

УДК 599.426(470.40):575.17

**ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ
EPTESICUS NILSSONII (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE),
ЗИМУЮЩИХ В ИСКУССТВЕННЫХ ПОДЗЕМЕЛЬЯХ
САМАРСКОЙ ЛУКИ**

© 2014 Ф.З. Баишев¹, Д.Г. Смирнов¹, В.П. Вехник²

¹Пензенский государственный университет, г. Пенза (Россия)

²Жигулевский заповедник, г. Жигулевск, п/о Бахилова Поляна (Россия)

Поступила 21.07.2014

Изучение генетического разнообразия популяций *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera: Vespertilionidae), на зимовке в искусственных подземельях Самарской Луки. Используя метод ISSR-PCR анализа изучено генетическое разнообразие и определен уровень генетической дифференциации популяций в *E. nilssonii*, в условиях Жигулевских гор. В ходе анализа выяснилось, что популяции рукокрылых, характеризуются относительно высоким уровнем генетического разнообразия ($R_{95}=68,1\%$). Для отдельных групп населения рукокрылых, зимующих в различных подземельях, показана умеренная репродуктивная изоляция. Ключевые слова: *Eptesicus nilssonii*, анализ ISSR-PCR, генетическое разнообразие, межпопуляционная дифференциация.

Baishev F.Z., Smirnov D.G., Vehnik V.P. Study of the genetic diversity of populations *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera: Vespertilionidae), wintering in artificial dungeons Samara Luka – The study of genetic diversity of populations of *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera: Vespertilionidae), wintering in artificial dungeon Samarskaya Luka. Method ISSR-PCR analysis studied the genetic diversity and determined the level of genetic differentiation of populations in *E. nilssonii*, live in the Zhiguli Mountains. During the analysis revealed that populations of the species characterized by a relatively high level of genetic diversity ($R_{95}=68,1\%$). For individual populations, which are wintering in different dungeons, revealed moderate reproductive isolation. It is assumed that its violation is possible in the autumn period, when the animals are going to wintering grounds.

Key words: *Eptesicus nilssonii*, ISSR-PCR analysis, genetic diversity, interpopulation differentiation.

ВВЕДЕНИЕ

Рукокрылые – это одна из групп млекопитающих, которая в последнее десятилетие активно рассматривается как объект молекулярно-генетических исследований (Mayer, Helversen, 2001; Kiefer et al., 2002; Hooper, Busscher, 2003; Spitzenberger et al., 2006; Furmankiewicz, Altringham, 2007; Artyushin et

Баишев Фарид Зиннатович, аспирант кафедры «Зоология и экология», kapitannemo58@yandex.ru;
Смирнов Дмитрий Григорьевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Зоология и экология», eptesicus@mail.ru;
Вехник Владимир Петрович, старший научный сотрудник, vekhnik@mail.ru

al., 2009, 2012; Atterby et al., 2009; Smith et al., 2011; Kruskop et al., 2012; Bogdanowicz et al., 2013 и др.). Это обусловлено тем, что в ее пределах до сих пор остается весьма спорным систематическое положение многих таксонов, как видового, так и надвидового ранга, а также их родственные отношения. Эффективное же решение этих вопросов зачастую становится возможным лишь благодаря применению ряда молекулярных технологий. С другой стороны, при изучении рукокрылых весьма актуальными продолжают быть популяционные исследования. Выведение их на молекулярно-генетический уровень расширяет спектр решаемых вопросов и позволяет выявить не только генетический полиморфизм популяций, но и провести качественную оценку уровня их дифференциации, а, следовательно, понять процесс формирования популяций у этих животных. Если исследования первого рода для некоторых видов рукокрылых России уже известны (Матвеев, 2006; Artyushin et al., 2009, 2012; Kruskop et al., 2012), то второго – никогда не проводили.

