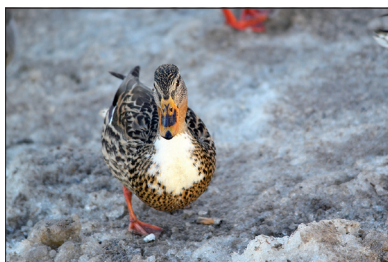


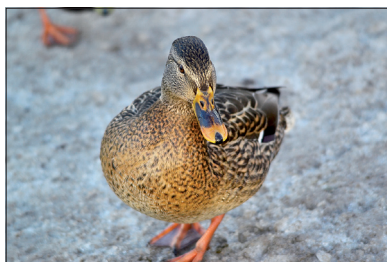
А



Б



В



Г

Рис. 1. Самки кряквы с абберантной (А–В) и нормальной (Г) окраской оперения

О. Л. Силаева, Ю. А. Богданова

БАЗЫ ДАННЫХ ПО МИКРОСТРУКТУРЕ ПЕРА

Резюме

Описана методика создания, ведения и использования в интересах фундаментальной и прикладной науки баз данных по микроструктуре пера. Дается понятие о системе диагностических признаков, разработанной для определения вида птицы по структуре одиночного пера. Разработана комплексная методика определения вида птицы по структуре пера с использованием эколого-географического и молекулярно-генетического анализов или без применения метода ДНК. Рассматривается совместная работа с Федеральным агентством воздушного транспорта в целях минимизации столкновений с птицами.

FEATHER MICROSTRUCTURE DATABASES

Summary

The technique of creation, maintenance and use in the interests of fundamental and applied science of feathers microstructure databases is described. The concept of a system of diagnostic features developed to identify a bird species by the structure of a single feather is given. A comprehensive method has been developed for determining a bird species by feather structure using ecological-geographical and molecular-genetic analyzes or without using the DNA method. Joint work with the Federal Air Transport Agency in order to minimize collisions with birds is being considered.

В Лаборатории экологии и управления поведением птиц Института проблем экологии и эволюции РАН (ЛЭУПП ИПЭЭ РАН) сформированы эталонная база микроструктурных компонентов пера, а также база с образцами перьевых структур, полученных после столкновений воздушных судов (ВС) с птицами. Обе они содержат как реальные этикетированные препараты, так и виртуальные микрофотографии, выполненные на основе этих препаратов и ранжированные по систематике.

Таблица 1

**Эталонная база данных по микроструктуре перьев
и база данных по столкновениям птиц с воздушными судами**

Базы	Эталонная	По столкновениям с ВС
Число препаратов	1264	196
Отряды	10	10
Семейства	34	23
Виды птиц	140	57

База по столкновениям содержит также экспертизы-отчёты по определению вида на основе структуры перьев и анализа ДНК, данные по географическому месту столкновения ВС с птицей/птицами, биологические справки по виду-участнику инцидента, по необходимости рекомендации для служб обеспечения орнитологической безопасности полётов аэродрома, на котором произошло столкновение. Подобные всесторонние исследования обычно выполняются по договорам с авиакомпаниями и аэропортами.

На основе баз данных в ЛЭУПП ИПЭЭ РАН созданы комплексные системы видового определения птицы, куда входит исследование структуры перьевого материала, молекулярно-генетический и эколого-географический анализы. Структурный метод идентификации вида вошёл в комплексный анализ определения вида наряду с молекулярно-генетическим и эколого-географическим. Появилась возможность и необходимость учитывать структурные признаки пера при анализе совокупности черт, характерных для таксонов разного ранга. Выверенное и подтверждённое анализом ДНК определение вида из базы данных по столкновениям может использоваться как эталонное.

Микроструктурные диагностические признаки

Микроструктурные компоненты пера имеют более или менее постоянные характеристики, соответствующие таксону. Самыми показательными являются клетки пуховых лучей: места соединения двух клеток, т. е. узлы, основная часть клетки (междоузлие), а также длина самого луча и плотность расположения узлов на луче. У разных таксонов элементы луча различаются по своим характеристикам. Узлы различаются по форме, конфигурации, размеру, пигментации и плотности расположения на луче (Bird remains identification system) [Prast et al., 1996].

