https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2025-17-2-238-249
https://www.zoobank.org/References/2690E692-C70F-4488-9804-F8E1B0DF7C7F

УДК 599.426:591.543.42+575.174.015.3

Первые данные о генетической структуре зимовочных колоний *Murina hilgendorfi* (Peters, 1880) и *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae: Chiroptera) в пещере Приморский Великан

У. В. Горобейко[1]✉, В. В. Шибаева[2]

[1] Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, пр-т 100-летия Владивостока, д. 159, 690022, г. Владивосток, Россия
[2] Дальневосточный федеральный университет, пос. Аякс, д. 10, о. Русский, 690922, г. Владивосток, Россия

Сведения об авторах

Горобейко Ульяна Васильевна
E-mail: ekz.bio@ya.ru
SPIN-код: 6209-2751
Scopus Author ID: 56938680900
ResearcherID: N-4069-2018
ORCID: 0000-0001-8059-140X

Шибаева Виктория Валерьевна
E-mail: shibaeva.vv03@gmail.com

Права: © Авторы (2025). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Получены предварительные данные о генетической структуре зимовочных колоний двух оседлых видов рукокрылых в пещере Приморский Великан на основе изменчивости последовательностей гена цитохрома Б митохондриальной ДНК. *Murina hilgendorfi* и *Myotis petax* демонстрируют генетическую неоднородность, обусловленную присутствием нескольких генетических линий: преобладающей (S и O), к которой принадлежит большинство особей, и единичных представителей сильно дифференцированных линий (B, C и O), которые во всех наблюдаемых случаях являлись самками. Выявленная генетическая структура может свидетельствовать о том, что часть зимующих особей происходит из генетически обособленных летних мест обитания.

Ключевые слова: внутривидовая изменчивость, Дальний Восток России, митохондриальная ДНК, Приморский край, рукокрылые, цитохром Б

First genetic data on wintering colonies of *Murina hilgendorfi* (Peters, 1880) and *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae: Chiroptera) in the Primorsky Velikan cave

U. V. Gorobeyko[1]✉, V. V. Shibaeva[2]

[1] Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity FEB RAS, 59 Stoletiya Vladivostoka Ave., 690022, Vladivostok, Russia
[2] Far Eastern Federal University, 10 Ayaks, Russky Island, 690922, Vladivostok, Russia

Authors

Uliana V. Gorobeyko
E-mail: ekz.bio@ya.ru
SPIN: 6209-2751
Scopus Author ID: 56938680900
ResearcherID: N-4069-2018
ORCID: 0000-0001-8059-140X

Victoria V. Shibaeva
E-mail: shibaeva.vv03@gmail.com

Copyright: © The Authors (2025). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Analysis of cytochrome b (cytb) mitochondrial DNA sequences reveals preliminary insights into the genetic structure of two cave-wintering bat species (Primorsky Velikan cave). Both *Murina hilgendorfi* and *Myotis petax* demonstrate genetic heterogeneity, featuring: (1) dominant lineages (S and O) comprising most individuals, and (2) highly divergent lineages (B, C, and O) represented exclusively by female specimens. This pattern suggests that winter aggregations may originate from genetically distinct summer habitats.

Keywords: intraspecific variation, Russian Far East, mitochondrial DNA, Primorsky Krai, bats, cytochrome b

Введение

В последние годы возрос интерес к изучению рукокрылых, причем предметом исследований все чаще становятся не только систематика и филогения рукокрылых, но и особенности экологии, внутривидовая изменчивость и филогеография. Фауна рукокрылых Приморского края насчитывает 16 видов, что делает ее одной из наиболее богатых в плане видового разнообразия в России (Тиунов и др. 2021). При этом 10 из 16 видов являются оседлыми и обитают на территории края круглогодично, зимуя в пещерах, постройках человека или древесных убежищах. Видовой состав и численность зимующих рукокрылых в пещерах Приморского края были подробно изучены ранее М. П. Тиуновым (Тиунов 1985; 1988; 1997). Тем не менее, внутривидовая изменчивость и, в частности, генетическая структура зимовочных колоний остаются малоизученным аспектом жизни дальневосточных рукокрылых.

Известно, что оседлые виды рукокрылых в условиях умеренного климата крайне консервативны в выборе зимних убежищ, из года в год зимуя в одном и том же месте, как ранее было показано для территории Самарской Луки (Самарская область) (Смирнов и др. 2007; 2015; 2020). Вместе с тем зимовочные колонии характеризуются повышенным генетическим разнообразием и меньшим уровнем дифференциации по сравнению с особями из летних местообитаний (Баишев и др. 2014a; 2014b; Смирнов и др. 2015; 2020). Учитывая абсолютную изоляцию зимовочных колоний в зимний период, возможным объяснением их генетической неоднородности может быть присутствие на зимовке особей из различных летних мест обитания, обусловленное нерегулярным притоком молодых особей, случайно избравших «нетипичное» для своей летней колонии место зимовки (Смирнов и др. 2015; 2020). Таким образом, изучение генетической структуры в местах зимовок может дать более полную картину изменчивости вида, чем при анализе особей, обитающих на исследуемой территории в летний период, что немаловажно при исследовании таких трудных в отлове рукокрылых, как трубконосы.