Eptesicus nilssonii (Keyseling et Blasius, 1983) – широко распространенный в Евразии вид. В Европейской части России населяет хвойные, смешанные и отчасти лиственные леса северной и средней полосы, где приурочен к горам, крупным возвышенностям и выраженным карстовым формам рельефа (Ильин, Смирнов, 2000). В Поволжье южным пределом распространения вида является территория Самарской Луки, где он находит оптимальные условия для своего существования (Смирнов и др., 2013). *E. nilssonii* ведет оседлый образ жизни. На Самарской Луке местами его массовых зимовок служат системы искусственных подземелий, расположенные на правобережных склонах Жигулевских гор. В разные годы здесь на зимовке отмечается от 700 до 1000 особей (Смирнов и др., 2007, Смирнов, Вехник, 2011). По окончании зимовки значительная часть особей покидает подземелья и, не совершая дальних перекочевок, рассредоточивается в оптимальных для летнего обитания биотопах в непосредственной близости от мест зимовок. Максимальное расстояние, на которое удаляются рукокрылые, составляет 15 км, что подтверждается результатами кольцевания (Смирнов, Вехник, 2012). В районах летнего обитания встречаются как репродуктивные самки, так и взрослые самцы (Смирнов, Вехник, 2014). Летними убежищами служат дупла деревьев, из которых чаще всего животные встречаются в липе, реже клене и дубе.

Нами установлено (Смирнов и др., 2007), что рукокрылые крайне консервативны к своим зимовочным подземельям. Выбрав один раз одно из них, они никогда более не встречаются в других даже близко расположенных подземных убежищах. Предполагается, что в каждом таком подземелье на зимовку с обширной территории собирается отдельная популяция. Так как спаривание преимущественно происходит на местах зимовок, то вся зимующая на Самарской Луке группировка вида должна быть генетически неоднородна, и структурирована, то есть каждая популяция будет иметь определенную степень репродуктивной изоляции от таких же популяций из других подземелий. При этом мы не исключали, что между популяциями возможен поток генов.

Цель нашей работы – изучить генетическое разнообразие и выявить степень дифференциации популяций *E. nilssonii*, зимующих в разных искусственных подземельях Самарской Луки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили образцы тканей (биопсия перепонки крыла) *E. nilssonii*, собранных в зимние периоды 2011-2013 гг. Животных добывали в местах их массовых зимовок, которые локализованы в четырех штольнях: Бурлак, Попова, СХТ-1 и Верблюд. Штольни – это системы искусственных подземелий, выработанных в первой половине XX века в правобережных волжских склонах Жигулевских гор. Подземелья находятся на расстоянии друг от друга от 1 (СХТ-1–Попова) до 6 км (Бурлак–Верблюд). Всего образцов тканей от 38 особей *E. nilssonii*.

Для выделения ДНК из образцов тканей применяли стандартный метод фенольной депротеинизации с использованием протеиназы К и последующим осаждением этиловым спиртом.

Анализ полиморфизма ДНК проведен посредством PCR с использованием межмикросателлитных ISSR-маркеров (Inter-Simple Sequence Repeat). Микросателлитные последовательности окружают многие гены и могут быть использованы как якорные последовательности к этим генам. На этой особенности основан ISSR-метод, в котором применяется один или несколько праймеров длиной в 15–24 нуклеотида (Zietkiewicz et al., 1994). В работе нами было протестировано 3 праймера: ISSR-1 ((AG)₉C), ISSR-2 ((GA)₉C) и ISSR-6 ((ACC)₆G). Один ампликон спектра рассматривали как один локус ДНК. Полиморфизм такого локуса оценивали по наличию-отсутствию ампликона соответствующей длины в спектрах. Программа амплификации включала в себя первичную денатурацию (t=94°C, 2 мин.); 30 циклов денатурации (t=94°C, 30 с.), отжига праймера (t=55°C, 30 с.), элонгации цепи (t=72°C, 2 мин.); а также финальную элонгацию (t=72°C, 10 мин.), ПЦР проводили на амплификаторе «Герцик» («ДНК-технологии», Россия). Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 6-процентном полиакриламидном геле, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в геледокументирующей системе «BioRad» (США).

Для количественной оценки степени полиморфизма, полученные данные были представлены в виде матрицы бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие в ISSR-спектре одинаковых по размеру ампликонов рассматривали соответственно как состояние 1 или 0. При этом учитывали только воспроизводимые в повторных экспериментах фрагменты.

Анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК проводили с помощью компьютерной программы PopGen32 и специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel с определением доли полиморфных локусов (при P≤0,95), общего числа аллелей (n_a), эффективного числа аллелей (n_e) (Zietkiewicz et al., 1994; Хедрик, 2003). В качестве показателей оценки генного разнообразия мы использовали такие параметры как: общее генное разно-

образии в суммарной выборке (H_T), среднее выборочное генное разнообразие по всем локусам (H_S) и показатель подразделенности популяций (G_{ST}) (Хедрик, 2003). Генетическое расстояние между популяциями оценивали по М. Нею (Nei, 1972). Также для выявления генетического разнообразия внутри и между популяциями в качестве альтернативной оценки вышеописанному методу был выбран информационный индекс Шеннона (Nei, 1987), традиционно применяемый для характеристики генетического разнообразия на популяционном уровне (Chalmers et al., 1992). Индекс разнообразия Шеннона рассчитывали в отдельности для каждой зимующей популяции (H_o), а также вычисляли среднее значение индекса для популяции (H_{pop}) и для суммарной выборки (H_{sp}). Долю внутривидового разнообразия определяли как H_{pop}/H_{sp} , а долю межвидового разнообразия как $(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$ (Боронникова и др., 2007). Для построения дендрограмм использовали программу Past 2.15.

Под популяцией у оседлого вида рукокрылых мы понимали совокупность особей одного вида, населяющих определенную местность, и собранных в одно время. При этом ключевой территорией считали конкретное место зимовки или отдельное подземелье (штольню), где на время холодного периода собирается почти весь половозрастной состав популяции и где большинство ее особей участвует в спаривании (Смирнов, 2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В пяти изученных популяциях выявлено 72 полиморфных фрагмента ДНК – ампликона, размер которых составляли от 200 до 800 пн. Общее число амплифицированных фрагментов ДНК в суммарной выборке *E. nilssonii* варьировало в зависимости от праймера: для ISSR1 – 21, для ISSR2 – 27 и для ISSR6 – 24.

Функцией от доли полиморфных локусов, числа аллелей на локус и выравнивания частот аллелей служит эффективное число аллелей (n_e) и, таким образом, оно является мерой генетического разнообразия популяции или вида. Эффективное число аллелей оценивает величину, обратную гомозиготности, и представляет собой такое число аллелей, при одинаковой частоте которых в популяции гетерозиготность будет равна фактической. Абсолютное число аллелей на локус (в нашем случае – на фрагмент ДНК) в суммарной выборке *E. nilssonii* составило $1,43 \pm 0,05$, а эффективное число аллелей на локус – $1,40 \pm 0,02$. Общее генное разнообразие в суммарной выборке (H_T), представляющее собой гетерозиготность, для популяций *E. nilssonii* составило 0,29, а среднее выборочное генное разнообразие по всем локусам (H_S), являющееся средней гетерозиготностью, составило 0,24. Таким образом, средняя гетерозиготность в изученных популяциях оказалось несколько ниже, чем в суммарной их выборке. Коэффициент подразделенности популяций (G_{ST}) показывает, что на межвидовую компоненту приходится всего 18,0% генетического разнообразия у *E. nilssonii*. Эти данные указывают на умеренную генетическую дифференциацию между популяциями.

Оценка внутри и межпопуляционного генетического разнообразия была проведена также на основе информационного индекса Шеннона (H_0). Наибольший показатель H_0 отмечен в популяции штольни Верблюд (0,40), тогда как минимальный в штольне Бурлак (0,35). Кроме того, для оценки характера изменения генетического разнообразия в популяциях по годам нами были взяты выборки из популяции *E. nilssonii* отдельно в 2011 и 2013 гг., зимующей в штольне Попова. Анализ выявил, что генетическое разнообразие этой популяции в 2013 г. по сравнению с 2011 г. снизился в 1,3 раза.

Использование кластерного анализа позволило провести сравнение степени генетического разнообразия в популяциях по трем ISSR маркерам (рис. 1). В ходе процедуры классификации выделено два кластера. Первый из них объединяет популяции, зимующих в штольнях Верблюд и Попова11, которые обладают не только наибольшим сходством, но наибольшим среди всех популяций генетическим разнообразием. К этой группе примыкает популяция из штольни Бурлак, имеющая относительно низкое разнообразие. Второй кластер сформирован выборками из популяций штольни СХТ-1 и штольни Попова13.

