

## ОДНОРОДНОСТЬ ГЕНОФОНДА ЗАПАДНОЙ И ВОСТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИЙ ДАУРСКОГО ЖУРАВЛЯ *Antigone vipio* НА РАЗНЫХ ПРОЛЕТНЫХ ПУТЯХ

© 2022 г. Е. А. Мудрик<sup>1, \*</sup>, О. А. Горошко<sup>2, 3</sup>, С. Г. Сурмач<sup>4</sup>, Т. А. Кашенцева<sup>5</sup>,  
А. В. Нечаева<sup>1</sup>, С. М. Смиренский<sup>6</sup>, Д. В. Политов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

<sup>2</sup>Государственный природный биосферный заповедник “Даурский”,  
Забайкальский край, Нижний Цасучей, 674495 Россия

<sup>3</sup>Институт природных ресурсов, экологии и криологии Сибирского отделения  
Российской академии наук, Чита, 672014 Россия

<sup>4</sup>Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения  
Российской академии наук, Владивосток, 690022 Россия

<sup>5</sup>Питомник редких видов журавлей Окского государственного природного биосферного заповедника,  
Рязанская область, Брыкин Бор, 391072 Россия

<sup>6</sup>Муравьевский парк устойчивого природопользования, Амурская область, Муравьевка, 676964 Россия  
\*e-mail: mudrik@vigg.ru

Поступила в редакцию 29.11.2021 г.

После доработки 16.12.2021 г.

Принята к публикации 28.12.2021 г.

Представлены первые данные о генетической структуре даурского журавля *Antigone vipio* – редкого мигрирующего вида птиц Северо-Восточной Азии. С использованием семи полиморфных микросателлитных локусов и секвенирования полной последовательности контрольного региона мтДНК (1132 пн) установлена генетическая гомогенность пространственно разобщенных западной и восточной популяций, использующих разные пролетные пути. Обнаруженные высокие уровни наблюдаемой ( $H_O = 0.696 \pm 0.033$ ) и ожидаемой ( $H_E = 0.707 \pm 0.037$ ) гетерозиготности и гаплотипического разнообразия ( $H_d = 0.973$ ) даурского журавля сопоставимы с этими показателями у широкоареальных видов журавлей с большой численностью. Отсутствие генетической дифференциации по микросателлитным локусам ( $F_{ST} = 0.013$ ,  $P = 0.369$ ) и низкий уровень генетических различий по контрольному региону ( $F_{ST} = 0.041$ ,  $P = 0.05$ ), невыраженность внутривидовой пространственной структурированности даурского журавля по гаплотипам и индивидуальным многолокусным генотипам могут быть обусловлены отсутствием репродуктивной изоляции между особями из разных популяций и изменениями миграционных маршрутов неполовозрелыми птицами.

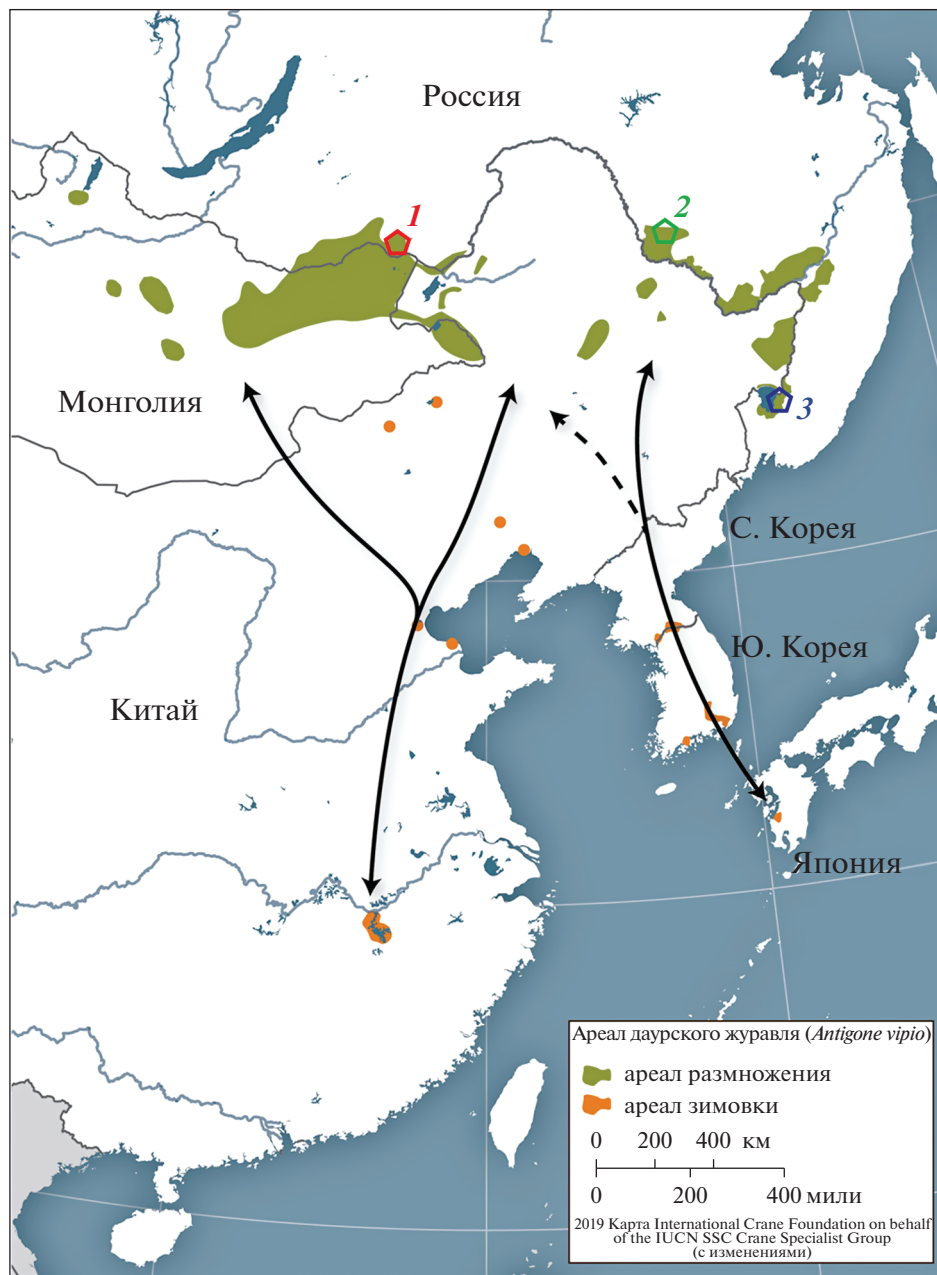
**Ключевые слова:** Gruidae, генетическая изменчивость, генетическая дифференциация, микросателлитные локусы, контрольный регион, Россия.

