ДНК-маркеры для идентификации рыбы и морепродуктов

Валентина Лемеш,
завлабораторией генетической
и клеточной инженерии
Института генетики и цитологии
НАН Беларуси, кандидат
биологических наук, доцент;
v.lemesh@igc.by

Марина Богданова,
ведущий научный сотрудник
Института генетики и
цитологии НАН Беларуси,
кандидат биологических наук;
m.bogdanova@igc.by

Александра Носова,
научный сотрудник лаборатории
генетической и клеточной
инженерии Института генетики
и цитологии НАН Беларуси;
a.nosova@igc.by

Аннотация. Рассмотрены аспекты применения ДНК-маркеров как инструмента для идентификации сырья и пищевых продуктов из объектов водного промысла и аквакультуры, в частности осетровых и лососевых рыб. Показана необходимость разработки новых геномных биотехнологий для четкой качественной и количественной ДНК-идентификации различных видов рыб и морепродуктов с целью борьбы с незаконной ловлей и фальсификацией пищевой продукции.

Ключевые слова: ДНК-маркеры, генетическая экспертиза, осетровые и лососевые рыбы, фальсификация рыбной продукции.

Для цитирования: Лемеш В., Богданова М., Носова А. ДНК-маркеры для идентификации рыбы и морепродуктов // Наука и инновации. 2020. №10. С. 36–39. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2020-10-36-39>

Согласно данным ФАО, объем производства сырья и пищевых продуктов из объектов водного промысла и аквакультуры в мире неуклонно растет из года в год [1]. Цены на такую продукцию существенно варьируются в зависимости от ее видовой принадлежности, в связи с чем риск фальсификации рыбы и морепродуктов исключительно велик. Европейский парламент поставил их на второе

место среди всех пищевых продуктов по критерию подверженности данному риску [2], а Интерпол и Европол, изучавшие положение дел в 57 странах, – на третье [3]. Рыбопродукты могут подделываться на любом этапе производственно-сбытовой цепочки. Основная проблема – подмена, когда менее ценные и дешевые виды продаются как более ценные и дорогие. Кроме того, фальсификаторы скрывают географическое происхождение товара, факты незаконной добычи, вылова в заповедных зонах либо охраняемых видов. Такие действия позволяют классифицировать случаи фальсификации рыбной продукции как нарушение положений CITES (Конвенции о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения). Проведенные масштабные исследования выявили многочисленные случаи подлога маркировки – от 20 до 30% отобранных образцов [4].

Идентификация видов рыб по морфологическим признакам – наиболее часто и традиционно применяемый метод, используемый как программами экологического мониторинга, так и при промышленном лове и торговле. Однако он имеет ряд существенных ограничений, особенно в случае, если подвергшиеся воздействию образцы имеют не ярко выраженные, поврежденные или же попросту отсутствующие ключевые опознавательные признаки. Ошибки возможны в случае внутривидовой фенотипической

пластичности признака или вариации как у взрослых, так и у личиночных форм рыб. Кроме того, особи одного и того же вида подвержены изменчивости в процессе развития и часто могут выглядеть совершенно по-разному. Установлено, что при сравнении данных в пяти различных лабораториях точность методов морфологической идентификации рыб на стадии личинки составляет 80% на уровне семейства, для членов одного и того же рода – 41%, на уровне вида – 13,5% [5].

Заведомо некорректная маркировка с целью снижения затрат при оформлении таможенных сборов или повышение цен при розничной торговле – серьезная проблема международной торговли. В этих условиях ДНК-маркеры становятся незаменимым инструментом для видовой идентификации сырья и пищевых продуктов из объектов водного промысла и аквакультуры. Идентифицировать можно продукты различной степени переработки, включая свежую рыбу, икру, смешанные готовые изделия, рыбий жир и сушеные экстракты в виде рыбной муки.

В Республиканском центре геномных биотехнологий Института генетики и цитологии НАН Беларуси, аккредитованного по международному стандарту ISO/IEC17025–2019, ведутся работы по определению достоверности происхождения, видовой и породной принадлежности рыб, в частности семейства осетровых *Acipenseridae*, большое число видов которого подпадает под конвенцию CITES.

