

УДК 575.22:577.29

AGRIS: L10

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
И РЕМОНТНО-МАТОЧНЫХ СТАД СТЕРЛЯДИ НА ОСНОВАНИИ
ПОЛИМОРФИЗМА МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ**

**GENETIC DIVERSITY ANALYSIS OF NATURAL POPULATIONS AND
BROODSTOCKS OF STERLET BASED ON POLYMORPHIC ISSR-MARKERS**

©*Пелеева А. Р.*,

ORCID ID: 0000-0002-6122-0934,

Пермский государственный национальный
исследовательский университет,

г. Пермь, Россия, al.peleeva@yandex.ru

©*Peleeva A.*,

ORCID ID: 0000-0002-6122-0934, Perm State University,

Perm, Russia, al.peleeva@yandex.ru

©*Комарова Л. В.*,

ORCID ID: 0000-0002-7021-0017,

Пермский государственный национальный
исследовательский университет,

г. Пермь, Россия, lidie.komarova@mail.ru

©*Komarova L.*,

ORCID ID: 0000-0002-7021-0017, Perm State University,

Perm, Russia, lidie.komarova@mail.ru

©*Васильева Ю. С.*,

ORCID ID: 0000-0002-2255-2434, канд. биол. наук,

Пермский государственный национальный
исследовательский университет,

г. Пермь, Россия, Yulianechaeva@mail.ru

©*Vasileva Yu.*,

ORCID ID: 0000-0002-2255-2434, Ph.D.,

Perm State University,

Perm, Russia, Yulianechaeva@mail.ru

Аннотация. Изучено генетическое разнообразие двух естественных популяций стерляди (*Acipenser ruthenus* L., Acipenseridae): из нижнего течения реки Сухона в Вологодской области и из среднего течения реки Кама Пермского края; а также двух ремонтно-маточных стад стерляди из Саратовского отделения ФГБНУ «ГосНИОРХ» и из рыбоводного хозяйства «ООО Тополь» Пермского края. Для определения показателей генетического разнообразия был использован ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) — метод анализа полиморфизма ДНК с использованием ПЦР. У изученных выборок *A. ruthenus* выявлены 89 ISSR-PCR маркеров. В зависимости от праймера число амплифицированных ISSR-PCR маркеров *A. ruthenus* варьировало от 5 (праймер (CT)₈TG) до 15 (праймер (CA)₆GT), а их размеры — от 200 (ISSR-9 и X9) до 1500 (X9) пн. На общую выборку *A. ruthenus* доля полиморфных локусов высока и составила 0,910, ожидаемая гетерозиготность равна 0,296, а число эффективных аллелей — 1,518. Показатели генетического разнообразия выше в популяции из реки Кама ($H_E=0,224$; $n_e=1,380$) и ниже в

ремонтно–маточном стаде из рыбоводного хозяйства «ООО Тополь» ($H_E=0,170$; $n_e=1,290$). Наибольшее число редких ISSR–PCR маркеров отмечено в природной популяции из реки Кама ($R=3$). В ремонтно–маточном стаде из «ООО Тополь» не выявлено ни одного редкого ISSR–PCR маркера. Генетически более гетерогенной является группа естественных популяций по сравнению с группой ремонтно–маточных стад стерляди. Установлена генетическая структура изученных двух естественных популяций ($G_{st}=0,297$) и двух ремонтно–маточных стад *A. ruthenus* ($G_{st}=0,281$). Даны рекомендации по использованию данных о генетическом разнообразии изученных популяций и стад стерляди для сохранения генофонда вида *A. ruthenus*.

