



## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233>

© ЯШИНА Л.Н., ЖИГАЛИН А.В., АБРАМОВ С.А., ЛУЧНИКОВА Е.М., СМЕТАННИКОВА Н.А., ДУПАЛ Т.А., КРИВОПАЛОВ А.В., ВДОВИНА Е.Д., СВИРИН К.А., ГАДЖИЕВ А.А., МАЛЫШЕВ Б.С., 2024

## Выявление коронавирусов (*Coronaviridae*) у рукокрылых на территории Северного Кавказа и юга Западной Сибири

Яшина Л.Н.<sup>1✉</sup>, Жигалин А.В.<sup>2,3</sup>, Абрамов С.А.<sup>4</sup>, Лучникова Е.М.<sup>5</sup>, Сметанникова Н.А.<sup>1</sup>, Дупал Т.А.<sup>4</sup>, Кривоपालов А.В.<sup>4</sup>, Вдовина Е.Д.<sup>5</sup>, Свиринов К.А.<sup>1</sup>, Гаджиев А.А.<sup>3</sup>, Малышев Б.С.<sup>1</sup><sup>1</sup>ФБун «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;<sup>2</sup>ФГАОУ «Национальный исследовательский Томский государственный университет», 634050, г. Томск, Россия;<sup>3</sup>ФГБОУ «Дагестанский государственный университет», 367000, г. Махачкала, Россия;<sup>4</sup>ФГБун «Институт систематики и экологии животных» СО РАН, 630091, г. Новосибирск, Россия;<sup>5</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», 650099, г. Кемерово, Россия

### Резюме

**Введение.** Рукокрылые являются природным резервуаром коронавирусов (*Coronaviridae*), вызвавших за последнее десятилетие три вспышки заболевания людей: SARS, MERS и COVID-19, или SARS-2.**Цель работы** – исследование многообразия коронавирусов среди рукокрылых, населяющих предгорные и горные районы республик Дагестан, Алтай и Кемеровской области.**Материалы и методы.** Образцы ротовых смывов и фекалии рукокрылых исследовали на присутствие РНК коронавирусов с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).**Результаты.** Показано, что большие подковоносы (*Rhinolophus ferrumequinum*), обитающие в Республике Дагестан, являются носителями двух разных коронавирусов. Один из двух коронавирусов входит в состав подрода *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus*, включающего возбудителей SARS и COVID-19. Второй коронавирус отнесен к подроду *Decacovirus* рода *Alphacoronavirus* и наиболее близок вирусам, выявленным среди *Rhinolophus* spp. из европейских и ближневосточных стран. В Республике Алтай и Кемеровской области у гладконосых летучих мышей, ночницы Иконникова (*Myotis ikonnikovi*) и восточной ночницы (*Myotis petax*), обнаружены коронавирусы, входящие в род *Alphacoronavirus*, подрод *Pedacovirus*. Вирус от *M. ikonnikovi* из Республики Алтай близок вирусам из Японии и Кореи, а также вирусам от *Myotis* spp. из европейских стран. Вирус из Кемеровской области от *M. petax* группируется с коронавирусами от *Myotis* spp. из азиатских стран и значительно отличается от коронавирусов, ранее обнаруженных в том же природном носителе.**Ключевые слова:** коронавирус; рукокрылые; филогенетический анализ**Для цитирования:** Яшина Л.Н., Жигалин А.В., Абрамов С.А., Лучникова Е.М., Сметанникова Н.А., Дупал Т.А., Кривоपालов А.В., Вдовина Е.Д., Свиринов К.А., Гаджиев А.А., Малышев Б.С. Выявление коронавирусов (*Coronaviridae*) у рукокрылых на территории Северного Кавказа и юга Западной Сибири. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(3): 255–265. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233> EDN: <https://elibrary.ru/konejo>**Финансирование.** Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 22-24-00377. Отбор проб на территории Республики Дагестана выполнен при поддержке Российского научного фонда № 22-74-00047, <https://rscf.ru/project/22-74-00047/>**Благодарности.** Авторы выражают благодарность куратору коллекции рукокрылых ИСИЭЖ СО РАН А.А. Маслову за помощь в установлении видовой принадлежности летучих мышей.**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.**Этическое утверждение.** Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23 July 2010). Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по отлову животных в соответствии с протоколом и рекомендациями по безопасной работе МУ 3.1.0211-20 (утв. 03.09.2020). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Института систематики и экологии животных СО РАН (Протокол № 2020-02 от 14.05.2020) и Дагестанского государственного университета (Протокол № 2 от 13.05.2021).

## ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233>

## Coronaviruses (*Coronaviridae*) of bats in the northern Caucasus and south of western Siberia

Liudmila N. Yashina<sup>1✉</sup>, Alexander V. Zhigalin<sup>2,3</sup>, Sergey A. Abramov<sup>4</sup>, Ekaterina M. Luchnikova<sup>5</sup>, Natalia A. Smetannikova<sup>1</sup>, Tamara A. Dupal<sup>4</sup>, Anton V. Krivopalov<sup>4</sup>, Evgenia D. Vdovina<sup>5</sup>, Kirill A. Svirin<sup>1</sup>, Alimurad A. Gadzhiev<sup>3</sup>, Boris S. Malyshev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR» of Rospotrebnadzor, 630559, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia;

<sup>2</sup>National Research Tomsk State University, 634050, Tomsk, Russia;

<sup>3</sup>Dagestan State University, 367000, Makhachkala, Russia;

<sup>4</sup>Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 630091, Novosibirsk, Russia;

<sup>5</sup>Kemerovo State University, 650099 Kemerovo, Russia

### Abstract

**Introduction.** Bats are natural reservoirs of coronaviruses (*Coronaviridae*), which have caused three outbreaks of human disease SARS, MERS and COVID-19 or SARS-2 over the past decade. The purpose of the work is to study the diversity of coronaviruses among bats inhabiting the foothills and mountainous areas of the Republics of Dagestan, Altai and the Kemerovo region.

**Materials and methods.** Samples of bat oral swabs and feces were tested for the presence of coronavirus RNA by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

**Results.** It has been shown that the greater horseshoe bats (*Rhinolophus ferrumequinum*), inhabiting the Republic of Dagestan, are carriers of two different coronaviruses. One of the two coronaviruses is a member of the *Sarbecovirus* subgenus of the *Betacoronavirus* genus, which includes the causative agents of SARS and COVID-19. The second coronavirus is assigned to the *Decacovirus* subgenus of the *Alphacoronavirus* genus and is most similar to viruses identified among *Rhinolophus* spp. from European and Middle Eastern countries. In the Altai Republic and Kemerovo region, coronaviruses belonging to the genus *Alphacoronavirus*, subgenus *Pedacovirus*, were found in the smooth-nosed bats: Ikonnikov's bat (*Myotis ikonnikovi*) and the eastern bat (*Myotis petax*). The virus from the Altai Republic from *M. ikonnikovi* is close to viruses from Japan and Korea, as well as viruses from *Myotis* spp. from European countries. The virus from the Kemerovo region from *M. petax* groups with coronaviruses from *Myotis* spp. from Asian countries and is significantly different from coronaviruses previously discovered in the same natural host.

**Keywords:** coronavirus; bats; phylogenetic analysis

**For citation:** Yashina L.N., Zhigalin A.V., Abramov S.A., Luchnikova E.M., Smetannikova N.A., Dupal T.A., Krivopalov A.V., Vdovina E.D., Svirin K.A., Gadzhiev A.A., Malyshev B.S. Coronaviruses (*Coronaviridae*) of bats in the northern Caucasus and south of western Siberia. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(3): 255–265. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-233> <https://elibrary.ru/konejo>

**Funding.** The research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 22-24-00377. Sampling on the territory of the Republic of Dagestan was carried out with the support of the Russian Science Foundation, grant number 22-74-00047, <https://rscf.ru/project/22-74-00047/>.

