

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧЁРНОГО ГРИФА (*Aegypius monachus*) ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА ПТИЦ, ПОГИБШИХ НА ЗИМОВКАХ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ В 2000-2001 ГОДАХ.

О. В. Долгова ¹⁾, М. В. Павленко ²⁾, С.Г. Сурмач ³⁾

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток 690022, Россия

1) E-mail: dolgova@ibss.dvo.ru

2) E-mail: pavlenko@ibss.dvo.ru

3) E-mail: birds@mail.primorye.ru

Интерес к данной проблеме возник в 2000 году, когда началась массовая гибель черных грифов во время зимовок на юге Приморского края.

Чёрный гриф (*Aegypius monachus* Linneus, 1766) - редкий вид хищных птиц, внесён в Красную Книгу МСОП, Красные Книги Российской Федерации, Приморского края и Южной Кореи, а также II Приложение СИТЕС. На юг Дальнего Востока России в юго-западное Приморье грифы прилетают только на зимовку. Происхождение зимующей группировки точно не установлено. Считается, что ближайшими местами гнездования зимующих в Приморье птиц являются северо-западные районы Китая. Имеется информация, что в зимующей в Южной Корее группировке наблюдались птицы, которые были помечены в Монголии (www.birdskorea.org/BLdec2002.asp).

Наибольшая численность грифа на зимовках в юго-западном Приморье (до 400-650 особей) наблюдалась в середине 80-х годов XX века (Шибнев, 1981; Шибнев, Глущенко, 1988). В 90-х годах началось постепенное сокращение численности, вызванное изменением характера хозяйственной деятельности человека, в частности, упадком звероводства, отходы которого являлись основной пищей для черного грифа. В период с 1999 по 2002 гг. наблюдалась катастрофическая массовая гибель птиц. Так, только зимой 2000/2001 гг. погибшими обнаружено более 80 особей (Глущенко и др., 2001).

Причины этого явления окончательно не установлены. Предварительные итоги бактериологического анализа на предмет чумы, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, лептоспироза, с применением бактериологического, биологического и серологического методов оказались отрицательными (А.В. Алленов, официальное заключение Приморской противочумной станции). Концентрации токсичных металлов в тканях и органах погибших птиц (N=13) в среднем не превысили опасных уровней накопления и не могли стать причиной гибели (Кавун, 2004). На содержание диклофенака, хроническое отравление которым рассматривается в настоящее время как основная причина гибели грифов на Индийском

субконтиненте (Green et al., 2004), данный материал не проверялся. Исследования на содержание хлорорганических веществ выявили высокий уровень их содержания в почках, мозге, печени и мышцах погибших птиц (N=7) (Lukyanova et al., 2001). Однако в качестве наиболее вероятной причины смертности выдвигается бескормица в сочетании с аномально суровыми погодными условиями в эти зимы (Глущенко и др., 2001). Средний вес погибших птиц составил 5.9 кг – около половины нормального веса (Сурмач, неопубликованные данные). Интересно, что в этот же период, с 1999 г., отмечен резкий рост численности черного грифа на зимовках в Южной Корее. Причины его также не вполне ясны и не исчерпываются только природоохранными мероприятиями, как, например, организацией подкормок в основных местах зимовок, но, по мнению авторов, могут быть связаны и с перераспределением мигрантов между соседними регионами (Eun-Jae Lee, Woo-Shin Lee, 2005).

В последующие годы массовая гибель птиц прекратилась, а численность зимующей на юге Приморского края группировки стабилизировалась на уровне 150-200 особей (С. Г. Сурмач, неопубликованные данные), т.е. более чем вдвое ниже максимальной численности в наиболее благополучные для зимовок годы.

