

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЙ ВЕСЛОНОСА (*POLYODON SPATHULA*) ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ДНК-МАРКЕРАМИ

Х.М. КУРТА¹, О.О. МАЛИШЕВА¹, В.Г. СПИРИДОНОВ²

¹ Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК НУБіП України, с.м.т. Чабани, вул. Машинобудівників, 7, 08162

² Інститут ветеринарної медицини НААН України, м. Київ, вул. Донецька, 30, 02000

E-mail: khrystyna.kurta@gmail.com, malisheva.sirota@gmail.com, spyridonov@ukr.net

Проведено порівняльну характеристику генетичної структури штучних українських та польських популяцій з природними популяціями веслоноса зі США за трьома мікросателітними ДНК-маркерами: Psp21, Psp26 та Psp28. Середнє значення N_a було на рівні 6,1 та 5,5, для українських і польських популяцій, відповідно. Для природних популяцій показник N_a був майже вдвічі вищим і в середньому становив – 11,1 аеля. Зафіксовано переважання середніх значень фактичної (Но) гетерозиготності над теоретичною (Не) як для українських ($0,709 > 0,616$), так і для польських ($0,809 > 0,699$) популяцій. Для природних популяцій середні значення Но та Не знаходилися в межах генетичної рівноваги згідно рівняння Харді-Вайнберга і були на рівні 0,817 та 0,813, відповідно. Згідно із зіставленими даними, встановлено зменшення загальної кількості аельних варіантів для штучних популяцій, порівняно з природними популяціями. Отримані значення рівня гетерозиготності та від'ємні показники індексу фіксації F_{is} для штучних популяцій вказують на відсутність інбридингу на даному етапі культивування веслоноса, що є підтвердженням достатньої кількості плідників з гетерозиготними генотипами для відтворення в умовах аквакультури.

Ключові слова: *Polyodon spathula*, ДНК-маркери, мікросателіти, генетична структура, алелі, локуси, поліморфізм.

Вступ. Веслоніс (*Polyodon spathula*) – об'єкт природної іхтіофауни великих річок Північної Америки, таких як Міссісіпі, Міссурі та їх приток. На теперішній час, веслоніс представлений у 22 штатах, проте у трьох штатах (Нью-Йорк, Пенсільванія та Північна Кароліна) вважається повністю зниклим. Відсутність належного управління природними рибними запасами та контролю нелегального вилову, руйнування природних місць нагулу та нересту призвело до порушення балансу екосистеми водойм та загрози зникнення цінних осетроподібних (*Aci-*

penseriformes) видів риб, зокрема і веслоноса. За таких умов державними установами з охорони природи було вжито заходів щодо управління природними популяціями шляхом встановлення обмежень на вилов, експорт, а також імпорт веслоноса та продукції з нього на міжнародному рівні згідно Конвенції CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species*). На сьогоднішній день, у Сполучених Штатах пріоритетним завданням є збереження та відновлення природних запасів веслоноса та нарощування виробництва товарної продукції шляхом інтенсифікації аквакультури даного виду риб [1–6].

З другої половини ХХ століття відбувалося розповсюдження іхтіологічного матеріалу веслоноса та розвиток його штучного культивування у країнах Західної та Східної Європи, а також Азії [5]. За темпами нарощування комерційного виробництва аквакультури у Східній Європі саме Україна переважає за інтенсивністю вирощування веслоноса у полікультурі з іншими видами риб, а найвищі об'єми виробництва товарної продукції веслоноса на міжнародному рівні зосереджені в Китаї [1]. Інтенсифікація штучного відтворення веслоноса обумовлена підвищеною продуктивністю даного виду, зокрема, самки статевозрілого віку досягають середньої маси 25–30 кг та можуть давати більше 15 % чорної ікри від маси тіла, що складає від 2 до 4,5 кг даної продукції [1, 6].

Нині, досить актуальним є розвиток культивування риб у штучних умовах із застосуванням сучасних досягнень генетики та селекції для контролю за відтворенням, моніторингу та управління генетичним біорізноманіттям племінних стад об'єктів риборозведення [7–17].