**Acknowledgement.** The authors express their gratitude to the curator of the bat collection at the Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences A.A. Maslov for help in establishing the species identity of bats.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Ethics approval.** Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23 July 2010). Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of wild animals in accordance with Russian guideline 3.1.0211-20 issued on 03.09.2020. The research protocols were approved by the Ethics Committee of the Institute of Systematics and Ecology of Animals (Protocol No 2020-02 dated 14.04.2020) and Dagestan State University (Protocol No 2 dated 13.05.2021).

### Введение

Коронавирусы (*Coronaviridae*: *Betacoronavirus*) относятся к числу опасных вирусных патогенов, вызвавших за последние 20 лет три вспышки тяжелых респираторных заболеваний у человека: SARS,

MERS, COVID-19 [1–3]. Возбудители заболевания получили названия SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 соответственно. Показано, что природным резервуаром этих коронавирусов являются рукокрылые, хотя заражение человека инфекциями SARS и MERS произошло через промежуточного хозяина [4–7].

Среди рукокрылых из Юго-Восточной Азии и Японии были обнаружены коронавирусы, наиболее близкие к SARS-CoV и SARS-CoV-2, а наиболее близкие к MERS-CoV были выявлены Евразии в регионах возникновения вспышек [8–11].

Близкородственные вирусы, входящие вместе с SARS-CoV и SARS-CoV-2 в подрод *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus*, были выявлены среди разных видов подковоносных летучих мышей (*Rhinolophidae*) как в азиатских, так и в африканских и европейских странах [12, 13]. Наиболее близкие к SARS-CoV-2 вирусы были обнаружены в Китае среди *Rhinolopus affinis* (штамм RaTG13, уровень гомологии геномов 96%) и в Лаосе среди *Rh. malayanus* (штамм BANAL-52, уровень гомологии 97%) [13]. Многочисленные изоляты SARS-CoV-2 подобных коронавирусов, найденные в европейских, африканских и ближневосточных странах среди *Rhinolopus spp.*, отличаются от SARS-CoV-2 значительно сильнее, гомология геномов не превышает 79%, также существенно отличается и рецептор-связывающий домен поверхностного гликопротеина (S), отвечающий за связывание с клетками-мишенями [14–17]. Коронавирусы, входящие в подрод *Merbecovirus* рода *Betacoronavirus*, включающий возбудителя MERS, выявлены в Евразии, Африке, Южной Америке среди разных видов рукокрылых [10, 12]. В европейских странах MERS-подобные коронавирусы найдены среди гладконосных летучих мышей (семейство *Vespertilionidae*) [18, 19]. Что еще более важно, многие недавно открытые коронавирусы циркулируют у нескольких видов летучих мышей, а некоторые из них способны связываться с рецепторами поверхности клеток человека ACE2 (рецепторы SARS-CoV и SARS-CoV-2) или DPP4 (рецепторы MERS-CoV) [10, 13, 19, 20].

Эпидемиологические исследования по выявлению коронавирусов в природных резервуарах и их типированию в России начались во время пандемии COVID-19. В 2020 г. были открыты SARS-подобные коронавирусы в двух видах летучих мышей рода подковоносов (PHK-изоляты Khosta-1 от *Rh. ferrumequinum* и Khosta-2 от *Rh. hipposideros*) в Краснодарском крае РФ и изучены их полноразмерные геномы [17]. Уровень гомологии российских изолятов составил 76–78% со штаммами SARS-CoV и SARS-CoV-2 из Китая и был наибольшим (89%) с европейским штаммом BM48-31/BGR/2008 из Болгарии для Khosta-1 и с африканским штаммом VtKY72 (80%) для Khosta-2. MERS-подобный коронавирус выявлен среди гладконосов *Pipistrellus nathusii* (изолят MOW-BatCoV/15-22) в центральной части европейской территории России [21]. Уровень гомологии российского изолята с возбудителями MERS составил 81–82%. До настоящего времени исследований коронавирусов среди рукокрылых на территории Северного Кавказа и азиатской части страны не проводилось. В ходе проведенного исследования в Дагестане выявлена циркуляция двух коронавирусов, относящихся к подроду *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus* и подроду *Decacovirus* рода *Alphacoronavirus*. На юге Западной Си-

бири обнаружены коронавирусы, входящие в подрод *Pedacovirus* рода *Alphacoronavirus*.

### Материалы и методы

Экспедиционные работы, направленные на сбор биоматериала, были проведены в августе 2020 г. в Республике Алтай, в июне 2023 г. в Кемеровской области, в декабре 2022 г. и апреле 2023 г. в Республике Дагестан (рис. 1). Отловы в Республике Алтай и Кемеровской области проводили летом специализированными сетями, размещенными в местах пролета животных. В Республике Дагестан материал отбирали в период гибернации рукокрылых в местах зимовок. Для обеспечения безопасности исследователей при работе с потенциально зараженными животными соблюдали рекомендации, приведенные в МУ 3.1.0211-20 (утв. 03.09.2020).

При исследовании соблюдали институциональные и национальные стандарты по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES 23 July 2010), а также институциональные и национальные стандарты по отлову животных в соответствии с протоколом и рекомендациями по безопасной работе МУ 3.1.0211-20 (утв. 03.09.2020). Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом Института систематики и экологии животных СО РАН (Протокол № 2020-02 от 14.05.2020) и Дагестанского государственного университета (Протокол № 2 от 13.05.2021).

Отобранные ротоглоточные смывы и фекалии помещали в жидкий азот либо в стабилизирующий раствор RNAlater (QIAGEN GmbH, Германия) для последующего выделения РНК и ее анализа методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Подтверждение таксономической принадлежности животных, определенной на основе морфологических признаков, было проведено путем анализа фрагмента гена *COI*, кодирующего первую субъединицу цитохромоксидазы митохондриальной ДНК с праймерами, описанными ранее [22].

Выделение РНК проводили с использованием набора «РИБО-преп» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия). Скрининг образцов выполняли методом ОТ-ПЦР с использованием обратной транскриптазы M-MuLV-RN («Диа-М», Россия), Taq ДНК-полимеразы Hot Start («Диа-М», Россия) по протоколу и с праймерами на консервативную область гена РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp) коронавируса (фрагмент 397 н.о.), описанными ранее [23]. На основе вновь сконструированного набора праймеров получали полноразмерный ген поверхностного гликопротеина шипа (S) а также фрагменты гена *nsp16*. Определение нуклеотидных последовательностей каждой из цепей ампликонов выполняли на автоматическом анализаторе ABI Prism 310, используя набор BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США).

Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма MUSCLE в программе MEGA X. Для построения филогенетических

