

Рабочая группа по журавлям Евразии  
Crane Working Group of Eurasia

Naturschutzbund Deutschland (NABU)

Евроазиатская Региональная Ассоциация Зоопарков и Аквариумов  
Euro-Asian Regional Association Zoos & Aquariums

Правительство Москвы  
Moscow Government

Московский зоологический парк  
Moscow Zoo

**ЖУРАВЛИ ЕВРАЗИИ**  
(БИОЛОГИЯ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, МИГРАЦИИ)  
**Выпуск 3**

**СБОРНИК ТРУДОВ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ  
“ЖУРАВЛИ ПАЛЕАРКТИКИ: БИОЛОГИЯ И ОХРАНА”  
РОССИЯ, РОСТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ, 1-4 ОКТЯБРЯ 2007**



**CRANES OF EURASIA**  
(BIOLOGY, DISTRIBUTION, MIGRATIONS)  
**Issue 3**

**PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CONFERENCE  
“CRANES OF PALEARCTIC: BIOLOGY AND CONSERVATION”  
RUSSIA, ROSTOV REGION, 1-4 OCTOBER, 2007**

Москва  
Moscow  
2008

**Журавли Евразии (биология, распространение, миграции). 2008.  
Вып. 3. М., 428 стр.**

Сборник трудов Международной конференции Рабочей группы по журавлям Евразии “Журавли Палеарктики: биология и охрана“ включает статьи по биологии, систематике, распространению, численности, миграциям, местам скоплений, разведению, реинтродукции, экологическому образованию, фольклору и методам изучения журавлей.

**Редакторы:** Е.И. Ильяшенко, А.Ф. Ковшарь, С.В. Винтер

**Издано при поддержке NABU, Московского зоологического парка и Евроазиатской Региональной Ассоциации Зоопарков и Аквариумов (ЕАРАЗА)**

Адрес Рабочей группы по журавлям Евразии: **Россия, 123232, Москва, ул. Б. Грузинская, 1**  
**Тел.: +7 (495) 605-90-01**  
**E-mail: eilyashenko@savingcranes.org**

**Cranes of Eurasia (biology, distribution, migrations). 2008. Issue 3.  
Moscow, 428 p.**

Proceedings of the CWGE International Conference of “Cranes of Palearctic: Biology and Conservation“ include scientific articles on biology, systematic, distribution, number, migrations, staging areas, breeding in captivity, reintroduction, ecological education, folklore and study methods of cranes.

**Editors:** E. Ilyashenko, A. Kovshar, S. Winter

**The production of this publication has been supported by NABU, Moscow Zoo and Euro-Asian Regional Association of Zoos & Aquariums (EARAZA)**

Crane Working Group of Eurasia address: **1, B. Gruzinskaya St., Moscow, 123242, Russia**  
**Tel.: +7 (495) 605-90-01**  
**E-mail: eilyashenko@savingcranes.org**

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЕ/ SHORT NOTES

### *Применение молекулярно-генетических методов для охраны редких видов журавлей*

В настоящее время вклад генетических методов в охрану природы весьма значителен. С их помощью разработаны программы по охране редких видов, включающие задачи достижения максимального генетического разнообразия охраняемого вида, определения структуры и состояния различных популяций редких видов, а также для выявления видов и популяций, особо нуждающихся в целенаправленных усилиях по их спасению (Haig, 1998)

В этой статье мы коснемся только некоторых молекулярно-генетических исследований, применявшихся для изучения и разработки мер по охране редких видов журавлей.

В первую очередь, остановимся на определении пола по ДНК. Генетические методы определения пола птиц стали обычной процедурой. Для этого используются методы, разработанные Гриффитсом (Griffiths et al., 1996; 1998), Эллегреном (Ellegren, 1996; Fridolfsson, Ellegren, 1999) и Канном (Kahn et al., 1998), основанные на использовании полимеразно-цепной реакции (ПЦР).

ПЦР или специфическая амплификация ДНК позволяет избирательно синтезировать *in vitro* относительно небольшие участки ДНК длиной от нескольких десятков до нескольких сотен (реже до 1000–2000) пар нуклеотидов, используя в качестве матрицы любые образцы ДНК, содержащие амплифицируемую последовательность. Синтезируемый (амплифицируемый) участок ДНК выделяется специальными затравками – праймерами.