Аналіз останніх публікацій свідчить про підвищену потребу у вивченні генетичної структури популяцій веслоноса за використання мік-

росателітних ДНК-маркерів [19–24]. Мікросателіти є високополіморфними ДНК-маркерами, які дозволяють ефективно визначати генетичні відмінності між популяціями, бачити різницю в генотипах окремих особин та встановлювати походження племінного матеріалу різних видів біологічних організмів [7, 9, 15, 17, 18].

Проведення подібних досліджень з генотипування вітчизняних племінних стад веслоноса за мікросателітними ДНК-маркерами аналогічним чином дозволить здійснити моніторинг стану генетичної структури даного виду та порівняти отримані результати з наявними даними закордонних дослідників [20, 21]. Крім того, у перспективі за допомогою ДНК-ідентифікації можливо створити генетичну базу даних племінних ресурсів веслоноса з рибницьких господарств різних регіонів, що дозволить у подальшому розробити ефективні схеми селекційно-племінної роботи, обміну та комбінування пар плідників та підтримання генетичного біорізноманіття цього виду риб.

У даній науковій роботі зібрано та зіставлено результати мікросателітного ДНК-аналізу веслоноса штучних українських [25] та польських популяцій [21] з природними популяціями даного об'єкта зі США [20].

Метою досліджень було проведення порівняльного аналізу генетичної структури популяції веслоноса за трьома мікросателітними ДНК-маркерами.

Подібні пошукові роботи дозволять охарактеризувати особливості генетичної структури популяції веслоноса, встановити відмінності за показниками генетичного поліморфізму між популяціями як з природних водойм, так і вирощених в умовах аквакультури.

Матеріали і методи. Матеріалом для дослідження були штучні популяції веслоноса з ПрАТ «Чернігіврибгосп» ($n = 35$, Чернігівська обл., 2017 р.), ТОВ «Меркурій» ($n = 38$, Вінницька обл., 2017 р.) та ДУ «ВЕДОРЗ ім. академіка С.Т. Артющика» ($n = 32$, Херсонська обл., 2016 р.); популяції з двох рибницьких господарств Польщі: Вазозже, Куявсько-Поморське воєводство ($n=29$) та Погорже, Сілезьке воєводство ($n = 24$), описані Kaszmarczyk et al. [21]. Популяції, які населяють природні водойми США та описані Heist et al. [20], було розглянуто нами вибірково з урахуванням особливостей геогра-

фічного розташування досліджуваних регіонів. Зокрема, для порівняльного аналізу було обрано популяції з річок Біг-Мадді та Міссісіпі, штат Іллінойс ($n = 28$); річки Міссурі, штат Північна Дакота ($n = 39$) та річок Байо Неспік і Мерментау, штат Луїзіана ($n = 45$) [20].

Виділення ДНК з біологічного матеріалу українських популяцій веслоноса проводили з використанням методу сорбції ДНК на діоксиді кремнію (SiO_2) [26].

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили на ампліфікаторі Veriti 96 Well (Applied Biosystems, США) з попередньо оптимізованою програмою: (а) початкова денатурація – 5 хв, 95 °С; (б) 30 циклів, що включали денатурацію – 15 с, 95 °С; гібридизацію праймерів – 25 с, 56 °С; елонгацію – 5 с, 72 °С та (в) заключна елонгація – 5 хв, 72 °С [27].

Реакційна суміш загальним об'ємом 20,0 мкл містила наступні компоненти: 50,0 мМ Трис-НCl (рН 8,3), 1,5 мМ MgCl_2 , 0,2 мМ кожного з дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP), по 5 рМ прямого і зворотного локус-специфічних праймерів та 1,5 од. Таq-ДНК-полімерази («Thermo Scientific™», Литва). Зразки виділеної ДНК вносили в кількості 5 мкл [27].

Продукти ампліфікації денатурували формамідом («Sigma», США) та розділяли шляхом капілярного електрофорезу на генетичному аналізаторі ABI Prism 3130 Genetic Analyser («Applied Biosystems», США). Розміри алелів визначали за допомогою програми «Gene Mapper 3.7» (Applied Biosystems, США) з використанням стандарту LIZ-500 («Applied Biosystems», США).