Одна из наиболее массовых и хорошо изученных зимовок рукокрылых в Приморском крае находится в пещере Приморский Великан (Тиунов 1985; 1997). Пещера Приморский Великан является одной из крупнейших полостей на Дальнем Востоке (длина 542 м, глубина 93 м). Основную часть ее образует расширенная карстом тектоническая расселина, имеющая протяженность 90 м, высоту до 20 м и ширину 0.5–2, местами до 3–5 м. Дно расселины покрыто глыбами объемом до 20 м^3. В полости имеются колодцы, постоянные и периодически возникающие озера (Берсенев 1985). Всего в зимний период в пещере Приморский Великан зарегистрированы 7 видов трех родов семейства Vespertilionidae Gray, 1821, из которых наиболее массовым является сибирский трубконос, *Murina hilgendorfi* (Peters, 1880) — порядка 1000 особей, или 80–90% от общего числа зимующих особей (Тиунов 1988; Тиунов и др. 2021).

Сибирский трубконос — широкоареальный азиатский вид, в своем распространении тесно связанный с хвойно-широколиственными и широколиственными лесами (Тиунов и др. 2021). До недавнего времени трубконосов, обитающих на территории Сибири и Дальнего Востока, относили к виду *Mu. leucogaster* (Milne-Edwards, 1872). Однако на основании морфологических (Yoshiyuki 1989; Kruskop 2005) и молекулярно-генетических данных (Kruskop et al. 2012) было показано, что на всей территории России, Монголии, в Японии и Корее обитает вид *Mu. hilgendorfi*, в то время как ареал *Mu. leucogaster* ограничен южным и центральным Китаем (Крускоп 2012). Вместе с тем внутривидовая структура сибирского трубконоса остается слабоизученной на всем ареале.

Вторым по численности видом на зимовке в пещере Приморский Великан является восточная ночница *Myotis petax*

Hollister, 1912. Восточная ночница — широкоареальный азиатский вид рукокрылых, в своем распространении связанный с околоводными биотопами (Горобейко и др. 2021; Тиунов и др. 2021). Как и сибирского трубконоса, восточную ночницу до недавнего времени рассматривали в составе широкоареального политипического вида — водяной ночницы *My. daubentonii* (Kuhl, 1817). Видовой статус *My. petax* был подтвержден молекулярно-генетическими (Matveev et al. 2005; Kruskop et al. 2012), морфологическими (Kruskop 2004) и хромосомными данными (Gorobeyko et al. 2020). Хотя в летний период на юге Дальнего Востока России восточные ночницы занимают первое место по частоте встреч среди всех рукокрылых, численность вида в зимний период в пещерах заметно ниже, что может свидетельствовать как о зимовках вида за пределами края, так и об использовании иных типов зимних убежищ (Тиунов 1985; 1997). Достоверные сведения о сезонных миграциях восточной ночницы отсутствуют, в то же время близкий экологически европейский вид *My. daubentonii* считается локальным мигрантом и способен преодолевать расстояние до 300 км между местами зимовок и летними местообитаниями (Hutterer et al. 2005). Исследования генетической структуры показали высокую внутривидовую изменчивость восточной ночницы на территории Дальнего Востока России (Gorobeyko et al. 2020; 2023; 2025). Так, было установлено, что на территории Приморского края встречаются представители, по меньшей мере, трех из пяти генетических линий восточной ночницы, выявленных по последовательностям контрольного региона мтДНК. Две из них, «Siberia» и «Okhotsk», были обнаружены в пещере Приморский Великан (Gorobeyko et al. 2025).

Целью настоящей работы являлся анализ изменчивости последовательности гена цитохрома Б митохондриальной ДНК (*cytb*) и определение генетической структуры зимовочных колоний двух оседлых видов, *My. petax* и *Mu. hilgendorfi*, на примере пещеры Приморский Великан.

Материалы и методы

Материалом данного исследования послужили фиксированные в 96 %-ном спирте образцы крыловой перепонки 5 особей *Mu. hilgendorfi* и 6 особей *My. petax*, собранные в период 2012–2023 гг. на зимовке в пещере Приморский Великан (43°16′12″, 133°37′12″). Использованный в работе материал хранится в биоресурсной коллекции ФНЦ биоразнообразия ДВО РАН (рег. номер 2797657). Для сравнительного анализа дополнительно были привлечены последовательности *cytb* мтДНК, депонированные в GenBank: 29 образцов (MG897540-MG897568) для *Mu. hilgendorfi* и 1 образец для *My. petax* (MG897535) (Kovacova et al. 2018). В таблице 1 приведены даты отлова, пол и возраст исследованных особей.

Таблица 1

Образцы, исследованные в молекулярно-генетическом анализе

Table 1

Specimens included in molecular genetic analysis

1	2	3	4	5	6
Номер образца	**Гаплотип**	**Пол**	**Возраст**	**Дата**	**Источник**
Mu. hilgendorfi					
3238	**MH14**	♂	ad	08.12.2012	**наши данные**
3862	**MH20**	♂	ad	13.12.2014	**наши данные**
3866	**MH19**	♀	ad	13.12.2014	**наши данные**
MG897540	**MH12**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897541	**MH11**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897542	**MH7**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018

 https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2025-17-2-238-249

Таблица 1. Продолжение

Table 1. Continuation

1	2	3	4	5	6
MG897543	**MH1**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897544	**MH1**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897545	**MH5**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897546	**MH9**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897547	**MH3**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897548	**MH3**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897549	**MH1**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897550	**MH10**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897551	**MH18**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897552	**MH15**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897553	**MH2**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897554	**MH2**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897555	**MH2**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897556	**MH4**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897557	**MH1**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897558	**MH2**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897559	**MH6**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897560	**MH17**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897561	**MH2**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897562	**MH8**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897563	**MH18**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897564	**MH3**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897565	**MH16**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897566	**MH16**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897567	**MH4**	♂	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
MG897568	**MH21**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018
AL23-4	**MH13**	♂	ad	23.02.2023	**наши данные**
AL23-11	**MH22**	♀	ad	23.02.2023	**наши данные**
			My. petax		
3240	**MP3**	♂	ad	08.12.2012	**наши данные**
3399	**MP5**	♂	ad	3–7.11.2013	**наши данные**
3400	**MP1**	♀	ad	3–7.11.2013	**наши данные**
3865	**MP6**	♀	ad	13.12.2014	**наши данные**
3867	**MP4**	♂	ad	13.12.2014	**наши данные**
3873	**MP2**	♀	ad	13.12.2014	**наши данные**
MG897535	**MP1**	♀	n/a	30.04.2015	Kovacova et al. 2018

Примечание: ♂ — самец, ♀ — самка, ad — взрослая особь.

