

doi 10.18699/vjgb-25-60

Данные митохондриальной ДНК позволяют выделить субпопуляции широкоареального вида журавлей красавки (*Anthropoides virgo*)

Е.А. Мудрик , Е.И. Ильяшенко ^{1, 2}, П.А. Казимиров ¹, К.Д. Кондракова ^{1, 2}, Т.П. Арчимеева ³,
Л.Д. Базаров ⁴, О.А. Горошко ^{5, 6}, Ц.З. Доржиев ^{7, 8}, А.Н. Куксин ³, К.А. Постельных ⁹, В.В. Шуркина ¹⁰,
В.Ю. Ильяшенко ², А.В. Шатохина ¹, Д.В. Политов ¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

³ Тувинский институт комплексного освоения природных ресурсов Сибирского отделения Российской академии наук, Кызыл, Россия

⁴ Национальный парк «Тункинский», Кырен, Россия

⁵ Институт природных ресурсов, экологии и криологии Сибирского отделения Российской академии наук, Чита, Россия

⁶ Государственный природный биосферный заповедник «Даурский», Нижний Цасучей, Россия

⁷ Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова, Улан-Удэ, Россия

⁸ Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, Улан-Удэ, Россия

⁹ Окский государственный природный биосферный заповедник, Брыкин Бор, Россия

¹⁰ Государственный природный заповедник «Хакасский», Абакан, Россия

 mudrik@vigg.ru

Аннотация. Впервые изучен полиморфизм последовательностей фрагмента гена мтДНК цитохрома *b* и на его основе охарактеризована популяционно-генетическая структура журавля красавки (*Anthropoides virgo* Linnaeus, 1778) на большей части ареала в России. Для 157 особей идентифицировано 18 гаплотипов, девять из которых оказались уникальными. Европейские выборки характеризовались большей гаплотипической и нуклеотидной изменчивостью и более сильной генетической дифференциацией, чем азиатские. Поток генов между разными частями ареала красавки, вероятно, осуществляется через птиц, гнездящихся в Зауралье. Общая генетическая дифференциация вида составила >20 % ($F_{ST} = 0.265$, $p < 0.001$). Структура генофонда сформирована тремя основными гаплотипами, один из которых преобладает в Азово-Черноморском регионе, второй – в Прикаспийском и Волго-Уральском, а третий наиболее распространен в азиатских выборках. Исходя из соответствия внутривидовой генетической дифференциации красавки пролетным путям птиц из разных частей ареала, мы предлагаем в структуре вида выделить следующие субпопуляции: 1) азово-черноморско-кавказскую; 2) прикаспийско-суданскую; 3) зауральско-индийскую; 4) южносибирско-индийскую; 5) байкальско-индийскую; 6) забайкальско-индийскую. Полученные данные создают основу для мониторинга генетического разнообразия красавки и разработки научного обоснования мер охраны генофонда как вида в целом, так и его отдельных субпопуляций.

Ключевые слова: Gruidae; генофонд; цитохром *b*; гаплотип; генетическое разнообразие; генетическая дифференциация; популяционно-генетическая структура; пролетный путь

Для цитирования: Мудрик Е.А., Ильяшенко Е.И., Казимиров П.А., Кондракова К.Д., Арчимеева Т.П., Базаров Л.Д., Горошко О.А., Доржиев Ц.З., Куксин А.Н., Постельных К.А., Шуркина В.В., Ильяшенко В.Ю., Шатохина А.В., Политов Д.В. Данные митохондриальной ДНК позволяют выделить субпопуляции широкоареального вида журавлей красавки (*Anthropoides virgo*). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2025;29(4):568-577. doi 10.18699/vjgb-25-60

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 23-24-00613, соглашение от 13.01.2023, <https://rscf.ru/project/23-24-00613/>

Благодарности. Благодарим за помощь в полевых работах А.А. Абушина, Ю.В. Бабицева, Е.Н. Бадмаеву, С.Б. Бальжимаеву, В.П. Белика, Е.В. Гугуеву, А.В. Давыгору, Г.С. Джамирзоева, Н.Д. Карташова, В.А. Кызыл-оол, В.М. Михайловского, С.В. Пыжьянова, А.Ю. Скрипниченко, В.Н. Федосова.

Mitochondrial DNA data allow distinguishing the subpopulations in the widespread Demoiselle crane (*Anthropoides virgo*)

E.A. Mudrik , E.I. Ilyashenko ^{1, 2}, P.A. Kazimirov ¹, K.D. Kondrakova ^{1, 2}, T.P. Archimaeva ³,
L.D. Bazarov ⁴, O.A. Goroshko ^{5, 6}, Ts.Z. Dorzhiev ^{7, 8}, A.N. Kuksin ³, K.A. Postelnykh ⁹, V.V. Shurkina ¹⁰,
V.Yu. Ilyashenko ², A.V. Shatokhina ¹, D.V. Politov ¹

¹ Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

© Мудрик Е.А., Ильяшенко Е.И., Казимиров П.А., Кондракова К.Д., Арчимеева Т.П., Базаров Л.Д., Горошко О.А., Доржиев Ц.З., Куксин А.Н., Постельных К.А., Шуркина В.В., Ильяшенко В.Ю., Шатохина А.В., Политов Д.В., 2025

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

³ Tuvini Institute for Exploration of Natural Resources of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kyzyl, Russia

⁴ Tunkinsky National Park, Kyren, Russia

⁵ Institute of Nature Resources, Ecology and Cryology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Chita, Russia

⁶ Daurysky State Nature Biosphere Reserve, Nizhny Tsasuchey, Russia

⁷ Buryat State University named after Dorji Banzarov, Ulan-Ude, Russia

⁸ Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, Russia

⁹ Oka State Nature Biosphere Reserve, Brykin Bor, Russia

¹⁰ Khakassky State Nature Reserve, Abakan, Russia

 mudrik@vigg.ru

Abstract. The polymorphism of the mtDNA cytochrome *b* (cyt *b*) gene's partial sequences has been studied in the Demoiselle crane (*Anthropoides virgo* Linnaeus, 1778) for the first time. Based on cyt *b* variability, the population genetic structure of the species was characterized within most of its range in Russia. Among 157 individuals we identified 18 haplotypes, nine of which were unique. In the European samples, we observed greater haplotype and nucleotide diversity and stronger genetic differentiation than in the Asian ones. Gene flow between different parts of the Demoiselle crane range is probably mediated by birds breeding in the Trans-Urals. The overall genetic subdivision of the species as estimated by F_{ST} was 0.265 ($p < 0.001$). The structure of the gene pool is formed by three main haplotypes, one of which predominates in the Azov-Black Sea region, the second in the Caspian and Volga-Ural regions, and the third is most common in the Asian samples. Based on the correspondence of intraspecific genetic differentiation of the Demoiselle cranes from different parts of the range to their flyways, we propose to distinguish the following subpopulations: (1) Azov-Black Sea/Chadian; (2) Caspian/Sudanese; (3) Trans-Ural/Indian; (4) South Siberian/Indian; (5) Baikal/Indian and (6) Trans-Baikal/Indian. The obtained data create the basis for monitoring the genetic diversity of the Demoiselle crane and developing a scientific background for measures to protect the gene pool of the species as a whole and its subpopulations.

