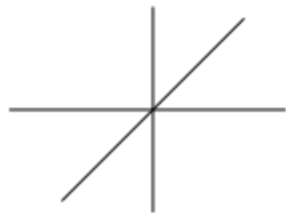


Федеральный исследовательский центр животноводства- ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста

VII Международный рыбопромышленный форум и Выставка рыбной индустрии,
морепродуктов и технологий

Разработка молекулярно-генетических тест-систем для определения
достоверности происхождения родительских форм рыб с целью более
эффективного их подбора

Исследования проведены при поддержке Министерства
науки и высшего образования Российской Федерации гос.
задание № FGGN-2025-0005



м.н.с лаборатории генетических технологий
в агро- и аквахозяйстве
Боборыкин А.Ю.

Санкт-Петербург, 2025

Проблема исследования: генетические особенности осетровых



Сибирский осетр — тетраплоид с четырьмя гомологичными наборами хромосом, что усложняет определение аллелей микросателлитов и обработку данных, связанную с разработкой генетического паспорта. В связи с этим, необходим учёт аллельной дозировки при контроле происхождения для ведения племенной работы.

Цель и задачи исследования

Главная **цель** — создать надёжную молекулярно-генетическую тест-систему для паспортизации сибирского осетра ленской популяции, пригодную в селекционной работе и племенном учёте и обеспечивающую точную идентификацию и контроль происхождения.

Для этого были поставлены следующие **задачи**:

1. Отобрать наиболее информативные микросателлитные локусы из описанных в литературе по критериям полиморфизма, наследуемости и воспроизводимости результатов в лабораторных условиях.
2. Разработать лабораторную методику и мультиплексные панели для сокращения временных, трудовых и финансовых затрат при сохранении высокой точности генотипирования для тетраплоидного генома.
3. Создать структуру генетического паспорта с системой хранения данных и проверить переносимость тест-системы на другие виды осетровых с целью формирования системы централизованного племенного учёта.

Основа тест-системы: отбор информативных маркеров



Критерии отбора

Проведено тестирование 41 локуса по критериям уровня полиморфизма, стабильности амплификации и характера наследования. Тестировалась визуализация аллельной дозировки и адаптируемость методики для тетраплоидов.

Итоговый набор и валидация

Отобраны 12 локусов, удовлетворяющих всем критериям: высокий полиморфизм, повторяемость ПЦР в мультиплексах.

Оптимизация анализа: мультиплексные панели



Сборка панелей

12 локусов распределены в 4 мультиплексные панели с учётом длины ампликонов и отсутствия перекрытий спектров флуорофоров.



Сокращение времени

Мультиплексирование уменьшает общее время анализа примерно в четыре раза по сравнению с одиночными реакциями, сохраняя качество генотипирования.



Флуорофорная схема

В панелях применены метки FAM, R6G, TAMRA и ROX для цветового разделения ампликонов и надёжного считывания сигналов на детекторе.



