

## ГЕНЕТИЧНА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ БИЧКА-КРУГЛЯКА (*NEOGOBIUS MELANOSTOMUS*) ОКРЕМИХ ЛОКАЛІТЕТІВ ЧОРНОМОРСЬКО-АЗОВСЬКОГО БАСЕЙНУ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ

С.І. ТАРАСЮК<sup>1</sup>, В.В. ЗАМОРОВ<sup>2</sup>, О.В. ЗАЛОЇЛО<sup>1</sup>, О.Ю. БЕЛІКОВА<sup>1</sup>, Д.Б. РАДІОНОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут рибного господарства НААН України, 03164, Україна, Київ, вул. Обухівська, 135

<sup>2</sup> Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Україна, 6500, Одеса, вул. Дворянська, 12

E-mail: tarasjuk@ukr.net, v.zamorov@onu.edu.ua, ozaloiolo@yahoo.com, belikova.e.y@gmail.com, pppankovae@gmail.com

За використання *SSR*-маркерів проведено ідентифікацію алельних варіантів та встановлено локус-специфічні особливості генетичної структури популяцій бичка-кругляка (*Neogobius melanostomus*) з п'яти вибірок Чорноморсько-Азовського басейну. При порівнянні значення фактичної *H<sub>e</sub>* та очікуваної *H<sub>e</sub>* гетерозиготності встановлено, що найменше середнє значення за всіма проаналізованими локусами відзначається у вибірці оз. Ялуг (0,69 та 0,60, відповідно), а найбільше – у вибірці о. Зміїний (0,89 та 0,83). Середнє значення індексу інформаційного поліморфізму (*PI*) становило від 0,64 для локусу *Ate 129* до 0,68 для *Ate 133*, що вказує на високий рівень поліморфізму обраних маркерів для даного виду риб. Проведений філогенетичний аналіз показав, що основний кластер формують представники бичка-кругляка локалітетів о. Зміїний та Джарилгацької затоки (ідентичність становила 0,33), а також – Дніпровсько-Бузького лиману (0,26). Подібність бичка-кругляка озера Ялуг до представників основного кластеру становить 0,23. Риби цього локалітету займають відокремлене положення на дендрограмі, що свідчить про специфічність їх генетичної структури, яка формувалась історично під впливом абіотичних факторів досліджених географічних зон у процесі тривалої адаптації.

**Ключові слова:** бичок-кругляк *Neogobius melanostomus*, мікросателітні локуси, молекулярно-генетичні маркери, генетична структура, алелі, локалітети.

**Вступ.** На формування генетичної структури популяції впливають умови навколишнього середовища, штучний добір та випадкові фактори еволюції: дрейф генів, ефект засновника (White, 2020). В умовах впливу цих чинників генетична структура популяцій риб за короткий проміжок часу зазнає різких якісних змін внаслідок перерозподілу частот алелей та генотипів за окремими генами. Як результат, в популяції елімінуються одні алельні варіанти

і водночас зростає частота інших, що знижує загальне генетичне різноманіття популяцій. Оскільки особливості генетичної структури визначають як біологічні властивості, так і промислові якості риб, зокрема інтенсивність і темпи росту, приріст живої маси та ін., то загалом зниження біорізноманіття негативно впливає як на стан окремої популяції, так і на економічну ефективність господарювання.

Бичок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) – придонна риба з родини бичкових (Gobiidae), роду *Neogobius*. Відноситься до Понто-Каспійської зоогеографічної групи, ендемік басейнів Чорного та Каспійського морів. Його нативний ареал охоплює прибережні райони Чорного та Каспійського морів, всю площу Азовського моря та дельти річок, які впадають в ці моря (Kornis, 2012; Janáč, 2016; Tserkova, 2017; Brandner, 2018). Цей вид відіграє важливу роль в екосистемах і є промисловим у Чорному і Азовському морях. Інвазивний ареал бичка-кругляка охоплює Балтійське море, басейни Вісли, Одри, Рейна, Верхнього і Середнього Дунаю, а також річкові системи та водосховища Росії (Hempel, 2013; Serwenka, 2014; Tserkova, 2015; Janáč, 2017). У 90-х роках ХХ ст. він був інтродукований у річки та озера США та Канади, де невпинно розширює свій ареал (Farwell, 2017; Burkett, 2015; Morissette, 2018).

Використання маркерних генів для моніторингу генетичної структури риб вже увійшло в практику багатьох країн (Maqsood, 2017; Janáč, M., 2017; Johansson, 2018). Це обумовлює особливу актуальність розширення спектру досліджуваних локусів і проведення аналізу генетичної структури для збереження біорізноманіття, контролю міграції популяцій, прогнозу промислових запасів риб, ідентифікації їх видової приналежності.

© С.І. ТАРАСЮК, В.В. ЗАМОРОВ, О.В. ЗАЛОЇЛО, О.Ю. БЕЛІКОВА, Д.Б. РАДІОНОВ, 2021

Однією з важливих проблем, що вирішуються за використання генетичних підходів, є пошук спільних характеристик між географічно віддаленими популяціями, вивчення їх системної організації, пов'язаної з розподілом на елементарні субпопуляційні одиниці в межах одного біологічного виду (Cristescu, 2015). Однак, незважаючи на певні успіхи, багато важливих питань, пов'язаних з вивченням внутрішньовидової генетичної структури популяцій важливих промислових риб, досліджені фрагментарно.

