ALT), Казахстан (KAZ). В дальнейшем работа велась с региональными выборками.

Были подсчитаны средние значения признака, минимальные и максимальные значения, а также стандартная ошибка среднего, дисперсия (σ) и коэффициент вариации (CV). Таблицы средних значений для каждой выборки приведены в Приложении В. Затем было проведено попарное сравнение полученных 13 региональных выборок по T-критериям. Последующую обработку данных производили методами пошагового дискриминантного анализа и анализа главных компонент в программе Statistica for Windows. Для оценки значимости различий по отдельным параметрам применяли коэффициент Стьюдента: $p < 0,01$ и $p < 0,05$.

Дискриминантный анализ проводился в несколько этапов: на первом этапе в группу UN (undefined) были объединены все восточные ночницы, отловленные в рамках данного исследования, а также ночницы из региональных выборок, показавшие минимальные различия с нашим материалом. В качестве обучающих выборок для группы UN были использованы региональные выборки ночниц, достоверно отличающиеся от них по результатам попарного сравнения. Сравнение T-критериев и результаты первого этапа дискриминантного анализа позволили объединить региональные выборки в 7 обобщённых выборок. Для

обобщенных выборок пересчитаны значения средних и проведен дискриминантный анализ морфологической изменчивости по 16 краниометрическим параметрам, подсчитаны значения стандартизированных канонических переменных, r -дистанции и квадраты расстояния Махаланобиса. На следующем этапе дискриминантного анализа недостоверно отличающиеся группы снова были объединены, выделенные в итоге морфологические группировки были сопоставлены с описанной для восточной ночницы подвидовой структурой.

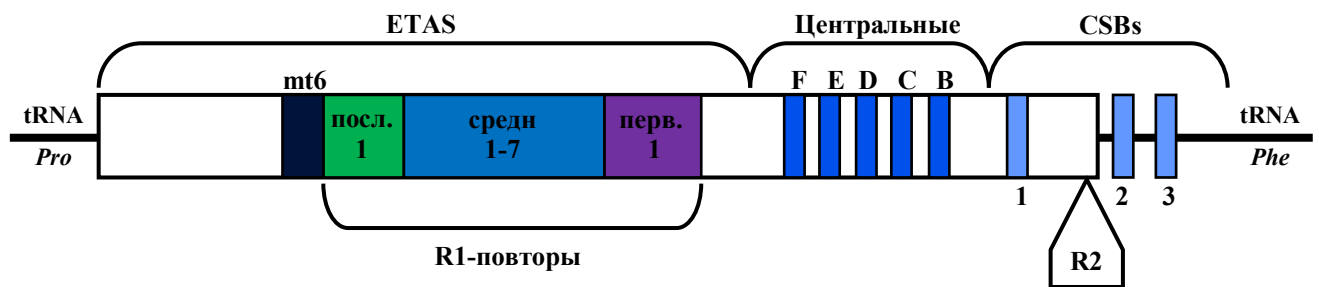
2.4. Молекулярно-генетический анализ

Последовательность, кодирующая первую субъединицу цитохромоксидазы (COI) мтДНК широко применяется в баркодинге рукокрылых, в том числе наработана обширная база данных по последовательностям COI у разных видов рода *Myotis* (Francis et al., 2010; Kruskop et al., 2012; Luczon et al., 2019). В настоящей работе последовательность COI использована для верификации видовой принадлежности особей, определенных по морфологии как *M. petax*, но отловленных в новых для вида локалитетах, либо в колониях, где совместно встречались несколько видов ночниц.

Для оценки внутривидовой генетической изменчивости была выбрана наиболее вариабельная часть последовательности контрольного региона мтДНК (CR). Контрольный регион находится между генами тРНК-Pro и тРНК-Phe, содержит последовательности, участвующие в транскрипции и трансляции митохондриального генома, отличается высокой полиморфностью и широко применяется в исследованиях внутривидовой структуры, поскольку позволяет выявить различия между популяциями одного вида (Brown et al., 1986; Sbisà et al., 1997; Mehdizadeh et al., 2019). В контрольном регионе часто выделяют три домена: ближайший к тРНК-Pro - ETAS-домен, центральный домен, содержащий 5 коротких консервативных блока (F, E, D, C, B), и CBS-домен – консервативный домен, включающий 3 CBS-блока и множественные короткие tandemные R2-повторы. Данные повторы обычно состоят из 6-30 п.н., часто содержат

четырёхбуквенный GTAC-мотив, могут варьировать по длине подобно ядерным микросателлитным локусам, однако почти не влияют на размер контрольного региона. ETAS-домен – наиболее вариабелен и содержит тандемные R1-повторы (78-85 bp), в которых выявляются три коротких консервативных участка: TAS, mt5 и mt6 (Petri et al., 1996; Sbisa et al., 1997; Wilkinson et al., 1997; Liu et al., 2009; Rahman et al., 2019). Выделяют три типа R1-повторов: первые, средние и последние. Поскольку традиционно отсчёт начинается с точки начала репликации Н-цепочки мтДНК, первые повторы наиболее близки к центральному домену, а последние находятся ближе к тРНК-Pro-гену (Wilkinson et al., 1997). Наиболее консервативным из тандемных повторов считается последний R1-повтор: вероятно, он участвует в регуляции репликации митохондриальной ДНК (Wilkinson et al., 1997). На рисунке 2 изображено схематичное строение контрольного региона.

Рисунок 2. Строение контрольного региона мтДНК



Примечание. Рисунок представляет собой компиляцию схематичных изображений контрольного региона из других работ (Wilkinson, Chapman, 1991, Liu et al., 2009).

2.4.1 Выделение ДНК

Тотальная ДНК была выделена стандартным солевым методом из тканей, фиксированных в 96% спирте (Aljanabi, Martinez, 1997). Фиксированные ткани были гомогенизированы в 200 мкл буфера для выделения (0,4 М NaCl, 10 mM Трис-HCl pH 8.0 и 2 mM ЭДТА pH 8.0), затем в каждую пробирку были добавлены 2-6 мкл 20 мг/мл протеиназы К и тщательно перемешано. Образцы инкубировали при постоянном помешивании при температуре 65°C не менее 30-60 мин до полного растворения тканей, после чего добавляли 300 мкл 6 М NaCl и центрифугировали в течение 25 мин при 13400 об/мин.

Супернатант переносили в чистые пробирки и проводили осаждение ДНК, путем добавления такого же объема 95% спирта в каждую пробирку и центрифугировали в течение 25 мин при 13400 об/мин. Осажденную ДНК промывали 70% раствором спирта, центрифугируя в течение 25 мин при 13400 об/мин, сливали спирт чистым носиком и высушивали. Сухую ДНК разводили в 100–200 мкл деионизированной воды.

Концентрацию и качество ДНК каждого образца оценивали при электрофорезе в горизонтальной камере при напряжении 100 В в 1% агарозном геле (1 г агарозы, 2 мл ТАЕ, дистН₂О – до 100 мл). Раствор нагревали в термостойкой колбе до полного растворения агарозы. Гель остужали и добавляли 1 мкл бромистого этидия или GelRed. Готовый гель заливали в камеру для электрофореза, ближе к краю вставляли гребенку для получения в геле лунок для проб. После полного затвердения геля, гребенка удаляется, и гель помещается в электрофорезную кювету, залитую трис-ацетатным электрофоретическим буфером (0,04М трис-ацетата и 0,002М ЭДТА), так чтобы гель был закрыт слоем буфера. По 2 мкл геномной ДНК смешивали с красителем (0,025% бромфеноловый синий, 50% глицерин) и вносили в лунки под электрофоретический буфер. По окончании электрофореза гель фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Для сравнения был использован стандартный образец ДНК фага λ.

2.4.2 Моделирование праймеров

Все праймеры, использованные в работе были смоделированы самостоятельно. Для начала, используя полную последовательность мтДНК *M. petax*, были подобраны прямые и обратные последовательности длиной 18-21 п.н. фланкирующие интересующие нас фрагменты ДНК. Праймеры для COI должны были охватывать участок гена с 1 по 657 п.н., а праймеры для контрольного региона – часть последовательности d-петли от гена *Pro* до начала коротких tandemных GTAC-повторов, длиной около 900 пар нуклеотидов.

Все полученные последовательности были протестированы в соответствующих программах PrimerBlast (Ye et al., 2012) и OlygoCalc (Kibbe,

2007), чтобы определить температуру отжига и подобрать пары праймеров со сходными условиями амплификации.

В итоге были подобраны следующие пары праймеров: для COI – прямой MPCO+ (5'-ATTTGCAATTCAATGTGTATT-3') и обратный MPCO- (3'-ATAGSTCATACCATTCSTAT-5'), для контрольного региона – прямой MPCR+ (5'-ATCAATTATACTGGTCTTGTA-3') и обратный MPCR- (3'-AAGSTGTTAATTTTCATATGT-5').

Температура отжига праймеров составила:

MPCO+ (5'-ATTTGCAATTCAATGTGTATT-3') – 47-48°C.

MPCO- (3'-ATAGSTCATACCATTCSTAT-5') – 47-48°C.

MPCR+ (5'-ATCAATTATACTGGTCTTGTA-3') – 48°C.

MPCR- (3'-AAGSTGTTAATTTTCATATGT-5') – 47°C.

2.4.3 Амплификация фрагмента митохондриальной ДНК

Фрагмент гена первой субъединицы цитохромоксидазы был амплифицирован в стандартной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием пары праймеров MPCO+/MPCO-. Часть последовательности контрольного региона была амплифицирована с использованием пары праймеров MPCR+/MPCR-. Амплификацию проводили с использованием термоциклера MyCycler™ Thermal Cycler (Biorad, США) в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 3-4 мкл тотальной ДНК, 2.5 мкл 10× буфера (Sibenzim, Россия), 2,5 мкл 20 mM смеси dNTP, 2 мкл каждого праймера, 0,5 мкл Taq-полимеразы (Sibenzim, Россия) и деионизированную воду.

Сходная температура отжига праймеров позволила использовать одинаковые условия для амплификации обеих последовательностей. Поэтому все фрагменты были амплифицированы при следующих условиях ПЦР: 5 мин начальная денатурация ДНК при 95°C, 35 циклов наработки фрагмента (денатурация при 95°C - 10 с, отжиг при 47.5°C - 60 с и элонгация при 72°C - 60 с), 7 мин достраивание цепей при 72°C, остывание до 4°C. Полученные фрагменты были проверены электрофорезом в 1% агарозном геле. Все работы были проведены на базе ФНИЦ Биоразнообразие ДВО РАН (г. Владивосток).

2.4.5 Очистка полученного фрагмента и секвенирование нуклеотидной последовательности

ПЦР-продукты были очищены путем инкубации в течение часа в темноте в 81,5 мкл ПЭГ (10 частей ПЭГ на 11 частей дистиллированной воды) при комнатной температуре. Затем центрифугировали в течение 20 мин при 13400 об/мин, убирали надосадочную жидкость наконечником, добавляли по 100 мкл 70% этанола и снова центрифугировали 20 мин. Спирт убирали дозатором и высушивали осадок. Для дальнейшей работы осажденный очищенный фрагмент разводили в 10 мкл деионизированной воды и присоединяли флуоресцентную метку. Присоединение проводили в термоциклере MyCycler™ Thermal Cycler (Biorad, США) в 20 мкл реакционной смеси: 4 мкл 5× буфера (Sibenzim, Россия), 5 мкл прямого или обратного праймера в концентрации 1 пмоль/мкл, 0,9-1 мкл Big Dye Terminator версия 3.1 (Applied Biosystems, США) и деионизированная вода. Амплификация проходила при следующих условиях: 60 с начальная денатурация ДНК при 95°C, 25 циклов амплификации (денатурация при 95°C– 30 с, отжиг при 48°C– 10 с, элонгация 60°C – 180 с), остывание до 4°C.

Для очистки полученного фрагмента с флуоресцентной меткой от продуктов ПЦР использовали 80-100 мкл 70% спирта, которые добавляли в пробирку с реакционной смесью и центрифугировали 20 мин при 13400 об/мин. Надосадочную жидкость убирали наконечником, осадок высушивали и проводили денатурацию ДНК добавлением 12 мкл формамида. Денатурация проходила в MyCycler™ Thermal Cycler (Biorad, США) при следующих условиях: 2 мин при 95°C, охлаждение до 4°C, затем образцы раскапывали в планшет для секвенирования. Последовательности нуклеотидов определяли на автоматическом секвенаторе ABI Prizm 3130 (Applied Biosystems, США) ФНЦ Биоразнообразие ДВО РАН (г. Владивосток).

2.4.6 Анализ молекулярно-генетических данных

Редактирование и выравнивание полученных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit 7.0.9.0. Все секвенированные последовательности COI были депонированы в GenBank, номера сиквенсов указаны в Таблице 3. Последовательности контрольного региона пока не

получили номер GenBank. Помимо собственных последовательностей использовали гомологичные последовательности видов рода *Myotis* и *Murina* из GenBank (Таблица 3).

Внутривидовая нуклеотидная и гаплотипическая изменчивость подсчитаны при использовании программного обеспечения DnaSP6 (Hall, 1999). Филогенетические реконструкции с использованием метода максимального правдоподобия (ML) и расчет попарных *p*-дистанции выполнены в программе MEGA 5.05.100 (Tamura et al., 2011). Наиболее подходящую филогенетическую модель для построения филогенетического дерева COI определяли с помощью ModelTest в программе MEGA 5.05.100: HKY+I (модель Hasegawa-Kishino-Yano, включая инвариантные сайты). Устойчивость кластеризации оценивалась с помощью bootstrap-анализа при 500-1000 циклах. При построении сети гаплотипов COI и контрольного региона использовано программное обеспечение Network 10, для расчета использован метод “median joining”. Для построения сети гаплотипов контрольного региона использована частичная последовательность контрольного региона, исключив часть наименее вариабельных средних повторов, расположенных ближе к мтДНК-*Pro* гену, чтобы выровнять последовательности по длине. Данная операция допустима при анализе, поскольку контрольный регион не является белок-кодирующим геном и исключение части длины последовательности не может повлиять на конечный белковый продукт.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. ДНК-штрихкодирование и изменчивость по последовательностям COI

ДНК-штрихкодирование применялось в настоящей работе для уточнения видовой принадлежности особей, определенных по морфологии как *M. petax*, но отловленных в новых для вида локалитетах, либо в колониях, где совместно встречались несколько видов ночниц.

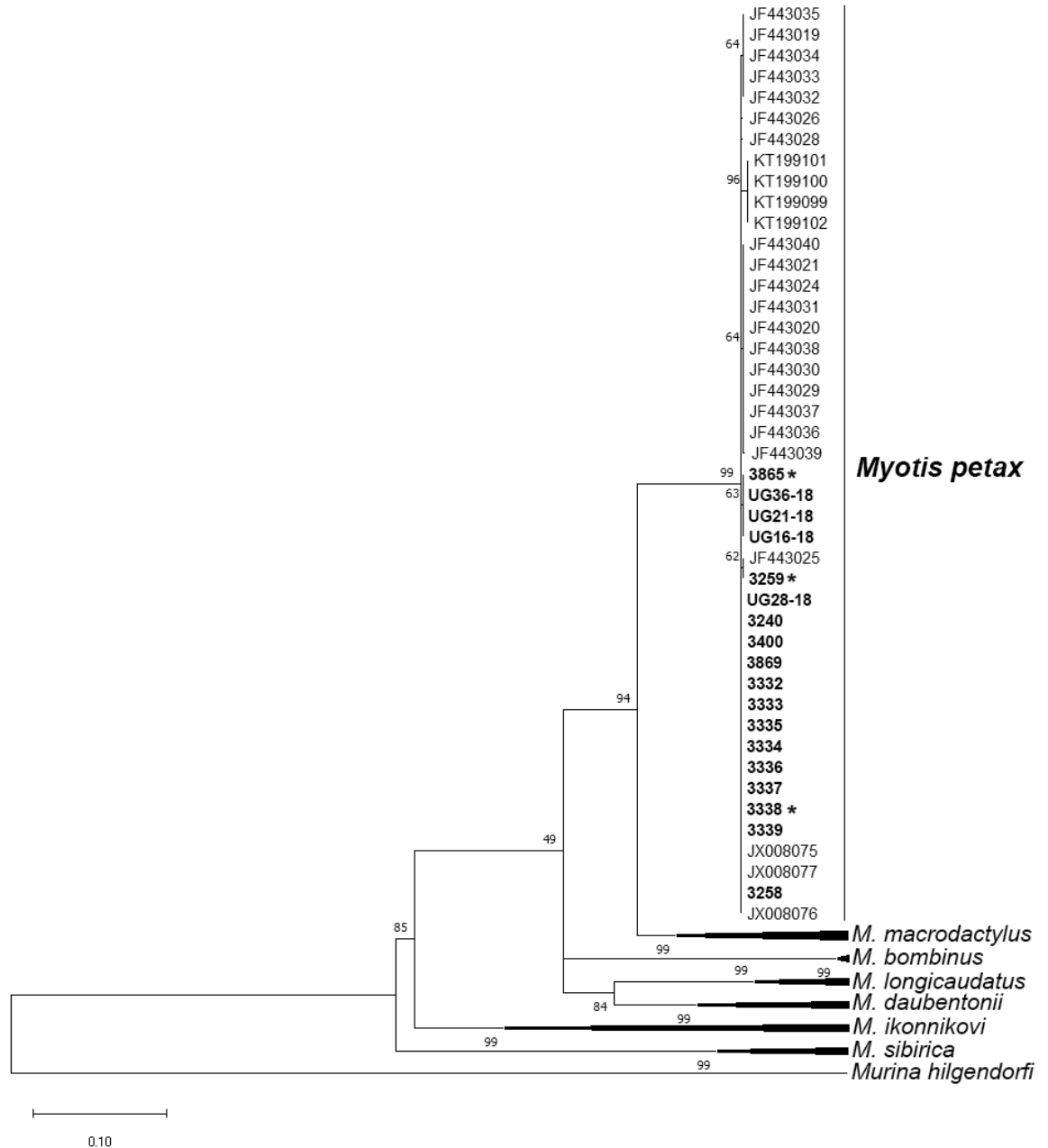
Так, для 18 особей ночниц, отловленных в зимовочных колониях Приморского края (n = 6), смешанной колонии в Хабаровском крае (n = 4) и в новом для вида локалитете в Амурской области (n = 8), секвенированы последовательности участка мтДНК длиной 882-935 нуклеотидных пар (Таблица 1). Сравнение этих последовательностей с последовательностями из GenBank показало, что они соответствуют участку гена *COI* с 1 по 835 позицию (835 п.н. из 1545 п.н.), а также полному гену тРНК *trnY* (67 п.н.) и части последовательности гена тРНК *trnC* с 31 позиции по 66.

После редактирования и выравнивания полученных последовательностей длина анализируемого участка составила 862 п.н. (из них ген *COI* - с 1 по 794 позицию), что достаточно для сравнения, поскольку ДНК-штрихкодирование рукокрылых использует участок гена *COI* длиной 657 п.н. с 49 по 705 позицию (Kruskop et al., 2012).

Полученные частичные последовательности гена *COI* сравнили с взятыми из GenBank гомологичными последовательностями *COI* дальневосточных видов рода *Myotis*: *M. petax*, *M. macrodactylus*, *M. longicaudatus*, *M. bombinus*, *M. ikonnikovi*, *M. sibirica*, европейского вида-двойника восточной ночницы - *M. daubentonii*, а также сибирского трубконоса *Murina hilgendorfi* как внешней группы. Номера сиквенсов GenBank приведены в Таблице 3. Наилучшая модель для построения филогенетического дерева была определена в программе ModelTest - НКУ+I (Nei, Kumar, 2000; Kumar et al., 2018). Полученное в результате сравнения Maximal Likelihood-дерево, показано на рисунке 3 (из

Gorobeyko et al., 2020). На филогенетическом дереве все ночницы исследуемой выборки образовали единую кладу с сиквенсами *Myotis petax*, что подтверждает их принадлежность к данному виду (bootstrap-поддержка 99%).

Рисунок 3. Maximal Likelihood-дерево, основанное на последовательностях гена COI (из Gorobeyko et al., 2020)



Примечание. Жирным шрифтом выделены собственные данные, звездочкой обозначены особи, для которых исследовано распределение участков гетерохроматина на хромосомах.

Среди всех вошедших в анализ особей *M. petax* обнаружены 9 гаплотипов (G1-9) по последовательностям участка гена COI, используемого в ДНК-штрихкодировании, гаплотип G2 был выявлен впервые (Таблица 4). У восточных

ночниц из материковой части юга Дальнего Востока России выявлено всего 3 гаплотипа, отличающихся друг от друга по 2 заменам. В анализируемом участке COI число транзиций было равно 9, трансверсии отсутствовали (Таблица 4). Все замены были синонимичными.

Таблица 4. Гаплотипы COI восточной ночницы.

COI (657 п.н.) с 49 по 705 позицию											Коллекционные номера
58	213	231	255	273	282	257	465	525	705		
G1	C	G	T	A	T	C	A	A	A	T	UG28-18, 3240, 3258, 3332-3339, 3400, 3869, S187466-68
G2	.	.	.	G	UG16-18, UG21-18, UG36-18, 3865
G3	G	.	3259, S173255
G4	.	.	C	S175221-25
G5	T	S182081
G6	.	A	S175362
G7	G	.	.	.	S167627, S167738, S168602-03, S168637, S168648-49, S171621, S171624, SVK71084
G8	C	.	G	.	.	.	SVK71083
G9	T	G	.	C	KW001-004

Примечание. Жирным шрифтом выделен собственный материал.

Гаплотипическое разнообразие было сравнительно высоким ($0,801 \pm 0,040$), при низком нуклеотидном разнообразии ($0,00227 \pm 0,00032$) (Таблица 5). При этом, гаплотипическое разнообразие для выборок из материковой части юга Дальнего Востока России (Амурская область, Хабаровский край, Приморский край) было ниже, чем в целом для вида ($0,503 \pm 0,113$ против $0,801 \pm 0,040$, соответственно) также, как и нуклеотидное разнообразие ($0,00084 \pm 0,00022$ против $0,00227 \pm 0,00032$). Эти значения близки к значению гаплотипического разнообразия для COI, ранее описанному для *M. ikonnikovi* из Южной Кореи ($P = 0,5-0,8667$), которая характеризуется высоким генетическим разнообразием по сравнению с другими видами рода *Myotis* (Park et al., 2019). В тоже время, нуклеотидное разнообразие *M. petax* ниже, чем у *M. ikonnikovi* ($\pi = 0,00163-0,00878$) и сопоставимо со значениями нуклеотидного разнообразия *cyt b* у *M. myotis* ($\pi = 0,0003-0,0028$) и *M. dasycneme* ($\pi = 0,0004-0,0029$) (Ruedi, Castella, 2003; Andersen et al., 2018; Park et al., 2019).

Относительно генетического разнообразия по другим генам мтДНК, гаплотипическое разнообразие гена цитохрома В (*cyt b*), описанное для двух

европейских видов ночниц, было значительно ниже, чем по последовательностям COI у *M. petax*: $P = 0,491$ для *M. myotis* (Ruedi, Castella, 2003), и $P = 0,335-0,868$ для *M. dasycneme* (Andersen et al., 2018). Сходные значения гаплотипического разнообразия описаны для двух североамериканских видов по последовательностям контрольного региона *M. lucifugus* ($P = 0,812-0,845$) и *M. serpentrionalis* ($P = 0,827-0,910$) (Johnson et al., 2015).

Таблица 5. Генетическое разнообразие восточной ночницы по последовательности COI.

Локалитет	N	H	S	Pi	h±SD	π±SD
Приморский край	7	3	2	1	0,667±0,160	0,00116±0,00035
Амурская область	8	1	-	-		0
Хабаровский край	4	2	1	-	0,500±0,265	0,00076±0,00040
Материковая часть юга ДВ России	19	3	2	2	0,503±0,113	0,00084±0,00022
о-в Сахалин	5	1	-	-		0
Забайкальский край	2	2	2	-	1,000±0,500	0,00304±0,00152
республика Тыва	7	1	-	-		0
Алтайский край	4	2	1	-	0,500±0,265	0,00076±0,00040
Монголия	3	1	-	-		0
Южная Корея	4	1	-	-		0
Всего	44	9	10	7	0,801±0,040	0,00227±0,00032

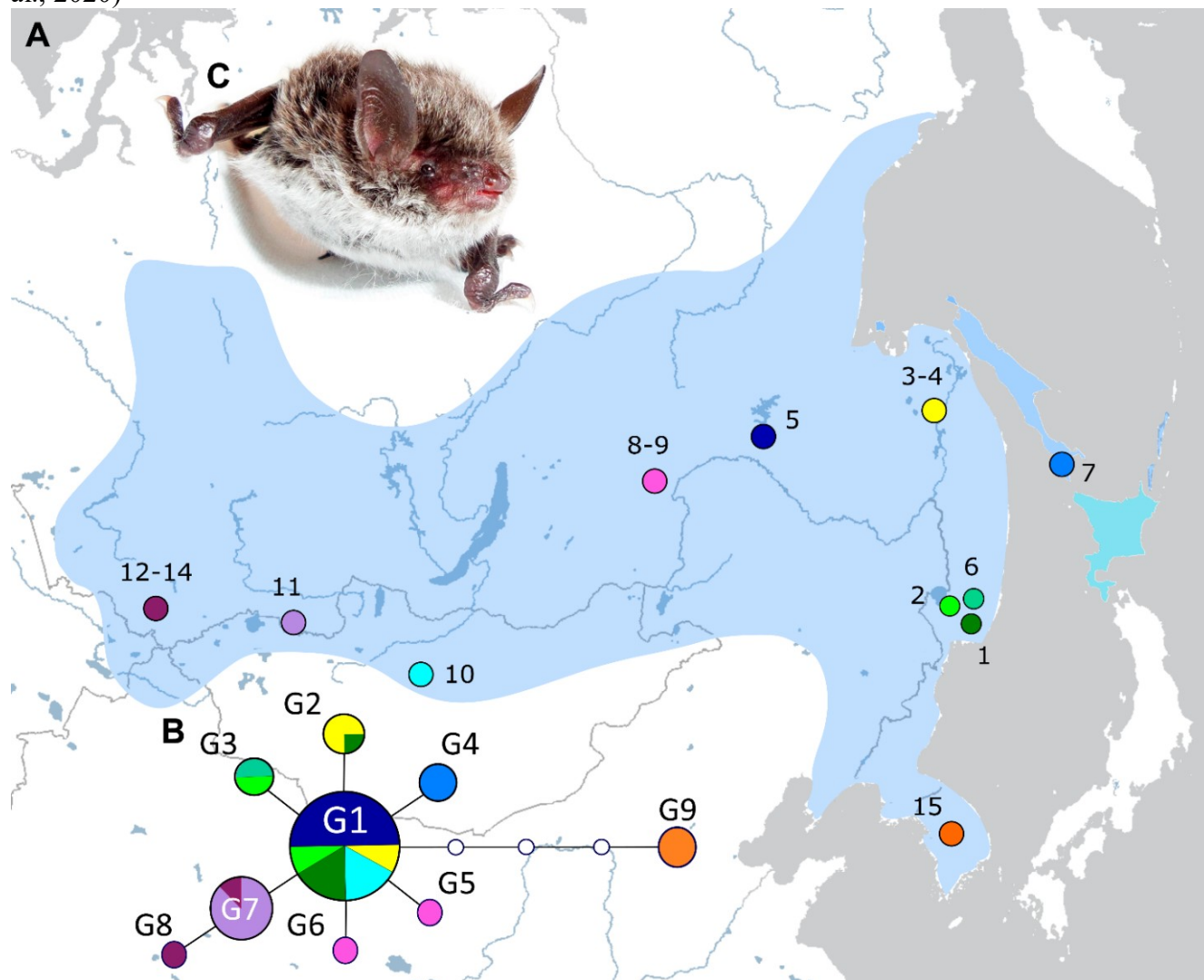
Примечание: N – число особей в локальной выборке; H – число гаплотипов; S – число замен; Pi – число парсимонийзначимых замен; h±SD – гаплотипическое разнообразие; π±SD – нуклеотидное разнообразие.

G1 - наиболее распространённый гаплотип, обнаружен у 16 особей из Приморского края, Хабаровского края, Амурской области и Монголии. Гаплотип G2 описан для восточной ночницы впервые и выявлен только у 4 особей из Хабаровского края и Приморского края (пещера Приморский Великан). G4 обнаружен у 5 особей из Сахалинской области, гаплотипы G7 и G8 выявлены у 11 особей и характерны для особей из республики Алтай и республики Тыва. Гаплотип G9 характерен для восточных ночниц из Кореи. У двух особей из Забайкальского края обнаружены гаплотипы G5 и G6.

Чтобы установить филогенетические взаимоотношения между гаплотипами, построена медианная сеть гаплотипов гена COI по принципу максимальной парсимонии. Выявлена звездчатая структура с центральным гаплотипом G1, большинство гаплотипов при этом отличаются от G1 одной мутацией (Рисунок 4).

Тест на селективную нейтральность показал отрицательные значения параметров для восточной ночницы: Tajima's $D = -1,028249$ и Fu's $F_s = -2,563$, однако значения данных параметров были недостоверны ($p > 0,1$).

Рисунок 4. Медианная сеть гаплотипов COI и локалитеты для *M. petax* (из Gorobeyko et al., 2020)



Примечание: А – карта распространения восточной ночницы, точками обозначены локалитеты, В – медианная сеть гаплотипов COI *M. petax*, С – фотография *M. petax* (Казаков, 2018). Локалитеты: 1, 2, 6 – Приморский край, 3-4 – Хабаровский край, 5 – Амурская область, 7 – о-в Сахалин, 8-9 – Забайкальский край, 10 – Монголия, 11 – республика Тыва, 12-14 – Алтайский край, 15 – Южная Корея.

Последовательности COI у всех исследованных особей *M. petax* различались очень слабо. Парные генетические дистанции между отдельными особями *M. petax* варьировали от 0 до 0,8%. Это укладывается в рамки изменчивости (0,28%–1,16%), описанной ранее преимущественно для выборок из западной части ареала вида (Kruskop et al., 2012). Средняя генетическая дистанция между особями из

Приморского края и Южной Кореи составляла 0,54% при расстоянии между двумя локалитетами менее 1000 км, что в два раза больше р-дистанции (0,26%) между особями из Алтая и Приморья (расстояние = 3000–3500 км). Таким образом, географически близкая выборка из Южной Кореи генетически более удалена от восточных ночниц из Приморья, чем особи с Алтая.

Исследование последовательности COI (657 п.н.), используемой в ДНК-штрихкодировании, подтвердило, что все ночницы, отловленные в смешанных колониях и новых для вида локалитетах Дальнего Востока России и определенные как *M. petax* по морфологическим признакам, в действительности принадлежат к данному виду. При этом в зимовочных колониях расположенных в пещерах Приморского края восточная ночница встречалась совместно с амурской, сибирской и длиннопалой ночницами, в смешанной колонии в Хабаровском крае – с амурской ночницей.

При анализе изменчивости последовательности COI выявлено три (G1–3) гаплотипа COI в материковой части Дальнего Востока России и девять (G1–9) гаплотипов для *M. petax* на всем ареале. Гаплотип G2 описан впервые для четырех восточных ночниц из Хабаровского и Приморского края (Gorobeyko et al., 2020).

Настоящее исследование позволило показать, что для дальневосточных особей восточной ночницы характерны слабые генетические различия между отдельными особями, не превышающие 0,8%, и низкое нуклеотидное разнообразие по последовательностям COI, как было описано для вида в целом.

