

Изучение распространения куньих на Южном Урале с помощью неинвазивных методов

Н. В. КИСЕЛЕВА, П. А. СОРОКИН

*Ильменский государственный заповедник им. В. И. Ленина УрО РАН
456317, Миасс, Челябинская область
E-mail: natakis17@gmail.com*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
119071, Москва, Ленинский просп., 33
E-mail: molecoldna@gmail.com*

АННОТАЦИЯ

Использование неинвазивных методов (опросы, сбор экскрементов, анализ ДНК, съемки фотоловушками) позволило выявить наиболее широко распространенные виды куньих, оценить характер их размещения на территории региона. Два вида куньих – американская норка и лесная куница наиболее обычны на Южном Урале. Американская норка в летне-осенний сезон больше тяготеет к ручьям, впадающим в крупные реки, лесная куница чаще встречается по берегам лесных ручьев и рек с шириной русла не более 3 м. В обычных условиях между различными видами куньих существует тенденция разделения пространства, в критических – на берегах водоемов возникают многовидовые сообщества, в которых взаимное избегание достигается за счет разделения суточной активности.

Ключевые слова: неинвазивные методы, Южный Урал, американская норка, лесная куница, пространственное размещение, фотоловушки.

Решение проблемы сохранения биологического разнообразия в том или ином регионе требует знаний о составе фауны, взаимоотношениях видов и их количественных характеристиках. Для получения таких сведений необходимо использование методов с минимальным вмешательством в сообщества животных и влиянием на поведение животных.

До недавнего времени для получения информации о численности и распространении большинства видов охотничьих животных использовался метод зимнего маршрутного учета по следам (ЗМУ), проведение троплений суточных наследов. Однако для учета редких видов, а также для труднодоступной горной местности этот метод малоэффективен, затруднен или невозможен. Кроме того,

учеты с помощью этого метода возможны только зимой. В летне-осенний период особенности размещения видов и взаимоотношения между ними, как правило, оставались вне поля исследований. При сборе материала на основании учета следов и экскрементов существует проблема видовой идентификации, точность которой во многом зависит от опыта исследователя, и при этом невозможно оценить долю ошибочных определений.

В последние годы большое распространение получили неинвазивные методы исследования различных аспектов экологии животных, использование которых позволяет оценивать численность популяций [1–3], распространение паразитов и инфекционных заболеваний [4], определять соотношение полов

[5, 6], осуществлять поиск трудноуловимых видов и проводить видовую идентификацию, используя образцы экскрементов или шерсти [7–12]. Как альтернатива традиционным методам (отлов, обездвиживание, мечение) широкое распространение получило использование инфракрасных фотокамер – фотоловушек [13–17].

Как и другие хищники, мелкие куницы являются важным компонентом фаунистических комплексов и служат биоиндикаторами состояния природной среды, но скрытный образ жизни в значительной степени затрудняет их изучение, поэтому использование неинвазивных методов для исследования этих видов весьма перспективно.

В горно-лесной зоне Южного Урала обитает 7 видов мелких куньих: горностай (*Mustela erminea* Linnaeus), ласка (*Mustela nivalis* Linnaeus), лесная куница (*Martes martes* Linnaeus), колонок (*Mustela sibirica* Pallas), темный (*Mustela putorius* Linnaeus) и светлый хори (*Mustela eversmanni* Lesson), американская норка (*Neovison vison* Brisson). До середины XX в. встречалась европейская норка (*Mustela lutreola* Linnaeus), однако интродукция американской норки привела к повсеместному исчезновению европейской норки. Внедрение американской норки в фаунистические комплексы стало мощным фактором, повлиявшим на состояние многих аборигенных видов, в том числе куньих [18–24]. Увеличению численности и распространению американской норки в последние годы способствует также снижение пресса охоты из-за низкого спроса на шкурки.

На Южном Урале до настоящего времени не проводилась оценка особенностей распространения американской норки и степени ее влияния на другие виды. Цель данной работы – изучение размещения американской норки и других видов куньих в горно-лесной зоне и некоторых лесостепных районах Южного Урала.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в горно-лесной зоне, двух районах лесостепной зоны Челябинской области и Республики Башкортостан. Все работы проходили в бесснежный период – с мая по ноябрь или декабрь включительно.