Учитывая многообразие причин, ведущих к сокращению популяций и гнездовых ареалов грифов Старого Света, к изменению районов зимовок, а также феномен массовой гибели других видов грифов, наблюдавшийся в последние годы в Азии (Галушин, 2002; Risebrough, 2002; Pain et al., 2003; Prakash et al., 2003; Green et al., 2004), можно предположить, что ситуация на юге Приморского края выходит за рамки частного случая. Поэтому любая дополнительная информация может быть полезной в контексте выявления причин критического состояния черного грифа в Приморском крае в 2000-2002 гг.

В мире накоплен большой опыт применения молекулярно-генетических подходов в области природоохранной биологии (Molecular Genetic Approaches in Conservation, 1996). Электрофоретический анализ белков как биохимических маркеров генов – традиционно используемый в природоохранной биологии метод для оценки генетического полиморфизма в природных популяциях или в неволе (Leberg, 1996). Низкая аллозимная изменчивость часто свидетельствует о древности популяции или об эффекте «бутылочного горлышка», сказывающемся на генетическом разнообразии. Метод позволяет оценить количественные параметры уровня генетической изменчивости в популяциях, прежде всего гетерозиготности, как показателя «генетического благополучия-неблагополучия» популяций, уточнить таксономическое положение популяций – объектов природоохранного управления.

Именно данный метод избран нами для «генетического типирования» чёрного грифа. Сведения о генетических характеристиках чёрного грифа крайне ограничены.

Немногочисленные работы посвящены, в основном, использованию молекулярно-генетических данных для решения проблем макросистематики. В этих работах, в сравнительном анализе среди других видов грифов Старого Света, рассматривался и чёрный гриф (Siebold, Helbig, 1995; Lerner, Mindell, 2005). Единичные работы по аллозимному анализу выполнены на группе африканских грифов (Van Wyk et al., 1992; Van Wyk et al., 2001).

Зимующая в Приморье популяция грифов ранее генетиками не изучалась. Настоящая работа посвящена оценке параметров генетической изменчивости у черного грифа по данным электрофоретического анализа белков, как биохимических маркеров генов. Кратко результаты нашего исследования были представлены в материалах трех конференций (Долгова и др., 2003; Долгова, Павленко, 2004; Dolgova, Pavlenko, 2006).

Материалы и методы

Материалом для данной работы послужили пробы тканей и крови, взятые от погибших птиц, собранных зимой 2001 и 2002 годов в Хасанском районе Приморского края при проведении учетов и мониторинга за текущим состоянием зимующей популяции. В качестве образцов для белкового электрофореза мы использовали гомогенат различных тканей (грудная мышца, печень), а также цельную кровь. Образцы были взяты авторами и С.Е. Храпко при препарировании павших птиц. Павшие птицы до препарирования находились на морозе в природных условиях, затем либо размораживались для приготовления тушек, и в это время извлекались органы для взятия образцов, либо образцы отбирались при вскрытии хорошо замороженных птиц. Изначально материал был представлен птицами, погибшими в разное время в течение зимы. Таким образом, анализируемые образцы различались по сохранности, а, следовательно, степени денатурации. Всего в генетическом анализе использованы пробы от 25 особей черного грифа.

Электрофорез белков в крахмальном геле проводили в соответствии с процедурой, описанной в методических руководствах (Pasteur et al., 1988) с нашими модификациями в отношении подбора буферных систем, в которых лучше разделяются белки у грифа. Выяснилось, что наибольшим разрешающим эффектом обладают 4 буферные системы (табл. 1), используя которые мы и проводили наше исследование. Образцы для анализа, хранившиеся при -20°C , экстрагировали из плотных тканей путём гомогенизации.

Для подсчёта параметров генетической изменчивости - частот аллелей, полиморфности (P) и гетерозиготности (H), использован блок компьютерных программ BIOSYS-1 (Swofford, Selander, 1981). Расчёты велись отдельно для выборок 2001 и 2002 гг.

Результаты и обсуждение

Описание электрофоретических спектров белков черного грифа.