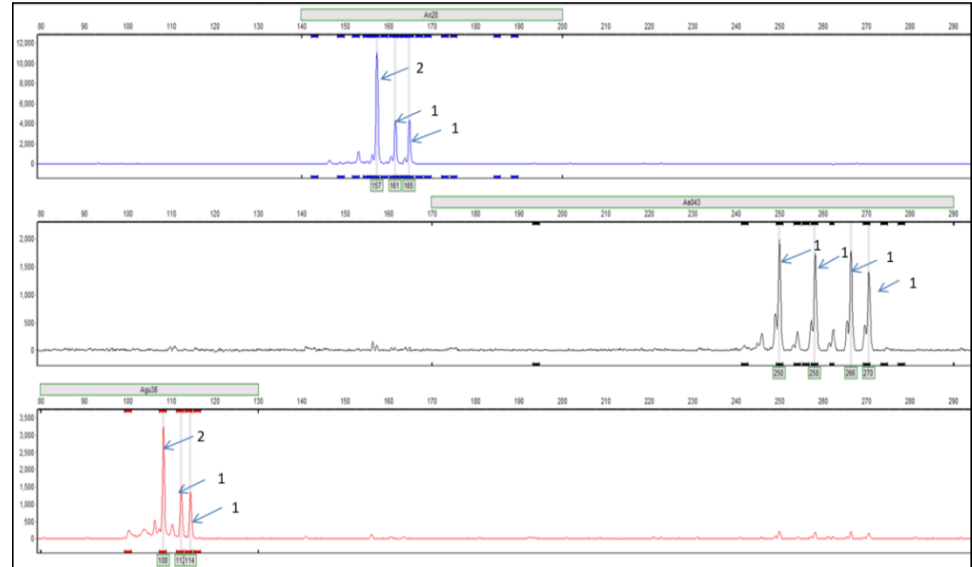
Экономика анализа

Переменные затраты на реагенты снижаются примерно на 40%, что делает масштабирование тестирования экономически выгодным.

Эффективность мультиплексирования: время и стоимость

При полной наборной схеме лабораторное время на партию сокращается до ~2 часов при четырёхпанельном анализе.

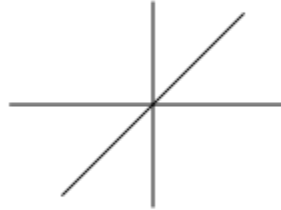
Переход к 4 панелям снижает себестоимость реагентов до ~60 % от исходного уровня при сохранении ≥ 98 % точности.



Пример мультиплексирования локусов с сохранением эффекта дозы аллелей (A– панель № 1 (локус An 20 канал FAM, локус As043 канал TAMRA, локус Agu 38 канал ROX))

92%

Кластерный анализ STRUCTURE
отнёс более 92% к
соответствующему виду с
вероятностью выше 0.9.

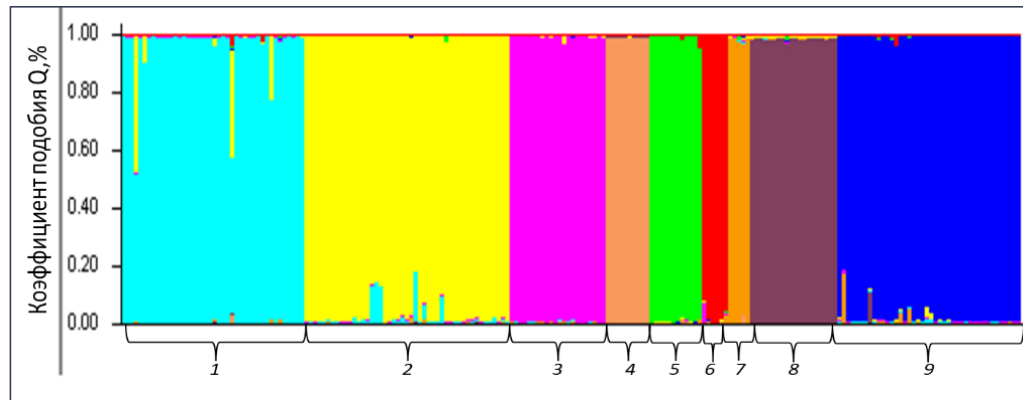


Доля образцов с высокой вероятностью
правильной кластеризации подтверждает
межвидовую разрешающую способность
тест-системы.

Кластеризация STRUCTURE: распределение по видам

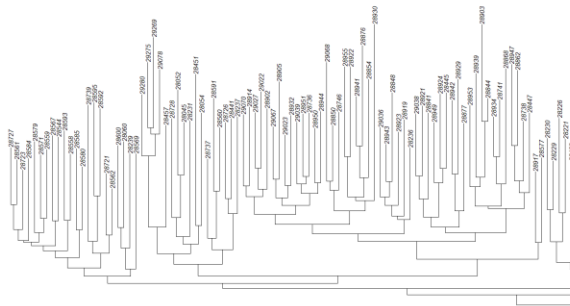
Диаграмма показывает доли чистых кластеров и относительную долю смешанных профилей для каждой таксономической группы.

