

СЕЛЕКЦІЯ, ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

Ribogospod. nauka Ukr., 2017; 2(40): 60-67
DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2017.02.060>
УДК 597-115.08:639.371.2

РОЗРОБЛЕННЯ МЕТОДИКИ ДНК-ІДЕНТИФІКАЦІЇ ОСЕТРОВИХ ВИДІВ РИБ З ВИКОРИСТАННЯМ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ В РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ

В. Г. Спиридонов, spyrydonov@ukr.net, Інститут ветеринарної медицини НААН України, м. Київ

Мета. Розробити та провести апробацію методики ДНК-ідентифікації видової приналежності осетрових риб з використанням полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі.

Методика. Для проведення ДНК-ідентифікації осетрових риб використовували ПЛР з детекцією результатів у реальному часі.

Результати. На підставі використання ПЛР у реальному часі розроблено та апробовано методику видової ДНК-ідентифікації таких видів осетрових риб, як білуга (*Huso huso* Linnaeus), російський осетер (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt), стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) та севрюга (*Acipenser stellatus* Pallas). За отриманими результатами аналітичної специфічності та порівнянням параметрів ампліфікації було встановлено специфічну ампліфікацію та відсутність перехресних реакцій для фрагментів плавців та ікри досліджуваних видів осетрових риб. Запропонована методика ДНК-ідентифікації може використовуватися для встановлення видової приналежності осетрових риб, що дозволить контролювати виробництво конкурентоспроможної продукції аквакультури, яка буде відповідати вимогам CITES.

Наукова новизна. Вперше розроблено та апробовано методику видової ідентифікації осетрових риб з використанням ПЛР в реальному часі.

Практична значимість. Видова ідентифікація осетрових риб дозволить контролювати виробництво конкурентоспроможної та легалізованої продукції аквакультури, яка буде відповідати вимогам CITES, а також забезпечить виконання стратегічного напрямку держави з продовольчої безпеки України.

Ключові слова: ДНК-ідентифікація, полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі, мітохондріальні ДНК-маркери, осетрові види риб.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Видова ідентифікація об'єктів аквакультури останнім часом набуває все більш практичного значення, оскільки дозволяє встановлювати популяційну і видову приналежність особин, встановлювати факти фальсифікації товарної продукції, а також дозволяє здійснювати контроль збереження і відновлення рідкісних генотипів досліджуваних об'єктів під час проведення селекційно-плеєнних робіт [1, 2].

© В. Г. Спиридонов, 2017



Застосування генетичної ідентифікації має важливий прикладний аспект з огляду на розширення області використання ДНК-маркерів для ідентифікації продукції тваринного походження, яка щорічно надходить на міжнародний ринок [3–6]. Варто зазначити, що теперішнього часу генетична ідентифікація осетрових є одним з найважливіших доказів, що сприймається Конвенцією про міжнародну торгівлю видами дикої флори і фауни, які знаходяться під загрозою зникнення CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) для імпорту і експорту даних видів риб і продукції з них [7]. Масштабність і важливість такої тенденції підтверджується тим, що в багатьох країнах вже введені закони, які протоколюють і регулюють цей процес. Той факт, що ДНК чітко вказує на видову приналежність особини, відкриває можливості не тільки для видової ідентифікації живих ресурсів, але й для відстеження шляхів бракон'єрської торгівлі [8, 9].

Одним із різновидів ПЛР, що найчастіше використовується в діагностичних лабораторіях, є ПЛР у реальному часі (ПЛР-РЧ) [10]. Використання флуоресцентних зондів забезпечує безперервний моніторинг флуоресцентного сигналу на екрані комп'ютера, що дозволяє за короткий проміжок часу інтерпретувати отримані результати [11, 12].