Перечень анализируемых белков и буферные системы представлены в таблице 1.

Общий белок крови. Для электрофоретического разделения белков крови мы использовали две буферные системы: литий-гидроксид-боратную и буфер Портера. После окраски фореграмм амидо-чёрным 10Б во фронтальной области гелевого среза выявляются зоны активности альбуминов, впереди альбуминовой зоны иногда проявляются и слабые полосы преальбуминов. Все исследованные образцы имели одинаковую подвижность этих белковых фракций. Гемоглобины мигрируют к катоду и на электрофореграмме представлены диффузными пятнами в околостартовой части спектра. Большой разрешающий эффект (более яркие и чёткие зоны и большее число визуализируемых полос) получен при использовании буфера Портера. Зоны активности альбуминов (Alb) проявляются достаточно яркими полосами, у отдельных образцов были хорошо различимы зоны активности преальбуминов. Гемоглобины (Hb) представлены у всех 25 образцов достаточно яркими компактными зонами активности в катодной части спектра. Все исследованные образцы имели одинаковую подвижность этих белковых фракций. За зоной активности гемоглобинов обнаружена область активности неидентифицированного белка, предположительно эритроцитарного (EP), спектр которого похож на таковой у грызунов. Выявлено 3 варианта этого белка, соответствующих, предположительно, быстрому и медленному гомозиготным вариантам и гетерозиготному (рис.1). В средней части спектра между стартом и областью альбуминов удовлетворительно проявить зоны активности белковых фракций не удалось из-за их слабой активности и частичного гемолиза образцов крови.

Мышечные белки. В грудной мышце визуализируются 3 слабо различимые зоны мышечных белков (GP1, GP2, GP3), наиболее отчётливо проявляется предстартовая полоса в нижней части спектра. Изменчивости по подвижности этих зон не выявлено.

Эстеразы цельной крови и печени. При использовании литий-гидроксид-боратного буфера в образцах печени после электрофореза и стандартного окрашивания на эстеразы визуализируются две области активности: одна быстро мигрирующая фронтальная слабая, представленная одной диффузной полосой, и другая, менее подвижная, представленная одной относительно яркой полосой в средней части спектра. Изменчивости в подвижности этих зон в данных условиях не выявлено.

Электрофоретический спектр эстераз цельной крови в буфере Портера содержит большее число зон эстеразной активности (рис. 2). Слабая, наиболее подвижная мигрирующая к аноду зона представлена одной диффузной полосой, с одинаковой подвижностью у всех исследованных образцов. Следующая по убыванию подвижности зона представлена тонкой слабоокрашенной полосой, с варьирующей активностью у разных образцов. Различий в подвижности этих полос между образцами не выявлено. Область эстеразной активности в средней части спектра состоит из трёх полос, варьирующих у разных экземпляров по активности. Можно выделить 3 варианта: а) все три полосы имеют примерно одинаковую активность; б) нижняя полоса самая яркая, а две другие последовательно убывают в активности; в) средняя полоса слегка ярче крайних. Вариаций в подвижности указанных полос не обнаружено. Кроме того, в БС Портера в катодной части спектра проявляется ещё одна зона активности эстераз, представленная слабой полосой, выявленной в цельной крови у большинства, но не у всех исследованных птиц. Кроме того, в образцах цельной крови двух птиц (одной - из выборки 2001 года и одной – погибшей в 2002 году) в дополнение к приведённой выше картине спектра эстераз обнаружена еще очень быстро мигрирующая к аноду зона активности, проявляющаяся при многократных постановках электрофореза с разной интенсивностью. Известно, что спектры эстераз у позвоночных, в том числе у птиц, трудны для генетической интерпретации из-за большой их индивидуальной изменчивости (особенно по активности) в зависимости от возраста, пола, физиологического состояния исследуемых особей (Электрофоретический анализ белков... Методические рекомендации, 1986). Не исключено, что подобную картину мы наблюдаем и у чёрного грифа. Поэтому для оценки параметров генетической изменчивости мы использовали интерпретационные данные только по двум зонам эстеразного спектра, предположительно являющимся продуктами двух различных локусов.