Для проведення досліджень використовували панель з трьох найбільш вживаних та попередньо охарактеризованих мікросателітних ДНК-маркерів: Psp21 (142–170 п.н.), Psp26 (130–164 п.н.) та Psp28 (224–260 п.н.) [27]. Видоспецифічні ДНК-маркери для проведення порівняльного аналізу було підібрано на основі результатів попередніх досліджень генетичної структури природних та штучних популяцій веслоноса [19–21]. Найбільш інформативні маркери було визначено за наявністю поліморфізму за кожним відповідним локусом. Основні параметри, які бралися до уваги – це кількість ідентифікованих алелів, показники теоретично очікуваної (*expected heterozygosity* –



Карта регіонів відбору досліджуваних зразків веслоноса: а – Україна: 1 – ПрАТ «Чернігвірибгосп», Чернігівська обл. ($n = 35$), 2 – ТОВ «Меркурій», Вінницька обл. ($n = 38$), 3 – ДУ «ВЕДОРЗ ім. академіка С.Т. Артюшика», Херсонська обл. ($n = 32$); б – Польща: 4 – Вазозже, Куявсько-Поморське воєводство ($n = 29$), 5 – Погорже, Сілезьке воєводство ($n = 24$) [21]; в – США: 6 – річки Біг-Мадді та Міссісіпі, штат Іллінойс ($n = 28$), 7 – річка Міссурі, штат Північна Дакота ($n = 39$), 8 – річки Байо Незпік і Мерментау, штат Луїзіана ($n = 45$) [20]

H_e) та фактичної (*observed heterozygosity* – H_o) гетерозиготності [27].

Визначення кількості алелів на локус (N_a), розрахунки показників фактичної (H_o), теоретичної гетерозиготності (H_e), індексу фіксації (F_{is}), достовірні відмінності (P) між рівнем фактичної та теоретичної гетерозиготності згідно рівняння Харді-Вайнберга (HWE) та розрахунки середніх показників проводили із застосуванням програм MS Excel 2010, PowerStats V12 (Promega), Cervus v. 3.0.3, GENALEX 6.5, Statistica 8.0 (StatSoft, Tulsa, USA) [28–31].

Результати досліджень та їх обговорення.

У результаті наукових досліджень нами було здійснено оцінку генетичного різноманіття штучних популяцій веслоноса з досліджуваних господарств трьох регіонів України, а саме, Чернігівської, Вінницької та Херсонської областей. Крім того, розраховані показники генетичного поліморфізму зіставлено з відповідними даними, що попередньо були

досліджені та описані науковцями Польщі та США (рисунк).

Згідно аналізу розрахованих середніх показників кількості алелів на популяцію (N_a) встановлено, що штучні популяції веслоноса були менш поліморфними, порівняно з природними популяціями (табл. 1).

Так, для українських популяцій середня кількість алелів на локус коливалася від 5,7 (Чернігівська та Вінницька обл.) до 7,0 (Херсонська обл.), тоді як для польських популяцій – від 4,7 (Погорже) до 6,3 (Вазозже) [21]. Для природних популяцій показник середньої кількості ідентифікованих алельних варіантів на локус коливався від 10,0 (р. Біг-Мадді та Міссісіпі) до 12,3 (р. Міссурі) [20]. При цьому середня кількість алелів для українських та польських популяцій була на рівні 6,1 та 5,5, відповідно, тоді як для природної популяції цей показник був майже вдвічі вищим, і становив – 11,1 алеля.

За значеннями середньої кількості ідентифікованих алейних варіантів для кожного з досліджуваних локусів встановлено, що найбільш поліморфними для українських популяцій веслоноса були локуси Psp26 (7,7 аеля) та Psp28 (7,3 аеля). Для штучних популяцій з Польщі найбільш поліморфним виявився локус Psp26 – 7,0 аеля. Для природної популяції найбільш поліморфним зафіксовано локус Psp28, середня кількість ідентифікованих аелів для якого складала – 15,0. Варто зауважити, що найменш поліморфним як для штучних, так і для природних популяцій був локус Psp21, середня кількість аелів для якого становила 3,3 та 4,0 для популяцій з України та Польщі, відповідно, та 8,0 – для природних популяцій веслоноса.

Загалом, отримані дані вказують на зниження загальної кількості алейних варіантів за досліджуваними мікросателітними локусами ДНК у популяціях, які культивуються в умовах аквакультури, порівняно з популяціями з природних водойм.

