

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ *MYOTIS DAUBENTONII* И *EPTESICUS NILSSONII* (MAMMALIA: CHIROPTERA) В УСЛОВИЯХ ЖИГУЛЕВСКИХ ГОР

© 2014 Ф.З. Баишев¹, Д.Г. Смирнов¹,
В.П. Вехник², Н.М. Курмаева¹, С.В. Титов¹

¹Пензенский государственный университет, г. Пенза

²Жигулевский государственный заповедник, г. Жигулевск, п/о Бахилова Поляна

Поступила 20.05.2014

Методом ISSR-PCR-анализа изучено генетическое разнообразие и определен уровень генетической дифференциации популяций у *M. daubentonii* и *E. nilssonii*, обитающих в условиях Жигулевских гор. В ходе анализа установлено, что для популяций обоих видов характерен высокий уровень полиморфизма. При этом генетическое разнообразие, как для отдельных популяций, так и для суммарных видовых выборок в целом оказалось выше у *E. nilssonii*. Для отдельных популяций, зимовки которых проходят в разных подземельях, подтверждена репродуктивная изоляция. Предполагается, что ее нарушение возможно в осенний период, когда животные собираются к местам зимовок. В наибольшей степени это нарушение должно проявляться у *E. nilssonii* и в меньшей у *M. daubentonii*, что подтверждается более высоким уровнем генетической дифференциации между популяциями у последнего вида. Рассматриваются возможные причины нарушения репродуктивной изоляции между популяциями.

Ключевые слова: *Myotis daubentonii*, *Eptesicus nilssonii*, ISSR-PCR-анализа, генетическое разнообразие, межпопуляционная дифференциация.

Изучение генетического разнообразия имеет важное значение для оценки состояния природных популяций различных видов организмов. Одним из подходов такого рода исследований является использование молекулярно-генетических маркеров, представляющих собой полиморфные последовательности ДНК. Они могут быть обнаружены с помощью специальных методов, которые основаны на полимеразной цепной реакции (PCR).

С введением в практику биологических исследований молекулярных маркеров появились новые возможности изучения генетического разнообразия, а также определения родства как на внутри-, так и на межвидовом уровне [3, 1, 2, 11]. В частности, изучение генетического разнообразия природных популяций позволяет понять процессы их адаптации к среде обитания и видообразования, отследить поток генов, выявить уровень жизнеспособности популяций, определить причины широкого или ограниченного их географического распространения и т.д. [13, 17, 20, 14]. Установлено, что популяциям многих видов, имеющих крайне малую или длительное время снижающуюся численность, свойственен низкий генетический полиморфизм [19]. В таких популя-

циях, как правило, отмечается увеличение случайного дрейфа генов и инбридинга. Именно такие популяции чаще всего вызывают сомнения в своей жизнеспособности, а для их сохранения требуется разработка мер для поддержания их численности.

Одним из быстрых и удобных методов исследования полиморфизма ДНК в популяциях является ISSR-анализ. При этом полиморфизм нуклеотидных последовательностей между отдельными образцами ДНК выявляется по присутствию или отсутствию конкретных полос в спектре фрагментов (ампликонов) ДНК при электрофореze. Отсутствие полосы может быть следствием точечных мутаций (вставок, делеций, инверсий) в последовательности ДНК-матрицы и служить признаком генетической разнородности в популяциях.

Myotis daubentonii (Kuhl, 1817) и *Eptesicus nilssonii* (Keyserling, Blasius, 1839) – широко распространенные в Европе виды рукокрылых. В Жигулевских горах, представляющих собой часть Приволжской возвышенности на правом берегу Волги, огибаемая излуциной Самарской Луки, у этих двух видов зарегистрированы крупнейшие в России зимовки [7, 9]. У первого из них суммарная численность зимующих зверьков в некоторые годы может достигать до 2.5 тыс. особей. Однако, несмотря на большое число отмеченных на зимовках зверьков, этот вид не является здесь массовым, а его численность подвержена колебаниям, и в отдельные годы может сокращаться до 900 особей. Для *E. nilssonii* Жигулевские горы являются южным пределом распространения. Здесь он находится в наиболее оптимальных условиях для своего существования и достигает высокой плотности, которая превышает таковую в других час-