Высокая точность кластеризации: 92–96% образцов причислены к чистым видам; смешанные профили составляют 3–8%.



Кластерный анализ выборки осетровых видов рыб на основании частот аллелей по 8 микросателлитным локусам, выполненный с помощью программы Structure 2.3.4 для числа кластеров $K=9$. Q-величина вклада каждого из кластеров в генотип особи (вероятность того, что особь принадлежит к тому или иному кластеру): 1. Сибирский осетр (Можайск) — *Acipenser baerii* 2. Сибирский осетр (Диана) — *Acipenser baerii* 3. Русский осетр — *Acipenser gueldenstaedtii* 4. Сахалинский осетр — *Acipenser mikadoi* 5. Амурский осетр — *Acipenser schrenckii* 6. Калуга — *Huso dauricus* 7. Шип — *Acipenser nudiventris* 8. Севрюга — *Acipenser stellatus* 9. Стерлядь — *Acipenser ruthenus*.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ: СОЕДИНЯЯ ГЕНЕТИКУ И СЕЛЕКЦИЮ



Генетический паспорт

Стерлядь (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus, 1758)

Вид животного (латинское название вида)

Идентификационный №: 29500

Дата рождения: 10.04.22

ВИЖ ID: 1672

SNP-генотип: НЕТ

Полный геном: НЕТ

Место рождения: МПЭРЗ, Московская обл., Можайский р-н, п/о Горетово RU

Владелец: ФГБУ ФИЦ ВЖИ им. Л.К. Эрнста

Генотип по микросателлитам

Aru13	An20	Afug51	AoxD161	Aru18
122	126	155	173	237
237	237	107	111	144
LS-68	Afug-41	LS39	Spl163	AfuG63
203	219	222	238	124
124	124	190	190	135
AfuG112	Afu68b			
190	190	179	195	

Генотип по ДНК-маркерам

♂

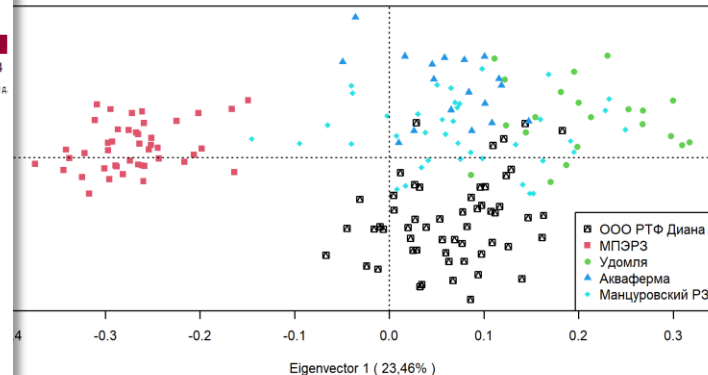
(Пол)