За даними розрахунків показників теоретичної (H_e) та фактичної (H_o) гетерозиготності за трьома мікросателітними ДНК-маркерами встановлено, що для досліджуваних популяцій з регіонів України середнє значення H_o знаходилося в межах від 0,675 (вінницька популяція) до 0,729 (херсонська популяція), а середній показник H_e коливався від 0,589 (вінницька популяція) до 0,650 (чернігівська популяція) (табл. 2).

Загалом за українськими популяціями спостерігали перевагу середнього показника фактичної гетерозиготності ($H_o = 0,709$) над теоретичною ($H_e = 0,616$). При цьому зафіксовано достовірну перевагу H_o над H_e для локусу Psp26 ($P < 0,001$) херсонської популяції та для локусу Psp28 з рівнем достовірності $P < 0,01$ та $P < 0,05$ для чернігівської та вінницької популяцій, відповідно. Достовірну нестачу гетерозиготних генотипів виявлено для локусу Psp21 ($P < 0,05$) херсонської популяції та для локусу Psp26 ($P < 0,001$) вінницької популяції веслоноса.

Таблиця 1. Кількість ідентифікованих алейних варіантів у популяціях веслоноса

Регіони відбору досліджуваних зразків веслоноса	Кількість виявлених аелів			Середня кількість аелів (N_a) на популяцію
	Psp21	Psp26	Psp28	
<i>Україна</i>				
ДУ «ВЕДОРЗ ім. Академіка С.Т. Артюшика» (Херсонська обл.), $n = 32$	4,0	9,0	8,0	$7,0 \pm 1,527$
ПрАТ «Чернігіврибгосп» (Чернігівська обл.), $n = 35$	3,0	7,0	7,0	$5,7 \pm 1,330$
ТОВ «Меркурій» (Вінницька обл.), $n = 38$	3,0	7,0	7,0	$5,7 \pm 1,330$
Середнє значення	3,3	7,7	7,3	$6,1 \pm 0,186$
<i>Польща</i>				
Вазозже, Польща, $n = 29$	4,0	9,0	6,0	$6,3 \pm 1,450$
Погорже, Польща, $n = 24$	4,0	5,0	5,0	$4,7 \pm 0,330$
Середнє значення	4,0	7,0	5,5	$5,5 \pm 0,800$
<i>США</i>				
Річки Біг-Мадді та Міссісіпі, Іллінойс, $n = 28$	7,0	10,0	13,0	$10,0 \pm 1,730$
Річка Міссурі, Північна Дакота, $n = 39$	9,0	11,0	17,0	$12,3 \pm 2,400$
Річки Байо Незпик та Мерментау, Луїзіана, $n = 45$	8,0	10,0	15,0	$11,0 \pm 2,080$
Середнє значення	8,0	10,3	15,0	$11,1 \pm 0,665$

Примітка. Результати для популяцій із Польщі та США наведено за Kaczmarczyk et al. [21] та Heist et al. [20], відповідно.

Таблиця 2. Порівняльна характеристика показників генетичного поліморфізму штучних та природних популяцій веслоноса за трьома мікросателітними ДНК-маркерами