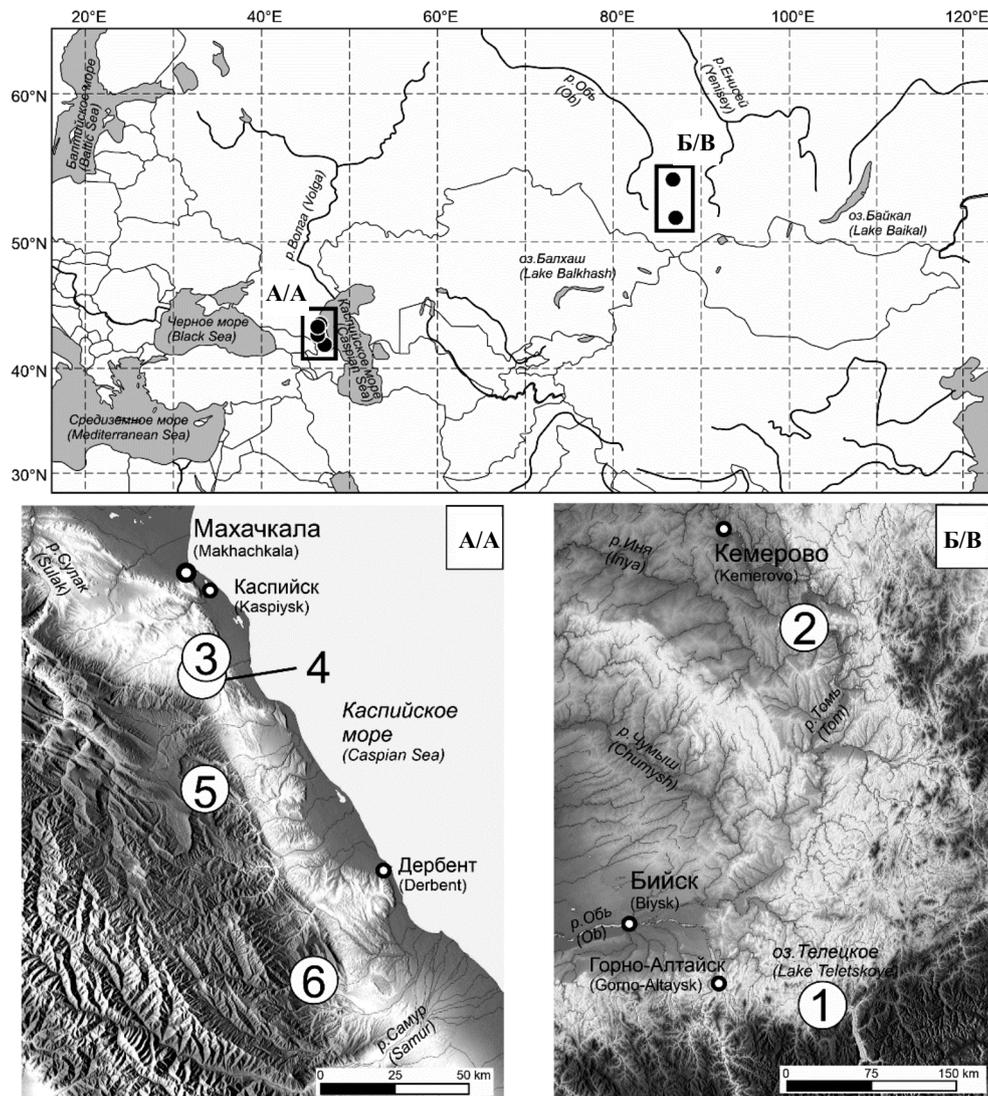


Рис. 1. Расположение мест отлова рукокрылых на территории России.

А – точки отлова на территории Северного Кавказа: 4 – пещера «Большая глиняная», 3 – пещера «Карабудахкентская», 5 – штольни у села Ханцкаркамахи, 6 – пещера у села Куг; Б – точки отлова на территории юга Западной Сибири: 1 – Артыбаш, 2 – урочище Ажendarово.

Fig. 1. Map showing the locations of bat trapping sites in Russia.

A – capture points in the North Caucasus: 4 – Bolshaya Glinyanaya cave, 3 – Karabudakhkentskaya cave, 5 – adits near the village Khantskarkamahi, 6 – cave near the village of Kug; B – capture points in the south of Western Siberia: 1 – Artybash, 2 – Azhendarovo tract.

деревьев использовали метод Neighbor-joining с моделью эволюции Kimura 2. Вычисления проводили для 1000 итераций.

### Результаты

В период 2020–2023 гг. в северо-восточной части Горного Алтая вблизи Телецкого озера, в предгорных районах западного макросклона Кузнецкого Алатау, пещерах и штольнях северо-восточной части Большого Кавказа была отловлена 101 особь рукокрылых 11 видов, входящих в состав семейств подковоносые (*Rhinolophidae*) и гладконосые (*Vespertilionidae*). Все образцы были протестированы методом ОТ-ПЦР с использованием праймеров к гену коронавирусного генома RdRp. Вирусная РНК была выявлена в образ-

цах от 11 больших подковоносов (*Rh. ferrumequinum* (Schreber, 1774)) из Республики Дагестан и 2 образцах от гладконосых летучих мышей, восточной ночницы (*Myotis petax* (Hollister, 1912)) из предгорных районов Кузнецкого Алатау и ночнице Иконникова (*Myotis ikonnikovi* (Ognev, 1912)) из Горного Алтая (таблица). Три РНК-положительных образца из Республики Дагестан дополнительно анализировали с использованием праймеров к фрагменту гена *nsp16*, а для одного из образцов был получен полноразмерный ген оболочечно-го белка S. Новые нуклеотидные последовательности вирусов были депонированы в банке данных GenBank под номерами PP265313–PP265325.

Филогенетический анализ, основанный на фрагментах гена RdRp, выявил среди новых РНК-изо-

**Таблица.** Выявление инфицированных коронавирусами рукокрылых методом ОТ-ПЦР и идентифицированные вирусы в республиках Дагестан, Алтай и Кемеровской области

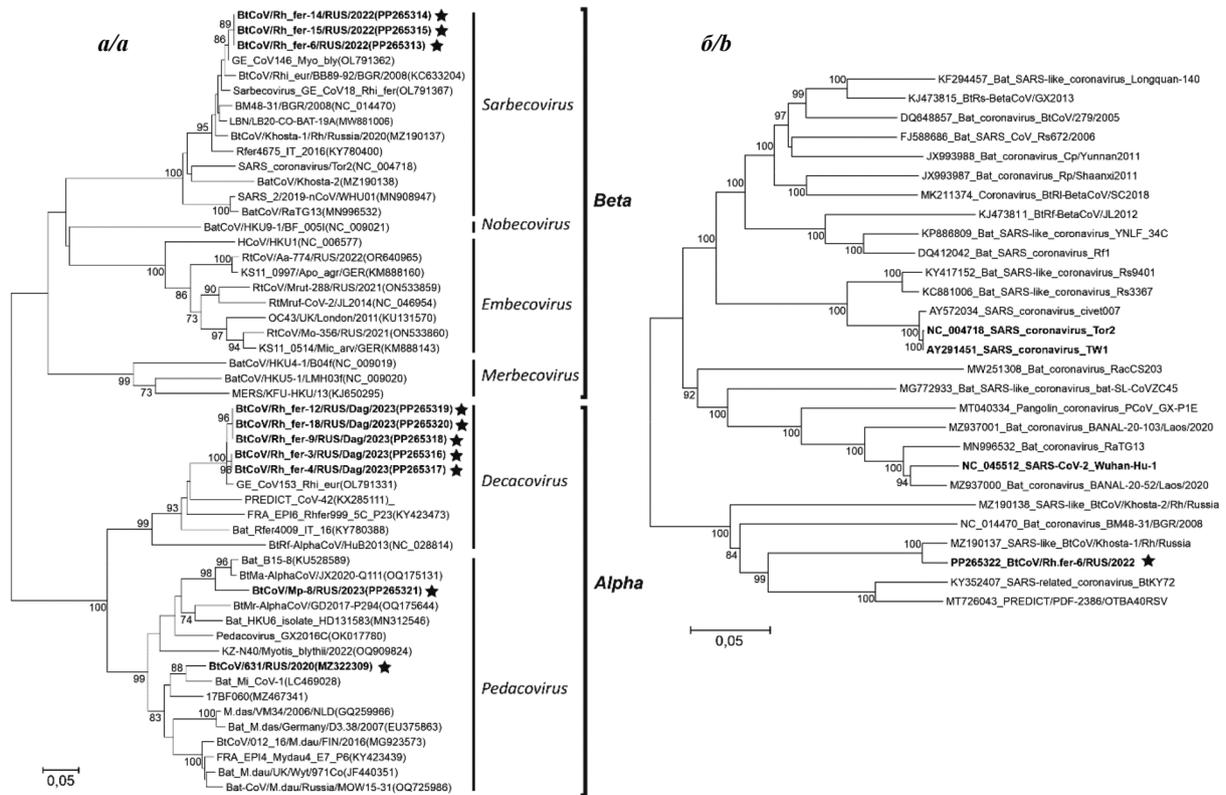
**Table.** Detection of coronavirus infection in bats by RT-PCR and viruses identified in bats in Republics of Dagestan, Altai and Kemerovo region