Дегидрогеназы. Были опробованы несколько БС. Наилучшее разрешение получено при использовании двух указанных выше БС и трис-цитратной 2. Наибольшая активность дегидрогеназ выявлена в печени, несколько ниже - в цельной крови и мышцах. Единственная зона активности б-фосфоглюконатдегидрогеназы демонстрировала незначительные вариации в подвижности между образцами, неустойчиво проявляющиеся при повторных электрофорезах, поэтому мы не рассматривали их как генетические различия. По малатдегидрогеназе-1 (MDH-1) изменчивости в подвижности не выявлено, MDH-2, мигрирующая к катоду, представлена двумя вариантами подвижности. Одной слабой зоной с одинаковой подвижностью у всех образцов проявляется α - глицерофосфатдегидрогеназа. Для лактатдегидрогеназы не удавалось получить

качественных электрофореграмм в трис-цитратных БС, обычно применяющихся для её выявления, а в других условиях получены удовлетворительные результаты. Лактатдегидрогеназа печени и цельной крови визуализируется в виде 5-полосых спектров в БС Портера и литий-гидроксидборатной, т.е. в тех условиях, которые обычно не используются для выявления этого фермента у позвоночных. Изменчивости в подвижности этих зон при данных условиях анализа не обнаружено. Глютаматоксалат трансминаза (аспартатамино-трансфераза) при использовании трис-цитратной 1 БС проявляется двумя зонами активности в анодной (Got-1) и катодной части спектра (Got-2). Изменчивости по подвижности этих зон не обнаружено.

Для ряда других ферментов нам не удалось подобрать условия получения качественной электрофоретической картины.

Оценка параметров генетической изменчивости у чёрного грифа

Таким образом, на данном этапе генетических исследований черного грифа можно предположить, что только 2 из 16 исследованных локусов оказались полиморфными - эритроцитарный белок EP и малатдегидрогеназа MDH- 2.

Частоты аллелей исследованных 16 локусов в двух выборках черного грифа представлены в таблице 2. Индекс инбридинга Райта (F_{st}) имеет невысокое значение (0.036) и указывает на незначительную генетическую дифференциацию между выборками разных лет.

Параметры генетической изменчивости (среднее число аллелей на локус, доля полиморфных локусов P и средняя гетерозиготность H) в выборках чёрного грифа за два года наблюдений даны в таблице 3. Полученные нами значения доли полиморфных локусов в зимующей в Приморском крае популяции следующие: 0.125 (12.5%) и 0.063 (6.3%) - для выборок 2001 и 2002 года соответственно. Эти значения в 2-4 раза ниже по сравнению с общим средним показателем для птиц (0.240, 0.302, из расчёта по данным Evans, 1987 и Nevo et al., 1984) и сопоставимы с оценкой, полученной для капского грифа (*Gyps coprotheres*) (Van Wyk E. et al., 1992; 2001). Средняя гетерозиготность также ниже (0.042, 0.031), чем в среднем у птиц и сопоставима с показателями капского грифа, малочисленного и включённого в Красную Книгу МСОП (табл. 4).