Регіони відбору досліджуваних зразків веслоноса	Локус	Ho	He	Fis	P
<i>Україна</i>					
ДУ «ВЕДОРЗ ім. академіка С.Т. Артюшика» (Херсонська обл.), n = 32	Psp21	0,313	0,325	0,038	0,024*
	Psp26	0,875	0,785	-0,115	0,000***
	Psp28	1,000	0,714	-0,401	0,080
Середнє значення		0,729 ± 0,211	0,608 ± 0,143	-0,159 ± 0,129	0,035 ± 0,023
ПрАТ «Чернігіврибгосп» (Чернігівська обл.), n = 35	Psp21	0,457	0,550	0,169	0,602
	Psp26	0,771	0,693	-0,114	0,305
	Psp28	0,943	0,708	-0,331	0,001**
Середнє значення		0,724 ± 0,142	0,650 ± 0,050	-0,092 ± 0,144	0,303 ± 0,173
ТОВ «Меркурій» (Вінницька обл.), n = 38	Psp21	0,368	0,392	0,059	0,927
	Psp26	0,658	0,707	0,070	0,000***
	Psp28	1,000	0,670	-0,493	0,014*
Середнє значення		0,675 ± 0,133	0,589 ± 0,099	-0,121 ± 0,186	0,314 ± 0,307
Середнє за популяціями		0,709 ± 0,017	0,616 ± 0,018	-0,124 ± 0,019	0,217 ± 0,091
<i>Польща</i>					
Вазозже, Польща, n = 29	Psp21	0,687	0,550	-0,249	0,630
	Psp26	0,790	0,719	-0,099	0,452
	Psp28	0,969	0,870	-0,114	0,000***
Середнє значення		0,815 ± 0,080	0,713 ± 0,092	-0,153 ± 0,047	0,361 ± 0,188
Погорже, Польща, n = 24	Psp21	0,620	0,570	-0,087	0,104
	Psp26	0,830	0,720	0,152	0,006*
	Psp28	0,960	0,768	-0,250	0,000***
Середнє значення		0,803 ± 0,099	0,686 ± 0,059	-0,062 ± 0,116	0,037 ± 0,034
Середнє за популяціями		0,809 ± 0,006	0,699 ± 0,014	-0,108 ± 0,046	0,199 ± 0,162
<i>США</i>					
Річки Біг-Мадді та Міссісіпі, Іллінойс, n = 28	Psp21	0,679	0,699	0,029	0,326
	Psp26	0,857	0,841	-0,020	0,864
	Psp28	0,929	0,888	-0,047	0,655
Середнє значення		0,821 ± 0,074	0,809 ± 0,056	-0,013 ± 0,022	0,615 ± 0,157
Річка Міссурі, Північна Дакота, n = 39	Psp21	0,775	0,767	-0,011	0,739
	Psp26	0,837	0,849	0,014	0,648
	Psp28	0,923	0,909	-0,015	0,626
Середнє значення		0,845 ± 0,043	0,841 ± 0,041	0,004 ± 0,009	0,671 ± 0,035
Річки Байо Незпик та Мерментау, Луїзіана, n = 45	Psp21	0,800	0,740	-0,082	0,229
	Psp26	0,756	0,772	0,022	0,784
	Psp28	0,800	0,857	0,067	0,718
Середнє значення		0,785 ± 0,015	0,789 ± 0,034	0,002 ± 0,044	0,577 ± 0,175
Середнє за популяціями		0,817 ± 0,017	0,813 ± 0,015	-0,002 ± 0,005	0,621 ± 0,027

Примітка. * P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001 — достовірні відмінності між рівнем фактичної та теоретичної гетерозиготності. Результати для популяцій із Польщі та США наведено за Kaczmarszyk et al. [21] та Heist et al. [20], відповідно.

Для популяцій Польщі розраховані середні показники H_o становили 0,815 (Вазозже) та 0,803 (Погорже), у той час як середні значення H_e були на рівні 0,713 та 0,686 для популяцій з Вазозже та Погорже, відповідно. Оцінка середнього значення за популяціями вказує на перевагу фактичної ($H_o = 0,809$) гетерозиготності над теоретичною ($H_e = 0,699$) у польських популяціях веслоноса [21]. Крім того, достовірна перевага гетерозиготних генотипів виявлена для локусу Psp28 ($P < 0,001$) у популяції з Вазозже, а також для локусів Psp26 ($P < 0,05$) та Psp28 ($P < 0,001$) у популяції з Погорже [21].

Згідно аналізу показників генетичного поліморфізму у природних популяціях веслоноса зі США встановлено, що середні значення H_o знаходилися в межах від 0,785 (Луїзіана) до 0,845 (Північна Дакота), тоді як середні показники H_e коливалися від 0,789 (Луїзіана) до 0,841 (Північна Дакота) [20]. Характеристика даних показників в середньому за популяціями вказує на те, що фактична (H_o) та теоретична (H_e) гетерозиготність були близькими за значеннями і становили 0,817 та 0,813, відповідно. Такі результати свідчать про те, що досліджувані природні популяції знаходяться у стані наближення до генетичної рівноваги згідно рівняння Харді-Вайнберга.