За период с 2005 по 2010 г. нами обследовано 45 рек и ручьев. Присутствие куньих определяли по следам на грунте и экскрементам. Длина обследованных участков береговой линии колебалась от 1000 до 3000 м. При обследовании водоемов регистрировали тип береговой линии, характер дна и береговой растительности, проводили сбор экскрементов куньих. Точки сбора фиксировали с помощью навигатора GPS. Всего собрано 1090 экскрементов (проб), из которых 987 (90,5 %) принадлежат американской норке, 93 (8,5 %) – лесной кунице, 5 (0,5 %) – выдре, 5 (0,5 %) – ласке. Для видовой идентификации экскрементов куньих использовали их отличительные особенности, описанные В. Е. Сидоровичем [25]. Видовая идентификация экскрементов куньих проводилась также с помощью молекулярно-генетического анализа ДНК, выделенной из экскрементов [12]. Молекулярно-генетически проанализировали образцы с берегов 19 рек и ручьев (табл. 1). Всего проанализировано 42 образца.

Для молекулярно-генетического анализа использовали заспиртованные пробы экскрементов. ДНК выделяли набором QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, США). ПЦР проводили со специфическими праймерами на определенные виды куньих (*Mustela lutreola*, *M. nivalis*, *M. erminea*, *Martes martes*, *Neovison vison*) на короткие фрагменты цитохрома b длиной 171–203 пн. [12]. Визуализацию результатов ПЦР со специфическими для указанных видов праймерами проводили после электрофореза фрагментов ДНК в 1,5%-м агарозном геле с добавлением этидия бромида с использованием гельдокументирующей системы Geldoc XR (Biorad, США). Для уточнения длины продуктов реакции совместно прогоняли молекулярный маркер длины. Наличие полоски нужной длины свидетельствовало о наличии в пробе ДНК того вида, на который использовалась специфическая пара праймеров. Для проверки методики с теми же образцами проводили ПЦР с универсальными праймерами для всех видов куньих: ML1 F 5'-TTCCTACATGGAATTAAACCATGA-3' и H565 R 5'-CTAGTTCCGATGTACGGGATG-3' длиной примерно 550 п.н. Использовались следующие условия реакции: I стадия цикла – 10 мин при 94 °C; II стадия цикла – 30 с при 94 °C; 45 с при 54 °C, 45 с при 72 °C

Таблица 1

Количество (шт.) экскрементов куньих, определенных с помощью ДНК-анализа

№ п/п	Реки и ручьи	Общее	Американская норка	Лесная куница	Выдра
1	Кабанка	14	11	1	2
2	Б. Арша	1	—	1	—
3	Чистый	2	1	1	—
4	Б. Киалим	1	1	—	—
5	Сухой Киалим	1	1	—	—
6	Индашты	1	—	1	—
7	Б. Морган	2	2	—	—
8	Юрюзань	1	1	—	—
9	Тюлюк	2	1	1	—
10	Березяк	1	1	—	—
11	Глинянка	3	2	1	—
12	Безымянка	2	1	1	—
13	Карагайка	1	—	1	—
14	Атлян	3	3	—	—
15	Убалы	1	1	—	—
16	Лесной	2	—	2	—
17	Сухокаменка	1	1	—	—
18	Б. Тесьма	2	1	1	—
19	М. Тесьма	1	—	1	—
Всего, шт.		42	28	12	2
Доля, %		100	66,6	28,6	4,8

(40 циклов); III стадия цикла – 7 мин при 72 °С. ПЦР продукт очищали переосаждением в спирте и секвенировали на автоматическом генетическом анализаторе ABI 3130 с использованием набора Big Dye (Applied Biosystems, США). Далее вид определяли путем сравнения полученной последовательности с международной генетической базой NCBI.