Abstract. Genetic diversity of two natural populations of sterlet (*Acipenser ruthenus* L., Acipenseridae) was researched: in the lower part of the Sukhona river in Vologda Region and in the middle part of the Kama river in Perm Krai; and also, two sterlet's broodstocks Saratov branch of FSBSI GosNIORH and fish farm "Topol" in Perm Krai. ISSR (Inter–Simple Sequence Repeats) — method of DNA polymorphism analysis was used for identification of genetic diversity rate while using PCR. 89 ISSR–PCR markers in researched populations of *A. ruthenus* were identified. The number of amplified ISSR–PCR markers depended on primer and ranged from 5 (primer (CT)₈TG) to 15 (primer (CA)₆GT), and its size — from 200 (ISSR–9 and X9) to 1500 (X9) bp. In total samples of *A. ruthenus* the rate of polymorphic loci is high amounted to 0.910, the expected heterozygosity is 0.296 and the number of effective alleles is — 1.518. The index of genetic diversity is higher in population from Kama river ($H_E = 0.224$; $n_e=1.380$) and lower in broodstock from "Topol" fish farm ($H_E= 0.170$; $n_e =1,290$). The highest number of rare ISSR–PCR markers were identified in natural population from Kama river ($R=3$), while in broodstock from "Topol" fish farm no rare ISSR-PCR markers were identified. The group of natural populations is more genetically heterogeneous in comparison with the group of broodstocks. Genetic structure of two natural populations ($G_{st}=0.297$) and two broodstocks of *A. ruthenus* ($G_{st}=0.281$) was established. Recommendations for genetic diversity data using of the studied populations and broodstocks have been provided for the gene pool conservation.

Ключевые слова: ISSR-PCR маркеры, полиморфизм ДНК, природные популяции, ремонтно-маточные стада, *Acipenser ruthenus*.

Keywords: ISSR-PCR markers, DNA polymorphism, natural populations, broodstocks, *Acipenser ruthenus*.

В современном мире все чаще акцентируется внимание на вопросах, связанных с охраной окружающей среды и восстановлением численности природных популяций. Стерлядь (*Acipenser ruthenus* L.), как представитель редкого вида современной фауны, охраняется как на законодательном уровне Российской Федерации, так и на международном [1]. Неуклонное сокращение численности осетровых в настоящее время вызвано рядом причин: нерациональным браконьерским промыслом, который обусловлен высоким спросом продукции этих рыб на пищевом рынке, причинением ущерба местам обитания осетровых рыб, а также нарушением условий их размножения и нагула [2]. Одним из возможных вариантов решения данной проблемы является восполнение численности природных популяций данных рыб за счет искусственного воспроизводства на рыбоводных хозяйствах с последующим выпуском молоди в естественную среду обитания [3].

Современным подходом для изучения генетического разнообразия популяций и искусственных стад рыб, межвидовой и видовой идентификации особей, которая связана с эффективным подбором пар производителей, установлением их географического происхождения, является использование молекулярных маркеров [4]. В зависимости от исследуемой задачи используются различные подходы для изучения генетических особенностей осетровых. Таким образом, проведены исследования по изучению полиморфизма изоферментных маркеров, методом электрофореза белков крови у осетровых рыб [5, 6], а также исследования генетической изменчивости domestцированных и природных стад осетровых [7]. С другой стороны, идентификация осетровых, межвидовых гибридов и товарной продукции базируется на исследовании нуклеотидных последовательностей с применением таких методов выявления полиморфизма ДНК как RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA). Эти маркеры были использованы в работе К. В. Рожкована и его соавторов для идентификации четырех межвидовых гибридов от скрещивания *A. schrenckii* × *A. baerii* × *A. ruthenus* [8]. С помощью анализа полиморфизма микросателлитных локусов была установлена видовая принадлежность осетровых (*Acipenseridae*) и выявлены особи гибридного происхождения [9], установлена географическая принадлежность особей из рыбоводных хозяйств [10]. По данным секвенирования 18S рДНК были проанализированы филогенетические связи амурского осетра *Acipenser shrenskii* [11], а также разработаны популяционно-генетические маркеры на основе вариабельности межсателлитной ДНК [12]. Исходя из литературных данных, изучение генетического разнообразия осетровых актуально и по сей день, что стимулирует продолжение научных исследований для решения уже имеющихся проблем.

Целью данной работы является сравнительный анализ генетического разнообразия двух естественных популяций и двух ремонтно-маточных стад стерляди из Приволжского федерального округа на основании полиморфизма межмикросателлитных маркеров.