Подписавшие ее государства обязаны вести весь импорт, экспорт, реэкспорт и интродукцию из моря определенных видов животных и растений на основании разрешений и сертификатов. Республика Беларусь является стороной CITES, и, следовательно, для экспорта осетровой черной икры необходимо наличие генетического сертификата.

Для борьбы с незаконным выловом требуется установить легальность происхождения продукции из осетровых, что невозможно без точной идентификации вида на всех стадиях развития особей – от икры до взрослого организма, а также полученных из них икры, мяса, балыка, консервов и т.п.

Для определения родительской и видовой принадлежности осетровых и продукции из них, выявления особей гибридного происхождения применяются молекулярно-генетические методы анализа митохондриальной (мтДНК) и ядерной ДНК (рис. 1).

В аквакультуре выращиваются гибриды осетровых, которые сочетают в себе быстрый рост белуги и раннее созревание стерляди: бестер (белуга х стерлядь), стербел (стерлядь х белуга), стерос (стерлядь х

осетр), остер (осетр х стерлядь) и др. Помимо производства мяса фертильность культивируемых гибридов осетровых позволяет использовать их в производстве икры. В то же время среди осетров есть как охраняемые виды, которые для законного получения мяса и икры могут быть выращены только в условиях аквакультуры, так и разрешенные к вылову (белый осетр), что требует четкой фиксации, маркировки и подтверждения видовой идентификации на основе генетического сертификата, который выдается в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси.

В условиях истощения природных ресурсов и растущих потребностей населения все более значимое место в производстве рыбы и рыбного сырья занимает аквакультура. Для успешного прохождения всего цикла выращивания готовой товарной рыбы важную роль играет и качество рыбопосадочного материала, его полное соответствие заявленному виду, что должно подтверждаться генетическим сертификатом (паспортом). Это касается как ценных пород осетровых и лососевых рыб, так и менее ценных, но экономически целесообразных (например, карпообразные). Так, осетровые до 3 лет могут не иметь существенно выраженных видовых признаков. Молодь разных пород карпов также приобретает их со временем, тогда как генетический паспорт позволяет установить породную принадлежность на любой стадии развития. В лаборатории генетической и клеточной инженерии в сотрудничестве с Институтом рыбного хозяйства разрабатывается геномная биотехнология генетической

Рис. 1. Молекулярно-генетическая идентификация видовой принадлежности рыб семейства осетровых

сертификации, совершенствуются методы маркирования и оценки производителей для формирования ремонтных групп и маточных стад белорусской породы карпа и амурского сазана. Создана технология генетической идентификации видов растительноядных рыб (белого толстолобика, пестрого толстолобика и их гибридов), которая дает возможность выделять группы особей для получения линейного материала и дальнейшего воспроизводства, в том числе товарной рыбы. Генотипирование по пяти STR-локусам позволило с высокой точностью выявлять гибридные особи между пестрым и белым толстолобиками, что может быть использовано в качестве малоинвазивного экспресс-теста в селекционных и воспроизводительных программах по выращиванию в аквакультуре данных видов растительноядных рыб [6].

Одним из объектов фальсификации является икра (осетровая, лососевая, розовая, частиковая, тобико). Наиболее часты случаи подделки лососевой (красной) икры путем маркировки дешевых видов как более дорогих. Это достигается путем подкрашивания, добавлением в спреды, неверной маркировки и т.д. Активно развиваются технологии получения имитации дорогостоящей икры. Для того чтобы создать видимость присутствия натуральных компонентов, в наиболее качественные примеры синтетической икры добавляют как более дешевую менее ценных видов лососевых (горбуша), не ценных видов рыбы (мойва), так и отходы переработки красной рыбы (мясо рыб либо некачественную икру). Кроме того, дальневосточный лосось может оказаться любым представителем группы тихоокеанских лососей (горбуша, нерка, чавыча, аквакультура радужной форели), которые различаются по стоимости, что позволяет проводить заведомо ложную маркировку.