Баишев Фарид Зиннатович, аспирант «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; Курмаева Наиля Мухамметшиановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Зоология и экология», nmk74d@yandex.ru; Титов Сергей Витальевич доктор биологических наук, профессор кафедры «Зоология и экология», svtitov@yandex.ru

тах своего ареала. Количество зарегистрированных здесь зимующих зверьков по сравнению с другими видами небольшое, составляет около 800 особей и, в целом, не подвержено сильным ежегодным колебаниям. Из-за уникального положения, которое вид занимает в регионе, он занесен в Красную книгу Самарской обл. [4].

Цель нашей работы – изучение генетического разнообразия и выявления межпопуляционной дифференциации у популяций *M. daubentonii* и *E. nilssonii*, обитающих в условиях Жигулевских гор. В качестве рабочей гипотезы мы рассматривали идею об относительной репродуктивной изоляции популяций у оседлых видов рукокрылых. Нами было замечено [6], 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 собирается своя популяция. Так как спаривание преимущественно происходит на местах зимовок, то каждая популяция должна быть репродуктивно изолирована от таких же популяций своего вида из других подземелий.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили образцы тканей (биопсия перепонки крыла) *M. daubentonii* и *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 Верблюды. Штольни представляют собой системы искусственных подземелий, выработанных в первой половине XX века в правобережных волжских склонах Жигулевских гор. Все подземелья изолированы друг от друга и находятся на расстоянии от 1 (СХТ-1 – Попова) до 6 км (Бурлак–Верблюды). Всего был исследован 61 образец летательной перепонки, из которых 33 образца принадлежат *M. daubentonii*, а 28 – *E. nilssonii*.

Для выделения ДНК использовали фрагмент перепонки, зафиксированный в 96% этаноле. ДНК выделяли по стандартной методике, включающей обработку додецилсульфатом натрия (SDS) и протеиназой К при 50°C с последующими фенольно-хлороформной очисткой и осаждением охлажденным абсолютным этиловым спиртом в сильно солевой среде [18].

Анализ полиморфизма ДНК проведен посредством PCR с использованием межмикросателлитного ISSR-маркера (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 длинной в 15–24 нуклеотида [21]. Мы использовали

праймер ISSR-2, который состоит из tandemных коротких двух нуклеотидных повторов (5'→3' (GA)₉C). 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 ($t = 94^{\circ}\text{C}$, 2 мин.); 30 циклов денатурации ($t = 94^{\circ}\text{C}$, 30 с.), отжига праймера ($t = 55^{\circ}\text{C}$, 30 с.), элонгации цепи ($t = 72^{\circ}\text{C}$, 2 мин.); а также финальную элонгацию ($t = 72^{\circ}\text{C}$, 10 мин.), ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технологии», Россия). Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 6-процентном полиакриламидном геле, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в геле-документирующей 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.

Компьютерный анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК проводили с помощью компьютерной программы PopGen32 и специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel с определением доли полиморфных локусов (при $P \leq 0.95$), общего числа аллелей (n_a), эффективного числа аллелей (n_e) [10, 21]. В качестве показателей оценки генного разнообразия мы использовали такие параметры как: общее генное разнообразие в суммарной выборке (H_T), среднее выборочное генное разнообразие по всем локусам (H_S) и показатель подразделенности популяций (G_{ST}) [10]. Генетическое расстояние между популяциями определяли по М. Нею [15]. Также для оценки генетического разнообразия внутри и между популяциями был выбран информационный индекс Шеннона [16], традиционно применяемый для оценки генетического разнообразия на популяционном уровне [12]. Индекс разнообразия Шеннона рассчитывали для каждой зимующей популяции (H_o), среднее значение для популяции (H_{pop}) и для суммарной выборки (H_{sp}); на основе этих значений определяли долю внутри- и межпопуляционного разнообразия.

