

## Паспортизация маточного стада, генетический контроль за чистотой племенного материала. Мечение ПИТ-метками

Генетическое тестирование маточного стада проводится методами молекулярной генетики путем анализа нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК, анализа микросателлитных локусов ядерной ДНК с использованием случайных праймеров (RAPD), полиморфизма длин рестриционных фрагментов (AFLP). С помощью ДНК фингерпринтинга можно определять не только происхождение рыб, но и оценивать гетерогенность маточных стад различных видов и генетические расстояния между популяциями и отдельными особями.

Для проведения индивидуального тестирования особей, достигших половой зрелости, проводят отбор образцов ткани, обычно представляющих собой кусочек (1–2 г) плавника, фиксированного в 96 % этаноле. Каждой пробе присваивается индивидуальный номер. Рыбу, от которой взят образец тканей, метят индивидуальной ПИТ-меткой. Традиционно, анализ образцов тканей проводят по четырем микросателлитным локусам (табл. 1).

Таблица 1. Микросателлитные локусы, используемые для проведения индивидуальной паспортизации осетровых

Локус	Праймеры 5' – 3'
An20	F:AATAACAATCATTACATGAGGCT R:TGGTCAGTTGTTTTTTTATGAT
AfuG41	F:TGACGCACAGTAGTATTAATTTATG R:TGATGTTTGCTGAGGCTTTTC
AfuG51	F:ATAATAATGAGCGTGCTTTCTGT R:ATCCGCTTGCGACTTATTTA
Ao×D165	F:TTTGACAGCTCCTAAGTGATACC R:AAAGCCCTACAACAAATGTCAC
Ao×D161 <sup>1</sup>	F:CATTCAGTATGAGACAGACTC R:ATCTCAGGGACTGCTGTGATTGG

<sup>1</sup>Для более точной генетической паспортизации в последние годы используется еще один локус – Ao×D161 (Mugue and Barmintseva, 2009).

На основании анализа электрофореграмм по каждому из локусов выявляют аллели, характерные для исследуемых особей. Для определения генотипа исследуемых особей подсчитывают количество аллелей по каждому из локусов в отдельности.

По итогам исследований для каждой особи, входящей в маточную часть стада составляется индивидуальный генетический паспорт (рис. 1), включающий номер индивидуальной ПИТ-метки, данные о происхождении, размерно-весовые показатели, результаты генетического тестирования и изображение каждой рыбы, входящей в нерестовую часть стада.

**Южный филиал ФГУП**  
**"Федеральный селекционно-генетический центр рыболовства"**  
 Индивидуальный молекулярно-генетический паспорт  
 выдан Центром молекулярно-генетической идентификации  
**Русский осотр (L. reibickii), самка GUE2642 (IV стадия зрелости)**  
 Проба отобрана и фото сделано в ноябре 2006 г. при биометрии зимнего стада  
 ЮФ ФСТПР  
 Псков, Чита, Республика Алтай, МУП "Живой рыб".  
 Образец запечатан в Российскую национальную коллекцию молекулярно-генетической  
 идентификации (РНКЗМ)



Персональный набор аллелей четырех микросателлитных локусов

Наименование микросателлитного локуса	Ala 20	Aba 41	AoaD165	Aba 51
Аллели	Размеры аллелей, пар нуклеотидов (пн)			
A	-	-	200	-
B	178	-	-	-
C	-	-	180x2	-
D	-	-	176	242
E	166	-	-	230
F	-	-	-	-
G	150x2	230x2	-	222x2
H	-	218	-	-
I	-	-	-	-
J	-	208	-	-

**Южный филиал ФГУП**  
**"Федеральный селекционно-генетический центр рыболовства"**  
 Индивидуальный молекулярно-генетический паспорт  
 выдан Центром молекулярно-генетической идентификации  
**Северная (L. reibickii), самка STE1341, чип 0616991F**  
 Проба отобрана и фото сделано в ноябре 2006 г. при биометрии зимнего стада  
 ЮФ ФСТПР  
 Масса особи 12,3 кг, длина 124 см  
 Псков, Чита, Республика Алтай, МУП "Живой рыб".  
 Образец запечатан в Российскую национальную коллекцию молекулярно-генетической  
 идентификации (РНКЗМ)



Персональный набор аллелей четырех микросателлитных локусов

Наименование микросателлитного локуса	Ala 20	Aba 41	AoaD165	Aba 51
Аллели	Размеры аллелей, пар нуклеотидов (пн)			
B	-	-	-	208
C	178	232	-	204
D	-	228	200	-
E	-	-	-	-
F	130	-	184	0

Рисунок 1. Образцы индивидуальных генетических паспортов

### Мечение ПИТ-метками

ПИТ-метки представляют собой пассивные интегральные транспонеры. Они оснащены электронной схемой, размещенной на микропроцессорном чипе. ПИТ-метки не имеют собственного источника питания и передают свой идентификационный код только при возбуждении детектором (ридером). Размеры меток составляют в зависимости от производителя от 1,2x 8,0 мм до 2,1 ммx 12,2 мм (рис. 2).

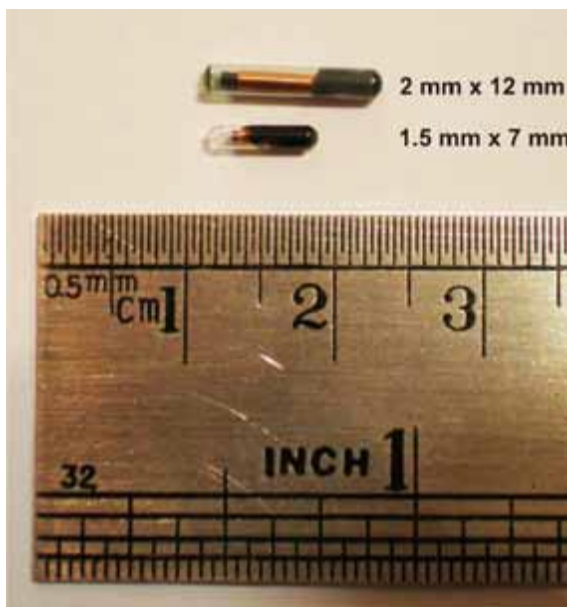


Рисунок 2. Примеры ПИТ-меток

Метки заключены в стеклянную оболочку и после имплантации не оказывают на рыб какого-либо влияния. Срок их службы неограничен, возможно их повторное использование после извлечения и вторичной имплантации. Имплантируют ПИТ-метки в подключичную область (под грудной плавник или под первую спинную жучку) с помощью шприца-инжектора (рис. 3). Считывание информации производится дистанционно с помощью портативного ручного детектора (ридера) (рис. 4).



Рисунок 3. Мечение самки азовской севрюги ПИТ-меткой



Рисунок 4. Портативный ручной детектор (ридер) для считывания ПИТ-меток

Кроме вышеперечисленных способов мечения, при работе с производителями в период подготовки и проведения нерестовой компании эффективно использование временных меток, надеваемых на хвостовой стебель рыб (Conte *et al.*, 1988). В некоторых случаях для облегчения идентификации рыб, помеченных ПИТ-метками, целесообразно дополнительно пометить их визуальную различимой меткой. Визуальные имплантируемые эластомеры (VIE) имплантируются в нижнюю часть рыла с использованием различных цветов и ориентации на теле ([www.nmt-inc.com](http://www.nmt-inc.com)). Данные метки вводятся в жидком виде и достаточно быстро затвердевают.