Примечательно, что среди хищных птиц самые низкие показатели аллозимной изменчивости были обнаружены у обыкновенного сарыча *Buteo buteo* из нескольких популяций центральной Европы, относящихся к разным окрасочным морфам (Schreiber et al., 2001). Авторы изучили более 460 особей из пяти географических районов (от 28 до 255 особей

из каждой выборки) по 25 локусам, 12 из которых оказались полиморфными. Картина полиморфизма представлена, в основном, наличием редких аллелей, при этом частота основного аллеля для большинства полиморфных локусов редко была ниже 0.97. Очевидно, что было бы трудно обнаружить такой феномен на выборках малого объема. В известных нам работах по изменчивости белков у грифов Африки *Gyps coprotheres* и *Gyps africanus* использованы как репрезентативные выборки (42 и 93 птицы соответственно) так и, что особенно важно, более широкий спектр локусов (34 и 41 соответственно), в том числе анализ ферментов, обладающим высоким уровнем генетической изменчивости у птиц. В литературе, например, имеются сведения о связи полиморфизма по пептидазам с выживаемостью и степенью социального доминирования у птиц (Baker, Fox, 1978).

Таким образом, наши результаты позволяют обсуждать гипотезу о невысоком уровне генетической изменчивости в зимующей в Приморье популяции чёрного грифа. Во-первых, по данным электрофоретического анализа белков как биохимических маркеров генов показано, что значения доли полиморфных локусов и средней гетерозиготности ниже, чем в среднем для птиц и сопоставимы с таковыми для других видов настоящих грифов, находящихся под угрозой исчезновения. Во-вторых, RAPD-PCR анализ ДНК, проведённый параллельно для той же выборки чёрного грифа, также выявил низкий уровень изменчивости (Куликова и др., 2003).

Как известно, в природоохранной генетике снижение уровня генетического разнообразия рассматривается как свидетельство неблагоприятного состояния популяции. Эти данные должны учитываться для разработки стратегии охраны. Не исключено, что низкий уровень генетической изменчивости является дополнительным фактором риска для выживания чёрного грифа. Очевидно, что, зимующая в Приморском крае популяция нуждается в дополнительных мерах охраны.

Для более корректной оценки генетической изменчивости у черного грифа необходимо продолжение исследований. Необходим сбор свежих образцов крови от живых птиц, отдельный анализ плазмы и гемолизата, для того чтобы получить эталонные спектры белков крови грифа. Желательно расширение перечня исследованных белковых систем.

Работа выполнена при частичном финансировании по Грантам ДВО РАН по конкурсам поддержки НИР студентов и молодых ученых 2002-2004 гг. Сбор материала осуществлен на средства и при техническом содействии ОО "Амуро-Уссурийский Центр Биоразнообразия Птиц" и фонда "Феникс". Авторы выражают благодарность С.Е. Храпко за техническую помощь и Л. В. Фрисман за методические консультации.

ЛИТЕРАТУРА

- Галушин В.М. 2002. Трагедия бенгальских грифов: неожиданная и неизученная // *Ключевые орнитологические территории России. Информ. бюллетень*. 16: 35-36.
- Глущенко Ю.Н., Куриный В. Н., Волковская Е.А., Курдюков А.Б. 2001. Зимовка соколообразных в юго-западном Приморье в 2000/2001 гг. // *Животный и растительный мир Дальнего Востока*. Уссурийск: 5: 57-58.
- Долгова О. В., Павленко М. В., Сурмач С. Г. 2003. О генетической изменчивости (по данным электрофореза белков) у зимующих на юге Приморского края чёрных грифов (*Aegypius monachus*) // *Современные проблемы орнитологии Сибири и Центральной Азии. Материалы II Международной орнитологической конференции*. Улан-Удэ, 2: 9-2.
- Долгова О.В., Павленко М.В. 2004. Генетическая изменчивость по данным электрофореза белков у чёрных грифов (*Aegypius monachus* L.), зимующих на юге Приморского края // *Материалы Сибирской зоологической конференции*. Новосибирск:126.
- Кавун И.Я. 2004. Тяжелые металлы в отдельных органах и тканях черного грифа (*Aegypius monachus*) в связи с условиями обитания // *Экология* 1: 61-64.
- Куликова И.В., Челомина Г.Н., Сурмач С.Г. 2003. Состояние и генетическое разнообразие популяции чёрного грифа (*Aegypius monachus*) в Приморском крае // *Современные проблемы орнитологии Сибири и Центральной Азии. Материалы II Международной орнитологической конференции*. Улан-Удэ: 2: 19–21.
- Шибнев Ю.Б. 1981. Зимовка крупных хищных птиц в Приморье // *Редкие птицы Дальнего Востока*. Владивосток: 100-107.
- Шибнев Ю.Б., Глущенко Ю. Н. 1988. Зимовка хищных птиц в юго-западном Приморье в 1985/86 гг. // *Редкие птицы Дальнего Востока и их охрана*. Владивосток: 110-111.
- Электрофоретический анализ белков сельскохозяйственной птицы. 1986. Методические рекомендации.* / П.И. Кутнюк и др. (ред). Харьков: 1-32.
- Baker M.S., Fox S.F. 1978. Dominance, survival and enzyme polymorphism in dark-eyed juncos *Junco hyemalis* // *Evolution* 32: 697-711.
- Dolgova O.V., Pavlenko M.V. 2006. Genetic variability of the wintering black vulture, *Aegypius monachus*, in the South Ussuriland // *Promoting Environmental Research in Pan-Japan Sea Area. Abstr. 4th International Symposium of the Kanazawa University*. Kanazawa: 107-108.
- Evans P.G. 1987. Electrophoretic variability of gene products // *Avian Genetics*:105–162.