Узлы имеют зубцы, которые также отличаются в разных таксонах по форме, длине, числу и пигментации. Узлы могут быть хорошо развитыми или редуцированными (рис. 1). Типичные для таксона узлы имеют разную форму – круглую, треугольную, клювообразную; отличаются также по числу и форме зубцов (рис. 2); таксоны различаются по распределению узлов на сегментах луча. Диагностическим может быть число редуцированных узлов на дистальных участках луча.

В основаниях пуховых лучей птиц отряда Воробьинообразных и некоторых других отрядов обнаружены отростки, названные ворсинками [Brom, 1991, Prast, Shamoun,

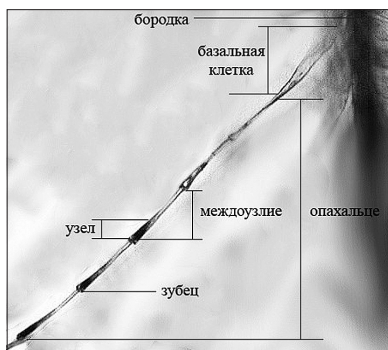


Рис. 1. Базальная часть пухового луча степной тиркушки (*Glareola nordmanni*). Бородака barb; луч barbule; узел node; междоузлие internode; зубец prong; опахальце pennulum

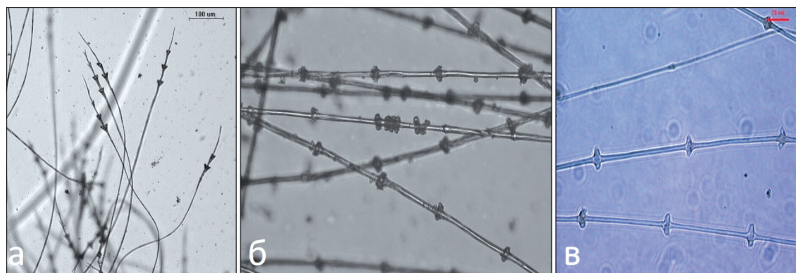


Рис. 2. Разнообразие пуховых микроструктур Гусеобразных (Anseriformes), Курообразных (Galliformes) и Голубеобразных (Colimbiformes): а – кряква; б – белая куропатка; в – сизый голубь

Vierhuizen, 1996] (рис. 3а). У большинства видов Воробьинообразных (Passeriformes), Дятлообразных (Piciformes) и Ракшеобразных (Coraciiformes) ворсинки встречаются в основании пуховых лучей проксимальных частей покровных контурных перьев; учитывается их форма, размер и количество.

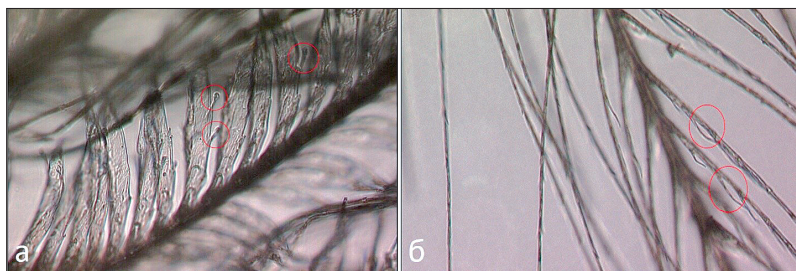


Рис. 3. а – ворсинки *villi* базальных клеток пера межплаточной птерилии варакушки (*Luscinia svecica*); б – флексулы *flexules* из контурной части покровного пера хохотуны (*Larus cachinnans*)

В контурных частях пера также обнаружены диагностические признаки, свидетельствующие о принадлежности к определённой группе птиц. Это изогнутые отростки, называемые флексулами, в основаниях контурных лучей, они есть у водоплавающих и околородных видов [Chandler, 1916; Brom, 1991] (рис. 3б). Кроме факта наличия флексул учитывается их форма, степень развития, а также локализация на луче. Наиболее часто флексулы встречаются на грудных, брюшных перьях, а также на перьях подхвостья у видов околородных и водоплавающих

птиц; например, в отряде Ржанкообразных (Charadriiformes) флексулы распространены мозаично. Они есть у видов, представляющих семейства Куликов-сорок (Haematopodidae), Ржанковых (Charadriidae), Бекасовых (Scolopacidae), Шилоклювковых (Recurvirostridae) и Чайковых (Laridae).