Обследованные реки и ручьи по ширине русла можно разделить на 3 группы. Первую группу составляют лесные ручьи с шириной русла не более 0,5 м. Всего обследовано 6 таких водоемов. Вторую группу составляют 25 рек с шириной русла от 0,5 до 3 м. Третья группа – это реки с шириной русла более 3 м (Куса, Сухокаменка, Уфа, Большая и Малая Тесьма, Ураим, Б. Куватал, Кыштым, Урал, Куштумга, Юрюзань, Киалим, Карагайка, Тюлюк).

Приуроченность видов к определенному местообитанию оценивали с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) [26].

Осенью 2010 г. для регистрации животных применили четыре цифровых инфракрасных

камеры “Reconyx RapidFire™ RC60 Covert Color IR Game Camera” (США) (“фотоловушки”). На пяти реках (Чашковка, Убалы, Атлян, Малый Сыростан, руч. Белый) фотокамерами отработано 200 лов./сут. Сделано 1500 снимков, из которых 100 результативных. Длительность экспозиции камер на одной точке от 3 до 6 сут, затем следовала перестановка на другие точки. Камеры фиксировали также время, температуру воздуха, фазы луны. Для привлечения животных и получения четких снимков перед фотокамерами раскладывали экскременты домашних хорьков (фреток).

При обследовании той или иной территории для получения сведений о распространении и численности куньих кроме вышеуказанных методов проводили устные опросы егерей, охотников и местных жителей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что в настоящее время на Южном Урале наиболее обычны два

вида куньих – американская норка и лесная куница. Экскременты американской норки встречены на берегах почти всех обследованных водоемов, а следы пребывания лесной куницы – на берегах 24 рек и ручьев.

Молекулярно-генетический анализ ДНК 42 проб показал, что 12 (27,7 %) проб принадлежали лесной кунице, 28 (68,0 %) – американской норке и 2 (4,3 %) – выдре. Сопоставление данных визуального определения с результатами молекулярно-генетического анализа показало, что ошибочно определено 2 образца, т. е. ошибка визуального определения составила 6,3 %.

Анализ распределения проб (экскрементов) с учетом ширины поймы показал, что американская норка в летне-осенний сезон больше тяготеет к ручьям, впадающим в более крупные реки ($\chi^2 = 5,99$; $P < 0,05$). Количество экскрементов лесной куницы на 1 км береговой линии было наибольшим по берегам лесных ручьев и рек с шириной русла не более 3 м ($\chi^2 = 34,3$; $P < 0,01$).

На некоторых реках хорошо прослеживалось разделение пространства между разными видами куньих. Так, на берегах р. Кабанка (Нязепетровский р-н Челябинской обл.) собрано 14 проб (см. табл. 1). По данным анализа ДНК две пробы, найденные в низовьях, принадлежали выдре, которая, очевидно, заходила с р. Уфа [27]. 11 проб, собранных выше по течению, принадлежали американской норке, в верховьях взята одна проба, принадлежавшая лесной кунице (см. рисунок).

На реках Б. Тесьма, Безымянка, Глинянка, Атлян и некоторых других экскременты норки и куницы встречались на одних и тех же участках берега (см. рисунок). На некоторых речках и ручьях (например, руч. Белый) оба вида использовали одни и те же дренажные трубы, оставляя и периодически возобновляя в них свои метки.

Летний сезон 2010 г. характеризовался аномально сухой погодой. Почти все мелкие реки лесостепной зоны, а также большинство мелких и средних рек горно-лесной зоны пересохли. Река Миасс перестала существовать как единая система, распавшись на изолированные почти высохшие водоемы. Вода сохранилась лишь в тех местах, где была

достаточная подпитка подземными водами. Пересохли и болота, что привело к исчезновению большинства родников и мелких речек горно-лесной зоны, которые, как правило, берут свое начало в лесных болотах. По сухим руслам рек наблюдалась массовая гибель моллюсков, исчезли лягушки. К середине лета для многих околоводных млекопитающих создались чрезвычайные условия. На р. Миасс обнаружено много обнаженных брошенных нор выдры и норки. Из-за жаркой погоды отпечатки следов животных на сухом субстрате не оставались.