Key words: Gruidae; gene pool; cytochrome *b* (cyt *b*); haplotype; genetic diversity; genetic differentiation; population-genetic structure; flyway

For citation: Mudrik E.A., Ilyashenko E.I., Kazimirov P.A., Kondrakova K.D., Archimaeva T.P., Bazarov L.D., Goroshko O.A., Dorzhiev Ts.Z., Kuksin A.N., Postelnykh K.A., Shurkina V.V., Ilyashenko V.Yu., Shatokhina A.V., Politov D.V. Mitochondrial DNA data allow distinguishing the subpopulations in the widespread Demoiselle crane (*Anthropoides virgo*). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(4):568-577. doi 10.18699/vjgb-25-60

Введение

Красавка (*Anthropoides virgo*, Linnaeus, 1778) – евроазиатский вид журавлей, генофонд которого изучен фрагментарно. Гнездовая часть ареала красавки простирается в степной и полупустынной зонах континента от Азово-Черноморского региона России до Северо-Востока Китая. В Европе вид находится под угрозой исчезновения (BirdLife International, 2021) вследствие деградации мест обитания, продолжительной засухи и неуклонного сокращения численности, вызванного в том числе истребительной охотой на местах пролета и зимовки, тогда как в мировом масштабе его состояние пока не вызывает опасений (BirdLife International, 2018). Красавка занесена в Красную книгу Российской Федерации (Ильяшенко, 2021). На юге европейской части России локализованы сохранившиеся европейские гнездовые группировки красавки, а по южным регионам Зауралья и Сибири проходит северная граница азиатской части ареала вида, ядро которой находится в Казахстане и Монголии (Ильяшенко, 2019).

Первые и единственные к настоящему времени сведения о популяционно-генетической структуре красавки были получены нами с использованием микросателлитных локусов и контрольного региона мтДНК. По обоим типам маркеров выявлен высокий уровень генетического разнообразия во всех частях ареала и показано, что европейские группировки более подразделены, чем азиатские, а общая генетическая дифференциация вида невысока (Mudrik et al., 2018, 2022). Однако эти исследования были проведены на небольшом количестве особей из природы, особенно из азиатской части ареала, и с привлечением биоматериала из зоопарков. Кроме того, анализ

контрольного региона, преимуществом которого является высокая вариабельность этой некодирующей области мтДНК, может не отображать структуру генофонда, сформированную белок-кодирующими генами, среди которых одним из наиболее надежных маркеров признан цитохром *b* (Zardoya, Meyer, 1996). Большинство популяционно-генетических исследований журавлей выполнено по контрольному региону, тогда как информация о полиморфизме последовательностей более консервативного цитохрома *b* у этой группы птиц достаточно скудна (в Генбанке представлено несколько одинаковых сиквенсов красавки). Таким образом, нами была поставлена цель впервые на популяционном уровне и большой географической шкале оценить полиморфизм митохондриального гена цитохрома *b* у красавки и охарактеризовать ее генофонд в разных частях ареала с использованием более репрезентативного, чем в предыдущих работах, биоматериала из природы, прежде всего из ранее неизученных азиатских группировок.

Материалы и методы

Сбор биологического материала. В работе использовали биологические образцы от 157 особей. Исследование одобрено Локальным комитетом по биоэтике при Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (протоколы № 1 от 15.05.2017 и № 1 от 18.05.2023). Источником ДНК служила кровь (реже эпидермис) из растущих покровных перьев из области груди или шеи птенцов красавки в возрасте 15–35 дней. Образцы перьев собирали в течение 2016–2024 гг. в ходе собственных экспедиций в места гнездования красавки в период, когда птенцы еще не ле-

тали (июнь–июль). Птенцов ловили ручным способом в соответствии с разрешениями Федеральной службы по надзору в сфере природопользования Российской Федерации № 43 (2016 г.), № 104, 105, 106 (2017), № 52, 56 (2018), № 9, 60 (2019), № 21 (2023), № 78 (2024 г.). После забора биоматериала, который занимает 5–10 мин, птенцов отпускали к родителям. Растущие перья помещали в консервирующий раствор Лонгмайра в винтовые пробирки, транспортировали в лабораторию при комнатной температуре, а затем хранили в морозильной камере при -20°C . В норме выводок красавки состоит из двух птенцов, и при наличии биоматериала от обоих сибсов в анализ включали образец только одного.

Для обозначения выборок в европейской части ареала мы придерживались устоявшегося деления на гнездовые группировки (Белик и др., 2011), а в азиатской части присвоили выборкам топографические названия. Таким образом, мы анализировали 156 неродственных особей из 10 выборок с большей части ареала вида в России: азово-черноморской, прикаспийской, волго-уральской (включая несколько особей из Западного Казахстана), предуральской, зауральской, хакасской, алтайской, тувинской, байкальской и забайкальской. Некоторые небольшие выборки (Предуралье, Зауралье, Хакасия, Алтай) представлены максимально возможным количеством птиц по причинам малой численности красавок в соответствующих районах исследований и/или низкого успеха их размножения в годы полевых работ. Для увеличения алтайской выборки мы провели секвенирование биоматериала особи, содержащейся в Барнаульском зоопарке, по документам происходящей из природы Алтайского края.

Молекулярно-генетический анализ. Геномную ДНК экстрагировали из растущих перьев с применением набора К-сорб (НПК «Синтол», Россия) по протоколу производителя. Амплификацию фрагмента гена цитохрома *b* осуществляли с использованием прямого (F: СТАТАС TAGCYGCACACTA) и обратного (R: AGGTTGGCGGT TAGGGTTC) праймеров (Sun et al., 2020) и набора реагентов GenPak PCR Core (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) на приборе GeneExplorer, модель GE-96G (Bioer Technology Co LTD, КНР). Программа амплификации состояла из преднагрева (94 $^{\circ}\text{C}$, 5 мин), 30 циклов (94 $^{\circ}\text{C}$ – 30 с, 55 $^{\circ}\text{C}$ – 30 с, 72 $^{\circ}\text{C}$ – 1 мин) и заключительной элонгации (72 $^{\circ}\text{C}$ – 10 мин) (Sun et al., 2020). Размер и качество продуктов амплификации проверяли на электрофореze в 1.5 % агарозном геле, затем очищали их с помощью наборов Cleanup St PCR (ЗАО «Евроген», Россия) и секвенировали в прямом направлении на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США) в ЗАО «Евроген» (Россия).