Под популяцией у оседлых видов рукокрылых мы понимали совокупность особей одного вида, населяющих определенную местность. 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 [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В восьми изученных популяциях в ходе проведения ISSR-анализа выявлено 34 полиморфных фрагмента ДНК – ампликона, размер которых составлял от 200 до 800 пн. Число амплифицированных фрагментов ДНК в суммарной выборке *M. daubentonii* было 26, а у *E. nilssonii* – 27. Количество общих для двух видов фрагментов составило 18.

Мерой генетического разнообразия популяции или вида являются абсолютное число аллелей на локус, степень выравнивания частот таких аллелей и эффективное число аллелей (n_e), определяемое по доли полиморфных локусов. 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) на суммарную выборку *M. daubentonii* составило 1.50, а эффективное число аллелей на локус в суммарной выборке равно 1.39. Абсолютное число аллелей на локус в выборках из популяций *E. nilssonii* составило 1.59, а эффективное число аллелей – 1.41.

Общее генное разнообразие в суммарной выборке (H_T), предложенное М. Неем (Nei, 1987) и характеризующее собой гетерозиготность, для популяций *M. daubentonii* составило 0.23, а для популяций *E. nilssonii* – 0.25. Среднее выборочное генное разнообразие по всем локусам (H_S), являющееся средней гетерозиготностью, для популяций *M. daubentonii* составило 0.18, а для *E. nilssonii* – 0.21. Таким образом, средняя гетерозиготность в изученных популяциях каждого вида оказалась несколько ниже, чем в суммарной их выборке. Коэффициент подразделенности популяций (G_{ST}) показывает, что на межпопуляционную компоненту генетического разнообразия *M. daubentonii* приходится 21.5, а *E. nilssonii* – 15.3% всего уровня разнообразия. Эти данные указывают на большую генетическую дифференциацию между популяциями у первого вида, чем у второго.

Оценка внутри и межпопуляционного генетического разнообразия была проведена также на основе информационного индекса Шеннона. Наибольшие показатели разнообразия (H_o) прослеживаются в популяциях в штольни СХТ-1 для *M. daubentonii* и в штольни Попова для *E. nilssonii* (рис. 1). В целом индекс Шеннона, выявленный для разных популяций, у первого вида оказался менее выровненным, чем у второго.

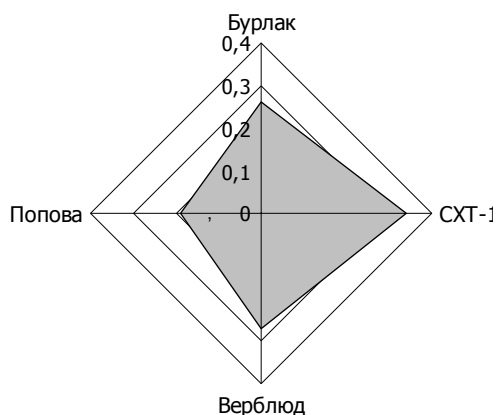
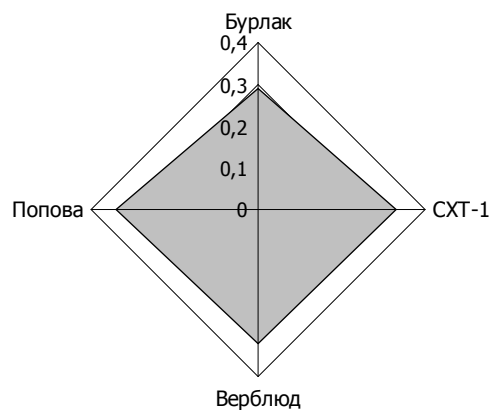
Myotis daubentonii*Eptesicus nilssonii*Рис. 1. Диаграммы генетического разнообразия (H_o) в популяциях двух видов рукокрылых.

Таблица. Генетическое разнообразие в разных популяциях двух видов рукокрылых.

		n_a	n_e	H_T	P	$P(\%)$
<i>Myotis daubentonii</i>	Бурлак	1.00	1.33	0.18	14	41.2
	СХТ-1	1.32	1.38	0.23	22	64.7
	Верблюд	1.12	1.31	0.18	17	50.0
	Попова	0.88	1.22	0.13	12	35.3
<i>Eptesicus nilssonii</i>	Бурлак	1.09	1.33	0.19	17	50.0
	СХТ-1	1.32	1.35	0.21	21	61.8
	Верблюд	1.24	1.36	0.21	21	61.8
	Попова	1.32	1.38	0.22	22	64.7

Среднее значение индексов разнообразия Шеннона (H_{pop}) в изученных популяциях *M. daubentonii* и *E. nilssonii* составило 0.27 и 0.32 соответ-

ственно, а индекс генетического разнообразия (H_{sp}) в суммарных выборках – 0.34 и 0.39.