**DOI:** 10.31857/S001667582205006X

Даурский журавль *Antigone vipio* Pallas, 1881 – редкий в мировом масштабе вид птиц, занесенный в категорию уязвимых Красного списка Международного союза охраны природы [1]. Гнездовая часть его ареала приурочена к водно-болотным биотопам степной и лесостепной зон в бассейне Амура на территории России, Монголии и Китая [2, 3]. В видовой структуре даурского журавля выделяют западную и восточную популяции, использующие разные места гнездования и зимовки и соответственно разные пролетные пути. Птицы западной популяции гнездятся в России (на юго-востоке Забайкальского края) и Монголии и ча-

стично на сопредельных территориях Китая, а зимуют в Китае на озере Поянг. Птицы из восточной популяции гнездятся на Дальнем Востоке России (на юге Амурской области, Еврейской АО, Хабаровского края и в Приморье) и в Северо-Восточном Китае, а зимуют в Японии и демилитаризованной зоне Корейского полуострова [3] (рис. 1).

Глобальная численность даурского журавля оценивается в 7000–7800 особей [3]. На долю западной популяции приходится 500–1000 птиц, она сократилась в 4 раза за последние 20 лет; тогда как в восточной популяции насчитывают 6200–6500 особей и ее численность продолжает увеличи-



Mirande CM, Harris JT, editors. 2019. Crane Conservation Strategy. Baraboo, Wisconsin, USA: International Crane Foundation.

**Рис. 1.** Ареал даурского журавля [3] и места происхождения изучаемых птиц: 1 – западная популяция; 2 – восточная популяция (север); 3 – восточная популяция (юг).

ваться [3, 4]. Такие изменения могут объясняться как снижением уровня воспроизводства западной популяции в связи с многолетней засухой, так и вероятным оттоком даурских журавлей в восточную часть ареала и оттуда на восточные зимовки, ставшие более привлекательными благодаря практикуемой там искусственной подкормке. Тренды внутригнездовых ареалов популяций на территории России в последние 20–25 лет также разнонаправлены: местообитания и численность западной популяции значительно сократились, а восточной – суще-

ственно увеличились. Общая современная численность даурского журавля в России составляет около 610 территориальных пар (90 – в западной популяции, 520 – в восточной), а с учетом негнездящихся птиц – около 2200 особей [5].

Географическая разобщенность двух популяций *A. vipio* может способствовать их генетической дифференциации, так же как снижение численности западной и рост восточной группировки могут отражаться на их генетическом разнообразии. Никогда ранее популяционно-генетические ра-

боты по изучению видовой структуры даурского журавля не проводились ни в одной из стран, где он обитает. Наше исследование представляет первые данные о генетической структуре этого вида с территории России.

Цель работы – анализ генетической изменчивости и дифференциации западной и восточной популяций даурского журавля в России по данным ядерных микросателлитных локусов и секвенирования контрольного региона митохондриальной ДНК.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### *Биологический материал*

В качестве биологического материала использовали индивидуальные образцы от 51 даурского журавля из мест гнездования западной (20 особей) и восточной (31 особь) популяций (рис. 1). В западной популяции образцы (растущие покровные перья из оперения груди) были получены от птенцов 1–1.5-месячного возраста во время их мечения кольцами и передатчиками в Ононском, Агинском и Борзинском районах Забайкальского края (разрешения Росприроднадзора № 50 от 30.06.2015, № 44 от 27.04.2016 и № 7 от 07.02.2019), а также от взрослых птиц, происходящих из природы юго-востока Забайкалья и содержащихся в Питомнике редких видов журавлей Окского заповедника (кровь, взятая во время плановых диспансеризаций). Также использовали линные перья с гнездовых участков даурского журавля в Забайкалье. В восточной популяции источником для выделения ДНК служили линные перья и подскорлуповые оболочки (аллантаисы) с гнездовых участков *A. vipio* в Тамбовском районе Амурской области, конфискат добытых браконьерами особей из Спасского района Приморского края (мышечные ткани) и полученная во время плановых диспансеризаций кровь птиц природного происхождения (Архаринский район Амурской области), содержащихся на Станции редких видов журавлей Хинганского заповедника и в Питомнике редких видов журавлей Окского заповедника.

### *Выделение ДНК*

Экстракцию ДНК из линных перьев проводили с помощью набора для выделения ДНК innuPREP Forensic Kit (Analytik Jena, Германия), из растущих перьев и крови – с применением набора D1Atom™ DNAprep100 Kit (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия) по протоколам производителей. Полученную геномную ДНК разводили до концентрации 50–100 нг/мкл (Qubit 2.0, Thermo Fisher Scientific, США) и использовали для последующей амплификации микросателлитных фрагментов ядерной ДНК и контрольного региона митохондриальной ДНК (мтДНК) методом ПЦР.

### *Микросателлитный анализ*

Поскольку специфические ядерные микросателлитные локусы для даурского журавля не разработаны, мы провели тестирование более чем 20 пар праймеров для микросателлитов, охарактеризованных у других видов журавлей. В результате мы отобрали семь локусов, подходящих для наших целей и полиморфных у *A. vipio*: *Gram22*, *Gram30* [6], *Gra12*, *Gra38*, *Gra39* [7] и *Gj4066*, *Gj2298* [8] (табл. 1). ПЦР проводили с помощью набора реагентов GenPak PCR Core (ООО “Лаборатория Изоген”) согласно рекомендациям производителя по режимам отжига праймеров из первоисточников [6–8] на приборе Dyad Peltier Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Для определения длин амплифицированных фрагментов проводили вертикальный электрофорез в 6%-ном полиакриламидном геле в трис-ЭДТА-боратной буферной системе с использованием камер модели VE-20 (ООО “Компания Хеликон”, Россия). Окрашенные бромистым этидием ПЦР-продукты на геле визуализировали УФ-светом в системе гель-регистрации Kodak Edas 290 (США). Размеры полученных фрагментов ДНК (аллелей микросателлитных локусов) определяли с помощью программы GelAnalyzer 19.1 [9].