Рис. 2. Молекулярно-генетическая идентификация видовой принадлежности рыб семейства лососевых

Разработана геномная биотехнология качественной генетической идентификации видов лососевых в рыбном сырье и продуктах питания (семга, радужная форель, горбуша, кижуч, кета, нерка), которая позволяет устанавливать видовую принадлежность рыб семейства лососевых и продуктов из них, в том числе красной икры (рис. 2), для выявления фальсифицированной продукции и защиты прав потребителей [7].

По этому виду деятельности лаборатория генетики и клеточной инженерии аккредитована по ISO/IEC17025–2019 в составе Республиканского центра геномных биотехнологий.

Вследствие появления на рынке Беларуси пищевых продуктов из угря по запросу таможенных органов ведется разработка технологии генетической идентификации видов семейства угревых *Anguillidae*, в том числе угря европейского *Anguilla anguilla*, для предупреждения риска ввоза товаров, подпадающих под действие мер нетарифного регулирования согласно Решению Коллегии Евразийской экономической комиссии «О мерах нетарифного регулирования» (Приложение 2, раздел 2.7 «Виды дикой фауны и флоры, подпадающие под действие Конвенции о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения, от 3 марта 1973 г. (СИТЕС)»).

Спектр представленных на мировом рынке видов рыб и морепродуктов велик, и их перечень активно расширяется. Растет спрос на ракообразных и моллюсков. Подтверждение их видовой принадлежности также необходимо для предоставления достоверной информации как природоохранным организациям, так и государственным контролирующим органам и, в конечном итоге, потребителям.

В связи с этим необходимо разрабатывать высокотехнологичные методики видовой идентификации сырья и компонентов пищевых продуктов водного промысла на основе новых методов молекулярно-генетического анализа. Этому способствуют открытые базы данных по генетическим последовательностям. Так, методы ДНК-баркодинга [4, 8] подходят для тестирования и идентификации рыбы и морепродуктов, поскольку в этом случае используются консервативные участки митохондриальной ДНК. При этом проводится секвенирование короткого фрагмента (658 п.н.) гена субъединицы I (COI) цитохром с оксидазы митохондрий из таксономически неизвестных образцов и сравнение с библиотекой штрих-кодов ДНК известной таксономии. Активно пополняются знания о ДНК-баркодах, что дает возможность формировать таксономически надежные

базы данных о последовательностях ДНК, которые находятся в свободном доступе и могут применяться в качестве эталона для сравнения.

Современные ДНК-технологии достаточно эффективны для того, чтобы выявить наличие примесей менее ценных видов рыб и морепродуктов в том или ином сырье. Но следует учитывать, что иногда чувствительность методик даже выше ожидаемой, что может дать ложноположительные результаты, например в случае совместной разделки разных объектов одними инструментами на одном конвейере. Чтобы этого избежать, необходимо использовать методики количественного определения видоспецифичной ДНК для смешанных образцов рыбного сырья и пищевой продукции. С их помощью можно точно определить процентное содержание каждого компонента. Например, образец красной икры, маркированный как «икра лососевая», содержит 20% икры кеты и 80% икры горбуши; образец, маркированный как «икра кетовая», может содержать 20% икры кеты и 80% менее ценной горбуши.

Немаловажная область применения ДНК-маркеров – определение генетически модифицированных ингредиентов (ГМИ) в сырье, кормах и пищевых продуктах из рыб и морепродуктов. В 2015 г. в Панаме и Канаде был одобрен и выпущен на рынок ГМ-лосось, в 2018 г. – в США. Быстрорастущий атлантический лосось со встроенным геном тихоокеанского под промотором бельдюги стал первым ГМ-животным, предназначенным для употребления в пищу человеком. На различных стадиях испытаний, предшествующих реализации на рынке, находятся устойчивые к болезням генетически модифицированные американский сом, белый амур, устрицы, японская оризия. Маркировка ГМ-продукции в США законодательно не закреплена, в связи с чем велика вероятность ее появления на рынке любой из стран мира, включая ЕАЭС.