Анализ числа полиморфных локусов показала (табл.), что наименьшими показателями генетического полиморфизма обладают популяции *M. daubentonii*, расположенной в штольне Попова, и *E. nilssonii*, расположенной в штольне Бурлак. Самые высокие показатели полиморфизма были отмечены для популяции *M. daubentonii* в штольне СХТ-1 и популяции *E. nilssonii* в штольне Попова. Генетический полиморфизм *E. nilssonii* в суммарной выборке составил 79.4%, тогда как у *M. daubentonii* – 73.5%.

В ходе процедуры кластеризации, как и ожидалось, все рассмотренные популяции были разделены на два больших кластера, соответствующие двум изучаемым видам, генетическая дистанция между которыми составила 0.42 (рис. 2). Межпопуляционный анализ показал, что наименьшая дистанция у *M. daubentonii* принадлежит популяциям, зимующим в штольнях СХТ-1 и Попова, а максимальную обособленность от всех имеет популяция штольни Бурлак. У *E. nilssonii* наибольшее генетическое сходство демонстрируют популяции штолен СХТ-1 и Бурлак, Верблюд и Попова.

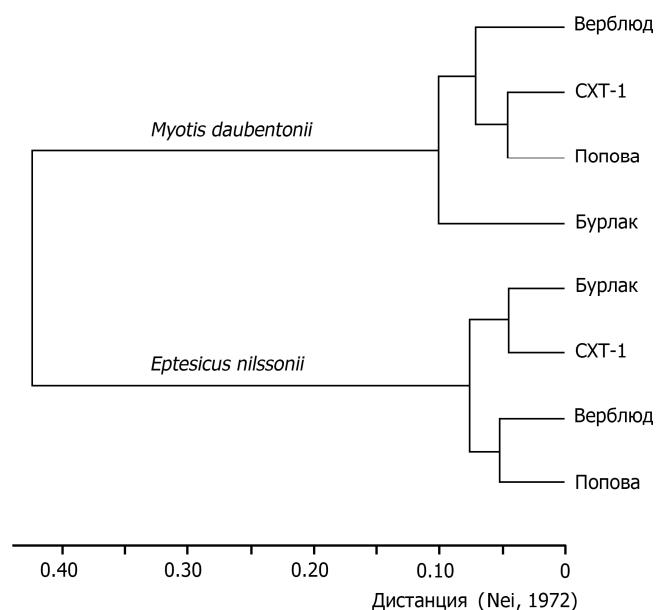


Рис. 2. Дендрограмма генетического сходства популяций у двух видов рукокрылых (метод кластеризации UPGMA).

ОБСУЖДЕНИЕ

На основании анализа фрагментов ДНК, амплифицированных в ходе ПЦР с использованием ISSR-праймера, установлено, что популяции *M. daubentonii* и *E. nilssonii* характеризуются высоким уровнем полиморфизма. Причем, полиморфность фрагментов в суммарных выборках видов перекрывает таковую в отдельных популяциях, что согласуется с общим принципом изменчивости при ее кумуляции от популяции к виду. Наибольшим генетическим разнообразием у *M. daubentonii* обладает популяция, которая зимует в штольне СХТ-1, а у *E. nilssonii* – в штольне Попова. В целом генетическая дистанция между популяциями у каждого вида изменяется в пределах от 5 до 10%, что подтверждает идею об возможной репродуктивной изоляции популяций.

