

- Hardey J., Crick H., Wernham C., Riley H., Etherridge B., Thompson D., 2009. Raptors: a field guide for surveys and monitoring.- Scottish Natural Heritage, Edinburgh.- Second edition.- 386 p.
- Iankov P. (ed.), 2007. Atlas of breeding birds in Bulgaria. Bulgarian society for the protection of birds, Conservation series, Book 10.- Sofia, BSPB.- 679 p.
- Marin S, Rogev A.B., Christov I., Sarov M., 1998. New observations and nesting of the black vulture (*Aegyptius monachus* L., 1766) in Bulgaria // In: Tewes E, Sa'nchez JJ, Heredia B, Bijleveld van LM, editors. International Symposium on the black vulture in south eastern Europe and adjacent regions (Dadia, Greece, 15–16 September 1993).- Palma de Mallorca: FZS/BVCF.- P.47–50.
- Michev T., Pomakov V.A., Stefanov V.S., Yankov P.N., 1980. Colony of Griffon vulture (*Gyps fulvus* Hablizl) in the EasternRhodopes // Ecology, book 6.- P.74-79.
- Patev P., 1950. Birds in Bulgaria.- Sofia, BAS.- 364 p.
- Stoynov E., Biro E., Stoyanov G., Peshev H., Ivanov I., Stoev I., Bonchev L., Vangelova N., Nikolova Z., Iankov L., Parvanov D., Grozdanov A., 2018. Population boost of the Griffon vulture *Gyps fulvus* (Hablizl, 1783) (Accipitridae) in Bulgaria based on reintroductions // Acta zool. bulg., Suppl. 12.- P.59 – 65.
- Stoynov E., Peshev H., 2011. Re – introduction of Griffon Vulture (*Gyps fulvus*) in Kresna Gorge of Struma River, Bulgaria, Annual Report 2010.- Fund for Wild Flora and Fauna.- Blagoevgrad.
- Zakkak S., Babakas P., 2015. Annual monitoring report for the species and habitats of European concern-2014. Management body of Dadia-Lefkimi-Soufli forest national park (unpublished data).
-

Популяционная структура и генетическое разнообразие симпатрических видов рода *Aquila*: степного орла и орла-могильника
Population structure and genetic diversity of sympatric *Aquila* species: Steppe and Imperial eagles

Л.С. Зиневич¹, Д.М. Щепетов¹, В.Г. Тамбовцева¹, Р.Х. Бекмансуров², А.Н. Барашкова³, Э.Г. Николенко³, И.В. Карякин³

¹ФБГУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,

²Казанский федеральный университет, Елабужский институт, ФБГУ «Национальный парк «Нижняя Кама», Елабуга, Россия,

³ООО «Сибирский экологический центр», Новосибирск, Россия

E-mail: lzinevich@gmail.com

Одной из распространенных лабораторных моделей для изучения изолирующих барьеров являются т.н. близнецовые виды, однако

особый интерес представляют исследования эволюции близкородственных видов в природе. Степной орел *Aquila nipalensis* (Hodgson, 1833) до недавнего времени был самым массовым видом орлов Северной Евразии, однако в XX веке его численность резко сократилась, и в 2015 году его статус в Красном листе МСОП был повышен до угрожаемого. Его ареал перекрывается с ареалом близкородственного вида – восточного могильника *A. heliaca* (Savigny, 1809). В XX веке орел-могильник тоже подвергся антропогенному прессингу и сейчас имеет статус уязвимого, однако в отдельных районах ареала наблюдается рост численности его популяций. При этом, несмотря на то, что степной орел и могильник относятся к разнымкладам (Lerner, Mindell, 2005), в зонах перекрытия ареалов этих видов встречаются смешанные пары и птицы с фенотипами предположительных гибридов. Целью настоящей работы было исследование популяционно-генетической структуры и разнообразия *A. nipalensis* и *A. heliaca* в зонах перекрытия ареалов от Восточной Украины до Даурии.

Материалы и методы

Основные материалы и данные для исследования были собраны во время мониторинга и кольцевания степного орла и орла-могильника в различных областях их ареалов с 2008 по 2017 г. с координатами гнезд и фотографиями из базы данных «Фаунистика». Образцы перьев были получены из объединенной Коллекции линных перьев Центра коллективного пользования ИБР РАН и ООО «Сибэкоцентр». Фрагменты музейных шкурок были получены из Музея природы Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина и Забайкальского регионального музея им. А.А. Кузнецова.

