

ЭКОЛОГИЯ

УДК 577.21:599.742.4

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ИЗУЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ КУНЬИХ НА СРЕДНЕМ УРАЛЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДНК ИЗ ЭКСКРЕМЕНТОВ

В. Г. Монахов

Институт экологии растений и животных УрО РАН, 620144, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202; mon@ipae.uran.ru; (343)2103855

Дается обзор основных результатов исследований современного распространения промысловых видов куньих на Среднем Урале (Свердловская область). В работе применен новый для данного региона метод – распознавание видов с помощью ПЦР-анализа ДНК, выделенной из экскрементов животных. Результат исследования биопроб выявил их видовую принадлежность: американская норка 78%, выдра (8%), куница лесная (4%) и соболь (10%). Общая доля успешных определений оказалась равной 78.13%, что превышает результаты, полученные с использованием ранее предложенных методов.

Ключевые слова: куницеобразные; распространение; Свердловская область; генетический анализ.

Введение

Изучению территориального распределения видов семейства куньих Mustelidae в последние годы не уделяется должного внимания, несмотря на их ценность как пушно-мехового ресурса. Проводимые на постоянной основе ежегодные учеты по белой тропе не решают проблему, поскольку реально зверьки по территории распределены неравномерно. Да и качество, и достоверность зимних учетов оставляют желать лучшего, хотя Министерство природных ресурсов РФ старается периодически вносить корректировки и улучшения в методику их проведения.

Планомерных исследований мустелид на Среднем Урале, с закрытием в начале 1990-х гг. научного отдела Уральского филиала ВНИИОЗ, практически не ведется. Остаются лишь поредевшие научные отделы двух заповедников, ведущие работы в рамках летописи природы. С 2012 г. нами проводятся изыскания по теме Куньи Среднего и Южного Урала: современный статус и взаимоотношения между видами в рамках программы Президиума РАН (Объединенный ученый совет по наукам о Земле), а ныне - программы фундаментальных исследований Президиума УрО РАН. С этой работой частично соприкасаются исследования по начавшемуся в 2013 г. проекту РФФИ-Урал по теме Биоценологическое и охотхозяйственное

значение соболя, куницы и их гибрида кидуса на Урале.

Материал и методы исследования

Сбор биоматериала, проб экскрементов мустелид, проводился на реках Свердловской области, в шести административных районах, список которых приведен в табл. 1 и показан на рисунке, в 2012–2014 гг. в летне-осенний сезон при прохождении по поймам и руслам естественных. Собирались также образцы, найденные в припойменных стациях. За три летних сезона собрано 133 образца. Большая часть из них (64) была отправлена на исследование видовой принадлежности в ЗАО Синтол (Москва). Пробы за 2014 г. (57 экз.) еще не обработаны.

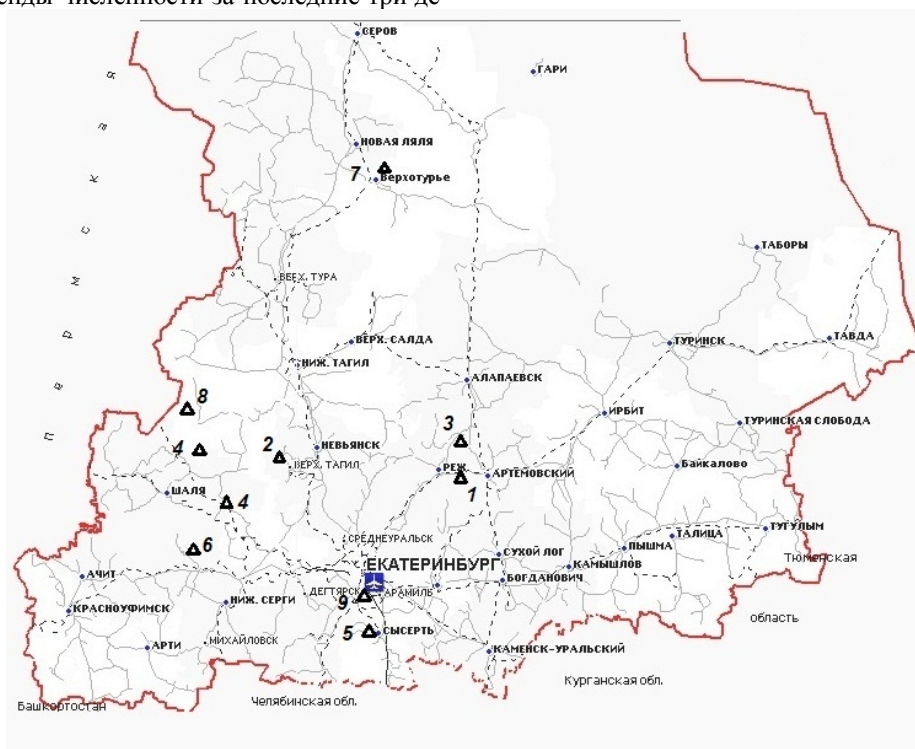
О возможности видовой идентификации куньих посредством анализа ДНК экскрементов на основе видоспецифичной ПЦР, а также с помощью частичного секвенирования митохондриальной ДНК сообщалось ранее [Murakami, 2002; Kurose, Masuda, Tatara, 2005; Рожнов и др., 2008; Fernandes et al., 2008;]. Однако при попытке воспроизведения данных методик были вскрыты их недостатки, выразившиеся в длительности и трудоемкости процесса, наличии спорных случаев при идентификации вида, низком проценте успешных определений. Была предложена усовершенствованная по сравнению с описанной В.В. Рожновым с соавторами [2008] технология определения видов