Green Rh.E., Newton J., Shultz S., Cunningham A.A., Gilbert M., Pain D.J., Prakash V. 2004. Diclofenac poisoning as a case of vulture population declines across the Indian subcontinent // *J. Applied Ecology* **41**: 793-800.

Lee Eun-Jae, Lee Woo-Shin. 2005. Current status of the main wintering sites of the Cinereous Vulture *Aegypius monachus* in South Korea // *The 4th Symposium of Asian Raptors "Toward conservation of Asian Raptors through science & action"*. Taiping, Perak, Malaysia.

Leberg P.L. 1996. Applications of allozyme electrophoresis in conservation biology // *Molecular genetic approaches in conservation* / B. Smith, R. Waine (eds.). New York–Oxford: Oxf. Univ. Press: 87-103.

Lerner H.R.L., Mindell D.P. 2005. Phylogeny of eagles, old world vulture and other Accipitridae based on nuclear and mitochondrial DNA // *Mol. Phylogenet. Evol.* **37**: 163-178.

Lukyanova O.N., Syasina I.G., Boyarova M.D., Prikhodko Y.V., Sokolovsky, A.S. 2001. Organochlorine pesticides in some biota members of the Tumen River influence area (Southwestern Primorye) // *The state of environment and biota of the Southwestern part of Peter the Great Bay and the Tumen River mouth*. Vladivostok, Dalnauka, **3**:38-45

Molecular genetic approaches in conservation. 1996. / B. Smith, R. Waine (eds.). New York – Oxford: Oxf. Univ. Press:1- 483.

Nevo E., Beiles A., Ben-Shlomo R. 1984. *The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates*. Israel: Haifa: Haifa University: 1-213.

Pain D.J., Cunningham A.A., Donald P.F., Duckworth J.W., Houston D.C., Katzner T., Pany-Jones J., Pool C., Prakash V., Round P., Timmins R. 2003. Cause and effects of temporospatial declines of Gyps Vultures in Asia // *Conservation Biology* **17**: 661-671.

Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J., Britton-Davidian. 1987. *Practical isozyme genetics*. Chichester: Halsted Press: 1-215.

Prakash V., Pain D.J., Cunningham AA., Donald P.F., Prakash N., Verma A., Gargi R. Sivakumar S., Rahmani A.R. 2003. Catastrophic collapse of Indian white-backed *Gyps bengalensis* and long-billed *Gyps indicus* vulture populations // *Biological Conservation* **109**: 381-390.

Risebrough R. W. 2002. Collapse of vulture populations in Southern Asia // *Abstr. 23rd International Ornithological Congress*. Beijing (China): 364.