Регион Region	Место отлова Collection Site	Вид Species	Год Year	Коронавирус РНК+/исследованы Coronavirus RNA Positive/Tested	Род/подрод коронавируса Coronavirus Genus/Subgenus
Республика Дагестан Dagestan Republic	Пещера «Большая глиняная» Cave Big Clay	<i>Myotis blythii</i>	2022	0/9	
		<i>Myotis blythii</i>	2022	0/4	
	Штольни у села Ханцаркамахи Adits near the village of Khants- karkamahi	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	2022	3/11	<i>Beta/Sarbecovirus</i>
		<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	2023	2/4	<i>Alpha/Decacovirus</i>
		<i>Rhinolophus hipposideros</i>	2023	0/1	
	Пещера «Карабудажкентская» Cave Karabudakhkent	<i>Rhinolophus mehelyi</i>	2023	0/9	
Пещера «Большая глиняная» Cave Big Clay	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	2023	8/25	<i>Alpha/Decacovirus</i>	
Республика Алтай Altai Republic	Поселок Артыбаш Artybash	<i>Myotis ikonnikovi</i>	2020	1/4	<i>Alpha/Pedacovirus</i>
		<i>Myotis dasycneme</i>	2020	0/2	
		<i>Plecotus ognevi</i>	2020	0/4	
		<i>Eptesicus nilssonii</i>	2020	0/4	
		<i>Myotis petax</i>	2020	0/2	
		<i>Myotis sibiricus</i>	2020	0/5	
Кемеровская область Kemerovo region	Урочище Ажendarово Azhendarovo tract	<i>Myotis petax</i>	2023	1/3	<i>Alpha/Pedacovirus</i>
		<i>Myotis dasycneme</i>	2023	0/2	
		<i>Vespertilio murinus</i>	2023	0/3	
		<i>Myotis ikonnikovi</i>	2023	0/1	
		<i>Eptesicus nilssonii</i>	2023	0/1	

лятов 3 вида коронавирусов (рис. 2 а). Два вида коронавирусов были обнаружены у больших подковоносов (*Rh. ferrumequinum*). Первый коронавирус, выявленный у трех особей из одной заброшенной штольни, входит в состав подрода *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus* и наиболее близок (99,5% гомологии) доступным из банка данных GenBank последовательностям вируса, обнаруженного недавно у гладконосых мышей, остроухих ночниц (*M. blythii*), из граничащий с Дагестаном Грузии (GE\_CoV146\_Myo\_bly). Другие коронавирусы, формирующие общий кластер на филогенетическом дереве, ранее выявлены от разных видов подковоносов (*Rhinolophus* spp.) из сопредельных регионов: Грузии (GE\_CoV93\_Rhi\_eur), Болгарии (BV99-04/BGR/2009, BM48-31/BGR/2008), Ливана (LBN/LB20-CO-BAT-19A), Краснодарского края РФ (BtCoV/Khosta-1/Rh/Russia/2020), Италии (Rfer4675\_IT\_2016) с уровнем гомологии 95,2–97,3% для нуклеотидных и 99,2–100% для аминокислотных последовательностей. Второй коронавирус, выявленный у 2 из 4 особей *Rh. ferrumequinum* в расположенной рядом штольне, а также у 6 из 25 особей из пе-

щеры, удаленной на 45 км, по результатам филогенетического анализа отнесен к роду *Alphacoronavirus*, подрод *Decacovirus*. Наиболее близкие вирусы (гомология 98,3–99,0% нуклеотидных и 100% аминокислотных последовательностей) обнаружены среди *Rh. euryale* из соседней Грузии (GE\_CoV153\_Rhi\_eur). Другие близкие варианты коронавирусов ранее выявлены от *Rhinolophus* spp. из европейских и африканских стран: Италии (Bat Rfer4015\_IT\_16), Франции (FRA\_EPI6\_Rhfer999\_5C\_P23), Руанды (PREDICT\_CoV-42). Уровень их гомологии с новыми изолятами составил 86,7–88,4% для нуклеотидных и 96,9–99,2% для аминокислотных последовательностей. Менее близки к новым изолятам были последовательности *Alphacoronavirus* от того же носителя из Китая (менее 77,3% нуклеотидных и менее 93,2% аминокислотных). Различия нуклеотидных последовательностей новых РНК-изолятов *Alphacoronavirus* из двух пещер составило 1,0%.

Анализ последовательностей фрагмента вирусного генома от особей, отловленных в одной штольне или пещере, показал их идентичность друг другу



**Рис. 2.** Филогенетические деревья, отображающие взаимосвязи новых РНК-изолятов коронавируса, ассоциированных с рукокрылыми на Северном Кавказе и юге Западной Сибири, и изолятов коронавируса из других регионов мира.

Деревья построены на основе фрагмента гена RdRp (а), гена белка S (б) с использованием метода ближайших соседей (NJ). Индексы поддержки рассчитаны для 1000 повторов, индексы поддержки (> 70%) отображены в соответствующих узлах. Масштабная линейка указывает количество нуклеотидных замен на сайт. Новые изоляты выделены жирным шрифтом и звездочкой, жирным шрифтом выделены также возбудители SARS и COVID-19 (б). В анализ включены по две/три идентичных последовательности РНК-изолятов из Республики Дагестан (а).

**Fig. 2.** Phylogenetic tree showing relationships of new coronavirus strains, associated with bats in North Caucasus and Altai-Sayan regions, with strains from other regions.

The trees were generated based on the partial RdRp gene (a), S gene (b), using a neighbor-joining method (NJ) with 1000 bootstrap replicates; bootstrap values (> 70%) are shown at relevant nodes. The scale bar depicts the number of nucleotide substitutions per site. Detected coronaviruses are labeled in bold font and by asterisk, coronaviruses which caused SARS and COVID-19 are also labeled in bold font (b). Two or three identical sequences of strains from the Republic of Dagestan were used for analysis (a).

в каждом из трех мест отлова, где были обнаружены инфицированные *Rh. ferrumequinum*. Поскольку анализ проведен с использованием консервативного гена RdRp, для подтверждения полученных данных был проведен анализ фрагмента более варибельного гена *nsp16* для РНК-изолятов SARS-подобного *Betacoronavirus* (BtCoV/Rf-6/RUS/2022, BtCoV/Rf-14/RUS/2022, BtCoV/Rf-15/RUS/2022). Показано, что и в этом случае последовательности анализируемого фрагмента генома коронавируса от трех инфицированных особей из одной штольни были идентичны. Эти данные, а также сравнительно низкий уровень различия (менее 4,0%) географически удаленных изолятов *Betacoronavirus* из Дагестана, Болгарии, Ливана, Италии и Краснодарского края РФ свидетельствуют о высокой стабильности геномов у природных носителей.