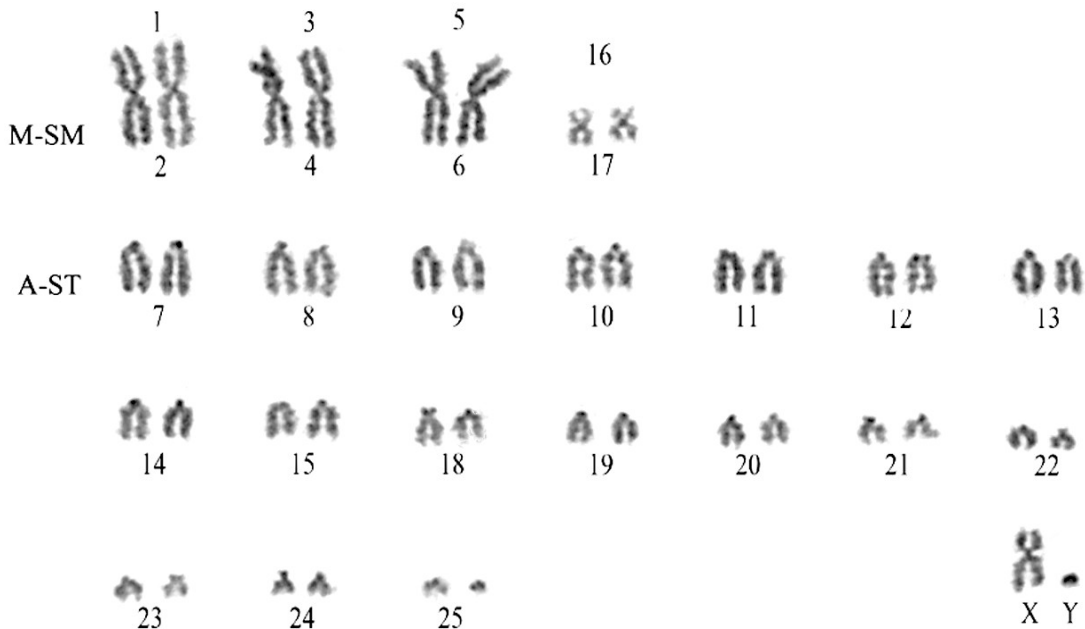
3.2 Хромосомная изменчивость *M. petax* на юге Дальнего Востока

России

Исследование хромосом восьми особей из двух регионов (Приморский край и Амурская область), позволило установить, что кариотипы *M. petax* из двух выборок юга Дальнего Востока России имеют одинаковые кариологические характеристики: $2n = 44$, $NFa = 52$. Хромосомный набор восточной ночницы состоит из трех пар крупных (1/2, 3/4, 5/6) метацентрических хромосом, одной пары мелких метацентриков (16/17), семнадцати пар убывающих по размеру акроцентрических и субтелоцентрических аутосом и одной пары половых хромосом. X – среднего размера двулучевая хромосома, Y – мелкий акроцентрик, преимущественно гетерохроматиновый.

На рисунке 5 приведен GTG-окрашенный кариотип самца восточной ночницы 3259 (Приморский край). В Таблице 6 обобщены наши и литературные данные по кариотипу *M. petax*.

Рисунок 5. GTG-окрашенные хромосомы *M. petax*.



Примечание: цифрами обозначены плечи аутосом в соответствии со принятой для рода *Myotis* номенклатурой.

Таблица 6. Наши и литературные данные о кариотипе восточной ночницы.

Номер особи/ Лит.источник	Пол	2n	NFa	Морфология хромосом				Число метафаз, исследованных разными методами				Локалитет
				M-SM	ST-A	X	Y	Conv.	GTG	NOR	CBG	
3400	♀	44	52	3+1	17	M-SM	-	1 (18)	0 (15)	1 (18)	-	PRI1
3865	♀	44	52	3+1	17	M-SM	-	-	1 (10)	-	1 (7)	PRI1
3867	♂	44	52	3+1	17	M-SM	A	-	0 (5)	-	0 (2)	PRI1
3258	♂	44	52	3+1	17	M-SM	A	-	-	0 (24)	-	PRI2
3259	♂	44	52	3+1	17	M-SM	A	1 (12)	2 (44)	2 (46)	2 (14)	PRI2
3333	♂	44	52	3+1	17	M-SM	A	2 (22)	-	-	-	ZEA
3336	♀	44	52	3+1	17	M-SM	-	1 (54)	0 (9)	1 (63)	-	ZEA
3338	♀	44	52	3+1	17	M-SM	-	2 (47)	0 (11)	2 (120)	1 (17)	ZEA
Кораблев и др. 1989	1♂ 2♀	44	50	3+1	17	M	A	+	-	-	-	Приморский край
Yoo, Yoon, 1992	2♂	44	52	3+2	16	M-SM	A	+	-	-	-	KOREA

Примечание: M-SM – число двуплечих пар хромосом, ST-A – число субтелоцентриков и акроцентриков. Conv. – рутинная окраска кариотипа, NOR – AgNOR-окраска хромосом, CBG - CBG-окраска хромосом, GTG – GTG-окраска хромосом.

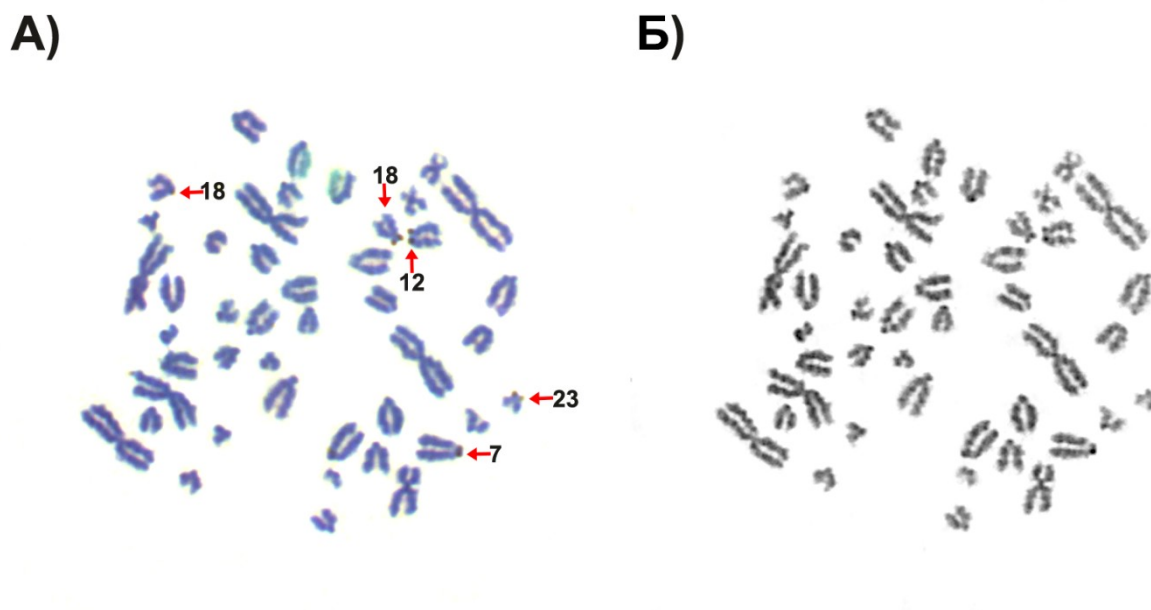
Расшифровка локалитетов приведена в Таблице 1.

Ранее было показано, что число плеч аутосом (NFa) особей *M. petax* из Приморского края равно 50 (Кораблев и др., 1989). Мы уже отмечали, что вариации NFa в работах часто могут объясняться различным подходом к определению коротких эухроматиновых плеч на седьмой паре аутосом и включению этих плеч в число плеч аутосом дополнительных гетерохроматиновых плеч на 24 или 25 паре акроцентриков (Картавцева и др., 2014, Gorobeyko, Kartavtseva 2019). На раскладке рутинно окрашенных хромосом, приведенной в статье D.H. Yoo и M.H. Yoon (1992), можно видеть присутствие коротких плеч на самой маленькой паре аутосом, однако наличие коротких эухроматиновых плеч на седьмой паре аутосом не очевидно из-за сильной спирализации. В статье В.П. Кораблева с соавторами (1989) раскладка кариотипа не приведена, однако в описании кариотипа нет упоминаний о присутствии коротких плеч на какой-либо паре аутосом. Мы также не обнаружили присутствия коротких гетерохроматиновых плеч на 24 или 25 паре аутосом восточной ночницы в своих исследованиях, однако короткие эухроматиновые плечи присутствовали на седьмой паре аутосом, потому NFa = 52.

Морфология X хромосомы была отчётливо двулучей, однако определить является ли X хромосома - субметацентрической или метацентрической не представлялось возможным из-за относительно их сильной спирализации. В то же время, ранее X хромосома особей из Приморского края была описана как отчётливо метацентрическая (Кораблев и др., 1989). Данные различия могут объясняться такими методическими сложностями, как различная степень спирализации двулучей хромосом и недостаток метафазных пластинок на препарате, часто возникающие при анализе хромосомных суспензий, полученных *in vivo* от животных, отловленных в местах гибернации.

Распределение ЯО-районов и участков структурного гетерохроматина в кариотипе *M. petax* описаны впервые (Gorobeyko et al., 2020). На рисунке 6 показаны последовательные GTG- и AgNOR-окрашивания хромосом восточной ночницы. Распределение активных ЯО-районов приведено в таблице 7. Таблицы, по которым рассчитывали ЯО-активность, вынесены в Приложение Б. Анализ четырех особей из Приморского края и Амурской области показал, что прицентромерные ЯО-районы расположены на 12 акроцентрических парах №№ 7, 9, 10, 12, 13, 15, 18, 20, 21 и с 23 по 25.

Рисунок 6. Последовательные GTG- и AgNOR-окрашивания хромосом *M. petax*



Цифрами обозначены номера пар аутосом, несущие ЯО-районы.

В среднем в кариотипе исследованных особей выявлялись только 4,7 активных ЯО-районов на клетку из 24 возможных сайтов, что свидетельствует о низкой ЯО-активности. В большинстве случаев в клетке окрашивается только один гомолог из пары аутосом, при этом многие ядрышкообразующие районы выявляются только на части метафазных пластинок. Подобная низкая ЯО-активность была показана для *M. myotis*, *M. capaccinii* (Bonaparte, 1837), *M. bechsteinii* (Volleth, 1987) и *M. bombinus*, *M. longicaudatus*, *M. macrodactylus* (Ono, Obara, 1994). Для всех данных видов, включая *M. petax*, характерны множественные мелкие прицентромерные ЯО-районы.

Таблица 7. Распределение и активность ЯО-районов в кариотипе восточной ночницы.

ID	№ клеток	№ хромосомных плеч																
		7	8	9	10	11	12	13	14	15	18	19	20	21	22	23	24	25
3400	11	0,41	0,5	0,27	0,14	0,09	0,27	0,86	0,55	0,27	0,27	0,27	0,27	0,09				
3259	20	0,78	0,93	0,48	0,2	0,33	0,45	1	0,8	0,8	0,13	0,2	0,2					
3336	22	0,16	0,38	0,13	0,19	0,17	0,27	0,36	0,33	0,38	0,38	0,14	0,2					
3338	63	0,34	0,63	0,41	0,45	0,32	0,68	0,9	0,88	0,56	0,18	0,1	0,06					

Примечание: ID – коллекционный номер. № клеток – число проанализированных метафазных клеток.

M. petax достоверно отличается по числу и расположению на хромосомах ЯО-районов от остальных дальневосточных видов *Myotis* и от вида-двойника *M. daubentonii*. Сравнение распределения ядрышкообразующих районов в кариотипах дальневосточных ночниц приведено в таблице 8, за исключением одного вида, *M. sibirica (gracilis)* Kastschenko, 1905, распределение ЯО-районов в кариотипе которого остаётся неизвестным.

Три особи *M. petax* из Приморского края и Амурской области заметно различались по числу и локализации гетерохроматиновых блоков, их СВГ-окрашенные кариотипы представлены на рисунке 7 (А-В), распределение структурного гетерохроматина на хромосомах описано в таблице 9.

А) Самец *M. petax* (3259) из пещеры Спасской показал прицентромерные блоки гетерохроматина практически на всех хромосомных парах. В парах 7-10, 12-14 и 25 один или оба гомолога несут крупные прицентромерные гетерохроматиновые блоки. Небольшие, но отчетливые прителомерные участки

гетерохроматина обнаружены на всех двуплечих парах хромосом и на семи акроцентрических парах с 7 по 22. Большие интерстициальные блоки гетерохроматина расположены на парах №№ 8, 11, 18. Гетероморфизм по локализации гетерохроматиновых блоков выявлен в девяти аутосомных парах №№ 8-12, 14, 18, 21, 24.

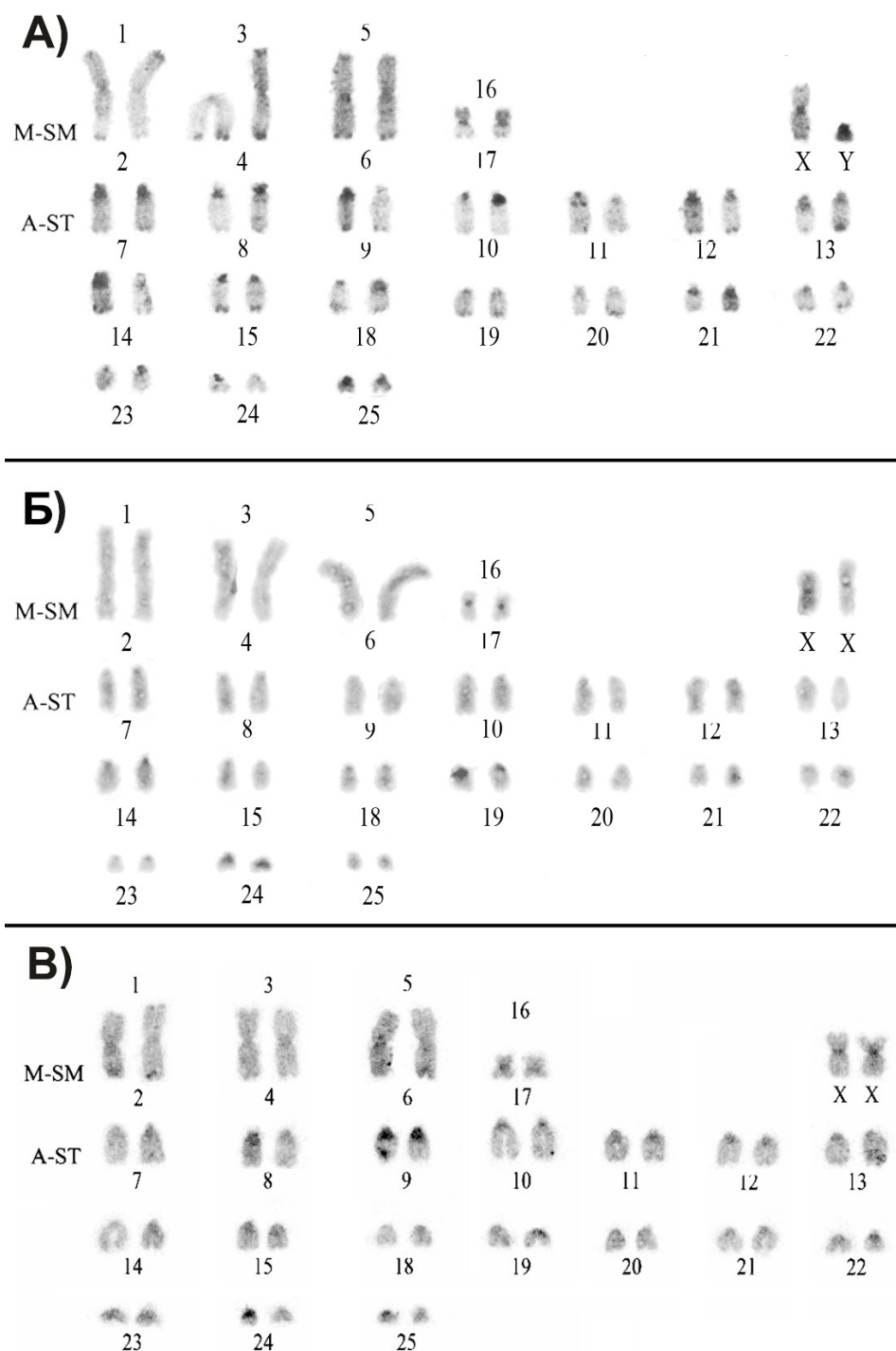
Б) В кариотипе самки *M. petax* (3338) из Амурской области структурный гетерохроматин представлен небольшими слабоокрашенными прицентромерными участками, расположенными на девяти акроцентрических парах с 7 по 25, метацентрической паре №16/17 и X хромосоме. В трех акроцентрических парах № 7, 14 и 25 гомологи отличаются друг от друга по содержанию гетерохроматина. Прицентромерные и интерстициальные блоки гетерохроматина в кариотипе восточной ночницы из Амурской области не обнаружены.

В) В кариотипе самки *M. petax* (3865) из пещеры Приморский Великан прицентромерные участки гетерохроматина локализованы практически на всех акроцентрических парах, паре мелких метацентриков 16/17 и X хромосоме. Крупные прицентромерные гетерохроматиновые сегменты обнаружены на 8 и 9 аутосомной паре. Прицентромерные блоки гетерохроматина локализованы на всех двуплечих аутосомных парах и на акроцентрических парах №№ 11 и 21. Гетероморфизм по содержанию структурного гетерохроматина обнаружен в парах №№ 8 и 25 и 16/17. Интерстициальные блоки гетерохроматина в кариотипе восточной ночницы из пещеры Приморский Великан не обнаружены.

Восточной ночнице свойственна внутривидовая изменчивость по наличию или отсутствию гетерохроматинового короткого плеча самой маленькой паре аутосом: в кариотипе *M. petax* из Южной Кореи 25 пара акроцентриков была двуплечей (Yoo, Yoon, 1992), в то время как в выборках юга Дальнего Востока России короткое плечо не обнаружено. Отсутствует изменчивость по содержанию структурного гетерохроматина в прицентромерном районе половых хромосом, ранее показанная для нескольких евразийских видов ночниц (Volleth, Heller, 2012). Прицентромерные блоки гетерохроматина, обнаруженные на отдельных хромосомах особей из Приморского края ранее были описаны только для видов

Myotis из Китая: *M. altarium* (Li et al., 2007), *M. cf. siligorensis* (= *M. dividii*), *M. cf. daubentonii* (Peng et al., 2011), *M. fimbriatus* (Wang et al., 2009). Интерстициальные блоки гетерохроматина обнаружены в кариотипах евразийских видов ночниц (Volleth, Heller, 2012), но ни для одного вида ранее не были описаны интерстициальные блоки на парах №№8, 11, 18, обнаруженные у особи 3259.

Рисунок 7. Распределение гетерохроматина в кариотипе *M. petax*



Примечание: А – 3259♂, Приморский край (PRI1), Б - 3338♀, Амурская область (ZEA), В - 3865♀, Приморский край (PRI2).

В кариотипе всех исследованных особей выявлены гетероморфные по содержанию гетерохроматина пары. Ранее внутривидовой полиморфизм отдельных гетерохроматиновых участков отмечался для нескольких видов евразийских ночниц (Harada, Yoshida, 1978; Volleth, Heller, 2012). В таблице 9 приведены данные по изменчивости гетерохроматинового материала в кариотипе евразийских видов *Myotis*: во всех ранее описанных случаях это был полиморфизм отдельных гетерохроматиновых блоков на одной или двух хромосомных парах. Обнаруженная нами внутривидовая изменчивость по содержанию гетерохроматина в кариотипе *M. petax* не типична для видов ночниц. Ранее столь заметный внутривидовой полиморфизм по содержанию гетерохроматина был описан для двух видов семейства Vespertilionidae: *Pipistrellus abramus* (Temminck, 1840) и *Vespertilio sinensis* Peters, 1880 (Ando et al., 1980; Harada et al., 1987; Ando et al., 1987; Ono, Obara, 1994; Ono, Yoshida, 1997; Lin et al., 2002; Wu et al., 2009; Gorobeyko, Kartavtseva, 2019).

Особи восточной ночницы, различающиеся по содержанию и распределению структурного гетерохроматина в кариотипе, отличаются и по последовательностям гена COI: особь из Амурской области (3338) относится к гаплотипу G1, особь из пещеры Приморский Великан (3865) – к G2, особь из пещеры Спасская (3259) – к G3. Тем не менее, число исследованных особей *M. petax* и различия между гаплотипами COI недостаточны, чтобы делать выводы относительно связи хромосомной изменчивости и изменчивости по COI.

Таблица 8. Распределение ЯО-районов в кариотипах дальневосточных видов *Myotis*.

Виды	2n	NFa	X	Y	№ хромосомных плеч															NOR	Источник				
					7	8	9	10	11	12	13	14	15	18	19	20	21	22	23			24	25		
<i>Myotis bombinus</i>	44	52	M	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11 cmc	Ono, Obara 1994
<i>M. longicaudatus</i>	44	52	M	ST		+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13 cmc	Ono, Obara 1994
<i>M. ikonnikovi</i>	44	52	M	A	+						+	+									+	+		5 cmc	Ono, Obara 1994
<i>M. macrodactylus</i>	44	52	M	A											+	+	+	+	+	+	+	+		6 cmc	Ono, Obara 1994
<i>M. petax</i>	44	52	M-SM	A	+		+	+		+	+			+	+		+	+		+	+	+	+	12 cmc	Наши данные
<i>M. daubentonii</i> *	44	52	SM	SM		+	+	+																3 cmc	Volleth, 1987; Volleth, Heller, 2012

Примечание: * - распределение ЯО-районов в кариотипе европейского вида, *Myotis daubentonii*. **cmc** – прицентромерный тип ЯО-районов. Остальные обозначения как в Таблице 6.

Таблица 9. Внутривидовая изменчивость гетерохроматинного материала в кариотипах видов *Myotis*.

Вид/ID	2n	NFa	№ хромосомных плеч																	X	Y	Источник					
			1/2	3/4	5/6	16/17	7	8	9	10	11	12	13	14	15	18	19	20	21				22	23	24	25	
3338	44	50	o	o	o	+	x	o	o	+	o	+	o	x	o	+	+	o	o	x	+	++	o	+	-	Наши данные	
3259	44	50	tel	tel	+, tel	+, tel	++, tel	+, int	xx, tel	xx	+, int	xx, tel	+, tel	xx	+, tel	+, int	+	o	xx	+, tel	+	x	++	+	•, A	Наши данные	
3865	44	50	tel	tel	tel	+, tel	o	xx	++	+	+, tel	+	+	o	+	+	+, tel	+	+, tel	+	+	+	+	x	+	-	Наши данные
<i>M. m. bulgaricus</i>	44	52	+	+	+	+, int	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+, arm	+	•, SM	Volleth, Heller 2012
<i>M. daubentonii</i>	44	52	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	int, int	•, SM/ST	Volleth, Heller 2012
<i>M. ikonnikovi</i>	44	52	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+	++	+	+	x	x	arm, A/M	++	-	Harada, Yoshida 1978	
<i>M. macrodactylus</i>	44	52	xx	+	xx	+	+	++	++	+	++	+	+	+	++	++	+	+	+	++	+	+	+	arm, SM/M	++	•, A	Harada, Yoshida 1978

Примечание. ID – коллекционный номер. o – полностью эухроматиновая хромосома, • - полностью гетерохроматиновая хромосома. + - маленький прицентромерный блок гетерохроматина на обоих гомологах пары, ++ - крупный прицентромерный блок гетерохроматина на обоих гомологах пары, x/xx – гетероморфные прицентромерные блоки гетерохроматина: мелкий и отсутствует / крупный и мелкий или отсутствует. tel – прителомерный блок гетерохроматина, int – интерстициальный блок гетерохроматина, arm – добавочное гетерохроматиновое плечо. **Bold Italic** – гетероморфные хромосомные пары.

3.3 Краниометрическая изменчивость восточных ночниц

Всего исследовано 92 особи из 29 локальных выборок, объединенных в 13 региональных выборок по географическому признаку (Таблица 2). Прежде, чем анализировать географическую изменчивость восточных ночниц, необходимо было изучить изменчивость по половому и возрастному признакам.

3.3.1 Половой и возрастной диморфизм восточных ночниц

Постэмбриональное развитие у летучих мышей протекает очень быстро: фактически на 3-6 неделю жизни молодые особи уже достигают размеров взрослых особей, отличаясь только весом, цветом меха и присутствием хрящевых прослоек в суставах крыла. Уже в возрасте 1-2 месяца череп молодой особи не отличается по размерам от черепа взрослой особи (Кузякин, 1950). Период размножения восточных ночниц – июль (Tiunov, Makarikova, 2007), в конце августа молодые особи уже неотличимы от взрослых особей.

Для восточных ночниц юга Дальнего Востока (Приморский край, о-в Сахалин, о-в Итуруп, о-в Хоккайдо, Южная Корея) показано отсутствие статистически значимых различий по морфологическим признакам между взрослыми и молодыми особями (Охотина, Бромлей, 1978; Maeda, 1985).

Поскольку наши сборы были сделаны преимущественно зимой или в конце лета, большинство отловленных животных были взрослыми. При работе с музейным материалом мы старались брать в анализ только взрослых особей, в ряде случаев, когда точный возраст зверьков было невозможно установить, в анализ были включены те, кто по времени отлова должен был завершить рост. Принимая во внимание этот факт, мы не разделяли выборки по возрастному признаку.

Хотя для большинства летучих мышей Палеарктики половой диморфизм не характерен, у некоторых видов трубконосов, нетопырей и подковоносов выявлены небольшие различия в линейных размерах тела: самки в среднем оказываются немного крупнее самцов (Кузякин, 1950; Kuo et al., 2009). Ранее для восточной ночницы было показано отсутствие статистически значимых различий при сравнении промеров самцов и самок, а также половозрелых и неполовозрелых особей (Охотина, Бромлей, 1978; Maeda, 1985; Тиунов, 1997)

Для выявления возможной половой изменчивости по краниометрическим признакам в общей выборке сравнивали только особей с известной половой принадлежностью, без деления на регионы (45 самцов и 37 самок), из-за сравнительно небольшого размера локальных выборок и неравномерного распределения в них самцов и самок. Достоверные различия средних ($p < 0,05$) обнаружены только по длине нижней челюсти (MdL), которая у самок в среднем была на 1,4% длиннее, чем у самцов (Таблица 10).

Таблица 10. Сравнение краниометрических данных самцов и самок восточной ночницы (объединённые выборки).

промеры	NN	♂♂		♀♀		p
		N	Lim M+m	N	Lim M+m	
CBL	82	45	12,72-14,77 13,65±0,061	37	12,85-14,5 13,63±0,061	0,8064
CCL	82	45	11,87-13,85 12,89±0,077	37	11,9-13,65 12,84±0,075	0,6610
MW	82	45	7,27-7,98 7,6±0,026	37	7,29-8,11 7,66±0,031	0,1724
BCW	82	45	7,07-7,78 7,42±0,025	37	7,29-8,11 7,42±0,03	0,8834
BCH	81	44	4,84-6,37 5,37±0,041	37	4,98-5,60 5,3±0,027	0,2087
IOW	81	44	3,58-4,23 3,91±0,025	37	3,53-4,17 3,89±0,025	0,5728
RL	82	45	5,8-6,29 5,74±0,052	37	5,11-6,51 5,72±0,06	0,8122
RW	81	44	4,47-5,13 4,85±0,024	37	4,59-5,53 4,89±0,032	0,3147
C1C1	81	44	3,53-4,76 3,83±0,03	37	3,43-4,16 3,87±0,024	0,4126
M3M3	82	45	5,24-6,34 5,6±0,031	37	5,19-5,92 5,61±0,026	0,8735
C1M3	82	45	3,96-5,33 4,97±0,039	37	4,6-5,71 5,07±0,032	0,0617
IM3	82	45	5,36-6,38 6,07±0,026	37	5,6-6,42 6,13±0,03	0,0940
C	82	45	0,59-0,93 0,73±0,01	37	0,57-0,81 0,72±0,009	0,4798
M3L	82	45	0,69-0,98 0,78±0,012	37	0,67-0,92 0,77±0,011	0,3826
M3W	82	45	0,88-1,16 1±0,01	37	0,9-1,19 0,98±0,011	0,3059
MdL	82	45	9,17-10,04 9,74±0,032	37	9,13-10,32 9,88±0,046	0,0166
MdH	64	36	2,72-3,89 2,99±0,033	28	2,79-3,9 3,06±0,04	0,2152

Примечание. Lim – размах изменчивости, M±m – среднее значение и ошибка среднего. p – коэффициент Стьюдента. Расшифровка краниометрических параметров приведена в главе Материалы и методы.

Проведенный анализ половой изменчивости краниометрических признаков свидетельствует об отсутствии в исследуемой выборке *M. petax* заметных различий в размерах черепа у самок и самцов, что позволяет в дальнейшем рассматривать весь материал вместе, не разделяя выборки по половому признаку.

3.3.2 Географическая изменчивость восточной ночницы

В морфометрическом анализе исследованы 92 особи из 13 региональных выборок. Если условно разделить ареал восточной ночницы на три части, то по ареалу выборки распределялись следующим образом:

- западная часть: Казахстан (KAZ), горы Алтая: западная часть гор Алтая (ALT) и восточная часть гор Алтая в республике Тыва (TYV);
- центральная часть: Китай, Внутренняя Монголия (MON), Забайкальский край (CHI);
- восточная часть: материковая часть юга Дальнего Востока России, включающая север (ZEA) и юг (AMU) Амурской области, Хабаровский край (KOM), Приморский край: Хасанский район (HAS) и остальные районы (PRI), острова: Сахалин (SAN) и Итуруп (KUR), а также Китай, Маньчжурия (KIT).

Проанализированные в рамках настоящей работы собственные данные охватывают ранее неисследованные районы восточной части ареала - юга Дальнего Востока России (выделены жирным шрифтом).

На рисунке 8 приведены плоттер-диаграммы, отражающие размах изменчивости в рассматриваемых выборках для шести краниометрических признаков. Сравнение средних значений 17 анализируемых признаков показало, что наименьшими линейными размерами черепа (кондило-базальной и кондило-канинной длиной – CBL и CCL) обладают ночницы из островной части Дальнего Востока России (KUR и SAN). Немного крупнее особи из Приморского края, Монголии, Китая, севера Амурской области, Забайкальского края, Алтая, Казахстана и Тывы (PRI, MON, KIT, ZEA, CHI, ALT, KAZ, TYV). Восточные ночницы из Хасанского района Приморского края, Хабаровского края и юга Амурской области (HAS, KOM, AMU) имели наибольшие показатели длины

череп (CBL, CCL) и длины роострума. Особи из SAH и KUR также отличались самой узкой мастоидной шириной и самым коротким роострумом. Кроме того, у особей из KUR в среднем была самая маленькая межглазничная ширина, а у нощниц из SAH - самая узкая мозговая капсула. Самые длинные нижние челюсти и самый широкий череп были у вощочных нощниц из Тывы (TYV): ширина мастоидной области, мозговой капсулы, роострума и межглазничная ширина в среднем у них были больше, чем у других особей в анализе. Таблицы средних значений для каждой выборки приведены в приложении.

Для вощочной нощницы характерна высокая изменчивость по краниометрическим признакам: коэффициенты вариации параметров для большинства выборок были выше 1,5-2%. Значения многих признаков значительно перекрывались в разных выборках, не выявлено ни одного параметра, способного надежно дифференцировать отдельные выборки.