Rodgers J. A., Stangel P. W. 1996. Genetic variation and population structure of the snail kite in south Florida // *J. Raptor Res.* **30**: 111-117.

Schreiber A., Stubbe A., Stubbe M. 2001. Common Buzzard (*Buteo buteo*): A raptor with hyperpolymorphic plumage morphs, but low allow heterozygosity // *J. Ornithol.* **14**: 34-48.

Seibold I., Helbig A.J. 1995. Evolutionary history of New and Old World vultures inferred from nucleotide sequences of the mitochondrial cytochrome b gene // *Philos. Trans. R. Soc. Lon. Series B - Biol. Sci.* **350**: 163-178.

Swofford D.L., Selander R.B. 1981. BIOSYS-1: a fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // *J. Hered.* **72**: 281-283.

Van Wyk E., Van der Bank F. N., Verdoorn G. H. 2001. Allozyme variation in four populations of African whitebacked vultures (*Gyps africanus*) and phylogenetic relationships between four vulture species from southern Africa // *Biochemical systematics and ecology* **29**: 485-512.

Van Wyk E., Van der Bank F.N., Verdoorn G. H. 1992. A biochemical genetic study of allozyme polymorphism in two natural populations of the Cape griffon vulture (*Gyps coprotheres*) and individuals held in captivity // *Comparative biochemistry and physiology* **103B**: 481- 493.

Genetic variability of wintering Black vultures based on analysis of died birds during winter 2000-2001 in Primorsky territory

O.V. Dolgova, M.V. Pavlenko, S.G. Surmach

Laboratory of The Evolutionary Zoology and Genetics & Laboratory of Ornitology of The Institute of Biology and Soil Sciences, Far East Branch RAS, Vladivostok, Russia

The genetic (allozyme) variation in wintering population of Black Vulture *Aegyptus monachus* from the South Ussuriland (Russian Far East) was investigated based on starch gel-electrophoresis of proteins. Samples (frozen blood, liver and pectoral muscle) were collected in nature from 25 perished birds. 16 proteins loci have been analyzed: LDH-1, LDH-2, MDH-1, MDH-2, 6-GPG, GOT-1, GOT-2, α -GPD, ALB, Hb, EST-1, EST-3, EP, GP-1, GP-2, GP-3. Only two loci were polymorphic (EP and MDH-2). Preliminary data allow us to suppose low level of genetic variation in *A. monachus*: 12.5% and 6.3% of loci were polymorphic (P_{95}) for samplings of 2001 and 2002, respectively. The mean heterozygosity for two samplings is also lower (0.042, 0.031) than average of birds. Mean values of polymorphism and heterozygosity are 0.094 and 0.037, respectively. They are as low as the same in Cape Vulture (*Gyps coprotheres*), which is rare and endangered too.

Таблица 1. Исследованные белки и разрешающая способность
разных условий электрофореза

Анализируемые белки и ферментные системы	Буферные системы			
	Литий-гидроксид-боратная, рН = 8,1-8,4	Портера, рН = 8,6	Трис-цитрат.2, рН = 8,0	Трис-цитрат.1. рН = 6,3 (эл.), рН = 6,7 (гел.)
GP- общий белок цельной крови, включая ALB (альбумин),	+	+++	-	-
PreALB (преальбумин)	+	++	-	-
EP (эритроцитарный белок)	-	+++	-	-
Hb (гемоглобин)	+	+++	+	-
EST (liv) – эстеразы печени	+	++	-	-
EST (blood) – эстеразы цельной крови	++	+++	+	-
6 PGD – 6-фосфоглюконат-дегидрогеназа	-	++	+++	++
LDH – лактатдегидрогеназа	+++	++	-	-
MDH (MOR) - малатдегидрогеназа	+++	++	++	+
ME (MOD) – маликэнзим	-	-	-	-
IDH – изоцитратдегидрогеназа	+	+	-	-
GOT (AAT) – глутаматоксалат-трансамалаза (аспартатамино-трансфераза)	-	-	-	+++
SDH - сорбитолдегидрогеназа	-	-	-	-
SOD - супероксиддисмутаза	-	++	+	+
α -GPD – α -глицерофосфат-дегидрогеназа	-	-	+	+