### *Секвенирование контрольного региона мтДНК*

Амплификацию всего контрольного региона размером 1132 пн осуществляли с использованием прямого LC16575 (5'-ACA AAA GAA ACC CCC AAA CTC A-3') и обратного HC01342 (5'-AAG AAT TCT GCG GAT ACT TGC ATG T-3') [10] праймеров по следующему протоколу: первичная денатурация 3 мин при 94°C, затем 29 циклов амплификации, включающих денатурацию при 94°C – 45 с, отжиг праймеров при 58°C – 1 мин и элонгацию при 72°C – 1 мин, и финальная элонгация 10 мин при 72°C. Так же, как и в случае микросателлитных локусов, ПЦР контрольного региона проводили с помощью реагентов GenPak PCR Core. Фрагменты амплификации проверяли на электрофорезе в 1.5%-ном агарозном геле и секвенировали в прямом и обратном направлениях на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США) в ЗАО Евроген (Москва, Россия). Нуклеотидные последовательности идентифицированных гаплотипов были депонированы в Генбанк под номерами MN929113–MN929130.

### *Статистический анализ*

Расчеты параметров внутривидового разнообразия, соответствия распределения генотипов микросателлитных локусов согласно равновесию Харди–Вайнберга, *F*-статистик межпопуляционной генетической дифференциации, потока генов ( $N_m$ ) и анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) проводили с помощью надстройки для

**Таблица 1.** Характеристика микросателлитных локусов у даурского журавля

Локус	Мотив	A	Аллели	$H_O$	$H_E$	Равновесие Харди–Вайнберга
<i>Gram22</i>	(AAAC) <sub>9</sub>	6	160, 164, 168, 172, 176, 180	0.627	0.753	ns
<i>Gram30</i>	(AAGG) <sub>7</sub>	10	158, 162, 166, 170, 174, 178, 182, 186, 190, 194	0.745	0.796	ns
<i>Gpa12</i>	(GATA) <sub>11</sub>	8	202, 210, 214, 218, 222, 226, 230, 234	0.843	0.841	ns
<i>Gpa38</i>	(CTAT) <sub>13</sub>	5	186, 190, 194, 198, 202	0.706	0.736	ns
<i>Gpa39</i>	(GA) <sub>2</sub> (GATA) <sub>13</sub>	7	100, 108, 112, 116, 120, 124, 128	0.804	0.741	ns
<i>Gj4066</i>	(ATAG) <sub>9</sub>	5	141, 145, 149, 153, 157	0.608	0.736	*(0.026)
<i>Gj2298</i>	(CTG) <sub>13</sub>	2	142, 145	0.510	0.398	*(0.046)

Примечание. A – число аллелей;  $H_O$  – наблюдаемая гетерозиготность;  $H_E$  – ожидаемая гетерозиготность; ns – недостоверное отклонение от равновесия Харди–Вайнберга; \* – достоверность при  $P < 0.05$ .

электронной таблицы MS Excel–GenAIEx 6.5 [11]. Для выявления популяционной структуры использовали алгоритм байесовской кластеризации в программе STRUCTURE 2.3.4 [12]. Оценку вероятного числа генетических кластеров  $K$  по методу Эванно, структуризацию и визуализацию результатов осуществляли в CLUMPAK [13]. Для каждого предполагаемого значения  $K$  (от 2 до 4) проводили пять независимых повторов симуляций с 100000 итерациями и предшествующим периодом разогрева в 10000 итераций. В расчетах использовали опции популяционной привязки данных LOCPRIOR = 1, смешанную модель (admixture model) и независимые частоты аллелей между выборками. Для кластеризации индивидуальных многолокусных генотипов по методу главных компонент (Principal Component Analysis, PCA) пользовались пакетами adegenet [14] и ggplot2 [15] в RStudio 2021.09.1.372 [16] на основе R 4.1.2 [17]. Выравнивание, редактирование и сборку сиквенов после прямого и обратного прочтений проводили относительно друг друга и единственного референса из Генбанка (FJ769852) по алгоритму MAFFT [18] в программе Geneious 9.1.8 [19]. Гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие, попарные сравнения нуклеотидных различий, тесты селективной нейтральности Таджимы,  $\Phi$  и Ли, число мигрантов на поколение ( $N_m$ ) и коэффициент генетической дифференциации  $F_{ST}$  рассчитывали в программе DnaSP 6.11.01 [20]. Сеть гаплотипов была построена по TCS-алгоритму [21] в PopART 1.7 [22].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Генетическая изменчивость и дифференциация по микросателлитным локусам

В совокупной выборке (51 особь) даурских журавлей по семи полиморфным локусам иденти-

фицировано от 2 (*Gj2298*) до 10 (*Gram30*) аллелей (табл. 1). Общее число аллелей составило 43. Пять локусов находились в равновесном состоянии генотипов согласно закону Харди–Вайнберга, а по двум наблюдались отклонения, значимые на уровне вероятности менее 0.05%, в сторону недостатка (по *Gj4066*) и избытка (по *Gj2298*) гетерозигот. Значения наблюдаемой ( $H_O$ ) и ожидаемой ( $H_E$ ) гетерозиготности варьировали от наименьших по локусу *Gj2298* ( $H_O = 0.510$ ,  $H_E = 0.398$ ) до наибольших по локусу *Gpa12* ( $H_O = 0.843$ ,  $H_E = 0.841$ ).

Среднее число аллелей на локус для обеих популяций составило 5.8, уровни гетерозиготности в среднем оказались высокими:  $H_O = 0.696 \pm 0.033$ ,  $H_E = 0.707 \pm 0.037$ . Несмещенные оценки ожидаемой гетерозиготности ( $uH_E$ ) в обеих популяциях были близкими (табл. 2). Из 43 аллелей общими для западной и восточной популяций оказались 38; уникальные аллели обнаружены только в восточной популяции (*Gram30*<sup>190</sup>, *Gram30*<sup>194</sup>, *Gpa12*<sup>202</sup>, *Gpa39*<sup>100</sup> и *Gpa39*<sup>108</sup>).