Рисунок 8. Географическая изменчивость краниометрических признаков *M. petax* (начало)

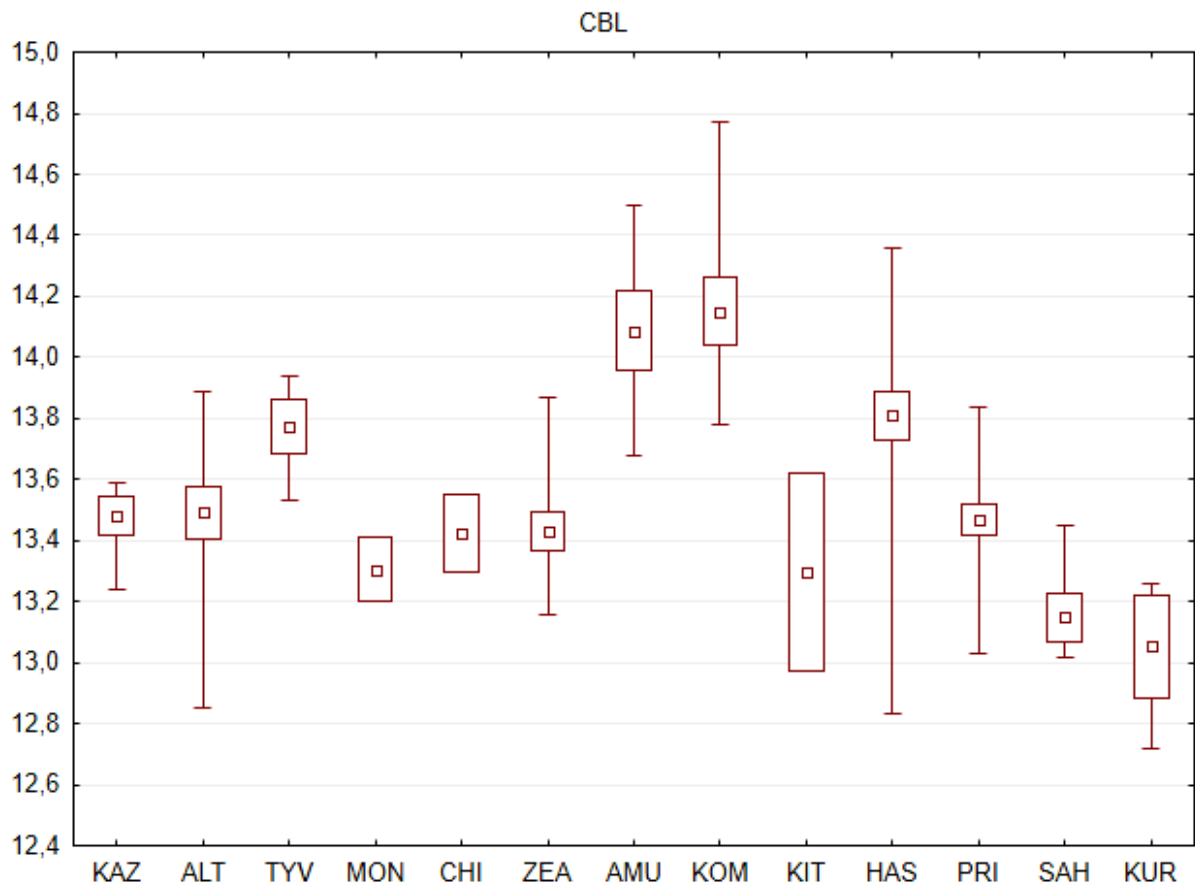


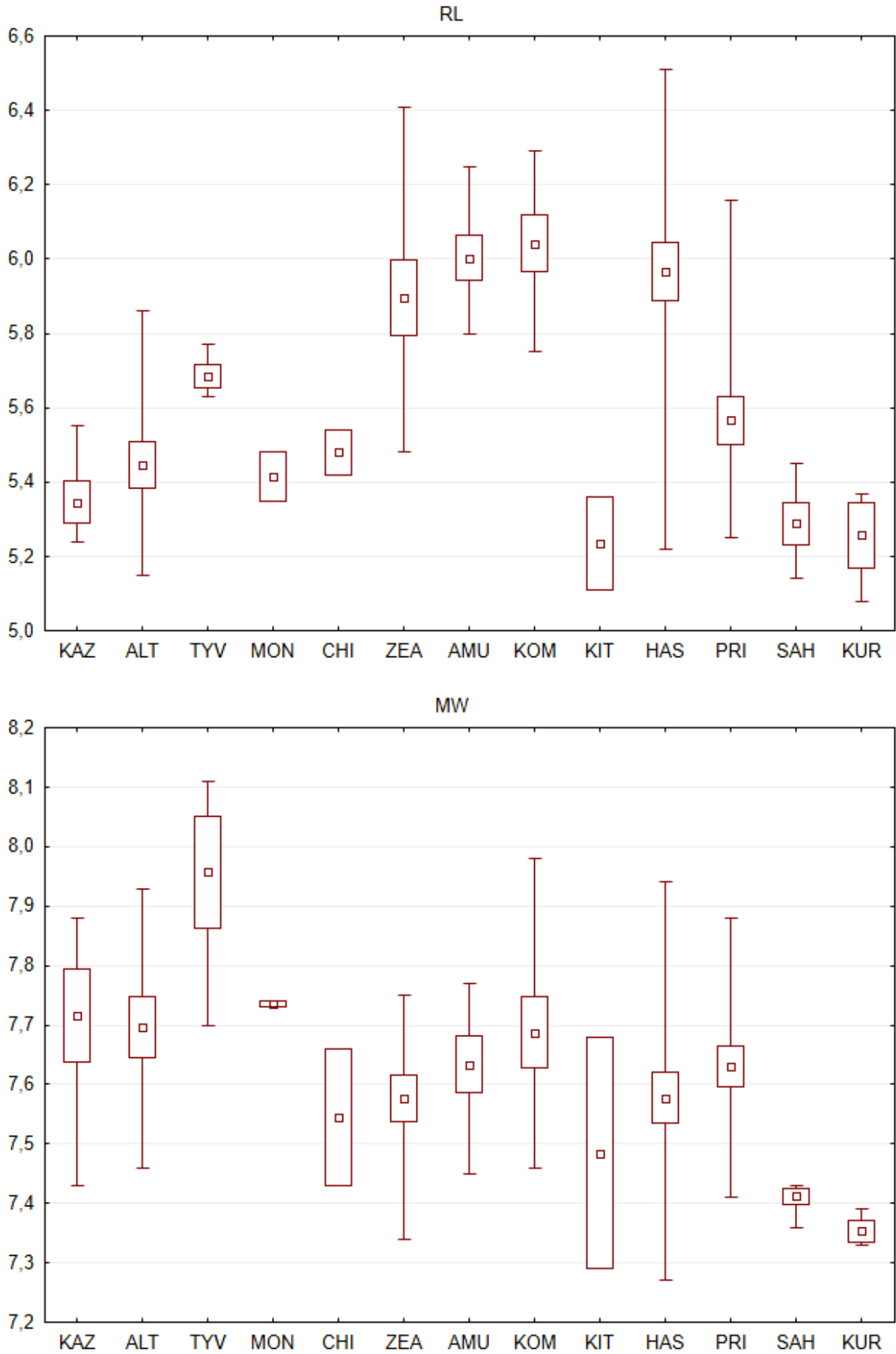
Рисунок 8. Географическая изменчивость краниометрических признаков *M. petax* (продолжение)

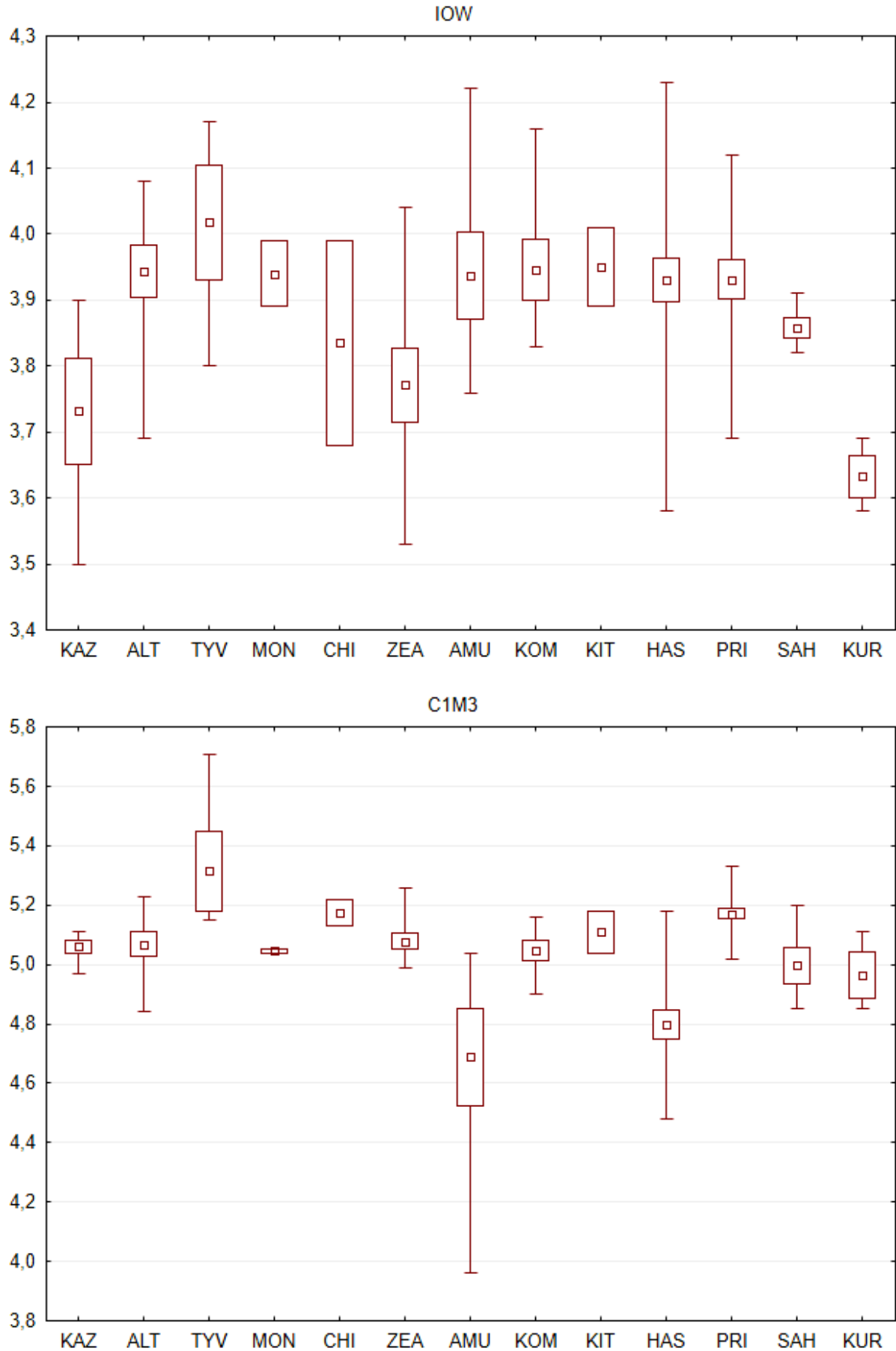
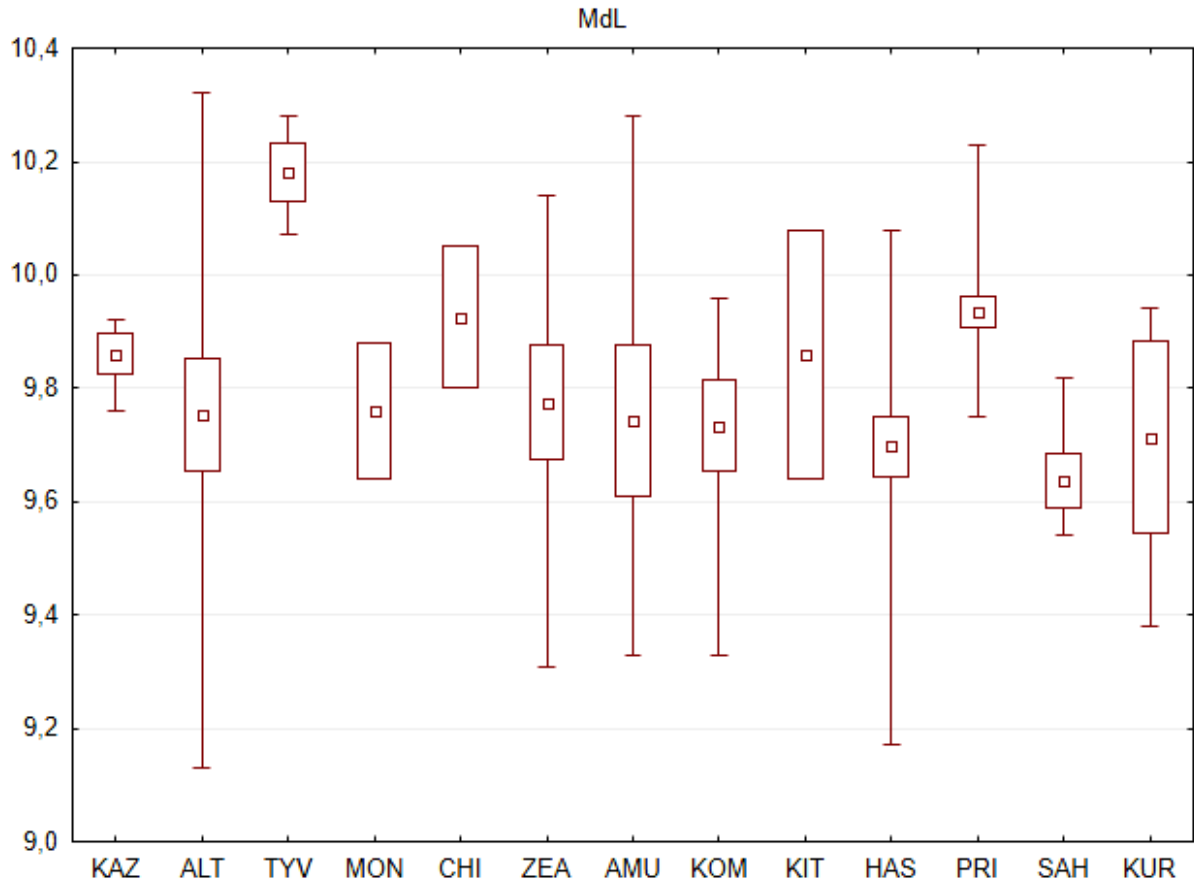
Рисунок 8. Географическая изменчивость краниометрических признаков *M. petax* (продолжение)

Рисунок 8. Географическая изменчивость краниометрических признаков *M. petax* (окончание)

Примечание: см. обозначения региональных выборок в тексте.

СВЛ – кондило-базальная длина, RL – длина роострума, MW – мастоидная ширина, IOW – межглазничная ширина, С1М3 – длина верхнего зубного ряда, MdL – длина нижней челюсти.

3.3.2.1. Парное сравнение региональных выборок по T-критериям

Попарное сравнение региональных выборок по T-критериям показало, что, большинство выборок достоверно различались по совокупности морфометрических параметров: $p < 0,01$ и $p < 0,05$ (см. таблицу в приложении).

В то же время, отсутствовали значимые различия между особями из трех выборок: Забайкальского края, Приморского края и Китая (СНІ, РRІ и КІТ). Не различались между собой выборки Амурской области и Забайкальского края (ZEA и СНІ), Забайкальского края и о-ва Итуруп (СНІ и КUR), Внутренней Монголии и Алтая (MON и ALT).

Слабые различия ($p < 0,05$) по одному-двум параметрам выявлены между выборками из Приморского края и Внутренней Монголии (РRІ и MON), Китая и Внутренней Монголии (КІТ и MON), Внутренней Монголии и Амурской области

(MON и ZEA), Забайкальского края и Алтая (CHI и MON), Алтая и Китая (ALT и KIT), между островными выборками и Китаем (KIT и SAN, KIT и KUR).

Так, у особей из PRI длина верхнего зубного ряда была на 2,3% больше, чем у ночниц из MON. Выборки из Китая (KIT и MON) достоверно различались только по высоте венечного отростка нижней челюсти – довольно полиморфного признака (коэффициент вариации = 6,35%). У ZEA ширина между верхними молярами была на 3,79% меньше, чем у MON.

Выборки из островной части Дальнего Востока (SAN и KUR) отличались друг от друга по ширине мастоидной области, которая была на 0,8% шире у особей из SAN, и межглазничному расстоянию, которое у ночниц из KUR было на 6% меньше, чем у ночниц SAN. Выборки ALT и KAZ достоверно различались по межглазничной ширине и длине коронки последнего верхнего коренного: у алтайских экземпляров они были больше на 5,3% и 4,1%, соответственно.

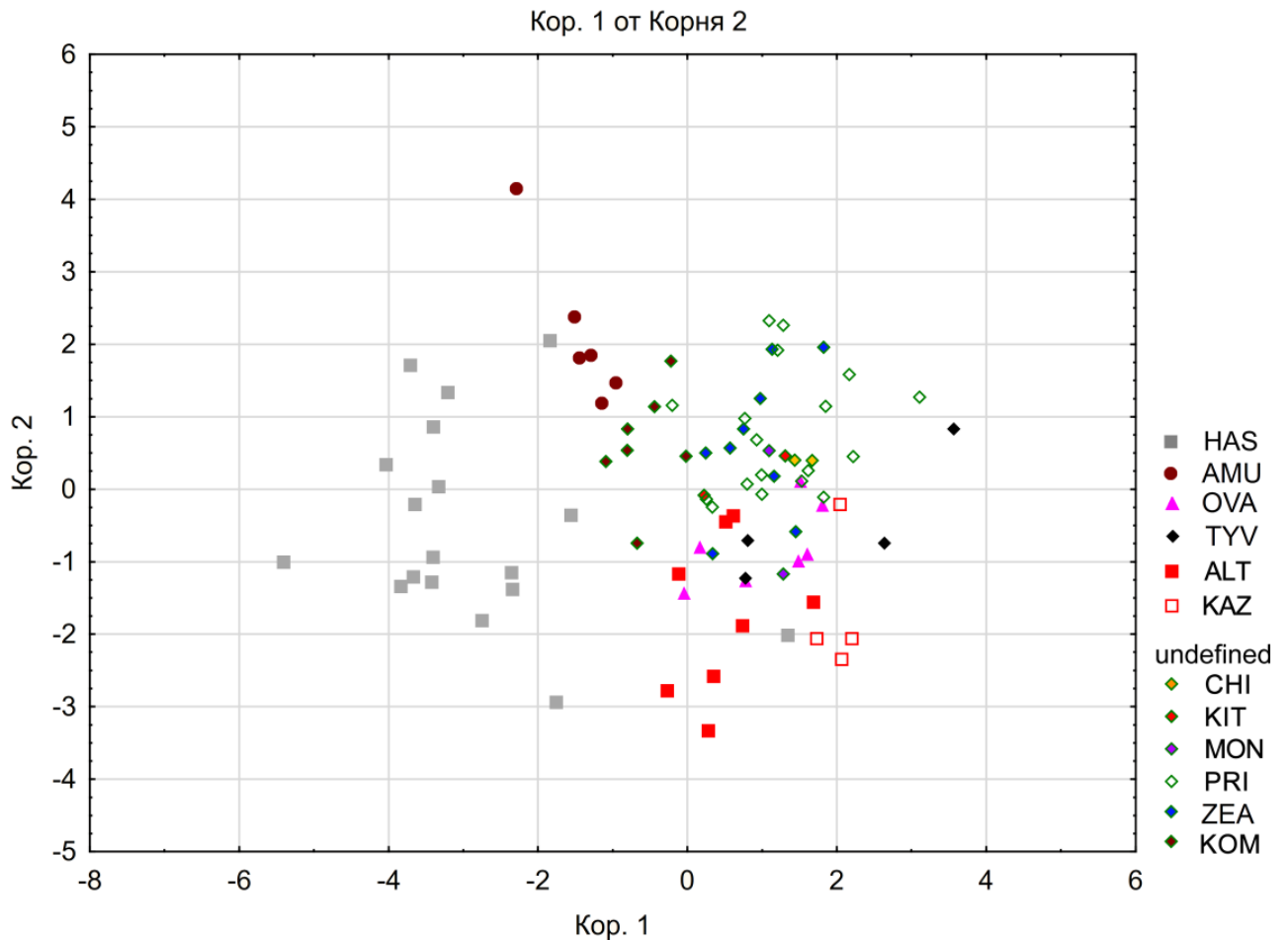
3.3.2.2. Дискриминантный анализ

Для первого этапа дискриминантного анализа в группу UN (undefined) вошли следующие выборки: PRI, ZEA, KOM, CHI, KIT, MON. Островные выборки (KUR и SAN) были сведены в одну выборку OVA (Острова) из-за слишком маленького числа образцов в каждой из них и схожести выборок, выявленных в попарном сравнении. Всего в анализ на первом этапе вошло 87 особей и 7 обучающих выборок: ALT, KAZ, TYV, AMU, HAS, OVA и UN. Мы исключили высоту венечного отростка, поскольку данный параметр был известен не для всех особей в выборке, оставив для анализа 16 краниометрических признаков.

По итогам первого этапа, выборка UN получилась в значительной степени неоднородной. На графике отделились от других восточных ночниц HAS и AMU. При этом, KOM оказываются ближе к ночницам из AMU, чем к остальным выборкам (Рисунок 9). Поскольку по результатам попарного сравнения выборок отличия между PRI, CHI, MON, KIT практически отсутствовали, они были объединены в единую выборку MAN (Манчжурия). Аналогично ALT и KAZ были сведены в SIB (Сибирь) и KOM и AMU – в AMUR (Приамурье). Таким образом,

на первом этапе дискриминатного анализа 13 региональных выборок были объединены в 7 обобщённых выборок: HAS, ZEA, TYV, MAN (Манчжурия) – PRI, MON, KIT и CHI, SIB (Сибирь) – ALT и KAZ, OVA (Острова) – SAN и KUR, AMUR (Приамурье) – КОМ и АМУ.

Рисунок 9. Первый этап дискриминатного анализа краниометрических параметров восточной ночницы.



Примечание. Обозначения выборок см. в тексте.

На втором этапе дискриминатного анализа сравнивали 7 обобщённых выборок по 16 краниометрическим параметрам (Рис. 10). Значения стандартизированных канонических переменных приведены в таблице 11, генетические р-дистанции и квадраты расстояния Махаланобиса приведены в таблице 12.

Наибольший положительный вклад в первую каноническую переменную (7,5%) внесли кондило-базальная длина черепа, длина верхнего зубного ряда и

расстояние между клыками, отрицательный вклад внесли кондило-канниная длина черепа, ширина мозговой капсулы и ширина роострума.

Таблица 11. Значения стандартизованных канонических переменных (II этап).

<i>Переменная</i>	<i>Кор. 1</i>	<i>Кор. 2</i>	<i>Кор. 3</i>	<i>Кор. 4</i>	<i>Кор. 5</i>	<i>Кор. 6</i>
CBL	0,53416	0,286487	-0,295385	-0,026674	1,179398	0,130365
CCL	-1,42620	-0,517121	-0,056098	0,569726	-0,535636	-0,378385
MW	0,22160	-0,068124	-0,418425	0,559217	0,216527	0,147741
BCW	-0,39746	-0,035406	-0,249207	-0,430468	-0,801473	0,394616
BCH	0,04257	0,174072	0,075246	0,301235	0,449341	0,334485
IOW	0,18824	-0,532005	0,597740	-0,048421	-0,648253	-0,217102
RL	0,02690	-0,560190	0,065258	-0,994302	0,154471	-0,251747
RW	-0,56251	1,051462	-0,520804	0,111436	-0,065502	0,042548
C1C1	0,51826	-0,260899	-0,215963	-0,053313	0,468111	0,305071
M3M3	0,16221	-0,439604	-0,182238	0,149332	-0,114702	-0,454516
C1M3	0,74639	-0,667102	0,178586	0,220072	-0,169704	-0,248668
IM3	-0,09447	0,253720	-0,261952	-0,447785	-0,029900	0,431224
C	-0,14270	-0,060294	0,263426	0,100891	0,108515	0,209115
M3L	-0,10773	0,068810	0,596471	0,225396	-0,095549	0,729522
M3W	0,18128	0,467033	0,173012	0,082724	-0,101044	-0,001568
MdL	0,20814	-0,004845	0,462355	-0,163550	-0,713603	-0,263480
Соб. зн.	7,49563	1,101115	1,013672	0,659390	0,609421	0,141155
Кум.доля	0,68016	0,780077	0,872058	0,931892	0,987191	1,000000

Таблица 12. Дистанции между обобщенными выборками восточной ночницы.

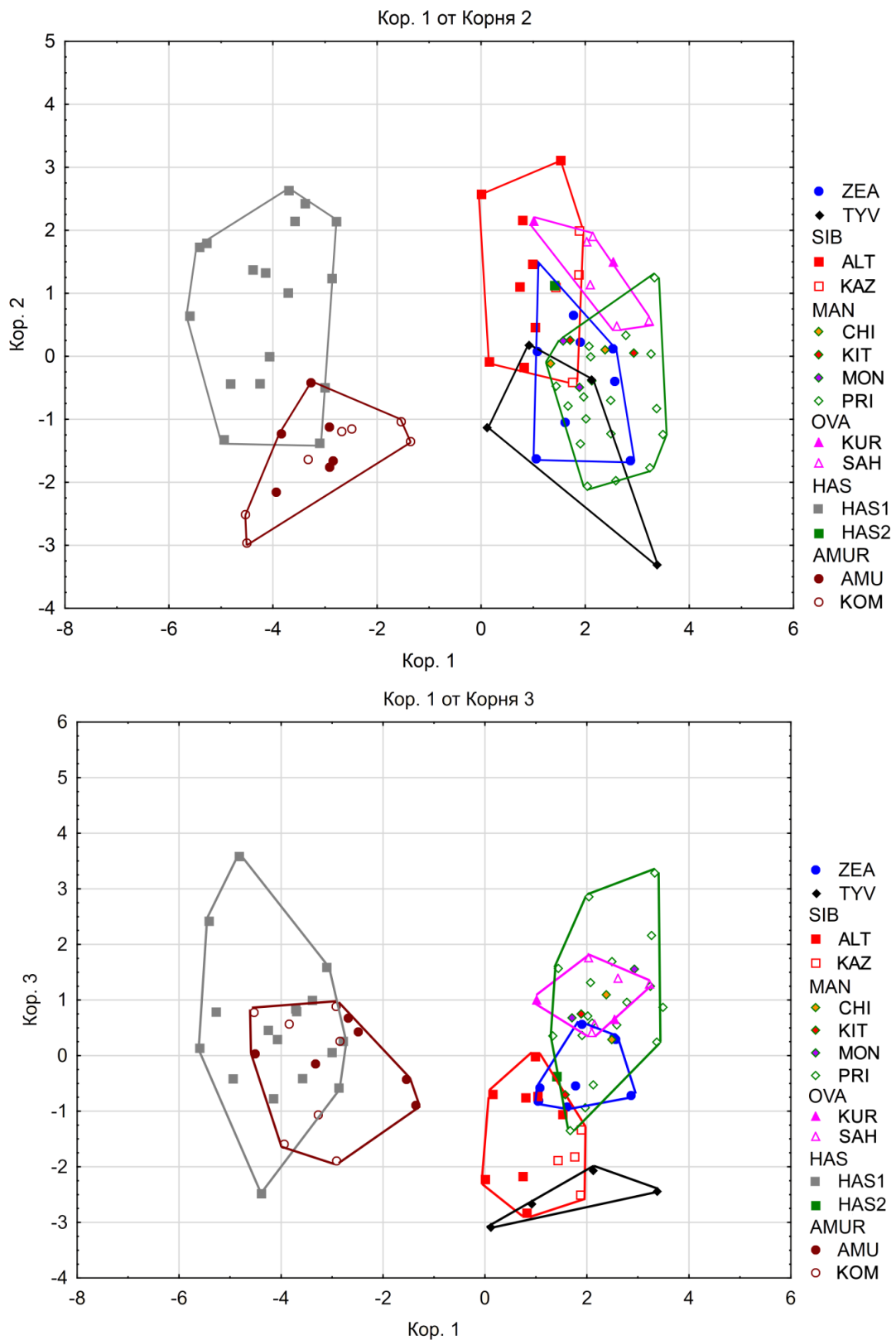
локалитет	<i>Квадраты расст. Махаланобиса</i>						
	ZEA	SIB	MAN	OVA	TYV	HAS	AMUR
ZEA		11,62516	8,58575	12,11280	17,83315	37,75150	32,58007
SIB	0,000800		10,97777	9,43951	14,68836	29,46555	27,23550
MAN	0,001480	0,000008		6,53018	15,77298	39,75834	33,45636
OVA	0,006395	0,017685	0,050732		27,44696	40,22134	38,96297
TYV	0,004782	0,011901	0,002131	0,000145		44,53636	36,92488
HAS	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000		9,62496
AMUR	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000091	

p-уров.

Примечание. Обозначения выборок см. в тексте.

Во вторую каноническую переменную (1,1%) наибольший вклад вносили ширина роострума и ширина коронки третьего верхнего моляра, отрицательный вклад – кондило-канниная длина, длина роострума, длина верхнего зубного ряда, межглазничная ширина и ширина между наружными краями последних верхних коренных. Наибольший положительный вклад в третью каноническую переменную (1,0%) внесли межглазничная ширина, длина нижней челюсти и длина коронки третьего верхнего моляра, отрицательный вклад – ширина роострума и ширина мастоидной области.

Рисунок 10. Второй этап дискриминантного анализа краниометрических признаков восточной ночицы.



Примечание. Обозначения обобщенных выборок см. в тексте.

По первой канонической переменной, выборки разделились на два кластера: в первый вошли особи из пос. Хасан Приморского края (HAS) и группа ночниц из Амурской области (AMUR). Все остальные восточные ночницы дифференцированы не так значительно и выборки существенно перекрываются. Внутри кластеров выборки AMUR и HAS, SIB и TYV, MAN и OVA, SIB и MAN практически не разделились по второй канонической переменной. По третьей канонической переменной ночницы из ZEA отделяются от выборок SIB и OVA, а ночницы группы MAN от ночниц группы SIB.

В целом, обнаруженные между выборками различия достоверны: процент верной дискриминации был довольно высоким – 93,1%. Наиболее удалены от остальных выборок ночницы из Хасана Приморского края (HAS) и группы Приамурья (AMUR). Анализ не показал достоверных различий между выборками из островной части и материковой части Дальнего Востока (OVA и MAN). Выборки из Сибири (SIB) и Тывы (TYV) также отличались недостоверно (Таблица 12). При дальнейшем объединении недостоверно отличающихся выборок были получены 4 группы: Хасан (HAS), Сибирь (SIB), Манчжурия (MAN) и Приамурье (AMUR). В таблице 13 приведена схема объединения выборок в процессе дискриминантного анализа.

На рисунке 10 стоит особо отметить особь S55293 из пос. Краскино Хасанского района Приморского края (из локалитета HAS2), которая резко отличается от других восточных ночниц из выборки HAS (локалитет HAS1) и оказывается при анализе ближе к ночницам из группы SIB или MAN. При этом, расстояние между локалитетами хасанских выборок составляет по прямой 33 км. В дальнейшем анализе, принимая в учет географическое положение, мы рассматривали особь S55293 в составе группы MAN, к которой принадлежали все остальные восточные ночницы Приморского края.

Таблица 13. Схема поэтапного объединения выборок в дискриминантном анализе.

локальная выборка	До анализа	I этап	II этап	III этап
HAS1	HAS	HAS	HAS	группа HAS = <i>M. p. chasanensis</i>
HAS2				
PRI1	PRI	UN	MAN	группа MAN = <i>M. p. ussuriensis</i>
PRI2				
PRI3				
PRI4				
KIT1	KIT	OVA	OVA	
MON1	MON			
CHI2	CHI			
ZEA	ZEA			
KUR	KUR	AMUR	AMUR	группа AMUR
SAH1	SAH			
SAH2				
KOM1	KOM	UN	SIB	группа SIB = <i>M. p. petax</i>
KOM2	AMU	AMU		
AMU1				
AMU2				
TYV	TYV	TYV	TYV	
ALT1	ALT	ALT	SIB	
ALT2				
ALT3				
ALT4				
ALT6				
ALT5				
KAZ1	KAZ	KAZ		
KAZ2				
KAZ3				

Примечание. Обозначения выборок см. в «Материалах и методах». Жирным шрифтом выделены собственные данные.

