

МЕТОДИКА ЗООЛОГИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

УДК 599.74:59.08+577.29

ПОВЫШЕНИЕ ТОЧНОСТИ МЕТОДА ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ
КУННЫХ ПО МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ИЗ ЭКСКРЕМЕНТОВ

© 2015 г. О. С. Колобова¹, Н. Я. Поддубная², Д. А. Сенина²,
Н. П. Коломийцев², О. П. Малюченко¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва 127550, Россия

²Череповецкий государственный университет, Череповец 162600, Россия

e-mail: poddoubnaia@mail.ru

Поступила в редакцию 19.12.2014 г.

Предложено совершенствование способа видовой идентификации животных семейства кунных (Mustelidae) методом молекулярно-генетического анализа ДНК, выделенной из экскрементов. Используются новые праймеры для амплификации и секвенирования фрагмента мтДНК, модифицирована методика выделения ДНК из экскрементов кунных, показана успешная идентификация на образцах, заведомо принадлежащих к тому или иному виду, и на природных образцах. Видовую принадлежность удается установить более чем в 80% случаев, что является высоким показателем в исследованиях такого рода. Использование новых более удачных праймеров позволит упростить процедуру исследования кунных Евразии.

Ключевые слова: анализ экскрементов, видовая идентификация кунных, митохондриальная ДНК, семейство кунных, европейская норка

DOI: 10.7868/S0044513415120089

Семейство куньи Mustelidae, являясь самым многочисленным семейством хищных млекопитающих, включает в себя 59 видов (Koepfli et al., 2008), из которых 18 видов обитают на территории Российской Федерации (Гептнер и др., 1967). Многие виды – соболь (*Martes zibellina*), лесная куница (*Martes martes*), колонок (*Mustela sibirica*), американская норка (*Neovison vison*), горноста́й (*Mustela erminea*) – продолжают оставаться важными объектами пушного промысла, другие – европейская норка (*Mustela lutreola*), перевязка (*Vormela peregusna*) – стали редкими и даже вымирающими и сегодня внесены в Красную Книгу МСОП (The IUCN..., 2013). Для рационального ведения охотничьего хозяйства, охраны и восстановления численности редких видов необходимо своевременно получать объективную информацию о численности популяций, пространственном распределении особей и изменении ареалов. Однако при использовании традиционных методов исследований (учетов по следам, отловов в специальные ловушки и т.п.) необходимо большое количество квалифицированных исполнителей, значительные финансовые затраты, и даже это не всегда обеспечивает необходимую точность идентификации близких видов. К тому же некоторые исследования популяционных харак-

теристик основываются на изъятии животных из природы, что часто оказывается недопустимым по причине симпатрического обитания промысловых видов и видов, нуждающихся в охране. Выходом в данной ситуации становится использование молекулярно-генетических методов исследований для неинвазивно коллектируемых образцов тканей животных и остатков их жизнедеятельности (Murakami, 2002; Fernandes et al., 2008; Рожнов и др., 2008).

Наибольшее развитие для видовой идентификации кунных получил метод секвенирования участка D-петли мтДНК (например, Murakami, 2002; Рожнов и др., 2008). Кроме того, был предложен метод видоспецифичной ПЦР коротких участков гена цитохрома В (Fernandes et al., 2008). В наших исследованиях мы воспроизвели оба эти метода, оценили их эффективность и попытались усовершенствовать технику видовой идентификации кунных по их экскрементам, предложив модифицированную методику выделения ДНК, оригинальные праймеры и условия амплификации, позволяющие достичь необходимого для практики уровня успешно определенных образцов.

IMPROVEMENT OF THE METHOD FOR MUSTELIDAE SPECIES IDENTIFICATION BY DNA ISOLATED FROM FECES

O. S. Kolobova¹, N. Ya. Poddubnaya², D. A. Senina², N. P. Kolomiytsev², O. P. Malyuchenko¹

¹All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow 127550, Russia

²Cherepovets State University, Cherepovets 162600, Russia

e-mail: poddoubnaia@mail.ru

An improved method for the Mustelidae species identification using mtDNA isolated from the samples of feces is proposed. New primers for the amplification and sequencing of a fragment of mtDNA were used; a methodology for the DNA extraction from mustelid feces was developed; a successful identification using pre-known samples and samples from the wildlife was shown. The species was identified in more than 80% of the samples, which is the highest rate in such studies. The use of new more successful primers will permit to simplify investigation of Eurasian Mustelidae.

Keywords: fecal analysis, species identification of Mustelidae, mtDNA, Mustelidae, European mink