Выделение геномной ДНК проводили из заспиртованных растущих и сухих линных перьев (Hogvath et al., 2005), а также из музейных шкурок с помощью Diatome DNA 100 Prep Kit (Биоком, Россия) и TianAMP DNA kit (TianAMP Genomics, КНР) соответственно.

Фрагменты контрольного региона (D-петли) митохондриального генома амплифицировали с помощью специфических праймеров: AND2 for(5'-3') CCCCCGGGCTAAATCCATGCC, rev(5'-3') GTCCCACAAGCATTCACТА для степного орла (Карякин и др., 2016) и AID1F/FboxR for(5'-3') AAGGGCCATTATTGCCAAA; rev(5'-3') GGGTTGCTGRTTTCACGTGAG) (Martínez-Cruz et al. 2004) для орла-могильника. Секвенирование ПЦР-продуктов по Сэнгеру проводили на секвенаторе ABI 3500 с помощью BigDye 3.1 Kit (Applied Biosystems, США) по протоколу производителя. Обработку результатов секвенирования проводили в программном пакете LaserGene (DNAStar, USA). Анализ 9 ядерных микросателлитных локусов, ранее

описанных для видов рода *Aquila*, проводили согласно оригинальным протоколам со специфическими праймерами: динуклеотидные локусы *Aa27*, *Aa35*, *Aa36*, *Aa39*, *Aa43* (Martínez-Cruz et al. 2002); тетра-нуклеотидные локусы *IEAAAG09* и *IEAAAG11* (Busch et al. 2005) и динуклеотидные локусы *Hal04* и *Hal10* (Halier et al. 2005). Размер ПЦР-продуктов анализировали на приборе ABI 3500.

Статистическую обработку результатов проводили в программных пакетах PopArt, Arlequin, Geneland и Poppr для R.

Результаты и обсуждение

По выбранным маркерам (не менее 4 локусов и D-петля) нами было проанализировано 384 образца птиц: 277 степных орлов из 13 популяционных группировок, выделенных ГИС-методами, и 107 могильников из 11 группировок, выделенных ГИС-методами (выделение группировок см. Карякин и др., 2016).

Анализ митохондриальной ДНК показал, что степной орел практически на всем ареале, включая вымершую украинскую группировку, и могильник от Восточной Украины до Даурии не имеют митохондриальных гаплогрупп, хотя ранее опубликованные гаплотипы D-петли, встречающиеся у испанского могильника (*A. adalberti*), и некоторые европейские гаплотипы восточного могильника можно выделить в отдельную гаплогруппу. Структура медианных сетей митохондриальных гаплотипов представлена на рис. 1.

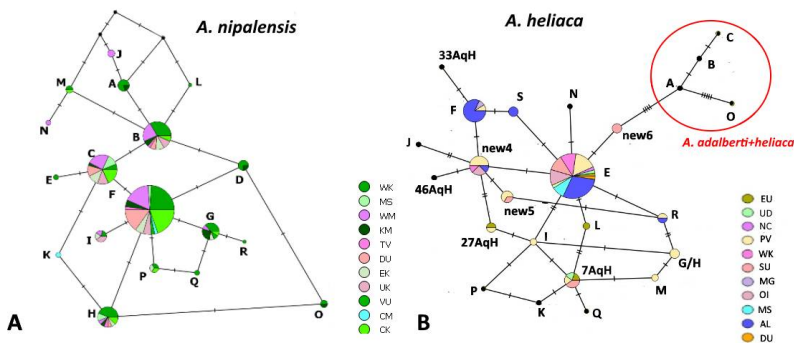


Рис. 1. Медианные сети гаплотипов D-петли митохондриального генома степного орла и восточного и испанского могильников, построенные методом TCS. А – выявленные гаплотипы степного орла; В – выявленные и ранее описанные гаплотипы восточного и испанского могильников

При этом на исследованных нами территориях у обоих видов не обнаружено каких-либо закономерностей распределения выявленных

гаплотипов. Как в случае степного орла, так и в случае могильника по нашим данным тест Мантеля показал отсутствие корреляции географической дистанции с встречаемостью гаплотипов ($p > 0.05$).

Что касается результатов микросателлитного анализа, выбранная нами панель маркеров, включая Д-петлю, позволяет достоверно отличить виды друг от друга, а также выявлять случаи ошибочных определений в поле и гибридизацию видов, в том числе, не первого поколения (рис. 2).