В соответствии с законодательством Республики Беларусь, покупатель имеет право на получение достоверной информации о содержании ГМИ или их компонентов в продуктах питания. В нашей стране принят Технический регламент ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», который устанавливает 0,9%-й порог для маркировки ГМ-продукции, прошедшей оценку рисков в одной из стран ЕАЭС, или 0,5%-й – для ГМО, не прошедших оценку рисков, и, следовательно, не допускаемых на рынок стран ЕАЭС. В случае выявления ГМ-рыб либо морепродуктов, которые не прошли оценку рисков ни в одной из стран Союза, и их процентного содержания свыше 0,5%, вся партия такой

продукции должна быть уничтожена либо удалена с территории ЕАЭС, что влечет за собой значительные материальные убытки. Следовательно, требуется разработка методик и тест-систем для детекции и количественного определения присутствующего на рынке ГМ-лосося, а в перспективе – и других ГМ-рыб и морепродуктов в составе пищевой продукции.

Таким образом, совершенно очевидна необходимость разработки новых геномных биотехнологий для четкой качественной и количественной ДНК-идентификации видов рыб и морепродуктов для борьбы с незаконной ловлей и фальсификацией продукции из объектов водного промысла и аквакультуры. Эту задачу предполагается реализовать в новой научно-технической программе Союзного государства «ДНК-идентификация-2». **И**

■ **Summary.** The article discusses the aspects of the use of DNA markers as a tool for identifying raw materials and food products from aquatic fishing and aquaculture objects, in particular, sturgeon and salmon. It is shown that it is necessary to develop new genomic biotechnologies for clear qualitative and quantitative DNA identification of various fish and seafood species in order to combat illegal fishing and falsification of food products.

■ **Keywords:** DNA markers, genetic expertise, sturgeon and salmon, falsification of fish products.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2020-10-36-39>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. ФАО. 2020. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры – 2020. Меры по повышению устойчивости. Рим, ФАО // <https://doi.org/10.4060/ca8642ru>.
2. European Parliament. 2013. Report on the food crisis, fraud in the food chain and the control thereof (2013/2091(INI)). Committee on the Environment, Public Health and Food Safety. A7–0434/2013.
3. INTERPOL/EUROPOL. 2016. Report: Operation OPSON V 2015. Targeting counterfeit and substandard foodstuff and beverages.
4. Pardo M. Á. Misdescription incidents in seafood sector / M. Á. Pardo, E. Jiménez, B. Pérez-Villarreal // Food Control. 2016. Vol. 62. P. 277–283.
5. Evaluating the Accuracy of Morphological Identification of Larval Fishes by Applying DNA Barcoding / H.-L. Ko [et al.] // PLoS ONE. 2013. Vol. 8, №1. P. e53451.
6. Носова А.Ю., Кипень В.Н., Царь А.И., Лемеш В.А. Дифференциация гибридного потомства белого (Hypophthalmichthys molitrix Val.) и пестрого (Hypophthalmichthys nobilis Rich.) толстолобиков на основании полиморфизма микросателлитных локусов / А.Ю. Носова [и др.] // Генетика. 2020. Т. 53, №6. С. 317–323.
7. Лемеш В.А., Ареев В.Ю., Носова А.Ю., Пантелей С.Н., Сенникова В.Д., Савченко И.А., Царь А.И. Технология генетической идентификации видов лососевых в рыбном сырье и продуктах питания (семга, форель, горбуша, кижуч, кета, нерка): методические рекомендации / В.А. Лемеш [и др.]. – Минск, 2019.
8. DNA Barcoding as a Reliable Method for the Authentication of Commercial Seafood Products / Silvia Nicolè [et al.] // Food Technol. Biotechnol. 2012. Vol. 50, №4. P. 387–398.

http://innosfera.by/2020/10/DNA_markers_fish

Статья поступила в редакцию 11.08.2020