Анализ молекулярно-генетических данных. Вываживание полученных в результате секвенирования по Сэнгеру нуклеотидных последовательностей цитохрома *b* длиной около 900 п. н. осуществляли друг относительно друга и единственной полной последовательности этого гена у красавки в Генбанке (NC_020573) с использованием алгоритма MAFFT (Katoh et al., 2002) в программе Geneious v. 9.1.8 (Kearse et al., 2012). Нуклеотидное разнообразие, тесты на селективную нейтральность, попарные

и общие оценки генетической подразделенности G_{ST} и F_{ST} , поток генов, осуществляемый через дисперсию самок Nm (число самок-мигрантов на поколение) рассчитывали с помощью DnaSP v. 6.11.01 (Librado, Rozas, 2009). Анализ молекулярной изменчивости AMOVA и построение медианной сети гаплотипов с применением алгоритма TCS (Clement et al., 2002) выполняли в программе PopART (Leigh, Bryant, 2015). Деревья гаплотипов по методу максимального правдоподобия (Maximal Likelihood) строили при помощи сервиса IQTree (Trifinopoulos et al., 2016; Kalyaanamoorthy et al., 2017; Minh et al., 2020) на основе модели нуклеотидных замен HKY+F (Hasegawa–Kishino–Yano) (Hasegawa et al., 1985), выбранной в качестве оптимальной по байесовскому критерию (BIC). Поддержку узлов ветвлений рассчитывали с помощью метода UltraFast Bootstrap для 1000 репликаций (Hoang et al., 2017). В качестве внешней группы использовали последовательность цитохрома *b* ближайшего родственника красавки – райской красавки (*Anthropoides paradiseus*) (номер в Генбанке U27557).

Графическую визуализацию деревьев проводили в среде R (R Core Team, 2022) с использованием пакетов ggtree (Yu et al., 2017, 2018; Yu, 2020, 2022), ggtreeExtra (Xu et al., 2021; Yu, 2022), tidytree (Yu, 2022), ggplot2 (Wickham, 2016), pals (Wright, 2024) и ggnewscale (Campitelli, 2024). Тепловую карту сходства гаплотипов на основе нуклеотидных замен конструировали в среде R по алгоритму, описанному в статье (Toparslan et al., 2020). Для создания карт с географической локализацией гаплотипов применяли пакеты ggmap (Kahle, Wickham, 2013), ggmap (Slowikowski, 2024), smoothr (Strimas-Mackey, 2023), sp (Pebesma, Bivand, 2005; Bivand et al., 2013) и pals и базовые методы среды R.

Результаты

Характеристика гаплотипов

После выравнивания размер анализируемых последовательностей составил 771 п. н. В выборке из 157 птиц идентифицировано 18 гаплотипов (табл. 1, рис. 1, а), депонированных в Генбанк под номерами PQ663762–PQ663779. Девять из них (h1, h2, h3, h5, h7, h12, h14, h15, h18) обнаружены как минимум в двух гнездовых группировках. Самым распространенным (у 50.9 % особей) являлся гаплотип h18, он присутствовал во всех выборках, кроме Предуралья. Также почти по всему ареалу распространены гаплотипы h7 (кроме Предуралья и Хакасии, 23.6 % особей) и h5 (кроме Азово-Черноморья и Алтая, 11.5 % особей). Уникальные гаплотипы обнаружены в прикаспийской (h6, h10, h13), зауральской (h4, h16), тувинской (h8, h17), байкальской (h9) и забайкальской (h11) выборках. В азово-черноморской и волго-уральской выборках не выявлено уникальных гаплотипов, однако в них наиболее частыми были h7 и h5 соответственно, а не h18, как в остальных. У единственной особи из Предуралья гаплотип не был уникальным – такой же найден в Прикаспии (h2). Гаплотип красавки из Барнаульского зоопарка оказался таким же, как в Азово-Черноморье (h15) (см. табл. 1), но, поскольку достоверность происхождения

Таблица 1. Состав и распределение гаплотипов цитохрома *b* в изученных выборках красавки

Выборка	Гаплотип																		Всего особей
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
Азово-черноморская (АЧ)																			21
Республика Крым			1				14								1			3	
Краснодарский край							2												
Прикаспийская (ПК)																			32
Республика Калмыкия	1	1			5		1			1			1					11	
Республика Дагестан	1		1		1	1	1											4	
Ставропольский край																		2	
Волго-уральская (ВУ)																			22
Волгоградская область	3				4		3							1				3	
Западноказахстанская область					3		3							1				1	
Предуральская (ПУ)																			1
Оренбургская область, Соль-Илецкий район		1																	
Зауральская (ЗУ)																			7
Оренбургская область, Светлинский район	1			1			1									1		2	
Костанайская область																		1	
Хакасская (ХК)																			4
Республика Хакасия													1					3	
Алтайская (АЛ)																			6
Республика Алтай	1						1											3	
Алтайский край*															1				
Тувинская (ТВ)																			24
Республика Тыва					2		9	1									1	11	
Байкальская (БК)																			20
Иркутская область																		2	
Республика Бурятия					2		2		1				3					10	
Забайкальская (ЗБ)																			20
Забайкальский край					1						1	4						14	
Всего особей	7	2	2	1	18	1	37	1	1	1	1	8	1	2	2	1	1	70	157

* Птица из Барнаульского зоопарка, предположительно из природы Алтайского края.

этой птицы неочевидна, мы исключили ее из последующего популяционно-генетического анализа, так же как и единственную предуральскую.

Генетическая изменчивость и дифференциация

Выборки из европейской и азиатской частей ареала сравнимы по количеству анализируемых особей. В них выявлено одинаковое число гаплотипов (11) и сегрегирующих сайтов (10) цитохрома *b* (табл. 2). В выборках с западной (азово-черноморская) и восточной (зabayкальская) окраин ареала обнаружено наиболее низкое гаплотипическое (H_d) и нуклеотидное (π) разнообразие по сравнению с другими выборками и со средними значениями

для Европы и Азии и вида в целом. Сниженные значения этих показателей зафиксированы также в хакасской выборке, которая является самой северной из исследованных.

