

УДК 575.13(571.63): 598.971

ПОЛНЫЙ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ РЫБНОГО ФИЛИНА *Bubo (Ketupa) blakistoni* СВИДЕТЕЛЬСТВУЕТ В ПОЛЬЗУ ЕГО ВОЗВРАЩЕНИЯ В РОД *Ketupa*

© 2018 г. Л.Н. Спиридонова*, С.Г. Сурмач

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022

*e-mail: spiridonova@biosoil.ru

Поступила в редакцию 11.04.2017 г.

Проведено секвенирование полного митохондриального генома (около 13 тпн) трех особей материковой популяции рыбного филина *Bubo blakistoni* (Seeböhm 1884) краснокнижного вида сем. Strigidae. Выявлено крайне низкое генетическое разнообразие мтДНК, что может отражать критическое состояние анализируемой популяции. Филогенетический анализ по данным секвенирования полных митохондриальных геномов обнаружил более близкую связь рыбного филина с родом *Strix*, чем с родом *Bubo*. Причем генетическая дивергенция *blakistoni* с обоими родами существенна и находится на уровне межродовых значений (p -дистанция 0.135 с родом *Strix* и 0.151 с родом *Bubo*). Наши результаты не согласуются с литературными данными по гену цитохрома *b* мтДНК и ядерному гену RAG-1, на основании которых рыбный филин в последних таксономических сводках был отнесен к роду *Bubo*, а подтверждают более раннюю классификацию, в которой четыре азиатские формы — *blakistoni*, *flavipes*, *zeylonensis* и *ketupa* — составляли отдельный род *Ketupa*.

Ключевые слова: рыбный филин, *Bubo (Ketupa) blakistoni*, митохондриальный геном, филогения, Strigidae.

DOI: 10.7868/S0016675818030128

Рыбный филин *Bubo blakistoni* (Seeböhm 1884) — эндемик Северо-Восточной Азии, наиболее северный представитель фауны рыбоядных сов. Видовой ареал приурочен к восточной периферии континента и некоторым из прилегающих островов (Хоккайдо, Кунашир и, возможно, Сахалин). В континентальной части распространен в горных отделах бассейна р. Амур, преимущественно в российском его секторе, и в долинах рек, напрямую впадающих в Охотское и Японское моря, от Магадана до южного Приморья. Редкий, находящийся под угрозой исчезновения вид с тенденцией к дальнейшему сокращению численности. Мировая популяция оценивается в несколько тысяч особей [1] или в 600–800 гнездящихся пар.

Рыбный филин имеет сложную таксономическую историю. За 130 лет, истекших со времени описания вида, взгляды на его систематическое положение неоднократно пересматривались. Первоначально он был описан как *Bubo blakistoni* по экземпляру с о. Хоккайдо с комментарием, что данная форма “... является самой крупной из известных видов сов, и представляет собой связующее звено

между родами *Bubo* и *Ketupa*” [2]. Среди основных признаков, отличающих эту форму от типичных представителей рода *Bubo*, указывались особенности оперения лап, слабо выраженный лицевой диск, более узкие первостепенные маховые и др. [3 и др.]. Впоследствии эти и другие диагностические признаки (строение черепа, сечение когтя, морфология маховых перьев и др.) послужили основанием для отнесения *blakistoni* к роду *Ketupa*, в качестве одного из подвидов *K. zeylonensis* [4]. Против этой точки зрения высказывались серьезные оппоненты [5 и др.], однако после опубликования сводки по птицам Палеарктики [6] она была принята и надолго закрепилась в региональной орнитологии. Рыбный филин приобрел статус политипического вида, с двумя подвидами в составе рода *Ketupa*: номинативным *K. b. blakistoni* Seeböhm 1884, населяющим островную часть ареала, и материковым подвидом *K. b. doerriesi* Seeböhm 1884. Еще две, описанные к тому времени близкие формы: *karafutonis* Kuroda, 1932, с о. Сахалин, и *piscivorus* Meise, 1933 из Маньчжурии, были сведены в синонимы к двум вышеупомянутым подвидам. Данной трактовки стали придерживаться орнитологи всех стран, на

