

Molekularna identyfikacja płci (ang. molecular sexing)

- informacja o płci osobnika jest ważna w badaniach nad dynamiką i strukturą populacji, wykorzystaniem areału, dyspersją, behawiorem i biologią rozrodu, zarządzaniem naturalnymi populacjami
- nieinwazyjne metody nie-molekularne (dymorfizm płciowy, behawior, różnice wielkości, bezpośrednia obserwacja regionów genitalnych) są trudne lub często niewiarygodne
- metody inwazyjne (wymagające schwytania osobnika, np. poziom testosteronu) są często niemożliwe do zastosowania
- metody molekularne – możliwe do zastosowania w przypadku prób pozyskiwanych nieinwazyjnie, często uniwersalne, szybkie, proste i jednoznaczne; prawidłowość identyfikacji nie jest zależna od wieku, kondycji, cyklu fizjologicznego osobnika.

Technika molekularnej identyfikacji płci

1. wyodrębnienie z genomu fragmentów charakterystycznych dla chromosomów płci
2. amplifikacja metodą PCR
3. Wizualizacja różnic uzyskanych fragmentów w:
 - sekwencji -> trawienie enzymami restrykcyjnymi (RFLP) -> elektroforeza
 - wielkości/liczbie -> elektroforeza

Metoda uniwersalna dla praktycznie wszystkich ssaków – opiera się na wykorzystaniu pary starterów amplifikującej intron tzw. palca cynkowego występującego na chromosomie X i Y, ale jest on różnej długości na obu chromosomach. PCR, elektroforeza -> informacja o płci.

Genetyczna determinacja płci ptaków – metoda ZW/ZZ (u ptaków samiec ma chromosomy płciowe ZZ, a samica ZW). Do identyfikacji wykorzystuje się gen chromohelikazy wiążącej DNA, obecny na obydwu chromosomach, ale różniący się strukturą (długością intronów).

PCR przy użyciu starterów zdegenerowanych – startery są nie do końca zdefiniowane w sekwencji, mają pozycje zmienne, są więc różne. Hybrydują one wtedy z fragmentami nieco się od siebie różniącymi.

Zastosowanie:

- badania rodzin genów
- poszukiwanie genów homologicznych
- filogenetyczne i ewolucyjne badanie genów

Przykład badań, które to wykorzystywały, to badania nad wpływem skażeń w mieście na strukturę płci w lęgach pustułki – płęć jaj a płęć podlotów. Zastosowano amplifikację intronu a w genie chromohelikazy na chromosomie W i Z, i elektroforezę. Powiązanie się nie znalazło, pisklęta nie miały dużych skażeń bo rodzice żerowali poza miastem. Proporcje płci były tylko odwrócone jeśli chodzi o centrum miasta a peryferia.

Molekularna identyfikacja gatunku

- w przypadku wielu gatunków trudnych do bezpośredniej obserwacji jako dowody obecności na danym terenie wykorzystuje się „pośrednie” dowody aktywności zwierzęcia (tropy, sierść, odchody, pióra, wylinki)
- takie metody identyfikacji są czasami trudne i obarczone błędem, szczególnie w przypadku sympatrycznego występowania podobnych morfologicznie gatunków

- metody molekularne umożliwiają szybką i wiarygodną metodę gatunkowej identyfikacji nieinwazyjnie pozyskiwanych prób.

Dzięki takim badaniom okazało się, że np. motyl o dużej zmienności morfologicznej, który uznawano za jeden gatunek – *Astrartes fulgerator*, to tak naprawdę 10 gatunków.

Barcoding – wykorzystanie uniwersalnego fragmentu DNA (u zwierząt fragment oksydazy cytochromowej), który jest zawsze identyczny w obrębie gatunku, ale zawsze różny między gatunkami.

Badania tego typu stosuje się też do ustalania ojcostwa u zwierząt, do badania np. niewierności u zwierząt monogamicznych, która jak się okazało jest wysoka. Znając genotypy samca i samicy, sprawdzamy jaki jest genotyp pod względem wybranego allelu i jak te allele wyglądają u potomstwa, jeśli są obce to może znaczyć, że pochodzą od innego osobnika (zwykle takie badanie się opiera na więcej niż jednej mikrosatelicie, żeby coś takiego potwierdzić). Badania takie prowadzono na ptakach, ale także na płazach, np. sprawdzano skuteczność różnych strategii rozrodczych u żab, oraz to na co zwracają uwagę samice traszek przy wyborze partnera (okazało się, że nie rozmiary ciała, a kompatybilność genetyczna decyduje).