

Генетическая паспортизация черноморских афалин *T. truncatus ponticus* в дельфинариях Крыма

Илларионова Н.А., Кривохижин С.В., Сорокин А.Г.
ina-u@mail.ru

ФГБУ ВНИИ Экология



Цель работы

Разработка методики, необходимой для совершенствования контроля и соблюдения природоохранного законодательства в дельфинариях, путём генетической идентификации животных.



Материалы

В июле 2020 в трёх дельфинариях: "Аквамарин" (Евпатория), "Нептун" (Донузлав) и Карадагской научной станции - взят материал от 10 черноморских афалин. У всех животных отобраны соскобы эпидермиса и буккальные мазки, у одного - дополнительно кровь, для контроля методики.

Для сравнения исследованы 9 музейных образцов от черноморских афалин, добытых в разные годы (начиная с 1973), любезно предоставленные Зоомузеем МГУ.

Анализ проводился в НМЦ «Биоразнообразии» ВНИИ Экология.

Методы

Для индивидуального опознавания выбраны два комплексных метода: участок мтДНК (контрольный регион) и набор тандемных фрагментов, выявляемый с помощью 8 пар праймеров.

Экспертизу тандемных повторов для каждого образца проводили в одной реакции секвенирования.

Использовали набор из трех меченных флюоресцентных красителей

Праймеры для генотипирования черноморской афалины по контрольному региону мтДНК

праймер	последовательность
M13Dlp1.5	(5'-TGTA AACGACAGCCAGTTCACCCAAAGCTGRARTTCTA-3')
Dlp8	(5'-CCATCGWGATGTCTTATTTAAGRGGAA-3')

Характеристики праймеров использованных для микросателлитного анализа

Локус	праймеры	T °C	Фрагмент\ (число аллелей)
1	GAGTGAACATCAGTATCAAGAGGTGA GTCAAGGTTTGAATTTGTGTGAG	50	165–166 (2)
2	GCGTCACCATGATTTCTGTAGG CCAAGGTACTTTCAAGTTAGCCAC	51	188–192 (4)
3	GCCCTCACGTTTCATTCATGTTGTT CCGTGTTCACTCCAGCATTATTTCCACA	55	207–267 (16)
4	GCACGGGAACAGACTGATG GTGCTCCTGCGAGGAATAGA	55	219–295(30)
5	GATTGTGCAAATGGAGACA TTGAGATGACTCCTGTGGG	51	236–260 (9)
6	GGTCCTCCTGGTTTTTACCTG GACCAGTTGGTTGTGACTGG	55	113-121 (26)
7	TGCACTGTAGGGTGTTTCAGCAG CTTAATTGGGGGCGATTTAC	55	155–163 (6)
8	AGCGGATTTGACTGAGGAAA GGCTGTTTCTGAGCCAGTTT	55	312–406(21)

При адаптации методики использовались, в том числе, следующие источники:

1 S. Caballero V. Islas-Villanueva G. Tezanos-Pinto S. Duchene A. Delgado-Estrella R. Sanchez-Okrucky A. A. Mignucci-Giannoni

Phylogeography, genetic diversity and population structure of common bottlenose dolphins in the Wider Caribbean inferred from analyses of mitochondrial DNA control region sequences and microsatellite loci: conservation and management implications

October 2011 <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2011.00493.x>

2 А.А. Сазанов, Д.О. Виноходов, А.В. Попов

Разработка технологий генотипирования черноморской афалины. Известия. Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 2017

Авторы выражают благодарность всем лицам, принимавшим участие и оказавшим неоценимую поддержку, для выполнения работы.