Значения коэффициента инбридинга  $F_{IS}$  указывают на небольшой избыток гетерозигот в западной популяции (2.9%) и небольшой их недостаток в восточной (1.7%), однако в целом для вида этот показатель был близок к нулю ( $F_{IS} = -0.006$ ). Межпопуляционная генетическая дифференциация даурского журавля по микросателлитным локусам оказалась низкой и достоверно не отличалась от нуля ( $F_{ST} = 0.013$ ,  $P = 0.369$ , несмещенная оценка  $G_{ST} = 0.001$ ,  $P = 0.359$ ) (табл. 2). По данным AMOVA 96% генетической изменчивости вида сосредоточено внутри особей и 4% – между ними. Поток генов ( $N_m$ ) между западной и восточной популяциями *A. vipio* измерялся 29.09 мигрантами на поколение.

**Таблица 2.** Генетическое разнообразие западной и восточной популяций даурского журавля по микросателлитным локусам

Популяция	$N_A$	$H_O$	$H_E$	$uH_E$	$F_{IS}$	$F_{ST}$
Западная	5.4	$0.714 \pm 0.030$	$0.710 \pm 0.044$	$0.728 \pm 0.045$	-0.029	
Восточная	6.1	$0.677 \pm 0.010$	$0.705 \pm 0.064$	$0.716 \pm 0.065$	0.017	
В среднем	5.8	$0.696 \pm 0.033$	$0.707 \pm 0.037$	$0.722 \pm 0.030$	-0.006	$0.013 \pm 0.004$

Примечание.  $N_A$  – число аллелей на локус;  $H_O$  – наблюдаемая гетерозиготность;  $H_E$  – ожидаемая гетерозиготность;  $uH_E$  – невзвешенная ожидаемая гетерозиготность;  $F_{IS}$  – внутрипопуляционный коэффициент инбридинга;  $F_{ST}$  – межпопуляционный коэффициент генетической дифференциации.

### Структурированность популяций по микросателлитным локусам

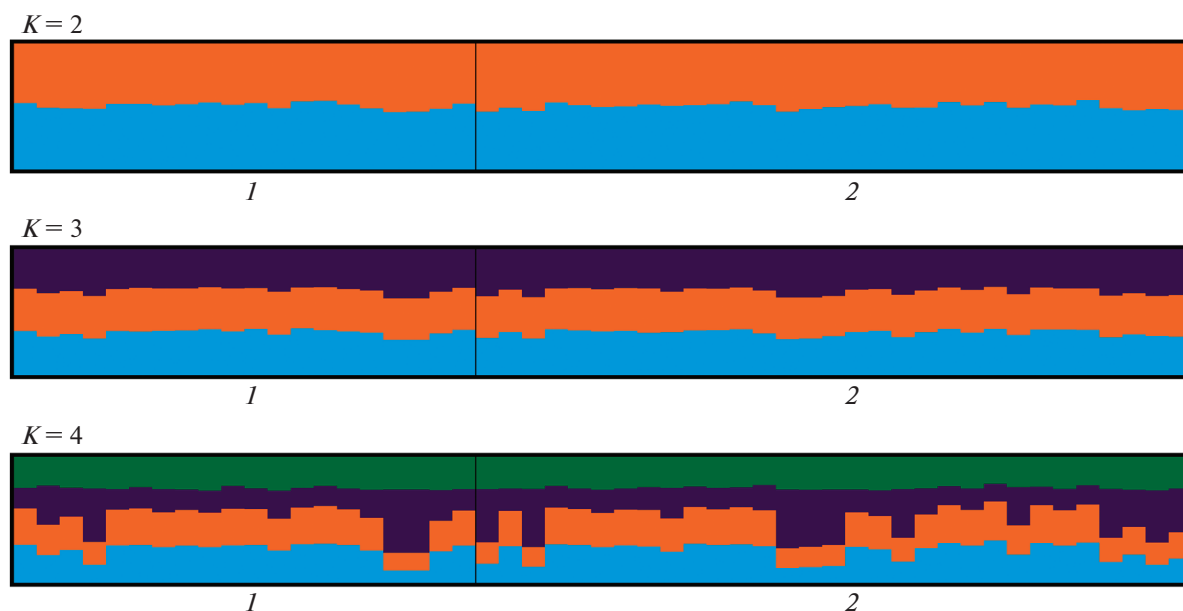
Результаты кластеризации байесовскими методами в программе STRUCTURE для наиболее вероятных значений числа генетических кластеров  $K$  от двух до четырех при оптимальном  $K = 3$  не обнаружили различий в популяционной структуре западной и восточной популяций (рис. 2). Фактически данные байесовского анализа показали существование единой популяции вида на территории России. Такая же однородная генетическая структура даурского журавля выявлена и методом РСА. Поскольку птицы из северной и южной частей восточной популяции используют один пролетный путь, но географически разобщены (рис. 1), для кластеризации методом главных компоненты выделили их в отдельные группы. Однако это тоже не отразилось на пространственном распределении генотипов – совокупность точек, обозначающих многолокусные индивидуальные ге-

нотипы западной, северной и южной восточной групп даурских журавлей, перекрывается на координатной плоскости PC1–PC2 (рис. 3).

### Генетическое разнообразие гаплотипов контрольного региона мтДНК

В анализ были включены нуклеотидные последовательности всего контрольного региона (1132 пн) 10 и 15 особей из западной и восточной популяций даурского журавля соответственно. Среди этих 25 особей идентифицировано 18 гаплотипов (табл. 3). Только один из них (h6) был общим, а остальные встречались либо в одной, либо в другой популяции. Всего к западной популяции относилось восемь гаплотипов, а к восточной – 11.

Обе популяции характеризовались высоким гаплотипическим и низким нуклеотидным разнообразием. Средние значения этих показателей составили соответственно  $Hd = 0.973 \pm 0.018$  и



**Рис. 2.** Результаты кластеризации индивидуальных гаплотипов западной (1) и восточной (2) популяций даурского журавля по микросателлитным локусам в программе STRUCTURE для наиболее вероятных значений генетических кластеров от  $K = 2$  до  $K = 4$  при оптимальном  $K = 3$ .