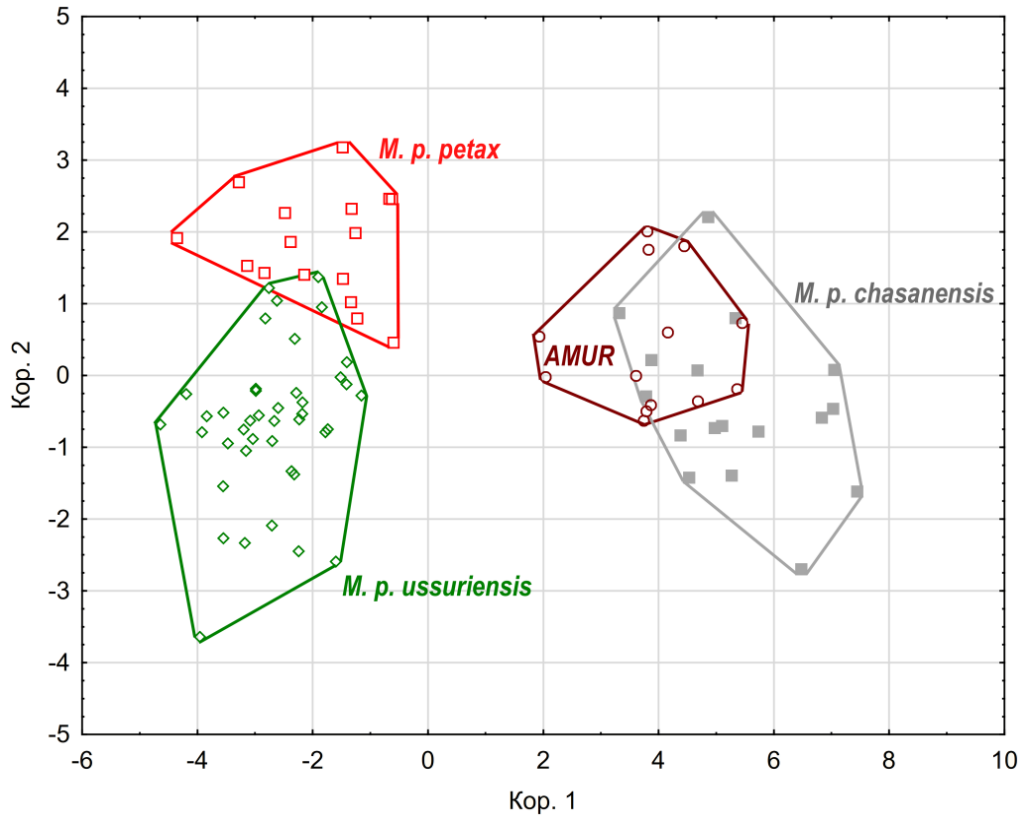
3.3.3 Подвидовая структура *M. petax* на юге Дальнего Востока России

По результатам третьего этапа дискриминантного анализа четыре обобщённых выборки разделились на два кластера по первой канонической переменной: Хасан и Приамурье (HAS+AMUR) и Маньчжурия и Сибирь (MAN+SIB), причём Маньчжурия и Сибирь различались по второй канонической переменной (рисунок 11А), а Хасан и Приамурье – по третьей (рисунок 11Б).

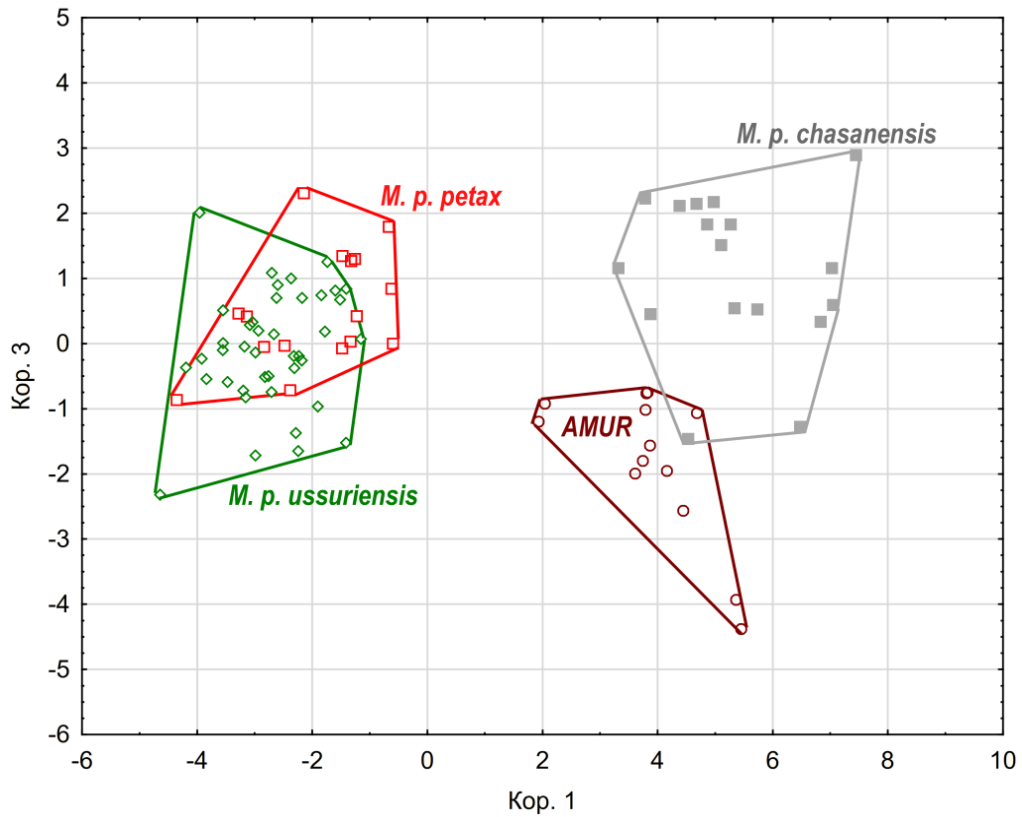
Наибольший вклад в первую каноническую переменную (12,5%) внесли кондило-канинная длина (CCL), ширина рострума (RW) и ширина мозговой капсулы (BCW), отрицательный вклад – кондило-базальная длина (CBL), ширина между внешними краями верхних клыков (C1C1), длина верхнего зубного ряда (C1M3) и ширина мастоидной области (MW).

Рисунок 11. Дискриминантный анализ объединенных выборок восточной нощницы.

А)



Б)



Примечание: Кор. 1-3 - корни канонических переменных.

Во вторую каноническую переменную (0,9%) наибольший положительный вклад вносили ширина мастоидной области (MW) и ширина роострума (RW), а отрицательный вклад – длина роострума (RL) и межглазничная ширина (IOW). В третью каноническую переменную (0,8%) положительный вклад вносили ширина мозговой капсулы (BCW) и ширина роострума (RW), а отрицательный вклад внесли ширина между верхними клыками (C1C1) и длина верхнего зубного ряда (C1M3).

В таблице 14 приведены значения стандартизированных канонических переменных для дискриминатного анализа. Р-дистанции и квадраты расстояния Махаланобиса приведены в таблице 15. Уровень верной классификации при анализе выборок составил: 94,3%.

Таблица 14 Значения стандартизированных канонических переменных (III этап дискриминатного анализа выборок *M. petax*).

Переменная	Кор. 1	Кор. 2	Кор. 3
CBL	-0,75721	0,379545	-0,415239
CCL	1,75518	0,218991	-0,287948
MW	-0,45338	0,676287	-0,312661
BCW	0,73604	0,036860	0,701933
BCH	-0,11003	0,112172	-0,179479
IOW	-0,00060	-0,715733	-0,054054
RL	0,12914	-0,541094	-0,309262
RW	0,45487	0,623811	0,821355
C1C1	-0,81211	0,185491	-0,453272
M3M3	-0,08423	0,168204	-0,306058
C1M3	-0,93856	-0,187150	-0,515236
IM3	0,18656	0,113708	0,405144
C	0,28643	-0,182668	-0,112611
M3L	0,04088	-0,442454	0,025734
M3W	-0,09298	-0,092964	0,417395
MdL	-0,27438	-0,612426	0,391365
Соб. зн.	12,50144	0,923518	0,837692
Кум.доля	0,87652	0,941267	1,000000

Таблица 15. Р-дистанции между итоговыми выборками восточной ночницы

выборка	Квадраты расст. Махаланобиса			
	SIB	MAN	HAS	AMUR
SIB		7,18334	57,90716	41,46363
MAN	0,000013		65,89200	47,75847
HAS	0,000000	0,000000		11,40795
AMUR	0,000000	0,000000	0,000011	

p-уров.

Средние значения параметров, минимум, максимум и стандартная ошибка для каждой из выделенных в анализе групп - HAS, SIB, MAN, AMUR, - приведены в таблице 16. В таблице 17 приведены литературные данные по нескольким краниологическим характеристикам восточной ночницы, наиболее часто применяющимся в работах. Для двух выборок *M. p. ussuriensis* из работ С.И.

Огнева (1928) и М. Yoshiyuki (1989) были подсчитаны средние и ошибка среднего по приведенным в статьях промерам для каждого экземпляра.

Сравнение с литературными данными показало, что обнаруженная в настоящей работе изменчивость размерных параметров выходит за рамки минимальных и максимальных значений признаков, описанных для вида ранее (Огнев, 1927; Тавровский и др., 1971; Охотина, Федоров, 1980; Yoshiyuki, 1989; Тиунов, 1997; Крускоп, 2004; Yoon, 2010). В таблице 16 синим цветом выделены параметры, которые в наших выборках были меньше, чем ранее описано для вида, а красным – больше.

Тем не менее, за исключением ширины между молярами (МЗМЗ) у ночниц группы AMUR, все обнаруженные aberrации укладываются в ошибку среднего. Ранее наибольшая ширина между молярами была описана для ночниц из Хасана: МЗМЗ = 6,13 мм при стандартной ошибке SE = ±0,17 мм (Kruskop, 2004), в то время как значение данного параметра у *M. petax* из Приамурья (AMUR) составляет 6,34 мм при SE = ±0,07 мм, что на 3,43% больше прежнего максимального значения для вида.

Сопоставление средних значений морфометрических параметров из литературных данных показывает, что для особей из Кореи длина предплечья (FA), кондило-базальная длина (CBL), ширина мозговой капсулы (BCW), скуловая ширина (ZYW) и межглазничная ширина (IOW) превышают средние значения, описанные для ночниц из других регионов, за исключением восточных ночниц из Хасанского района. Остальные средние значения краниометрических параметров, кроме высоты черепной коробки (BCH), у особей из Хасана и Кореи также совпадают. Это позволяет предположить, что ареал подвида *M. p. chasanensis* не ограничивается Хасанским районом Приморского края, но захватывает Корейский полуостров.

Таблица 16. Сравнение средних значений краниометрических признаков в итоговых выборках восточной ночницы.

параметр	AMUR				MAN				HAS				SIB			
	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV
CBL	14	13,68-14,77 14,12±0,08	0,0938	2,169	42	12,72-13,87 13,37±0,04	0,0582	1,804	17	12,83-14,36 13,83±0,08	0,1168	2,47	19	12,85-13,94 13,55±0,06	0,0591	1,794
CCL	14	12,81-13,85 13,5±0,07	0,0687	1,942	42	11,87-12,98 12,5±0,04	0,0538	1,857	17	12,58-13,76 13,27±0,08	0,1153	2,559	19	11,9-13,11 12,66±0,06	0,0671	2,046
MW	14	7,45-7,98 7,66±0,04	0,0215	1,913	42	7,29-7,88 7,57±0,02	0,0244	2,064	17	7,27-7,94 7,57±0,05	0,0352	2,478	18	7,43-8,11 7,76±0,05	0,0368	2,472
BCW	14	7,14-7,82 7,5±0,04	0,0257	2,138	42	7,06-7,67 7,31±0,02	0,0259	2,203	17	7,13-7,7 7,49±0,04	0,0223	1,994	19	7,15-7,88 7,45±0,04	0,0354	2,527
BCH	14	5,15-5,58 5,33±0,03	0,0105	1,921	41	5,06-6,37 5,36±0,04	0,0581	4,498	17	4,84-5,56 5,21±0,05	0,0379	3,735	19	5,06-6,15 5,41±0,06	0,0575	4,43
IOW	13	3,76-4,22 3,94±0,04	0,018	3,402	42	3,53-4,12 3,86±0,02	0,0224	3,87	17	3,58-4,23 3,93±0,04	0,0219	3,766	19	3,5-4,17 3,90±0,04	0,0324	4,608
RL	14	5,75-6,29 6,03±0,05	0,0342	3,07	42	5,08-6,41 5,55±0,05	0,1042	5,819	17	5,44-6,51 6,01±0,07	0,0797	4,699	19	5,15-5,86 5,47±0,05	0,0393	3,626
RW	13	4,57-5,13 4,86±0,05	0,0356	3,877	42	4,52-5,08 4,79±0,02	0,0135	2,428	17	4,47-5,53 4,93±0,05	0,0507	4,567	19	4,60-5,18 4,99±0,03	0,019	2,765
C1C1	14	3,6-4,76 3,93±0,07	0,0749	6,972	42	3,6-4,1 3,86±0,02	0,011	2,712	17	3,43-4 3,7±0,04	0,0242	4,209	18	3,66-4,16 3,92±0,03	0,0132	2,929
M3M3	14	5,39-6,34 5,69±0,07	0,0638	4,441	42	5,36-5,87 5,62±0,02	0,0179	2,379	17	5,19-5,77 5,47±0,04	0,0263	2,968	19	5,27-5,92 5,66±0,04	0,0242	2,748
C1M3	14	3,96-5,16 4,89±0,09	0,1003	6,472	42	4,85-5,33 5,11±0,02	0,0123	2,168	17	4,48-5,14 4,78±0,04	0,0338	3,851	19	4,84-5,71 5,12±0,04	0,0317	3,481
IM3	14	5,36-6,38 6,01±0,06	0,0541	3,869	42	5,75-6,42 6,14±0,02	0,0189	2,237	17	5,6-6,33 5,98±0,05	0,0359	3,167	19	5,9-6,34 6,18±0,03	0,0127	1,824
C	14	0,59-0,9 0,76±0,02	0,0066	10,723	42	0,57-0,80 0,72±0,01	0,0023	6,704	17	0,62-0,93 0,74±0,02	0,0061	10,504	19	0,62-0,77 0,71±0,01	0,0011	4,604
M3L	14	0,72-0,95 0,84±0,02	0,0036	7,152	42	0,69-0,98 0,76±0,01	0,0041	8,473	17	0,7-0,93 0,83±0,02	0,0051	8,633	19	0,67-0,76 0,72±0,01	0,0006	3,526
M3W	14	0,89-1,14 1,02±0,02	0,0049	6,874	42	0,88-1,12 0,97±0,01	0,0022	4,778	17	0,9-1,19 1,05±0,02	0,005	6,773	19	0,91-1,02 0,95±0,01	0,0012	3,602
MdL	14	9,33-10,28 9,74±0,07	0,068	2,677	42	9,31-10,23 9,84±0,03	0,0466	2,194	17	9,17-9,97 9,67±0,05	0,0438	2,163	18	9,13-10,32 9,87±0,07	0,0861	2,971

Примечание. N – число особей в выборке, Lim – размах изменчивости, M±m – среднее значение и ошибка среднего, σ – дисперсия, CV – коэффициент вариации. Обозначения выборок и морфометрических признаков см. в тексте.

Таблица 17. Литературные данные по морфометрическим параметрам для подвидов восточной ночницы.

Ист.	регион	L	Се	FA	CBL	BCH	BCW	ZYW	IOW	C1M3	MdL
6	Тыва и Сибирь	-	-	-	13,65±0,30 12,76-14,38	5,63±0,14 5,4-6,07	7,45±0,19 7,1-7,88	-	3,95±0,11 3,68-4,22	5,17±0,13 4,88-5,5	10,30±0,20 9,82-10,74
2	Якутия	48,53±0,41 45,1-55,2	36,63±0,41 31,1-42,2	35,28±0,43 33,3-37,4	13,54±0,09 12,6-14,0	6,4±0,07 5,3-6,9	7,56±0,05 6,8-7,9	8,98±0,07 8,6-9,2	3,98±0,03 3,6-4,3	5,17±0,01 5,0-5,3	-
5	Сев Хабаровского края	45,4±0,8 42,6-49,0	39,8±0,5 37,6-41,3	36,9±0,2 35,3-37,9	13,6±0,07 13,3-14,0	6,5±0,08 6,2-7,0	7,5±0,06 7,2-7,8	8,9±0,03 8,7-9,0	-	5,0±0,02 5,0-5,2	10,3±0,08 9,7-10,5
5	Юг Хабаровского края	48,0±0,4 45,9-50,5	39,6±0,4 37,5-42,0	36,5±0,3 35,0-38,1	13,6±0,07 13,3-14,0	6,5±0,08 6,1-6,9	7,5±0,08 7,1-7,9	9,0±0,10 8,3-9,2	-	5,0±0,04 4,8-5,2	10,4±0,12 9,8-10,9
1	Приморский край (<i>M. p. ussuriensis</i>)	43,70±0,86 40-47,2	36,9±0,47 35,1-36,9	37,33±0,40 35-38,6	13,55±0,10 13,2-13,9	6,77±0,05 6,6-7	-	9,03±0,05 8,9-9,3	4,11±0,03 4-4,2	5,24±0,06 5,1-5,6	-
5	Приморский край (<i>M. p. ussuriensis</i>)	47,5±0,6 43,5-53,7	37,9±0,6 31,2-43,9	37,1±0,2 34,4-39,1	13,5±0,04 13,1-14,0	6,5±0,03 6,1-6,7	7,5±0,03 7,0-7,8	8,9±0,03 8,5-9,1	-	5,0±0,02 4,8-5,3	10,2±0,06 9,4-10,9
6	<i>M. p. ussuriensis</i>	-	-	-	13,17±0,28 12,78-13,81	5,59±0,16 5,23-5,87	7,27±0,12 7,06-7,49	-	3,79±0,14 3,56-4,09	5,02±0,14 4,75-5,28	9,97±0,21 9,63-10,40
3	Хасанский р-н (<i>M. p. chasanensis</i>)	49,47±0,42 42,8-54,9	39,94±0,39 35,4-44,0	37,70±0,18 35,0-40,0	13,75±0,05 13,2-14,4	6,61±0,03 6,2-7,0	7,76±0,03 7,5-8,2	9,10±0,04 8,5-9,6	4,13±0,01 4,0-4,3	5,23±0,02 5,1-5,6	10,10±0,04 9,7-11,0
5	Хасанский р-н (<i>M. p. chasanensis</i>)	47,9±0,3 43,5-51,2	41,3±0,3 38,9-44,0	37,8±0,2 36,0-41,0	13,8±0,05 13,1-14,3	6,6±0,03 6,3-6,9	7,7±0,03 7,4-7,9	9,1±0,03 8,6-9,4	-	5,1±0,02 4,9-5,3	10,5±0,06 10,2-11,1
6	<i>M. p. loukashkini</i> *	-	-	-	13,48±0,35 12,58-14,25	5,61±0,13 5,38-5,96	7,49±0,17 6,99-7,86	-	3,92±0,13 3,58-4,18	5,15±0,14 4,94-5,4	10,18±0,29 9,61-10,79
7	Корея	44,16±2,77 39,3-49,7	36,19±2,49 31,7-40,05	38,65±1,21 37,30-41,85	13,83±0,51 12,4-14,7	5,47±0,13 5,3-5,7	7,63±0,17 7,25-7,9	9,03±0,22 8,6-9,25	4,13±0,11 3,95-4,3	5,30±0,18 5,05-5,7	10,48±0,43 9,95-11,45
5	о-в Сахалин	46,4±0,7 43,3-49,6	40,2±0,3 38,6-41,8	36,6±0,2 35,1-38,6	13,5±0,02 13,4-13,6	6,5±0,04 6,3-6,7	7,5±0,04 7,3-7,6	8,7±0,19 7,9-9,1	-	5,0±0,03 4,9-5,1	10,3±0,04 10,2-10,4
4	Япония	49,09±0,71 44-58	35,64±0,97 27-41,2	36,34±0,23 34,1-38,2	13,32±0,08 12,72-13,72	5,39±0,05 5,15-5,62	7,35±0,05 7-7,6	8,77±0,07 8,2-9,11	3,74±0,03 3,55-4	4,84±0,05 4,56-5,1	9,55±0,09 9,08-9,95
6	Весь ареал	-	-	-	13,49±0,35 12,58-14,38	5,61±0,14 5,23-6,07	7,42±0,18 6,93-7,88	-	3,91±0,13 3,56-4,22	5,12±0,15 4,29-5,5	10,17±0,28 9,47-10,79

Примечание: 1 - Огнев, 1927, 2 - Тавровский и др., 1971, 3 - Охотина, Федоров, 1980, 4 - Yoshiyuki, 1989, 5 - Тиунов, 1997, 6 - Kruskor, 2004, 7 - Yoop, 2010. * - в выборке были особи из окрестностей пос. Хасан (HAS1) и Китая, КВЖД (KIT1).

L – длина тела, Се – длина хвоста, FA – длина предплечья, ZYW – скуловая ширина. Остальные параметры см. в главе «Материалы и методы». В таблице приведены: Lim – размах изменчивости, M±m – среднее значение и ошибка среднего, N – число особей в выборке.

Результаты проведённого анализа показали присутствие четырех достоверно отличающихся друг от друга морфологических форм: «сибирской» (SIB), «маньчжурской» (MAN), «хасанской» (HAS) и «приамурской» (AMUR). Последние две формы, по-видимому, близки друг к другу и по сравнению с остальными восточными ночницами обладают в среднем более длинным черепом и широкой мозговой капсулой при меньшей длине и ширине верхнего зубного ряда. «Сибирская» форма характеризуется немного меньшими размерами черепа, но более коротким и широким ростром, в то время как у «маньчжурской» формы череп короче, но рострем длиннее и уже. Длина верхнего зубного ряда у «маньчжурской» и «сибирской» формы и больше, чем у «хасанской» и «приамурской».

Три из четырех морфологических форм соотносятся с уже известными подвидами восточной ночницы: «сибирская» форма с сибирским подвидом *M. p. petax*, «маньчжурская» и «хасанская» формы - с дальневосточными подвидами *M. p. ussuriensis* с *M. p. chasanensis*. «Приамурская» форма отличается от трех подвидов восточной ночницы и могла бы принадлежать к четвертому подвиду - *M. p. loukashkini*. Для выяснения этого факта были проанализированы литературные данные по данному подвиду.

M. p. loukashkini и *M. p. chasanensis* в ряде работ объединяют в один подвид *M. p. loukashkini* (Kruskop, 2004; Matveev et al., 2005). Однако *M. p. loukashkini* впервые описан из окрестностей города Удалянчи провинции Хейлуунцзян Китая (Shamel, 1942), в то время как место первоописания *M. p. chasanensis* – пос. Хасан Приморского края (Тиунов, 1997), – находится на 760 км юго-восточней. В ближайшем же к городу Удалянчи (≈ 300 км) локалитете AMU (Амурская область), откуда были исследованы *M. petax* в морфометрическом анализе, по нашим данным обитают ночницы «приамурской» формы.

В таблице 18 сопоставлены значения морфометрических параметров из первоописаний трех дальневосточных подвидов (Огнев, 1927; Shamel, 1942; Тиунов, 1997) с собственными данными для ночниц «приамурской» формы (AMUR). Исходя из приведенных размерных характеристик, особи подвида *M. p.*

loukashkini мельче, чем самые минимальные значения длины тела и хвоста, высоты черепной коробки, описанные для подвида *M. p. chasanensis*, но входят в пределы изменчивости подвида *M. p. ussuriensis*. Длина предплечья и кондило-базальная длина *M. p. loukashkini* значительно ниже среднего значения для хасанского подвида и ближе к средним значениям *M. p. ussuriensis*, но укладываются в минимальные значения для *M. p. chasanensis*. Ночницы «приамурской» формы отличаются от всех дальневосточных подвигов, большим средним значением кондило-базальной длины черепа, в то время как средние значения межглазничной ширины, высоты черепной коробки и длины верхнего зубного края – меньше, чем у дальневосточных подвигов. У *M. p. loukashkini* значения данных краниометрических параметров выходят за рамки минимальных и максимальных значений ночниц группы AMUR.

Таблица 18. Сопоставление морфометрических параметров для подвигов *M. petax* на юге Дальнего Востока России и ночниц «приамурской» формы (AMUR).

Морфометрический параметр	<i>M. p. loukashkini</i> ¹		<i>M. p. chasanensis</i> ²		<i>M. p. ussuriensis</i> ³		AMUR	
	голотип	паратип	М	min-max	М	min-max	М	min-max
L	40	40	47,9±0,3	43,5-51,2	43,18±0,92	39-47,2	-	-
Ce	35	34	41,3±0,3	38,9-44,0	37,36±0,62	35,1-41	-	-
Au	12,5	13	-	-	14,43±0,21	13,2-15,2	-	-
Tib	15,5	15	-	-	17,53±0,24	16,7-19,1	-	-
FA	36,6	-	37,8±0,2	36,0-41,0	37,31±0,36	35-38,6	-	-
третья метакарпalia	33	33,2	-	-	-	-	-	-
Pl	10,2	10	-	-	8,91±0,21	7,9-10	-	-
GLS	14,8	14,8	14,6±0,05	14,0-15,2	14,39±0,09	14,2-14,7	-	-
CBL	13,2	13	13,8±0,05	13,1-14,3	13,61±0,11	13,2-14	14,12±0,08	13,68-14,77
IOW	4	4,5	-	-	4,19±0,08	4-4,7	3,94±0,04	3,76-4,22
ZYW	-	-	9,1±0,03	8,6-9,4	9,06±0,05	8,9-9,3	-	-
MW	-	-	-	-	7,85±0,03	7,7-8	7,66±0,04	7,45-7,98
BCW	7,8	7,5	7,7±0,03	7,4-7,9	-	-	7,5±0,04	7,14-7,82
BCH	5,8	6,2	6,6±0,03	6,3-6,9	6,79±0,05	6,6-7	5,33±0,03	5,15-5,58
C1M3	5,2	5,2	5,1±0,02	4,9-5,3	5,29±0,07	5,1-5,6	4,89±0,09	3,96-5,16
c1m3	5,5	5,4	5,3±0,03	5,0-5,6	-	-	-	-

Примечание: ¹ – из Shamel, 1942, ² – из Тиунов, 1997, ³ – из Огнев, 1927.

L – длина тела, Ce – длина хвоста, Au – длина уха, Tib – длина голени, FA – длина предплечья, Pl – длина лапы, GLS – общая длина черепа, CBL – кондило-базальная длина, IOW – межглазничная ширина, ZYW – скуловая ширина, MW – мастоидная ширина, BCW – ширина мозговой капсулы, BCH – высота черепной коробки, C1M3 – длина верхнего зубного ряда, c1m3 – длина нижнего зубного ряда. М – среднее значение, min-max – минимальное и максимальное значение.

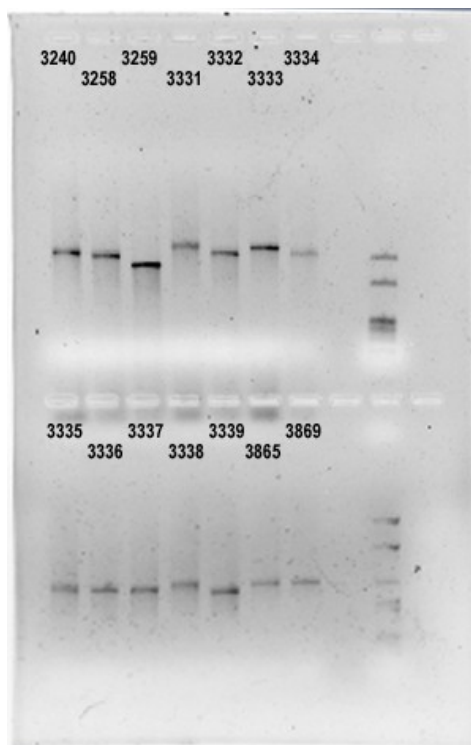
Таким образом, можно заключить, что ночницы из «приамурской» формы не относятся ни к подвиду *M. p. loukashkini*, ни к одному ранее описанному подвиду восточной ночницы. Нельзя сделать однозначный вывод относительно тождественности подвидов *M. p. loukashkini* и *M. p. chasanensis* из-за высокой вариабельности краниометрических признаков у восточной ночницы.

Между морфологическими группами восточной ночницы и гаплотипами COI есть только слабая зависимость. По всей видимости, с номинативным подвидом ассоциированы гаплотипы G7 и G8, выявленные у алтайских и тувинских особей. С подвидом *M. p. ussuriensis* связаны, по меньшей мере, шесть гаплотипов COI (G1-6). Гаплотип G2, выявленный в настоящем исследовании впервые, обнаружен у всех особей из Хабаровского края, по морфологии принадлежащих к «приамурской» форме, и у одной особи из Приморского края, принадлежащей к подвиду *M. p. ussuriensis*. Нет данных по генетической изменчивости особей восточной ночницы из Хасанского района (HAS), однако можно ожидать, что гаплотип G9, характерный для особей из Кореи, может быть найден у *M. p. chasanensis*.

3.4 Изменчивость *M. petax* по последовательностям контрольного региона

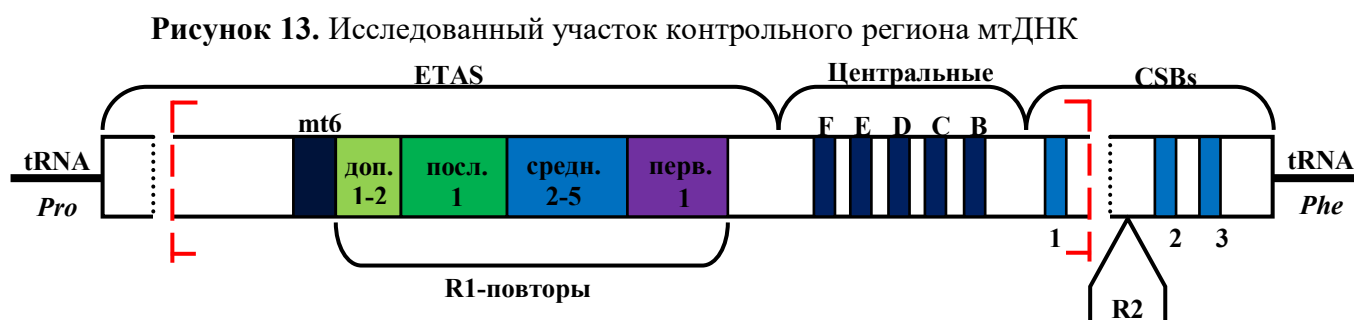
Получены последовательности контрольного региона 27 особей восточной нощницы, отловленных в двух локалитетах Приморского края: PRI1 (n = 7) и PRI2 (n = 2), в Амурской области (ZEA, n = 9), в Хабаровском крае: КОМ1 (n = 2) и КОМ2 (n = 2), а также в республике Бурятия (BUR, n = 4). При электрофорезе полученных фрагментов у всех исследованных особей в геле выявлялась одна полоска, то есть единственный вариант контрольного региона, что позволяет говорить об отсутствии гетероплазмии по длине нуклеотидной последовательности. На рисунке 12 показаны различия особей восточной нощницы по длине секвенированной последовательности, которая варьировала от 907 до 1212 п.н. Сравнение с последовательностями GenBank показало, что полученные сиквенсы соответствуют частичной последовательности гена контрольного региона.

Рисунок 12. Пример электрофореза исследуемого участка контрольного региона.



На рисунке 13 приведена схема контрольного региона мтДНК, где красными рамками обозначен анализируемый в данной работе участок.

Гипервариабельный участок ETAS-домена был прочитан с 1 по 148 п.н. (с 33 п.н. для особи 3873), длина участка с 4-7 tandemными R1-повторами варьировала от 324 до 567 п.н., для центрального домена и CBSs прочитано 367 п.н. из 397 п.н. После редактирования и выравнивания полученных последовательностей для анализа был использован участок контрольного региона с 33 по 907-1212 позицию, общая длина составила от 875 до 1180 п.н., длина последовательности без учёта R1-повторов была 554 п.н.



Примечание. Рисунок представляет собой компиляцию схематичных изображений контрольного региона из других работ с собственными модификациями (Wilkinson, Chapman, 1991; Liu et al., 2009).

Полученный участок ДНК сравнили с депонированными в GenBank последовательностями контрольного региона особей *M. petax* из Кореи и Китая (см. Таблица 3 в материалах). Поскольку контрольный регион не является белок-кодирующим геном, допустимо анализировать отдельные части нуклеотидной последовательности: удаление части последовательности не повлияет на конечный белковый продукт. Сравнение последовательностей контрольного региона восточных нощниц без учета повторов показало наличие 17 вариантов, отличающихся по 42 нуклеотидным заменам, 28 из которых были парсимонийинформативны. Замены были распределены неравномерно: в гипервариабельном участке ETAS-домена выявлено 17 транзиций и 2 трансверсии на 117 п.н. (из них 6 транзиций в mt6), в консервативном центральном домене – 22 транзиции и 1 трансверсия на 367 пар оснований.

Анализ полной последовательности полученного участка контрольного региона с учётом R1-повторов ожидаемо показал увеличение числа гаплотипов и нуклеотидного разнообразия. Всего выявлено 25 гаплотипов (из

них - 17 на территории юга Дальнего Востока России), отличающихся по 91 нуклеотидной замене, из которых 63 парсимоний информативны (Таблица 20).

Таблица 19. Нуклеотидные замены в ETAS-регионе и центральном домене контрольного региона мтДНК восточной нощницы.