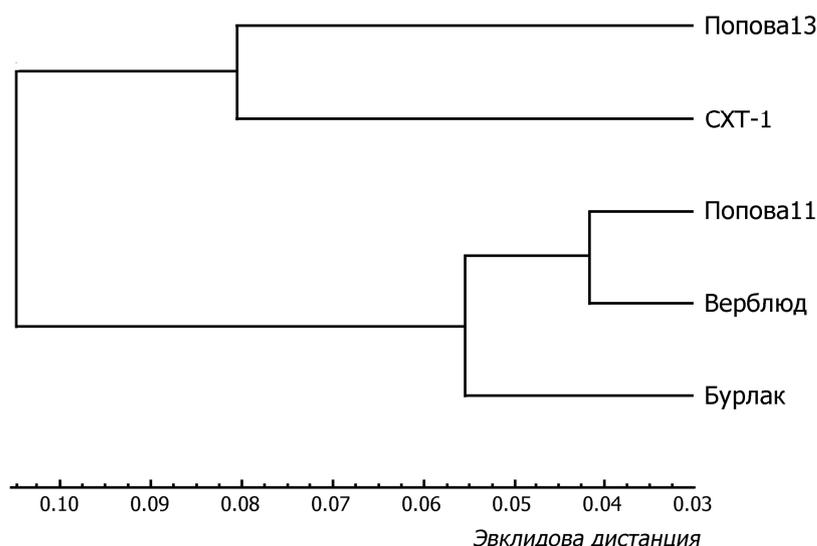


Рис. 1. Дендрограмма сходства популяций *Eptesicus nilssonii*, зимующих в пяти искусственных подземельях, построенная на основе значений генетического разнообразия по Nei (1973) трех ISSR маркеров (метод кластеризации UPGMA)

Расчет среднего значения индексов разнообразия Шеннона (H_{pop}) в популяциях *E. nilssonii*, зимующих во всех штольнях, составил 0,36, а индекса генетического разнообразия в суммарных выборках (H_{sp}) – 0,45. Таким образом, по данным ISSR-анализа следует, что большая часть генетического разнообразия приходится на внутривидовую изменчивость (80,0%) и значительно меньше на межпопуляционную (20,0%).

Оценка числа полиморфных локусов показала (таблица), что наименьшими показателями генетического полиморфизма обладают популяции *E. nilssonii*, зимующая в штольне Бурлак и штольне Попова в 2013 г. Самый вы-

сокий показатель полиморфизма был отмечен у популяции штольни Верблюд.

Таблица

Показатели генетического разнообразия в разных популяциях
Eptesicus nilssonii

	n_a	n_e	H_T	P	$P_{95}(\%)$
Бурлак	1,32	1,39	0,23	45	62,5
СХТ-1	1,42	1,40	0,24	47	65,3
Верблюд	1,57	1,43	0,26	56	77,8
Попова11	1,53	1,42	0,25	53	73,6
Попова13	1,31	1,33	0,20	44	61,1

Примечание: P – число полиморфных локусов, $P_{95}(\%)$ – процент полиморфных локусов.

Результаты расчета генетической дистанции отражены на дендрограмме (рис. 2). Как и ожидалось выборки, взятые в разные годы из популяции штольни Попова, оказались наиболее близкими. Популяция, зимующая в штольне Верблюд, выглядит генетически ближе к группе популяций из штолен СХТ-1 и Бурлак и находится на большем генетическом расстоянии от популяции штольни Попова. Однако при попарном сравнении популяция из штольни Верблюд демонстрирует минимальную дистанцию не только с СХТ-1, но и с популяцией из штольни Попова11, тогда как максимальную дистанцию имеет с Попова13. Популяция из штольни Бурлак оказалась максимально дистанцированной от популяции из штольни Попова.