Тотальная ДНК была выделена стандартным солевым методом (Aljanabi, Martinez 1997). Ген *cytb* был амплифицирован с использованием праймеров: BatCyt-F (5'-GTGACACGAAAAATCACCGTTGT-3')/ BatCyt-R (5'-TTCCCCTTYTCTGGTTTACAAGA-3') при температуре отжига 57 °C (Kim et al. 2016). Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси, включающей 1–5 мкл общей ДНК, 2.5 мкл 10× буфера, 2.5 мкл 20 мМ смеси dNTP, 2 мкл каждого праймера, 1 мкл Taq-полимеразы (Sibenzim, Россия) и деионизированную воду. Полученный фрагмент был очищен с помощью полиэтиленгликоля (Schmitz, Riesner 2006) и секвенирован в обоих направлениях с использованием ABI BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit на автоматическом секвенаторе ABI Prizm 3130 Genetic

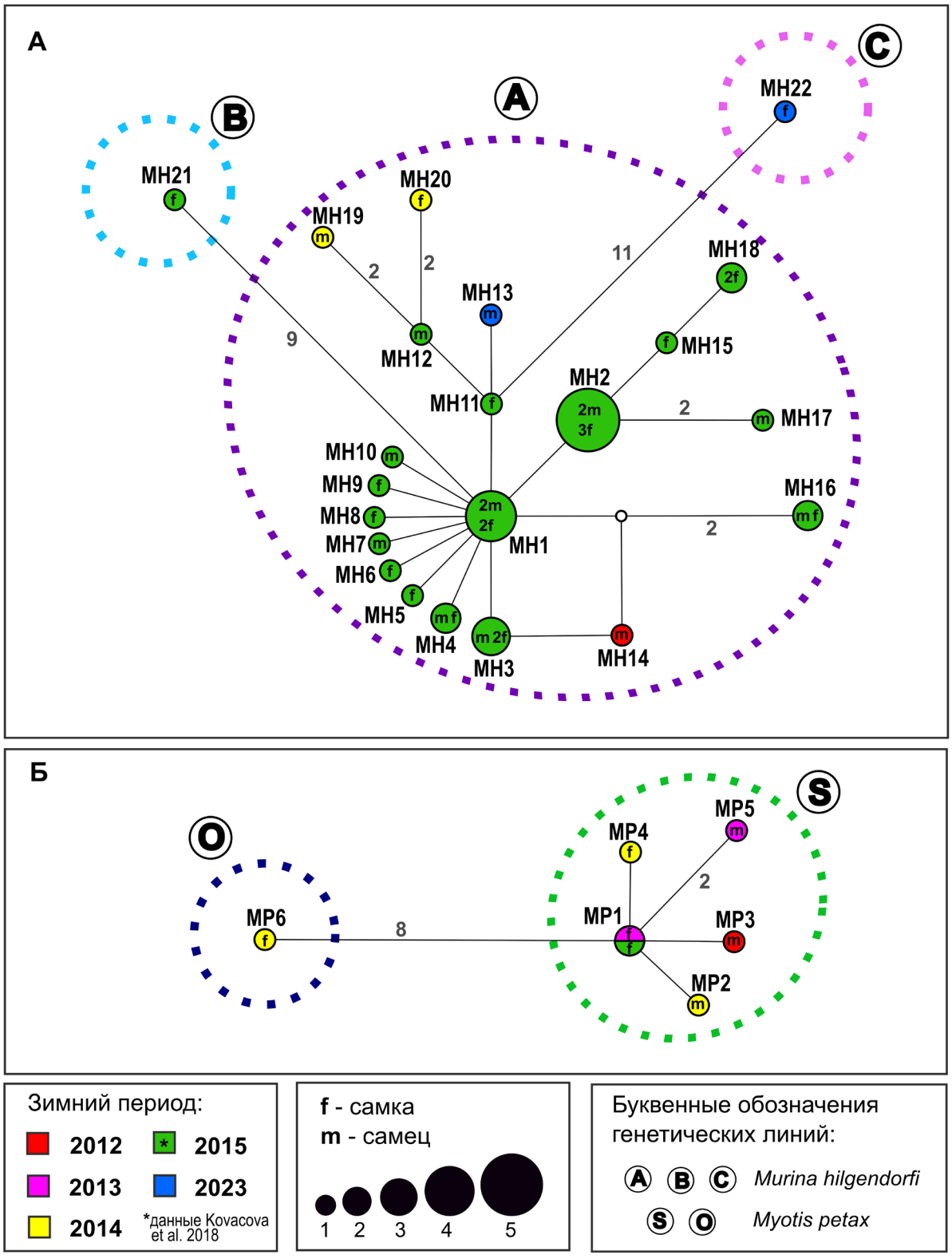


Рис. 1. «Median joining» сеть гаплотипов *cytb* мтДНК. *А — Mu. Hilgendorfi*; *Б — My. petax*

Fig. 1. 'Median-joining' network of *cytb* mtDNA haplotypes. А — *Mu. Hilgendorfi*; *Б — My. petax*

Analyzer (Applied Biosystems, United States) на базе ЦКП ФНЦ биоразнообразия ДВО РАН.