Показатели генетического разнообразия у рассмотренных видов оказались неоднозначными. Оба подхода к его определению дали в целом близкие результаты. Так, генетическое разнообразие, рассчитанное для отдельных популяций и для

суммарных видовых выборок, было немного больше у *E. nilssonii*. Однако применение индекса подразделенности популяций показало, что генетическая дифференциация популяций все же выше у *M. daubentonii*, чем у *E. nilssonii*. Наличие большей изоляции между популяциями у первого вида подтверждают показатели индекса разнообразия Шеннона, которые оказались у него более вариабельны, чем у второго. Такая ситуация может быть следствием разной степени пространственной дифференциации половых групп у этих видов. Так, по окончании сроков зимовки у *E. nilssonii* как самцы, так и самки из разных зимовочных подземелий не перелетают на большое расстояние и вместе остаются в непосредственной близости от мест зимнего скопления [8]. Очевидно, что при таких обстоятельствах на одной территории могут оказаться особи из разных популяций. В конце лета и осенью заселение зимних убежищ у обоих полов этого вида происходит почти одновременно. У *M. daubentonii*, наоборот, в области зимовки остаются только самцы, тогда как участвующие в размножении самки переле-

тают на большое расстояние и здесь практически не встречаются. При осеннем заселении зимних убежищ первыми в них появляются самцы и яловые самки, а рожающие самки несколько позже. Поскольку спаривание у летучих мышей происходит в осенне-зимний период, то в отсутствие пространственной дифференциации полов у *E. nilssonii* вероятность скрещивания, например, в осенний период за пределами убежищ, особей из разных популяций будет выше, чем у *M. daubentonii*. Очевидно, именно по этим причинам у *M. daubentonii* наименьшее генетическое расстояние отмечено у популяций, зимовки которых проходят в штольнях, расположенных на минимальных расстояниях друг от друга (СХТ-1 и Попова). Тогда как у *E. nilssonii* наименьшая генетическая дистанция выявлена у популяций, зимующих в штольнях, удаленных друг от друга на значительное расстояние.

Высокое генетическое разнообразие в популяциях *E. nilssonii* может быть объяснено не только нарушением изоляции популяций, но и комплексом оптимальных для этого вида биотических и абиотических условий мест летнего 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.

Таким образом, в ходе проведенных исследований в популяциях обоих видов был выявлен высокий уровень полиморфизма. Генетическое разнообразие, как для отдельных популяций, так и для суммарных видовых выборок в целом оказалось немного выше у *E. nilssonii*. Для отдельных популяций, зимовки которых проходят в разных подземельях, подтверждена гипотеза об их репродуктивной изоляции. При этом уровень генетической дифференциации между популяциями у *M. daubentonii* оказался выше, чем у *E. nilssonii*, что, возможно, объясняется разным характером сегрегации полов в летнее время.