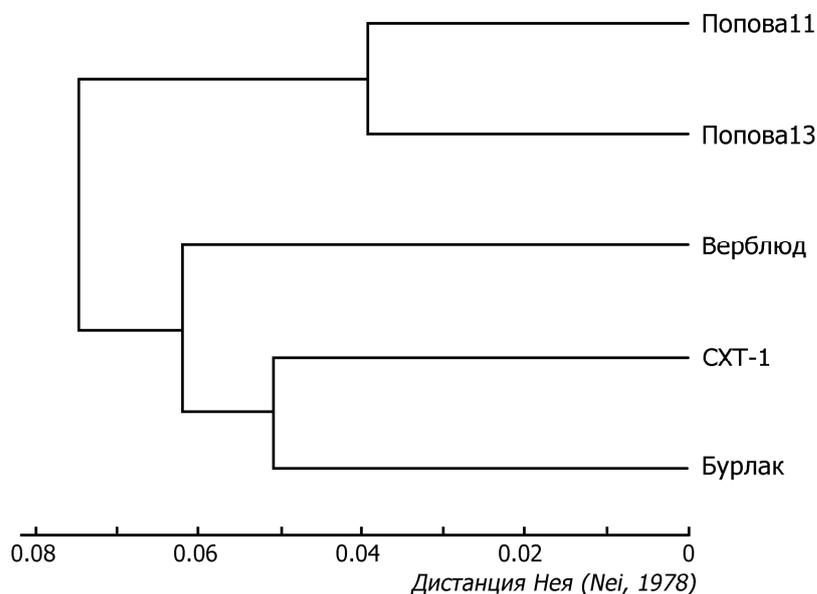


Рис. 2. Дендрограмма генетического сходства популяций *Eptesicus nilssonii*, зимующих в пяти искусственных подземельях (метод кластеризации UPGMA)

ОБСУЖДЕНИЕ

Для сохранения и прогнозирования существования природных популяций редких видов животных необходима организация комплексных биологических исследований, направленных на изучение динамики численности,

пространственной, возрастной и генетической структуры популяций. Оценку генетического разнообразия природных популяций рекомендуется проводить по возможно большему числу выявленных полиморфных фрагментов ДНК с использованием молекулярно-генетических методов исследования (Боронникова и др., 2014). В нашем случае для изучения генетической изменчивости популяций *E. nilssonii*, обитающих на крайне южной границе распространения вида, был использован ISSR-метод. Его преимущество основывается на том, что он обеспечивает высокую разрешающую способность, обладая при этом большой воспроизводимостью спектра из-за большой длины праймера и его комплементарности микросателлитному повтору (Zietkiewicz et al., 1994).

Полученные нами с помощью ISSR-анализа данные свидетельствуют об относительно высоком уровне генетической изменчивости популяций *E. nilssonii* ($P_{95}=68,1\%$), обитающих в условиях Самарской Луки. Известно, что высокий уровень полиморфизма часто характерен для широкоареальных видов, тогда как для редких эндемичных видов, как правило, – низкий уровень. В популяциях, которые обитают на краю ареалов, из-за действия комплекса ограничивающих факторов, также возможна фиксация низкого уровня полиморфизма. Относительно высокое генетическое разнообразие в исследованных нами популяциях *E. nilssonii* может быть объяснено наличием целого комплекса оптимальных для этого вида биотических и абиотических условий мест обитания, которые сложились в районе Жигулевских гор. Все эти факторы способствуют не только выживаемости вида на границе своего ареала, но и поддержанию его относительно высокой и стабильной численности в локальных условиях существования. Однако, как показывают наши исследования, такое разнообразие может быть неустойчивым, что демонстрирует изменение генетического разнообразия популяции, происходившее с 2011 по 2013 гг. в штольне Попова. Нам пока не до конца понятны истинные причины такого снижения генетического разнообразия в отдельно взятой популяции также как и неизвестны, происходят ли подобные изменения в других таких же популяциях этого вида.

Относительно небольшие показатели генетической дистанции, лежащие в пределах от 0,04 до 0,08, малое значение коэффициента подразделенности популяций и низкий уровень межпопуляционной изменчивости свидетельствует о слабой генетической дифференциации между исследуемыми популяциями вида, зимующих в пяти искусственных подземельях Самарской Луки. Такая ситуация может расцениваться неоднозначно. С одной стороны она может быть обусловлена наличием определенного потока генов между популяциями, который в целом может привести к увеличению генетического разнообразия и снижению межпопуляционной дифференциации. Поскольку из-за своей консервативности к своим зимним убежищам животные из разных мест зимовок не перемешиваются, то нарушение репродуктивной изоляции возможно лишь во время осенних перемещений на путях из районов летнего обитания к местам зимовок. В этом случае степень дифференциации популяций будет зависеть от уровня территориальной разобщенности в летний пе-

риод особей, принадлежащих разным популяциям, а также степени пересечения их миграционных путей.