Редактирование и выравнивание полученных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit 7.0.9.0. (Hall 1999). Внутривидовая нуклеотидная и гаплотипическая изменчивость подсчитаны с помощью программного обеспечения

https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2025-17-2-238-249

Таблица 2

Нуклеотидные замены в гаплотипах *Mu. hilgendorfi*

Table 2

Nucleotide substitutions in *Mu. hilgendorfi* haplotypes

Гаплотип и номер образца		<1…59 п.н.>	73	91	93	134	141	161	185	210	234	282	321	366	426	434	447	456	487	492	534	561	589	603	609	612	644	669	694	696	720	762	834	862	900	912	918	929	946	948	958	975	1014	1026	1053	<1085…1140 п. н.>
MH1	MG897543–44, MG897549, MG897557		T	T	G	T	A	A	C	T	A	C	C	T	G	T	A	T	T	C	T	C	T	C	T	G	T	C	C	G	A	T	T	C	C	C	C	C	G	C	C	C	C	A	
MH2	MG897553–55, MG897558, MG897561		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH3	MG897547–48, MG897564		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH4	MG897556, MG897567		.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH5	MG897545		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH6	MG897559		.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH7	MG897542		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH8	MG897562		.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH9	MG897546		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH10	MG897550		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH11	MG897541		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH12	MG897540		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH13	AL23-4		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	
MH14	3238		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	
MH15	MG897552		.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH16	MG897565–66		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	
MH17	MG897560		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	
MH18	MG897551, MG897563		.	.	A	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH19	3866		G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	
MH20	3862		.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MH21	AL23-11		.	A	.	.	.	C	G	G	.	.	.	G	.	G	.	.	G	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	
MH22	MG897568		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	A	.	.	.	A	T	T	T	T	.	.	.	T	T	A	.	

Примечание: цифрами обозначена позиция нуклеотидной замены в последовательности гена *cytb*.

Note: Numbers indicate nucleotide positions in the cytb gene sequence

DnaSP6 (Rozas et al. 2017). При построении сети гаплотипов *cytb* использовано программное обеспечение Network 10 (fluxus-engineering.com), для расчета использован метод «median joining» с MP-calculation.

Результаты и обсуждение

Получены частичные последовательности гена *cytb* мтДНК для 5 особей *Mu. hilgendorfi* (с 60 по 1084 п. н. — 1025 п. н.) и 6 особей *My. petax* (с 56 по 1081 п. н. — 1026 п. н.). С учетом образцов из ГенБанка всего в анализ вошло 34 особи сибирского трубконоса, для которых выявлены 22 гаплотипа MH1–22 (табл. 2). Общая выборка для восточной ночницы составила 7 особей, среди которых выявлено 6 гаплотипов MP1–6 (табл. 3).

По полученным последовательностям для каждого вида построена «median joining» сеть гаплотипов (рис. 1А–Б), где особи, отловленные в разные годы, обозначены различными цветами, и приведена половая принадлежность животных.

Зимующих в пещере Приморский Великан сибирских трубконосов можно отнести к трем основным генетическим линиям (рис. 1А). Линия А преобладает в исследуемой выборке и характеризуется звездчатой структурой с двумя основными гаплотипами (MH1–2) и множественными производными гаплотипами, отличающимися на 1–4 нуклеотидные замены (MH3–20). Две сильно дифференцированные генетические линии представлены гаплотипами, обнаруженными в разные годы у единичных особей: для линии В — гаплотип MH21 (2015 г.), для линии С — гаплотип MH22 (2023 г.). При этом даже в небольших выборках за 2014 и 2023 гг. исследованные особи относились к разным гаплотипам, количество нуклеотидных замен между которыми варьировало от 4 до 12. Если рассматривать половую принадлежность исследованных особей, важно отметить, что две редкие генетические линии В и С были представлены исключительно самками. Для восточной ночницы в пещере Приморский Великан также можно выделить две обособленные генетические линии S и O (рис. 1Б). Ранее по последовательностям контрольного региона мтДНК для тех же образцов, что и в настоящей работе, была установлена принадлежность большинства особей из пещеры Приморский Великан к широко распространенной генетической линии «Siberia» (линия S), преобладающей на территории Приморского края и Западной Сибири (Gorobeyko et al. 2025). Исключением является единственная особь 3865, которая относилась к линии «Okhotsk» (линия O), распространенной на юге Хабаровского края, на о-ве Сахалин и в Якутии (Gorobeyko et al. 2025).

Линия S представлена центральным гаплотипом MP1 с несколькими слабо раз-

Таблица 3

Нуклеотидные замены в гаплотипах *My. petax*

Table 3

Nucleotide substitutions in *My. petax* haplotypes

Гаплотип	Номер образца	<1…55 п. н.>	63	87	120	132	135	155	165	585	816	907	946	958	979	<1082…1140 п. н.>
MP1	MG897535, 3400		**A**	**C**	**C**	**A**	**T**	**C**	**C**	**A**	**G**	**A**	**A**	**C**	**C**	
MP2	3873		.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
MP3	3240		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	
MP4	3867		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	
MP5	3399		T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	
MP6	3865		.	.	T	G	C	T	T	G	A	G	.	.	.	