БЛАГОДАРНОСТИ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гостимский С.А., Кокаева З.Г., Коновалов Ф.А. Изучение организации и изменчивости генома растений с помощью молекулярных маркеров // Генетика. 2005. Т. 41, № 4. С. 480–490.
2. Кол Н.В., Лазебный О.Е. Полиморфизм ISSR-PCR-маркеров в тувинской популяции северного оленя (*Rangifer tarandus* L.) // Генетика. 2006. Т. 42, № 12. С. 1731–1734.
3. Кочиева Е.З., Рыжова Н.Н., Храпалова И.А., Пухальский В.А. Определение генетического полиморфизма и филогенетических связей у представителей рода *Lycopersicon* (Tourn) Mill. и молекулярные данные RAPD- и ISSR-анализов // Генетика. 2002. Т. 38, № 8. С. 1133–1142.
4. Красная книга Самарской области. Т. 2. Редкие виды животных. Тольятти: ИЭВБ РАН; "Касандра", 2009. 332 с.
5. Смирнов Д.Г. Организация сообществ и популяций рукокрылых (Mammalia: Chiroptera) в условиях умеренно-континентального климата России: дис. ... док. биол. наук. Пенза, 2013. 299 с.
6. Смирнов Д.Г., Вехник В.П., Курмаева Н.М., Шенелев А.А., Ильин В.Ю. Видовая структура и динамика сообщества рукокрылых (Chiroptera: Vespertilionidae), зимующих в искусственных подземельях Самарской Луки // Изв. РАН. Серия биологическая. 2007. Т. 5. С. 608–618.
7. 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.
8. Смирнов Д.Г., Вехник В.П. Особенности пространственного размещения половых групп у северного кожана (*Eptesicus nilssonii*) на Самарской Луке // Актуальные проблемы современной териологии. Тезисы докладов. Новосибирск: ООО «Сибрегион Инфо», 2012. С. 134.
9. Смирнов Д.Г., Вехник В.П., Шенелев А.А., Степанова С.В., Безруков В.А., Гришина Т.А., Ильин В.Ю. Итоги многолетнего мониторинга численности зимующих рукокрылых в искусственных подземельях Самарской Луки // Сб. ст. Междунар. научн. конференции, посвящ. 140-летию со дня рождения И.И. Спрыгина. Пенза: ПГУ. 2013. С. 331–333.
10. Хедрик Ф. Мир биологии: генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
11. Asher C. Patterns of genetic diversity in populations of two bat species (*Sturnira ludovici* and *Artibeus toltecus*) in Cusuco National Park, Honduras // Bioscience Horizons. 2009. Vol. 2. № 2. P. 147–154.
12. Chalmers K.J., Waugh R., Sprent J.I., Simons A.J., Powell W. Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers // Heredity. 1992. Vol. 69. P. 465–472.
13. Gitzendanner M.A., Soltis P.S. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners // Am. J. Bot. 2000. Vol. 87. P. 783–792.
14. Hmeljevski K.V., Reis A., Montagna T., dos Reis M.S. Genetic diversity, genetic drift and mixed mating system in small subpopulations of *Dyckia ibiramensis*, a rare endemic bromeliad from Southern Brazil // Conserv. Genet. 2011. Vol. 12. P. 761–769.
15. Nei M. Genetic distance between populations // Amtr. Natur. 1972. Vol. 106. P. 283–292.
16. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. press, 1987. P. 176–187.
17. Neel M.C., Cummings M.P. Effectiveness of conservation targets in capturing genetic diversity // Conserv. Genet. 2003. Vol. 17. P. 219–229.
18. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory Manual, V. 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 1989.
19. Spielman D., Brook B., Frankham R. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them // Proc Natl Acad Sci USA. 2004. Vol. 101. P. 15261–15264.
20. Viccini L.F., Costa D.S.C., Machado M.A., Campos A.L. Genetic diversity among nine species of *Lippia* (Verbenaceae) based on RAPD markers // Plant Syst. Evol. 2004. Vol. 246. P. 1–8.

21. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored poly-

merase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183

GENETIC DIVERSITY MYOTIS DAUBENTONII AND EPTESICUS NILSSONII (MAMMALIA: CHIROPTERA) IN THE ZHIGULI MOUNTAINS

© 2014 F.Z. Baishev¹, D.G. Smirnov¹,
V.P. Vekhnik², N.M. Kurmaeva¹, S.V. Titov¹

¹ Penza State Pedagogical University

² Zhiguli preserve

Method ISSR-PCR analysis studied the genetic diversity and the detected level of genetic differentiation of populations in *M. daubentonii* and *E. nilssonii*, live in the Zhiguli Mountains. During the analysis revealed that populations of both species characterized by a high level of polymorphism. This genetic diversity, both for individual populations and for the total species of the sample as a whole was higher in *E. nilssonii*. For individual populations, which are wintering in different dungeons, confirmed by relative reproductive isolation. It is assumed that its violation is possible in the autumn period, when the animals are going to wintering grounds. At most, this violation should occur in *E. nilssonii* and less in *M. daubentonii*, as evidenced by higher levels of genetic differentiation between populations of the latter species. Discusses possible causes of reproductive isolation between populations.

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

Baishev Farid Zinnjatovich, graduate student, kapitannemo58@yandex.ru; Smirnov Dmitriy Grigorievich, doctor of biological sci., professor, eptesicus@mail.ru; Vekhnik Vladimir Petrovich, senior research associate, vekhnik@mail.ru; Kurmaeva Nailaj Muchammetshanovna, Candidate of Biology, associate professor, nmk74d@yandex.ru; Titov Sergey Vitalievich, doctor of biological sci., professor, svtitov@yandex.ru.