вой принадлежности экскрементов мелких куньих [Колобова и др. 2014].

Результаты исследования и их обсуждение

В 2011–2014 гг. нами получены сведения о численности мустелид (соболь *Martes zibellina* Linnaeus 1758, куница *Martes martes* Linnaeus 1758, колонок *Mustela sibirica* Pallas 1773, горностаи *Mustela erminea* Linnaeus 1758, выдра *Lutra lutra* Linnaeus 1758), в Свердловской области за 1980–1990-е гг. и в 2000–2013 гг. Выявлены многолетние тренды численности за последние три де-

сятилетия, а также оценены основные факторы, определяющие их численность и распространение в регионе [Monakhov, 2011a, 2011b, 2012]. Проведены экспедиционные работы в районах Свердловской области: Сысертском, Шалинском, Артемовском, Кировградском, Режевском и МО Екатеринбург с обследованием 28 рек и речек для оценки распространения околородных хищников с предполагаемым обитанием европейской норки *Mustela lutreola* Linnaeus 1761 (табл. 1). Собраны 133 образца экскрементов, которые планируется исследовать на принадлежность к виду мустелид посредством анализа ДНК (табл. 1).



Участки сбора биопроб видов Mustelidae в Свердловской области (2012–2014 гг.).

Номера соответствуют приведенным в табл. 1

Таблица 1

Результаты обследования рек Свердловской обл. на присутствие видов Mustelidae в 2012–2014 гг.

Районы, реки	Обитание мустелид (по следам)			Сбор биопроб экскрементов		
	2012	2013	2014	2012	2013	2014
1. Артемовский район						
р. Бобровка	+	+		+	+	
р. Бродовка	+	+		-	+	
р. Грязнушка		+			-	
2. Кировград (Висимский заповедник)						
р. Медвежка	+	+		+	-	
р. Росья	+	+		-	+	
р. Дудка	+	+		-	+	
3. Режевской район						
р. Сычевка	+	+		+		
р. Рассоха	+	+		-	+	
р. Арамашка		+			+	

Окончание табл. 1

Районы, реки	Обитание мустелид (по следам)			Сбор биопроб экскрементов		
	2012	2013	2014	2012	2013	2014
4. Шалинский район						
р. Чусовая (у Староуткинска)		+			+	
р. Дарья		+			+	
р. Ольховка		+			+	
р. Мартьяниха (у с. Чусовое)		-			-	
р. Кашка			+			+
р. Токовая			+			+
р. Галая			+			+
5. Сысертский район						
р. Черная		+			+	
6. Нижнесергинский район						
р. Лакташ			+			+
р. Ирмиз			+			+
р. Ирмизенок			+			+
р. Ключевая			+			+
7. Верхотурский район						
р. Калачик			+			+
р. Мостовая			+			+
8. Пригородный район						
р. Еква			+			+
р. Межевая Утка			-			-
р. Ельничный Лог			-			-
9. Екатеринбург						
р. Шиловка		+			-	
р. Патрушиха		+			-	

Исследование собранных за два года образцов завершено в декабре 2013 г., его результаты приводятся в табл. 2. Всего по результатам определения (номинально) зафиксировано наличие в про-

бах образцов, принадлежащих четырем видам: кунице лесной, соболу, выдре, норке американской *Neovison vison* Schreber 1777.