На реке М. Сыростан, которая образуется благодаря слиянию четырех ручьев, два из которых летом 2010 г. пересохли, установили фотоловушки. Несмотря на минимальный уровень воды, в реке сохранялась рыба, что видно по чешуе, содержащейся в экскрементах норки. При установке фотоловушек мы ориентировались на наличие экскрементов. На этом участке обнаружены экскременты американской норки, ласки и куницы. Одной и той же камерой здесь отсняты: ласка, куница, американская норка, рыжая лисица (*Vulpes vulpes*) и выдра. Между видами, населяющими этот участок реки, существовало разделение суточной активности (табл. 2).

В среднем и верхнем течении реки фотоловушками отснята американская норка и найдены экскременты ласки. Таким образом, несмотря на чрезвычайно малый уровень воды, река М. Сыростан оказалась заселенной различными видами довольно плотно, особенно в нижнем течении, что мы связываем с засухой, которая обусловила переселение животных с соседних пересохших водоемов. Американская норка отснята фотоловушками еще на двух реках (Чашковка, Атлян) (см. рисунок).

Среди собранных проб не встречены экскременты темного хоря. По опросам местных охотников, лесной хорь в горно-лесной зоне Челябинской области давно не встречается. Только в одном случае жители пос. Ковали (Кусинский р-н) вспомнили о нападении лесного хорька на домашнюю птицу в 2005 г. По опросным данным темный хорь встречается в окрестностях с. Мулдашево (Башкортостан). Здесь же на границе гор-