Родословная

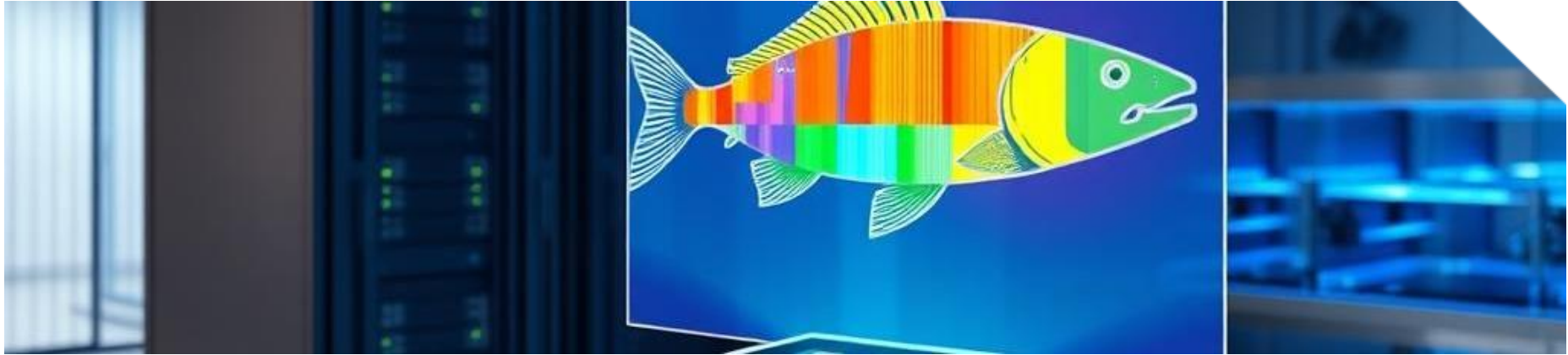
Отец: н/д

Мать: н/д

	(ID)	(Место рождения)
Дата бонитировки (гг.мм.дд.)	02.10.23	04.12.23
Возраст (лет. мес.)	1г, 5 м, 22 д	1г, 7 м, 24 д
Живая масса (W), г	470.00	620.00
Стандартная длина (L), см	45.30	48.00
Промысловая длина (FL), см	38.00	43.50
Длина тела до юнцы средних лучей (L2), см	41.00	40.50
Длина головы (HL), см	8.00	9.00
Пектоветральное расстояние (PV), см	16.50	15.50
Вентроанальное расстояние (VA), см	6.00	7.00
Длина хвостового стебля (pl1), см	5.50	6.00
Наибольшая высота тела (H), см	4.10	5.00
Высота хвостового стебля (h), см	1.60	1.70
Обхват тела (GC), см	17.00	18.40
Обхват хвостового стебля (Cq), см	5.60	5.60



Программный комплекс: архитектура и модули



Архитектура и хранилище данных

Двухуровневая архитектура включает СУБД (PostgreSQL/SQLite) для паспортов. Хранилище обеспечивает индексацию по ID и генотипу, резервное копирование.

Аналитический модуль и интерфейс

Аналитический модуль реализует алгоритмы поиска особей-предков на основании расчёта совпадений в генотипах. GUI поддерживает импорт/экспорт Excel/CSV и работу с тетраплоидными генотипами.

Результат: создание генетических паспортов

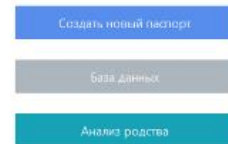
Содержимое паспорта

Для 350 особей сформированы паспорта с уникальным ID, датой рождения, местом вывода, владельцем, генотипом по 12 локусам и фенотипическими данными. Включены фото.

Практическое применение

Паспорта используются для идентификации, подтверждения чистоты вида, выявления гибридов и формирования централизованной племенной базы данных.

Генетическая паспортизация рыб



Ключевые колонки паспорта и пример заполнения (выборка из 350 записей).

[illegible]

Основная информация

Идентификационный №:

31871

Вид:

Стерлядь (Acipenser ruthenus, Linnaeus, 1758)

Форма:

Диплоидная

Дата рождения:

15.04.22

Место рождения:

РТФ "Диана", Вологодская обл., п. Кадуй, ул. Промышленная, д. 4

Владелец:

ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста

SNP-генотип:

НЕТ

Полный геном:

НЕТ

ВИЖ ID:

2032

Родословная

Мать (ID):

н/д

Отец (ID):

н/д

Генотип по микросателлитам

Aru13	An20	Afug51	AoxD161	Aru18	LS-68	Afug-41	LS39
110 126	155 173	221 229	107 115	144 144	215 215	246 246	124 126
Spl163	Afu663	Afu6112	Afu68b				
190 194	135 135	190 194	191 191				