Розраховані середні значення індексу фіксації (F_{is}) для українських популяцій коливалися від $-0,159$ (херсонська популяція) до $-0,092$ (чернігівська популяція) і в середньому за популяціями даний індекс становив $F_{is} = -0,124$. Такі результати вказують на перевагу гетерозиготних генотипів в досліджуваних українських популяціях веслоноса. Для польських популяцій індекс F_{is} коливався від $-0,153$ (Вазозже) до $-0,062$ (Погорже) та в середньому за популяціями становив $F_{is} = -0,108$, що також свідчить про перевагу кількості гетерозиготних генотипів у даній популяції веслоноса [21]. Середні показники індексу фіксації для природних популяцій зі США за значеннями були близькими до нуля та коливалися від $-0,013$ до $0,004$, середнє значення F_{is} за трьома популяціями складало $F_{is} = -0,002$ [20]. Такі значення F_{is} для природних популяцій також вказують на підтримання співвідношення гетерозиготних та гомозиготних генотипів у стані природної

генетичної рівноваги в результаті можливості вільного схрещування у межах популяцій.

Таким чином, у результаті проведених досліджень нами було встановлено, що штучні популяції були менш поліморфними у порівнянні з природними. Найбільш поліморфним для штучних популяцій з України встановлено локуси Psp26 та Psp28, а для популяцій з Польщі – локус Psp26. Для природних популяцій найбільш поліморфним був локус Psp28. Найменш поліморфним для усіх досліджуваних популяцій було виявлено локус Psp21. Порівняльна характеристика середніх показників генетичного поліморфізму загалом за популяціями вказує на переважання фактичної (H_o) гетерозиготності над теоретичною (H_e) як для українських ($0,709 > 0,616$), так і для польських популяцій ($0,809 > 0,699$). Охарактеризовані природні популяції, для яких значення H_o та H_e становили 0,817 та 0,813, відповідно, знаходяться у стані наближення до генетичної рівноваги згідно рівняння Харді-Вайнберга (HWE).

Отже, нами було встановлено зменшення загальної кількості алейних варіантів для штучних популяцій, порівняно з природними. Отримані значення рівня гетерозиготності та від'ємні показники індексу фіксації F_{is} для штучних популяцій вказують на відсутність інбридингу на даному етапі культивування веслоноса, що підтверджується достатньою кількістю плідників з гетерозиготними генотипами для відтворення в умовах аквакультури.

Вивчення особливостей генетичного поліморфізму веслоноса дозволяє зробити аналіз та моніторинг стану генетичної структури популяцій, вирощених в умовах штучного відтворення, та порівняти їх з популяціями з природного ареалу мешкання. Отримані результати мають особливу інформаційну цінність для господарств в країнах, де вирощується цей інтродуцент з метою створення єдиної генетичної бази даних за племінними ресурсами та ефективного ведення селекційно-племінної роботи. Варто зауважити, що для підвищення рівня достовірності даних мікросателітного аналізу веслоноса доцільно розширити панель інформативних мікросателітних ДНК-маркерів згідно існуючих розробок науковців зі США. Подібні дослідження у подальшому дозволять формувати рекомендації для рибницьких господарств

з проведення обміну іхтіологічним матеріалом для оптимізації генетичної складової племінних стад веслоноса.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень з використанням людей і тварин в якості об'єктів дослідження.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансових установ в державному, комерційному або некомерційному секторах.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE GENETIC STRUCTURE OF PADDLEFISH (*POLYODON SPATHULA*) POPULATIONS BY MICROSATELLITE DNA-MARKERS

Kh. Kurta, O. Malysheva, V. Spirydonov

Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of Agricultural Products,
7, Mashynobudivnykiv Str., Chabany village,
Kyiv-Sviatoshyn District, Kyiv Region 08162
Institute of Veterinary Medicine of NAS of Ukraine
30, Donetska Str., Kyiv, 02000

E-mail: khrystyna.kurta@gmail.com, malisheva.sirota@gmail.com, spirydonov@ukr.net