С другой стороны, выявленные относительно небольшие показатели генетической дистанции у зимующих в разных штольнях группировок *E. nilssonii* вполне соответствуют популяционному уровню дифференциации и характерны для многих других видов животных и растений (Боронникова и др., 2007; Орешкова и др., 2012; Цвирка, Кораблев, 2012; Переверзева и др., 2013). Так, на примере длиннохвостого суслика (*Spermophilus undulatus* Pallas 1778) было показано, что ряду популяций этого вида также свойственна небольшая генетическая дистанция, даже не смотря на то, что они географически разобщены и поток генов между ними полностью исключен (Цвирка, Кораблев, 2012).

Таким образом, полученные данные дают основание полагать, что уровень генетической дифференциации между популяциями не достаточно мал, для того чтобы делать утверждение о таком потоке генов, который мог бы приводить к нарушению репродуктивной изоляции между зимующими популяциями и рассматривать их как одну слабо дифференцированную популяцию. На основании сказанного мы могли бы сделать предварительное заключение об умеренной репродуктивной изоляции у рассматриваемых популяций *E. nilssonii*, которые собираются на зимовку в разные искусственные подземелья Самарской Луки. Однако точную констатацию можно сделать лишь после того, когда полученные нами данные о генетической структуре популяций Самарской Луки будут сравнены с географически удаленными популяциями этого вида.

Наконец, относительно высокая численность *E. nilssonii* на Самарской Луке, которая обусловлена оптимальными условиями обитания и относительно высоким генетическим разнообразием изученных популяций, является, по-видимому, основой стабильного существования особей этого вида на южной границе своего ареала в пределах европейской части России.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 15-04-01055 а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Боронникова С.В., Кокаева З.Г., Гостимский С.А., Дрибноходова О.П., Тихомирова Н.Н. Анализ ДНК-полиморфизма реликтового вида Урала наперстянки крупноцветковой (*Digitalis grandiflora* Mill.) с помощью RAPID- и ISSR-маркеров // Генетика. 2007. Т. 43, № 5. С. 653-659.

Ильин В.Ю., Смирнов Д.Г. Особенности распространения оседлых видов рукокрылых (Chiroptera: Vespertilionidae) на востоке Русской равнины и в смежных регионах // Экология. 2000. № 2. С. 118-124.

Матвеев В.А. Систематика рукокрылых Старого Света по результатам исследования диспергированных повторов ДНК: Дис. ... канд. биол. наук: М., 2006. 145 с.

Орешкова Н.В., Белоконь М.М., Жамьянсурен С. Изменчивость ядерных микросателлитных локусов у лиственниц Гмелина (*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr.) и камчатской (*Larix kamtchatica* (Rupr.) Rupr.) // Хвойные бореальной зоны. 2012. № 1/2. С. 145-151.

Переверзева В.В., Примак А.А., Дубинин Е.А. Генетическая структура популяций красной полевки *Myodes* (= *Clethrionomys*) *rutilus* Pallas, 1779 Среднего Приохотья по данным об изменчивости нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 3. С. 435-443.