Наибольшее число гаплотипов (9) обнаружено в прикаспийской выборке, а волго-уральская и зауральская обладали самым высоким гаплотипическим разнообразием. В целом значения показателей гаплотипического и нуклеотидного разнообразия, а также число нуклеотидных различий оказались выше в европейской части ареала ($H_d=0.768\pm0.027$, $\pi=0.00178\pm0.00018$, $k=1.371$) по сравнению с азиатской ($H_d=0.635\pm0.054$, $\pi=0.00130\pm0.00017$, $k=1.001$).

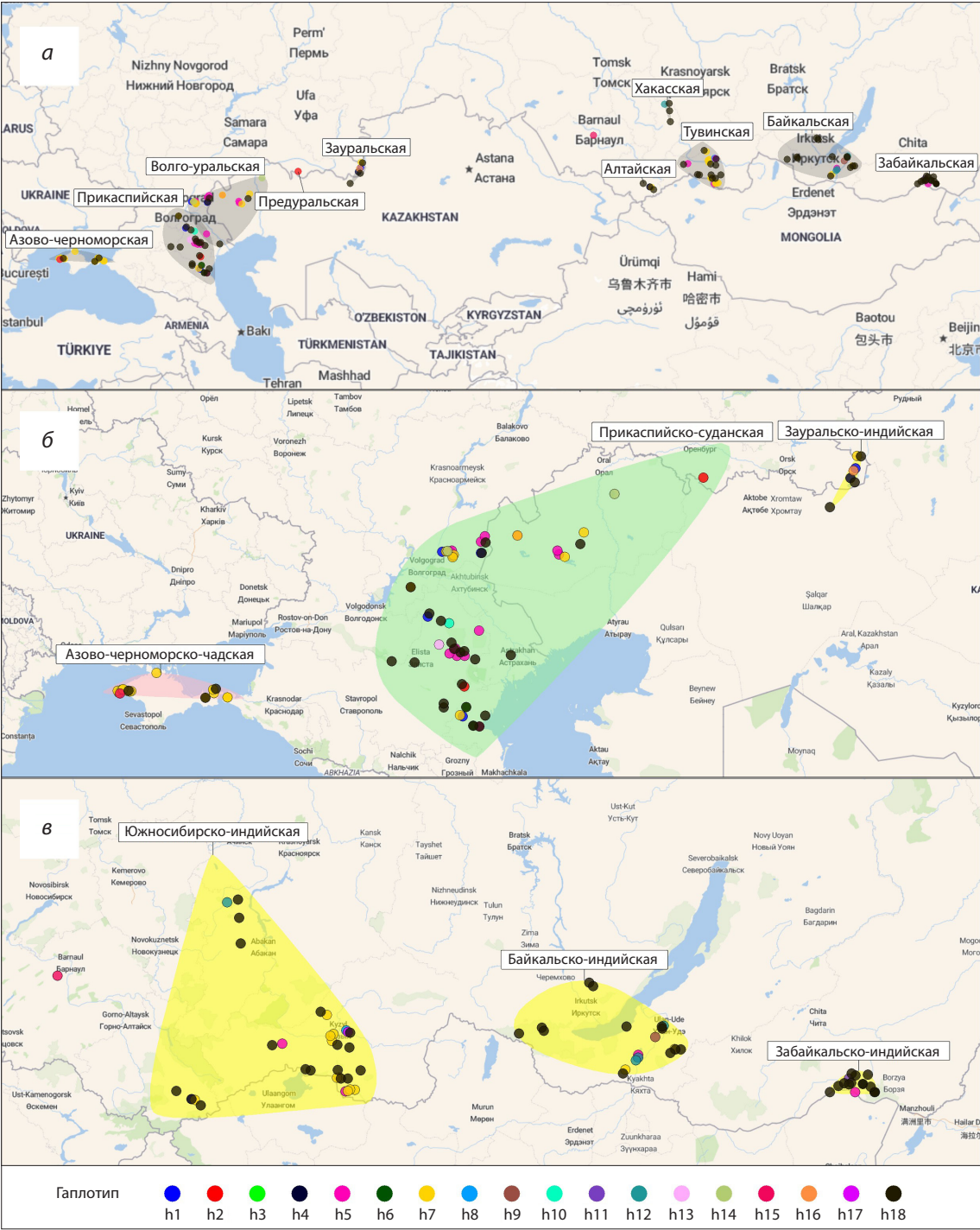


Рис. 1. Локализация гаплотипов цитохрома *b* красавки в изучаемых выборках (а) и субпопуляциях, выделенных по итогам исследования, в европейской (б) и азиатской (в) частях ареала.

Контуры субпопуляций условны, поскольку очерчивают только точки сбора материала.

Анализ сходства и пространственного распределения гаплотипов

На тепловой карте сходства гаплотипов выделяются два кластера (h1–h5 и h6–h18), внутри которых гаплотипы h5, h6, h7 и h18 демонстрируют наибольшее сходство с гаплотипами не из своей группы (рис. 2). Вероятно, это объясняется тем, что h5, h7 и h18 – самые распространенные гаплотипы, встречающиеся практически во всех

выборках изученной части ареала красавки. На медианной сети гаплотип h7 (и производный от него h6) находится между h5 и h18 (рис. 3).

Кластер, образованный h5, включает гаплотипы европейских выборок и географически близкой к ним зауральской, а кластер, в котором центральным является гаплотип h18, представлен по всему ареалу вида. Это также подтверждается кластеризацией особей на ML-дереве,

Таблица 2. Показатели полиморфизма и генетическая дифференциация выборок красавки по данным цитохрома *b*

Выборка	<i>N</i>	<i>Nh</i>	<i>S</i>	<i>Hd</i>	π	<i>k</i>	F_{ST}	G_{ST}	<i>Nm</i>
АЧ	21	4	5	0.414 ± 0.124	0.00091 ± 0.00037	0.705			
ПК	32	9	9	0.692 ± 0.079	0.00208 ± 0.00035	1.601			
ВУ	22	5	4	0.801 ± 0.043	0.00176 ± 0.00024	1.355			
Европа	75	11	10	0.768 ± 0.027	0.00178 ± 0.0018	1.371	0.105	0.158	2.13
ЗУ	7	5	5	0.857 ± 0.137	0.00247 ± 0.00062	1.905			
ХК	4	2	1	0.500 ± 0.265	0.00065 ± 0.00034	0.500			
АЛ	5	3	3	0.700 ± 0.218	0.00182 ± 0.00074	1.400			
ТВ	24	5	4	0.606 ± 0.062	0.00089 ± 0.00015	0.844			
БК	20	5	5	0.626 ± 0.110	0.00129 ± 0.00033	0.995			
ЗБ	20	4	4	0.489 ± 0.117	0.00090 ± 0.00029	0.695			
Азия	80	11	10	0.635 ± 0.054	0.00130 ± 0.00017	1.001	0.032	0.027	7.66
В среднем	Всего 155	18	16	0.732 ± 0.027	0.00170 ± 0.00014	1.263	0.116	0.128	1.91

Примечание. *N* – число особей; *Nh* – число гаплотипов; *S* – число сегрегирующих сайтов; *Hd* – гаплотипическое разнообразие; π – нуклеотидное разнообразие; *k* – среднее число нуклеотидных различий; F_{ST} и G_{ST} – показатели генетической дифференциации; *Nm* – поток генов. Выборки: АЧ – азово-черноморская, ПК – прикаспийская, ВУ – волго-уральская, ЗУ – зауральская, ХК – хакасская, АЛ – алтайская, ТВ – тувинская, БК – байкальская, ЗБ – забайкальская.