Примечание: цифрами обозначена позиция нуклеотидной замены в последовательности гена *cytb*.
Note: Numbers indicate nucleotide positions in the cytb gene sequence

 https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2025-17-2-238-249

Таблица 4

Показатели генетического разнообразия *Mu. hilgendorfi* и *My. petax* по последовательности *cytb*

Table 4

Genetic diversity indices for *Mu. hilgendorfi* and *My. petax* based on *cytb* sequences

Показатели	*Mu. hilgendorfi*			*My. petax*		
	вся выборка	самцы	самки	вся выборка	самцы	самки
n	34	14	20	7	3	4
N	22	12	15	6	3	3
Vs	40	15	35	13	4	9
h ± SD	0.961 ± 0.018	0.978 ± 0.035	0.968 ± 0.025	0.952 ± 0.096	1 ± 0.272	0.833 ± 0.222
π ± SD	0.00370 ± 0.00074	0.00287 ± 0.00046	0.00434 ± 0.00116	0.00362 ± 0.00143	0.0026 ± 0.00075	0.00439 ± 0.00204
Tajima's D (*P*)	–2.210 (P < 0.01)			–1.642 (P < 0.05)		

Примечание: n — объем выборки, N — число гаплотипов, Vs — число вариабельных сайтов, h — гаплотипическое разнообразие, π — нуклеотидное разнообразие, Tajima's D — коэффициент теста Таджимы, SD — стандартное отклонение, P — коэффициент Стьюдента.

Note: n — sample size, N — haplotype number, Vs — number of variable sites, h — haplotype diversity, π — nucleotide diversity, Tajima's D — Tajima's test coefficient, SD — standard deviation, P — Student's coefficient

личающими гаплотипами (MP2–5). Несмотря на небольшой объем выборки, гаплотипы особей, отловленных в один год, были различны. При этом гаплотип MP6 обособленной генетической линии O также был обнаружен у единственной самки. Выявленная закономерность дала нам основание подсчитать показатели генетического разнообразия не только для полных выборок данных видов, но и отдельно для выборок самцов и самок (табл. 4).

Для *Mu. hilgendorfi* показано высокое гаплотипическое разнообразие в сочетании с низкой нуклеотидной изменчивостью и отрицательным и статистически достоверным ($p < 0.01$) значением теста Таджимы на нейтральность эволюции. Данные результаты могут свидетельствовать о быстром недавнем росте численности от небольшого числа основателей, так называемом «эффекте основателя», что соответствует наблюдаемой для линии A звездчатой генетической структуре (рис. 1A). Сравнивая гаплотипическое разнообразие самцов и самок сибирского трубконоса, можно сказать, что при одинаково высоком гаплотипическом разнообразии нуклеотидное разнообразие самок практически вдвое выше: 0.00434 ± 0.00116 против 0.00287 ± 0.00046 у самцов.

Сходная картина высокого гаплотипического разнообразия при низкой нуклеотидной изменчивости и отрицательном значении теста Таджимы свойственна и *My. petax*. Однако в случае с восточной ночницей значения теста Таджимы только слабодостоверны ($p < 0.05$), что может быть обусловлено меньшим размером выборки. Нуклеотидное разнообразие у самок восточной ночницы также в два раза превышало значение данного показателя у самцов: 0.00439 ± 0.00204 против 0.0026 ± 0.00075.

Все это позволяет предположить, что наблюдаемое генетическое разнообразие зимовочных колоний может быть связано с эпизодическим притоком самок, происходящих из иных генетически обособленных летних мест обитания и случайно выбравших в первый год жизни местом зимовки пещеру Приморский Великан.

Таким образом, на зимовке в пещере Приморский Великан *Mu. hilgendorfi* и *My. petax* демонстрируют сходную генети-

ческую структуру: большая часть особей принадлежит к преобладающей генетической линии (A и S), характеризующейся звездчатой структурой с центральным гаплотипом, в то время как единичные представители сильно дифференцированных линий (B, C и O) во всех наблюдаемых случаях являлись самками.

Выявленная генетическая структура подтверждает генетическую неоднородность зимовочных колоний двух оседлых видов, возникающую вследствие того, что часть зимующих особей происходит из генетически обособленных летних мест обитания. В дальнейшем необходимо провести более детальный анализ специфики и степени генетической неоднородности колоний различных видов рукокрылых на зимовках и выявить связь этой неоднородности с таким явлением, как сворминг.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность и признательность участникам Владивостокского клуба спелеологов за помощь в организации полевых работ и сборе материала.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge members of the Vladivostok Caving Club for their essential contributions to fieldwork organization and specimen collection.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124012200182-1 «Эволюция наземной биоты востока Азии: палеонтологические, экологические и генетические аспекты»).

Funding

This research is part of the state-commissioned assignment No. 124012200182-1 from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation to the Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences.

Литература

Баишев, Ф. З., Смирнов, Д. Г., Вехник, В. П. (2014a) Изучение генетического разнообразия популяций *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera: Vespertilionidae), зимующих в искусственных подземельях Самарской Луки. *Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии*, т. 23, № 4, с. 86–95.

Баишев, Ф. З., Смирнов, Д. Г., Вехник, В. П. и др. (2014b) Генетическое разнообразие *Myotis daubentonii* и *Eptesicus nilssonii* (Mammalia: Chiroptera) в условиях Жигулевских гор. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*, т. 16, № 5-1, с. 380–385.

Берсенев, Ю. И. (1985) *Памятники природы карстового происхождения Приморского края*. Владивосток: Тихоокеанский институт географии ДВНЦ АН СССР, 48 с.