Определение пола птиц основано на амплификации CHD-Z и CHD-W генов. У птиц гетерогаметный пол – самки (хромосомы ZW), а гомогаметный пол – самцы (половые хромосомы самцов ZZ). Любой ген состоит из экзонов и интронов. Экзоны гена CHD одинаковы на обеих половых хромосомах, а интроны имеют разный размер на Z и W хромосомах. Амплифицируемый участок ДНК включает интрон. Таким образом, у самцов при амплификации гена CHDZ образуются фрагменты ДНК одинаковой длины, а у самок – разной (CHD-Z и CHD-W). Таким образом, после проведения фореаза можно видеть две полосы для самок, и одну – для самцов. В течение 5 лет мы применяли метод Гриффитса, используя одну пару праймеров P2 и P 8, и определяя пол разных видов журавлей Питомника редких видов журавлей Окского государственного природного биосферного заповедника (Питомник ОГЗ) и различных зоопарков. Наш опыт подтверждает, что этим методом пол журавлей можно определять с высокой степенью точности – около 98–97%. Для журавлей рода *Grus* фореаза выполнялся в 8% акриламидном геле в течение 40–45 мин. Пол, таким образом, может быть определен у птиц любого возраста и в любое время года. Преимущество этого метода также в том, что для анализа нужно небольшое количество материала, достаточно капли крови на фильтровальной бумаге, можно использовать и перья. Наибольшее количество ДНК содержат растущие кровяные перья. Перья обязательно надо вырвать, выпавшие перья не пригодны. Материал может храниться весьма долго. Благодаря длительности хранения материала без специальных условий, с помощью этого метода можно определять пол и диким птицам для выяснения полового состава популяций, либо для других исследовательских целей. С помощью этого метода мы определили пол у более 70 стерхов, более 70 японских журавлей, более 20 даурских журавлей и 40 красавок.

Молекулярно-генетические методы позволяют проводить другие важные для сохранения редких видов исследования. Так, с помощью молекулярно-генетических методов возможно определение отцовства и родственных связей между особями. Например, используя микросателлитный анализ, Кеннет Джонс изучил популяцию американского журавля в искусственно

созданных условиях, уточнил родственные связи и составил племенную книгу (Jones et al., 2002). Эта работа позволила улучшить подбор пар американского журавлей с тем, чтобы уменьшить коэффициент инбредности потомства. Подобного рода работа выполнялась в лаборатории Института биологии гена для стерхов, содержащихся в Питомнике ОГЗ (Tokarskaya et al., 1994).

Молекулярно-генетические методы позволяют сравнивать популяции одного вида и делать выводы о степени их расхождения друг от друга. Так японские исследователи считали, что, так как островная и материковая популяции японского журавля изолированы друг от друга, и существуют некоторые морфологические отличия птиц этих популяций, то, возможно, следует считать эти популяции разными подвидами. Однако генетический анализ показал, что значительных отличий между этими популяциями нет (Hasegawa et al., 1999)

Одно из основных направлений генетических исследований редких видов – conservation genetic – изучение генетического полиморфизма редких видов.

Генетический полиморфизм – это сосуществование в пределах популяции нескольких различных наследственных форм, находящихся в динамическом равновесии в течение нескольких и даже многих поколений. Один из видов генетического полиморфизма – сбалансированный – характеризуется постоянным оптимальным соотношением полиморфных форм, отклонение от которого оказывается неблагоприятным для вида, и автоматически регулируется (устанавливается оптимальное соотношение форм). Численность вида может не вызывать опасения, но из-за низкого уровня генетического разнообразия состояние этого вида должно вызывать тревогу и требовать принятия особых мер по его охране. Так, например, согласно данным Международного журавлиного центра (the International Crane Center) в Акане, Хоккайдо, Япония, численность островной изолированной популяции японских журавлей составляет более 1200 особей. Но 50 лет назад их оставалось всего около 30, и в результате в настоящее время генетический полиморфизм этой популяций невысокий. (Hasegawa et al., 2000). Низкий уровень генетического полиморфизма уже стал давать отрицательный эффект (так некоторые птицы не держат ноги во время полета, отмечены кладки из белых яиц) на потомстве этих птиц, и в настоящее время японские ученые планируют повысить генетическое разнообразие островной популяции.