образцы	Pro <= ETAS														mt6						центральный домен => R2																							
	35	44	58	67	91	102	108	110	111	117	119	121	126	134	139	141	142	143	147	799	814	797	832	833	834	838	839	886	910	914	918	944	972	974	993	1022	1055	1056	1174	1181	1189	1192		
3864, 3867, 3869, 3873	C	T	T	C	C	A	G	G	T	T	G	G	G	T	A	A	A	C	A	T	A	A	G	T	G	T	C	T	T	C	T	A	T	C	C	A	G	C	G	G	G	A		
3240	.	.	C
3400	G
UG50-18, 51-18	C	C	A	.	.	.
UG65-18	C	A	A	.	.
UG66-18	.	C	A	C	C	A	.	.	.	
KW001-004	.	.	T	T	.	A	A	C	S	A	A	A	C	.	G	.	T	.	.	R1	C	G	.	.	.	T	.	T	.	T	T	.	T	T	.	A	.	A	.	.	G			
JA0701	A	.	.	.	C	.	G	T	G	.	.	324	.	.	<u>C</u>	G	A	.	A		
3259	A	.	.	.	C	.	.	T	.	.	.	-	G	.	.	A	.	.	.			
3865	A	.	.	.	C	.	.	T	.	.	.	567	C	.	C	.	C	A	.	A			
UG16-18	.	.	.	C	.	.	.	A	C	.	.	T	.	.	.	п.н	.	.	.	C	.	.	.	C	T	A	.	A			
UG21-18, 36-18	A	.	.	.	C	.	.	T	C	A	.	A			
UG28-18	<u>G</u>	A	T	C	A	.	A			
3331, 3334, 3336-3339	A	.	.	.	C	G	A	.	.	T	A	.	A			
3332, 3333	T	A	.	.	.	C	G	A	.	.	T	A	.	A			
3335	<u>A</u>	A	.	.	.	C	G	A	.	.	T	A	.	A				
3258	.	.	T	A	.	.	.	C	G	G	.	A	A	.	A			

Примечание: в таблице подчеркнуты негомологичные нуклеотидные замены (трансверсии). R1 – тандемные повторы. п.н. – пар нуклеотидов.

В таблице 20 приведена изменчивость контрольного региона восточных нощниц как отдельно для контрольного региона без учета R1-повторов, так и с полной анализируемой последовательностью. В целом для вида нуклеотидное разнообразие оказывается заметно выше, чем для отдельных выборок. Гаплотипическое разнообразие было высоким во всех исследованных выборках, кроме особей Южной Кореи (KOREA), которые не отличались друг от друга.

Хотя высокое гаплотипическое разнообразие показали восточные нощницы из всех регионов, уровень нуклеотидного разнообразия варьировал от низкого у особей из Амурской области (ZEA) и Южной Кореи (KOREA)

($0,00249 \pm 0,001$ и $0,00338 \pm 0,00102$) до высокого - у особей из Приморского края (PRI) ($0,01625 \pm 0,00346$). Гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие вида в целом было заметно выше, чем у отдельных выборок. Парные генетические дистанции варьировали от 0 до 5,3% (межгрупповые дистанции показаны в таблице 21).

Таблица 20. Генетическое разнообразие восточной ночницы по последовательности контрольного региона мтДНК.

Локалитет	N	H	S	Pi	h±SD	π±SD
Без повторов (554 п.н.)						
Приморский край (PRI)	9	6	15	5	0,833±0,127	0,00812±0,00230
Амурская область (ZEA)	9	3	1	1	0,556±0,165	0,00100±0,00030
Хабаровский край (КОМ)	4	3	5	-	0,833±0,222	0,00451±0,00157
Бурятия (BUR)	4	3	5	1	0,833±0,222	0,00481±0,00156
Южная Корея (KOREA)	4	1	-	-	0	0
Китай (KIT2)	1	1	-	-	0	0
Всего	31	17	42	28	0,935±0,026	0,01648±0,00238
С повторами (875-1180 п.н.)						
Приморский край (PRI)	9	7	45	16	0,917±0,092	0,01625±0,00346
Амурская область (ZEA)	9	6	9	1	0,833±0,127	0,00249±0,00103
Хабаровский край (КОМ)	4	4	18	1	1±0,177	0,00959±0,00326
Бурятия (BUR)	4	3	15	5	0,833±0,222	0,00872± 0,00233
Южная Корея (KOREA)	4	4	7	-	1±0,177	0,00338±0,00102
Китай (KIT2)	1	1	-	-	0	0
Всего	31	25	91	63	0,972±0,017	0,02314±0,00256

Примечание: N – число особей в локальной выборке; H – число гаплотипов; S – число замен; Pi – число парсимонийзначимых замен; h±SD – гаплотипическое разнообразие; π±SD – нуклеотидное разнообразие.

Таблица 21 Межгрупповые дистанции по последовательности контрольного региона мтДНК.

	PRI1	PRI2	ZEA	КОМ	BUR	KIT2
PRI2	0,006					
ZEA	0,012	0,001				
КОМ	0,013	0,008	0,014			
BUR	0,004	0,007	0,012	0,016		
KIT2	0,021	0,013	0,019	0,012	0,022	
KOREA	0,039	0,034	0,039	0,043	0,035	0,05

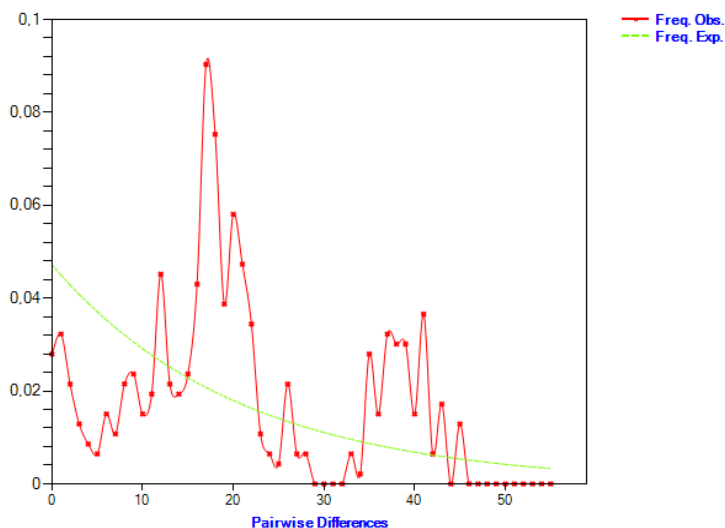
Примечание. Обозначения групп см. в Таблице 3.

Проведенное попарное сравнение нуклеотидных замен для последовательности контрольного региона (875-1180 п.н.) выявило бимодальное распределение (рисунок 14). Небольшой пик в начале графика указывает на группу близких гаплотипов, практически неразличающихся по нуклеотидной последовательности. Так, полностью идентичны были последовательности контрольного региона у двух особей из Бурятии (UG50-

18 и UG51-18), двух из Приморского края (3867 и 3869) и трех из Амурской области (3336-3338). Большой пик в средней части графика демонстрирует количество гаплотипов, хорошо отличающихся по нуклеотидной последовательности, второй пик в конце графика указывает на группу сильно дифференцированных гаплотипов. В частности, такой группой являются особи с дополнительными повторами из Амурской области (3332-39) и Приморского края (3258).

Бимодальное распределение при высоком гаплотипическом ($h \pm SD: 0,972 \pm 0,017$) и высоком нуклеотидном разнообразии ($\pi \pm SD: 0,02314 \pm 0,00256$) может указывать на генетически разнообразную панмиктическую популяцию, либо на генетическую неоднородность восточной нощницы и наличие различных групп гаплотипов. Тест на селективную нейтральность показал отрицательные значения параметров для восточной нощницы: Tajima's $D = -0,50144$ и Fu's $F_s = -2,342$, однако значения данных параметров были недостоверны ($p > 0,1$).

Рисунок 14. График попарного сравнения нуклеотидных замен в последовательности контрольного региона мтДНК (875-1180 п.н.).



Примечание: по горизонтальной оси отложен уровень попарных различий гаплотипов, по вертикальной — частота гаплотипов со сходным уровнем попарных различий.

Вариабельность последовательностей контрольного региона у восточных ночниц выше, чем последовательностей COI: $P = 0,972 \pm 0,017$ и $\pi = 0,02314 \pm 0,00256$ против $P = 0,842 \pm 0,056$ и $\pi = 0,00302 \pm 0,00050$. Попарные генетические r -дистанции между особями внутри группы варьировали от 0 до 5,3% и были сопоставимы с r -дистанциями между группами: от 0,1% до 4,3%, что говорит о сравнительно высоком уровне изменчивости и внутривидовой дифференциации. Так, у более чем 200 исследованных особей *M. bechsteinii*, общее число вариантов R1-повторов в контрольном регионе мтДНК составило 58, генетические дистанции между особями варьировали от 0,6 до 2,9% (Petri et al., 1996).

Выявлены все три характерных для рода *Myotis* типа повторов: все особи *M. petax* имели по одному первому R1-повтору (81 п.н.) и последнему R1-повтору (81 п.н.), число средних R1-повторов варьировало от 2 до 5 повторов длиной 81 п.н.. Помимо этого, у всех особей из Амурской области (ZEA) и одной особи из Приморского края (PRI2) между последовательностью mt6 и последними повторами обнаружены 1-2 коротких дополнительных повтора длиной 30 п.н.. Данный тип повторов впервые описан не только для вида, но и для рукокрылых в целом. Варианты повторов с указанием замен приведены в таблицах 22-25.

Таблица 22. Варианты последних R1-повторов восточной ночницы.

варианты	4	9	11	14	15	25	38	41	49	50	60	66	67	76	77	78
consensus	A	A	A	C	C	T	T	A	A	T	T	A	T	T	T	G
L1	A	A	T	C	C	T	T	T	A	T	T	A	T	T	T	G
L2	.	.	C
L3	C	.
L4	A
L5	C	.	.
L6	C	.	.	.	C	.	.
L7	.	G	C	.	.	.	C	.	.
L8	G	C	.	.
L9	C
L10	C	.	.	C	.	C	.	.	.
L11	C	.	C	C	G	C	.	.	.
L12	G	C	C	.	.	.
L13	.	G	.	T	T	C	C	C	C	.	.	.

Примечание. Здесь и далее consensus – общая для рукокрылых консенсусная последовательность контрольного региона (из Wilkinson et al., 1997).

Таблица 23. Варианты средних R1-повторов восточной ночницы.

варианты	6	7	11	15	20	26	32	40	41	44	48	49	50	59	60	61	62	66	67	71	72	76	77
consensus	A	C	A	C	G	T	T	C	T	T	A	A	T	A	T	A	C	A	T	T	A	T	T
M1 = L2	C	T	C	C	G	T	A	C	T	C	A	A	T	A	T	A	C	A	T	T	A	T	T
M2	T
M3	T	C
M4	C
M5	G
M6	G	.	.	.	G
M7	T	C	.	.	.
M8	C	.	.	.
M9	.	.	T	<u>T</u>	.	.	.	C	.	.	.
M10	.	.	T	C	<u>A</u>	<u>T</u>	.
M11	.	.	T	T	.	.	C	.	.	.
M12 = L10	.	.	T	C	C	C	.	.	.
M13	C	C	.	.	.
M14	T	C	.	.	.
M15 = L9	.	.	T	C	.	.	.
M16	.	.	T	C	.	.	C
M17	C	.	.	C
M18	G	C	.	.	C
M19	C	.
M20 = L5	.	.	T	C	.
M21 = L8	.	.	T	G	C	.
M22	.	.	T	T	C	.
M23 = L6	.	.	T	C	C	.
M24	C	C	.
M25	C	C	.
M26	.	.	T	.	C	C	C	.
M27	.	C	T
M28	.	.	T	.	A
M29	.	.	T	.	A	.	T
M30	.	.	T	.	A	.	T	C
M31	.	.	T	.	A	.	<u>C</u>	T	C

Примечание. Подчеркнуты трансверсии.

Таблица 24. Варианты первых R1-повторов восточной ночницы.

варианты	6	7	11	13	26	40	48	50	59	66	68	71
consensus	A	T	A	T	T	C	A	T	A	C	A	C
F1	C	T	T	A	T	T	A	T	A	C	A	C
F2	.	.	.	C
F3	.	.	.	C	.	.	.	G
F4	.	.	.	C	C	.	.	G
F5	T	.	.	.
F6	T	T	.	.	.
F7	G	.	.	.	T	.	.	.
F8	.	C	T	.	.	.
F9	.	C	G	T	.	.	.
F10	.	C	.	.	.	C	.	T	G	.	.	.
F11	.	C	.	.	.	C	.	T	G	T	.	.
F12	.	C	.	.	.	C	.	T	G	.	.	.
F13	.	C	.	.	.	C	.	.	G	.	.	.

Таблица 25. Варианты дополнительных R1-повторов восточной ночницы.

R1-повторы: 117-147, 148-178, 30 п.н.				
варианты	5	16	24	26
A1	C	T	A	T
A2	.	.	.	C
A3	.	C	.	.
A4	T	C	G	.

R1-повторы восточной ночницы очень переменчивы: с учётом данных из GenBank, обнаружено 13 вариантов первых повторов (F1-13), 31 средних повторов (M1-31) и 13 вариантов последних повторов (L1-13), а также 4 вариации дополнительных повторов (A1-4). Из 31 варианта средних повторов, шесть повторов были идентичны вариантам последних повторов: M1 и L2, M12 и L10, M15 и L9, M20 и L5, M21 и L8, M23 и L6. Тем не менее, только у 4 особей вариант среднего повтора повторяет последний повтор, обнаруженный у данной особи: M1 и L2, M12 и L10, M21 и L8, M23 и L6, во всех остальных случаях сходные средние повторы и последние повторы встречались отдельно друг от друга. Таким образом, суммарное число вариантов R1-повторов составляет 55.

Последние повторы различались по 16 заменам, средние – по 23 заменам, первые – по 12 заменам, и дополнительные повторы различались по 4 нуклеотидным заменам. Все замены были преимущественно транзициями, 4 трансверсии обнаружены только в трех вариантах средних повторов (M9-10, M31). Данные варианты повторов уникальны и каждый из них был выявлен только у одной особи.

У разных особей повторы встречались в различных сочетаниях, полные совпадения по повторам наблюдались только у двух особей из Бурятии (UG50-18 и UG51-18), двух особей из Приморья (3867, 3869), четырёх особей из Амурской области (3335-3338). Сочетания повторов для отдельных особей приведены в таблице 26.

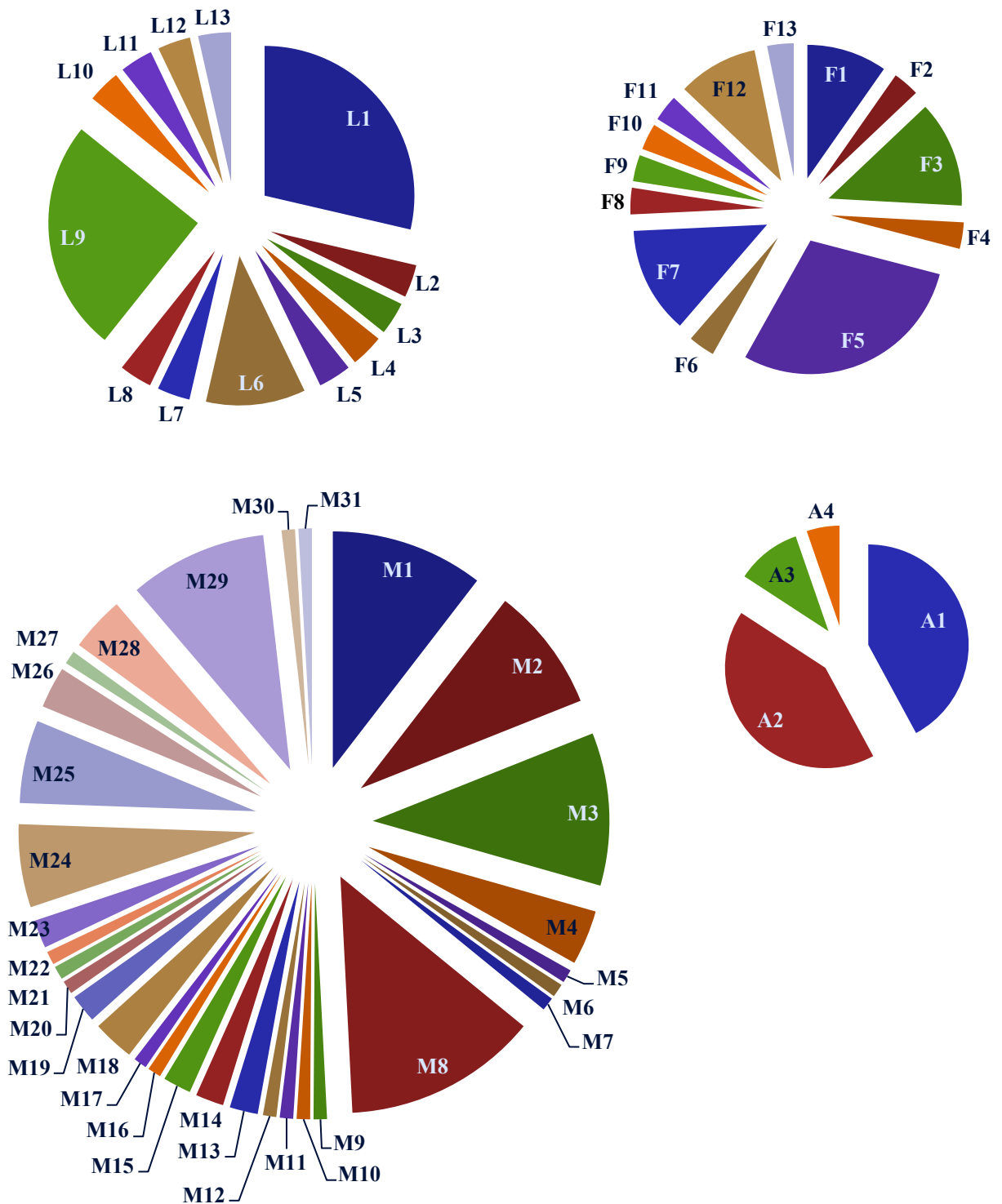
Рассчитана встречаемость каждого варианта повторов в исследуемой выборке (рисунок 15). Расчет осуществлялся для каждого варианта повтора отдельно и вычислялся как процентное отношение числа данного варианта у отдельных особей к сумме всех повторов данного типа у всех особей в выборке. Так, общее число первых и последних R1-повторов составило 31, общее число средних повторов – 107, дополнительных – 19.

Таблица 26. Порядок и распределение повторов у отдельных особей выборки.

ID	Дополнительные R1		Последний повтор RIL	Средние повторы					Первый повтор RIF
	R1add	R1add		R1M6	R1M5	R1M4	R1M3	R1M2	
KW001	-	-	L13	-	M30	M29	M29	M29	F7
KW002	-	-	L13	-	M29	M31	M29	M29	F7
KW003	-	-	L13	-	M29	M29	M29	M29	F7
KW004	-	-	L13	-	M28	M28	M28	M28	F7
JA0701	-	-	L5	-	-	M19	M5	M6	F11
3258	A4	-	L1	-	-	M27	M1	M7	F9
3259	-	-	L3	-	-	-	M3	M3	F6
3240	-	-	L9	-	M8	M8	M8	M25	F3
3400	-	-	L9	-	-	M8	M8	M25	F4
3864	-	-	L12	M11	M13	M13	M8	M25	F2
3865	-	-	L6	-	M23	M23	M22	M17	F12
3867	-	-	L9	-	M8	M8	M25	M26	F3
3869	-	-	L9	-	M8	M8	M25	M26	F3
3873	-	-	L9	-	-	M8	M25	M26	F3
3331	A3	A3	L4	-	M1	M1	M1	M4	F5
3332	A1	A2	L2	-	-	M1	M2	M3	F5
3333	A1	A2	L1	-	M1	M2	M2	M3	F5
3334	A1	A2	L1	-	M1	M2	M3	M3	F5
3335	A1	A2	L1	-	-	M1	M2	M3	F5
3336	A1	A2	L1	-	-	M1	M2	M3	F5
3337	A1	A2	L1	-	-	M1	M2	M3	F5
3338	A1	A2	L1	-	-	M1	M2	M3	F5
3339	A1	A2	L1	-	-	-	M2	M3	F5
UG16-18	-	-	L7	-	M24	M24	M24	M18	F10
UG21-18	-	-	L6	-	-	M24	M24	M18	F12
UG28-18	-	-	L8	-	-	M21	M20	M16	F13
UG36-18	-	-	L6	-	-	M24	M19	M18	F12
UG50-18	-	-	L9	-	-	M14	M15	M4	F1
UG51-18	-	-	L9	-	-	M14	M15	M4	F1
UG65-18	-	-	L10	-	M12	M10	M8	M4	F8
UG66-18	-	-	L11	-	M9	M8	M8	M4	F1

Выявлены наиболее часто встречающиеся повторы: среди последних такими оказываются L1 (25,8%) и L9 (22,6%); среди первых – преимущественно F5 (29%), в меньшей степени F3 и F7 (по 12,9%); среди средних - M8 (13,1%), M1 и M3 (по 10,3%); среди дополнительных – A1 и A2 (по 42,1%). Таким образом, по крайней мере, часть повторов оказывается уникальной и встречается у одной особи.

Рисунок 15. Встречаемость вариантов R1-повторов восточной ночницы.



Строгая приуроченность определённых вариантов повторов к месту проживания не обнаружена, тем не менее, можно выделить отдельные группы повторов, характерные для той или иной выборки, а также повторы, выявленные сразу в нескольких выборках (Таблица 27). Наибольшее среднее

число повторов показали особи из Кореи (n=6), наименьшее – из пещеры Спасской Приморского края (n=4,5). При подсчёте среднего числа повторов не учитывались короткие дополнительные повторы.

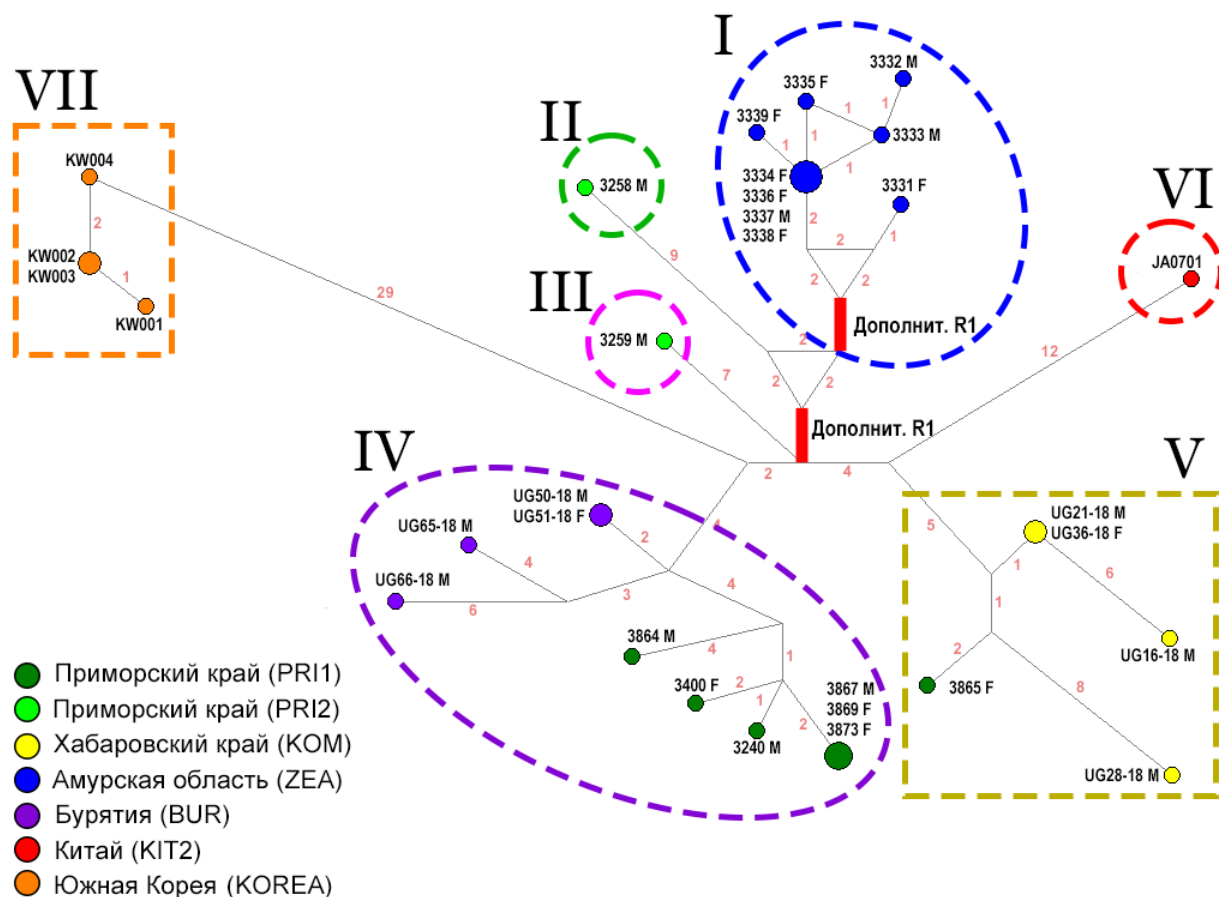
Таблица 27. Географическая приуроченность R1-повторов восточной ночницы.

выборки	R1 add	R1L	R1M	R1F	Число повторов		
					min	max	Среднее
KOREA		L13	M28, M29, M30, M31	F7	6	6	6
KIT2		L5	M5, M6, M19	F11	5	5	5
ZEA	A1, A2, A3	L1, L2, L4	M1, M2, M3, M4	F5	4+2*	6+2*	5,2
КОМ		L6, L7, L8	M16, M18, M19 , M20, M21, M24	F10, F12 , F13	5	6	5,25
PRI1		L6, L9, L12	M8 , M11, M13, M17, M22, M23, M25, M26	F2, F3, F4, F12	5	7	5,8
PRI2	A4	L1, L3	M1, M3 , M7, M27	F6, F9	4	5+1*	4,5
BUR		L9, L10, L11	M4, M8 , M9, M10, M12, M14, M15	F1, F8	5	6	5,5

Примечание. *- дополнительный повтор. R1L – последние повторы, R1M – средние повторы, R1F – первые повторы, R1 add – дополнительные повторы. Жирным шрифтом выделены повторы, обнаруженные более чем в одной выборке. Обозначения выборок см. в тексте.

На рисунке 16 приведена сеть гаплотипов восточной ночницы, построенная по частичной последовательности контрольного региона. В полученной сети отсутствует центральный гаплотип и все гаплотипы объединяются в семь генетических линий. Первая группа (I) включала особей из Амурской области (ZEA) с двумя дополнительными R1-повторами. Близкую к ней вторую группу (II) составляла особь 3258 из пещеры Спасской Приморского края (PRI2), у которой присутствовал один дополнительный R1-повтор. Третья линия (III) также включала одну особь 3259 из пещеры Спасской Приморского края (PRI2). В четвертую группу (IV) входили особи из Бурятии (BUR) и все из пещеры Приморский Великан Приморского края (PRI1). Пятая группа включала ночниц из Хабаровского края (КОМ) и особь 3865 из пещеры Приморский Великан (PRI1). В две наиболее удаленные от остальных выборок по числу замен группы (VI и VII) выделились *M. petax* из Южной Кореи (KOREA) и из Китая (KIT2).

Рисунок 16. Сеть гаплотипов контрольного региона мтДНК восточной ночницы.



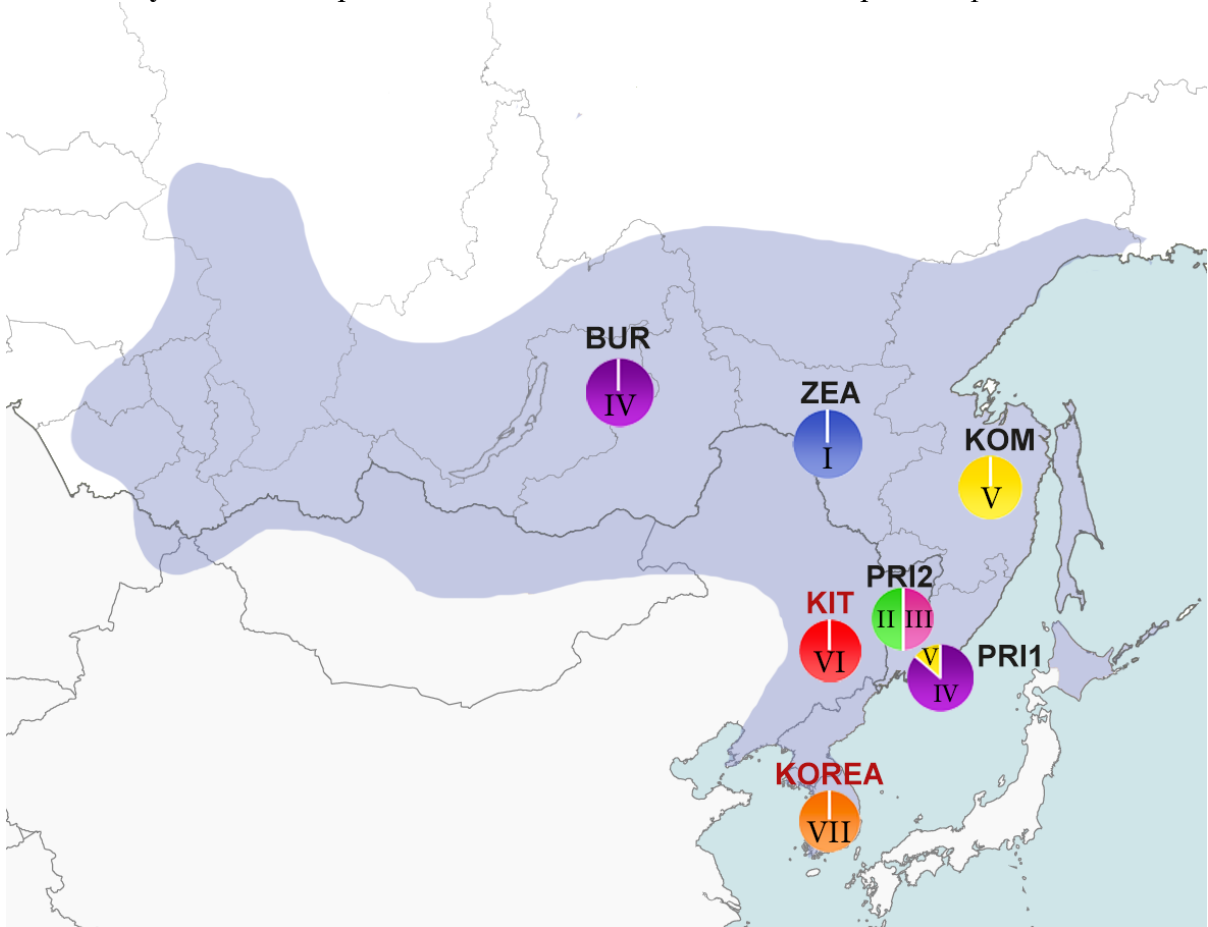
Примечание: разные генетические линии выделены на рисунке разными цветами и римскими цифрами. I – «зейская» линия, включающая особей с двумя дополнительными повторами, II – «приморская» линия с одним дополнительным повтором, III - вторая «приморская» линия, IV - «бурятско-приморская» линия, V – «приамурская» линия, VI – «китайская» линия, VII – «корейская» линия.

Наибольшее генетическое разнообразие выявлено у *M. petax*, отловленных в пещерах Приморского края на зимовке (PRI1 и PRI2): девять исследованных особей разделяются на четыре хорошо дифференцированных линии (II-V). Так, восточные ночницы из пещеры Приморский Великан (PRI1) принадлежат к генетическим линиям IV-V, одна из которых составляет единую группу с *M. petax* из Бурятии, а другая родственна ночницам из Хабаровского края (Рисунок 17). Отловленные в пещере Спасской (PRI2) в одном месте и в одно время особи под номерами 3258 и 3259 значительно отличаются друг от друга по нуклеотидным заменам и наличию дополнительного повтора и выделяются в две обособленные генетические линии (II-III). Это свидетельствует о том, что у *M. petax* в

пещеры на зимовку собираются летучие мыши, принадлежащие к разным генетическим линиям по последовательностям мтДНК. В то же время, восточная ночница относится к оседлым видам и не замечена в дальних миграциях (Тиунов, 1997; Kawai, 2009).