Исследованиям отличительных микроструктурных признаков пера посвящены классические и более современные работы преимущественно зарубежных учёных [Nitzsch, 1840; Chandler, 1916; Lucas, Stettenheim, 1972; Brom, 1991; Laybourne et al., 1992; Laybourne, Dove, 1994; Prast et al., 1996; Dove, 2002; Shamoun-Baranes, 2003; Чернова и др., 2006; Чернова, 2009; Dove, Koch, 2010; Rijke et al., 2013; Lee et al., 2016; Pap, 2020]. Сотрудники ИПЭЭ РАН опубликовали серию оригинальных определителей с многовариантным применением, которые могут использоваться не только как макро- и микроструктурные, но и как классические видовые справочники [Силаева и др., 2013, 2015, 2018].

При наличии перьев с разных птерилий и их фрагментов идентификация таксона может проводиться без использования анализа ДНК, который не всегда возможен. В этом случае используются таксономические особенности перьев из системы диагностических признаков [Силаева и др., 2018; Силаева, 2019], а также метод совмещения макро- и микроструктур тестируемого пера или его фрагмента с эталонным пером (рис. 4).

С помощью данной методики за короткое время определены 103 таксона в 104 столкновениях с птицами. В 85 % случаев определён вид, в 7 % – семейство, в 7 % – два близкородственных вида, в 1 % случаев таксон не определён.

Диагностические признаки микроструктуры, характеризующие таксоны разного ранга, позволили определить не только особенности таксонов, но и степень индивидуальной изменчивости структурных элементов в пределах таксона и разработать новые методы идентификации по одиночному перу и его фрагментам. Эти признаки рассматриваются новым направлением морфологии пера – неклассической таксономии, которое разрабатывается на основе изучения морфологии перьев. Направление предполагает участие структурных компонентов пера наряду с другими классическими признаками в формировании облика таксона. Все исследованные микроструктурные признаки требуют дальнейшего изучения для понимания, в какой степени их можно использовать в прикладных и фундаментальных исследованиях по морфологии пера.

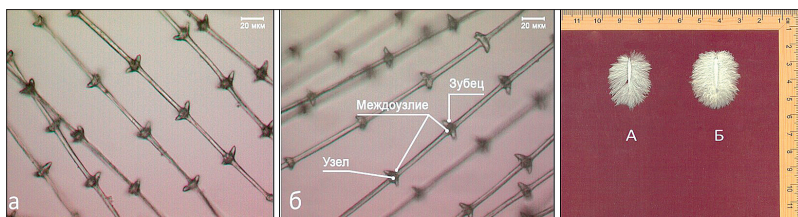


Рис. 4. Сизый голубь (*Columba livia*): А, а – тестируемый материал; Б, б – эталонный материал из коллекции ЛЭУПП ИПЭЭ РАН

При этом мы отдаём себе отчёт в том, что пока выявлены далеко не все микроструктурные показательные признаки и у нас нет их полной систематической картины.

Для выявления филогенетических связей между таксонами используются статистические методы, так, с помощью математических методов кластеризации были определены связи между таксонами высшего и среднего ранга (Силаева и др., 2018).

Морфологическая экспертиза перьевого материала имеет преимущества перед молекулярно-генетическим анализом: это быстрота, простота и дешевизна определения таксона. Перьевые структуры из эталонной базы используются для сопоставления (совмещения) с тестируемыми перьями, при необходимости выполняется экстраполяция.

Пока идентификационные исследования по морфологии отдельного пера/перьев проводятся в единственной в России лаборатории – ЛЭУПП ИПЭЭ РАН.

Совместная с Федеральным агентством воздушного транспорта (Росавиацией) база данных по столкновениям животных с воздушными судами

В современную стратегию минимизации столкновений с птицами и другими животными входит обязательное определение видовой принадлежности животного-участника столкновения с воздушным судном (ВС). Сейчас у нас в стране прилагаются значительные усилия по формированию национальной геоинформационной системы данных (ГИС) по потенциально опасным для полётов авиации видам птиц и других животных. Необходимо выяснить орнитологическую обстановку в аэропорту и по пути следования ВС, понять, какие виды, в какие сезоны наиболее опасны в районах и на территориях аэропортов с наибольшим числом столкновений, и принять адекватные меры по

контролю поведения животных, включая разработку средств управления их поведением в данном аэропорту.