Генотип по ДНК-маркерам

Пол

♂

Фенотип

Дата бонитировки (гг.мм.дд)	02.10.23	04.12.23	12.03.24	01.07.24	02.09.24	09.12.24	27.03.25	23.06.25
Возраст (лет. мес.)	1 г., 5 м., 17 д.	1 г., 7 м., 19 д.	1 г., 10 м., 26 д.	2 г., 2 м., 16 д.	2 г., 4 м., 18 д.	2 г., 7 м., 24 д.	2 г., 11 м., 12 д.	3 г., 2 м., 8 д.
Живая масса (W), г	700.00	840.00	1330.00	1780.00	1890.00	1910.00	1790.00	1950.00
Стандартная длина (L), см	52.00	55.00	62.40	68.00	69.50	71.00	71.50	72.20
Промысловая длина (FL), см	44.00	50.00	56.50	61.10	62.50	64.00	63.50	64.50
Длина тела до конца средних лучей (L2), см	46.50	47.00	52.20	57.30	58.60	59.50	60.00	60.00
Длина головы (HL), см	10.00	11.00	12.10	12.90	13.20	13.60	14.00	13.70
Пектоventральное расстояние (PV), см	18.50	19.00	22.50	25.50	25.00	25.50	25.00	23.20
Вентроанальное расстояние (VA), см	6.50	6.50	8.50	9.40	9.00	9.00	9.50	9.00
Длина хвостового стебля (pl1), см	6.00	6.00	6.50	7.00	7.00	7.50	7.50	7.50
Наибольшая высота тела (H), см	5.20	5.30	6.80	7.20	6.60	7.20	7.00	7.40
Высота хвостового стебля (h), см	2.00	1.90	2.20	2.30	2.50	2.30	2.50	2.50

Совокупность генотипов в таблице обеспечивает уникальность профилей и позволяет отслеживать происхождение каждой особи.

Модуль 1: цифровой паспорт особи — содержание

01

Общие данные: вид, уникальный ID, дата рождения, место вывода и владелец.

02

Генетические данные: генотип по 12 локусам в формате аллелей через «/», методика амплификации.

03

Родословная, фенотипы (длина, масса, индекс упитанности) и мультимедиа (фотографии)

Модуль 1: управление базой данных — функциональные возможности

01

Просмотр и фильтрация записей по ID, виду, дате, владельцу и генотипу с возможностью сортировки

02

Редактирование с автоматическим логированием изменений, контроль прав доступа и архивирование удалённых записей для сохранения целостности данных

03

Поиск по частичному совпадению ID и по генетическим маркерам: быстрый подбор образцов с совпадающими аллелями или схожими профилями

04

Экспорт и импорт в стандартизированный Excel-шаблон, журнал операций экспорта

Модуль 2: анализ родства — назначение и входные группы

01

Назначение: автоматический поиск наиболее вероятных пар родителей для каждого потомка по генотипам с учётом специфики тетраплоидного наследования.

02

Входные группы: «Матери», «Отцы» (заранее известные особи-производители) и «Потомки».

03

Дополнительные параметры: пороги вероятности для классификации результатов и учёт аллельной дозировки при генерации гипотетических родительских генотипов.

Алгоритм анализа родства: визуализация совпадений

График ранжирует пары родителей по проценту совпадения генотипа потомка, отображая приоритеты для дальнейшей проверки.

Пары с $\geq 90\%$ совпадения рассматриваются как найденные; промежуточные значения требуют дополнительной проверки и статистической оценки.

Пара	Процент совпадения	Статус
1001	95%	Найдено
1002	92%	Найдено
1003	88%	Проверить
1004	85%	Проверить
1005	91%	Найдено
1006	89%	Проверить
1007	93%	Найдено
1008	87%	Проверить
1009	90%	Найдено
1010	86%	Проверить
1011	94%	Найдено
1012	88%	Проверить
1013	91%	Найдено
1014	89%	Проверить
1015	92%	Найдено
1016	87%	Проверить
1017	90%	Найдено
1018	88%	Проверить
1019	93%	Найдено
1020	86%	Проверить
1021	91%	Найдено
1022	89%	Проверить
1023	92%	Найдено
1024	87%	Проверить
1025	90%	Найдено
1026	88%	Проверить
1027	93%	Найдено
1028	86%	Проверить
1029	91%	Найдено
1030	89%	Проверить

Результаты из истории

Downloaded from <http://ajph.org/>

ID Отца

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Возможное ро

Возможное ро

Найдена пара

Возможное ро

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Возможное ро

Найдена пара

Найдена пара

Возможное ро

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Возможное ро

Найдена пара

Найдена пара

Найдена пара

Возможное ро

Найдена пара

Возможное ро

Возможное ро

Возможное ро

Найдена пара

[Сохранить отчет](#)

Интерпретация результатов анализа родства

Кодировка результатов: зелёный — «Найдена пара» при совпадении $\geq 90\%$ локусов; в отчёте указывается идентификатор пары и число совпадений.