Присутствие различных генетических линий, по-видимому, объясняет и повышенное по сравнению с другими выборками нуклеотидное разнообразие по последовательностям контрольного региона, обнаруженное у ночниц Приморского края.

Рисунок 17. Распределение генетических линий в выборках *M. petax*.



Примечание: разные генетические линии выделены на рисунке разными цветами и римскими цифрами, обозначения линий см. выше в тексте.

Есть частичное сходство в распределении гаплотипов COI и контрольного региона. Так, особи из пещеры Спасской Приморского края (PRI2), отличающиеся по вариантам COI – G1 (3258) и G3 (3259), относились к различным группам и по последовательностям контрольного региона. Особь 3865 из пещеры Приморский Великан Приморского края (PRI1) с G2-

гаплотипом COI, выявленным у особей из Хабаровского края (КОМ), принадлежала к той же линии по последовательности контрольного региона. В то же время, особи Приморского края (PRI1 и PRI2) и из Амурской области (ZEA) с G1-гаплотипом COI отличались по последовательностям контрольного региона.

Изменчивость, выявленная по последовательностям контрольного региона, согласуется с морфологической изменчивостью только отчасти. Особи, морфологически относящиеся к подвиду *M. p. ussuriensis*, принадлежали к четырем разным генетическим линиям (II-V) по последовательности контрольного региона. Линия V включала в себя особей «приамурской» формы из Хабаровского края и одну особь подвида *M. p. ussuriensis* из Приморского края. Таким образом, восточные ночницы «приамурской» формы образуют единую группу по краниометрическим характеристикам и выделяются в отдельный кластер по последовательностям контрольного региона и COI.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проанализирована внутривидовая изменчивость *M. petax* в восточной части ареала, на юге Дальнего Востока России.

Поскольку в зимовочных колониях, расположенных в пещерах Приморского края, восточная ночница встречается совместно с другими видами ночниц: амурской, сибирской и длиннопалой, для видовой идентификации особей во всех исследованных локалитетах проведен анализ ДНК-штрихкодирования, подтвердивший, что все ночницы в выборке принадлежат к виду *Myotis petax*. Сравнительный анализ последовательностей COI мтДНК восточной ночницы показал, что для дальневосточных особей характерно низкое нуклеотидное разнообразие последовательностей COI, при котором генетические различия между отдельными особями, не превышают 0,8%. В материковой части юга Дальнего Востока России выявлено три гаплотипа COI (G1-3), из которых гаплотип G2 был описан впервые для вида.

Исследование хромосом *M. petax* позволило установить, что ее диплоидное число ($2n = 44$) типично для видов рода *Myotis*. Число плеч аутосом ($NFa = 52$) одинаково у всех исследованных особей и отличается как от ранее опубликованного для *M. petax* из Приморского края с $NFa = 50$ (Кораблев и др., 1989), так и для ночниц из Южной Кореи (Yoo, Yoon, 1992), поскольку число плеч последних было равно 52 за счет самой маленькой пары акроцентриков, несущей добавочное гетерохроматиновое плечо, а не короткого эухроматинового плеча на седьмой паре акроцентриков. На юге Дальнего Востока России короткое гетерохроматиновое плечо на самой маленькой паре акроцентриков у *M. petax* отсутствует.

Внутривидовая изменчивость по содержанию гетерохроматинового материала в хромосомах восточной ночницы выявлена впервые. Помимо изменчивости по наличию гетерохроматинового короткого плеча, в кариотипе особей *M. petax* из Приморского края обнаружены отчетливые прителомерные блоки гетерохроматина (Gorobeyko et al., 2020), которые

ранее были описаны только для видов *Myotis* из Китая (Li et al. 2007; Wang et al., 2009; Peng et al., 2011). Интерстициальные блоки гетерохроматина на хромосомах известны для евразийских видов ночниц (Volleth, Heller, 1994, 2012), но ни для одного вида ранее не были описаны интерстициальные блоки на парах №№8, 11, 18, обнаруженные у особи из Приморского края.

В кариотипе всех исследованных особей выявлены гетероморфные по содержанию гетерохроматина пары. Внутривидовая изменчивость по распределению структурного гетерохроматина на хромосомах, выявленная у восточной ночницы, значительно выше, чем известно для рода *Myotis* (Harada, Yoshida, 1978; Volleth, Heller, 1994, 2012). Ранее подобный внутривидовой полиморфизм по содержанию гетерохроматина был описан для двух видов семейства Vespertilionidae: *Pipistrellus abramus* (Temminck, 1840) и *Vespertilio sinensis* Peters, 1880 (Ando et al., 1980; Harada et al., 1987; Ando et al., 1987; Ono, Obara, 1994; Ono, Yoshida, 1997; Lin et al., 2002; Wu et al., 2009; Gorobeyko, Kartavtseva, 2019).

Локализация ядрышкообразующих организаторов в прицентромерных районах хромосом и их число (12 ЯО-районов) для вида определены впервые. Данная характеристика позволяет дифференцировать восточную ночницу от других видов ночниц, включая вид-двойник *M. daubentonii*, и может быть использована как дополнительный видовой признак

В исследуемой выборке *M. petax* не выявлены половая и возрастная изменчивость краниометрических признаков. Установлено, что значение ширины между молярами для восточных ночниц из Приамурья выходит за рамки максимальных значений признака, описанных для вида ранее, и на 3,43% превышает предыдущее максимальное значение. Высокая вариабельность и широкое перекрытие значений морфометрических признаков приводит к тому, что однозначно разделить отдельные выборки возможно только по совокупности краниометрических параметров.

Кластерный анализ краниометрических данных исследуемых выборок позволил выделить четыре морфологической формы *M. petax* - три на юге

Дальнего Востока России: «маньчжурскую», «хасанскую» и «приамурскую», и одну «сибирскую» в западной части ареала (горы Алтая, в том числе республика Тыва). Три из выделенных форм можно соотнести с известными подвидами: *M. p. petax* – с особями «сибирской» формы, *M. p. ussuriensis* – с ночницами «маньчжурской» формы, *M. p. chasanensis* – «хасанской» формой. Особи четвертой «приамурской» формы (оз. Долгое Амурской области и окрестности г. Комсомольска-на-Амуре Хабаровского края) географически близки к месту первоописания подвида *M. p. loukashkini*, но отличаются по размерным характеристикам и не могут быть отнесены ни к *M. p. loukashkini*, ни к одному ранее описанному подвиду восточной ночницы.

Ночницы «приамурской» формы по совокупности характеристик наиболее близки к особям подвида *M. p. chasanensis*. Наибольший вклад в первую каноническую переменную, отделяющую ночниц из Хасана и Приамурья от всех остальных ночниц, вносили ширина мозговой капсулы, ширина мастоидной области, ширина роострума, ширина между внешними краями верхних клыков и длина верхнего зубного ряда. По сравнению с остальными восточными ночницами эти две группы обладают в среднем более длинным черепом и широкой мозговой капсулой при меньшей длине и ширине верхнего зубного ряда. Ночницы из Хасана и Приамурья отличались по третьей канонической переменной, в которую наибольший вклад внесли ширина мозговой капсулы, ширина роострума, ширина между верхними клыками и длина верхнего зубного ряда.

Вторая каноническая переменная разделяла ночниц из Сибири и Маньчжурии, наибольший вклад в неё вносили длина роострума, ширина роострума, ширина мастоидной области и межглазничная ширина. *M. p. petax* характеризуются немного меньшими размерами черепа, чем «хасанские» и «приамурские» ночницы, но более коротким и широким роострумом, в то время как у *M. p. ussuriensis* череп короче, но роострум длиннее и уже. Длина верхнего зубного ряда у *M. p. ussuriensis* и *M. p. petax* больше, чем у *M. p. chasanensis* и ночниц «приамурской» формы.

Анализ литературных данных показал, что при сопоставлении средних значений морфометрических параметров - длина предплечья, кондило-базальная длина, ширина мозговой капсулы, скуловая ширина и межглазничная ширина особей *M. petax* из Южной Кореи превышают средние значения, описанные для ночниц из других регионов, за исключением восточных ночниц из Хасанского района. Остальные средние значения краниометрических параметров, кроме высоты черепной коробки, у особей из Хасана и Кореи также совпадают. Это позволяет предположить, что ареал подвида *M. p. chasanensis* не ограничивается Хасанским районом Приморского края, но захватывает Корейский полуостров.

Изменчивость по последовательностям контрольного региона характеризовалась не только нуклеотидными заменами, но и вариациями по длине нуклеотидной последовательности за счет различного числа R1-повторов. Гетероплазмия по длине нуклеотидной последовательности для восточной ночницы обнаружена не была. Всего для вида, включая последовательности GenBank, обнаружено 25 вариантов контрольного региона, для Дальнего Востока России – 17 гаплотипов. Изменчивость последовательностей контрольного региона у восточных ночниц выше, чем последовательностей COI, генетические дистанции между отдельными особями в выборке достигали 5,3%, что почти вдвое превышает ранее описанные значения изменчивости контрольного региона для *M. bechsteinii*: 0,6-2,9% (Petri et al., 1996). Попарные генетические р-дистанции между особями внутри группы варьировали от 0 до 5,3% и были сопоставимы с р-дистанциями между группами (0,1-4,3%).

Обнаружены все три характерных для рода *Myotis* типа повторов: все особи *M. petax* имели по одному первому R1-повтору (81 п.н.) и последнему R1-повтору (81 п.н.), число средних R1-повторов варьировало от 2 до 5 повторов длиной 81 п.н.. Помимо этого, у всех особей из окрестностей г. Зея Амурской области выявлены 2 коротких дополнительных R1-повтора длиной 30 п.н., у одной особи из пещеры Спасская Приморского края выявлен 1

дополнительный R1-повтор. Данный тип повторов описан как для восточной ночницы, так и для рукокрылых впервые.

Для восточной ночницы характерна внутривидовая изменчивость по числу, вариантам и сочетаниям R1-повторов. У разных особей повторы встречались в различных сочетаниях, полные совпадения по повторам наблюдались только у двух особей из Бурятии, двух особей из Приморья, четырёх особей из Амурской области.

Среди исследованных особей *M. petax* можно выделить семь генетических линий (I-VII), сходных как по нуклеотидной последовательности, так и по сочетанию вариантов R1-повторов. Наиболее удалена от остальных выборок восточных ночниц по числу замен VII группа - *M. petax* из Южной Кореи. Группы I и II, отличаются от всех остальных линий по наличию дополнительных R1-повторов в контрольном регионе: двух у особей из Амурской области (группа I) и одного у особи из пещеры Спасской Приморского края (группа II). Вторая особь из пещеры Спасской также выделяется в отдельную обособленную линию III. Вторая большая группа IV включает особей из Бурятии и пещеры Приморский Великан Приморского края. В линию V входят восточные ночницы из Хабаровского края и одна особь из пещеры Приморский Великан. Отдельную генетическую линию (VI) составляет особь из Китая.

Наибольшее генетическое разнообразие выявлено у *M. petax*, отловленных в пещерах Приморского края на зимовке. Так, восточные ночницы из пещеры Приморский Великан включают две генетические линии, одна из которых составляет единую группу IV с *M. petax* из Бурятии, а другая родственна ночницам из Хабаровского края (V). Отловленные в пещере Спасской особи значительно отличаются друг от друга по нуклеотидным заменам и наличию дополнительного повтора (II и III). Восточные ночницы, пойманные в летний период в Амурской области (I), Хабаровском крае (II) и республике Бурятия (III), являются более однородными группами. Это свидетельствует о том, что у оседлого вида *M.*

petax в пещеры на зимовку собираются летучие мыши, принадлежащие к разным генетическим линиям по последовательностям мтДНК. Наличием четырех различных линий, по-видимому, обусловлено и повышенное нуклеотидное разнообразие восточных ночниц из Приморского края.

Распределение гаплотипов COI и контрольного региона мтДНК можно отчасти соотнести с подвидами и формами, выявленными на основании данных морфометрического анализа. По всей видимости, с номинативным подвидом ассоциированы гаплотипы COI - G7 и G8, выявленные у алтайских и тувинских особей. С подвидом *M. p. ussuriensis* связаны, по меньшей мере, шесть гаплотипов COI (G1-6) и пять разных генетических линий (I-V) по последовательности контрольного региона мтДНК. Особи, морфологически принадлежащие к «приамурской» форме, имели один гаплотип COI (G2) и составляли отдельную генетическую линию V по последовательности контрольного региона. Таким образом, восточные ночницы «приамурской» формы образуют единую группу по краниометрическим характеристикам и последовательностям мтДНК.

Восточная ночница, *Myotis petax*, имеет уникальные генетические особенности: высокую внутривидовую изменчивость по содержанию гетерохроматина в кариотипе, дополнительный R1-повтор в контрольном регионе мтДНК, и отличается высокой морфологической изменчивостью, что требует дальнейшего исследования. Вид может быть использован как модельный объект при изучении изменчивости по тандемным повторам в контрольном регионе, поскольку отличается от других видов рукокрылых отсутствием гетероплазмии по длине нуклеотидной последовательности при высокой изменчивости контрольного региона.

ВЫВОДЫ

1. В кариотипе *M. petax* число хромосом ($2n = 44$), число плеч аутосом ($NFa = 52$), количество и локализация ядрышкообразующих районов (12 ЯО-районов) стабильны. Восточной нощнице свойственна внутривидовая изменчивость в распределении гетерохроматинового материала на хромосомах, заключающаяся в наличии или отсутствии прителомерных и интерстициальных гетерохроматиновых блоков, а также короткого плеча на самой маленькой паре аутосом.

2. На юге Дальнего Востока России у *M. petax* не выявлены половые различия по морфометрическим признакам, что дает возможность исследовать изменчивость в неразделенных по полу выборках. Краниометрические параметры восточной нощницы имеют высокий уровень изменчивости. Размах значений параметров перекрывается при сравнении разных выборок.

3. По данным краниометрического анализа и последовательностям мтДНК на юге Дальнего Востока России обитает «приамурская» форма восточной нощницы, которая отличается от ранее описанных дальневосточных подвидов. Ширина между молярами «приамурской» формы на 3,43% превышает ранее установленные пределы изменчивости данного параметра для *M. petax*.

4. У восточной нощницы существует географическая изменчивость по числу, вариантам и сочетаниям R1-повторов контрольного региона мтДНК. У особей из окрестностей г. Зеи Амурской области и пещеры Спасская Приморского края присутствуют дополнительные R1-повторы длиной 30 п.н., ранее не известные для рукокрылых.

5. Повышенное генетическое разнообразие, обнаруженное у восточной нощницы в Приморском крае, связано с присутствием особей различных генетических линий по последовательностям контрольного региона мтДНК на зимовках в пещерах Приморского края.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

$2n$ – диплоидное число хромосом

NFa – число плеч аутосом

аутосомы – парные хромосомы, одинаковые для мужских и женских организмов.

гетерохромосомы – половые хромосомы.

CBG – метод дифференциального окрашивания хромосом, позволяющий визуализировать конститутивный гетерохроматин на хромосомах в виде переменных по величине темноокрашенных сегментов, в то время как эухроматиновые участки хромосом прокрашиваются очень бледно.

$AgNOR$ – метод дифференциального окрашивания хромосом, позволяющий маркировать районы ядрышкового организатора с использованием азотнокислого серебра.

GTG – метод дифференциального окрашивания хромосом, включающий обработку хромосомных препаратов трипсином или солевыми растворами, что позволяет получить интенсивную исчерченность хромосом и обеспечить их идентификацию.

ЯО-районы – ядрышкообразующие районы, районы ядрышкового организатора, участки хромосомной ДНК, кодирующие рибосомную РНК.

G-бэнды – полосы, получаемые методом GTG-окрашивания хромосом.

$FISH$ – флуоресцентная *in situ* гибридизация, цитогенетический метод, который применяют для детекции и определения положения специфической последовательности ДНК на метафазных хромосомах или в интерфазных ядрах *in situ*.

n.n. – пары нуклеотидов.

мтДНК – митохондриальная ДНК.

H-цепочка мтДНК – тяжелая цепь мтДНК, реплицирующаяся первой.

COI – ген мтДНК, кодирующий последовательность первой субъединицы цитохромоксидазы.

сyt b – ген мтДНК, кодирующий последовательность цитохрома В.

ND1 – ген мтДНК, кодирующий последовательность первой субъединицы NADH-дегидрогеназного комплекса.

d-петля – «петля смещения», контрольный регион, некодирующий участок мтДНК, с которого начинается асинхронная репликация H- и L-цепей мтДНК.

R1-повторы – тандемные повторы в контрольном регионе мтДНК, последовательности повторяющихся фрагментов ДНК длиной 10-100 п.н., расположенные последовательно в геноме.

mtb – малая некодирующая последовательность РНК в контрольном регионе мтДНК.

mРНК – последовательность мтДНК, кодирующая транспортную РНК.

mРНК-Pro – транспортная РНК, переносящая аминокислоту пролин.

mРНК-Phe – транспортная РНК, переносящая аминокислоту фенилаланин.

ДНК-штрихкодирование – ДНК-баркодирование, метод молекулярной идентификации, который позволяет по коротким генетическим маркерам в ДНК определять принадлежность организма к определённому таксону.

SINEs – короткие диспергированные повторы ДНК, повторяющиеся последовательности нуклеотидов в геноме, расположены не последовательно друг за другом, а на расстоянии.

Rag2 – ядерный ген, участвующий в рекомбинации гетерохроматинового материала.

p – коэффициент Стьюдента.

GD – генетическая дистанция.

π – нуклеотидное разнообразие.

P – гаплотипическое разнообразие.

SD – стандартная ошибка среднего.

об/мин – оборотов в минуту.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Самохвалов Е.И., Гительман А.К., Ботиков А.Г. Таксономия вируса Иссык-Куль (Issyk-Kul virus, iSKV; bunyaviridae, Nairovirus), возбудителя Иссык-Кульской лихорадки, изолированного от летучих мышей (Vespertilionidae) и клещей *Argas (Carios) vespertilionis* (Latreille, 1796). // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58, № 5. С. 11–15.
2. Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Щетинин А.М., Самохвалов Е.И., Аристова В.А., Гительман А.К., Ботиков А.Г. Генетическая характеристика вируса Узун-Агач (UZAV – Uzun-Agach virus) (Bunyaviridae, Nairovirus), изолированного в Казахстане от остроухой ночницы *Myotis blythii oxygnathus* Monticelli, 1885 (Chiroptera; Vespertilionidae). // Вопросы вирусологии. 2014. Т. 59, № 5. С. 23–26.
3. Берников К.А., Крускоп С.В., Стариков В.П. Восточная ночница (*Myotis petax* Hollister, 1912) — новый вид рукокрылых Ханты–Мансийского автономного округа. // В кн.: В.П. Стариков (ред.). Современные проблемы биологических исследований в Западной Сибири и на сопредельных территориях. Материалы Всероссийской научной конференции, посвящённой 15-летию биологического факультета Сургутского государственного университета, 2–4 июня 2011 г. Сургут: ООО Таймер. 2011. С. 45–49.
4. Ботвинкин А.Д. Летучие мыши в Прибайкалье (биология, методы наблюдения, охрана). // Иркутск: Время странствий. 2002. 208 с.
5. Ботвинкин А.Д. Смертельные случаи заболевания людей бешенством в Евразии после контактов с рукокрылыми. (Обзор литературы). // *Plecotus et al.* 2011. № 14. С. 75–86.
6. Волобуев В.Т., Стрелков. П.П. Идентичность кариотипов в роде *Myotis*. // Зоологический журнал. 1971. Т. 4, № 12. С. 1892–1894.
7. Воронцов Н.Н., Раджабли С.И., Волобуев В.Т. Сравнительная кариология летучих мышей семейства Vespertilionidae (Chiroptera). //

Млекопитающие (эволюция, кариология, систематика, фаунистика). Новосибирск: Наука. 1969. С. 16–21.

8. Гвоздецкий Н.А., Михайлов Н.И. Физическая география СССР. Азиатская часть: Учебник для студентов геогр. фак. ун-тов. // М.: Мысль, 1978.

9. Графодатский А.А., Раджабли С.И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих: атлас. // Новосибирск: Наука: Сиб. отд-ние. 1988. 128 с.

10. Картавцева И.В., Горобейко У.В., Тиунов М.П. Современное состояние хромосомных исследований рукокрылых (Chiroptera) Дальнего Востока России. // Зоологический журнал. 2014. Т. 93, № 7. С. 887–900.

11. Картавцева И.В., Докучаев Н.Е. Исследование хромосом двух видов летучих мышей Камчатки. // Биологическое разнообразие животных Сибири: материалы научной конференции, посвященной 110-летию начала регулярных зоологических исследований и зоологического образования в Сибири, 28-30 октября 1998 г. Томск: Дельтаплан. 1998. С. 67–68.

12. Кораблев В.П., Якименко Л.В., Тиунов М.П. Кариотипы летучих мышей Дальнего Востока. // Современные подходы к изучению изменчивости (сборник научных трудов). Владивосток: ДВО АН СССР. 1989. С. 95–98.

13. Кораблев В.П. Локализация районов ядрышкового организатора у млекопитающих. // Вопросы эволюционной зоологии и генетики млекопитающих. Владивосток. 1987. С. 37–44.

14. Коряков Д.Е., Жимулёв И.Ф. Хромосомы. Структура и функции // Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2009. 258 с.

15. Крускоп С.В. Отряд Chiroptera. // Разнообразие млекопитающих: учеб. пособие. М.: изд-во КМК. 2004. Т.1. С. 307–369.

16. Крускоп С.В. Отряд Chiroptera. // В кн.: Павлинов И.Я., Лисовский А.А. (ред.) Млекопитающие России: систематико-географический

справочник (Сборник трудов Зоологического музея МГУ. Т. 52). М.: Товарищество научных изданий КМК. 2012. С. 73–126.

17. Кузякин А.П. Летучие мыши. // М.: Сов. наука. 1950. 443 с.
18. Курсков А.Н. Рукокрылые охотники. // М. Лесная пром. 1978. С.125–134
19. Маак Р.К. Путешествие на Амур, совершенное по распоряжению Сибирского отдела Императорского русского географического общества в 1855 г. // СПб. 1859. 577 с.
20. Миддендорф А.Ф. Путешествие на Север и Восток Сибири: Север и Восток Сибири в естественно-историческом отношении. Ч. 2, отд. 5: Сибирская фауна (окончание). Домашние и упряжные животные, повозки, суда, рыболовство и охота. // СПб.: Тип. Имп. Акад. наук. 1877. С. 311–618.
21. Огнёв С.В. Звери Восточной Европы и Северной Азии. Т. 1. // М.; Л.: ГИЗ. 1928. 631 с
22. Орлов В.Н. Булатова. Н.Ш. Сравнительная цитогенетика и кариосистематика млекопитающих // М.: Наука. 1983. 406 с.
23. Охотина М.В., Бромлей Г.Ф. Новые данные о рукокрылых Приморского края. // Мелкие млекопитающие Приамурья и Приморья. Владивосток. 1970. С. 176–184.
24. Охотина М.В., Фёдоров А.Ю. Колониальные виды летучих мышей (Chiroptera) южной части Приморского края. // Экология и зоогеография некоторых позвоночных суши Дальнего Востока. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 1978. С. 126–136.
25. Пржевальский Н.М. Путешествие в Уссурийском крае 1867-1869 г.: с карт. Уссурийского края. // Санкт-Петербург: изд. авт. 1870. 373 с.
26. Прокофьева-Бельговская А.А. Гетерохроматические районы хромосом: строение, функции. // Журн. общ. биол. 1977. Т. 38, №5. С. 735–757.
27. Прокофьева-Бельговская А.А. Гетерохроматические районы хромосом. // М.: Наука. 1986. 431 с.

28. Радде Г.И. Путешествие в Юго-Восточную Сибирь (1855-1859). // Записки Императорского русского географического общества. 1861. Кн. 4. С. 1–78.
29. Рубцов Н.Б. Методы работы с хромосомами млекопитающих: учеб. пособие. // Новосибирск: Новосиб. гос. ун-т. 2006. 152 с.
30. Сатунин К.А. Определитель млекопитающих Российской империи. Вып. 1. Рукокрылые, насекомоядные и хищные. // Тифлис. 1914.
31. Стрелков П.П. Оседлые и перелетные виды летучих мышей в Европейской части СССР. Сообщение 1. // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1970. Т. 75, № 2. С. 38–52.
32. Стрелков П.П. Отряд Chiroptera – Рукокрылые. // В кн.: Соколов И.И. (ред.). Млекопитающие фауны СССР. Т.1. М.; Л.. 1963. С. 122–218.
33. Стрелков П.П. Кризис политипической концепции вида на примере рода *Plecotus*. // *Plecotus et al.* 2006. Т. 9. С. 3–7.
34. Тавровский В.А., Егоров О.В., Кривошеев В.Г., Попов М.В., Лабутин Ю.В. Млекопитающие Якутии. // Москва. 1971. 676 с.
35. Тиунов М.П. Отряд Chiroptera Blumenbach, 1779 – Рукокрылые. // В кн.: Кривошеев В.Г. (ред.). Наземные млекопитающие Дальнего Востока. М.: Наука. 1984. С. 73–102.
36. Тиунов М.П. Зимующие рукокрылые (Chiroptera) юга Дальнего Востока СССР. // Зоологический журнал. 1985. Т. 64, № 10. С. 1595–1599.
37. Тиунов М.П. Рукокрылые Дальнего Востока России. // Владивосток: Дальнаука. 1997. 134 с.
38. Тиунов М.П., Крускоп С.В., Орлова М.В. Рукокрылые Дальнего Востока России и их эктопаразиты. // М.: Издательство «Перо». 2021. 191 с.
39. Яшина Л.Н., Сметанникова Н.А., Компанец Г.Г., Здановская Н.И., Иванов Л.И. Молекулярная эпидемиология патогенных хантавирусов на Дальнем Востоке России, 2015-2018 гг. // Проблемы особо опасных инфекций. 2019. № 4. С. 102–108. doi: 10.21055/0370-1069-2019-4-102-108

40. Aljanabi S., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. // *Nucleic Acids Research*. 1997. V. 25. P. 4692–4693. doi: 10.1093/nar/25.22.4692.
41. Andersen L.W., Dirksen R., Nikulina E.A., Baagøe H.J., Petersons G., Estók P., Orlov O.L., Orlova M.V., Gloza-Rausch F., Götsche M., Fjederholt E.T., Krüger F., Elmeros M. // Conservation genetics of the pond bat (*Myotis dasycneme*) with special focus on the populations in northwestern Germany and in Jutland, Denmark. *Ecology and Evolution*. 2018. V. 9. 5292–5308. doi: 10.1002/ece3.5119
42. Ando K., Tagawa T., Uchida T.A. The C-banding pattern of 6 Japanese species of vespertilionine bats (Mammalia: Chiroptera). // *Experientia*. 1980. V. 36. P. 653–653. DOI: 10.1007/BF01970118
43. Ando K., Harada M., Uchida T.A. A karyological study on five Japanese species of *Myotis* and *Pipistrellus*, with special attention to composition of their C-band materials. // *Journal of the Mammalogical Society of Japan*. 1987. V. 12, № 1–2. P. 25–29.
44. Ao L., Mao X., Nie W., Gu X., Feng Q., Wang J., Su W., Wang Y., Volleth M., Yang F. Karyotypic evolution and phylogenetic relationships in the order Chiroptera as revealed by G-banding comparison and chromosome painting. // *Chromosome Research*. 2007. V. 15. P. 257–267.
45. Artyushin I.V., Bannikova A.A., Lebedev V.S., Kruskop S.V. Mitochondrial DNA relationships among North Palaearctic *Eptesicus* (Vespertilionidae, Chiroptera) and past hybridization between Common Serotine and Northern Bat. // *Zootaxa*. 2009. V. 2262. P. 40–52. doi: 10.11646/zootaxa.2262.1.2
46. Atterby, H., Aegerter, J.N., Smith, G.C., Conyers C.M., Allnutt T.R., Ruedi M., MacNicoll A.D. Population genetic structure of the Daubenton's bat (*Myotis daubentonii*) in western Europe and the associated occurrence of rabies. // *Eur. J. Wildl. Res.* 2010. V. 56. P. 67–81. doi: 10.1007/s10344-009-0292-1

47. Baker R.J. Karyotypic trends in bats. // In: *Biology of Bats*. V. 1. New York: Academic Press. 1970. P. 65–95. ISBN: 9780323151191
48. Baker R.J., Bickham J.W. Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. // *Systematic Zoology*. 1980. V. 29, № 3. P. 239–253. doi: 10.1093/sysbio/29.3.239
49. Benda P., Dietz C., Andreas M., Hotovy J., Lucan R.K., Maltby A., Meakin K., Truscott J., Vallo P. Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 6. Bats of Sinai (Egypt) with some taxonomic, ecological and echolocation data on that fauna. // *Acta Societas Zoologicae Bohemicae*. 2008. V. 72. P. 3–103.
50. Bickham J. Chromosomal Variation and Evolutionary Relationships of Vespertilionid Bats. // *Journal of Mammalogy*. 1979. V. 60, № 2. P. 350–363. doi: 10.2307/1379807
51. Bogdanowic W. *Myotis daubentonii*. // *Mammalian Species*. 1994. V. 43. P. 1. doi: 10.2307/3504215.
52. Boni M.F., Lemey P., Jiang X., Lam T.T.-Y., Perry B.W., Castoe T.A., Rambaut A., Robertson D.L. Evolutionary origins of the SARS-CoV-2 sarbecovirus lineage responsible for the COVID-19 pandemic. // *Nat. Microbiol.* 2020. V. 5. P. 1408–1417. doi: 10.1038/s41564-020-0771-4
53. Botvinkin A.D., Poleschuk E.M., Kuzmin I.V., Borisova T.I., Gazaryan S.V., Yager P., Rupprecht C.E. Novel lyssavirus isolated from bats in Russia. // *Emerging Infection Disease*. 2003. V. 9. P. 1623–1625. doi: 10.3201/eid0912.030374
54. Brown G.G., Gadaleta G., Pepe G., Saccone C., Sbisà E. Structural conservation and variation in the D-loop-containing region of vertebrate mitochondrial DNA. // *J Mol Biol.* 1986. V. 192, № 3. P. 503–11. doi: 10.1016/0022-2836(86)90272-x.
55. Dokuchaev N.E. Uropatagium venation pattern in bats as diagnostic character (by the example of genus *Myotis*) // *Russian Journal of Theriology*. 2015. Vol. 14, № 2. P. 129-132.

56. Findley J.S. Phenetic Relationships among Bats of the Genus *Myotis*. // Systematic Biology. 1972. V. 21, № 1. P. 31–52. doi: 10.1093/sysbio/21.1.31
57. Ford C.E., Hamerton J.L. A colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. // Stain Technology. 1956. V. 31. P. 247–251.
58. Francis C.M., Eger J.L. A review of tube-nosed bats (Murina) from Laos with description of two new species. // Acta Chiropterologica. 2012. V. 14, № 1. P. 15–38.
59. Gomes Júnior R.G., Schneider C.H., Lira T., Carvalho N.D.M., Feldberg E., de Silva M.N.F., Gross M.C. Intense genomic reorganization in the genus *Oecomys* (Rodentia, Sigmodontinae): comparison between DNA barcoding and mapping of repetitive elements in three species of the Brazilian Amazon. // Comparative Cytogenetics. 2016. V. 10, № 3. P. 401–426. doi: 10.3897/compcytogen.v10i3.8306
60. Godawa Stormark J. Phenetic analysis of Old World *Myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae) based on dental characters. // Acta Theriologica. 1998. V. 43. P. 1–11. http://rcin.org.pl/ibs/Content/12756/BI002_2613_Cz-40-2_Acta-T43-nr1-1-11_o.pdf
61. Gorobeyko U.V., Kartavtseva I.V. Karyology of the Bats from the Russian Far East. // In: Larramendy M., Soloneski S. (Eds). Cytogenetics – Past, Present and Further Perspectives. IntechOpen. 2019. P. 75–97. doi: 10.5772/intechopen.78767
62. Gorobeyko U.V., Kartavtseva I.V., Sheremetyeva I.N., Kazakov D.V., Guskov V.Yu. DNA-barcoding and a new data about the karyotype of *Myotis petax* (Chiroptera, Vespertilionidae) in the Russian Far East. // Comparative Cytogenetics. V. 14, № 4. P. 483–500. doi: 10.3897/CompCytogen.2020v14i4.54955
63. Hall T.A. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. // Nucleic Acids Symposium Series. 1999. V. 41. P. 95–98.