В связи с этим мы начали проект по физико-географическому и климатическому районированию [Букреев, Вепринцева, 2009] (рис. 5). Для этого все аэропорты мы сгруппировали в зависимости от физико-географического и климатического районирования. Для создания индивидуального паспорта аэропорта будут учитываться ландшафтно-биотопические и другие особенности аэропорта, с которыми связано биоповреждающее поведение животных в данном аэропорту.



Рис. 5. Карта физико-географического и климатического районирования

Сейчас, к сожалению, службами аэропорта регистрируется очень небольшой процент столкновений с установлением вида животных. Обычно только в 3–5 % случаев регистрируется вид-участник столкновения, и в отчётах для базы данных по столкновениям число инцидентов многократно превышает число случаев с определением вида. Авиационные специалисты утверждают, что не нужно расследовать случаи столкновений с мелкими птицами, не приведшие к повреждениям. Однако и мелкие виды также могут быть опасны. При этом их определение чаще, чем более крупных, требует микроструктурных и/или молекулярно-генетических исследований. В этой

области необходимо более тесное сотрудничество зоологов и экологов со службами орнитологической безопасности полётов.

После подписания Соглашения между ИПЭЭ РАН и Федеральным агентством воздушного транспорта у ЛЭУПП ИПЭЭ РАН появился доступ к базе Росавиации по столкновениям самолётов с птицами и другими животными. База эта в виде таблицы Excel содержит максимально полные технические, географические и эколого-орнитологические данные по каждому случаю столкновения [Силаева, Чернова, 2021].

Методика создания баз данных по микроструктуре одиночного пера

Подготовка микропрепаратов

Для получения микрофотографий и проведения морфометрии использовали преимущественно светооптический микроскоп Leica DMR 2700 (Leica, Германия), оснащённый фотокамерой JVC 3 CCD C-MOUNT. Использовали также сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) Tescan Vega TS 5130 MM (Cam Scan MV 2300) и микроскоп Am Scope $\times 40$ – $\times 2500$ LED (Lab Compound Microscope, Китай) вместе с 3DTwo-Layer Mechanical Stage с увеличением $\times 4/0.1$, $\times 10/0.25$, $\times 40/0.65$, $\times 100/1.25$ oil. и бинокулярную лупу МБС 9 (СССР).

Перед изготовлением препарата перьевой биоматериал промываем в тёплой воде с растворённой в ней каплей натурального мыла или шампуня, если не предполагается использовать этот материал в дальнейшем для анализа ДНК, затем хорошо выполаскиваем в проточной воде или в ёмкости, несколько раз сменив воду. Влажные перья высушиваем, затем аккуратно расчёсываем щёткой или кисточкой. Покровные и предметные стёкла, даже новые, промываем в 96-процентном спирте. Из подготовленного пера пинцетом извлекается бородка. На предметное стекло мы обычно кладем 2–3 пуховые и контурные бородки, затем точно по контуру покровного стекла наносим прозрачный резиновый клей или лак для ногтей; закрываем препарат покровным стеклом.

После изготовления препарата перо убираем в мелкий прозрачный файл вместе с этикеткой, на которой указываем происхождение пера (вид, возраст и пол птицы, место и дату находки, птерилию, фамилию нашедшего). Препарат также этикетуем: указываем номер, состоящий из цифр и букв, дату создания препарата, а также название базы

(эталонная или база по столкновениям). Препараты храним в специальных коробках в систематическом порядке по отрядам.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам ЛЭУПП ИПЭЭ РАН Ю. А. Гороховой и А. В. Подзолковой за проведение морфометрических работ, помощь в подготовке препаратов и микрофото, а также в разработке методик по хранению и систематизации микропрепаратов.

Микроструктурные исследования проводятся с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы в экологии» при ИПЭЭ РАН (The study of identification is conducted using Joint Usage Center «Instrumental methods in ecology» at the IEE RAS).

Литература

Букреев С. А., Вепринцева О. Д. 2009. Орнитофаунистическая фенопериодизация года на Юго-Западном Копетдаге. – Орнитогеография Палеарктики: современные проблемы и перспективы. Махачкала: 240–262.

Силаева О. Л. 2008. Определение таксономической принадлежности птицы по одиночному перьям и их останкам. – Успехи совр. биол., 2: 208–222.

Силаева О. Л. 2019. Система диагностических признаков покровных перьев птиц отряда Ржанкообразных. – Известия РАН, Серия биологическая, 4, М: 1–11.