The comparative analysis of the genetic structure of artificial Ukrainian and Polish populations with natural paddlefish populations from the United States was conducted using three microsatellite DNA markers: Psp21, Psp26 and Psp28. The average value of N_a was 6.1 and 5.5 for the Ukrainian and Polish populations, respectively. For natural populations N_a index was almost twice as high and averaged at 11.1 alleles. It was established that there was predominance of the mean values of the observed heterozygosity (H_o) over expected heterozygosity (H_e) both for the Ukrainian ($0.709 > 0.616$) and for the Polish ($0.809 > 0.699$) populations. For natural populations, the mean values of H_o and H_e were close to the Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) and were at the level of 0.817 and 0.813, respectively. According to comparable data, it has been established that there has been a decrease in the total number of allelic variants for artificial populations, compared with natural populations. The obtained values of the level of heterozygosity and the negative fixation indexes F_{is} for artificial paddlefish populations indicated the absence of inbreeding at this stage of paddlefish cultivation, which was a confirmation of a sufficient number of individuals in broodstock with heterozygous genotypes for reproduction under aquaculture conditions.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Steven, D. Mims, William, L., Shelton, *Paddlefish Aquaculture*: Wiley-Blackwell, 2015, 320 p.
2. 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. Ichtyol*, 2006, no. 22 (1), pp. 53–65. doi: 10.1111/j.1439-0426.2007.00929.x.
3. Hupfeld, R.N., Phelps, Q.E., Tripp, S.J., and Herzog, D.P., Mississippi River Basin Paddlefish Population Dynamics: Implications for the Management of a Highly Migratory Species. *Journal Fisheries*. 2016. vol. 41, no. 10., pp. 600–10.
4. Stell, E.G., Hoover, J.J., Cage, B.A., Hardesty, D., and Parson, G.R., Long-Distance Movements of Four *Polyodon spathula* (Paddlefish) from a Remote Oxbow Lake in the Lower Mississippi River Basin *Southeastern Naturalist*, 2018, vol. 17, no. 2, pp. 230–8. doi: 10.1656/058.017.0205.
5. Schooley, J. D., Scarnecchia, D. L., and Crews, A., Harvest Management Regulation Options for Oklahoma's Grand Lake Stock of Paddlefish. *J. South. Assoc. Fish Wildlife Agen.*, 2014, no. 1, pp. 89–97.
6. Pikitch, E., Doukakis, P., Lauck, I., Chakraborty, P., and Erickson, D.L., Status, trends and management of sturgeon and paddlefish fisheries. *Fish. Fish.*, 2005, no. 6, pp. 233–65. doi: 10.1111/j.1467-2979.2005.00190.x.
7. Abdul-Muneer, P.M., Application of Microsatellite Markers in Conservation Genetics and Fisheries Management: Recent Advances in Population Structure Analysis and Conservation Strategies, *Genet. Res. Int.*, 2014, vol. 2014, pp. 691–759. doi: 10.1155/2014/691759.
8. Dudu, R., Suci, M., Parashiv, Georgescu, S.E., Costache, M., and Berrebi, P., Nuklear Markers of Danube Sturgeons Hybridization. *Mel. Sci.*, 2011, no. 12, pp. 6796–809. doi: 10.3390/ijms12106796.
9. Dudu, A., Georgescu, S.E., and Costache M., Evaluation of Genetic Diversity in Fish Using Molecular Markers. In book: *Molecular Approaches to Genetic Diversity*, Chapter: Evaluation of genetic diversity in fish using molecular markers, Publisher: InTech, 2015, pp. 163–93. doi: 10.5772/60423.
10. Barmintseva, A.E., Mugue, N.S., The Use of Microsatellite Loci for Identification of Sturgeon Species (Acipenseridae) and Hybrid Forms. *Genetics*, 2013, vol. 49, no. 9, pp. 1093–105. (in Russian). doi: 10.7868/S0016675813090038.
11. Askari, G., Shabani, A., and Kolangi, H., Miandare. Application of molecular markers in fisheries and aquaculture. *Sci. J. Anim. Sci.*, 2013, no. 2(4). pp. 82–8.