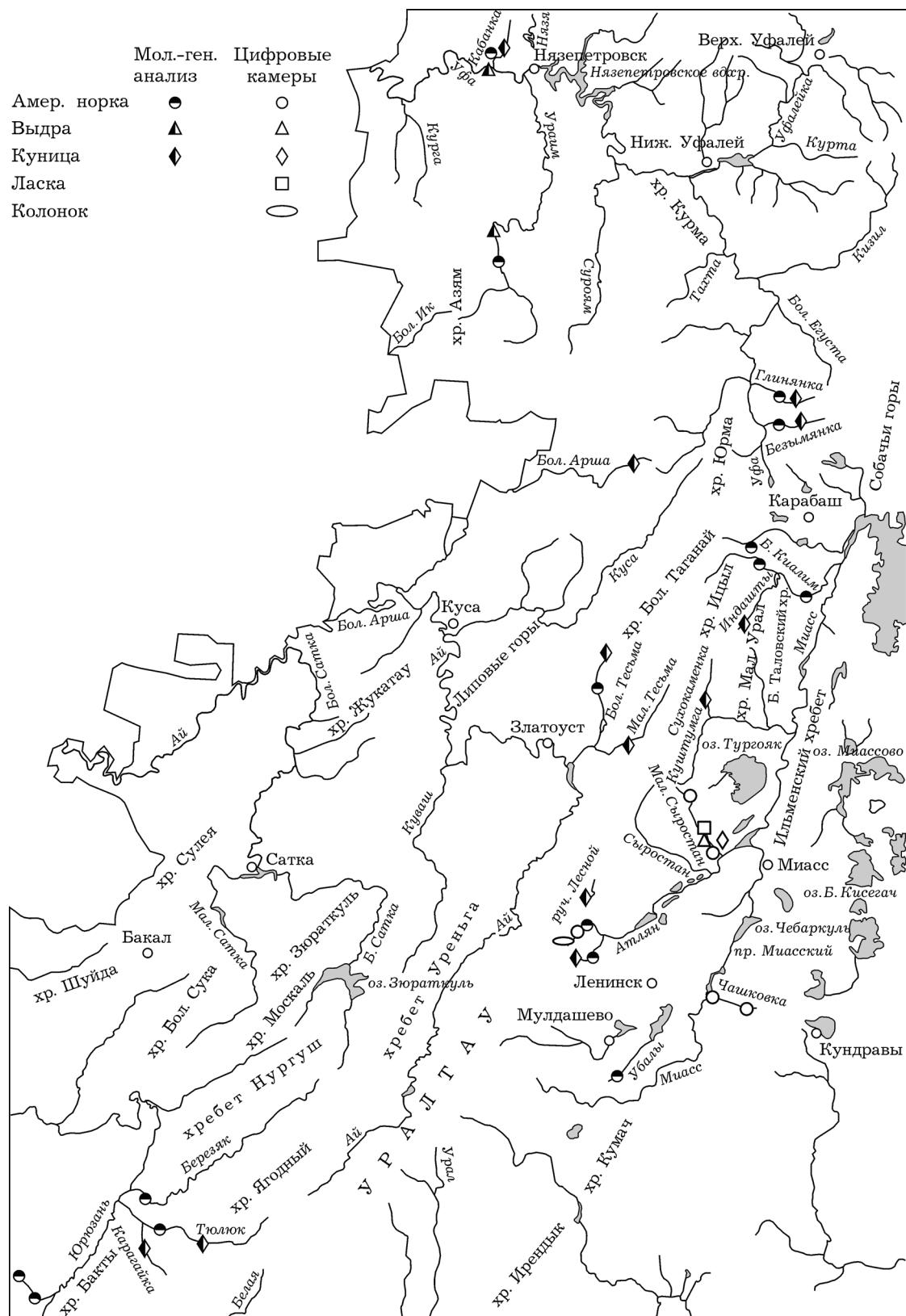


Схема расположения точек отбора проб для молекулярно-генетического анализа ДНК и фотоловушек

Т а б л и ц а 2
График регистрации животных
на р. Малый Сыростан

Вид	Дата	Время
Выдра	08.10.10	22.35'
	10.10.10	23.34'
Лесная куница	08.10.10	05.30'
Американская норка	09.10.10	13.30'
Ласка	10.10.10	14.55'
Лисица рыжая	10.10.10	20.45'

но-лесной и лесостепной зон обитают светлый хорь, колонок, американская норка, ласка и выдра. Гибрид светлого хоря и колонка отловлен охотниками в лесостепной зоне рядом с. Кундравы (Уйский р-н Челябинской обл.).

Среди других видов куньих наиболее многочисленна ласка, о чем свидетельствуют опросные данные и результаты, полученные нами в ходе данного исследования, хотя долины ручьев и рек – не типичные для ласки местообитания. Следы горностая встречены нами только один раз в верховьях р. Атлян рядом с бобровой плотиной. Отсутствие встреч горностая, скорее всего, обусловлено общей низкой численностью этого вида в регионе [28].

Колонок по опросным данным многочислен в лесостепной зоне, в наших исследованиях отснят фотоловушкой на р. Атлян (переходная зона между лесостепной и горно-лесной зонами).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования показали, что в настоящее время на Южном Урале американская норка является самым массовым и наиболее широко распространенным видом. Второй по встречаемости вид – лесная куница, которая предпочитает берега верховьев горных рек и лесных ручьев.

В обычных условиях между околоводными видами куньих существует тенденция разделения пространства. В экстремальных условиях на некоторых водоемах возникают многовидовые сообщества, внутри которых взаимное избегание достигается за счет

разделения суточной активности. Видовой состав таких сообществ не всегда можно полностью выявить на основании сбора экскрементов.

При проведении исследований с помощью какого-то одного метода существует вероятность искажения истинного положения, так как каждый отдельный метод имеет свои ограничения и недостатки. Так, опросы помогают определить наличие вида на той или иной территории, но лишь иногда представляют сведения о редких видах. С помощью сбора экскрементов можно оценить видовое разнообразие, особенности размещения видов на берегах водоемов различных типов и спектр их питания, а также приуроченность их к определенным местообитаниям, но существует возможность ошибки при определении видов. Молекулярно-генетический анализ ДНК позволяет провести видовую идентификацию и оценить ошибку визуального определения экскрементов, но в то же время определение видов животных по анализу ДНК, выделенной из экскрементов, – довольно трудоемкий и дорогостоящий метод, требующий наличия в лаборатории сложного оборудования. Применение подхода с использованием специфических для каждого вида праймеров позволяет, не теряя в разрешающей способности, существенно удешевить решение поставленной задачи, использовать минимальное количество приборов, однако требует специальных предварительных разработок и знания состава фауны, обитающей на исследуемой территории.

Использование фотоловушек уточняет видовой состав, детализирует структуру сообщества в конкретном местообитании и выявляет особенности суточной активности и взаимоотношения видов.