Таблица 1. Материал *B. blakistoni*, использованный в исследовании

№	Дата сбора	Пол	Возраст	Локалитет
1	18.05.2012	♂	juv	Приморский край, Тернейский р-н, р. Живописная (Сайон), N45°58'23.49", E 137°46'1.68"
2	20.05.2012	♂	juv	Приморский край, Ольгинский р-н, р. Васильковка (Садога), N43°43'30.47", E 135°5'42.88"
3	22.05.2012	♀	juv	Приморский край, Ольгинский р-н, р. Минеральная, N43°48'56.34", E 134°55'19.99"

чьи территории приходится ареал рыбного филина: Японии, Китая и России. В этом статусе вид “продержался” до конца XX в., вплоть до начала таксономического бума, связанного с достижениями молекулярно-генетической школы в систематике. Кардинальный пересмотр систематики птиц затронул и рыбного филина.

Кениг с соавт. [7] в своей сводке по совам Мира, опираясь на предварительные результаты генетических исследований, предложили спорные роды *Nyctea*, *Scotopelia* и *Ketupa* ввести в состав *Bubo* — это было конвенциональное решение, направленное на разрешение проблемы парафилии. При этом принадлежность рыбного филина к кластеру *Ketupa* не оспаривалась (этот вид вообще не фигурировал в генетическом анализе), и за всеми представителями этого рода было сохранено привычное название рыбные филины (Fish Owls). Авторы другой основополагающей сводки [8], вышедшей в этом же году (1999) и базирующейся на той же информационной основе, сочли род *Ketupa* валидным, но *blakistoni* из его состава вывели, с невнятным комментарием “...крайне сходен с обыкновенным филином остеологически и характером оперения лап, ... детали скелета, особенно морфология челюстей, указывают на его идентичность с представителями рода *Bubo*”. Предложенное новое название “филин Блакистона”, вместо прежнего “рыбный филин Блакистона”, подчеркивает его непричастность к рыбным совам. Данная трактовка стала доминирующей в западной литературе, но не нашла поддержки на востоке. Очередная реконструкция филогении сов [9], построенная по результатам анализа отдельных генов (митохондриального гена цитохрома *b* и ядерных последовательностей RAG-1), не привнесла ничего нового в плане таксономии рыбного филина, поскольку его геном и на этот раз не был подвергнут анализу. Это было сделано тремя годами позже, в 2012 г., японскими орнитологами [10–11]. На большой выборке была убедительно показана генетическая близость формы *blakistoni* к рыбным совам, но это так и не нашло отражения в последних таксономических сводках [12 и др.], в которых за родом *Ketupa* закреплены три вида, а форма *blakistoni* отошла к *Bubo*.

В настоящей работе предпринята попытка пересмотра таксономического положения рыбного филина на основе анализа его полного митохондриального генома. Материал для генетического исследования представлен в табл. 1. Образцы крови *B. blakistoni* фиксировали в 96%-ном этаноле. ДНК выделяли, используя набор QIAgen DNeasy® Blood and Tissue Kit (Qiagen, Inc.). Пол птенцов определяли методом ПЦР, используя пол-специфичные праймеры для гена хромохеликазы ДНК (CHD) [13]. Поскольку у сов разница в длинах фрагментов Z- и W-хромосом у самок очень незначительна, было проведено секвенирование для выявления гетерогаметного пола.

Реакция была проведена в 20 мкл объема, содержащего 30 нг матрицы ДНК, 2 пмоль каждого праймера, 0.2 mM каждого dNTP, 2 мкл 10 × ПЦР-буфера, 2.5 mM MgCl₂ и 1 ед. *Taq*-полимеразы (Медиген, Россия). Цикл амплификации включал преденатурацию 2 мин/94 °C, затем 35 циклов: денатурация 30 с/94 °C, отжиг праймера 30 с/58 °C, элонгация 30 с/72 °C и финальная элонгация 72 °C в течение 5 мин. Продукт амплификации использовали для циклического секвенирования с набором реагентов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1. Секвенирование проводили на автоматическом лазерном секвенаторе ABI PRISM 3130 (“Applied Biosystems”, USA / “Hitachi” Japan).