Материал и методика

Материалом для сравнительного исследования полиморфизма ДНК на основании межмикросателлитного маркирования послужили две естественные популяции стерляди из рек Кама и Сухона и два ремонтно-маточных стада из рыбоводных хозяйств (Таблица 1).

Таблица 1.

ИССЛЕДОВАННЫЕ ВЫБОРКИ *A. ruthenus*

Обозначение	Место сбора	Регион	Количество
Ar_Km	река Кама, ниже плотины Воткинской ГЭС (среднее течение)	Пермский край, Волжский речной бассейн	30
Ar_Su	река Сухона, участок между н. п. Тотьма и Полдарса (нижнее течение)	Вологодская область, Северо-Двинский речной бассейн	35
Ar_Sr	ремонтно-маточное стадо Саратовского отделения ФГБНУ «ГосНИОРХ»	Саратовская область	40
Ar_Ah	ремонтно-маточное стадо стерляди рыбоводного хозяйства ООО «Тополь»	Пермский край	30

Для молекулярно-генетического анализа отбирались фрагменты грудных плавников рыб с последующим выпуском рыбы в водоем. Фиксация материала была проведена сразу же после взятия проб в 96% этиловом спирте. Хранение материала до выделения ДНК проводилось при температуре + 4 °С.

Выделение ДНК осуществлялось по стандартной методике С. Роджерса и Бендиха [13]. Качество и концентрацию ДНК определяли при помощи Spectrofotometr™ NanoDrop 2000, концентрацию каждой пробы выравняли до 10 нг/мкл. Молекулярно-генетическое исследование естественных популяций и ремонтно-маточных стад были проведены с применением ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) — метода анализа полиморфизма ДНК [14] с использованием ПЦР. Реакционная смесь для ПЦР, объемом 25 мкл, содержала: 2 единицы Taq-полимеразы; 2,5 мкл 10× буфера и MgCl₂ «Силекс М»; 25 пМ праймера «Синтол»; 0,25 mM dNTP «Fermentas»; 5 мкл ДНК. Амплификацию проводили в термоциклере «My Cycler» (Bio-Rad, USA) с пятью ISSR-праймерами, эффективными для *A. ruthenus*, подобранными ранее [15], по стандартной программе ISSR-метода (Таблица 2)

Для проверки чистоты реактивов в качестве отрицательного контроля (К-) в реакционную смесь добавляли 5 мкл деионизированной воды вместо ДНК. Ампликоны разъединяли электрофорезом в 1,7% агарозном геле в 1x TBE буфере, окрашивали бромистым этидием. Для определения длин ампликонов использовался маркер молекулярной массы (100 bp + 1.5 + 3Kb DNA Ladder, ООО «СибЭнзим-М»). Фотографирование электрофореграмм проводили с помощью системы гель-документации GelDoc XR, а анализ молекулярного веса ампликонов в программе Quantity One. Обработка данных проведена с поддержкой общепризнанных компьютерных программ POPGENE 1.31 [16] и специального макроса GenAIE×6 для MS-Excel [17, 18] с определением доли (P₉₅) полиморфных локусов, а также ожидаемой (HE) гетерозиготности, абсолютного (na) и эффективного числа аллелей (ne), числа редких аллелей (R) [19]. Сравнение показателей генетического разнообразия между группой естественных популяций и группой ремонтно-маточных стад проведено по критериям Стьюдента и Фишера при P=0,95 [20, 21].

Таблица 2.

УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛИМЕРАЗНО-ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР)

Этап	t°	Время	Число циклов	Последовательности эффективных для стерляди праймеров и температура (t°) их отжига	
Предварительная денатурация	94°C	2 мин	1		
Отжиг	94°C	20 сек	5	(ACC) ₆ G (AGC) ₆ G	64
	t° отжига праймера	10 сек			
	72°C	10 сек	35	(ACG) ₇ G (CT) ₈ TG (CA) ₆ GT	
	94°C	5 сек			
t° отжига праймера	5 сек				
	72°C	5 сек			
Элонгация	72°C	2 мин	1		
Охлаждение	4°C	20 мин	-		

Результаты и их обсуждение

В результате исследования полиморфизма ДНК на основании межмикросателлитного анализа с использованием пяти эффективных ISSR-праймеров, у 134 особей из четырех изученных выборок *A. ruthenus* было выявлено 89 ISSR-PCR маркеров, из которых 81 являлись полиморфными (P₉₅=0,910). Число амплифицированных ISSR-PCR маркеров

A. ruthenus варьировало в зависимости от праймера от 5 (праймер (СТ)₈TG) до 15 (праймер (CA)₆GT), а их размеры – от 200 (ISSR-9 и X9) до 1500 (X9) пн (Таблица 3).

Доля полиморфных локусов наибольшая в выборке (*Ar_Sr*) ремонтно-маточного стада из ЦВР Саратовского отделения ГосНИОРХ ($P_{95}=0,850$), наименьшая — в выборке (*Ar_Km*) из реки Кама ($P_{95}=0,720$).

Для исследования генетического разнообразия была установлена ожидаемая гетерозиготность (H_E). На общую выборку *A. ruthenus* этот показатель составил 0,296 (табл. 4). Этот показатель наибольший в выборке *Ar_Km* ($H_E =0,224$), а минимальный — в выборке *Ar_Ah* ($H_E =0,170$).

Таблица 3.

ХАРАКТЕРИСТИКА ISSR-PCR МАРКЕРОВ ДВУХ ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ И ДВУХ РЕМОНТНО-МАТОЧНЫХ СТАД *A. ruthenus*

ISSR-праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина маркеров, пн	Число полиморфных ISSR-PCR маркеров (их частота)				На общую выборку	
			<i>Ar_Km</i>	<i>Ar_Su</i>	<i>Ar_Sr</i>	<i>Ar_Ah</i>	всего	полиморфных
CR-212	(СТ) ₈ TG	230-960	12 (0,800)	6 (0,316)	5 (0,500)	5 (0,500)	19	15 (0,789)
X11	(AGC) ₆ G	280-1000	9 (0,750)	10 (0,833)	8 (0,800)	9 (0,818)	18	18 (1,000)
CR-215	(CA) ₆ GT	210-1000	9 (0,562)	11 (0,846)	15 (0,937)	9 (0,818)	18	16 (0,888)
ISSR-9	(ACG) ₇ G	200-800	7 (0,636)	10 (0,833)	10 (0,909)	9 (0,818)	14	13 (0,928)
X9	(ACC) ₆ G	200-1500	12 (0,857)	14 (1,000)	13 (1,000)	9 (0,818)	20	19 (0,950)
Всего ISSR-PCR маркеров			49 (0,720)	51 (0,822)	51 (0,850)	41 (0,759)	89	81 (0,910)

Примечание: *Ar_Km* – природная популяция из реки Кама, *Ar_Su* – природная популяция из реки Сухона, *Ar_Sr* – ремонтно-маточное стадо из ЦВР Саратовского отделения ГосНИОРХ, *Ar_Ah* – ремонтно-маточное стадо из ООО «Тополь»

Таблица 4.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЧЕТЫРЕХ ВЫБОРОК *A. ruthenus*

Выборки/показатели	<i>Ar_Km</i>	<i>Ar_Su</i>	<i>Ar_Sr</i>	<i>Ar_Ah</i>	На общую выборку
H_E	0,224 (0,021)	0,218 (0,021)	0,206 (0,021)	0,170 (0,021)	0,296 (0,015)
n_a	1,663 (0,475)	1,607 (0,491)	1,618 (0,489)	1,472 (0,502)	2,000 (0,000)
n_e	1,380 (0,374)	1,364 (0,352)	1,349 (0,356)	1,290 (0,366)	1,518 (0,308)
R	3	1	1	0	5