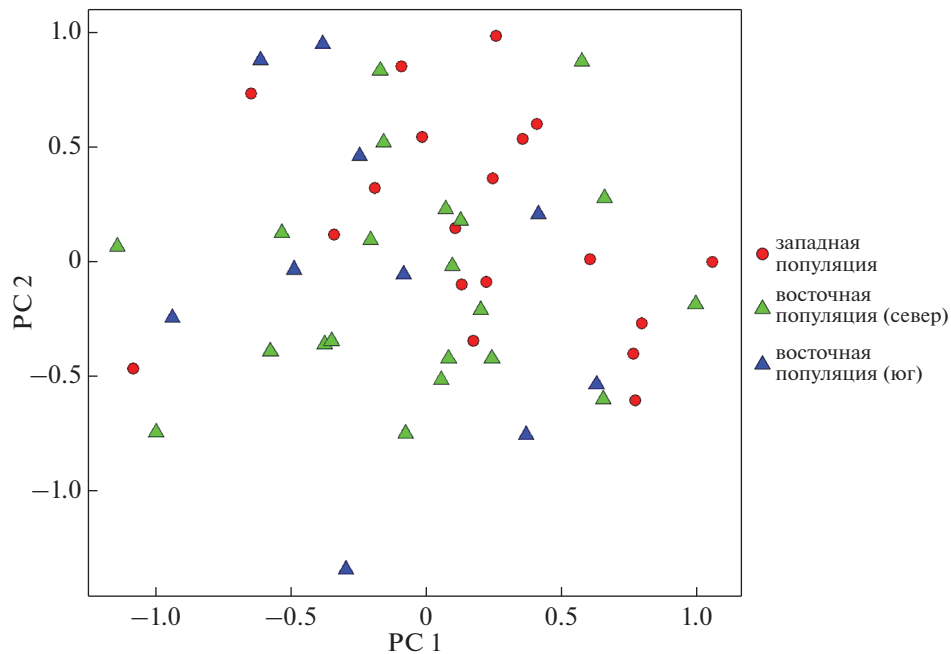


Рис. 3. Распределение индивидуальных многолокусных генотипов даурского журавля по микросателлитным локусам из западной популяции и севера и юга восточной популяции в пространстве главных компонент (PCA).

$\pi = 0.00662 \pm 0.00064$  (табл. 4), что указывает на высокое сходство гаплотипов даурского журавля. Среднее число нуклеотидных замен в гаплотипах ( $k$ ) равнялось 7.487. Распределение нуклеотидных различий при попарных сравнениях гаплотипов соответствовало модели популяционной экспансии (рис. 4), однако тесты отклонения от селективной нейтральности Таджимы ( $D = -0.81269$ ) и Фу и Ли ( $F = -0.8890$ ) не были достоверно значимыми. Уровень генетической дифференциации восточной и западной популяций по контрольному региону превышал таковой по микросателлитным локусам и достоверно отличался от нуля ( $F_{ST} = 0.041$ ,  $P = 0.05$ ), а число мигрантов на поколение по мтДНК, соответственно, было ниже:  $N_m = 5.83$ . По данным AMOVA 97.4% генетической изменчивости даурских журавлей сконцентрировано внутри особей и 2.6% — между ними.

Сеть гаплотипов, рассчитанная по TCS-алгоритму, демонстрирует кольцевую структуру из западных и восточных вариантов без формирования каких-либо географических кластеров (рис. 5). Северо-восточный гаплотип h4 — единственный из всех обнаруженных образовывал узел, связанный как с другими восточными северными, так и с восточными южными и с западными вариантами.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные о генетической структуре двух популяций даурского журавля, использующих разные места гнездования и зимовки

и соответственно разные пролетные пути, указывают на однородность генофонда этого редкого вида птиц. Обе популяции — как сокращающаяся западная, так и находящаяся в фазе роста восточная — характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия по ядерным микросателлитным локусам и контрольному региону мтДНК, сопоставимым с таковым у широкоареальных видов журавлей с большой численностью — канадского *Antigone canadensis* [23], серого *Grus grus* [24], красавки *Anthropoides virgo* [25, 26], но превышающим данный показатель у гораздо более редких американского *Grus americana* [6, 27] и японского *G. japonensis* [28] журавлей.

Низкая генетическая дифференциация, отсутствие четко выраженной популяционной структуры и достаточно интенсивный поток генов между западной и восточной группировками даурского журавля указывают на отсутствие репродуктивной изоляции между популяциями, использующими разные пролетные пути. Применение дистанционных методов слежения позволило выявить случай изменения мест зимовки самкой даурского журавля из западной группировки: свою первую зиму она провела в традиционном месте на озере Поянг в Китае (2016 г.), а последующие (2017–2020 гг.) — на местах зимовки восточной популяции в Корее и Японии, однако свое место гнездования в Юго-Восточном Забайкалье из года в год она не меняла (<https://savingcranes.org/the-journey-of-white-naped-crane-borzya>). Брачную пару эта самка сформировала на местах зимовки во-

**Таблица 3.** Распределение 18 гаплотипов контрольного региона в популяциях даурского журавля

Гаплотип	Номер в Генбанке	Популяция		Всего особей
		западная	восточная	
h1	MN929113	1		1
h2	MN929114	2		2
h3	MN929115	2		2
h4	MN929116		1	1
h5	MN929117		1	1
h6	MN929118	1	2	3
h7	MN929119		1	1
h8	MN929120		2	2
h9	MN929121		1	1
h10	MN929122		1	1
h11	MN929123	1		1
h12	MN929124	1		1
h13	MN929125		1	1
h14	MN929126		2	2
h15	MN929127		1	1
h16	MN929128	1		1
h17	MN929129	1		1
h18	MN929130		2	2
		10	15	25

**Таблица 4.** Показатели изменчивости контрольного региона и тесты на селективную нейтральность в популяциях даурского журавля