которое демонстрирует промежуточное положение особей с гаплотипом h7 относительно h5 и h18 с высокой степенью бутстреп-поддержки (рис. 4, а).

Дерево, построенное с использованием внешней группы, указывает на то, что гаплотипы цитохрома *b* не образуют одной монофилетической группы, а гаплотип h7 предположительно является анцестральным по отношению к двум другим наиболее распространенным гаплотипам h5 и h18 и их производным (см. рис. 4, б).

Генетическая дифференциация и поток генов

Генетические различия между изученными выборками в целом отражают их географическое положение друг относительно друга. Максимальные генетические различия установлены между наиболее удаленными азово-черноморской и забайкальской ($F_{ST} = 0.4675$), а также между самой северной хакасской выборкой и двумя европейскими – азово-черноморской и волго-уральской (табл. 3). Между географически близкими волго-уральской и зауральской; алтайской и тувинской; байкальской и забайкальской группировками генетическая дифференциация отсутствовала, так же как и между некоторыми другими выборками внутри европейской и азиатской частей ареала. Зауральская выборка, географически близкая к европейским, но относящаяся к азиатской группе, генетически не отличается от прикаспийской в Европе и алтайской и тувинской в Азии и слабо отличается от всех остальных изученных выборок, что, вероятно, обусловлено ее западным положением в азиатской части ареала. Генетическая дифференциация европейских выборок ($F_{ST} = 0.105$, $G_{ST} = 0.158$) сильнее, чем азиатских ($F_{ST} = 0.032$, $G_{ST} = 0.027$), что связано с более ограниченным потоком генов в Европе ($Nm = 2.13$) по сравнению с Азией ($Nm = 7.66$) (см. табл. 2). Средние значения этих показателей для вида

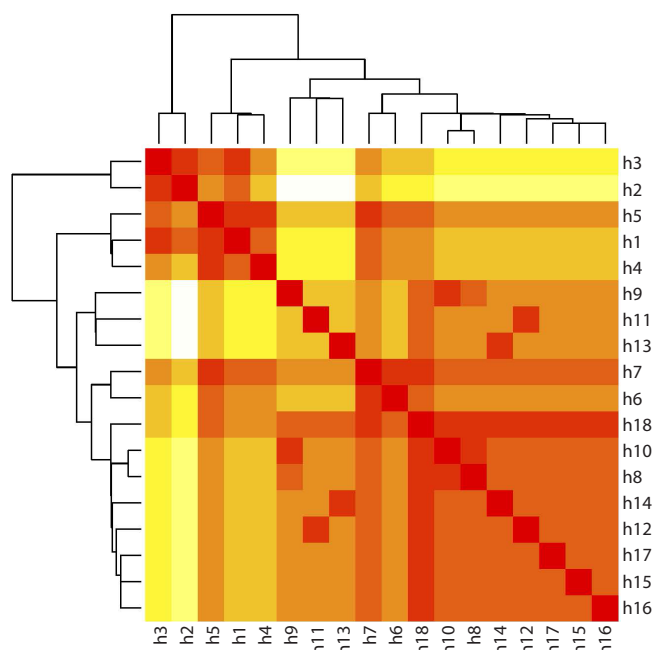


Рис. 2. Тепловая карта нуклеотидных различий между гаплотипами цитохрома *b* красавки.

Интенсивность цвета указывает на степень сходства (по убыванию от наиболее темного до самого светлого).

составили: $F_{ST} = 0.116$, $G_{ST} = 0.128$, $Nm = 1.91$. Тесты на селективную нейтральность цитохрома *b* были отрицательными и статистически незначимыми ($D = -1.514$, $F = -1.618$), что свидетельствует об отсутствии резких изменений численности вида в недавнем эволюционном прошлом, аналогично полученным нами ранее данным по контрольному региону (Mudrik et al., 2018, 2022).

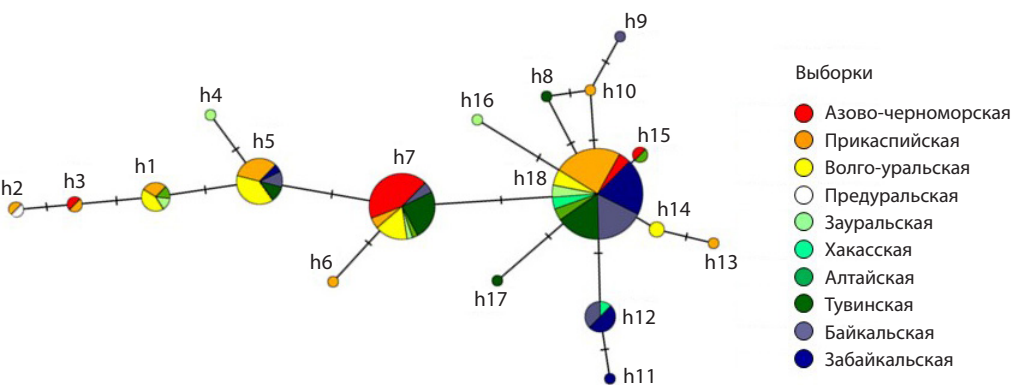


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов цитохрома *b* красавки, построенная с применением алгоритма TCS. Размер кружков пропорционален числу изученных особей, длина ветвей соответствует генетическим дистанциям, засечки обозначают число мутационных событий, сектора диаграмм отображают частоты гаплотипов в изученных выборках.