Секвенирование митохондриальных геномов проведено методом пиросеквенирования на приборе Roche GS Junior. Приготовление быстрой библиотеки с лигированными адаптерами, проведение эмульсионной ПЦР, секвенирование с реагентами GS JuniorTitaniumSeries выполнялось согласно инструкциям фирмы-изготовителя прибора и реактивов — 454 LifeScienceCorp., RocheCompany, Branford, CT 06405, USA (Центр коллективного пользования ФЦБ ДВО РАН). Все митогеномы были секвенированы со средним покрытием ×300–650. Нуклеотидные последовательности собирали с помощью программы GS De Novo Assembler (<http://454.com/products/analysis-software/index.asp>).

Полученные последовательности депонированы в базу данных EMBL/GenBank под номерами

Таблица 2. Генетические *p*-дистанции для представителей двух семейств отр. Strigiformes. Ниже диагонали — *p*-дистанции, выше диагонали — значение стандартной ошибки

Семейство	Род/вид	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Strigidae	1. <i>B. blakistoni</i>	—	0.036	0.053	0.054	0.031	0.044	0.08	0.086	0.096
	2. <i>Bubo</i>	0.151	—	0.069	0.068	0.058	0.066	0.095	0.094	0.108
	3. <i>Otus</i>	0.185	0.214	—	0.04	0.045	0.057	0.089	0.091	0.105
	4. <i>Ninox</i>	0.189	0.211	0.159	—	0.055	0.061	0.088	0.089	0.106
	5. <i>Strix</i>	0.135	0.196	0.172	0.193	—	0.049	0.086	0.093	0.107
	6. <i>Asio</i>	0.163	0.205	0.194	0.200	0.179	—	0.091	0.091	0.11
	7. <i>Glaucidium</i>	0.237	0.257	0.253	0.251	0.251	0.253	—	0.118	0.131
Tytonidae	8. <i>Phodilus</i>	0.248	0.257	0.259	0.252	0.257	0.255	0.292	—	0.058
	9. <i>Tyto</i>	0.261	0.272	0.279	0.272	0.276	0.277	0.309	0.195	—

Примечание. Полу жирным шрифтом отмечены максимальные значения *p*-дистанций рода.