Горобейко, У. В., Шереметьева, И. Н., Казаков, Д. В. (2021) Краниометрическая изменчивость восточной ночницы *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae, Chiroptera) на юге Дальнего Востока России. *Биота и среда природных территорий*, № 3, с. 71–87. https://doi.org/10.37102/2782-1978_2021_3_5

Крускоп, С. В. (2012) Отряд Chiroptera. В кн.: И. Я. Павлинов, А. А. Лисовский (ред.). *Млекопитающие России: систематико-географический справочник*. М.: КМК, с. 73–126. (Сборник трудов Зоологического музея МГУ. Т. 52).

Смирнов, Д. Г., Баишев, Ф. З., Вехник, В. П., Курмаева, Н. М. (2015) Генетическая структура популяций *Myotis daubentonii* (Chiroptera) на Самарской Луке по результатам ISSR-анализа. *Вестник Тамбовского университета. Математика*, т. 20, вып. 1, с. 199–204.

Смирнов, Д. Г., Вехник, В. П., Курмаева, Н. М. и др. (2007) Видовая структура и динамика сообщества рукокрылых (Chiroptera: Vespertilionidae), зимующих в искусственных подземельях Самарской Луки. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*, № 5, с. 608–618.

Смирнов, Д. Г., Баишев, Ф. З., Безруков, В. А. и др. (2020) Пространственно-генетическая структура населения *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera, Vespertilionidae) на южной границе ареала в пределах европейской части России. *Известия Российской Академии наук. Серия биологическая*, № 4, с. 434–448. https://doi.org/10.31857/S0002332920040128

Тиунов, М. П. (1985) Зимующие рукокрылые (Chiroptera) юга Дальнего Востока СССР. *Зоологический журнал*, т. 64, № 10, с. 1595–1599.

Тиунов, М. П. (1988) Численность, возрастной состав и особенности зимовки большого трубконоса (*Murina leucogaster*) на юге Дальнего Востока. В кн.: В. А. Топачевский, М. Ф. Ковтун (ред.). *Рукокрылые (морфология, экология, эхолокация, паразиты, охрана)*. Киев: Наукова думка, с. 120–122.

Тиунов, М. П. (1997) *Рукокрылые Дальнего Востока России*. Владивосток: Дальнаука, 134 с.

Тиунов, М. П., Крускоп, С. В., Орлова, М. В. (2021) *Рукокрылые Дальнего Востока России и их эктопаразиты*. М.: Перо, 191 с.

Aljanabi, S. M., Martinez, I. (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, vol. 25, no. 22, pp. 4692–4693. https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692

Gorobeyko, U. V., Sheremetyeva, I. N., Kazakov, D. V., Guskov, V. Yu. (2023) A new type of tandem repeats in *Myotis petax* (Chiroptera, Vespertilionidae) mitochondrial control region. *Molecular Biology Reports*, vol. 50, no. 6, pp. 5137–5146. https://doi.org/10.1007/s11033-023-08468-4

Gorobeyko, U. V., Kartavtseva, I. V., Sheremetyeva, I. N. et al. (2020) DNA-barcoding and a new data about the karyotype of *Myotis petax* (Chiroptera, Vespertilionidae) in the Russian Far East. *Comparative Cytogenetics*, vol. 14, no. 4, pp. 483–500. https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v14i4.54955

Gorobeyko, U. V., Kazakov, D. V., Kadetova, A. A. et al. (2025) Intraspecific structure of *Myotis petax* Hollister, 1912 (Chiroptera: Vespertilionidae) based on mitochondrial DNA and morphological data. *Vertebrate Zoology*, vol. 75, pp. 87–106. https://doi.org/10.3897/vz.75.e134683

Hall, T. A. (1999) BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, vol. 41, pp. 95–98.

Hutterer, R., Ivanova, T., Meyer-Cords, C., Rodrigues, L. (2005) *Bat migrations in Europe: A review of banding data and literature*. Bonn: Federal Agency for Nature Conservation Publ., 180 p. (Naturschutz und Biologische Vielfalt. Vol. 28).

Kim, Y.-K., Park, S.-G., Han, S.-H. et al. (2016) Genetic population structure and phylogenetic relationship of the large-footed bat (*Myotis Macrodactylus*) on Jeju Island. *Journal of Life Science*, vol. 26, no. 7, pp. 749–757. https://doi.org/10.5352/JLS.2016.26.7.749

Kovacova, V., Zukal, J., Bandouchova, H. et al. (2018) White-nose syndrome detected in bats over an extensive area of Russia. *BMC Veterinary Research*, vol. 14, no. 1, article 192. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1521-1

Kruskop, S. V. (2004) Subspecific structure of *Myotis daubentonii* (Chiroptera, Vespertilionidae) and composition of the "*daubentonii*" species group. *Mammalia*, vol. 68, no. 4, pp. 299–306. https://doi.org/10.1515/mamm.2004.029

Kruskop, S. V. (2005) O taksonomii rossijskikh vidov roda *Murina* (Vespertilionidae, Chiroptera) [Towards the taxonomy of the Russian *Murina* (Vespertilionidae, Chiroptera)]. *Russkij teriologicheskij zhurnal — Russian Journal of Theriology*, vol. 4, no. 2, pp. 91–99. https://doi.org/10.15298/rusjtheriol.04.2.01

Kruskop, S. V., Borisenko, A. V., Ivanova, N. V. et al. (2012) Genetic diversity of northeastern Palaearctic bats as revealed by DNA barcodes. *Acta Chiropterologica*, vol. 14, no. 1, pp. 1–14. https://doi.org/10.3161/150811012X654222

Matveev, V. A., Kruskop, S. V., Kramerov, D. A. (2005) Revalidation of *Myotis petax* and its new status in connection with *M. daubentonii (*Kuhl, 1817) (Vespertilionidae, Chiroptera). *Acta Chiropterologica*, vol. 7, no. 1, pp. 23–37. https://doi.org/10.3161/1733-5329(2005)7[23:ROMPHA]2.0.CO;2

Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C. et al. (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 34, no. 12, pp. 3299–3302. https://doi.org/10.1093/molbev/msx248

Schmitz, A., Riesner, D. (2006) Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. *Analytical Biochemistry*, vol. 354, no. 2, pp. 311–313. https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.03.014

Yoshiyuki, M. (1989) A systematic study of the Japanese Chiroptera. *National Science Museum Monographs*, no. 7, pp. 1–242.