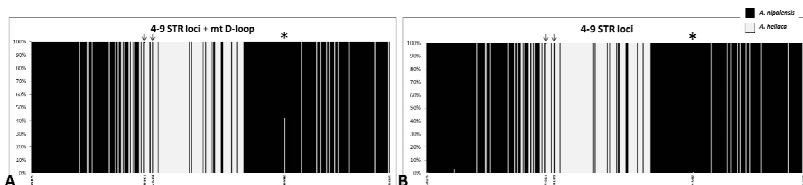


Рис. 2. Определение видов по 4-9 STR-локусам и Д-петле. А – с учетом Д-петли, В – без учета Д-петли. * – выявленный в Даурии гибрид степного орла и могильника не первого поколения

При этом внутри каждого вида анализ частот аллелей не показывает какой-либо подразделенности популяции: по результатам расчета количества популяций методом байесовских марковских цепей для обоих видов наиболее вероятное K равно 1, то есть популяция генетически не подразделена, и поток генов в ней непрерывен.

Что касается генетической стабильности популяций, результаты равновесного теста Харди-Вайнберга показывают, что как у степного орла, так и у могильника все гнездовые группировки, включая самые крупные, не являются стабильными хотя бы по одному локусу (данные не приведены). Однако популяция степного орла является в целом генетически стабильной, в то время как симпатричная ей популяция могильника стабильной не является (табл. 1).

Таблица 1

Результаты теста Харди-Вайнберга $Pr(\chi^2 >)$		по локусам в популяциях								
		G11	Aa39	Aa43	Aa36	Aa35	G09	Aa27	Hal04	Hal10
<i>A. nipalensis</i>	N=277	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>A. heliaca</i>	N=107	0,29	0,09	0,62	0,00	1,00	0,00	0,00	0,50	1,00

Данный результат отчасти может быть связан с меньшей выборкой могильников по сравнению со степными орлами, а также – с наличием у могильника значимого потока генов с территорий, на которых его ареал не перекрывается с ареалом степного орла.

Таким образом, степной орел и могильник при общем сходстве популяционной структуры и параметров генетического разнообразия, а также возможность гибридизации в природе имеют ряд значимых отличий как в эволюционной истории, так и в современном разнообразии. Поскольку на некоторых исследованных территориях могильник не только стабилен в численности, но и демонстрирует тенденцию к расширению ареала, в то время как степной орел имеет общую тенденцию к снижению численности, исследование взаимосвязи особенностей популяционной структуры этих видов с их экологией имеет ключевое значение для эффективной охраны и восстановления численности обоих этих редких видов пернатых хищников.

Литература

- Карякин И., Зиневич Л., Щепетов Д., Сорокина С., 2016. Популяционная структура ареала степного орла и предварительные данные по генетическому разнообразию его популяций и статусу подвидов // Пернатые хищники и их охрана. № 32. - С. 67-88. DOI: 10.19074/1814-8654-2016-32-67-88.
- Busch J., Katzner T., Bragin E., Keim P., 2005. Tetranucleotide microsatellites for *Aquila* and *Haliaeetus* eagles // Mol. Ecol. Notes. V. 5. - P. 39-41. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2004.00823.x
- Hailer F., Gautschi B., Helander B., 2005. Development and multiplex PCR amplification of novel microsatellite markers in the White-tailed Sea Eagle, *Haliaeetus albicilla* (Aves: Falconiformes, Accipitridae) // Mol. Ecol. Notes. V. 5 - P. 938-940. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01122.x
- Horváth M., Martínez-Cruz B., Negro J., Kalmár L., Godoy J., 2005. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds // Journal of Avian Biology. V. 36, № 1. - P. 84-88. DOI: 10.1111/j.0908-8857.2005.03370.x
- Lerner H., Mindell D., 2005. Phylogeny of eagles, Old World vultures, and other Accipitridae based on nuclear and mitochondrial DNA // Mol. Phyl. and Evol. V. 37, № 2. - P. 327-346. DOI: 10.1016/j.ympev.2005.04.010
- Martínez-Cruz B., David V., Godoy J., Negro J., O'Brien S., Johnson W., 2002. Eighteen polymorphic microsatellite markers for the highly endangered Spanish imperial eagle (*Aquila adalberti*) and related species // Mol. Ecol. Notes. V. 2, № 3. - P. 323-326. DOI: 10.1046/j.1471-8286.2002.00231.x
-

Численность и экология орлана-белохвоста в Рязанской области

The number and ecology of White-tailed Eagle in Ryazan Region

В.П. Иванчев

ФГБУ «Окский государственный заповедник»

E-mail: ivanchev.obz@mail.ru