Поскольку один из выявленных нами вариантов вируса из Республики Дагестан входит в состав подрода *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus*, включающего как

возбудителей эпидемии SARS, так и возбудителей пандемии COVID-19, был получен и проведен филогенетический анализ полноразмерного гена поверхностного гликопротеина шипа (S) для изолята BtCoV/Rf-6/RUS/2022 (рис. 2 б). Наиболее близкие из опубликованных в GenBank нуклеотидных последовательностей с уровнем гомологии 96,9% оказались у изолята Khosta-1 из Краснодарского края, выявленного в том же природном носителе. При этом гомология кодируемых аминокислотных последовательностей белков S составила 99,1%. У других, более близких по анализу гена RdRp РНК-изолятов вируса из Грузии, европейских стран и Ливии, в GenBank были доступны лишь короткие фрагменты гена RdRp и отсутствовали гены белков S. Исключением являлся полноразмерный геном изолята из Болгарии (BM48-31/BGR/2008). При сравнимом уровне различия фрагмента гена RdRp изолятов из Республики Дагестан, Болгарии и Краснодарского края (3,3–3,5%), уровень различия более варибельных генов белков S был сравним для

a/a

			442		472	479-80	487	491
PP265322_BtCoV/Rh.fer-6	Россия	NTKSIDK----	<b>GGQFY</b>	RLFRHGKIKPYERDTSNVPYNAQGGTCTDTSQ	LN	QPL	<b>KS</b>	YDFTETVGIGYQPY
MZ190137_BtCoV/Khosta-1	Россия	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
NC_014470_BM48-31/BGR	Болгария	..N.L.S----	SNE.F.R	.....G.L..LF.PS	.....S.AEG	.....K.A..G..QSS	.....F	.....
KY352407_BtKY72	Кения	..N.V.SKS--	NN	.....I..L.SA	.....SSI	.....G.E...G..P..V	.....V	.....
MT726043_PREDICT/PDF-2386	Уганда	..N.V.SK--	QGN	.....I..L.SA	.....SSI	.....G.E...G..P..V	.....V	.....
MZ190138_BtCoV/Khosta-2	Россия	..RT..S----	KR	.....N.R	.....A	.....NQPGTH	.....E	.....QD.G.S.S.V
NC_045512_SARS-CoV-2	Китай	..SNNL	SKVGGNYNYL	.....KSNL	.....F	.....I.TEI.Q.GSTP	.....NGVEGF	.....F.Q..G.QP.N.V
NC_004718_SARS-CoV	Китай	..RN	..ATSTGNYNYK	.....YL	.....LR.F	.....I	.....FSPG.KP	.....PP-A
								.....W.ND.G.YT.T

b/b

сайт гидролиза S1/S2

↓

	666			696
SARS-CoV-2	IGAGICASYQTQNTS	<b>PRRA</b>	ARSVASQSIIAYT	
SARS-CoV	.....H.VSLL	----	TSQK.V	...
BtCoV/Rh.fer-6	....V..KFGST-KT	----	---Q...L	...
BtCoV/Khosta-1	....V..KFGST-KT	----	---Q...L	...
BM48-31/BGR	.....K.TNVSST	--LV	--GGH.L	...
BtKY72	.....KFGSD-KI	----	M-GQE.V	...
BtCoV/Khosta-2	V...V..KF	---TT	---A-KQS.L	...

**Рис. 3.** Сравнение аминокислотных последовательностей рецептор-связывающего участка рецептор-связывающего домена (RBD) коронавируса BtCoV/Rh.fer-6 из Республики Дагестан и других коронавирусов подрода *Sarbecovirus*.

Шесть позиций (442, 472, 479, 480, 487, 491; нумерация по штамму AY278741), важных для адаптации SARS-CoV-подобных вирусов к рецептору человека ACE2 [24], выделены жирным шрифтом (a). Сравнение аминокислотных последовательностей, окружающих сайт гидролиза SARS-CoV-2, SARS-CoV, BtCoV/Rh.fer-6, и других SARS-CoV-подобных вирусов (b).

**Fig. 3.** Amino acid sequence alignment of the receptor-binding motif of the receptor-binding domain (RBD) of the S protein of BtCoV/Rh.fer-6 from the North Caucasus and certain coronaviruses of subgenus *Sarbecovirus*.

Six positions (442, 472, 479, 480, 487, and 491; SARS-CoV #AY278741 numbering) that are thought to be important for adaptation of SARS-CoV-like viruses to the human ACE2 receptor [24] are shown in bold (a). Amino acid sequence alignment of the region around the S1/S2 cleavage site in SARS-CoV-2, SARS-CoV, BtCoV/Rh.fer-6 and certain bat SARS-CoV-like viruses. Four amino acid insertion (PRRA) that forms polybasic furin cleavage site in SARS-CoV-2 is highlighted in bold (b).

пары Дагестан – Краснодарский край (3,1%) и значительно выше (22,7%) для изолятов из Дагестана и Болгарии, что свидетельствует о формировании отличающегося варианта *Sarbecovirus* на территории южной части РФ (Республика Дагестан и Краснодарский край) и, возможно, Грузии. Анализ кодируемой последовательности поверхностного белка S показал (рис. 3), что у нового РНК-изолята BtCoV/Rf-6/RUS/2022 отсутствуют 4 аминокислотных остатка (PRRA) в N-терминальной области рецепторного участка, расположенных на стыке S1- и S2-субъединиц шипа и формирующих сайт гидролиза фуриновой протеазы, характерных для возбудителей пандемического варианта SARS-CoV-2 [3, 5]. Из 6 позиций: 442(L), 472(F), 479(Q), 480(S), 487(N), 491(Y) – в рецептор-связывающем домене, существенно влияющих на связывание с рецептором ACE2, совпадали 3 позиции (442, 480, 491) с соответствующими позициями белка S возбудителя COVID-19 [24] (рис. 3 a). Общая гомология нуклеотидных и аминокислотных последовательностей поверхностных белков S составила 78,6 и 71,8% соответственно.

В Республике Алтай и Кемеровской области у гладконосых летучих мышей, восточной ночницы (*M. petax*) из предгорных районов Кузнецкого Алатау и ночницы Иконникова (*M. ikonnikovi*) из Горного Алтая, обнаружены коронавирусы, входящие в подрод *Pedacovirus* рода *Alphacoronavirus*. Уровень

гомологии между географически близкими изолятами от двух видов ночниц, входящих в состав одного подрода, относительно невысок и составил 80,6% для нуклеотидных и 96,9% для аминокислотных последовательностей. На филогенетическом дереве (рис. 2) вирус из Республики Алтай (BtCoV/631/RUS/2020) группируется с изолятом из Японии (MiCoV-1), выявленным также в ночнице Иконникова, изолятом из Южной Кореи (17BF060) от неидентифицированного вида рукокрылых и с изолятами от *Myotis* spp. (BtCoV/012\_16/M.dau/FIN/2016, M.das/VM34/2006/NLD, M.daubentonii/UK/Wyt/971Co, M.das/Germany/D3.38/2007, FRA\_EPI4\_Myda4\_E7\_P6, Bat-CoV/M.daubentonii/Russia/MOW15-31/1) из Европы и европейской части РФ. Наиболее близкий вирус из Японии имел гомологию 93,9% для нуклеотидных и 99,0% для аминокислотных последовательностей. В отличие от изолятов из Республики Дагестан, новый сибирский изолят из Республики Алтай имел относительно невысокий уровень гомологии со всеми остальными опубликованными в GenBank последовательностями от других видов носителей, который не превышал 89,7% для нуклеотидных и 97,0% для аминокислотных последовательностей.

Вирус из Кемеровской области от *M. petax* (BtCoV/Mp-8/RUS/2023) на филогенетическом дереве (рис. 2) входит в группу изолятов от *Myotis* spp. из азиатских стран: Кореи, Китая, Казахстана (Bat-

CoV/KZ-N40/Myotis\_blythii/2022). Сибирский РНК изолят от *M. petax* имеет более высокий по сравнению с вирусом от *M. ikonnikovi* уровень гомологии с коронавирусами, выявленными среди *Myotis* spp. из Республики Корея (B15-8) и Китая (Bt-AlfaCoV/JX2020-Q111, HD131583B, BtMr-AlfaCoV/GD2017-P294), он составляет 86,4–92,6% для нуклеотидных и 97,7–100% для аминокислотных последовательностей. При этом значительно меньше его сходство с изолятами от аналогичного хозяина, *M. petax*, обнаруженными в Республике Корея (73,3–79,3 и 81,8–87,5% соответственно).