Примечание: H_E – ожидаемая гетерозиготность; n_a – абсолютное число аллелей на локус; n_e – эффективное число аллелей на локус; в скобках даны стандартные отклонения; R - число редких аллелей; обозначения выборок: *Ar_Km* – природная популяция из реки Кама, *Ar_Su* – природная популяция из реки Сухона, *Ar_Sr* – ремонтно-маточное стадо из ЦВР Саратовского отделения ГосНИОРХ, *Ar_Ah* – ремонтно-маточное стадо из ООО «Тополь»

Абсолютное число аллелей на локус (n_a), как и эффективное число аллелей на локус (n_e) наивысшее в выборке *Ar_Km* ($n_a=1,663$; $n_e=1,380$), а в выборке *Ar_Ah* эти показатели наименьшие ($n_a=1,472$; $n_e=1,290$).

Для характеристики генофондов как естественных популяций, так и ремонтно-маточных стад рыб важны редкие ISSR-PCR маркеры, встречающиеся с частотой менее 5%. Наибольшее число редких маркеров отмечено в выборке *Ar_Km* ($R=3$), а в выборке из ремонтно-маточного стада «ООО Тополь» таких маркеров не обнаружено.

При сравнении показателей генетического разнообразия группы природных популяций ($P_{95}=0,914$; $H_E=0,221$; $n_a=1,921$; $n_e=1,538$) и группы ремонтно-маточных стад ($P_{95}=0,918$; $H_E=0,189$; $n_a=1,809$; $n_e=1,444$) достоверных различий не выявлено (Таблица 5).

Таблица 5.

СРАВНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ГРУППЫ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ И ГРУППЫ РЕМОТНО-МАТОЧНЫХ СТАД *A. ruthenus*

	Природные популяции (<i>Ar_Km</i> , <i>Ar_Su</i>)	Ремонтно-маточные стада (<i>Ar_Ah</i> , <i>Ar_Sr</i>)	Значение критерия	Сравнения критерия со стандартным значением критерия $t_{on} < t_{st}$
Критерий Фишера				
P_{95}	0,914	0,918	$F=0,087$	$0,087 \leq F_{st}=1,96$
H_E	0,221 (0,021)	0,189 (0,021)	$F=0,457$	$0,457 \leq F_{st}=1,96$
Критерий Стьюдента				
n_a	1,921 (0,271)	1,809 (0,395)	$t_{st}=0,23$	$0,23 \leq 1,98$
n_e	1,538 (0,348)	1,444 (0,359)	$t_{st}=0,19$	$0,19 \leq 1,98$

Примечание: P_{95} – доля полиморфных локусов, H_E – ожидаемая гетерозиготность, n_a – абсолютное число аллелей на локус; n_e – эффективное число аллелей на локус, в скобках даны стандартные отклонения

Анализ генетической структуры изученных популяций и ремонтно-маточных стад *A. ruthenus* показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T), ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной группе по всем локусам (H_S) и коэффициент подразделенности выше в группе естественных популяций и составляет $G_{ST}=0,297$, чем у группы ремонтно-маточных стад (Таблица 6). При сравнении этих показателей между указанными группами с использованием критерия Фишера отличия незначительны ($F_{HT}=0,65 < F_t=1,96$; $F_{HS}=0,457 < F_t=1,96$; $F_{Gst}=0,208 < F_t=1,96$).

Таблица 6.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ГРУППЫ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ И ГРУППЫ РЕМОТНО-МАТОЧНЫХ СТАД *A. ruthenus*

ISSR-праймер	Группа естественных популяций (<i>Ar_Km</i> , <i>Ar_Su</i>)			Группа ремонтно-маточных стад (<i>Ar_Ah</i> , <i>Ar_Sr</i>)		
	H_T	H_S	G_{ST}	H_T	H_S	G_{ST}
CR-212	0,299 (0,023)	0,178 (0,010)	0,404	0,252 (0,024)	0,169 (0,012)	0,330
X11	0,340 (0,021)	0,223 (0,017)	0,346	0,382 (0,012)	0,208 (0,023)	0,456
CR-215	0,340 (0,023)	0,228 (0,012)	0,286	0,337 (0,025)	0,267 (0,019)	0,207
ISSR-9	0,335 (0,032)	0,241 (0,018)	0,280	0,315 (0,031)	0,247 (0,030)	0,216
X9	0,318 (0,036)	0,258 (0,026)	0,187	0,305 (0,023)	0,248 (0,022)	0,187
На общую выборку	0,314 (0,027)	0,221 (0,018)	0,297	0,263 (0,034)	0,189 (0,025)	0,281

Примечание: H_T — общее генное разнообразие; H_S — внутривидовое разнообразие; G_{ST} — показатель подразделенности популяций; в скобках даны стандартные отклонения.

Наибольшая дифференциация в группе естественных популяций *A. ruthenus* установлена с использованием праймера CR-212. В группе же ремонтно-маточных стад наибольшую степень дифференциации среди исследованных выборок выявил праймер X11.

Коэффициент подразделенности популяций показывает, что на межпопуляционную компоненту в группе естественных популяций приходится 29,7% всего генетического разнообразия, идентичный показатель в группе ремонтно-маточных стад составил 28,1%.

На основании данных о генетическом полиморфизме изученных выборок *A. ruthenus* даны следующие рекомендации:

1. Для сохранения генетических ресурсов *A. ruthenus* рекомендуется использовать популяцию из реки Кама (*Ar_Km*) с самыми высокими показателями генетического разнообразия ($H_E = 0,224$; $n_e = 1,380$).

2. На основании полученных молекулярно-генетических данных рекомендуется составление молекулярно-генетических формул, штрихкодов и генетических паспортов с целью идентификации стерляди на уровне популяций и стад.

3. С целью компенсации ущерба, нанесенного водоемам промыслом и хозяйственной деятельностью человека, стерлядь из ремонтно-маточного стада «ООО Тополь» рекомендуется выпускать в реку Кама.

Выводы

1. В двух естественных популяциях и двух ремонтно-маточных стадах стерляди, расположенных в Приволжском федеральном округе, выявлено 89 ISSR-PCR маркеров.

2. Общая выборка *A. ruthenus* характеризуется высокой долей полиморфных локусов ($P_{95}=0,910$), средними значениями ожидаемой гетерозиготности ($H_E=0,296$) и числа эффективных аллелей ($n_e = 1,518$).

3. Установлено, что показатели генетического разнообразия выше в популяции *A. ruthenus* из реки Кама ($H_E = 0,224$; $n_e = 1,380$), а ниже — в ремонтно-маточном стаде из ООО «Тополь» ($H_E = 0,170$; $n_e = 1,290$).

4. Наибольшее число редких ISSR-PCR маркеров отмечено в природной популяции из реки Кама ($R=3$). Редкие межмикросателлитные маркеры не обнаружены в ремонтно-маточном стаде из рыбоводного хозяйства ООО «Тополь».

5. Группа из двух естественных популяций и группа из двух ремонтно-маточных стад *A. ruthenus* характеризуются близкими показателями генетического разнообразия (P_{95} , H_E , n_e), между ними не установлено достоверных различий.

6. Анализ генетической структуры группы естественных популяций и группы ремонтно-маточных стад *A. ruthenus* показал, что на межпопуляционную компоненту генетического разнообразия в группе естественных популяций приходится 29,7%, а в группе ремонтно-маточных стад – 28,1%, иными словами, обе группы дифференцированы почти в равной степени.

Список литературы:

1. Raymakers C. CITES, the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: its role in the conservation of Acipenseriformes // Journal of Applied Ichthyology. 2006. Т. 22. №. s1. С. 53-65.

2. Сытова М. В. Разработка научных подходов развития осетрового хозяйства на основе прослеживаемости продукции из осетровых рыб // Труды ВНИРО, 2016. Т. 159. С. 143-150.

3. Чебанов М. С., Галич Е. В. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб. Анкара: Изд-во продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН, 2013. 325 с.

4. Козлова Н. В., Базелюк Н. Н. Применение молекулярно-генетических исследований в аквакультуре осетровых рыб // Физиология и биохимия гидробионтов, 2013. №3. С. 113-117.
5. Рябова Г. Д., Климонов В. О., Шишанова Е. И. Генетическая изменчивость природных популяций и одомашнированных стад осетровых России. М.: Россельхозакадемия, 2008. 94 с.
6. Кузьмин Е. В., Кузьмина О. Ю. Полиморфизм локуса миогенов у некоторых представителей семейства осетровых (*Acipenseridae*) // Генетика, 2014. Т. 50. №9. С. 1089-1097
6. Мамонова А. С., Шишанова Е. И. Генетическая изменчивость одомашненных стад русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt) // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство, 2016. №. 4. С. 83-90.
7. Рожкован К. В., Челомина Г. Н., Рачек Е. И. Молекулярная идентификация и особенности генетического разнообразия межвидовых гибридов амурского осетра по данным изменчивости мультилокусных RAPD-маркеров // Генетика, 2008. Т. 44. С. 1453-1460.
8. Барминцева А. Е., Мюге Н. С. Использование микросателлитных локусов для установления видовой принадлежности осетровых и выявления особей гибридного происхождения // Генетика животных, 2013. Т. 49. С. 1093-1105.
9. Слуквин А. М., Конева О. Ю., Лесюк М. И. Генетическая идентификация стерляди (*Acipenser ruthenus* L.), выращенной в ОАО «Рыбхоз «Полесье» Пинского района Брестской области, по микросателлитным маркерам // Молекулярная и прикладная генетика, 2009. Т. 9. С. 146–152.
10. Рожкован К. В., Челомина Г. Н., Иванов С. А. Филогенетические связи амурского осетра *Acipenser shrenskii* Brandt, 1869 по данным секвенирования 18S рДНК // Цитология, 2009. Т. 51. №3. С. 265-270.
11. Мельникова М. Н., Сенчукова С. Д., Павлов С. Д. Разработка новых популяционно-генетических маркеров для вида *Parasalmo* (*Oncorhynchus*) *mykiss* на основе вариабельности межсателлитной ДНК // Доклады академии наук, 2010. Т. 435. №1. С. 138-141.
12. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 5. №2. P. 69–76.
13. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification // Genomics. 1994. Т. 20. №2. С. 176–183.
14. Комарова Л. В., Костицына Н. В., Боронникова С. В. Подбор ISSR-праймеров для молекулярно-генетического анализа стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) // Тенденции инновационных процессов в науке. М., 2015. Т. 1. С.6-8.
15. Yeh F. C., Mao J., Young R. C. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Alta, Department of Renewable Resources, Univ. of Alberta, Edmonton, 1999. 238 p.
16. Светлакова Т. Н., Бобошина И. В., Нечаева Ю. С. и др. Генетическая дифференциация популяций *Populus tremula* L. в Пермском крае на основании полиморфизма ISSR-маркеров // Аграрный Вестник Урала, 2012. №3 (95). С. 11-13.
17. Peakall R., Smouse P. E. GenA1Ex6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Not. 2006. V. 6. P. 288–295.
18. Боронникова С. В. Молекулярно-генетический анализ генофондов редких и исчезающих видов растений Пермского края: автореф. дисс. доктора биол. наук. Уфа, 2009. 44 с.

19. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. Москва: Изд-во академии наук СССР, 1963. 323 с.

20. Животовский Л. А. Статистические методы анализа частот генов в природных популяциях // Итоги науки и техники. Общая генетика. М.: ВИНТИ АН СССР, 1983. Т. 8. С. 76-104.

References:

1. Raymakers, C. (2006). CITES, the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: its role in the conservation of Acipenseriformes. *Journal of Applied Ichthyology*, 22(s1), 53-65.

2. Sytov, M. V. (2016). Development of scientific approaches to the development of sturgeon farming based on the traceability of sturgeon products. *Proceedings of VNIRO*, 159, 143-150.

3. Chebanov, M. S., & Galich, E. V. (2013). Guide to the artificial reproduction of sturgeon. M. With Chebano, E. B. Galich. 325

4. Kozlova, N. V., Bazeluk, N. N., Faizulina, D. R., & Stonogina, E. V. (2013). Application of molecular genetic studies in the aquaculture of sturgeons. *Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series: Fishery*, (3), 113-117.

5. Ryabova G. D., Klimonov V. O., & Shishanova E. I. (2008). Genetic variability of natural populations and domesticated sturgeon populations of Russia. *Moscow: Rosselkhozakademiya*, 94

6. Kuzmin E. V., & Kuzmina O. Yu. (2014). Polymorphism of the locus of myogens in some representatives of the family of sturgeon (Acipenseridae). *Genetika*, 50(9). 1089-1097

7. Mamonova, A. S., & Shishanova, E. I. (2016). Genetic variability of domesticated herds of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt). *Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series: Fishery*, (4). 83-90

8. Barmintsev, A. E., & Muge, N. S. (2013). Use of microsatellite loci to determine the species of sturgeon (Acipenseridae) and identify individuals of hybrid origin. *Genetics*, 49 (9), 1093-1093

9. Slukvin, A. M., Koneva, O. Yu., & Lelyuk, M. I. (2009). Genetic identification of sterlet (*Acipenser ruthenus* L.), grown in JSC “Ryboz Polesie”, Pinsk district, Brest region, by microsatellite markers. *Molecular and applied genetics*, (9). 146-152

10. Rozhkovan, K. V., Chelomina, G. N., & Ivanov, S. A. (2009). Phylogenetic connections of the Amurskii sturgeon *Acipenser schrenckii* Brandt, 1869 On the data of Sequencing 18S rDNA. *Cytology*, 51 (3). 265-270

11. Melnikova, M. N, Senchukova, S. D., & Pavlov, S. D. (2010). Development of new population-genetic markers for the species *Parasalmo* (*Oncorhynchus*) mykiss on the basis of inter-satellite DNA variability. *Reports of the Academy of Sciences*, 435 (1). 138-141

12. Rogers, S. O., & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*, 5(2). 69–76

13. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20(2). 176–183

14. Komarova, L. V., Kostitsyna, N. V., & Boronnikova, S. V. (2015). Selection of ISSR-primers for the molecular genetic analysis of sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus). *Trends in innovative processes in science*, M., (1). 6-8

15. Yeh, F. C., Mao, J., & Young, R. C. (1999). POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Alta, Department of Renewable Resources, Univ. of Alberta, Edmonton*, 238
16. Svetlakova, T. N., Boboshina, I. V., & Nechaeva, Yu. S. [and others] (2012). Genetic differentiation of *Populus tremula* L. populations in the Perm Krai on the basis of polymorphism of ISSR markers. *Agrarian Bulletin of the Urals*, 3 (95). 11-13
17. Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GenA1Ex6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Not.*, (6). 288–295
18. Boronnikova, S. V. (2009). Molecular genetic analysis of gene pools of rare and endangered plant species in Perm Krai: *author's abstract. diss. Doctor of Biol. sciences. Ufa*, 44
19. Urbach, V. Yu. (1963). Mathematical statistics for biologists and physicians. *Moscow: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR*, 323
20. Zhivotovsky, L. A. (1983). Statistical methods of analysis of gene frequencies in natural populations. *Itogi Nauki i Tekhniki. General genetics. Moscow: VINITI AS USSR*, (8). 76-104

Работа поступила
в редакцию 23.03.2018 г.

Принята к публикации
26.03.2018 г.

Ссылка для цитирования:

Пелеева А. Р., Комарова Л. В., Васильева Ю. С. Анализ генетического разнообразия естественных популяций и ремонтно-маточных стад стерляди на основании полиморфизма межмикросателлитных маркеров // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4. №4. С. 20-29. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/peleeva> (дата обращения 15.04.2018).

Cite as (APA):

Peleeva, A., Komarova, L., & Vasileva, Yu. (2018). Genetic diversity analysis of natural populations and broodstocks of sterlet based on polymorphic ISSR-markers. *Bulletin of Science and Practice*, 4, (4), 20-29