64. Harada M., Ando K., Uchida T.A., Takada S. Karyotypic evolution of two Japanese *Vespertilio* species and its taxonomic implication (Chiroptera: Mammalia). // *Caryologia*. 1987. V. 40, № 3. P. 175–184. doi: 10.1080/00087114.1987.10797821
65. Harada M. Chromosomes of nine Chiropteran species in Japan. // *La Kromosomo*. 1973. V. 91. P. 2885–2895.
66. Harada M., Yoshida T.H. Karyological study of four Japanese *Myotis* bats (Chiroptera, Mammalia). // *Chromosoma* (Berlin). 1978. V. 65. P. 283–291. doi: 10.1007/BF00327623
67. Hollister N. New mammals from the highlands of Siberia. // *Smithsonian miscellaneous collection*. 1912. V. 60. P. 1–6.
68. Horaček I., Hanak V., Gaisler J. Bats of the Palearctic region: A taxonomic and biogeographic review. // In: Woloszyn B.W. (ed.) *Proceedings of the 8th European bat research symposium*. V. I. Approaches to biogeography and ecology of bats. Krakow: Institute of Systematics and Evolution of Animals PAS. 2000. P. 11–157.
69. Horaček I., Hanak V. Comments on the systematics and phylogeny of *Myotis nattereri* (Kuhl, 1818). // *Myotis*. 1984. V. 21–22. P. 20–29.
70. Howell W.M., Denton T.E., Diamond J.R. Differential staining of the satellite regions of human acrocentric chromosomes. // *Experientia*. 1975. V. 31. P. 260–262. doi: 10.1007/BF01990741
71. Howell W.M., Black D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. // *Experienti*. 1980. V. 36. P. 1014–1015. doi: 10.1007/BF01953855
72. Hwang J.Y., Jin G.D., Park J., Lee S.G., Kim E.B. Complete sequences of eastern water bat, *Myotis petax* (Chiroptera; Microchiroptera; Vespertilionidae) mitogenome. // *Mitochondrial DNA Part A DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*. 2016. V. 27, № 5. P. 3715–3716
73. Iida K., Kobayashi R., Hengjan Y., Nagata N., Yonemitsu K., Nunome M., Kuwata R., Suzuki K., Ichiyangi K., Maeda K., Ohmori Y., Hondo

E. The genetic diversity of D-loop sequences in eastern bent-winged bats (*Miniopterus fuliginosus*) living in Wakayama Prefecture, Japan. // J Vet Med Sci. 2017. V. 79, № 6. P. 1142–1145. doi:10.1292/jvms.17-0152

74. Johnson L.N.L., McLeod B.A., Burns L.E., Arseneault K., Frasier T.R., Broders H.G. Population Genetic Structure Within and among Seasonal Site Types in the Little Brown Bat (*Myotis lucifugus*) and the Northern Long-Eared Bat (*M. septentrionalis*). // PLoS ONE. 2015. V. 10, № 5: e0126309. doi:10.1371/journal.pone.0126309

75. Kawai K., Nikaido M., Harada M., Matsumura S., Lin L.K., Wu Y., Hasegawa M., Okada N. Intra- and interfamilial relationships of Vespertilionidae inferred by various molecular markers including SINE insertion data. // Journal of Molecular Evolution. 2002. V. 5. P. 284–301.

76. Kawai K., Nikaido M., Harada M., Matsumura S., Lin L.K., Wu Y., Hasegawa M., Okada N. The status of the Japanese and East Asian bats of the genus *Myotis* (Vespertilionidae) based on mitochondrial sequences. // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2003. V. 28, № 2: 297–307. doi: 10.1016/S1055-7903(03)00121-0

77. Kawai K., Kondo N., Sasaki N., Fukui D., Dewa H., Satô M., Yamaga Y. Distinguishing between cryptic species *Myotis ikonnikovi* and *M. brandtii gracilis* in Hokkaido, Japan: evaluation of a novel diagnostic morphological feature using molecular methods. // Acta Chiropterologica. 2006. V. 8, № 1. P. 95–102.

78. Kawai K. *Myotis petax*. P. 106–107. // In: Ohdachi S.D., Ishibashi Y., Iwasa M.A., Saitoh T. (Eds). The wild mammals of Japan. Shoukadon Book Seller, Kyoto. 2009. 544 pp.

79. Kearney T.C., Volleth M., Contrafatto G., Taylor P.G. Systematic implications of chromosome GTG-band and bacula morphology for Southern African *Eptesicus* and *Pipistrellus* and several other species of Vespertilioninae (Chiroptera: Vespertilionidae). // Acta Chiropterologica. 2002. V. 4, № 1. P. 55–76. doi: 10.3161/001.004.0107

80. Kerth G., Mayer F., König B. Mitochondrial DNA (mtDNA) reveals that female Bechstein's bats live in closed societies. // *Molecular Ecology*. 2000. V. 9. P. 793–800. doi: 10.1046/j.1365-294x.2000.00934.x
81. Kibbe A. OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator. // *Nucleic Acids Res.* 2007. V. 35 (webserver issue).
82. Kim Y.-K., Park S.-G., Han S.-H., Han S., Oh H.-S. Genetic Population Structure and Phylogenetic Relationship of the Large-footed Bat (*Myotis macrodactylus*) on Jeju Island. // *Journal of Life Science*. 2016. V. 26, № 7. P. 749–57. doi:10.5352/JLS.2016.26.7.749. [In Korean]
83. Kobayashi F., Fukui D., Kojima E., Masuda R. Population genetic structure of the Japanese large-footed bat (*Myotis macrodactylus*) along three rivers on Hokkaido Island, Northern Japan. // *Mamm. Stud.* 2012. V. 37. P. 227–235. doi: 10.3106/041.037.030
84. Koopman K.F. Chiroptera: systematics. // In: Niethammer J., Schliemann H., Starck D. (Eds). *Handbuch der Zoologie*. W. de Gruyter, Berlin, Germany. 1994. V.8. P. 100–109.
85. Korobitsyna K.V., Korablev V.P. The intraspecific autosome polymorphism of *Meriones tristrami* Thomas, 1892 (Gerbilidae, Cricetidae, Rodentia) // *Genetica*. 1980. V. 52–53. P. 209–221.
86. Kruskop S.V., Borisenko A.V., Ivanova N.V., Lim B.K., Eger J.L. Genetic diversity of northeastern Palaearctic bats as revealed by DNA barcodes. // *Acta Chiropterologica*. 2012. V. 14, № 1. P. 1–14. doi: 10.3161/150811012X654222
87. Kruskop S.V., Kawai K., Tiunov M.P. Taxonomic status of the barbastes (Chiroptera: Vespertilionidae: Barbastella) from the Japanese archipelago and Kunashir Island. // *Zootaxa*. 2019. V. 4567, № 3. P. 461–476. doi: 10.11646/zootaxa.4567.3.3
88. Kruskop S.V. Subspecific structure of *Myotis daubentonii* (Chiroptera, Vespertilionidae) and composition of the “daubentonii” species group. // *Mammalia*. 2004. V. 68, № 4. P. 299–306.

89. Kulemzina A.I., Nie W., Trifonov V.A., Staroselec Y., Vasenkov D.A., Volleth M., Yang F., Graphodatsky A.S. Comparative chromosome painting of four Siberian Vespertilionidae species with *Aselliscus stoliczkanus* and human probes. // *Cytogenetic and Genome Research*. 2011. V. 134. P. 200–205.
90. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. // *Molecular Biology and Evolution*. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
91. Kuo H.-C., Fang Y.-P., Csorba G., Lee L.-L. Three New Species of *Murina* (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwan. // *Journal of Mammalogy*. 2009. V. 90, № 4. P. 980–991. doi: 10.1644/08-MAMM-A-036.1
92. Kuzmin I.V., Bozick B., Guagliardo S.A., Kunkel R., Shak J.R., Tong S., Rupprecht C.E. Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. // *Emergency Health Threats Journal*. 2011. V. 4: 7159 doi: 10.3402/ehth.v4i0.7159
93. Lee M.R., Elder F.F.B. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. // *Cytogenet. and Cell Genet*. 1980. V. 26. P. 36–40.
94. Li N., Ao L., He S.Y., Gu X.M. G-bands and C-bands in 3 species of Vespertilionidae. // *Chinese Journal of Zoology*. 2007. V. 42, № 2). P. 96–101. [In Chinese]
95. Lin L.K., Motokawa M., Harada M. Karyological study of the house bat *Pipistrellus abramus* (Mammalia: Chiroptera) from Taiwan with comments on its taxonomic status. // *The Raffles Bulletin of Zoology*. 2002. V. 50, № 2. P. 507–510.
96. Liu F., Song Y., Yan S., Luo J., Jiang F. Structure and sequence variation of the mitochondrial DNA control region in *Myotis macrodactylus*. // *Chin. J. Zoo*. 2009. V. 44. P. 19–27. [In Chinese]
97. Lu G., Lin A., Luo J., Blondel D.V., Meiklejohn K.A., Sun K., Feng J. Phylogeography of the Rickett's big-footed bat, *Myotis pilosus* (Chiroptera: Vespertilionidae): a novel pattern of genetic structure of bats in China. // *BMC Evol. Biol*. 2013. V. 13. P. 241. doi: 10.1186/1471-2148-13-241

98. Luczon A.U., Ampo S.A.M.M., Roño J.G.A., Duya M.R.M., Ong P.S., Fontanilla I.K.C. DNA Barcodes Reveal High Genetic Diversity in Philippine Fruit Bats. // *Philippine Journal of Science*. 2019. V. 148, № S1. P. 133–140.
99. Maeda K. Review on the classification of little tubenosed bats, *Murina aurata*, group. // *Mammalia*. 1980. V. 44. P. 531–551.
100. Maeda K. New Records of the Eastern Daubenton's Bats, *Myotis daubentoni ussuriensis* Ognev, 1927, in Hokkaido and Variations in External and Skull Dimensions. // *Journal of the Mammalogical Society of Japan*. 1985. V. 10, № 3. P. 159–164. doi: 10.11238/jmammsocjapan1952.10.159 [In Japan]
101. Mao X.G., Wang J.H., Su W.T., Wang Y.X., Yang F.T., Nie W.H. Karyotypic evolution in family Hipposideridae (Chiroptera, Mammalia) revealed by comparative chromosome painting, G- and C-banding. // *Dongwuxue Yanjiu*. 2010. V. 31, № 5. P. 453–60. doi: 10.3724/SP.J.1141.2010.05453.
102. Matveev V.A., Kruskop S.V., Kramerov D.A. Revalidation of *Myotis petax* Hollister, 1912 and its new status in connection with *M. daubentonii* (Kuhl, 1817) (Vespertilionidae, Chiroptera). // *Acta Chiropterologica*. 2005. V. 7, № 1. P. 23–37. doi: 10.3161/1733-5329(2005)7[23:ROMPHA]2.0.CO;2
103. Mayer F., Kerth G. Microsatellite evolution in the mitochondrial genome of Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). // *J. Mol. Evol.* 2005. V. 61, № 3. P. 408–416. doi: 10.1007/s00239-005-0040-4
104. Mehdizadeh R., Akmal V., Sharifi M. Mitochondrial DNA marker (D-loop) reveals high genetic diversity but low population structure in the pale bent-wing bat (*Miniopterus pallidus*) in Iran. // *Mitochondrial DNA Part A*. 2019. V. 30, № 3. P. 424–433. doi: 10.1080/24701394.2018.1538365
105. Miller, D.A., V.G. Dev, R. Tantravahi, and O.J. Miller. 1976. Suppression of human nucleolus organizer activity in mouse-human somatic hybrid cells. // *Exp Cell Res*. 1976. V. 101, №2. P. 235–43. doi: 10.1016/0014-4827(76)90373-6
106. Nei M., Kumar S. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. // Oxford University Press, New York. 2000.

107. Obara Y., Tomiyasu T., Saitoh K. Chromosome studies in the Japanese vespertilionid bats: I. Karyotypic variation in *Myotis macrodactylus* Temminck. // The Japanese Journal of Genetics. 1976. V. 51, № 3. P. 201–206. doi: 10.1266/jjg.51.201
108. Oliveira Da Silva W., Pieczarka J.C., Ferguson-Smith M.A., O'Brien P.C.M., Mendes-Oliveira A.C., Sampaio I. Carneiro J., Nagamachi C.Y. Chromosomal diversity and molecular divergence among three undescribed species of *Neacomys* (Rodentia, Sigmodontinae) separated by Amazonian rivers. // PLoS ONE. 2017. V. 12, № 8: e0182218. doi: 10.1371/journal.pone.0182218
109. Ono T., Obara Y. Karyotypes and Ag-NOR variations in Japanese vespertilionid bats (Mammalia: Chiroptera). // Zoological Science. 1994. V. 11, № 3. P. 473–484. NAID 110003323211
110. Ono T., Yoshida M.C. Differences in the chromosomal distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences in two species of the vespertilionid bats. // Chromosome Research. 1997. V. 5. P. 203–212. doi: 10.1023/A:1018403215999
111. Park S., Noh P., Choi Y.S., Joo S., Jeong G., Kim S.-S. Population genetic structure based on mitochondrial DNA analysis of Ikonnikov's whiskered bat (*Myotis ikonnikovi* — Chiroptera: Vespertilionidae) from Korea. // J. Ecology Environ. 2019. V. 43. P. 45. doi: 10.1186/s41610-019-0140-5
112. Park S.R., Won P.O. Chromosomes of Korean bats. // Journal of the Mammalogical Society of Japan. 1978. V. 7. P. 199–203. doi: 10.11238/jmammsocjapan1952.7.199
113. Peng Y.Q., Li G.H., Gu X.M. Study on the karyotypes, G-bands and C-bands of two *Myotis* species. // Sichuan Journal of Zoology. 2011. V. 30. P. 882–885. [In Chinese].
114. Petri B., von Haeseler A., Pääbo S. Extreme sequence heteroplasmy in bat mitochondrial DNA. // Biol. Chem. Hoppe-Seyler. 1996. V. 377. P. 661–667.
115. Rahman Md.M., Yoon K.B., Park Y.C. Structural characteristics of a mitochondrial control region from *Myotis* bat (Vespertilionidae) mitogenomes

based on sequence datasets. // *Data in Brief*. 2019. V. 24. P. 103830. doi: 10.1016/j.dib.2019.103830

116. Ratnasingham S., Hebert P.D.N. bold: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). // *Molecular Ecology Notes*. 2007. V. 7. P. 355–364. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x

117. Ruedi M., Castella V. Genetic consequences of the ice ages on nurseries of the bat *Myotis myotis*: a mitochondrial and nuclear survey. // *Molecular Ecology*. 2003. V. 12, № 6. P. 1527–152740. doi: 10.1046/j.1365-294x.2003.01828.x

118. Ruedi M., Stadelmann B., Gager Y., Douzery E.J.P., Francis C.M., Lin L.K., Guillén-Servent A., Cibois A. Molecular phylogenetic reconstructions identify East Asia as the cradle for the evolution of the cosmopolitan genus *Myotis* (Mammalia, Chiroptera). // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2013. V. 69. P. 437–449. doi: 10.1016/j.ympev.2013.08.011

119. Ruedi M., Csorba G., Lin L.K., Chou C.H. Molecular phylogeny and morphological revision of *Myotis* bats (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwan and adjacent China. // *Zootaxa*. 2015. V. 3920, № 1. P. 301–342. doi: 10.11646/zootaxa.3920.2.6

120. Sbisà E., Tanzariello F., Reyes A., Pesole G., Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. // *Gene*. 1997. V. 205, № 1–2. P. 125–140. doi: 10.1016/S0378-1119(97)00404-6

121. von Schrenk L. Reisen und Forschungen im Amur-Lande in den Jahren 1854-1856. Bd. 1. Vertebrates. // St. Petersburg: Commissionäre der K. Akademie der Wissenschaften. 1858. doi: 10.5962/bhl.title.15761 [In Deutch]

122. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. // *Lancet*. 1971. V. 2. P. 971–972.

123. Shamel H.H. A new *Myotis* from Manchuria. // *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 1942. V. 55. P. 103–104.

124. Spitzenberger F., Strelkov P.P., Winkler H., Haring E. A preliminary revision of the genus *Plecotus* (Chiroptera, Vespertilionidae) based on genetic and morphological results. // *Zoologica Scripta*. 2006. V. 35, № 3. P. 187–230. doi: 10.1111/j.1463-6409.2006.00224.x
125. Sumner A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. // *Experimental Cell Research*. 1972. V. 83. P. 438–442.
126. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. // *Molecular Biology and Evolution*. 2011. V. 28, № 10. P. 2731–2739, doi: 10.1093/molbev/msr121
127. Tate G.H.H. Review of the vespertilionine bats: with special attention to genera and species of the Archbold collections. // *Bulletin of the AMNH*. 1942. V. 80, № 7. P. 221–297.
128. Tavares J.R., de Sousa T.P., da Silva J.M., Venere P.C., de C. Faria K. Cytogenetics and DNA barcoding of the Round-eared bats, *Tonatia* (Chiroptera: Phyllostomidae): a new karyotype for *Tonatia bidens*. // *Zoologia (Curitiba)*. 2015. V. 32, № 5. P. 371–379. doi: 10.1590/S1984-46702015000500006
129. Tian L., Liang B., Maeda K., Metzner W., Zhang S. Molecular studies on the classification of *Miniopterus schreibersii* (Chiroptera: Vespertilionidae) inferred from mitochondrial cytochrome b sequences. // *Folia Zoologica*. 2004. V. 3, № 53. P. 303–311.
130. Tiunov M.P. Distribution of the bats in Russian Far East (Problems and questions). // In: *Proceedings of the Japan-Russia cooperation symposium on the conservation of the ecosystem*. 2011. Okhotsk. Sapporo. 2011. P. 359–369.
131. Tiunov M.P., Makarikova T.A. Seasonal molting in *Myotis petax* (Chiroptera) in the Russian Far East. // *Acta Chiropterologica*. 2007. V. 9, № 2. P.538–541. doi: 10.3161/1733-5329(2007)9[538:SMIMPC]2.0.CO;2
132. Topal G. A new mouse-eared bat species, from Nepal, with statistical analyses of some other species of subgenus *Leuconoe* (Chiroptera:

Vespertilionidae). // *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 1997. V. 43, № 4. P. 375–402.

133. Tsuchiya K., Harada M., Yosida T.H. Karyotypes of four species of bats collected in Japan. // *Annual Report of National Institute of Genetics (Japan)*. 1972. V. 2. P. 50–51.

134. Tsytsulina K. On taxonomical status of *Myotis abei* Yoshikura, 1944 (Chiroptera, Vespertilionidae). // *Zoological Science*. 2004. V. 21. P. 963–966.

135. Volleth M. Differences in the location of nucleolus organizer regions in European vespertilionid bats. // *Cytogenetics and Cell Genetics*. 1987. V. 44. P. 186–197. doi: 10.1159/000132371

136. Volleth M. Of Bats and Molecules: Chromosomal Characters for Judging Phylogenetic Relationships. // In: Adams R., Pedersen S. (eds) *Bat Evolution, Ecology, and Conservation*. Springer, New York, NY. 2013. doi: 10.1007/978-1-4614-7397-8_7

137. Volleth M., Bronner G., Gopfert M.C., Heller K.G., von Helversen O., Yong H.S. Karyotype comparison and phylogenetic relationships of *Pipistrellus*-like bats (Vespertilionidae; Chiroptera; Mammalia). // *Chromosome Research*. 2001. V. 9. P. 25–46. doi: 10.1023/A:1026787515840

138. Volleth M., Heller K.G., Fahr J. Phylogenetic relationships of three “Nycticeiini” genera (Vespertilionidae, Chiroptera, Mammalia) as revealed by karyological analysis. // *Mammalian Biology – Zeitschrift für Säugetierkunde*. 2006. V. 71, № 1. P. 1–12. doi: 10.1016/j.mambio.2005.09.001

139. Volleth M., Heller K.G. Phylogenetic relationships of vespertilionid genera (Mammalia: Chiroptera) as revealed by karyological analysis. // *Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung*. 1994. V. 32. P. 11–34. doi: 10.1111/j.1439-0469.1994.tb00467.x

140. Volleth M., Heller K.G. Variations on a theme: Karyotype comparison in Eurasian *Myotis* species and implications for phylogeny. // *Vespertilio*. 2012. V. 16. P. 329–350.

141. Wallin L. The Japanese bat fauna. // Uppsala: Almqvist and Wiksells Boktryckeri AB. 1969. 440 p.
142. Walker P. J., Widen S.G., Firth C., Blasdel K.R., Wood T.G., Travassos da Rosa A.P., Guzman H., Tesh R.B., Vasilakis N. Genomic characterization of Yogue, Kasokero, Issyk-Kul, Keterah, Gossas, and Thiafora Viruses: nairoviruses naturally infecting bats, shrews, and ticks. // The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2015. V. 93. P. 1041–1051.
143. Wang H., Li N., Ao L., Gu X.M. A study on karyotypes, G-bands and C-bands of *Myotis fimbriatus*. // Journal of Guizhou Normal University (Natural Science). 2009. V. 27, № 2. P. 13–14. doi: CNKI:SUN:NATR.0.2009-02-005 [In Chinese]
144. Wang L., Jiang T.L., Sun K.P., Wang Y.X., Tiunov M.P., Feng J. Morphological description and taxonomical status of *Myotis petax*. // Acta Zootaxonomica Sinica. 2010. V. 35, № 2. P. 360–365. [In Chinese]
145. Wilkinson G.S., Mayer F., Kerth G., Petri B. Evolution of repeated sequence arrays in the D-loop region of bat mitochondrial DNA. // Genetics. 1997. V. 146, № 3. P. 1035–1048. doi: 10.5167/uzh-423
146. Wilkinson G.S., Chapman A.M. Length and sequence variation in evening bat D-loop mtDNA. // Genetics. 1991. V. 128, № 3. P. 607–617. doi: 10.1093/genetics/128.3.607
147. Wu Y., Motokawa M., Li Y.C., Harada M., Chen Z., Lin L.K. Karyology of eight species of bats (Mammalia: Chiroptera) from Hainan Island, China. // International Journal of Biological Sciences. 2009. V. 5. P. 659–666. doi: 10.7150/ijbs.5.659
148. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. // BMC Bioinformatics. 2012. V. 13. P. 134. doi: 10.1186/1471-2105-13-134.
149. Yoon M.H. Bats. // In: Shin S. (Ed.). Vertebrate Fauna of Korea. Volume 5, Number 1. National Institute of Biological Resources. 2010. 134 pp.

150. Yoo D.H., Yoon M.H. A karyotypic study on six Korean vespertilionid bats. // Korean Journal of Zoology. 1992. V. 35, № 4. P. 489–496.

151. Yoshiyuki M. A Systematic study of the Japanese Chiroptera. // Tokyo: National Science Museum, 1989. 242 pp.
<https://ci.nii.ac.jp/naid/110006684308>

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Расчёт активности ЯО-районов в кариотипе *Myotis petax*

Т а б л и ц а А.1 – Расчёт ЯО-активности самца *Myotis petax* №3259

Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район												Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район											
	7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24	25		7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24	25
001	1	1		1			2	2		1			1-002	1	1				1						
005					0,5			0,5		0,5			1-003	1,5	1		0,5		1	1,5	1			1	
006		1	2	0,5	2	1	2	2	1				1-004		1		1	1	1,5	1,5					
007	2	2	0,5			1		2	1			1	G002	1						1					
009	1		1				1		1				G003	1	2		1		1	1	2				
010			1		1								G004	1	2		1		2		2				
101	1	1,5	1,5			1		1	2	1			G006	1			1		2			1			
102	1				1		2					1	G008								1			1	
103		1	1,5				1	2	2			1	G010	1		1		1	1	1			1		
105	2	1				2		2	2				всего	15,5	18,5	9,5	4	6,5	9	20	16	16	2,5	4	4
106		2	1			2		1	1				ЯО-активность	0,775	0,925	0,475	0,2	0,325	0,45	1	0,8	0,8	0,125	0,2	0,2

Т а б л и ц а А.2 – Расчёт ЯО-активности самки *Myotis petax* №3336

Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район												Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район											
	7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24	25		7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24	25
003	1	1		1	1		1		1	1	1	1	027	0,5	1				0,5	1			1		
004		1							1	1			031						0,5						
005		1							0,5	1			032	1		1			2	2		1			0,5
006									0,5	0,5			033									2			
007				0,5	0,5	0,5		0,5	0,5				036	0,5			1			0,5	0,5	1	1	0,5	
008								1					037									1	1		1
010		0,5							1		1		038		1	0,5	0,5		0,5	0,5	0,5				
011		0,5	1,5		0,5		1	1				1	039							0,5	1		0,5	0,5	
012				0,5			1			1		1	041	0,5	1	0,5	0,5	0,5			0,5				
013		2		0,5		1				1	1		041-2		1										
014								1					042		0,5	0,5			0,5	1	2	1	1		
016		1,5		1	0,5	1				1			043		0,5			1	0,5			1			0,5
017											1		047		0,5						2	0,5			
019						1			1				048a				0,5								
020					0,5	1							048b	0,5				0,5			0,5				
023	0,5										0,5		всего	5	12	4	6	5,5	8,5	11,5	10,5	12	12	4,5	6,5
025	0,5			1	0,5	0,5					1		ЯО-активность	0,156	0,375	0,125	0,188	0,172	0,266	0,359	0,328	0,375	0,375	0,141	0,203

Т а б л и ц а А.3 – Расчёт ЯО-активности самки *Myotis petax* №3338

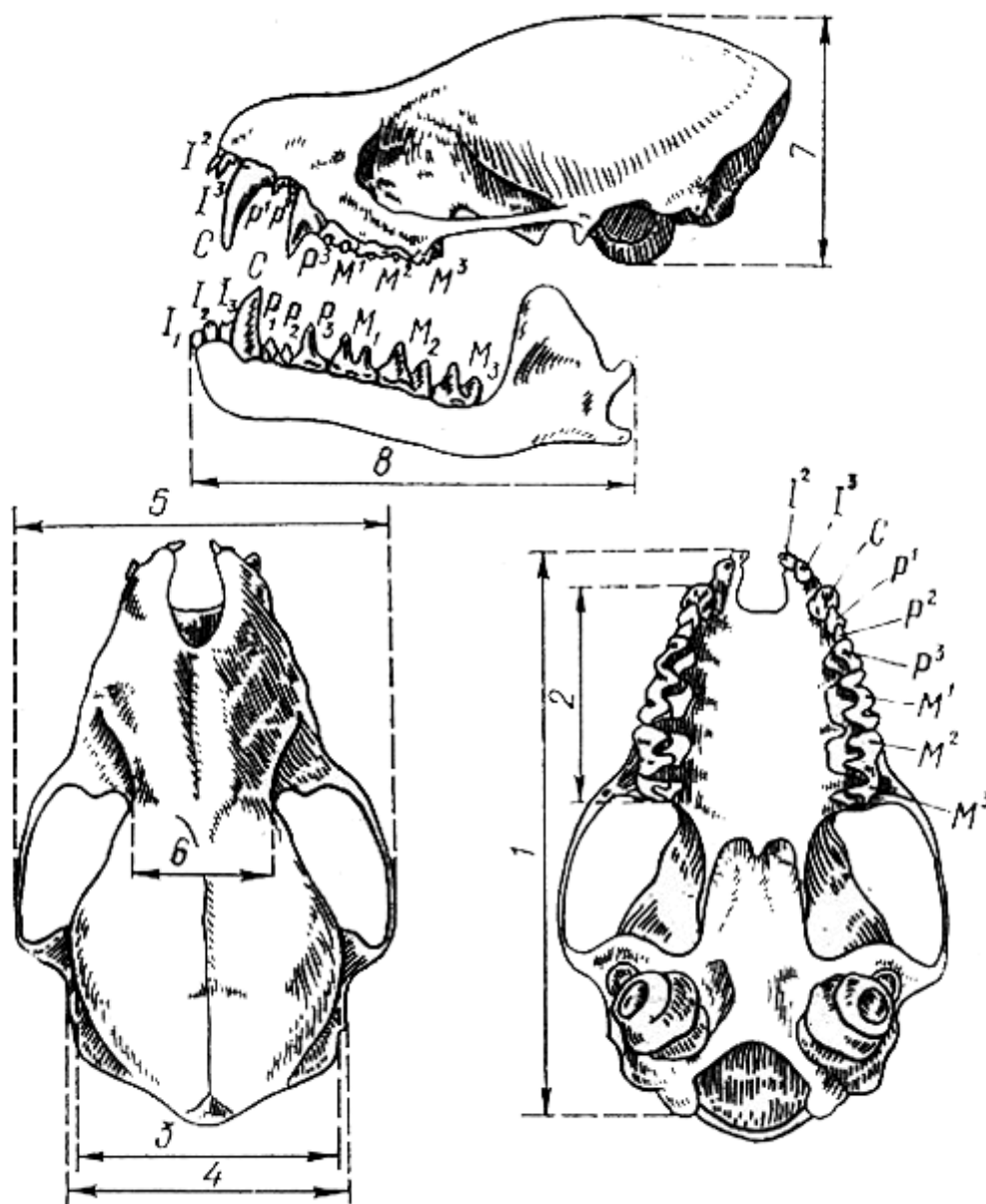
Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район											Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район												
	7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24		25	7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24	25
001	1		1				2	1,5	0,5				066a	0,5				0,5							
002	1				1	2	1	1	0,5				0666		1			1							
003	0,5	0,5				1	0,5		0,5	1			069			1	0,5	1	1	1	0,5	1			
007		2		0,5		0,5	1	1					074	0,5				2	1	0,5					
009	1	1,5			1	1	1	1		1			076	1		0,5	0,5			0,5	1				
014	1	1	1			0,5	2	1,5	0,5			0,5	077			0,5		1	0,5	1					
016		0,5							0,5				079			1	0,5			1	0,5				
019			0,5	0,5		1	1			1			081		2		1	2	1	1	1	1	1		
020	1	1			0,5	1	1						082	1		1		0,5		1	1	1,5	1		
025	1		0,5	1		1	1	1					083			1				1	1				
026		1	1			1,5	1	1					088		1	1			1	1					
028		0,5	2	1,5		1	1	1					090	0,5					0,5			1			
032					1	1	2			0,5			094		1	1,5	1	1,5	1,5	1	1				
033		0,5				0,5	0,5		0,5	0,5	0,5		096	1	0,5		0,5		1	1	1	1	1		
036		1		1		0,5		2	0,5				098	0,5	2				1,5	1	1	0,5			
038	1	1,5		1		1	1	1	0,5				100	1	0,5	1	1		1	1	1				
041	1	1			1	2	2	1					101	1			0,5		1	1	1,5			1	
042				1	0,5	0,5	1	1	0,5				102		0,5		0,5		1	1	2				
043	1	2			1	2	2	1					103		1				1	1					
045		1	1,5			1	0,5	1,5	1				104								1	0,5			
046						1		1		1,5			105		0,5				1		2		1		
048		1		1	1	1,5	1,5	2	1				106		2	1			0,5	1					
049		0,5				0,5	1						107			2			2	2		1		1	
050		2			2	2	1	1					108		1,5	1,5	1,5	2	2	2	1			1	
051		1	1		1	1	0,5						109	1	0,5		0,5		1,5	1	0,5		1	0,5	
052		1	1	0,5	2	1				0,5			110			2	0,5		2	1					
053	1	1		1	0,5		1,5	1,5					111	1	1	2	2	2	1	2					
054			1			1	0,5	0,5	0,5				112		1		2		1	1	2	1			
055	0,5	2				0,5	1	1	2				113		1		1	2	2	2	1				
056			0,5	0,5		1,5	1	1					114			1	1	1,5	1	0,5			0,5		
057		2		1,5	1	2	1		1	1															
059	1				1	0,5		1	0,5	0,5	1		всего	22	40	26	28,5	20,5	43,5	57,5	56	35,5	11,5	6,5	4
062	1	0,5			2	0,5	1						ЯО-активность	0,344	0,625	0,406	0,445	0,32	0,68	0,898	0,875	0,555	0,18	0,102	0,063

Т а б л и ц а А.4 – Расчёт ЯО-активности самки *Myotis petax* №3400

Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район												Номер метафазы	Номер хромосомной пары, несущей ЯО-район											
	7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24	25		7	9	10	12	13	15	18	20	21	23	24	25
002		1		1		1	1,5	0,5			1		014							1	0,5		1		
003			0,5			1	2	1		1	1		016	1	2	0,5			2		0,5				
005	0,5							1					017		1				1	2					
006		1			1					1			018	1		1	0,5		1	1		1		1	
009	1						1	0,5	1																
011	1	0,5									1	1													
013			1				1																		
													всего	4,5	5,5	3	1,5	1	3	9,5	6	3	3	3	1
													ЯО-активность	0,409	0,5	0,273	0,136	0,091	0,273	0,864	0,546	0,273	0,273	0,273	0,091

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Рисунок Б.1 Некоторые промеры черепа рукокрылых (из Курсков, 1978)

**Примечание:**

1 - кондилобазальная длина (CBL); 2 - длина верхнего ряда зубов (C1M3); 3 - ширина мозговой капсулы (BCW); 4 - ширина черепа; 5 - скуловая ширина (ZYW); 6 - межглазничный промежуток (IOW); 7 - высота черепа (BCH); 8 - длина нижней челюсти (MdL); I² - передний верхний резец; I³ - задний верхний резец; C - клык; P¹ - первый верхний малый переднекоренной; P² - второй верхний малый переднекоренной; P³ - большой верхний переднекоренной; M¹, M², M³ - верхние заднекоренные зубы; I₁, I₂, I₃ - нижние резцы; P₁ - первый нижний малый переднекоренной; P₂ - второй нижний малый переднекоренной; P₃ - большой нижний переднекоренной; M₁, M₂, M₃ - нижние заднекоренные зубы.