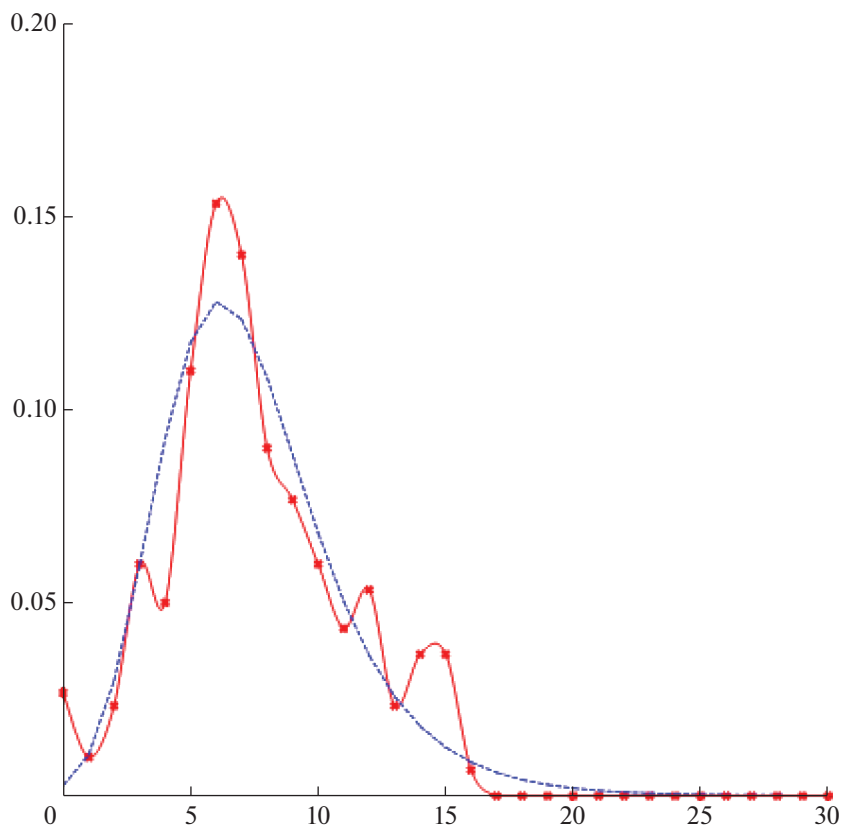
Популяция	<i>Hd</i>	$\pi$	<i>k</i>	<i>D</i>	<i>F</i>
Западная	0.956 ± 0.059	0.00635 ± 0.00065	7.178	−0.36410 ns	−0.46458 ns
Восточная	0.962 ± 0.034	0.00655 ± 0.000659	7.410	−0.30614 ns	−0.00950 ns
В среднем	0.973 ± 0.018	0.00662 ± 0.00064	7.487	−0.81269 ns	−0.8890 ns

Примечание. *Hd* – разнообразие гаплотипов;  $\pi$  – нуклеотидное разнообразие; *k* – среднее число нуклеотидных различий; тесты на селективную нейтральность Таджимы (*D*) и Фу и Ли (*F*); ns – недостоверные значения.

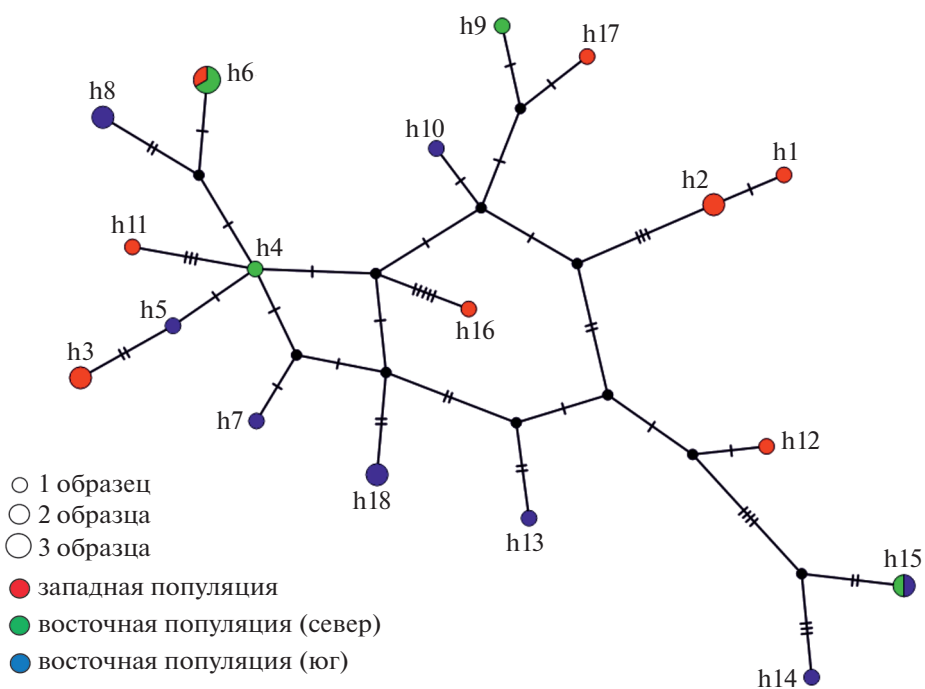
сточной популяции, следовательно ее партнер, вероятно принадлежавший к восточной популяции, изменил место гнездования. Известны и другие достоверные случаи смены даурскими журавлями мест зимовки и путей миграции. Скорее всего, изменения маршрутов больше присущи неполовозрелым особям в ходе их первой самостоятельной, не связанной с родителями, миграции. Таким образом, объединение птиц на общих зимовках с представителями другого миграционного потока может привести к кардинальной смене места гнездования.

На состояние западной популяции, обитающей в аридных условиях, огромное влияние оказывают климатические циклы продолжительностью около 30 лет с чередованием влажных и засушливых периодов, в процессе которых условия

обитания птиц могут радикально меняться от благоприятных до крайне неблагоприятных [29–33]. Это вызывает масштабные перемещения особей и изменение пространственной структуры населения как внутри западной популяции даурского журавля, так, вероятно, и внутри вида в целом [31]. Стремительное падение численности западной группировки в 2000–2017 гг. произошло в неблагоприятный засушливый период, когда подавляющая часть ее местообитаний высохла, что позволяет предположить перемещение части западных даурских журавлей на места гнездования восточной популяции, где условия обитания в то время были относительно благоприятны, а численность довольно быстро росла [5, 31]. Подобные перемещения особей, безусловно, спо-



**Рис. 4.** График распределения нуклеотидных различий гаплотипов контрольного региона даурского журавля согласно модели недавнего увеличения численности вида. По оси абсцисс приводится число нуклеотидных замен при попарном сравнении гаплотипов, по оси ординат — частота. Пунктирная линия соответствует ожидаемому распределению, сплошная — наблюдаемому.



**Рис. 5.** Сеть гаплотипов контрольного региона мтДНК даурского журавля, построенная по TCS-алгоритму [21]. Размер кружков пропорционален числу особей, засечки на соединяющих линиях соответствуют числу мутационных событий между гаплотипами, сектора диаграмм представляют частоты гаплотипов в популяциях.