References

Aljanabi, S. M., Martinez, I. (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, vol. 25, no. 22, pp. 4692–4693. https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692 (In English)

Baishev, F. Z., Smirnov, D. G., Vehnik, V. P. (2014a) Izuchenie geneticheskogo raznoobraziya populyatsij *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera: Vespertilionidae), zimuyushchikh v iskusstvennykh podzemel'yakh Samarskoj Luki [Study of the genetic diversity of populations *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera: VespertilionidaE), wintering in artificial dungeons Samara Luka]. *Samarskaya Luka: problemy regional'noj i global'noj ekologii*, vol. 23, no. 4, pp. 86–95. (In Russian)

Baishev, F. Z., Smirnov, D. G., Vekhnik, V. P. et al. (2014b) Geneticheskoe raznoobrazie *Myotis daubentonii* i *Eptesicus nilssonii* (Mammalia: Chiroptera) v usloviyakh Zhigulevskikh gor [Genetic diversity *Myotis daubentonii* and *Eptesicus nilssonii* (Mammalia: Chiroptera) in the Zhiguli Mountains]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossijskoj akademii nauk — Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, vol. 16, no. 5-1, pp. 380–385. (In Russian)

Bersenev, Yu. I. (1985) *Pamyatniki prirody karstovogo proiskhozhdeniya Primorskogo kraya [Natural monuments of karst origin in Primorsky Krai]*. Vladivostok: Pacific Geographical Institute of the Far Eastern Research Center of the USSR Academy of Sciences Publ., 48 p. (In Russian)

Gorobeyko, U. V., Sheremetyeva, I. N., Kazakov, D. V., Guskov, V. Yu. (2023) A new type of tandem repeats in *Myotis petax* (Chiroptera, Vespertilionidae) mitochondrial control region. *Molecular Biology Reports*, vol. 50, no. 6, pp. 5137–5146. https://doi.org/10.1007/s11033-023-08468-4 (In English)

Gorobeyko, U. V., Kartavtseva, I. V., Sheremetyeva, I. N. et al. (2020) DNA-barcoding and a new data about the karyotype of *Myotis petax* (Chiroptera, Vespertilionidae) in the Russian Far East. *Comparative Cytogenetics*, vol. 14, no. 4, pp. 483–500. https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v14i4.54955 (In English)

Gorobeyko, U. V., Sheremetyeva, I. N., Kazakov, D. V. (2021) Kraniometricheskaya izmenchivost' vostochnoj nochnitsy *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae, Chiroptera) na yuge Dal'nego Vostoka Rossii [Craniometric variability of Eastern water bat *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae, Chiroptera) in the southern Russian Far East]. *Biota i sreda prirodnykh territorij — Biota and Environment of Natural Areas*, no. 3, pp. 71–87. https://doi.org/10.37102/2782-1978_2021_3_5 (In Russian)

Gorobeyko, U. V., Kazakov, D. V., Kadetova, A. A. et al. (2025) Intraspecific structure of *Myotis petax* Hollister, 1912 (Chiroptera: Vespertilionidae) based on mitochondrial DNA and morphological data. *Vertebrate Zoology*, vol. 75, pp. 87–106. https://doi.org/10.3897/vz.75.e134683 (In English)

Hall, T. A. (1999) BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, vol. 41, pp. 95–98. (In English)

Hutterer, R., Ivanova, T., Meyer-Cords, C., Rodrigues, L. (2005) *Bat migrations in Europe: A review of banding data and literature*. Bonn: Federal Agency for Nature Conservation Publ., 180 p. (Naturschutz und Biologische Vielfalt [Nature conservation and biodiversity]. Vol. 28). (In English)

Kim, Y.-K., Park, S.-G., Han, S.-H. et al. (2016) Genetic population structure and phylogenetic relationship of the large-footed bat (*Myotis Macrodactylus*) on Jeju Island. *Journal of Life Science*, vol. 26, no. 7, pp. 749–757. https://doi.org/10.5352/JLS.2016.26.7.749 (In Korean)

Kovacova, V., Zukal, J., Bandouchova, H. et al. (2018) White-nose syndrome detected in bats over an extensive area of Russia. *BMC Veterinary Research*, vol. 14, no. 1, article 192. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1521-1 (In English)

Kruskop, S. V. (2004) Subspecific structure of *Myotis daubentonii* (Chiroptera, Vespertilionidae) and composition of the "*daubentonii*" species group. *Mammalia*, vol. 68, no. 4, pp. 299–306. https://doi.org/10.1515/mamm.2004.029 (In English)

Kruskop, S. V. (2005) O taksonomii rossijskikh vidov roda *Murina* (Vespertilionidae, Chiroptera) [Towards the taxonomy of the Russian *Murina* (Vespertilionidae, Chiroptera)]. *Russkij teriologicheskij zhurnal — Russian Journal of Theriology*, vol. 4, no. 2, pp. 91–99. https://doi.org/10.15298/rusjtheriol.04.2.01 (In English)