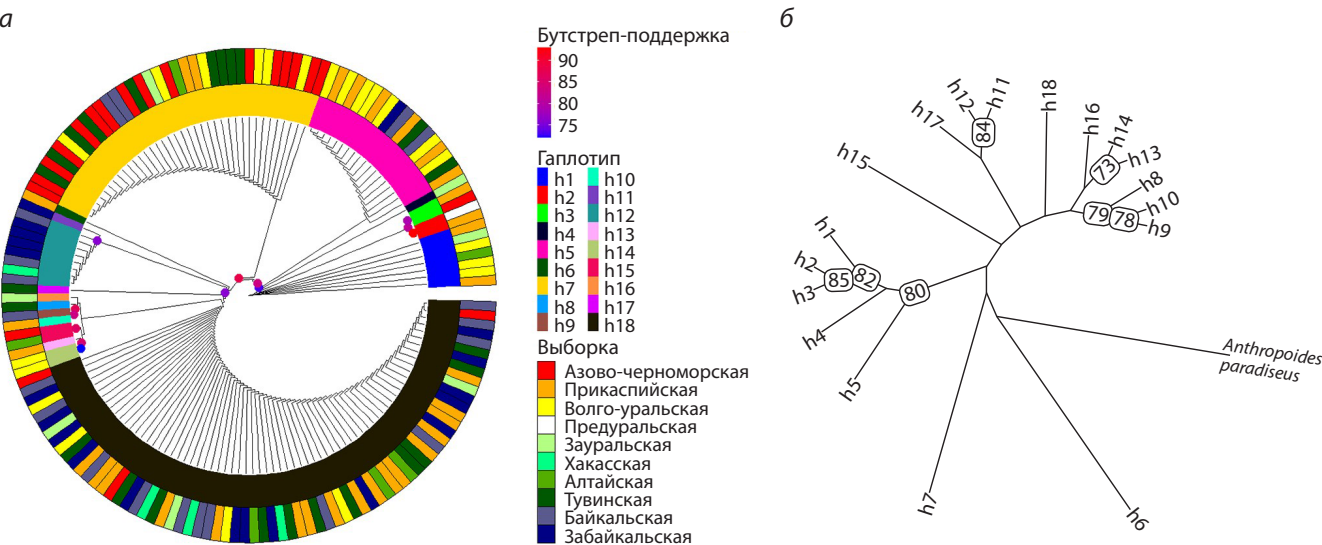


Рис. 4. Кластеризация по методу максимального правдоподобия (ML-деревья) особей (а) и гаплотипов (б) красавки по нуклеотидным последовательностям цитохрома *b*. На левом рисунке внешний круг иллюстрирует принадлежность особей к выборкам, внутренний – к гаплотипам.

Таблица 3. Парные значения показателей генетической подразделенности F_{ST} между выборками красавки по данным цитохрома *b*

Выборка	АЧ	ПК	ВУ	ЗУ	ХК	АЛ	ТВ	БК	ЗБ
АЧ	–								
ПК	0.1505	–							
ВУ	0.1237	0.0507	–						
ЗУ	0.0734	–0.0669	0	–					
ХК	0.5181	0.1996	0.4409	0.1367	–				
АЛ	0.0555	–0.1012	0.0096	–0.1566	0.0952	–			
ТВ	0.1148	0.0310	0.1487	–0.0354	0.2318	–0.0947	–		
БК	0.3015	0.0625	0.2551	0.0099	–0.0308	–0.0411	0.0549	–	
ЗБ	0.4675	0.1746	0.3939	0.1166	–0.1378	0.0812	0.2074	0.0003	–

Примечание. АЧ – азово-черноморская выборка, ПК – прикаспийская, ВУ – волго-уральская, ЗУ – зауральская, ХК – хакасская, АЛ – алтайская, ТВ – тувинская, БК – байкальская, ЗБ – забайкальская.

Таблица 4. Результаты распределения молекулярной изменчивости AMOVA в общей выборке красавки и при разделении ее на европейскую и азиатскую группы по данным цитохрома *b*

Источник изменчивости	df	Изменчивость, %	F_{ST}
I. Вся выборка			0.18570***
Между особями	9	18.56972	
Внутри особей	147	81.43028	
II. Европа и Азия			0.26524***
Между группами	1	16.82040	
Между особями	8	9.70327	
Внутри особей	147	73.47633	

Примечание. df – число степеней свободы; *** $p < 0.001$.

Согласно иерархическому анализу AMOVA, генетическая дифференциация всей изученной выборки красавки составила 18.57 % (уровень I: $F_{ST} = 0.18570$, $p < 0.001$), а при разделении на европейскую и азиатскую группы – 26.52 % (уровень II: $F_{ST} = 0.26524$, $p < 0.001$) (табл. 4).

Обсуждение

Анализ нуклеотидных последовательностей цитохрома *b* у красавки на большой географической шкале в репрезентативной выборке птиц из природы выявил полиморфизм рассматриваемого гена и более выраженную популяционно-генетическую структурированность вида по сравнению с данными, полученными ранее по контрольному региону мтДНК (Mudrik et al., 2018, 2022). Самое низкое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие обнаружено в самой западной (Азово-Черноморье), самой восточной (Забайкалье) и самой северной (Хакасия) выборках, что может быть обусловлено обитанием вида на краях ареала. Наивысшие значения этих показателей выявлены за Волгой и по обе стороны Урала в волго-уральской и зауральской выборках. Самое большое число гаплотипов, в том числе уникальных, обнаружено в Прикаспии.

Структура генофонда красавки по цитохрому *b* сформирована тремя наиболее распространенными гаплотипами, h5, h7 и h18, из которых предположительно анцестральным является наиболее частый гаплотип из Азово-Черноморья – h7. Следует отметить, что азово-черноморские красавки отличаются от других европейских и тем более азиатских своими миграционными путями над Черным и Средиземным морями и местом зимовки в Республике Чад на стыке Северной и Центральной Африки, которое обнаружено недавно с помощью GPS-GSM-телеметрии (Ильяшенко и др., 2021). По всей видимости, такая особенность и большее по сравнению с другими гаплотипами сходство с аутгруппой (африканским видом – райской красавкой) имеют под собой эволюционную основу, которую надо изучать далее с применением геномных методов.

Самый частый во всей изученной выборке красавки гаплотип h18, преобладающий на Алтае и в Хакасии и в равных долях с высокими частотами встречающийся в Тыве, Бурятии и Забайкалье (см. рис. 1, а), формирует «звезду», от которой произошло большинство остальных гаплотипов цитохрома *b*, в том числе уникальных (см.

рис. 3). Птицы из упомянутых азиатских выборок используют общие места зимовки в штатах Раджастан и Гуджарат в Индии и совершают кольцевые миграции, осенью пересекая Гималаи, а весной обгибая Тянь-Шань с запада и используя совместно значительную часть пролетного пути (Ильяшенко и др., 2021), что может способствовать потоку генов и снижению генетической подразделенности красавок в Азии. Генетические различия между забайкальскими и байкальскими; алтайскими и тувинскими; байкальскими, алтайскими и хакасскими выборками практически отсутствуют (см. табл. 3).