12. Costache, M., Dudu, A., and Georgescu, S., Emil. Low Danube Sturgeon Identification Using DNA Markers, Analysis of Genetic Variation in Animals. Bucharest: InTech, 2012, pp. 243–68. doi: 10.5772/34889.
13. Timoshkina, N.N., Vodolazhskii, D.Y., and Usatov, A.V., Molecular genetic markers in the study of the intra- and interspecific polymorphism of sturgeon fish (*Acipenseriformes*), *Ecol. Genet.*, 2010, vol. 8, no. 1, pp. 12–24. (in Russian). doi: 10.1134/S2079-059711020122.
14. Garza, J.C., Williamson, E.G., Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Mol. Ecol.*, 2001, no. 10, pp. 305–18. doi: 10.1046/j.1365-294X.2001.01190.x.
15. McCusker, M.R., Benzen, P., Positive relationships between genetic diversity and abundance in fishes, *Mol. Ecol.*, 2010, vol. 19, no. 22, pp. 4852–62. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04822.x.
16. O’Leary, S.J., Hice, L.A., Feldheim, K.A., Frisk, M.G., McElroy, A.E., Fast, M.D., and Chapman, D.D., Severe Inbreeding and Small Effective Number of Breeders in a Formerly Abundant Marine Fish, *PLoS One*, 2013, no. 8(6), pp. 66–126. doi: 10.1371/journal.pone.0066126.
17. Dzitsiuk, V.V., Melnyk, O.V., Microsatellites of DNA in the preservation of genetic diversity of horses. *Animal’s Genetic*, 2013, no. 12(52), pp. 7–10.
18. Chistiakov, D.A., Hellemans, B., and Volckaert, F.A.M., Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics, *Aquaculture*, 2006, no. 255(1–4), pp. 1–29. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.031.
19. Heist, E.J. Nicholson, E.H., Sipiorski, J.T., and Keeney D.B., Microsatellite markers for the paddlefish (*Polyodon spathula*), *Conser. Genet.*, 2002, no. 3, pp. 205–7. doi: 10.1023/A:1015272414957.
20. Heist, E.J., Mustapha, A., Genetic Structure in Paddlefish Inferred from DNA Microsatellite Loci, *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 2008, vol. 137, no. 3, pp. 909–15. doi: 10.1577/T07-078.1.
21. Kaczmarczyk, D., Luczynski, M., and Brzuzan, P., Genetic variation of three paddlefish (*Polyodon spathula Walbaum*) stocks based on microsatellite DNA analysis, *Czech. J. Anim. Sci.*, 2012, no. 57, pp. 345–52.
22. Kaczmarczyk, D., Selection of optimal spawning pairs to maintain genetic variation among captive populations of Acipenseridae based on the polymorphism of microsatellite loci, *Arch. Polish. Fish.*, 2016, no. 24, pp. 77–84.
23. Zheng, X., Schneider, K., Lowe, J.D., Gomelsky, B., Mims, S.D., and Bu, S., Genetic structure among four populations of paddlefish, *Polyodon spathula (Actinopterygii: Acipenseriformes: Polyodontidae)*, based on disomic microsatellite markers, *Acta Ichthyol. Piscat*, 2014, no. 44(3), pp. 213–9.
24. Zou, Y.C., Zou, Q.W., and Wei, G.B., Pan Induction of meiotic gynogenesis in paddlefish (*Polyodon spathula*) and its confirmation using microsatellite markers. *J. Appl. Ichthyol.*, 2011, vol. 27, no. 2, pp. 505–9. doi: 10.1111/j.1439-0426.2011.01681.x.
25. Kurta, K., Malysheva, O., and Spirydonov, V., Comparative analysis of the genetic structure of paddlefish (*Polyodon spathula*) of Ukrainian populations, *Biol. Res. Nat. Managem.*, 2018, no. 10(3–4) (in Ukrainian). doi: org/10.31548/bio2018.03.025.
26. Carter, M.J., Milton, I.D., An inexpensive and simple method for DNA purifications on silica particles. *Nucl. Acids Res.*, 1993, vol. 21, pp. 1044–6. doi: 10.1093/nar/21.4.1044.
27. Kurta, K., Malysheva, O., and Spirydonov, V., Optimization of polymerase chain reaction’s conditions for studies of paddlefish (*Polyodon spathula*) microsatellite DNA. *Animal Biology*, 2017, vol. 19, no. 2, pp. 56–63 (in Ukrainian). doi: 10.15407/animbiol19.02.056.
28. Peakall, R., Smouse, P.E., GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 2006, no. 6, pp. 288–95. doi: org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x.
29. Peakall, R., Smouse, P.E., 2012. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 2012, no. 28(19), 2537–9. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460.
30. Kalinowski, S.T., Taper, M.L., and Marshall, T.C., Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment, *Mol. Ecol.*, 2007, vol. 16, no. 5, pp. 1099–106. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x.
31. Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B., and Pemberton, J.M., Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations, *Mol. Ecol.*, 1998, no. 7(5), pp. 639–55. doi: org/10.1046/j.1365-294x.1998.00374.x.

Надійшла в редакцію 22.10.18
Після доопрацювання 11.05.19
Прийнята до друку 18.01.20