собствуют гомогенизации генетической структуры вида.

Слабые или средние генетические различия показаны и для других мигрирующих видов журавлей – как широко распространенных, так и редких. Так, по микросателлитным локусам значение  $F_{ST}$  между популяциями западного подвида серого журавля составляет 0.012 [34], а между выборками западного и восточного подвигов 0.011 [24]. Такая же низкая (0.3–1.1%) генетическая дифференциация между подвидами серого журавля и по контрольному региону мтДНК [35]. У красавки – вида с большим, но фрагментированным в России ареалом – различия в генетической структуре по микросателлитным локусам ( $F_{ST} = 0.052$  [25]) выше, чем у более многочисленного и распространенного серого журавля и как показано в настоящей работе редкого даурского журавля, населяющего более компактную территорию. По контрольному региону уровень генетической дифференциации красавки на всем ареале ( $F_{ST} = 0.075$  [26]) также превышает таковой у даурского журавля. Генетические различия между зимующими популяциями черного журавля *G. monacha* [36], а также между континентальной мигрирующей и оседлой островной популяциями японского журавля [10], судя по распределению гаплотипов контрольного региона в медианных сетях и филогенетических деревьях, практически отсутствуют.

Полученный нами график распределения парных различий нуклеотидов, свидетельствующий об увеличении численности вида в недавнем прошлом, не подкрепляется достоверными тестами на селективную нейтральность. Однако эти тесты очень чувствительны к размеру выборок, которые у нас недостаточно велики. При этом в TCS-сети гаплотипов контрольного региона отсутствуют звездообразные структуры, характерные для популяций, прошедших через “бутылочное горлышко”, что также свидетельствует в пользу преждевременности выводов о популяционной экспансии даурского журавля в прошлом.

В целом высокие показатели генетической изменчивости даурского журавля по изученным молекулярно-генетическим маркерам указывают на стабильное состояние его генофонда на разных пролетных путях, однако в связи с сокращением численности западной популяции и в целях поддержания восточной охраняемые меры для этого редкого вида журавлей актуальны и необходимы.

Авторы благодарят Е.Ю. Гаврикову и Н.В. Кузнецову за биологический материал от даурских журавлей, содержащихся на Станции реинтродукции редких видов журавлей Хинганского государственного природного заповедника.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-04-01287, в рамках Государ-

ственного задания 0112-2019-0001, а также с частичной поддержкой Комплексной международной научно-производственной программы Евроазиатской региональной ассоциации зоопарков и аквариумов “Сохранение журавлей Евразии” (2012–2019 и 2021 гг.).

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. BirdLife International. 2018. *Antigone vipio*. The IUCN Red List of threatened species 2018: e.T22692073A131927305. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22692073A131927305.en>
2. *Meine C.D., Archibald G.W.* The Cranes: Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN, Gland, Switzerland, and Cambridge, UK, 1996. 282 p.
3. *Mirande C.M., Harris J.T. (eds)* // Crane conservation strategy. Baraboo, Wisconsin, USA: Intern. Crane Foundation, 2019. 454 p.
4. *Арчибальд Д.* Статус журавлей мира в 2021 г. // Журавли Евразии (распространение, биология). 2021. Вып. 6. С. 31–67.
5. *Горошко О.А., Сурмач С.Г.* Даурский журавль // Красная книга Российской Федерации. Животные. 2-е изд. М.: ФГБУ ВНИИ “Экология”. 2021. С. 684–686.
6. *Jones K.L., Henkel J.R., Howard J.J. et al.* Isolation and characterization of 14 polymorphic microsatellite DNA loci for the endangered Whooping crane (*Grus americana*) and their applicability to other crane species // *Conserv. Gen. Res.* 2010. V. 2. № 1. P. 251–254. <https://doi.org/10.1007/s12686-010-9196-3>
7. *Meares K., Dawson D., Horsburgh G.J. et al.* Characterisation of 14 blue crane *Grus paradisea* (Gruidae, AVES) microsatellite loci for use in detecting illegal trade // *Conserv. Genet.* 2008. V. 9. P. 1363–1367. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9490-0>
8. *Zou H.F., Dong H.Y., Kong W.Y. et al.* Characterization of 18 polymorphic microsatellite loci in the red-crowned crane (*Grus japonensis*), an endangered bird // *Anim. Sci. J.* 2010. V. 81. № 4. P. 519–522. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2010.00779.x>
9. GelAnalyzer 19.1 ([www.gelanalyzer.com](http://www.gelanalyzer.com)) by Istvan Lazar Jr., PhD and Istvan Lazar Sr., PhD, CSc.
10. *Hasegawa O., Takada S., Yoshida M.C., Abe S.* Variation of mitochondrial control region sequences in three crane species, the red-crowned crane *Grus japonensis*, the common crane *G. grus* and the hooded crane *G. monacha* // *Zool. Sci.* 1999. V. 16. P. 685–692.
11. *Peakall R., Smouse P.E.* GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // *Bioinformatics.* 2012. V. 28.