### Обсуждение

В ходе проведенного исследования циркуляция 3 видов коронавирусов среди рукокрылых установлена в трех административных регионах РФ. Исследование коронавирусов и их природных резервуаров ранее в выбранных для изучения регионах не проводилось, однако они существенно различаются по степени изученности близлежащих территорий. В Грузии и европейской части России, граничащих с Республикой Дагестан, а также в европейских и ближневосточных странах выявлено большое разнообразие коронавирусов, ассоциированных с рукокрылыми [12, 14–17]. Территория, окружающая юг Западной Сибири, практически не исследована, за исключением доступных в GenBank нескольких последовательностей от рукокрылых из Казахстана (№№ OQ909823, OQ909824).

Выявление близкородственных вирусов от разных видов природных носителей, так же как и циркуляция существенно различных коронавирусов в одном виде носителя, описана ранее [10, 20] и была выявлена нами среди РНК-изолятов из Республики Дагестан. Близкие варианты SARS-подобного вируса (менее 0,5% различий) обнаружены у представителей двух семейств: *Rh. ferrumequinum* в Дагестане и *M. blythii* в граничащей с ним Грузии. В то же время среди *Rh. ferrumequinum*, отловленных в двух соседних штольнях, расположенных на расстоянии не более 300 м друг от друга, были выявлены коронавирусы, относящиеся к разным родам и отличающиеся на 41,1–41,5% по нуклеотидным и на 58,3% по аминокислотным последовательностям.

Во время размножения и зимовки рукокрылые образуют крупные скопления в укрытиях, таких как пещеры и штольни. При этом одни и те же укрытия используются разными видами, которые не взаимодействуют между собой за их пределами. Совместное использование укрытий способствует циркуляции и поддержанию вирусов в разных видах рукокрылых, а также облегчает смену хозяина вируса, а заражение может происходить при непосредственном контакте особей, например при укусах или при спаривании. Полученные данные показывают, что в каждой из локальных групп *Rh. ferrumequinum* циркулирует один генетический вариант коронавируса, с практически идентичными последовательностями генома у разных особей.

Из результатов мечения известно, что летучие мыши способны мигрировать на значительные расстоя-

ния [25, 26]. Такие дальние перелеты могут способствовать передаче вирусов или их вариантов между локальными популяциями летучих мышей [27], а заражение больших подковоносов разными вирусами могло происходить при совместном заселении укрытий особями из различных локальных группировок.

Объединение на филогенетическом дереве новых изолятов коронавирусов из Дагестана в общие кластеры с РНК-изолятами из европейских стран свидетельствует об их общем эволюционном происхождении. При этом можно предполагать, что эволюционная история изолятов *Alphacoronavirus* в Дагестане/Грузии значительно более продолжительна по сравнению с изолятами *Betacoronavirus*, т.к. уровни различия нуклеотидных последовательностей из Дагестана/Грузии с наиболее близкими южноевропейскими вариантами составляет 11,4–14,2 и 2,3–3,3% соответственно.

Уровень инфицированности животных (более 24%), обитающих в каждом из мест отлова в Республике Дагестан, сопоставим с опубликованными данными по инфицированности больших подковоносов в Краснодарском крае [17]. Напрямую сравнивать инфицированность рукокрылых в Дагестане и сибирских регионах невозможно, т.к. значительно различаются численность исследованных животных, сроки и методы сбора материала. В Республике Дагестан отбор проб проводили в зимнее время в пещерах и штольнях, в местах совместного обитания больших колоний рукокрылых и их интенсивных контактов. В Горном Алтае и предгорных районах Кузнецкого Алатау животных отлавливали в летнее время сетями в местах охоты на низкогорных участках. В этих местах не отмечено крупных пещер, и рукокрылые не образуют больших колоний, используя в качестве убежища дупла деревьев или небольшие по размеру другие укрытия по типу небольших скальных трещин. Вне массовых скоплений резко снижается интенсивность контактов между животными, ограничивая их взаимодействия краткими контактами в период спаривания и контактами между матерью и детенышами в гнездовом периоде. Возможно, именно отсутствие крупных колоний в этих районах обусловило не только относительно низкую численность рукокрылых в целом, но и их общую низкую зараженность.

Проведенное исследование является первой работой по выявлению коронавирусов среди рукокрылых в азиатской части России, причем один из новых РНК-изолятов *Alphacoronavirus* обнаружен в малоисследованном природном носителе, ночнице Иконникова. Установлено более значительное отличие РНК-изолятов из Западной Сибири от ранее известных европейских и азиатских коронавирусов, что, наиболее вероятно, связано с большей удаленностью их мест обитания. Значительно более изученные в отношении коронавирусов, ассоциированных с рукокрылыми, территории юго-востока Китая, Республики Корея, Японии и европейских стран разделены с местами отловов более чем на 2800 км.