Наконец, третий из вышеупомянутых структурообразующих гаплотипов, h5, лежащий на медианной сети по другую, нежели h18, сторону от центрального гаплотипа h7, наиболее распространен в Прикаспии и Заволжье и образует ветвь «европейских» гаплотипов, куда также входят гаплотипы из Предуралья и Зауралья. Следует отметить, что ранее выделенные волго-уральская и прикаспийская гнездовые группировки (Белик и др., 2011) по сути представляют собой единую генетически однородную (см. табл. 3, рис. 1, б) субпопуляцию, использующую один миграционный маршрут над Аравийским полуостровом и Красным морем на места зимовки в Африке – Судан и частично Эфиопию (Ильяшенко и др., 2021). Единственная изученная особь из Предуралья обладала таким же гаплотипом, как одна из птиц в Калмыкии (прикаспийская выборка) (см. табл. 1), и использовала тот же пролетный путь и предотлетное место скопления в долине Маныча, что и прикаспийские и волго-уральские красавки (Ильяшенко и др., 2021, 2024), что тоже позволяет отнести ее к данной субпопуляции. Особенный интерес в «европейской» группе гаплотипов вызывает присутствие половины гаплотипов из Зауралья. Хотя зауральская выборка географически близка к европейским в гнездовой части ареала (см. рис. 1, а), ее место зимовки находится в Индии, как у всех остальных азиатских красавок. Однако птицы из Зауралья летят и осенью, и весной одним и тем же маршрутом через Казахстан, Узбекистан, Таджикистан и Пакистан, не совершая кольцевой миграции (Ильяшенко и др., 2021). Согласно значениям F_{ST} , у зауральских красавок отсутствуют генетические различия с волго-уральской и прикаспийской выборками на западе ареала и с алтайской, тувинской и байкальской выборками на востоке, а с географически краевыми (азово-черномор-

ской, забайкальской и северной хакасской) различия находилась в пределах 7–13 % (см. табл. 3). Таким образом, мы предполагаем, что Зауралье в определенной степени интегрирует генофонд красавки, возможно, благодаря потоку генов между европейской и азиатской частями ареала через Центральный и Восточный Казахстан, что требует дальнейшего изучения с помощью ДНК-маркеров и проверки независимыми методами. Для более полного представления о генофонде красавки необходимы популяционно-генетические исследования в Казахстане и Монголии – странах с наибольшей численностью вида.

Заключение

Мы показали эффективность использования последовательностей менее вариабельного, чем контрольный регион, но демонстрирующего более высокую степень межпопуляционной дифференциации митохондриального гена цитохрома *b* для выявления популяционно-генетической структуры красавки. Исходя из определения термина «субпопуляция» (скрещивающиеся между собой особи с сильно ограниченной миграцией) и соответствия данных внутривидовой генетической дифференциации красавки пролетным путям птиц из разных частей ареала, охарактеризованным ранее с помощью дистанционного слежения (Ильяшенко и др., 2021), мы предлагаем выделить в структуре вида субпопуляции, отражающие в названии их места гнездования и зимовки: 1) азово-черноморско-чадскую (Азово-Черноморье – Чад); 2) прикаспийско-суданскую (Прикаспий, Заволжье, Предуралье – Судан); 3) зауральско-индийскую (восток Оренбургской области, Северный Казахстан и предположительно Челябинская область – Индия); 4) южносибирско-индийскую (Алтай, Хакасия, Тыва – Индия); 5) байкальско-индийскую (Бурятия, Иркутская область – Индия) и 6) забайкальско-индийскую (Забайкальский край – Индия) (см. рис. 1, б, в).

Полученные результаты создают основу для мониторинга генетического разнообразия красавки и разработки научного обоснования мер ее охраны на уровне вида, субпопуляций и локальных гнездовых группировок. Дальнейшие комплексные исследования (дистанционное слежение и молекулярно-генетический анализ) в других частях ареала будут способствовать более полному пониманию факторов изоляции и интеграции генофонда этого вида журавлей.

Список литературы / References

Белик В.П., Гугуева Е.В., Ветров В.В., Милобог Ю.В. Красавка в Северо-Западном Прикаспии: распространение, численность, успешность размножения. В: Журавли Евразии (биология, распространение, миграции, управление). Т. 4. М.: Т-во науч. изданий КМК, 2011;157-174
[Belik V.P., Guguyeva E.V., Vetrov V.V., Milobog Y.V. The Demoiselle Crane in the northwestern Caspian lowland: distribution, number, and breeding success. In: Cranes of Eurasia (Biology, Distribution, Migrations, Management). Vol. 4. Moscow, 2011;157-174 (in Russian)]
Ильяшенко Е.И. Журавль-красавка *Anthropoides virgo* (Linnaeus, 1758). В: Красная книга Российской Федерации. Животные. М.: ВНИИ Экология, 2021;689-691
[Ilyashenko E.I. Demoiselle crane. In: The Red Book of the Russian Federation. Animals. Moscow: VNIИ Ecologiya Publ., 2021;689-691 (in Russian)]