Силаева О. Л., Ильичев В. Д., Чернова О. Ф., Вараксин А. Н. 2013. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряды: Курообразные (Galliformes), Голубеобразные (Columbiformes), Рябкообразные (Pterocletiformes). М., ИПЭЭ: 1–120. + CD-ROM.

Силаева О. Л., Чернова О. Ф., Вараксин А. Н. 2015. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряд Гусеобразные (Anseriformes). М., ИПЭЭ: 1–269. + CD-ROM.

Силаева О. Л., Чернова О. Ф., Букреев С. А., Вараксин А. Н. 2018. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряд Ржанкообразные (Charadriiformes). М., Товарищество научных изданий КМК: 1–385.

Силаева О. Л., Чернова О. Ф. 2021. Современное состояние идентификационной пtilологии в России. – Успехи современной биологии, 141 (6): 1–16.

Чернова О. Ф., Ильяхенко В. Ю., Перфилова Т. В. 2006. Архитектоника пера и ее диагностическое значение. – Теоретические основы современных методов экспертного исследования. М., Наука: 1–100.

Чернова О. Ф., Перфилова Т. В., Фадеева Е. О., Целикова Т. Н. 2009. Атлас микроструктуры перьев птиц. М., РФЦСЭ: 1–150.

Bird remains identification system [electronic resource, URL: https://bris.linnaeus.naturalis.nl/linnaeus_ng/app/views/introduction/topic.php?id=3370]. Date of request 31.10.2021.

Brom T. G. 1991. The diagnostic and phylogenetic significance of feather structures. – Ph. D. thesis. University of Amsterdam: 1–279.

Chandler A. C. 1916. A study of the structure of feathers with reference to their taxonomic significance. Vol. 13. Univ. of Calif. 243–446.

- Dove C. J. 2002. The identification of bird strike remains Flying Safety. Vol. 58, No. 9: 5–8.
- Dove C., Koch S. 2010. Microscopy of feathers: A practical guide for forensic feather identification Jastee¹. Vol. 1, Issue 1: 15–61.
- Laybourne R. C., Dove C. 1994. Preparation of bird strikes remains for identification. – Bird Strike Comm. Europe, Vol. 22: 531–534.
- Lee J., Sarre S. D., Joseph L., Robertson J. 2016. Microscopic characteristics of the plumulaceous feathers of Australian birds: a preliminary analysis of taxonomic discrimination for forensic purposes. Australian Journal of Forensic Sciences. Vol. 48, No. 4: 421–444.
- Lucas A. M., Stettenheim P. R. 1972. Avian anatomy. Integument. Parts 1, 2. Washington, US Dept. Agricult: 1–750.
- Nitzsch Ch. L. 1840. System der Pterylographie. Halle: Eduard Anton: 1–226.
- Pap P. L., Osváth G., Daubner T., Nord A., Vincze O. 2020. Down feather morphology reflects adaptation to habitat and thermal conditions across the avian phylogeny. – Evolution, Vol. 74, No. 10: 2365–2376.
- Prast W., Shamoun J., Bierhuizen B. Roselaar C., Schalk P., Wattel J., Los W., Leshem Y., Yom-Tov Y. 1996. BRIS: A computer based bird remains identification system. Further developments. – Birds of Europe. CD-ROM, Amsterdam: ETI.
- Rijke A. M., Jesser W. A., Schaal St. F. K. 2013. Can the substructure of fossil feathers provide taxonomic information? – Journal of Ornithology, Vol. 154: 663–670.
- Shamoun-Baranes J. 2003. Expanding the Bird Remains Identification System: An Innovative Tool for Identifying Feather Remains [electronic resource, URL: <https://www.researchgate.net/publication/267226498>]. Date of request 31.10.2021.

М. Д. Симаков

**НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПОЛИМОРФИЗМА ПОПУЛЯЦИЙ ПТИЦ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЕРА
КАК ИСТОЧНИКА ОБРАЗЦОВ ДНК**

Резюме

Цель данной работы – рассмотреть эффективность изучения генетического разнообразия популяций при помощи неинвазивных методов. В тексте представлены данные о количестве собранных образцов и анализируемых проб. Рассмотрены разные методики выделения ДНК из пера, а также зависимость числа выделенных проб от сохранности образцов.

¹ The Journal of the American Society of Trace Evidence Examiners (JASTEE).