Жёлтый — «Возможное родство» при совпадении $>50\%$ и $<90\%$; требуется дополнительная проверка, возможны неоднозначности из-за тетраплоидности.

Красный — «Родство маловероятно» при $\leq 50\%$ совпадения; отчёт включает статистическую оценку вероятности и примечания об источниках ошибок (локусах).

Удобство работы: импорт данных из Excel

Структура шаблона и валидация

Шаблон Excel содержит фиксированные колонки (ID, вид, дата, L1–L15, мать, отец, длина, масса, фото). Программа проверяет формат аллелей и обязательные поля.

Процесс импорта и отчётность

При импорте формируется отчёт с ошибками по строкам и лог операций. Возможна массовая загрузка данных.

Генетический паспорт													
Стерлядь (<i>Acipenser ruthenus</i> , Linnaeus, 1758)													
Вид животного (латинское название вида)													
Идентификационный №:		29500											
Дата рождения:		10.04.22											
ВИЖ ID		1672											
SNP-генотип:		НЕТ											
Полный геном:		НЕТ											
Место рождения:		МПЭРЗ, Московская обл., Можайский р-н, п/о Горетово							RU				
Владелец:		ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эриста											
Генотип по микросателлитам													
Aru13		An20		Aru51		AoxD161		Aru18					
122	126	155	173	237	237	107	111	144	144				
LS-08		Aru41		LS39		Spl163		Aru63					
203	219	222	238	124	124	190	190	135	135				
AruG112		Aru68b											
190	190	179	195										
Генотип по ДНК-маркерам													
♂													
(Пол)													
Родословная													
Отец:	н/д												
Мать:	н/д												
	(ID)	(Место рождения)											
Фенотип													
Дата бонитировки (г.мм.дд)		02.10.23		04.12.23		12.03.24		01.07.24		02.09.24		09.12.24	
Возраст (лет, мес)		1 г, 5 м, 22 д		1 г, 7 м, 24 д		1 г, 11 м, 2 д		2 г, 2 м, 21 д		2 г, 4 м, 23 д		2 г, 7 м, 29 д	
Живая масса (W), г		470.00		620.00		630.00		750.00		830.00		830.00	
Стандартная длина (L), см		45.30		48.00		51.50		52.80		54.00		55.40	
Промысловая длина (FL), см		38.00		43.50		46.50		47.80		49.00		50.20	
Длина тела до конца средних лучей (L2), см		41.00		40.50		42.50		44.50		45.60		46.50	
Длина головы (HL), см		8.00		9.00		9.50		10.20		9.90		10.50	
Пектоанальное расстояние (PV), см		16.50		15.50		17.50		18.40		19.10		19.00	
Вентроанальное расстояние (VA), см		6.00		7.00		6.70		7.70		8.00		7.50	
Длина хвостового стебля (pl1), см		5.50		6.00		6.00		5.80		6.30		6.00	
Наибольшая высота тела (H), см		4.10		5.00		4.50		5.30		5.30		5.30	
Высота хвостового стебля (h), см		1.60		1.70		1.70		1.80		2.00		1.90	
Обхват тела (GC), см		17.00		18.40		18.00		19.80		20.50		19.90	
Обхват хвостового стебля (Cc), см		5.60		5.60		5.30		6.20		6.70		6.30	

Благодарю за внимание!

В подготовке материалов доклада принимали участие:
Белоус А.А., Отраднов П.И., Никипелов В.И., Бардуков
Н.В., Никипелова А.К.

Выражаем благодарность ООО РТФ «Диана», Можайскому производственно-экспериментальному рыбоводному заводу за предоставление образцов ткани осетровых видов рыб