Ильяшенко Е.И., Мудрик Е.А., Андрищенко Ю.А., Белик В.П., Белялов О.В., Викельски М., Гаврилов А.Э., Горошко О.А., Гугуева Е.В., Корепов М.В., Мнацеканов Р.А., Политов Д.В., Постельных К.А., Лей С., Ильяшенко В.Ю. Миграции красавки (*Anthropoides virgo*, Gruiformes): дистанционное слежение на путях пролета и зимовках. *Зоологический журнал*. 2021;100(9): 1028-1054. doi 10.31857/S0044513421070059
[Ilyashenko E.I., Mudrik E.A., Andryushchenko Yu.A., Belik V.P., Belyalov O.V., Wikelski M., Gavrilov A.E., Goroshko O.A., Guguyeva E.V., Korepov M.V., Mnatsekanov R.A., Politov D.V., Postelnykh K.A., Lei C., Ilyashenko V.Yu. Migrations of the Demoiselle Crane (*Anthropoides virgo*, Gruiformes): remote tracking along flyways and at wintering grounds. *Biol Bull*. 2022;49(7):863-888. doi 10.1134/S1062359022070068]
Ильяшенко Е.И., Кондракова К.Д., Мудрик Е.А., Викельски М., Лей С., Ильяшенко В.Ю. Характер использования красавкой (*Anthropoides virgo*, Linnaeus 1758) европейской части ареала в весенне-летний и предмиграционный периоды. *Аридные экосистемы*. 2024;30(2):81-90. doi 10.24412/1993-3916-2024-2-81-90
[Ilyashenko E.I., Kondrakova K.D., Mudrik E.A., Wikelski M., Lei S., Ilyashenko V.Yu. The feature of the use by the Demoiselle Crane (*Anthropoides virgo*, Linnaeus 1758) the European part of the range in the spring-summer and the pre-migratory periods. *Arid Ecosystems*. 2024;14(2):209-217. doi 10.1134/S2079096124700100]
BirdLife International. *Anthropoides virgo*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2018. Available at: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22692081A131927771.en>
BirdLife International. *Anthropoides virgo* (Europe assessment). The IUCN Red List of Threatened Species. 2021. Available at: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-3.RLTS.T22692081A166235355.en>
Bivand R.S., Pebesma E., Gomez-Rubio V. Applied Spatial Data Analysis with R. NY: Springer, 2013. doi 10.1007/978-1-4614-7618-4
Campitelli E. ggnewscale: Multiple Fill and Colour Scales in 'ggplot2'. R package version 0.5.0.9000. 2024. doi 10.5281/zenodo.2543762
Clement M., Snell Q., Walke P., Posada D., Crandall K. TCS: estimating gene genealogies. In: Proceedings 16th International Parallel and Distributed Processing Symposium. IEEE, 2002;184. doi 10.1109/IPDPS.2002.1016585
Hasegawa M., Kishino H., Yano T.-A. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evol*. 1985; 22(2):160-174. doi 10.1007/BF02101694
Hoang D.T., Chernomor O., von Haeseler A., Minh B.Q., Vinh L.S. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Mol Biol Evol*. 2018;35(2):518-522. doi 10.1093/molbev/msx281
Ilyashenko E.I. Demoiselle Crane (*Anthropoides virgo*). In: Miranda C.M., Harris J.T. (Eds) Crane Conservation Strategy. Baraboo, Wisconsin, USA: International Crane Foundation, 2019;383-396
Kahle D., Wickham H. ggmap: spatial visualization with ggplot2. *R J*. 2013;5(1):144-161. doi 10.32614/RJ-2013-014
Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., von Haeseler A., Jermiin L.S. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat Methods*. 2017;14(6):587-589. doi 10.1038/nmeth.4285
Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(14):3059-3066. doi 10.1093/nar/gkf436
Kearse M., Moir R., Wilson A., Stones-Havas S., Cheung M., Sturrock S., Buxton S., Cooper A., Markowitz S., Duran C., Thierer T., Ashton B., Mentjies P., Drummond A. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*. 2012;28(12):1647-1649. doi 10.1093/bioinformatics/bts199
Leigh J.W., Bryant D. PopART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol*. 2015;6(9):1110-1116. doi 10.1111/2041-210X.12410

- Librado P., Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 2009;25(11):1451-1452. doi 10.1093/bioinformatics/btp187
- Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O., Schrempf D., Woodhams M.D., von Haeseler A., Lanfear R. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol Biol Evol*. 2020;7(5):1530-1534. doi 10.1093/molbev/msaa015
- Mudrik E.A., Ilyashenko E.I., Goroshko O.A., Kashentseva T.A., Korepov M.V., Sikorskiy I.A., Dzhamirzoev G.S., Ilyashenko V.Yu., Politov D.V. The Demoiselle crane (*Anthropoides virgo*) population genetic structure in Russia. *Vavilov J Genet Breed*. 2018;22(5):586-592. doi 10.18699/VJ18.398
- Mudrik E.A., Ilyashenko E.I., Ilyashenko V.Yu., Postelnykh K.A., Kashentseva T.A., Korepov M.V., Goroshko O.A., Nechaeva A.V., Politov D.V. Genetic diversity and differentiation of the widespread migratory Demoiselle Crane, *Grus virgo*, on the northern edge of the species' distribution. *J Ornithol*. 2022;163(1):291-299. doi 10.1007/s10336-021-01919-4
- Pebesma E.J., Bivand R. Classes and methods for spatial data in R. *R News*. 2005;5(2):9-13
- R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Manual. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2022
- Slowikowski K. ggrepel: Automatically Position Non-Overlapping Text Labels with 'ggplot2'. 2024. Available at: <https://ggrepel.slowkow.com/>
- Strimas-Mackey M. smoothr: Smooth and Tidy Spatial Features. 2023. Available at: <https://github.com/mstrimas/smoothr>
- Sun C.-H., Liu H.-Y., Xu P., Lu C.-H. Genetic diversity of wild wintering red-crowned crane (*Grus japonensis*) by microsatellite markers and mitochondrial *Cyt B* gene sequence in the Yancheng reserve. *Anim Biotechnol*. 2020;32(5):531-536. doi 10.1080/10495398.2020.1725538
- Toparslan E., Karabag K., Bilge U. A workflow with R: phylogenetic analyses and visualizations using mitochondrial cytochrome *b* gene sequences. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243927. doi 10.1371/journal.pone.0243927
- Trifinopoulos J., Nguyen L.-T., von Haeseler A., Minh B.Q. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(1):W232-W235. doi 10.1093/nar/gkw256
- Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer, 2016. doi 10.1007/978-3-319-24277-4
- Wright K. pals: Color Palettes, Colormaps, and Tools to Evaluate Them. R package version 1.9. 2024. Available at: <https://kwstat.github.io/pals/>
- Xu S., Dai Z., Guo P., Fu X., Liu S., Zhou L., Tang W., Feng T., Chen M., Zhan L., Wu T., Hu E., Jiang Y., Bo X., Yu G. ggtreeExtra: compact visualization of richly annotated phylogenetic data. *Mol Biol Evol*. 2021;38(9):4039-4042. doi 10.1093/molbev/msab166
- Yu G. Using ggtree to visualize data on tree-like structures. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2020;69(1):e96. doi 10.1002/cpbi.96
- Yu G. Data Integration, Manipulation and Visualization of Phylogenetic Treess. Chapman and Hall, 2022. doi 10.1201/9781003279242
- Yu G., Smith D., Zhu H., Guan Y., Lam T.T.-Y. ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods Ecol Evol*. 2017;8(1):28-36. doi 10.1111/2041-210X.12628
- Yu G., Lam T.T.-Y., Zhu H., Guan Y. Two methods for mapping and visualizing associated data on phylogeny using ggtree. *Mol Biol Evol*. 2018;35(2):3041-3043. doi 10.1093/molbev/msy194
- Zardoya R., Meyer A. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Mol Biol Evol*. 1996;13(7):933-942. doi 10.1093/oxfordjournals.molbev.a025661

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 03.10.2024. После доработки 10.12.2024. Принята к публикации 10.12.2024.