Таким образом, наиболее полную картину состояния различных видов животного населения дает комплексное применение различных неинвазивных методов.

Авторы выражают благодарность академику В. Н. Большакову и д-ру биол. наук В. В. Рожнову за организационную помощь в проведении этих исследований. Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН (проект 09-П-5-1027).

ЛИТЕРАТУРА

1. Beja-Pereira A., Oliveira R., Alves P.C., Schwartz M. K., Luikart G. Advancing ecological understandings through technological transformations in noninvasive genetics // Molecular Ecology Resources. 2009. Vol. 9. P. 1279–1301.
2. Bellemain E., Jon E., Swenson J. E., Tallmon D., Brunberg S., Taberlet P. Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter-collected feces: four methods for brown bears // Conservation Biology. 2005. Vol. 19, N 1. P. 150–160.
3. Creel S., Spong G., Sands J. L., Rotella J., Zeigle J., Joe L., Murphy K. M., Smith D. Population size estimation in Yellowstone wolves with error-prone non-invasive microsatellite genotypes // Molecular Ecology. 2003. Vol. 12. P. 2003–2009.
4. Luikart G., Pilgrim K., Visty J., Ezenwa V. O., Schwartz M. K. Candidate gene microsatellite variation is associated with parasitism in wild bighorn sheep// Biology Letters. 2008. Vol. 4. P. 228–231.
5. Sastre N., Francino O., Lampreave G., Bologov V., López-Martín J., Sánchez A., Ramírez O. Sex identification of wolf (*Canis lupus*) using non-invasive samples // Conservation Genetics. 2009. Vol. 10, N 3. P. 555–558.
6. Hedmark E., Flagstad Ø., Segerstrom P., Persson J., Landa A., Ellegren H. DNA-based individual and sex identification from wolverine (*Gulo gulo*) faeces and urine // Ibid. 2004. Vol. 5. P. 405–410.
7. Ruiz-Gonza'lez A., Rubines A., Berdio'n O., Gomez-Moliner B. J. A non-invasive genetic method to identify the sympatric mustelids pine marten (*Martes martes*) and stone marten (*Martes foina*): preliminary distribution survey on the northern Iberian Peninsula // European J. of Wildlife Research. 2008. Vol. 54. P. 253–261.
8. Gomez-Moliner B. J., Cabria M. T., Rubines J., Garin I., Madeira M. J., Elejalde A., Aihartza J., Fournier P., Palazón S. PCR-RELF identification of mustelid species: European mink (*Mustela lutreola*), American mink (*M. vison*) and polecat (*M. putorius*) by analysis of excremental DNA // J. Zool. London. 2004. Vol. 262. P. 311–316.
9. Shimatani Y., Takeshita T., Tatsuzawa S., Ikeda T., Masuda R. Genetic Identification of Mammalian Carnivore Species in the Kushiro Wetland, Eastern Hokkaido, Japan, by Analysis of Fecal DNA // Zoological Science. 2008. Vol. 25, N 7. P. 714–720.
10. 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. J. Hered. 2005. Vol. 96. P. 688–697.
11. Palomares F., Godoy J. A., Piriz A., O'Brien S. J., Johnson W. E. Faecal genetic analysis to determine the presence and distribution of elusive carnivores: design and feasibility for the Iberian lynx // Molecular Ecology. 2002. Vol. 11. P. 2171–2182.
12. Fernandes C. A., Catarina Ginja C., Pereira I., Tenreiro R., Bruford W., Santos-Reis M. Species-specific mitochondrial DNA markers for identification of non-invasive samples from sympatric carnivores in the Iberian Peninsula // Conservation Genetics. 2008. Vol. 9. P. 681–690.
13. Gompper E. M., Kays R. W., Ray J. C., Lapoint S. D., Bogan D. A., Cryan J. R. A comparison of noninvasive techniques to survey carnivore communities in Northeastern North America // Wildlife Society Bulletin. 2006. Vol. 34, N 4. P. 1142–1151.
14. Shek C., Chan C., Wan Y. Camera trap survey of Hong Kong terrestrial Mammals in 2002–06 // Hong Kong Biodiversity. 2007. N 15. P. 1–11.
15. Schipper J. Camera-trap avoidance by Kinkajous *Potos flavus*: rethinking the “non-invasive” paradigm // Small Carnivore Conservation. 2007. Vol. 36. P. 38–41.
16. Kelly M. J., Holub E. L. Camera Trapping of Carnivores: Trap success among camera types and across species, and habitat selection by species, on Salt Pond Mountain, Giles County, Virginia // Northeastern Naturalist. 2008. Vol. 15, N 2. P. 249–262.
17. Bondi N., White J., Stevens M., Cooke R. A comparison of the effectiveness of camera trapping and live trapping for sampling terrestrial small-mammal communities // Wildlife Research. 2010. Vol. 37, N 6. P. 456–465.
18. Колонок, горностай, выдра. Размещение запасов, экология, использование и охрана. М.: Наука, 1977. 216 с.
19. Куньи в Беларуси. Эволюционная биология, демография и биоценотические связи. Минск: Золотой улей, 1997. 279 с.
20. Туманов И. Л., Смелов В. А. Кормовые связи куньих на северо-западе РСФСР // Зоол. журнал. 1980. Т. 59, вып. 10. С. 1536–1544.
21. Сокольский С. М. Mustela (Lutreola) vison, американская норка // Фауна европейского Северо-Востока России. Млекопитающие. Китообразные. Хищные. Парнопальые. СПб.: Наука, 1998. Т. II, ч. 2. С. 167–169.
22. Craik J. C. A. Long-term effects of North American Mink *Mustela vison* on seabirds in western Scotland // Bird Study. 1997. Vol. 44. P. 303–309.
23. Ferreras P., Macdonald D. W. The impact of American mink *Mustela vison* on water birds in the upper Themes // J. of Applied Ecology. 1999. Vol. 36. P. 701–708.
24. Nordström M., Höglmander J., Laine J., Nummelin J., Laanetu N., Korpimäki E. Effects of feral mink removal on seabirds, waders and passerines on small islands in the Baltic Sea // Biological Conservation. 2003. Vol. 109. P. 359–368.
25. Сидорович В. Е. Норка, выдра, ласка и другие виды куньих. Минск: Ураджай, 1995. 191 с.
26. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М.: Наука, 1982. 288 с.
27. Рожнов В. В., Моргулис А. Л., Холодова М. В., Киселева Н. В. Применение молекулярно-генетического анализа экскрементов в фаунистических исследованиях: видовая идентификации куньих // Моле-