Фауна рукокрылых юга Западной Сибири включает виды, имеющие как исключительно азиатское распространение (восточная ночница, ночница Иконникова, ушан Огнева (*Plecotus ognevi*)), так и виды значительная часть ареала которых расположена в европейской части континента (прудовая ночница (*Myotis dasycneme*), северный кожанок (*Eptesicus nilssonii*)) [28]. Следствием этого может быть объединение в общие кластеры вирусных последовательностей, обнаруженных на территории как европейских, так и восточноазиатских стран. Более ясное представление о происхождении сибирских изолятов коронавируса могут дать только данные по новым изолятам коронавируса, которые, несомненно, будут обнаружены в процессе дальнейших исследований на территории Сибири и Дальнего Востока России.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Drosten C., Günther S., Preiser W., van der Werf S., Brodt H.R., Becker S., et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348(20): 1967–76. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030747>
- Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367(19): 1814–20. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>
- Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020; 579(7798): 265–9. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17(3): 181–92. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- Львов Д.К., Альховский С.В. Истоки пандемии COVID-19: экология и генетика коронавируса (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (подрод Sarbecovirus), MERS-CoV (подрод Merbecovirus). *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(2): 62–70. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70> EDN: <https://elibrary.ru/hnounc>
- Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., Cheung C.L., et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science.* 2003; 302(5643): 276–8. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1087139>
- Mohd H.A., Al-Tawfiq J.A., Memish Z.A. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) origin and animal reservoir. *Virol. J.* 2016; 13: 87. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0544-0>
- Hu B., Zeng L.P., Yang X.L., Ge X.Y., Zhang W., Li B., et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11): e1006698. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006698>
- Murakami S., Kitamura T., Suzuki J., Sato R., Aoi T., Fujii M., et al. Detection and Characterization of bat Sarbecovirus phylogenetically related to SARS-CoV-2, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(12): 3025–9. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2612.203386>
- Ruiz-Aravena M., McKee C., Gamble A., Lunn T., Morris A., Snedden C.E., et al. Ecology, evolution and spillover of coronaviruses from bats. *Nat. Rev. Microbiol.* 2022; 20(5): 299–314. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00652-2>
- Anthony S.J., Gilardi K., Menachery V.D., Goldstein T., Ssebide B., Mbabazi R., et al. Further evidence for bats as the evolutionary source of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *mBio.* 2017; 8(2): e00373-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.00373-17>
- Wong A.C.P., Li X., Lau S.K.P., Woo P.C.Y. Global epidemiology of bat coronaviruses. *Viruses.* 2019; 11(2): 174. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11020174>
- Temmam S., Vongphayloth K., Baquero E., Munier S., Bonomi M., Regnault B., et al. Bat coronaviruses related to SARS-CoV-2 and infectious for human cells. *Nature.* 2022; 604(7905): 330–6. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04532-4>
- Drexler J.F., Gloza-Rausch F., Glende J., Corman V.M., Muth D., Goettsche M., et al. Genomic characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences. *J. Virol.* 2010; 84(21): 11336–49. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00650-10>
- Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268810001147>
- Monchatre-Leroy E., Boué F., Boucher J.M., Renault C., Moutou F., Ar Gouilh M., et al. Identification of alpha and beta Coronavirus in wildlife species in France: bats, rodents, rabbits, and hedgehogs. *Viruses.* 2017; 9(12): 364. DOI: <https://doi.org/10.3390/v9120364>
- Alkhovsky S., Lenshin S., Romashin A., Vishnevskaya T., Vyshemirsky O., Bulycheva Y., et al. SARS-like coronaviruses in horseshoe bats (*Rhinolophus* spp.) in Russia, 2020. *Viruses.* 2022; 14(1): 113. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14010113>
- Moreno A., Lelli D., de Sabato L., Zaccaria G., Boni A., Sozzi E., et al. Detection and full genome characterization of two beta CoV viruses related to Middle East respiratory syndrome from bats in Italy. *Virol. J.* 2017; 14(1): 239. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0907-1>
- Lau S.K.P., Fan R.Y.Y., Zhu L., Li K.S.M., Wong A.C.P., Luk H.K.H., et al. Isolation of MERS-related coronavirus from lesser bamboo bats that uses DPP4 and infects human-DPP4-transgenic mice. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 216. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20458-9>
- Wong A.C.P., Lau S.K.P., Woo P.C.Y. Interspecies jumping of bat coronaviruses. *Viruses.* 2021; 13(11): 2188. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13112188>
- Speranskaya A.S., Artiushin I.V., Samoilov A.E., Korneenko E.V., Khabudaev K.V., Ilina E.N., et al. Identification and genetic characterization of MERS-related coronavirus isolated from Nathusius' pipistrelle (*Pipistrellus nathusii*) near Zvenigorod (Moscow region, Russia). *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2023; 20(4): 3702. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph20043702>
- 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. *Comp. Cytogenet.* 2020; 14(4): 483–500. DOI: <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v14.i4.54955>
- Wang W., Lin X.D., Guo W.P., Zhou R.H., Wang M.R., Wang C.Q., et al. Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China. *Virology.* 2015; 474: 19–27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.10.017>
- Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *J. Virol.* 2020; 94(7): e00127–20. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00127-20>
- Панютин К.К. Рукокрылые. В кн.: Кучерук В.В., ред. *Итоги мечения млекопитающих.* М.: Наука; 1980: 23–46.
- Васеньков Д.А., Васильев Н.С., Сидорчук Н.В., Рожнов В.В. Осенняя миграция гигантской вечерницы (*Nyctalus lasiopterus*): через страны и горы к новому рекорду дальности сезонных перелетов летучих мышей. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни.* 2023; 513(1): 564–9. DOI: <https://doi.org/10.31857/S2686738923700403> EDN: <https://elibrary.ru/gtqdp1>
- Gonzalez V., Banerjee A. Molecular, ecological, and behavioral drivers of the bat-virus relationship. *iScience.* 2022; 25(8): 104779. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104779>
- Павлинов И.Я. *Звери России: справочник-определитель. Часть I. Насекомоядные, Рукокрылые, Зайцеобразные, Грызуны.* М.: КМК; 2019.

#### REFERENCES

- Drosten C., Günther S., Preiser W., van der Werf S., Brodt H.R., Becker S., et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348(20): 1967–76. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030747>
- Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with

- pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367(19): 1814–20. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>
3. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020; 579(7798): 265–9. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
  4. Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17(3): 181–92. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
  5. L'vov D.K., Al'khovskii S.V. Source of the COVID-19 pandemic: ecology and genetics of coronaviruses (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (subgenus Sarbecovirus), and MERS-CoV (subgenus Merbecovirus). *Voprosy virusologii.* 2020; 65(2): 62–70. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-62-70> (in Russian)
  6. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., Cheung C.L., et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*. 2003; 302(5643): 276–8. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1087139>
  7. Mohd H.A., Al-Tawfiq J.A., Memish Z.A. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) origin and animal reservoir. *Virology*. 2016; 13: 87. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0544-0>
  8. Hu B., Zeng L.P., Yang X.L., Ge X.Y., Zhang W., Li B., et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog.* 2017; 13(11): e1006698. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006698>
  9. Murakami S., Kitamura T., Suzuki J., Sato R., Aoi T., Fujii M., et al. Detection and Characterization of bat Sarbecovirus phylogenetically related to SARS-CoV-2, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(12): 3025–9. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2612.203386>
  10. Ruiz-Aravena M., McKee C., Gamble A., Lunn T., Morris A., Snedden C.E., et al. Ecology, evolution and spillover of coronaviruses from bats. *Nat. Rev. Microbiol.* 2022; 20(5): 299–314. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00652-2>
  11. Anthony S.J., Gilardi K., Menachery V.D., Goldstein T., Ssebide B., Mbabazi R., et al. Further evidence for bats as the evolutionary source of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *mBio*. 2017; 8(2): e00373-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.00373-17>
  12. Wong A.C.P., Li X., Lau S.K.P., Woo P.C.Y. Global epidemiology of bat coronaviruses. *Viruses*. 2019; 11(2): 174. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11020174>
  13. Temmam S., Vongphayloth K., Baquero E., Munier S., Bonomi M., Regnault B., et al. Bat coronaviruses related to SARS-CoV-2 and infectious for human cells. *Nature*. 2022; 604(7905): 330–6. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04532-4>
  14. Drexler J.F., Gloza-Rausch F., Glende J., Corman V.M., Muth D., Goettsche M., et al. Genomic characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences. *J. Virol.* 2010; 84(21): 11336–49. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.00650-10>
  15. Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139(2): 216–9. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0950268810001147>
  16. Monchatre-Leroy E., Boué F., Boucher J.M., Renault C., Moutou F., Ar Gouilh M., et al. Identification of alpha and beta Coronavirus in wildlife species in France: bats, rodents, rabbits, and hedgehogs. *Viruses*. 2017; 9(12): 364. DOI: <https://doi.org/10.3390/v9120364>
  17. Alkhovsky S., Lenshin S., Romashin A., Vishnevskaya T., Vyshemirsky O., Bulychева Y., et al. SARS-like coronaviruses in horseshoe bats (*Rhinolophus* spp.) in Russia, 2020. *Viruses*. 2022; 14(1): 113. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14010113>
  18. Moreno A., Lelli D., de Sabato L., Zaccaria G., Boni A., Sozzi E., et al. Detection and full genome characterization of two beta CoV viruses related to Middle East respiratory syndrome from bats in Italy. *Virology*. 2017; 14(1): 239. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0907-1>
  19. Lau S.K.P., Fan R.Y.Y., Zhu L., Li K.S.M., Wong A.C.P., Luk H.K.H., et al. Isolation of MERS-related coronavirus from lesser bamboo bats that uses DPP4 and infects human-DPP4-transgenic mice. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 216. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20458-9>
  20. Wong A.C.P., Lau S.K.P., Woo P.C.Y. Interspecies jumping of bat coronaviruses. *Viruses*. 2021; 13(11): 2188. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13112188>
  21. Speranskaya A.S., Artiushin I.V., Samoilo A.E., Korneenko E.V., Khabudaev K.V., Ilina E.N., et al. Identification and genetic characterization of MERS-related coronavirus isolated from *Nathusius' pipistrelle* (*Pipistrellus nathusii*) near Zvenigorod (Moscow region, Russia). *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2023; 20(4): 3702. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph20043702>
  22. 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. *Comp. Cytogenet.* 2020; 14(4): 483–500. DOI: <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v14.i4.54955>
  23. Wang W., Lin X.D., Guo W.P., Zhou R.H., Wang M.R., Wang C.Q., et al. Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China. *Virology*. 2015; 474: 19–27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.viro.2014.10.017>
  24. Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *J. Virol.* 2020; 94(7): e00127–20. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00127-20>
  25. Panjutin K.K. Bats. In: Kucheruk V.V., ed. *Results of Mammal Tagging [Itogi mecheniya mlekovitayushchikh]*. Moscow: Nauka; 1980: 23–46. (in Russian)
  26. Vasen'kov D.A., Vasil'ev N.S., Sidorchuk N.V., Rozhnov V.V. Migration of the greater noctule bat (*Nyctalus lasiopterus*): across countries and mountains to a new record for the range of seasonal flights of bats. *Doklady Rossiiskoi akademii nauk. Nauki o zhizni*. 2023; 513(1): 564–9. DOI: <https://doi.org/10.31857/S2686738923700403> EDN: <https://elibrary.ru/gtqdp1> (in Russian)
  27. Gonzalez V., Banerjee A. Molecular, ecological, and behavioral drivers of the bat-virus relationship. *iScience*. 2022; 25(8): 104779. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104779>
  28. Pavlinov I.Ya. *Animals of Russia: Reference Guide. Part 1. Insectivores, Chiroptera, Lagomorpha, Rodents [Zveri Rossii: spravochnik-opredelitel'. Chast' 1. Nasekomoyadnye, Rukokrylye, Zaitseobraznye, Gryzuny]*. Moscow: KMK; 2019. (in Russian)