Таблица 2

Результаты видовой идентификации образцов экскрементов мустелид Свердловской области

Год сбора	Исследовано	Определено				Не определено
		<i>Mm</i>	<i>Mz</i>	<i>Ll</i>	<i>Nv</i>	
2012	8	1	1	1	4	1
2013 (1)	23	1	4	3	12	3
2013 (2)	33	0	0	0	23	10
Всего	64	2	5	4	39	14

Латинскими буквами обозначены виды: *Mm* – куница лесная, *Mz* – соболь, *Ll* – выдра, *Nv* – норка американская.

Основной причиной неопределения вида является невозможность выделения ДНК из образца, обусловленная, прежде всего, качеством взятой пробы. Часто пробы подвержены воздействию разных природных факторов, и на момент взятия часть их оказывается непригодна для генетических анализов, что не удается выявить сразу.

По результатам генетического анализа пробы 2012–2013 гг. принадлежали, в основном, американской норке - 78% от числа положительных результатов анализа (табл. 2), выдре (8%), кунице лесной (4%) и соболу (10%). Общая доля успешных определений оказалась равной 78.13%, что надо признать довольно успешным результатом по сравнению, например, с методом, описанным В.В.

Рожновым с соавторами [Рожнов и др., 2008].

Необходимо сделать уточнение о соболе и кунице. Районы сбора биопроб не входят в ареал вида *M. zibellina*, а все и целиком расположены на территории, населенной исключительно лесной куницей *M. martes*. И хотя в последние годы неоднократно отмечались случаи выхода соболей далеко за пределы области распространения вида [Монахов, 2010], мы не склонны полностью доверять результатам анализов. Дело в другом. Известно [Murakami, Asano, Ohtaishi, 2004; Li et al., 2010], что соболь генетически очень близок к кунице в целом, и по исследуемому участку ДНК в частности. Особенно это характерно для Урала, где ареалы двух видов налегают друг на друга [Monakhov 2005;

Рожнов и др., 2008]. В данном случае разница составляла 1 нуклеотид, и ее нельзя признать достоверной. Поэтому все случаи определений видовой принадлежности образцов соболю надо относить к кунице лесной.

В таблице 3 представлено территориальное распределение исследованных образцов с установленной видовой принадлежностью.

Таблица 3

Результаты обследования рек Свердловской обл. на присутствие мустелид в 2012 и 2013 гг.

Реки	Обитание мустелид по результатам анализов биопроб			
	Mm	Mz	LI	Nv
Бобровка		+		+
Бродовка				+
Медвежка		+	+	+
Росья		+		+
Дудка			+	
Сычевка	+			
Рассоха				+
Арамашка				+
Дарья			+	+
Ольховка	+			
Черная				+

Кроме задач выявления хронологического распределения видов мустелид по территории Свердловской области мы пытаемся решить и другую важную проблему, касающуюся обитания на Среднем Урале европейской норки. Известно, что в последние десятилетия область обитания этого вида значительно сократилась. С 1994 г. европейская норка числится в красном списке (IUCN Red List) Международного союза охраны природы (МСОП) в категории «endangered», а с 2011 г. категория была повышена до «critically endangered» - «в критическом состоянии или на грани исчезновения». Она занесена также в Красные книги или взята под охрану в 32 субъектах Российской Федерации.

В недавней нашей публикации были описаны изменения ареала вида в последние 80 лет [Монахов, 2013]. Достоверных данных, свидетельствующих об обитании европейской норки за Уралом, в последние 20 лет нет. Одним из последних свидетельств обитания европейской норки является нахождение в 1994 г. сотрудником института экологии растений и животных Н.Г. Ерохиным почти полного скелета зверька на р. Ивдель в 8 км выше г. Ивдель.

Поэтому наши ожидания от проводимой в настоящее время работы связаны еще и с возможным прояснением судьбы европейской норки как вида на Среднем Урале. На данный момент, проведенное исследование может свидетельствовать лишь о том, что на исследованной нами территории области зверек не обнаружен. Однако в дальнейшем, с расширением площади поисков, вероятность обна-

ружения остаточных мест присутствия зверька в пределах конкретного региона, Свердловской области, будет расти. Известно, что в настоящее время европейская норка обитает к западу от Свердловской области – на территории Башкортостана, Удмуртии, Пермского края. Поэтому поиск у западных границ области в обозначенном аспекте может быть более результативным.