кулярно-генетические основы сохранения биоразнообразия млекопитающих Голарктики: сб. мат-лов Междунар. конф. М.: Тов-во научных изданий КМК, 2007. С. 278–281.

28. Бюллетень состояния ресурсов охотничьих животных, их численность и добыча по регионам России в сезон 2008–2009 гг. Киров: ГНУ ВНИИОЗ им. проф. Б. М. Житкова, 2009. 80 с.

Studies of the Distribution of Mustelids over the Southern Urals with the Help of Noninvasive Methods

N. V. KISELEVA, P. A. SOROKIN

V. I. Lenin Ilmen State Reserve UrB RAS
456317, Miass, Chelyabinsk Region
E-mail: natakis17@gmail.com

A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution
119071, Moscow, Leninsky ave., 33
E-mail: molecoldna@gmail.com

Noninvasive methods (polling, collection of excrements, DNA analysis, photo capturing) allowed us to reveal the most widespread mustelid species and evaluate the character of their distribution over the territory of the region. Two mustelid species – American mink and common marten – are most usual in the Southern Urals. American mink during the summer and autumn season tends to brooks flowing into large rivers, while common marten more frequently occurs at the banks of forest brooks and rivers with channel width not more than 3 m. Under usual conditions, there is a trend of space separation between different mustelid species, while under the critical conditions multi-species communities are formed on the banks of water flows. Mutual avoidance is achieved in these communities through the separation of diurnal activity.

Key words: noninvasive methods, the Southern Urals, American mink, common marten, spatial arrangement, photo captures.