

АПРОБАЦИЯ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ОБРАЗЦОВ ИРБИСА (*UNCIA UNCIA*)

Звычайная Е.Ю.¹, Куксин А.Н.², Поярков А.Д.¹, Рожнов В.В.¹

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва
Государственный природный биосферный заповедник «Убсунурская котловина», Кызыл
cernus@yandex.ru

Молекулярно-генетическая идентификация состоит из двух этапов и включает первичное установление видовой принадлежности образца ткани животного или следов его жизнедеятельности и последующую индивидуализацию. В данном случае использовались образцы, полученные неинвазивными методами – шерсть и экскременты.

Всего было исследовано 117 образцов (10 образцов шерсти и 107 – экскрементов), собранных в природе (Тува, Северная Монголия, Северная Индия, Киргизия), для определения их принадлежности ирбису (*Uncia uncia*). В качестве положительного контроля использовали 4 образца, принадлежащие особям ирбиса из Московского зоопарка. Экстракция ДНК осуществлена с использованием специальных наборов реактивов для выделения из экскрементов (QIAamp DNA Stool Mini Kit, QIAGEN) и шерсти («Изоген», Москва). Для определения видовой принадлежности образцов проведена амплификация и последующее секвенирование фрагментов гена цитохрома b с праймерами GLU, CB2 (H15149) (Ozawa et al., 1997), CYTB-SCT-F, CYTB-SCT-R и CYTB-SCT-PUN-F, CYTB-SCT-PUN-R (Janecka et al., 2008). Для индивидуальной идентификации особей ирбиса выбраны 8 микросателлитных локусов (Janecka et al., 2008): PUN229, PUN124, PUN935, PUN1157, PUN894, PUN132, PUN272, PUN834, которые расположены в разных хромосомах и содержат преимущественно динуклеотидные повторы $(CA)_n/(GT)_n/(CT)_n/(GA)_n$.

Суммарно вид животного был определен для 100 образцов, собранных в природе. Амплификация исследуемого гена не прошла в 16 пробах, что свидетельствует о деградации ДНК. Из 100 образцов 48 были определены как лисица обыкновенная (*Vulpes vulpes*), 6 – как волк (*Canis lupus*), 5 – как рысь (*Lynx lynx*) и, наконец, 41 образец – как ирбис (*Uncia uncia*). Среди проб из Монгун-Тайгинского района Тувы было обнаружено 12 образцов ирбиса, 1 – волка, 28 – лисиц; в пробах из Эрзинского и Терехольского районов – 2 образца ирбиса, 5 – рыси, 2 – волка, 4 – лисицы; в пробах из Убсунурского аймака Монголии – 24 образца ирбиса, 16 – лисицы, 1 – волка. Два образца шерсти из долины Спангу (Северная Индия) и один из Киргизии были идентифицированы как ирбис, 1 образец шерсти и 1 экскремент из Киргизии – как волк.

Предварительные результаты микросателлитного анализа показали пригодность 27 образцов (25 – из Тувы и Монголии, 2 – из Индии) для дальнейшего анализа ядерной ДНК – для них получен амплификат по всем 8 используемым локусам. Семь образцов (из Тувы и Киргизии) успешно прошли амплификацию по нескольким локусам и также включены в анализ, семь остальных будут изъяты из исследования ввиду плохой сохранности яДНК в пробе. Все представленные микросателлитные локусы полиморфны, для каждого из них в исследуемой выборке выявлено не менее 4 аллелей: для PUN894 – 5 аллелей, PUN132 – 8, PUN272 – 4, PUN834 – 4, PUN229 – 5, PUN124 – 4, PUN935 – 4, PUN1157 – 4.

Полученные результаты позволяют констатировать возможность видовой и индивидуальной идентификации особей по образцам экскрементов и шерсти апробированными методами.

Работа выполнена на базе Кабинета методов молекулярной диагностики ИПЭЭ РАН при финансовой поддержке ОАО «Техснабэкспорт» и Русского географического общества по Программе изучения и мониторинга популяции ирбиса (снежного барса) Южной Сибири в рамках Постоянно действующей экспедиции РАН по изучению животных Красной книги Российской Федерации и других особо важных животных фауны России.