Для американских журавлей (*Grus americana*) была выполнена интересная работа по сравнению, используя музейные экспонаты, состояния генетического разнообразия вида до того, как он прошел через бутылочное горлышко (численность американского журавля снижалась до 14 птиц), и после. Исследования показали, что после прохождения этим видом бутылочного горлышка сохранилось не более 1/3 генетических типов (Glenn et al., 1999). Результаты генетических исследований американских журавлей постоянно используют для разработки программ по сохранению этого вида.

Молекулярно-генетические исследования позволяют уточнить деление вида на подвиды, подтвердить или обнаружить скрещивание различных морф и подвидов в природе. Так, например, такая работа была сделана для канадского журавля (Jones et al., 2005).

## Литература

- Ellegren, H. 1996. First Gene on the Avian W chromosome (CHD) provides a tag for universal sexing of non-ratite birds. – Proceedings of the Royal Society of London B, 263: 1635-1644.
- Fridolfsson, A.-K., H. Ellegren. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. – Journal of Avian Biology, 30: 116-121.
- Griffiths, R., S. Daan, C. Dijkstra. 1996. Sex identification in birds using two CHD genes. – Proceedings of the Royal Society of London B, 263: 1249-1254.
- Griffiths, R., M.C. Double, K Orr, J.G. Dawson. 1998. A DNA test to sex most birds. – Mol. Ecol., 7: 1071-1076.
- Glenn, T. C., W. Stephan, and M.J. Braun. 1999. Effect of a population bottleneck on Whooping Crane mitochondria.

- drial DNA variation. – Conservation Biology 13: 1097-1107
- Jones, K.L., T.C. Glenn, R.C. Lacy, J.R. Pierce, N. Unruh, C.M. Mirande, F. Chavez-Ramirez. 2002. Refining the Whooping Crane Studbook by Incorporating Microsatellite DNA and leg-banding analyses. – Conservation Biology, 16 (3): 789-799.
- Jones, K.L., G.L. Krapu, D.A. Brandt, M.V. Ashley. 2005. Population genetic structure in migratory Sandhill Cranes and the role of Pleistocene glaciations. – Molecular Ecology, 14: 2645-2657.
- Haig, S.M. 1998. Molecular contribution to conservation. – Ecology, 79 (2): 413-425.
- Hasegawa, O., S. Takada, M.C. Yoshida, S. Abe. 1999. 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*. – Zoological Science, 16: 685-692.
- Hasegawa, O., Y. Ishibashi, S. Abe. 2000. Isolation and characterization of microsatellite loci in the Red-crowned Crane *Grus japonensis*. – Molecular Ecology, 9: 1661-1686.
- Kahn, N.W., S.J. Judith, T.W. Quinn. 1998. Chromosome-specific intron size differences in the avian CHD gene provide a simple and efficient method for sex identification in birds. – Auk, 115: 1074-1078.
- Tokarskay O.N., Petrosyan V.G., Kashentseva T.A., Panchenko V.G., Ryskov A.P. 1994. DNA fingerprinting in captive population of the endangered Siberian Crane (*Grus leucogeranus*). – Mol. Genetic, dec1, 245 (5): 658-660.

***O.H. Нестеренко***

*Московский зоопарк*

*Россия, 123242, Москва, ул. Б. Грузинская, 1. E-mail: o-nesterenko@yandex.ru*

## ***Using Molecular Genetic Methods for Crane Conservation***

### **Summary**

In recent years, genetic methods have been widely used for conservation research. Modern molecular techniques make it possible to delineate relationships among individuals, populations, and species, to research genetic diversity within and among populations, to help focus efforts on specific populations or species in need of recovery, to define the structure of a population, and to obtain more accurate information from Studbooks. Molecular tools have contributed to resolving many conservation problems and aided in the design of effective conservation efforts (programs). New advances in molecular techniques can help scientists not only define species and subspecies, but reveal the hybridization of species and subspecies. Comparing the DNA of skin from some rare bird species (using stuffed bird skins) with that of modern birds made it possible to define the extent to which genetic polymorphism of these endangered species is decreasing.

**Key words:** cranes, genetic, DNA

***O.N. Nesterenko***

*Moscow Zoo*

*1, B. Gruzinskaya St., Moscow, 123242, Russia.*

*E-mail: o-nesterenko@yandex.ru*