Примечание: хорошее разрешение зон активности обозначено +++;
удовлетворительные результаты ++;
слабая активность или не вполне четкая электрофоретическая картина +;
не удалось выявить белок после электрофореза, или неудовлетворительное качество электрофоретической картины обозначено значком -

Таблица 2. Частоты аллелей в выборках разных лет

Локусы и аллели		Выборка 2001 года		Выборка 2002 года	
			N		N
Alb	A	1.000	15	1.000	10
Hb	A	1.000	15	1.000	10
Ep	A	0.667	6	0.650	10
	B	0.333		0.350	
6Pgd	A	1.000	15	1.000	10
Ldh-1	A	1.000	15	1.000	10
Ldh-5	A	1.000	15	1.000	10
Gpd	A	1.000	15	1.000	10
Mdh-1	A	1.000	15	1.000	10
Mdh-2	A	0.786	14	1.000	10
	B	0.214		0.000	
Got-1	A	1.000	15	1.000	10
Got-2	A	1.000	15	1.000	10
Est-1	A	1.000	15	1.000	10
Est-3	A	1.000	15	1.000	10
Gp-1	A	1.000	15	1.000	10
Gp-2	A	1.000	15	1.000	10
Gp-3	A	1.000	15	1.000	10

Таблица 3. Параметры генетической изменчивости в зимующей популяции чёрного грифа в Приморском крае

Выборка	Среднее число аллелей на локус	Доля полиморфных локусов (P)	Средняя гетерозиготность (H)	
			Наблюдаемая	Ожидаемая
2001 г.	1.1	0.125	0.042	0.052
2002 г.	1.1	0.063	0.031	0.030

Таблица 4. Некоторые параметры генетической изменчивости у хищных птиц

Таксон	Число исследованных локусов	Доля полиморфных локусов P	Средняя гетерозиготность, H	Литературный источник
<i>Aegypius monachus</i>	16	0.094	0.037	собственные данные
<i>Gyps africanus</i>	41	0.262	0.076	Van Wyk et al., 2001
<i>Gyps coprotheres</i>	34	0.053	0.044	
<i>Torgos tracheliotus</i>	19	0.211	0.097	
<i>Neophron percnopterus</i>	19	0.105	0.053	
Настоящие грифы (Грифы Старого Света)		0.145	0.061	
<i>Buteo buteo</i>	25	0.583	0.002-0.0147	Schreiber et al., 2001
<i>Milvus migrans</i>	12	0.046	0.182	Rodgers & Stangel, 1996
В среднем для "non - passeriformes"		0.244	0.035	Evans, 1987

Подписи к рисункам к статье

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧЁРНОГО ГРИФА (*Aegyptus monachus*) ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА ПТИЦ, ПОГИБШИХ НА ЗИМОВКАХ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ В 2000-2001 ГОДАХ

Авторы: Долгова О.В., Павленко М.В., Сурмач С.Г.

Рис. 1. Электрофоретическая картина спектра общего белка цельной крови *Aegyptus monachus* (схема).

Обозначения: PreALB - преальбумины; ALB - альбумины, HB - гемоглобин; EP - эритроцитарный белок. 1 - гомозиготный вариант по быстрому аллелю; 3 - гомозиготный вариант по медленному аллелю; 2 - гетерозигота.

Рис. 2. Электрофоретическая картина спектра эстераз цельной крови *Aegyptus monachus* (схема).

Обозначения: EST - эстеразы, HB - зона активности гемоглобина.