ПРИЛОЖЕНИЕ В. Морфометрический анализ.

Таблица В1. Средние значения краниометрических признаков для региональных выборок восточной нощницы (начало)

	<i>KAZ</i>				<i>ALT</i>				<i>TYV</i>				<i>MON</i>				<i>CHI</i>			
	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV
CBL	5	13,24-13,59 13,48±0,064	0,0206	1,064	10	12,85-13,89 13,49±0,084	0,0702	1,964	4	13,53-13,94 13,77±0,089	0,0316	1,29	2	13,2-13,41 13,31±0,105	0,0221	1,116	2	13,3-13,55 13,43±0,125	0,0313	1,317
CCL	5	12,34-12,73 12,58±0,069	0,0239	1,228	10	11,9-13,03 12,61±0,091	0,834	2,291	4	12,62-13,11 12,87±0,101	0,0407	1,567	2	12,40-12,52 12,46±0,6	0,0072	0,681	2	12,43-12,67 12,55±0,12	0,0288	1,352
MW	5	7,43-7,88 7,72±0,079	0,0309	2,279	9	7,46-7,93 7,7±0,052	0,024	2,014	4	7,7-8,1 7,96±0,095	0,036	2,383	2	7,73-7,74 7,74±0,005	0	0,091	2	7,43-7,66 7,55±0,115	0,0265	2,156
BCW	5	7,15-7,51 7,34±0,066	0,0221	2,026	10	7,28-7,62 7,42±0,038	0,0146	1,625	4	7,29-7,88 7,65±0,126	0,0633	3,29	2	7,38-7,45 7,42±0,035	0,0025	0,668	2	7,08-7,36 7,22±0,14	0,0392	2,742
BCH	5	5,08-5,62 5,32±0,106	0,056	4,445	10	5,25-6,15 5,49±0,077	0,0595	4,442	4	5,06-5,6 5,33±0,111	0,0497	4,181	2	5,25-5,35 5,3±0,05	0,005	1,334	2	5,15-5,18 5,17±0,015	0,0004	0,411
IOW	5	3,5-3,9 3,73±0,081	0,0326	4,836	10	3,69-4,08 3,94±0,04	0,016	3,208	4	3,8-4,17 4,02±0,088	0,0309	4,375	2	3,89-3,99 3,94±0,05	0,005	1,795	2	3,68-3,99 3,84±0,155	0,0481	5,716
RL	5	5,24-5,55 5,35±0,057	0,0165	2,405	10	5,15-5,86 5,45±0,064	0,0404	3,691	4	5,63-5,77 5,69±0,03	0,0036	1,051	2	5,35-5,48 5,42±0,065	0,0085	1,698	2	5,42-5,54 5,48±0,06	0,0072	1,548
RW	5	4,6-5,08 4,91±0,089	0,0395	4,048	10	4,78-5,09 4,99±0,033	0,0108	2,079	4	4,99-5,18 5,08±0,041	0,0066	1,602	2	4,74-4,93 4,84±0,095	0,018	2,779	2	4,64-4,88 4,76±0,12	0,0288	3,565
C1C1	5	3,83-4,08 3,93±0,046	0,0106	2,615	10	3,66-4,04 3,88±0,037	0,0122	2,854	4	3,92-4,16 4,02±0,051	0,0105	2,552	2	3,81-3,87 3,84±0,03	0,0018	1,105	2	3,74-3,96 3,85±0,11	0,0242	4,041
M3M3	5	5,63-5,8 5,71±0,035	0,0061	1,371	10	5,27-5,74 5,58±0,049	0,024	2,778	4	5,72-5,92 5,82±0,045	0,008	1,54	2	5,66-5,83 5,75±0,085	0,0145	2,092	2	5,44-5,76 5,6±0,16	0,0512	4,041
C1M3	5	4,97-5,11 5,06±0,024	0,0029	1,064	10	4,84-5,23 5,07±0,041	0,0165	2,537	4	5,15-5,71 5,32±0,134	0,0716	5,033	2	5,04-5,05 5,05±0,005	0	0,14	2	5,13-5,22 5,18±0,045	0,004	1,23
IM3	5	6,03-6,22 6,12±0,037	0,007	1,366	10	5,9-6,32 6,17±0,038	0,0143	1,935	4	6,23-6,34 6,28±0,028	0,0031	0,885	2	6,04-6,1 6,07±0,03	0,0018	0,699	2	6,1-6,28 6,19±0,09	0,0162	2,056
C	5	0,7-0,73 0,71±0,005	0,0001	1,539	10	0,66-0,77 0,72±0,01	0,0011	4,627	4	0,62-0,72 0,69±0,023	0,002	6,583	2	0,75-0,78 0,77±0,015	0,0005	2,773	2	0,73-0,74 0,74±0,005	0,0001	0,962
M3L	5	0,69-0,72 0,7±0,005	0,0001	1,561	10	0,68-0,76 0,73±0,008	0,0006	3,417	4	0,67-0,74 0,7±0,09	0,0004	2,714	2	0,74-0,77 0,76±0,015	0,0005	2,81	2	0,73-0,76 0,75±0,015	0,0005	2,847
M3W	5	0,91-1 0,94±0,019	0,0018	4,532	10	0,91-1,02 0,96±0,01	0,001	3,257	4	0,91-0,99 0,94±0,018	0,0013	3,786	2	0,96-0,97 0,97±0,005	0,0001	0,733	2	0,93-1 0,97±0,035	0,0024	5,129
MdL	4	9,76-9,92 9,86±0,032	0,0051	0,722	10	9,13-10,32 9,75±0,099	0,0988	3,223	4	10,07-10,28 10,18±0,052	0,0107	1,016	2	9,64-9,88 9,76±0,12	0,0288	1,739	2	9,8-10,05 9,93±0,125	0,0313	1,781
MdH	4	2,94-3,03 2,99±0,02	0,0015	1,31	9	2,81-3,18 2,98±0,037	0,0126	3,765	4	3,07-3,9 3,33±0,192	0,1473	11,524	2	2,97-2,98 2,98±0,005	0	0,238	1	2,73 -	-	-

Таблица В1. Средние значения краниометрических признаков для региональных выборок восточной нощницы (продолжение)

	<i>ZEA</i>				<i>AMU</i>				<i>KOM</i>				<i>KIT</i>			
	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV
CBL	9	13,16-13,87 13,43±0,066	0,039	1,471	6	13,68-14,5 14,09±0,131	0,1034	2,283	8	13,78-14,77 14,15±0,111	0,0985	2,218	2	12,97-13,62 13,3±0,325	0,2112	3,457
CCL	9	12,28-12,87 12,47±0,061	0,0333	1,464	6	12,81-13,75 13,39±0,133	0,1065	2,438	8	13,3-13,85 13,59±0,063	0,0319	1,316	2	12,25-12,73 12,49±0,24	0,1152	2,718
MW	9	7,34-7,75 7,58±0,039	0,0139	1,557	6	7,45-7,77 7,63±0,048	0,0135	1,525	8	7,46-7,98 7,69±0,06	0,0288	2,028	2	7,29-7,68 7,49±0,195	0,076	3,684
BCW	9	7,18-7,5 7,39±0,042	0,016	1,713	6	7,41-7,66 7,53±0,042	0,0108	1,378	8	7,14-7,82 7,47±0,069	0,0382	2,615	2	7,07-7,46 7,27±0,195	0,0761	3,796
BCH	9	5,11-5,6 5,35±0,051	0,0233	2,853	6	5,28-5,58 5,4±0,045	0,0123	2,059	8	5,15-5,35 5,28±0,021	0,0035	1,128	2	5,06-5,37 5,22±0,155	0,0481	4,203
IOW	9	3,53-4,04 3,77±0,056	0,0284	4,47	6	3,76-4,22 3,94±0,066	0,0258	4,079	7	3,83-4,16 3,95±0,045	0,0144	3,044	2	3,89-4,01 3,95±0,06	0,0072	2,148
RL	9	5,48-6,41 5,9±0,101	0,0924	5,156	6	5,8-6,25 6,0±0,061	0,0224	2,495	8	5,75-6,29 6,04±0,076	0,0468	3,581	2	5,11-5,36 5,24±0,125	0,0313	3,377
RW	9	4,59-4,89 4,76±0,03	0,0083	1,907	6	4,57-4,98 4,72±0,066	0,026	3,416	7	4,86-5,13 4,99±0,04	0,011	2,105	2	4,67-4,89 4,78±0,11	0,0242	3,255
C1C1	9	3,71-3,92 3,81±0,021	0,0041	1,674	6	3,6-4,76 3,97±0,169	0,1715	10,432	8	3,66-4,02 3,89±0,041	0,0137	3,002	2	3,95-3,97 3,96±0,01	0,0002	0,357
M3M3	9	5,38-5,68 5,54±0,038	0,0127	2,037	6	5,39-6,34 5,67±0,146	0,1283	6,32	8	5,51-5,97 5,7±0,057	0,0262	2,838	2	5,51-5,57 5,54±0,03	0,0018	0,766
C1M3	9	4,99-5,26 5,08±0,027	0,0067	1,613	6	3,94-5,04 4,69±0,163	0,1596	8,521	8	4,9-5,16 5,05±0,034	0,0091	1,894	2	5,04-5,18 5,11±0,07	0,0098	1,937
IM3	9	6-6,34 6,17±0,036	0,0115	1,735	6	5,36-6,2 5,92±0,118	0,0829	4,868	8	5,78-6,38 6,08±0,059	0,0281	2,758	2	6,11-6,2 6,16±0,045	0,004	1,04
C	9	0,63-0,74 0,69±0,012	0,0013	5,251	6	0,59-0,87 0,74±0,04	0,0094	13,143	8	0,67-0,9 0,77±0,025	0,005	9,154	2	0,76-0,77 0,77±0,005	0,0001	0,924
M3L	9	0,7-0,82 0,74±0,016	0,0024	6,646	6	0,72-0,95 0,81±0,032	0,0063	9,776	8	0,81-0,92 0,86±0,012	0,0012	4,1	2	0,7-0,77 0,74±0,035	0,0025	6,734
M3W	9	0,91-0,99 0,95±0,09	0,0008	2,974	6	0,89-1,07 1,01±0,027	0,0042	6,44	8	0,91-1,14 1,03±0,027	0,0059	7,521	2	0,94-1 0,97±0,03	0,0018	4,374
MdL	9	9,31-10,14 9,78±0,102	0,094	3,136	6	9,33-10,28 9,74±0,132	0,1052	3,329	8	9,33-9,96 9,73±0,08	0,051	2,321	2	9,64-10,08 9,86±0,22	0,0986	3,155
MdH	9	2,85-3,12 2,94±0,031	0,0086	3,156	6	2,87-3,31 3,04±0,065	0,0256	5,264	8	3,07-3,18 3,14±0,011	0,001	1,004	2	2,79-2,83 2,81±0,02	0,0008	1,007

Таблица В1. Средние значения краниометрических признаков для региональных выборок восточной нощницы (окончание)

	<i>HAS</i>				<i>PRI</i>				<i>SAH</i>				<i>KUR</i>			
	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV
CBL	18	12,83-14,36 13,81±0,081	0,1189	2,497	18	13,03-13,84 13,47±0,049	0,0435	1,548	5	13,02-13,45 13,15±0,078	0,0312	1,322	3	12,72-13,26 13,05±0,168	0,0849	2,233
CCL	18	12,58-13,76 13,23±0,084	0,1276	2,7	18	12,15-12,98 12,6±0,052	0,0496	1,768	5	12,18-12,58 12,31±0,076	0,0285	1,372	3	11,87-12,42 12,2±0,169	0,0858	2,401
MW	18	7,27-7,94 7,58±0,043	0,0336	2,418	18	7,4-7,88 7,63±0,035	0,0219	1,939	5	7,36-7,43 7,41±0,013	0,0009	0,398	3	7,33-7,39 7,35±0,019	0,001	0,437
BCW	18	7,13-7,7 7,48±0,037	0,0242	2,08	18	7,14-7,67 7,36±0,031	0,0172	1,781	5	7,06-7,11 7,08±0,009	0,0004	0,293	3	7,07-7,29 7,15±0,069	0,0142	1,668
BCH	18	4,84-5,56 5,21±0,045	0,0357	3,364	18	5,18-6,37 5,44±0,075	0,1025	5,882	5	5,26-5,35 5,3±0,016	0,0013	0,686	3	5,16-5,26 5,21±0,05	0,005	1,357
IOW	18	3,58-4,23 3,93±0,034	0,0207	3,66	18	3,69-4,12 3,93±0,03	0,0159	3,208	5	3,82-3,91 3,86±0,015	0,0012	0,887	3	3,58-3,69 3,63±0,032	0,003	1,516
RL	18	5,25-6,51 5,97±0,077	0,1096	5,55	18	5,25-6,16 5,57±0,066	0,0786	5,035	5	5,14-5,45 5,29±0,058	0,0168	2,449	3	5,08-5,37 5,26±0,09	0,024	2,949
RW	18	4,47-5,53 4,094±0,052	0,049	4,48	18	4,52-4,98 4,79±0,029	0,0153	2,582	5	4,65-4,89 4,76±0,05	0,0123	2,326	3	4,74-4,85 4,81±0,035	0,0037	1,265
C1C1	18	3,43-4,0 3,71±0,039	0,0272	4,443	18	3,73-4,1 3,92±0,022	0,0084	2,344	5	3,66-3,86 3,79±0,037	0,0068	2,183	3	3,6-3,78 3,72±0,058	0,0102	2,722
M3M3	18	5,19-5,77 5,48±0,04	0,0284	3,073	18	5,44-5,87 5,69±0,027	0,0127	1,983	5	5,42-5,66 5,51±0,041	0,0084	1,643	3	5,36-5,53 5,46±0,052	0,0082	1,661
C1M3	18	4,48-5,18 4,8±0,048	0,0409	4,215	18	5,02-5,33 5,17±0,018	0,0059	1,482	5	4,85-5,2 5±0,061	0,0185	2,723	3	4,85-5,11 4,96±0,077	0,0177	2,683
IM3	18	5,6-6,33 5,99±0,044	0,0356	3,149	18	6,04-6,42 6,19±0,027	0,0136	1,885	5	5,91-6,3 6,03±0,073	0,0267	2,709	3	5,75-6,11 5,93±0,104	0,0324	3,035
C	18	0,62-0,93 0,74±0,018	0,0057	10,229	18	0,57-0,8 0,73±0,014	0,0035	8,111	5	0,68-0,75 0,73±0,012	0,0007	3,722	3	0,68-0,74 0,71±0,017	0,0009	4,225
M3L	18	0,73-0,93 0,82±0,017	0,0049	8,555	18	0,7-0,98 0,79±0,019	0,0064	10,121	5	0,69-0,74 0,71±0,008	0,0003	2,544	3	0,7-0,73 0,72±0,01	0,0003	2,406
M3W	18	0,9-1,19 1,04±0,017	0,0054	7,047	18	0,88-1,12 0,98±0,015	0,0039	6,341	5	0,97-1 0,99±0,005	0,0001	1,156	3	0,95-0,98 0,96±0,009	0,0002	1,586
MdL	18	9,17-10,08 9,7±0,053	0,0503	2,314	18	9,75-10,23 9,94±0,028	0,0144	1,206	5	9,54-9,82 9,64±0,048	0,0114	1,109	3	9,38-9,94 9,71±0,17	0,0869	3,036
MdH	3	2,78-2,99 2,88±0,061	0,011	3,643	18	2,84-3,89 3,06±0,055	0,0542	7,619	5	2,72-2,99 2,91±0,051	0,0132	3,948	2	2,9-2,93 2,92±0,015	0,0005	0,728

Примечание: В таблице приведены: Lim – размах изменчивости, M±m – среднее значение и ошибка среднего, N – число особей в выборке, σ – дисперсия и CV – коэффициент вариации. Расшифровку краниометрических параметров см. в главе «Материалы и методы».

Таблица В2. Попарное сравнение региональных выборок (начало).

	CBL	CCL	MW	BCW	BCH	IOW	RL	RW	C ¹ C ¹	M ³ M ³	C ¹ M ³	IMЗ	C	M ³ L	M ³ W	MdL	MdH
PRI/HAS	<0.01	<0.01		<0.05	<0.05		<0.01	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01			<0.05	<0.01	
PRI/ZEA						<0.05	<0.01		<0.01	<0.01	<0.01						
PRI/CHI									нет значимых отличий								
PRI/TYV	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01				<0.01					<0.05			<0.01	
PRI/ALT								<0.01		<0.05	<0.05		<0.05			<0.05	
PRI/KAZ						<0.01					<0.01		<0.05				
PRI/MON											<0.05						
PRI/KIT									нет значимых отличий								
PRI/SAH	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01			<0.05		<0.01	<0.05	<0.01	<0.05					<0.01
PRI/KUR	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05		<0.01			<0.01	<0.01	<0.01	<0.01			<0.05		
PRI/KOM	<0.01	<0.01					<0.01	<0.01			<0.01		<0.05			<0.01	
PRI/AMU	<0.01	<0.01		<0.01			<0.01				<0.01	<0.01				<0.05	
HAS/ZEA						<0.05		<0.05			<0.01	<0.05		<0.01	<0.01		
HAS/CHI		<0.05		<0.05							<0.05						
HAS/TYV			<0.01					<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	
HAS/ALT	<0.05	<0.01			<0.01		<0.01		<0.05		<0.01	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01		
HAS/KAZ		<0.01				<0.05	<0.01		<0.05	<0.01	<0.05		<0.01	<0.01			
HAS/MON		<0.01								<0.05							
HAS/KIT		<0.05									<0.05						
HAS/SAH	<0.01	<0.01		<0.01			<0.01						<0.01				
HAS/KUR	<0.01	<0.01		<0.01		<0.01	<0.01						<0.05				
HAS/KOM	<0.05	<0.05							<0.05	<0.01	<0.01						<0.01
HAS/AMU					<0.05			<0.05	<0.05								
ZEA/CHI									нет значимых отличий								
ZEA/TYV	<0.05	<0.01	<0.01	<0.05		<0.05		<0.01	<0.01	<0.01	<0.05					<0.05	<0.05
ZEA/ALT						<0.05	<0.01	<0.01									
ZEA/KAZ							<0.01		<0.05	<0.05							
ZEA/MON										<0.05			<0.05				
ZEA/KIT							<0.05		<0.05				<0.05				
ZEA/SAH	<0.05		<0.05	<0.01			<0.01								<0.05		
ZEA/KUR	<0.05		<0.05	<0.05			<0.01				<0.05						
ZEA/KOM	<0.01	<0.01				<0.05		<0.01		<0.05			<0.01	<0.01	<0.05		<0.01
ZEA/AMU	<0.01	<0.01		<0.05							<0.05	<0.05		<0.05	<0.05		

Таблица В2. Попарное сравнение региональных выборок (продолжение).

	CBL	CCL	MW	BCW	BCH	IOW	RL	RW	C ¹ C ¹	M ³ M ³	C ¹ M ³	IM3	C	M ³ L	M ³ W	MdL	MdH
CHI/TYV								<0.05	<0.05					<0.05			
CHI/ALT									<0.05								
CHI/KAZ													<0.05	<0.05			<0.01
CHI/MON																	<0.05
CHI/KIT																	
CHI/SAH					<0.01											<0.05	
CHI/KUR																	
CHI/KOM	<0.05	<0.01			<0.05		<0.01	<0.05						<0.01			<0.01
CHI/AMU	<0.05	<0.05		<0.05	<0.05		<0.01										
TYV/ALT			<0.05	<0.05			<0.05			<0.05	<0.05			<0.05		<0.05	<0.05
TYV/KAZ	<0.05	<0.05		<0.05		<0.05	<0.01					<0.05				<0.01	
TYV/MON	<0.05	<0.05					<0.05	<0.05				<0.01		<0.05		<0.05	
TYV/KIT							<0.01	<0.05		<0.05							
TYV/SAH	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01			<0.01	<0.01	<0.01	<0.01			<0.05		<0.05	<0.01	
TYV/KUR	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05		<0.05	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01			<0.05			<0.05	
TYV/KOM		<0.01	<0.05				<0.05				<0.05	<0.05		<0.01		<0.01	
TYV/AMU		<0.05	<0.01				<0.01	<0.01			<0.05	<0.05		<0.05		<0.05	
ALT/KAZ						<0.05								<0.05			
ALT/MON																	
ALT/KIT																	
ALT/SAH	<0.05		<0.01	<0.01				<0.01									
ALT/KUR	<0.05		<0.01	<0.01		<0.01		<0.05				<0.05					
ALT/KOM	<0.01	<0.01			<0.05		<0.01						<0.05	<0.01	<0.05		<0.05
ALT/AMU	<0.01	<0.01					<0.01	<0.01			<0.05	<0.05		<0.01			
KAZ/MON													<0.01	<0.01			
KAZ/KIT										<0.05			<0.01				<0.01
KAZ/SAH	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01					<0.05	<0.05						<0.01	
KAZ/KUR	<0.05	<0.05	<0.05						<0.05	<0.01							
KAZ/KOM	<0.01	<0.01				<0.05	<0.01							<0.01			<0.01
KAZ/AMU	<0.01	<0.01		<0.05			<0.01							<0.05			

Таблица В2. Попарное сравнение региональных выборок (окончание).

	CBL	CCL	MW	BCW	BCH	IOW	RL	RW	C ¹ C ¹	M ³ M ³	C ¹ M ³	IM3	C	M ³ L	M ³ W	MdL	MdH
MON/KIT																	<0.05
MON/SAH			<0.01	<0.01										<0.05			
MON/KUR			<0.01			<0.05											
MON/KOM	<0.01	<0.01					<0.01							<0.01			<0.01
MON/AMU	<0.05	<0.01					<0.01										
KIT/SAH											<0.05						
KIT/KUR						<0.05					<0.05						
KIT/KOM	<0.05	<0.01					<0.01							<0.01			<0.01
KIT/AMU	<0.05	<0.05					<0.01										
SAH/KUR			<0.05			<0.01											
SAH/KOM	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		<0.01	<0.01							<0.01			<0.01
SAH/AMU	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01			<0.01							<0.05			
KUR/KOM	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05		<0.01	<0.01	<0.05	<0.05	<0.05				<0.01			<0.01
KUR/AMU	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		<0.05	<0.01										
AMU/KOM					<0.05			<0.01				<0.05					

Примечание: жирным шрифтом выделены выборки, которые слабо различались по Т-критериям. Расшифровку краниометрических параметров см. в главе «Материалы и методы».

Таблица В3. Таблица средних значений краниометрических параметров для региональных обобщённых выборок (начало).

	<i>SIB</i>				<i>TYV</i>				<i>ZEA</i>				<i>AMUR</i>				<i>MAN</i>			
	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV
CBL	15	12,85-13,89 13,49±0,058	0,051	1,675	4	13,53-13,94 13,77±0,089	0,0316	1,29	9	13,16-13,87 13,43±0,066	0,039	1,471	14	13,68-14,77 14,12±0,082	0,0938	2,169	24	12,97-13,84 13,44±0,045	0,0476	1,624
CCL	15	11,9-13,03 12,6±0,064	0,0606	1,954	4	12,62-13,11 12,87±0,101	0,0407	1,567	9	12,28-12,87 12,47±0,061	0,0333	1,464	14	12,81-13,85 13,5±0,07	0,0687	1,942	24	12,15-12,98 12,57±0,043	0,0454	1,695
MW	14	7,43-7,93 7,7±0,042	0,0244	2,027	4	7,7-8,11 7,96±0,095	0,036	2,383	9	7,34-7,75 7,58±0,039	0,0139	1,557	14	7,45-7,98 7,66±0,039	0,0215	1,913	24	7,29-7,88 7,62±0,032	0,0239	2,031
BCW	15	7,15-7,62 7,39±0,034	0,0175	1,788	4	7,29-7,88 7,65±0,126	0,0633	3,29	9	7,18-7,5 7,39±0,042	0,016	1,713	14	7,14-7,82 7,5±0,043	0,0257	2,138	24	7,07-7,67 7,35±0,029	0,0204	1,945
BCH	15	5,08-6,15 5,43±0,064	0,0609	4,54	4	5,06-5,6 5,33±0,111	0,0497	4,181	9	5,11-5,6 5,35±0,051	0,0233	2,853	14	5,15-5,58 5,33±0,027	0,0105	1,921	24	5,06-6,37 5,39±0,061	0,0881	5,509
IOW	15	3,5-4,08 3,87±0,045	0,0303	4,494	4	3,8-4,17 4,02±0,088	0,0309	4,375	9	3,53-4,04 3,77±0,056	0,0284	4,47	13	3,76-4,22 3,94±0,037	0,018	3,402	24	3,68-4,12 3,93±0,025	0,0152	3,139
RL	15	5,15-5,86 5,41±0,047	0,0331	3,36	4	5,63-5,77 5,69±0,03	0,0036	1,051	9	5,48-6,41 5,9±0,101	0,0924	5,156	14	5,75-6,29 6,03±0,049	0,0342	3,07	24	5,11-6,16 5,52±0,054	0,0699	4,792
RW	15	4,6-5,09 4,96±0,036	0,0199	2,843	4	4,99-5,18 5,08±0,041	0,0066	1,602	9	4,59-4,89 4,76±0,03	0,0083	1,907	13	4,57-5,13 4,86±0,052	0,0356	3,877	24	4,52-4,98 4,79±0,025	0,0147	2,527
C1C1	14	3,66-4,08 3,9±0,029	0,0116	2,76	4	3,92-4,16 4,02±0,051	0,0105	2,552	9	3,71-3,92 3,81±0,021	0,0041	1,674	14	3,6-4,76 3,93±0,073	0,0749	6,972	24	3,73-4,1 3,91±0,019	0,0083	2,337
M3M3	15	5,27-5,8 5,62±0,037	0,021	2,576	4	5,72-5,92 5,82±0,045	0,008	1,54	9	5,38-5,68 5,54±0,038	0,0127	2,037	14	5,39-6,34 5,69±0,068	0,0638	4,441	24	5,44-5,87 5,68±0,025	0,0151	2,163
C1M3	15	4,84-5,23 5,07±0,028	0,0115	2,115	4	5,15-5,71 5,32±0,134	0,0716	5,033	9	4,99-5,26 5,08±0,027	0,0067	1,613	14	3,96-5,16 4,89±0,085	0,1003	6,472	24	5,02-5,33 5,16±0,016	0,0064	1,555
IM3	15	5,9-6,32 6,15±0,028	0,0119	1,771	4	6,23-6,34 6,28±0,028	0,0031	0,885	9	6-6,34 6,17±0,036	0,0115	1,735	14	5,36-6,38 6,01±0,062	0,0541	3,869	24	6,04-6,42 6,17±0,022	0,0121	1,781
C	15	0,66-0,77 0,71±0,007	0,0007	3,81	4	0,62-0,72 0,69±0,023	0,002	6,583	9	0,63-0,74 0,69±0,012	0,0013	5,251	14	0,59-0,9 0,76±0,022	0,0066	10,723	24	0,57-0,8 0,74±0,011	0,0028	7,168
M3L	15	0,68-0,76 0,72±0,006	0,0006	3,458	4	0,67-0,71 0,7±0,009	0,0004	2,714	9	0,7-0,82 0,74±0,016	0,0024	6,646	14	0,72-0,95 0,84±0,016	0,0036	7,152	24	0,7-0,98 0,78±0,015	0,0053	9,316
M3W	15	0,91-1,02 0,95±0,009	0,0012	3,627	4	0,91-0,99 0,94±0,018	0,0013	3,786	9	0,91-0,99 0,95±0,009	0,0008	2,974	14	0,89-1,14 1,02±0,019	0,0049	6,874	24	0,88-1,12 0,98±0,011	0,0031	5,709
MdL	14	9,13-10,32 9,78±0,072	0,0721	2,744	4	10,07-10,28 10,18±0,052	0,0107	1,016	9	9,31-10,14 9,78±0,102	0,094	3,136	14	9,33-10,28 9,74±0,07	0,068	2,677	24	9,64-10,23 9,91±0,029	0,0201	1,431

Таблица В3. Таблица средних значений краниометрических параметров для региональных обобщённых выборок (конец)

	<i>HAS</i>				<i>OVA</i>			
	N	Lim M+m	σ	CV	N	Lim M+m	σ	CV
CBL	18	12,83-14,36 13,81±0,081	0,1189	2,497	8	12,72-13,45 13,11±0,074	0,0439	1,599
CCL	18	12,58-13,76 13,23±0,084	0,1276	2,7	8	11,87-12,58 12,27±0,074	0,0438	1,705
MW	18	7,27-7,94 7,58±0,043	0,0336	2,418	8	7,33-7,43 7,39±0,015	0,0017	0,56
BCW	18	7,13-7,7 7,48±0,037	0,0242	2,08	8	7,06-7,29 7,11±0,027	0,0059	1,082
BCH	18	4,84-5,56 5,21±0,045	0,0357	3,624	7	5,16-5,35 5,27±0,023	0,0036	1,131
IOW	18	3,58-4,23 3,93±0,034	0,0207	3,66	8	3,58-3,91 3,77±0,043	0,0151	3,251
RL	18	5,22-6,51 5,97±0,078	0,1096	5,55	8	5,08-5,45 5,28±0,046	0,0167	2,45
RW	18	4,47-5,53 4,94±0,052	0,049	4,48	8	4,65-4,89 4,78±0,033	0,0087	1,95
C1C1	18	3,43-4 3,71±0,039	0,0272	4,443	8	3,6-3,86 3,76±0,032	0,0081	2,396
M3M3	18	5,19-5,77 5,48±0,04	0,0284	3,073	8	5,36-5,66 5,53±0,035	0,0101	1,815
C1M3	18	4,48-5,18 4,8±0,048	0,0409	4,515	8	4,85-5,2 4,99±0,045	0,016	2,535
IM3	18	5,6-6,03 5,99±0,044	0,0356	3,149	8	5,75-6,3 5,99±0,058	0,0271	2,746
C	18	0,62-0,93 0,74±0,018	0,0057	10,229	8	0,68-0,75 0,72±0,01	0,0007	3,786
M3L	18	0,7-0,93 0,82±0,017	0,0049	8,555	8	0,69-0,74 0,72±0,006	0,0003	2,353
M3W	18	0,9-1,19 1,04±0,017	0,0054	7,047	8	0,95-1 0,98±0,006	0,0003	1,708
MdL	18	9,17-10,08 9,7±0,053	0,0503	2,314	8	9,38-9,94 9,67±0,064	0,0329	1,876

Примечание: В таблице приведены: Lim – размах изменчивости, M±m – среднее значение и ошибка среднего, N – число особей в выборке, σ – дисперсия и CV – коэффициент вариации. Расшифровку краниометрических параметров см. в главе «Материалы и методы».