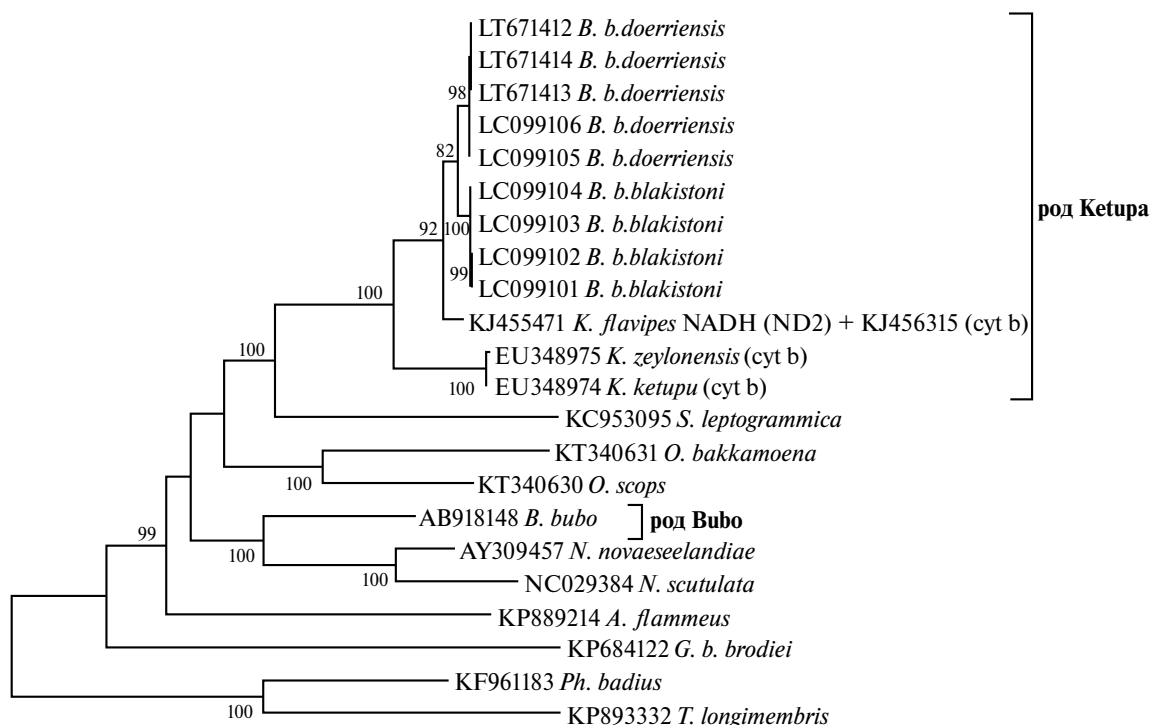
доступа (LT671412–LT671414). Параллельно нашим исследованиям японские коллеги также провели секвенирование полных митохондриальных геномов четырех особей *B. blakistoni* с о. Хоккайдо и двух из Приморья, последовательности выложены в Генбанк и нами включены в данный анализ (LC099101–LC099106). Кроме того, из Генбанка NCBI в анализ взяты полные митохондриальные геномы следующих представителей семейства Strigidae: — *B. bubo* (AB918148), *Otus bakkamoena* (KT340631), *Otus scops* (KT340630), *Ninox novaeseelandiae* (AY309457), *Ninox scutulata* (NC_029384), *Strix leptogrammica* (KC953095), *Asio flammeus* (KP889214), *Glaucidium brodiei brodiei* (KP684122). К сожалению, в Генбанке не оказалось полных митогеномов близкородственных видов из рода *Ketupa*, поэтому для установления связей по митохондриальной ДНК (построения филогенетического дерева) были взяты последовательности гена *cyt b* и NADH *K. flavipes* (KJ456315, KJ455471), *K. zeylonensis* (EU348975) и *K. ketupu* (EU348974). Для оценки генетических параметров эти последовательности не использовались. В качестве внешней группы использованы два представителя семейства Tytonidae — *Phodilus badius* (KF961183) и *Tyto longimembris* (KP893332).

Нуклеотидные последовательности выравнивались в программе ClustalW, предложенной в MEGA6 [14]. Для анализа генетической изменчивости гаплотипического (*H*) и нуклеотидного (π) разнообразия [15] использовали программу DNASP 5.0 [16]. Генетические дистанции (*p*) определены с использованием 2-параметрической модели Кимуры с учетом стандартной ошибки [17] в MEGA6. Количество нуклеотидных замен определено по методу MCL (Maximum Composite

Likelihood) по всем позициям кодонов, включающим транзиции и трансверсии. Нуклеотидные замены и скорость замещения были посчитаны по модели GTR-G-I (General Time Reversible + G + I) (BIC = 208269.43) [18], реализованной в MEGA6. Генетические связи гаплотипов анализировали методом ML. Достоверность ветвей филогенетического дерева тестировали при 500 репликаций.

В результате проведенного секвенирования общая длина полученных после сборки и выравнивания последовательностей составила около 13 тпн (72% митогенома). Анализ полученных митогеномов *B. blakistoni* и последовательностей, взятых из Генбанка, выявил практически полное отсутствие нуклеотидной изменчивости. У 9 птиц обнаружено 8 гаплотипов с отличием в несколько замен на митогеном, что может отражать критическое состояние анализируемой популяции. Нуклеотидная изменчивость генома рыбного филина из Приморья несколько выше, чем у птиц с о. Хоккайдо (0.0005 и 0.0001 соответственно). Внутривидовые *p*-дистанции у *B. blakistoni* составили в среднем 0.008, а дивергенция между материковой и островной популяциями (0.014) на два порядка выше внутривидовой популяционной составляющей.