#### Информация об авторах:

**Яшина Людмила Николаевна**  – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела геномных исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. E-mail: [yashina@vector.nsc.ru](mailto:yashina@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0003-2844-7835>

**Жигалин Александр Владимирович** – канд. биол. наук, заведующий лабораторией мониторинга биоразнообразия ФГАОУ ВО НИ ТГУ, Томск; доцент ФГБОУ ВО ДГУ, Махачкала, Дагестан, Россия. E-mail: [alex-zhigalin@mail.ru](mailto:alex-zhigalin@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0003-4661-0560>

**Абрамов Сергей Александрович** – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии сообществ позвоночных животных ИСиЭЖ СО РАН, Новосибирск, Россия. E-mail: [gterio@gmail.com](mailto:gterio@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0001-7921-6696>

**Лучникова Екатерина Михайловна** – канд. биол. наук, доцент кафедры экологии и природопользования ФГБОУ ВО КемГУ, Кемерово, Россия. E-mail: [lut@yandex.ru](mailto:lut@yandex.ru); <https://orcid.org/0000-0002-8245-4588>

**Сметанникова Наталья Анатольевна** – канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела геномных исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: [smetannikova@vector.nsc.ru](mailto:smetannikova@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0002-5082-8071>

**Дупал Тамара Александровна** – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии сообществ позвоночных животных ИСиЭЖ СО РАН, Новосибирск, Россия. E-mail: [gf@eco.nsc.ru](mailto:gf@eco.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0002-4487-1815>

**Кривоपालов Антон Викторович** – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитологии ИСиЭЖ СО РАН, Новосибирск, Россия. E-mail: [krivopalov@gmail.com](mailto:krivopalov@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0003-4824-6061>

**Вдовина Евгения Дмитриевна** – лаборант биостанции КемГУ «Ажндарово», ФГБОУ ВО КемГУ, Кемерово. E-mail: [vdovina\\_ed@gkl-ke-merovo.ru](mailto:vdovina_ed@gkl-ke-merovo.ru); <https://orcid.org/0000-0001-9633-9938>

**Свирин Кирилл Андреевич** – аспирант ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: [svirin\\_ka@vector.nsc.ru](mailto:svirin_ka@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0001-9083-1649>

**Гаджиев Алимурад Ахмедович** – канд. биол. наук, проректор по научной работе ФГБОУ ВО ДГУ, Махачкала, Дагестан, Россия. E-mail: [ecodgu@gmail.com](mailto:ecodgu@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0002-7359-1951>

**Малышев Борис Сотиволдиевич** – научный сотрудник отдела геномных исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: [malyshev@vector.nsc.ru](mailto:malyshev@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0003-3004-3020>

**Участие авторов:** Яшина Л.Н. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Жигалин А.В., Абрамов С.А., Лучникова Е.М. – проведение отловов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Сметанникова Н.А., Свирин К.А., Малышев Б.С. – проведение экспериментов; Дупал Т.А., Кривоपालов А.В., Вдовина Е.Д., Гаджиев А.А. – отлов рукокрылых, сбор образцов, определение видовой принадлежности.

Поступила 18.03.2024

Принята в печать

Опубликована

### Information about the authors:

**Liudmila N. Yashina**  – Doctor of Science (Biol.), Leading Researcher of the Department of Genomic Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR», Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: [yashina@vector.nsc.ru](mailto:yashina@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0003-2844-7835>

**Alexander V. Zhigalin** – Candidate of Sciences in Biology, Head of Biodiversity Monitoring Laboratory, National Research Tomsk State University, Tomsk; Associate Professor, Dagestan State University, Makhachkala, Russia. E-mail: [alex-zhigalin@mail.ru](mailto:alex-zhigalin@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0003-4661-0560>

**Sergey A. Abramov** – Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher, Laboratory of Ecology of Vertebrate Communities, Institute of Systematics and Ecology of Animals of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: [gterio@gmail.com](mailto:gterio@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0001-7921-6696>

**Ekaterina M. Luchnikova** – Candidate of Sciences in Biology, Associate Professor, Department of Ecology and Environmental Management, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia. E-mail: [lut@yandex.ru](mailto:lut@yandex.ru); <https://orcid.org/0000-0002-8245-4588>

**Natalia A. Smetannikova** – PhD in Medical Science, Senior Researcher, Department of Genomic Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR», Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: [smetannikova@vector.nsc.ru](mailto:smetannikova@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0002-5082-8071>

**Tamara A. Dupal** – Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher, Laboratory of Ecology of Vertebrate Communities, Institute of Systematics and Ecology of Animals of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: [gf@eco.nsc.ru](mailto:gf@eco.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0002-4487-1815>

**Anton V. Krivopalov** – Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher, Laboratory of Parasitology, Institute of Systematics and Ecology of Animals of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: [krivopalov@gmail.com](mailto:krivopalov@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0003-4824-6061>

**Evgenia D. Vdovina** – Laboratory assistant at the biological station of Kemerovo State University Azhendarovo, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia. E-mail: [vdovina\\_ed@gkl-ke-merovo.ru](mailto:vdovina_ed@gkl-ke-merovo.ru); <https://orcid.org/0000-0001-9633-9938>

**Kirill A. Svirin** – Graduate student, State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR», Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: [svirin\\_ka@vector.nsc.ru](mailto:svirin_ka@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0001-9083-1649>

**Alimurad A. Gadzhiev** – Candidate of Sciences in Biology, Vice-Rector for Research, Dagestan State University, Makhachkala, Russia. E-mail: [ecodgu@gmail.com](mailto:ecodgu@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0002-7359-1951>

**Boris S. Malyshev** – Researcher, Department of Genomic Research, State Research Center of Virology and Biotechnology «VECTOR», Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. E-mail: [malyshev@vector.nsc.ru](mailto:malyshev@vector.nsc.ru); <https://orcid.org/0000-0003-3004-3020>

**Contribution:** Yashina L.N. – the study concept and design, conducting of the experiments, collection, analysis and interpretation of the data, preparing of the text; Zhigalin A.V., Abramov S.A., Luchnikova E.M. – sampling, collection, analysis and interpretation of the data, preparing of the text; Smetannikova N.A., Svirin K.A., Malyshev B.S. – conducting of the experiments; Dupal T.A., Krivopalov A.V., Vdovina E.D., Gadzhiev A.A. – sampling, species identification.

Received 18 March 2024

Accepted

Published