Смирнов Д.Г. Организация сообществ и популяций рукокрылых (Mammalia: Chiroptera) в условиях умеренно-континентального климата России: Дис. ... доктора биол. наук. Пенза, 2013. 299 с. – **Смирнов Д.Г., Вехник В.П., Курмаева Н.М., Шепелев А.А., Ильин В.Ю.** Видовая структура и динамика сообщества рукокрылых (Chiroptera: Vespertilionidae), зимующих в искусственных подземельях Самарской Луки // Изв. РАН. Сер. биол. 2007. № 5. С. 608-618. – **Смирнов Д.Г., Вехник В.П.** Численность и структура сообществ рукокрылых (Chiroptera: Vespertilionidae), зимующих в искусственных подземельях Самарской Луки // Экология. 2011. №1. С. 64-72. – **Смирнов Д.Г., Вехник В.П.** Особенности пространственного размещения половых групп у *Eptesicus nilssonii* на Самарской Луки // Актуальные проблемы современной териологии. Тез. докл. Всерос. науч. конф. Новосибирск: ООО «Сибрегион Инфо». 2012. С. 134. – **Смирнов Д.Г., Вехник В.П.** Соотношение полов и пространственная структура популяций оседлых видов рукокрылых (Chiroptera, Vespertilionidae) Среднего Поволжья // Зоол. журн. 2014. Т. 93, № 9. С. 1117-1127. – **Смирнов Д.Г., Вехник В.П., Курмаева Н.М., Баишев Ф.З.** Использование кормовых участков и убежищ *Eptesicus nilssonii* на Самарской Луке // Изв. высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2013. № 4. С. 69-75.

Хедрик Ф. Мир биологии: генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.

Artyushin I.V., Bannikova A.A., Lebedev V.S., Kruskop S.V. Mitochondrial DNA relationships North Palaearktion *Eptesicus* (Vespertilionidae, Chiroptera) and past hybridization between Common Serotine and Northern Bat // Zootaxa. 2009. V. 2262. P. 40-52. – **Artyushin I.V., Lebedev V.S., Smirnov D.G., Kruskop S.V.** Taxonomic position of the Bobrinski's serotine (*Eptesicus bobrinski*, Vespertilionidae, Chiroptera) // Acta Chiropterologica. 2012. V. 14(2). P. 291-303. – **Atterby H., James N.A., Graham C.S. et al.** Population genetic structure of the Daubenton's bat (*Myotis daubentonii*) in western Europe and the associated occurrence of rabies // European Journal of Wildlife Research. 2009. V. 56. P. 67-81.

Bogdanowicz W., Lesiński G., Sadkovska-Todys M., Gajewska M., Rutkowski R. Population genetics and bat rabies: a case study of *Eptesicus serotinus* in Poland // Acta Chiropterologica. 2013. V. 15 (5). P. 35-56.

Chalmers K.J., Waugh R., Sprent J.I. Simons A.J., Powell W. (1992). Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G.maculata* using RAPD markers // Heredity. 1992. V. 69. P. 465-472.

Furmankiewicz J., Altringham J. Genetic structure in a swarming brown long-eared bat (*Plecotus auritus*) population: evidence for mating at swarming sites// Conserv. Genet. 2007. V. 8. P. 913-923.

Hooper S.R., Busscher V.D. Molecular phylogenetics of the chiropteran family Vespertilionidae// Acta Chiropterologica. 2003. V. 5. P. 1-63.

Kiefer A., Mayer F., Kosuch J., Helversen O., Veith M. Conflicting molecular phylogenies of European long-eared bats (*Plecotus*) can be explained by cryptic diversity // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2002. V. 25. P. 557-566. – **Kruskop S.V. Borisenko A.V., Natalia V.I., Burton K.L., Judith L.E.** Genetic diversity of northeastern Palaearctic bats as revealed by DNA barcodes//Acta Chiropterologica. 2012. V. 14 (1). P. 1-14.

Mayer F., Helversen O. Cryptic diversity in European bats // The Royal Society. 2001. V. 268. P. 1825-1832.

- Nei M.** Genetic distance between populations // *Amtr. Natur.* 1972. Vol. 106. P. 283-292. –
- Nei M.** *Molecular evolutionary genetics.* N.Y.: Columbia Univ. press, 1987. P. 176-187.
- Smith G.S., Aegerter J.N., Allnutt T.R., MacNicoll A.D., Learmount J., Hutson A.M., Atterby H.** Bat population genetics and *Lyssavirus* in Great Britain // *Epidemiol. Infect.* № 139. P. 1463-1469. –
- Spitzenberger F., Strelkov P.P., Winkler H., Haring E.** A preliminary revision of the genus *Plecotus* (Chiroptera, Vespertilionidae) based on genetic and morphological result // *Zoologica Scripta.* 2006. V. 35. P. 187-230.
- Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D.** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics.* 1994. V. 20. P. 176-183.