Межродовые генетические дистанции полных митогеномов в семействе Strigidae сильно варьируют и находятся в пределах 0.135–0.257 (табл. 2). Сравнение наших данных с имеющимися в Генбанке полными митохондриальными геномами 8 представителей семейства Strigidae показало более близкую связь рыбного филина с родом *Strix*, чем с родом *Bubo* (*p*-дистанции 0.135 и 0.151 соответственно, выделены рамкой в табл. 2), что противоречит заключениям, приведенным в последних таксономических сводках [8]. Вышеуказанные



Филогенетические связи *B. blakistoni* с близкими таксонами отряда Strigiformes, построенные по методу максимального правдоподобия (ML), по данным полных митогеномов и гена *cyt b*. В узлах ветвлений указаны значения достоверности при 500 репликаций.

минимальные значения определяют нижнюю границу межродовых дистанций представителей совиных. Анализ отдельных митохондриальных или ядерных генов может давать ложную картину сходства и, следовательно, неверную интерпретацию полученных результатов. Сравнение полных митогеномов обнаружило глубокую дивергенцию обыкновенного и рыбного филина и несомненное генетическое сходство последнего с классическими представителями рода *Ketupa*, что подтверждает необходимость пересмотра систематического положения *B. blakistoni*.

Важно подчеркнуть некоторые побочные результаты нашего исследования. Так, нижняя граница генетических *p*-дистанций между двумя семействами отряда Strigiformes частично перекрывается с межродовыми значениями за счет *p*-дистанций рода *Glaucidium*. Необходимо особо отметить значительную генетическую обособленность этого рода. Его дивергенция с остальными представителями семейства Strigidae находится на уровне межсемейственных значений и даже в некоторых случаях превышает их (в табл. 2 выделены жирным шрифтом). Это указывает на необходимость осуществления полноценной ревизии рода *Glaucidium* по полному митохондриальному геному в целях пересмотра его структуры и положения в составе Strigiformes, что и будет предпринято в последующих работах.

На рисунке представлена схема филогенетических отношений в отр. Strigiformes, построенная

на митогеномах представителей двух семейств. Все виды *Ketupa* объединились в одной кладе с тремя филогенетическими линиями: *blakistoni*, *flavipes* и *zeylonensis*—*ketupu* с высокой достоверностью в узлах ветвлений. Несмотря на то, что в анализе полные митогеномы *B. blakistoni* сопоставлялись с отдельными последовательностями (*cyt b* и NADH) митогеномов трех других представителей бывшего рода *Ketupa*, они однозначно отнесены к данному кластеру. Причем наиболее близким к *blakistoni* видом оказался гималайский рыбный филин *K. flavipes*, ареал которого наиболее близок географически. Неожиданная близость митохондриальных геномов рыбных филинов и малайской неясыти *S. leptogrammica*, вероятно, является результатом малого количества видов семейства совиных, использованных в нашем исследовании. Митогеном обыкновенного филина отнесен к другой значительно удаленной филогенетической линии, в которую вошли иглоногие совы *N. novaeseelandiae* и *N. scutulata*. Особое положение, промежуточное между семействами Strigidae и Tytonidae, занял ошейниковый сычик *G. b. brodiei*. *p*-дистанции между ними и другими представителями Strigidae столь же велики, как и с представителями семейства Tytonidae (см. табл. 2). Межродовые генетические дистанции в обоих семействах примерно одинаковые.