Заключение

В результате проведенных работ получены сведения о численности мустелид в Свердловской области за 1980–2013 гг., выявлены многолетние тренды роста численности за последние три десятилетия, а также оценены основные факторы, определяющие их численность и распространение в регионе. Применение анализа ДНК из экскрементов позволило подтвердить распространение куницы, норки американской, выдры в центральной части области и предварительно отрицать обитание здесь норки европейской.

Работа выполнена в рамках проекта Программы фундаментальных исследований УрО РАН (проект 12-П-45-2002 Куньи Среднего и Южного Урала: современный статус и взаимоотношения между видами) и при частичной поддержке РФФИ и администрации Свердловской области (проект 13-04-96046 Биоэкологическое и охотхозяйственное значение соболя, куницы и их гибрида кидуса на Урале).

Автор благодарит О.С. Колобову за проведение лабораторных анализов по определению видов куньих.

Библиографический список

- Колобова О.С. и др. Изучение видового состава куньих на исследуемых территориях по анализу митохондриальной ДНК из экскрементов животных // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014. (в печати.)
- Монахов В.Г. О случаях добычи соболей за пределами ареала на юге Свердловской области зимой 2009/2010 гг. // Зоологический журнал. 2010. Т. 89, № 11. С. 1394–1397.
- Монахов В.Г. Европейская норка в Зауралье: реальность или миф? // Тобольск научный – 2013: материалы X Всерос. науч.-практ. конф. Тобольск, 2013. С. 143–146.
- Рожнов В.В. и др. Использование молекулярно-генетических методов для видовой идентификации куньих по продуктам их жизнедеятельности // Экология. 2008. № 1. С. 73–76.
- Fernandes C.A. et al. Species-specific mitochondrial DNA markers for identification of non-invasive

- samples from sympatric carnivores in the Iberian Peninsula // *Conserv. Genet.* 2008(9). P. 681–690.
- Kurose N., Masuda R., Tatara M.* Fecal DNA Analysis for Identifying Species and Sex of Sympatric Carnivores: A Noninvasive Method for Conservation on the Tsushima Islands, Japan // *Journal of Heredity.* 2005. Vol. 96(6). P. 688–697.
- Li B. et al.* A PCR-RFLP-based method to distinguish sable (*Martes zibellina*) and pine marten (*Martes martes*) // *Acta Theriol.* 2010. Vol. 56(3). P. 283–288.
- Monakhov V.G.* Über den gegenwärtigen Zustand der Populationen von Arten der Gattung *Martes* in der Transgressionszone der Areale im Mittelural // *Beitraege zur Jagd- und Wildforschung*, 2005 (30). S. 331–335.
- Monakhov V.G.* Changes of *Martes* species numbers in the Middle Urals over 20 years. *Martes Working Group Newsletter.* 2011a. 18. P. 37–40.
- Monakhov V.G.* Sable and marten population increase: Is it possible to raise game quotas? *Martes Working Group Newsletter.* 2011b. 18. P. 41–42.
- Monakhov V.G.* *Martes* and other mustelids in Southern and Middle Urals. *Martes Working Group Newsletter.* 2012. 19. P. 42–45.
- Murakami T.* Species identification of Mustelids by comparing partial sequences on mitochondrial DNA from fecal samples // *J. Vet. Med. Sci.* 2002. Vol. 64 (4). P. 321–323.
- Murakami T., Asano M., Ohtaishi N.* Mitochondrial DNA variation in the Japanese marten *Martes melampus* and Japanese sable *Martes zibellina* // *Japan. Journ. of Veterin. Research.* 2004. Vol. 51(3-4). P. 135–142.

Поступила в редакцию 15.10.2014

Using the pcr-dna analysis to investigate the diversification of mustelids in the Middle Urals

V. G. Monakhov, Prof. Dr. of biology, Leading Scientist

Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of RAS, 202, 8 Marta Street, Yekaterinburg, Russia, 620144; mon@ipae.uran.ru; (343)2103855

We provide an overview of main results of searching the present distribution of furbearer mustelid species in the Middle Urals (Sverdlovsk province). In this project we apply a new method for the region - recognizing species by PCR analysis of DNA from animal feces. Biotest result gave the species determination: 78% of American mink, otter (8%), pine marten (4%) and sable (10%). Overall success definition rate was 78.13% that exceeds the results obtained using previously proposed methods. We reaffirm the distribution otters, martens, American minks, but have not found at least one of the European mink.

Key words: mustelid species; distribution; Sverdlovsk region; genetic analysis.

Монахов Владимир Генрихович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник
ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург