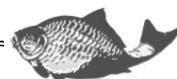
При проведенні ПЛР у реальному часі для реєстрації флуоресцентного сигналу було використано технологію «антипраймера» [13]. Суть цієї модифікації полягає у тому, що до одного із праймерів «пришивається» універсальна нуклеотидна послідовність (15–20 нуклеотидів), мічена флуоресцентним барвником на 5'-кінці. Відповідно, в реакційне середовище вносять комплементарну їй нуклеотидну послідовність — «антипраймер», — мічену гасником флуоресценції на 3'-кінці. Таким чином, до початку реакції флуоресцентний сигнал відсутній, оскільки флуорофор і гасник флуоресценції просторово зближені. За наявності специфічної матриці при проведенні ПЛР «антипраймер» руйнується Таq-ДНК-полімеразою, в результаті чого підвищується рівень флуоресценції. Такий підхід до проведення ПЛР в реальному часі є максимально економним, оскільки виключається необхідність використання флуоресцентних зондів до кожної досліджуваної матриці [13, 14].

Перевагою такої модифікації ПЛР є зменшення ризику контамінації та хибнонегативних результатів, оскільки немає потреби в проведенні розділення продуктів ампліфікації в агарозному гелі. Крім того, при використанні ПЛР-РЧ можна проводити детекцію двох і більше нуклеотидних послідовностей в одній пробірці (мультиплексний аналіз) та кількісно оцінювати результати досліджень.

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

Розроблення та впровадження у виробничу практику ДНК-ідентифікації методом ПЛР у реальному часі дозволить оперативнo встановлювати видову ДНК-приналежність осетрових риб та продукції з них, що надасть більше можливостей осетровим господарствам захистити свою товарну продукцію від фальсифікації, а споживачам — впевнитися в достовірності видового походження даної продукції.

Мета роботи — розробити та апробувати методикy ДНК-ідентифікації видової приналежності осетрових видів риб з використанням ПЛР у реальному часі.



МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для дослідження використовували фрагменти тканин плавців та ікри осетрових риб, таких як білуга, російський осетер, стерлядь та севрюга.

Фрагменти плавців відбирали прижиттєво шляхом акуратного відтинання фрагмента грудного чи хвостового плавця за допомогою стерильних інструментів. Ікру від осетрових риб відбирали під час маніпуляцій зі штучного відтворення в кількості 3–5 г кожного досліджуваного зразка. Відібраний біологічний матеріал фіксували 96% етанолом у спеціально промаркованих стерильних пробірках індивідуально для кожної особини.

Виділення геномної ДНК з відібраних фрагментів плавців та ікри проводили згідно інструкції виробника, використовуючи набір «ДНК-сорб-В» («Амплі-Сенс», Росія) [15, 16]. Ампліфікацію ДНК-мішені здійснювали на приладі *ABI PRISM SDS 7000* (*Applied Biosystems, Великобританія*) із наступним температурним профілем: активація ДНК-полімерази — 5 хв. при 95°C, та 30 циклів ампліфікації, які включали: денатурацію (15 с, 95°C); відпалювання праймерів (30 с, 58°C); елонгація (30 с, 72°C); приєднання антипраймера (45 с, 50°C).

Для видової ідентифікації використовували ділянку мітохондріальної ДНК, що кодує ділянку гена *Cyt b* [2]. Дизайн прамейрів здійснювали таким чином, щоб один із них був спільним для чотирьох видів осетрових риб (мічений флуоресцентним барвником FAM), а інші, немічені, були видоспецифічні [17].

Ампліфікацію проводили в реакційній суміші об'ємом 25 мкл, що містила: 50,0 мМ Трис-НСІ (рН 8,3), 3,0 мМ MgCl₂, 0,2 мМ кожного з дНТФ, по 5 пМ пари олігонуклеотидних праймерів, 10 пМ «антипраймера» та 1 од. Таq-ДНК-полімерази. Зразки виділеної ДНК вносили по 5 мкл.

Для попередження отримання хибнопозитивних та хибнонегативних результатів дослідження за проведення ПЛР використовували наступні контролі:

- позитивний контроль;
- негативний контроль;
- перехресні контролі;
- контроль без матриці (NTC, no template control);
- негативний контроль виділення (НКВ).

Аналіз результатів та статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення *ABI Prism 7000 Vs. 1.2.3*.

Для інтерпретації результатів ПЛР проводили аналіз кривих ампліфікації невідомих зразків та контролів. Зразок вважали позитивним, якщо спостерігалася ампліфікація за барвником FAM (цільова мішень). Негативним вважали зразок, у якого відсутня ампліфікація за барвником FAM.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті використання ПЛР у реальному часі розроблено та апробовано методику видової ДНК-ідентифікації осетрових видів риб із використанням видоспецифічних мітохондріальних ДНК-маркерів.



Розроблена методика дозволяє здійснити одночасну видову ідентифікацію чотирьох видів осетрових риб, які найбільш широко представлені в аквакультури: білуга (*Huso huso* Linnaeus); російський осетер (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt); севрюга (*Acipenser stellatus* Pallas); стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus).

З метою визначення аналітичної специфічності методу було проведено дослідження ДНК, виділеної з плавців та ікри осетрових риб (табл. 1).

Таблиця 1. Аналітична специфічність методики видової ідентифікації осетрових риб

Досліджуваний матеріал	Значення порогового циклу за каналом FAM (Ct)			
	Тест для ідентифікації ДНК білуги	Тест для ідентифікації ДНК рос. осетра	Тест для ідентифікації стерляді	Тест для ідентифікації севрюги
Плавець білуги № 1	22,3	–	–	–
Плавець білуги № 2	23,2	–	–	–
Плавець білуги № 3	22,9	–	–	–
Плавець рос. осетра № 1	–	22,8	–	–
Плавець рос. осетра № 2	–	22,3	–	–
Плавець рос. осетра № 3	–	23,5	–	–
Плавець рос. осетра № 4	–	22,2	–	–
Ікра рос. осетра	–	23,1	–	–
Ікра рос. осетра	–	22,6	–	–
Плавець стерляді № 1	–	–	25,6	–
Плавець стерляді № 2	–	–	24,3	–
Плавець стерляді № 3	–	–	24,8	–
Ікра стерляді № 1	–	–	24,9	–
Ікра стерляді № 1	–	–	23,8	–
Ікра стерляді № 1	–	–	24,6	–
Плавець севрюги № 1	–	–	–	25,2
Плавець севрюги № 2	–	–	–	24,3
Ікра севрюги № 1	–	–	–	24,5
Ікра севрюги № 2	–	–	–	24,8

Отримані результати, відображені в таблиці 1, вказують на те, що при дослідженні біологічного матеріалу від російського осетра, стерляді та севрюги була відмічена специфічна ампліфікація, а також відсутність перехресних реакцій при проведенні ДНК-ідентифікації.

Незначна різниця значення порогового циклу (Ct) та ефективності флуоресценції (ВОФ) свідчать про рівнозначну можливість використання як плавців, так і ікри для видової ідентифікації осетрових риб (табл. 2).



Таблиця 2. Порівняльні дослідження параметрів ампліфікації, отриманих при дослідженні плавців та ікри осетрових риб

Сировина	Плавець		Ікра	
	Сt*	ВОФ**	Сt	ВОФ
Російський осетр	22,7	800	22,9	800
Стерлядь	24,9	700	24,5	800
Севрюга	24,8	1000	24,7	1100

Примітка. *Сt — значення порогового циклу, **ВОФ — відносні одиниці флуоресценції.

Розроблена методика була успішно валідована в умовах Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК з метою аналізу видової приналежності осетрових риб та отриманої від них продукції.

Таким чином, розроблена методика ДНК-ідентифікації осетрових риб дозволяє визначати їх видову приналежність, і, таким чином, встановлювати факти фальсифікації товарної продукції, що має вагоме економічне значення як для вітчизняного, так і міжнародного ринку осетрової продукції.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

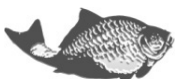
Для точного та оперативного визначення видового походження осетрових риб було впроваджено методику ДНК-ідентифікації із застосуванням полімеразної ланцюгової реакції. Проведені дослідження свідчать про ефективність розробленої методики ДНК-ідентифікації таких осетрових риб, як білуга (*Huso huso* Linnaeus); російський осетр (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt); севрюга (*Acipenser stellatus* Pallas) та стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus).

За результатами визначення аналітичної специфічності та порівняльних досліджень параметрів ампліфікації було встановлено специфічну ампліфікацію та відсутність перехресних реакцій як для фрагментів плавців, так і для ікри досліджуваних видів осетрових риб.

Запропонована методика для ДНК-ідентифікації осетрових риб дозволить контролювати виробництво конкурентоспроможної продукції аквакультури, що відповідає вимогам СІТЕS, а також забезпечить виконання стратегічного плану держави з продовольчої безпеки України шляхом запобігання фальсифікації даного виду продукції.

ЛІТЕРАТУРА

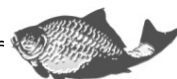
1. Войнова Н. В. Генетическая паспортизация осетровых: практические и теоретические аспекты. Москва: ВНИРО, 2004. 189 с.
2. Мюге Н. С. Полиморфизм контрольного региона митохондриальной ДНК восьми видов осетровых и разработка системы ДНК-идентификации видов//Генетика. 2008. № 7. С. 913—919.
3. Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: the case of sturgeon/ Congiu L. et al.//Mol. Ecol. 2001. Vol. 10. P. 2355—2359.
4. Применение молекулярно-генетических исследований в аквакультуре осетровых рыб/Козлова Н. В. и др.//Вестник АГТУ. 2013. № 3. С. 113—117. (Серия: Рыбное хозяйство).



5. Барминцева А. Е. Использование микросателлитных локусов для установления видовой принадлежности осетровых (*Acipenseridae*) и выявления особей гибридного происхождения//Генетика животных. 2013. Т. 49, № 9. С. 1093—1105.
6. Molecular genetic analysis among subspecies of two Eurasian sturgeon species, *Acipenser baerii* and *A. stellatus*/Doukakis P. et al.//Mol Ecol. 1999. Vol. 12. P. 117—127.
7. Raymakers C. CITES, the Convention on International Trade in Endangered Species of wild fauna and flora: its role in the conservation of *Acipenseriformes*//J. Appl. Ichthyol. 2006. Vol. 22 (Suppl. 1). P. 53—65.
8. Впровадження генетичної паспортизації осетрових в Україні/Малишева О. О. та ін.//Тваринництво України. 2015. № 9. С. 12—15.
9. Генетическая паспортизация производителей осетровых рыб/Войнова Н. В. и др.//Новые технологии в защите биоразнообразия в водных экосистемах: Междунар. конф.: матер. Москва, 2002. С. 91.
10. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Москва: Мир, 2002. 589 с.
11. Kinetic PCR: Real time monitoring of DNA amplification reactions/Higuchi R. et al.//Biotechnology. 1993. Vol. 11. P. 1026—1030.
12. The polymerase chain reaction: clinical applications/White T. J. et al.//Adv. Clin. Chem. 1992. Vol. 29. P. 161—196.
13. Jin Li G., Makrigiorgos G. M. Anti-primer quenching-based real-time PCR for simplex or multiplex DNA quantification and single-nucleotide polymorphism genotyping//Nature Protocols. 2007. Vol. 2, iss. 1. P. 50—58.
14. Методические рекомендации по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве/Зиновьева Н. А. и др. Дубровицы: ВИЖ, 1998. 47 с.
15. Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids/Boom R. et al.//Journal of Clinical Microbiology. 1990. Vol. 28. P. 495—503.
16. Carter M. J., Milton I. D. An inexpensive and simple method for DNA purifications on silica particles//Nucleic Acids Res. 1993. Vol. 21. P. 1044—1046.
17. Ребриков Д. В., Саматон Г. А., Трофимов Д. Ю. ПЦР в реальном времени. 2-е изд., испр. и доп. Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2009. 223 с.

REFERENCES

1. Voynova, N. V. (2004). *Geneticheskaya pasportizatsiya osetrovyykh: prakticheskie i teoreticheskie aspekty*. Moskva: VNIRO.
2. Myuge, N. S. (2008). Polimorfizm kontrol'nogo regiona mitokhondrial'noy DNK vos'mi vidov osetrovyykh i razrabotka sistemy DNK-identifikatsii vidov. *Genetika*, 7, 913-919.
3. Congiu, L., Dupanloup, I., & Patarnello, T. et al. (2001). Identification of interspecific hybrids by amplified fragment length polymorphism: the case of sturgeon. *Mol. Ecol.*, 10, 2355-2359.
4. Kozlova, N. V., Bazelyuk, N. N., Fayzulina, D. R., & Stonogina, E. V. (2013). Primenenie molekulyarno-geneticheskikh issledovaniy v akvakul'ture osetrovyykh ryb. *Vestnik AGTU*, 3, 113-117.
5. Barmintseva, A. E. (2013). Ispol'zovanie mikrosatellitnykh lokusov dlya ustanovleniya vidovoy prinadlezhnosti osetrovyykh (*Acipenseridae*) i vyyavleniya osobey gibridnogo proiskhozhdeniya. *Genetika zhivotnykh*, 49, 9, 1093-1105.



6. Doukakis, P., Birstein, V. J., & Ruban, J. J. et al. (1999). Molecular genetic analysis among subspecies of two Eurasian sturgeon species, *Acipenser baerii* and *A. stellatus*. *Mol Ecol.*, 12, 117-127.
7. Raymakers, C. (2006). CITES, the Convention on International Trade in Endangered Species of wild fauna and flora: its role in the conservation of *Acipenseriformes*. *J. Appl. Ichthyol.*, 22 (Suppl. 1), 53-65.
8. Malysheva, O. O., Spyrydonov, V. H., & Melnychuk, S. D. (2015). Vprovadzhenia henetychnoi pasportyzatsii osetrovyykh v Ukraini. *Tvarynyystvo Ukrainy*, 9, 12-15.
9. Voinova, N. V., Timoshkina, N. N., Chistyakov, V. A., Barmintsev, V. A., Abramova, A. B., & Chudinov, O. S. (2002). Geneticheskaya pasportizatsiya proizvoditeley osetrovyykh ryb. *Novye tekhnologii v zashchite bioraznoobraziya v vodnykh ekosistemakh: Mezhdunarodnaya konf.* Moskva. 91.
10. Glik, B., & Pasternak, Dzh. (2002). Molekulyarnaya biotekhnologiya. Printsipy i primenenie. Moskva: Mir.
11. Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., & Watson, R. (1993). Kinetic PCR: Real time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*, 11, 1026-1030.
12. White, T. J., Madej, R., Persing, D. H., & Erlich, H. A. (1992). The polymerase chain reaction: clinical applications. *Adv. Clin. Chem.*, 29, 161-196.
13. Jin, Li G., & Makrigiorgos, G. M. (2007). Anti-primer quenching-based real-time PCR for simplex or multiplex DNA quantification and single-nucleotide polymorphism genotyping. *Nature Protocols*, 2, 1, 50-58.
14. Zinov'eva, N. A., Popov, A. P., & Ernst, L. K. et al. (1998). *Metodicheskie rekomendatsii po ispol'zovaniyu metoda polimeraznoy tsepnoy reaktsii v zhivotnovodstve*. Dubrovitsy: VIZh.
15. Boom, R., Sol, C. J. A., & Salimans, M. M. et al. (1990). Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 495-503.
16. Carter, M. J., & Milton, I. D. (1993). An inexpensive and simple method for DNA purifications on silica particles. *Nucleic Acids Res.*, 21, 1044-1046.
17. Rebrikov, D. V., Samaton, G. A., & Trofimov, D. Yu. (2009). *PTsR v real'nom vremeni. (2-nd ed.)*. Moskva: Binom. Laboratoriya znaniy.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

В. Г. Спиридонов, spyrydonov@ukr.net, Институт ветеринарной медицины НААН
Украины, г. Киев

Цель. Разработать и провести апробацию методики ДНК-идентификации видовой принадлежности осетровых рыб с применением полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Методика. Для проведения ДНК-идентификации осетровых рыб использовали ПЦР с детекцией результатов в реальном времени.

Результаты. На основании использования ПЦР в реальном времени разработано и апробировано методику видовой ДНК-идентификации таких видов рыб, как белуга (*Huso huso* Linnaeus), русский осетр (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt), стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) и севрюга (*Acipenser stellatus* Pallas). По полученным результатам аналитической специфичности и сравнения параметров амплификации было установлено специфическую амплификацию и отсутствие перекрестных реакций для фрагментов плавников и икры



исследуемых видов осетровых рыб. Предложенная методика ДНК-идентификации может использоваться для определения видовой принадлежности осетровых рыб, что позволит контролировать производство конкурентоспособной продукции аквакультуры, которая будет соответствовать требованиям CITES.

Научная новизна. Впервые разработана и апробирована методика видовой идентификации осетровых рыб с использованием ПЦР в реальном времени.

Практическая значимость. Видовая идентификация осетровых рыб позволит контролировать производство конкурентоспособной и легализованной продукции аквакультуры, соответствующей требованиям CITES, а также обеспечит выполнение стратегического плана страны по продовольственной безопасности Украины.

Ключевые слова: ДНК-идентификация, полимеразная цепная реакция в реальном времени, митохондриальные ДНК-маркеры, осетровые виды рыб.

DEVELOPMENT OF DNA IDENTIFICATION FOR STURGEON SPECIES WITH THE USE OF REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION

V. Spirydonov, spirydonov@ukr.net, Institute of veterinary medicine, NAAS, Kyiv

Purpose. Sturgeon is the common name for the 27 species of fish belonging to the family Acipenseridae. The family is grouped into four genera: Acipenser, Huso, Scaphirhynchus and Pseudoscaphirhynchus. Four species may now be extinct. Two closely related species, Polyodon spathula (paddlefish) and Psephurus gladius (Chinese paddlefish, possibly extinct) are of the same order, Acipenseriformes, but belong to the family Polyodontidae and are not considered as "true" sturgeons. The aim of our paper is to develop and carry out a new DNA identification methodology for the sturgeons species with the use of real time polymerase chain reaction.

Methodology. A PCR with the detection of results in real time was used for DNA-identification of sturgeon species.

Findings. The new real-time PCR was developed and tested for rapid and accurate identification of DNA extracted from eggs and meat of four sturgeon species such as beluga (*Huso huso*, Linnaeus), Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt), sterlet (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus) and stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*, Pallas). Based on the results of analytical specificity and comparison of the amplification parameters, we detected specific amplification and absence of cross reactions for fin fragments and eggs of the studied fish species. The proposed DNA-identification method can be used for the identification of sturgeon species that will allow controlling the production of competitive aquaculture products, which will meet CITES requirements.

Originality. For the first time, the development and approbation of the methodology for species identification of sturgeon fish by using real-time PCR was carried out.

Practical value. Species identification of sturgeon fish will allow controlling the production of competitive and legalized aquaculture products that meet CITES requirements as well as will ensure the implementation of the country strategic plan for food security in Ukraine.

Keywords: DNA-identification, real time polymerase chain reaction, mitochondrial DNA markers, sturgeon species.