Как показано по микросателлитному анализу, популяция *B. blakistoni* с о. Хоккайдо имеет низкое генетическое разнообразие, которое и в наше

время продолжает снижаться (некоторые аллели были утрачены в последние три десятилетия). Снижение генетических показателей, возможно, стало результатом инбридинга и / или генетического дрейфа в популяции о. Хоккайдо [10]. В отличие от данных Винка и др. [9], исследование контрольного региона митохондриальной ДНК показало, что виды, ранее относимые к роду *Ketupa*, образуют монофилетическую группу [11]. В третьей области контрольного региона у четырех из девяти исследованных форм (*blakistoni*, *flavipes* и *ketupu* — в кладе *Ketupa* и *lacteus* — в кладе *Bubo*) обнаружен длинный кластер из 20–25 tandemных повторов, состоящих из 77 или 78 пн, что увеличивает общую длину D-петли от 3.0 до 3.8 тпн. D-петля *B. lacteus* является самой длинной (3.8 тпн) из зарегистрированных на сегодняшний день у позвоночных. Наличие повторяющегося кластера во всех трех исследованных видах в кладе *Ketupa* предполагает их происхождение от общего предка, который также имел эти кластеры, в то время как реконструкция максимальной экономии демонстрирует паралогизм в этих группах и независимое происхождение этих повторов [11].

Необходимо отметить, что у отдельных митогенов из генбанка NCBI нами обнаружены значительные несоответствия по некоторым участкам последовательностей относительно общей структуры мтДНК. Например, *S. leptogrammica* (KC953095) имеет участки в пределах нуклеотидных позиций 13100–13160 и 14610–14969, резко отличающиеся от соответствующих участков митогенов других представителей этого отряда. Это, вероятно, является следствием ошибок сборки данной последовательности. После исключения из анализа вышеупомянутых позиций во всех использованных образцах длина ветви *S. leptogrammica* незначительно уменьшилась, однако это не изменило общую картину филогенетических связей между кладой *B. blakistoni* и *S. leptogrammica*. Анализ последовательностей полных митохондриальных геномов, собранных на секвенаторах нового поколения и представленных в разные Генбанки, иногда выявляет некорректность их сборки, в результате которой появляются сиквенсные “химеры”, например, *S. leptogrammica* (KC953095), *Caprimulgus indicus* (KM272749), *Sternula albifrons* (KT350612). Они хранятся в Генбанке (NCBI) в качестве эталонов и опубликованы в зарубежных журналах, таких как, например, “Mitochondrial DNA”. Использование “химерных” митогенов в анализе приводит к искажению результатов. Ответственность за достоверность размещаемой в генбанках информации лежит на ее авторах.

Таким образом филогенетические построения, базирующиеся на анализе отдельных генов и полного митогенома, дают различную картину. В случае с рыбным филином “митогеномный” подход

возвращает нас к более ранней систематике [4, 6], в которой форма *blakistoni* была отнесена к самостоятельному роду *Ketupa*. Полученные результаты дают основание для пересмотра последней предложенной систематики рода *Bubo* [12]. Кроме того, глубокая дивергенция митогенома *G. b. brodiei* от остальных представителей семейства Strigidae и значительные морфологические отличия указывают на необходимость проведения ревизии рода *Glaucidium* и его выведения в отдельное семейство.

Авторы выражают благодарность А.П. Крюкову за помощь в редактировании рукописи.