- № 19. P. 2537–2539.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
12. Pritchard J.K., Matthew S., Peter D. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies // *Genetics*. 2000. V. 164. № 4. P. 1567–1587.  
<https://doi.org/10.3410/f.1015548.197423>
  13. Kopelman N.M., Mayzel J., Jakobsson M. et al. Clumpak: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K // *Mol. Ecol. Res.* 2015. V. 15. № 5. P. 1179–1191.  
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
  14. Jombart. T. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers // *Bioinformatics*. 2008. V. 24. P. 1403–1405.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
  15. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. N.Y.: Springer-Verlag, 2016.
  16. RStudio Team. RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA, 2021. <http://www.rstudio.com>  
<http://www.rstudio.com>
  17. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Austria: Vienna, 2021. <https://www.R-project.org>
  18. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. № 14. P. 3059–3066.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
  19. Kearsley M., Moir R., Wilson A. et al. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data // *Bioinformatics*. 2012. V. 28. № 12. P. 1647–1649.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
  20. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // *Bioinformatics*. 2009. V. 25. № 11. P. 1451–1452.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
  21. Clement M., Snell Q., Walke P. et al. TCS: estimating gene genealogies // *Proc. 16th Int. Parallel Distrib. Process Symp.* 2002. V. 2. P. 184.
  22. Leigh J.W., Bryant D. PopART: Full-feature software for haplotype network construction // *Methods Ecol. Evol.* 2015. V. 6. № 9. P. 1110–1116.  
<https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
  23. Rhymer J.M., Fain M.G., Austin J.E. et al. Mitochondrial phylogeography, subspecific taxonomy, and conservation genetics of sandhill cranes (*Grus canadensis*; Aves: Gruidae) // *Conserv. Gen.* 2001. V. 2. P. 203–218.
  24. Мудрик Е.А., Кашенцева Т.А., Редчук П.С., Политов Д.В. Данные по микросателлитной изменчивости подтверждают низкую генетическую дифференциацию западного и восточного подвидов серого журавля (*Grus grus* L.) // *Мол. биология*. 2015. Т. 49. № 2. С. 297–304.  
<https://doi.org/10.7868/S002689841502010X>
  25. Mudrik E.A., Ilyashenko E.I., Goroshko O.A. et al. The Demoiselle crane (*Anthropoides virgo*) population genetic structure in Russia // *Vavilov J. Genetics and Breeding*. 2018. V. 22. № 5. P. 586–592.  
<https://doi.org/10.18699/VJ18.398>
  26. Mudrik E.A., Ilyashenko E.I., Ilyashenko V.Y. et al. Genetic diversity and differentiation of the widespread migratory Demoiselle Crane, *Grus virgo*, on the northern edge of the species' distribution // *J. Ornithol.* 2022. V. 163. № 1. P. 291–299.  
<https://doi.org/10.1007/s10336-021-01919-4>
  27. Glenn T.C., Wolfgang S., Braun M.J. Effects of a population bottleneck on whooping crane mitochondrial DNA variation // *Conserv. Biol.* 1999. V. 13. № 5. P. 1097–1107.
  28. Sugimoto T., Hasegawa O., Azuma N. et al. Genetic structure of the endangered red-crowned cranes in Hokkaido, Japan and conservation implications // *Conserv. Genet.* 2015. V. 16. P. 1395–1401.  
<https://doi.org/10.1007/s10592-015-0748-7>
  29. Горошко О.А., Цэвээнмядаг Н. Данные о влиянии засух на популяцию даурских журавлей // Наземные позвоночные Даурии: Сб. науч. трудов Гос. природного биосферного заповедника “Даурский”. Вып. 3. Чита: Поиск, 2003. С. 121–130.
  30. Горошко О.А. Даурский журавль // Красная книга Забайкальского края. Животные. Новосибирск: Новосиб. изд. дом, 2012. С. 120–122.
  31. Горошко О.А. Динамика популяций и качества местообитаний птиц в Даурии в условиях многолетних климатических циклов // Ареалы, миграции и другие перемещения диких животных. Владивосток: ООО “Рея”, 2014. С. 74–80.
  32. Горошко О.А. Динамика и современное состояние популяций журавлей в Даурии (Забайкалье, Монголия) // Журавли Евразии: биология, охрана, управление. 2015. Вып. 5. С. 116–134.
  33. Горошко О.А. Результаты учетов журавлей в Юго-Восточном Забайкалье, Россия, в 2016–2020 гг. // Журавли Евразии (распространение, биология). 2021. Вып. 6. С. 82–105.
  34. Haase M., Holtje H., Blahy B. et al. Shallow genetic population structure in an expanding migratory bird with high breeding site fidelity, the Western Eurasian Crane *Grus grus grus* // *J. Ornithol.* 2019. V. 160. P. 965–972.  
<https://doi.org/10.1007/s10336-019-01688-1>
  35. Haase M., Ilyashenko V. A glimpse on mitochondrial differentiation among four currently recognized subspecies of the common crane *Grus grus* // *Ardeola*. 2012. V. 59. № 1. P. 131–136.  
<https://doi.org/10.13157/arla.59.1.2012.131>
  36. Zhang L., Zhou L., Dai Y. Genetic structure of wintering Hooded Cranes (*Grus monacha*) based on mitochondrial DNA D-loop sequences // *Chinese Birds*. 2012. V. 3. № 2. P. 71–81.  
<https://doi.org/10.5122/cbirds.2012.0012>

## Gene Pool Heterogeneity of Western and Eastern Populations of the White-Naped Crane *Antigone vipio* in Different Flyways

E. A. Mudrik<sup>a, \*</sup>, O. A. Goroshko<sup>b, c</sup>, S. G. Surmach<sup>d</sup>, T. A. Kashentseva<sup>e</sup>,  
A. V. Nechaeva<sup>a</sup>, S. M. Smirenski<sup>f</sup>, and D. V. Politov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

<sup>b</sup>Daursky State Nature Biosphere Reserve, Nizhny Tsasuchey, 674495 Russia

<sup>c</sup>Institute of Nature Resources, Ecology and Cryology Russian Academy of Sciences, Chita, 672014 Russia

<sup>d</sup>Federal Scientific Center of Biodiversity of the East Asia Terrestrial Biota, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia

<sup>e</sup>Oka Crane Breeding Center, Oka State Nature Biosphere Reserve, Brykin Bor, 391072 Russia

<sup>f</sup>Muraviovka Park for Sustainable Land Use, Muraviovka, 676964 Russia

\*e-mail: mudrik@vigg.ru

The article presents the first data on the genetic structure of the White-naped crane *Antigone vipio*, a rare migratory bird species of northeastern Asia. On the base of seven polymorphic microsatellite loci analysis and complete control region sequencing (1132 bp), the genetic homogeneity of spatially separated western and eastern populations using different flyways was established. The found high levels of observed ( $H_O = 0.696 \pm \pm 0.033$ ) and expected ( $H_E = 0.707 \pm 0.037$ ) heterozygosity and haplotype diversity ( $Hd = 0.973$ ) of the White-naped crane are comparable to these parameters in wide-range crane species with a large number. No genetic differentiation by microsatellite loci ( $F_{ST} = 0.013$ ,  $P = 0.369$ ) low level of genetic differences by the control region ( $F_{ST} = 0.041$ ,  $P = 0.05$ ), lack of intraspecific spatial structuring of the White-naped crane by haplotypes and individual multi-locus genotypes may be due to the absence of reproductive isolation between individuals from different populations and changes in the migration routes of immature birds.

**Keywords:** Gruidae, genetic variation, genetic differentiation, microsatellite loci, control region, Russia.