Kruskop, S. V. (2012) Otryad Chiroptera [Order Chiroptera]. In: I. Ya. Pavlinov, A. A. Lissovsky (eds.). *The mammals of Russia: A taxonomic and geographic reference*. Moscow: KMK Scientific Press, pp. 73–126. (Sbornik trudov Zoologicheskogo muzeya MGU [Archives of Zoological Museum of Moscow State University]. Vol. 52). (In Russian)

Kruskop, S. V., Borisenko, A. V., Ivanova, N. V. et al. (2012) Genetic diversity of northeastern Palaearctic bats as revealed by DNA barcodes. *Acta Chiropterologica*, vol. 14, no. 1, pp. 1–14. https://doi.org/10.3161/150811012X654222 (In English)

Matveev, V. A., Kruskop, S. V., Kramerov, D. A. (2005) Revalidation of *Myotis petax* and its new status in connection with *M. daubentonii (*Kuhl, 1817) (Vespertilionidae, Chiroptera). *Acta Chiropterologica*, vol. 7, no. 1, pp. 23–37. https://doi.org/10.3161/1733-5329(2005)7[23:ROMPHA]2.0.CO;2 (In English)

Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C. et al. (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 34, no. 12, pp. 3299–3302. https://doi.org/10.1093/molbev/msx248 (In English)

Schmitz, A., Riesner, D. (2006) Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. *Analytical Biochemistry*, vol. 354, no. 2, pp. 311–313. https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.03.014 (In English)

Smirnov, D. G., Baishev, F. Z., Vekhnik, V. P., Kurmaeva, N. M. (2015) Geneticheskaya struktura populyatsij *Myotis daubentonii* (Chiroptera) na Samarskoj Luke po rezul'tatam ISSR-analiza [The genetic structure of populations of *Myotis daubentonii* (Chiroptera) on the Samara Bend as a result of ISSR-analysis]. *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki — Tambov University Reports. Series: Natural and Technical Sciences*, vol. 20, no. 1, pp. 199–204. (In Russian)

Smirnov, D. G., Vekhnik, V. P., Kurmaeva, N. M. et al. (2007) Vidovaya struktura i dinamika soobshchestva rukokrylykh (Chiroptera: Vespertilionidae), zimuyushchikh v iskusstvennykh podzemel'yakh Samarskoj Luki [Species structure and dynamics of bat communities (Chiroptera: Vespertilionidae) hibernating in artificial caves of Samara Luka]. *Izvestiya Rossijskoj akademii nauk. Seriya biologicheskaya — Biology Bulletin*, vol. 34, no. 5, pp. 507–516. https://doi.org/10.1134/S1062359007050147 (In Russian)

Smirnov, D. G., Baishev, F. Z., Bezrukov, V. A. et al. (2020) Prostranstvenno-geneticheskaya struktura naseleniya *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera, Vespertilionidae) na yuzhnoj granitse areala v predelakh evropejskoj chasti Rossii [The spatial-genetic population structure of *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera, Vespertilionidae) on the southern border of its range within European Russia]. *Izvestiya Rossijskoj akademii nauk. Seriya biologicheskaya — Biology Bulletin*, vol. 47, no. 4, pp. 427–439. https://doi.org/10.1134/S1062359020040123 (In Russian)

Tiunov, M. P. (1985) Zimuyushchie rukokrylye (Chiroptera) yuga Dal'nego Vostoka SSSR [Wintering Chiroptera in the South of the Far East]. *Zoologicheskij zhurnal*, vol. 64, no. 10, pp. 1595–1599. (In Russian)

Tiunov, M. P. (1988) Chislennost', vozrastnoj sostav i osobennosti zimovki bol'shogo trubkonosa (*Murina leucogaster*) na yuge Dal'nego Vostoka [Population, age composition and wintering characteristics of the greater tube-nosed bat (*Murina leucogaster*) in the south of the Far East]. In: V. A. Topachevskij, M. F. Kovtun (eds.). *Rukokrylye (morfologiya, ekologiya, ekholokatsiya, parazity, okhrana) [Chiroptera (morphology, ecology, echolocation, parasites, protection)]*. Kyiv: Naukova dumka Publ, pp. 120–122. (In Russian)

Tiunov, M. P. (1997) *Rukokrylye Dal'nego Vostoka Rossii [Bats of the Russian Far East]*. Vladivostok: Dalnauka Publ., 134 p. (In Russian)

Tiunov, M. P., Kruskop, S. V., Orlova, M. V. (2021) *Rukokrylye Dal'nego Vostoka Rossii i ikh ektoparazity [Bats of the Russian Far East and their ectoparasites]*. Moscow: Pero Publ., 191 p. (In Russian)

Yoshiyuki, M. (1989) A systematic study of the Japanese Chiroptera. *National Science Museum Monographs*, no. 7, pp. 1–242. (In English)

Для цитирования: Горобейко, У. В., Шибаева, В. В. (2025) Первые данные о генетической структуре зимовочных колоний *Murina hilgendorfi* (Peters, 1880) и *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae: Chiroptera) в пещере Приморский Великан. *Амурский зоологический журнал*, т. XVII, № 2, с. 238–249. https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2025-17-2-238-249

Получена 27 января 2025; прошла рецензирование 21 марта 2025; принята 3 мая 2025.

For citation: Gorobeyko, U. V., Shibaeva, V. V. (2025) First genetic data on wintering colonies of *Murina hilgendorfi* (Peters, 1880) and *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae: Chiroptera) in the Primorsky Velikan cave. *Amurian Zoological Journal*, vol. XVII, no. 2, pp. 238–249. https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2025-17-2-238-249

Received 27 January 2025; reviewed 21 March 2025; accepted 3 May 2025.