Работа выполнена при поддержке Программы Дальний Восток, проект 15-I-6-079.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. BirdLife International. Threatened birds of Asia: the BirdLife International Red Data Book. Cambridge, UK: BirdLife Internat. 2001. 3038 p.
2. Seebohm H. Further Contributions to the Ornithology of Japan // Ibis. 1884. V. 26(1). P. 30–43.
3. Taczanowski L. Faune Ornithologique de la Siberie orientale // Memoris de l'Academie Imperiale des Sciences de St. Petersburg. 1891–1893. Ser. 7. V. 39. 1278 p.
4. Dementiev G.P. Sur la position systematique de *Bubo doerriesi* Seebohm // Alauda. 1933. V. 5. P. 383–388.
5. Neumann O. Bulletin of the British Ornithologists' Club. 1935. V. 55. 138 p.
6. Vaurie C. The Birds of the Palearctic Fauna. Non-Passeriformes. L.: H.F. & G. Witherby, 1965. 763 p.
7. König C., Weick F., Becking J.H. Owls. A guide to the owls of the world. Sussex: Pica Press, 1999. 462 p.
8. Del Hoyo J., Elliot A., Sargatal J. (eds). Handbook of the Birds of the World. Barcelona: Lynx Edicions, 1999. V. 5. 759 p.
9. Wink M., El-Sayed A.-A., Sauer-Gürth H., Gonzalez J. Molecular phylogeny of owls (Strigiformes) inferred from DNA sequences of the mitochondrial cyt b and the nuclear RAG-1 gene // Ardea. 2009. V. 97. P. 581–591.
10. Omote K., Nishida C., Takenaka T., Masuda R. Temporal changes of genetic population structure and diversity in the endangered Blakiston's fish owl (*Bubo blakistoni*) on Hokkaido Island, Japan, revealed by microsatellite analysis // Zool. Sci. 2012. V. 29. P. 299–304.
11. Omote K., Nishida Ch., Dick M.H., Masuda R. Limited phylogenetic distribution of a long tandem-repeat cluster in the mitochondrial control region in *Bubo* (Aves, Strigidae) and cluster variation in Blakiston's fish owl (*Bubo blakistoni*) // Mol. Phyl. Evol. 2013. V. 66. P. 889–897.
12. The Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World. 4th ed / Eds Dickinson E.C., Christidis L. Eastbourne, U.K.: Aves Press, 2014. V. 2. 752 p.

13. *Ellegren H.* First gene on the avian W chromosome (CHD) provides a tag for universal sexing of non-ratite birds // *Proc. Royal Soc. London B.* 1996. V. 263. P. 1635–1641.
14. *Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al.* MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. P. 2725–2729.
15. *Nei M.* Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.
16. *Librado P., Rozas J.* DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // *Bioinformatics.* 2009. V. 25. P. 1451–1452.
17. *Kimura M.* A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // *J. Mol. Evol.* 1980. V. 16. P. 111–120.
18. *Hasegawa M., Kishino H., Yano T.* Dating the human–ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA // *J. Mol. Evol.* 1985. V. 22. P. 160–174.

Whole Mitochondrial Genome of Blakiston's Fish Owl *Bubo (Ketupa) blakistoni* Suggests Its Redescription in the Genus *Ketupa*

L. N. Spiridonova* and S. G. Surmach

Federal Scientific Center of Biodiversity of the East Asia Terrestrial Biota, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia

*e-mail: spiridonova@biosoil.ru

The paper reports the whole mitochondrial genome (approximately 13 kb) sequencing in three individual representatives of the continental population of Blakiston's fish owl *Bubo blakistoni* (Seebohm 1884), the IUCN Red List species in the family Strigidae. The analysis revealed extremely low mtDNA genetic diversity, which may be indicative of the critical state of the studied population. The phylogenetic analysis performed on the basis of the whole mitochondrial genome sequencing data showed that Blakiston's fish owl is more closely related to the *Strix* genus than to the *Bubo* genus with the genetic divergence between *blakistoni* and either of the two genera being statistically significant and close to intergeneric level (*p*-distance of 0.135 in the case of the *Strix* genus and *p*-distance of 0.151 in the case of the *Bubo* genus). The results obtained in this work do not match the published data on the mitochondrial cytochrome *b* gene and the nuclear RAG-1 gene, which laid the basis for the assignment of Blakiston's fish owl to the *Bubo* genus in the recent taxonomic bulletins, but rather support the earlier taxonomic classification according to which all four Asian forms, *blakistoni*, *flavipes*, *zeylonensis*, and *ketupu*, constituted a separate *Ketupa* genus.

Keywords: Blakiston's fish owl, *Bubo (Ketupa) blakistoni*, mitochondrial genome, phulogeny, Strigidae.