Існують дані щодо особливостей генетичної структури бичка-кругляка за використання генетико-біохімічних маркерів (Zamorov, 2014; Zamorov, 2017), проте, внутрішньовидова генетична структура даного виду у гідроекологічних умовах Чорноморсько-Азовського басейну за використання ДНК-маркерів вивчена недостатньо (Feldheim, 2009). На даний час зафіксовано фенотипові зміни, які свідчать про потенційну здатність виду адаптуватись до мінливих умов навколишнього середовища (Demchenko, 2017).

Отже, метою даних досліджень був порівняльний аналіз генетичної структури локальних популяцій бичка-кругляка за мікросателітними локусами в акваторії Чорноморсько-Азовського басейну.

**Матеріали та методи.** Як матеріал для дослідження використовували п'ять вибірок бичка-кругляка *Neogobius melanostomus*. Рибу ловили промисловими знаряддями лову в різних частинах природного ареалу в північно-західній частині Чорного моря (ПЗЧМ) і прилеглих водоймах: озері Ялпуг – 13 екз. (45.345407 п.ш., 28.651281 з.д.), акваторії острова Зміїний – 10 екз. (45.255517 п.ш., 30.206394 з.д.), Дніпровсько-Бузькому лимані – 12 екз. (46.623973 п.ш., 31.466422 з.д.), Джарилгацькій затоці – 11 екз. (46.073774 п.ш., 32.542147 з.д.), а також в Азовському морі: Обіточній затоці – 15 екз. (46.541048 п.ш., 32.932188 з.д.) (рис. 1).

Матеріал зібрано впродовж 2017–2018 рр. Плавці (61 зразок) зберігались в еппендорфах зі спиртом (етанол 96 %).

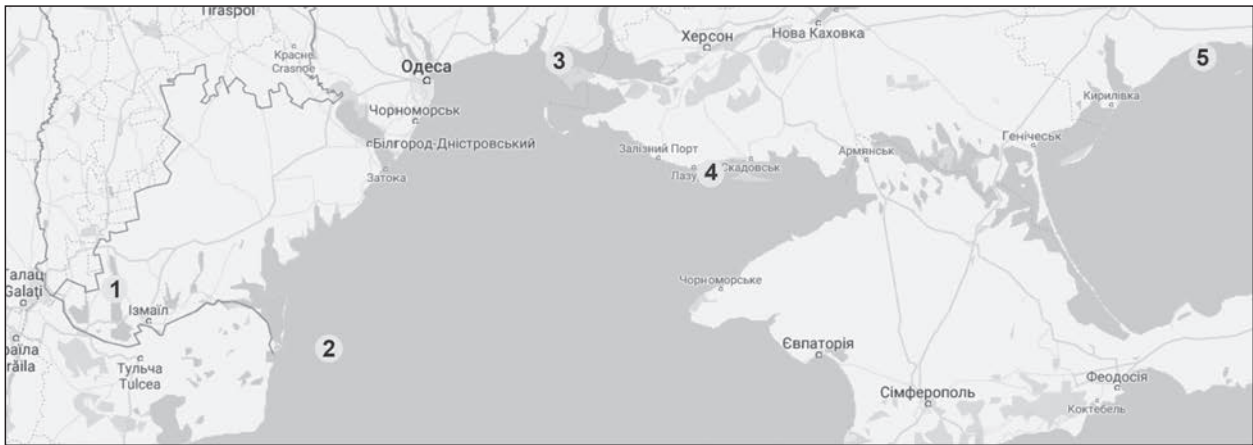
Загальна ДНК була виділена за стандартною методикою, з використанням набору DNA-GO (BioLabTech LTD). Концентрацію ДНК визна-

чали на біофотометрі Eppendorf (Eppendorf, Німеччина). Для дослідження генетичної структури бичка-кругляка використовували чотири мікросателітні маркери: *Ame23*, *Ame24*, *Ame129*, *Ame133* (Feldheim, 2009) (табл. 1).

ПЛР проводили на ампліфікаторі «Termo scientific» (Arktik Termal Cycler) в такому температурному режимі: 3 хв за 94 °С; 35 циклів: 30 с за 94 °С, 1хв за 56–58 °С (в залежності від локусу), 30 с за 72 °С; 5 хв за 72 °С. Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила: 67 мМ Tris-HCl (рН 8,8), 17 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,01% Tween-20, 0,2 ммоль dNTP, 1 од. Tag-полімерази, 50 нг ДНК, 1,7 ммоль MgCl<sub>2</sub> і по 0,2 мкм праймерів. Фракціонування ампліконів здійснювали в 4 % агарозному гелі з бромистим етидієм в 1 × TAE буфері. Фореграми документували в УФ-світлі. Як маркер довжини фрагментів було обрано pUC DNA/MspI(Hpall) Marker, 23 «Termo scientific».

Довжини мікросателітів визначали за допомогою програми *Totalab v.2.01*. Частоту кожного алелю на локус (P) та фактичну гетерозиготність (H<sub>o</sub>) розраховували в програмі *GelStat*. Ефективне число алелів на локус (n<sub>e</sub>), очікувану гетерозиготність (H<sub>e</sub>), індекс фіксації та індекс поліморфізму PIC (polymorphism information content) обчислювали за загальновідомими методиками (Nagy, 2012; Peakall, 2012; Kuznetsov, 2014). Розподіл частот алелей оцінювали на предмет відповідності рівноваги Харді-Вайнберга (HWE) з використанням критерію  $\chi^2$ . Побудову дендрограми здійснювали на основі об'єктивних генетичних дистанцій за використання програмного забезпечення Mega X (Kumar, 2018).

**Результати досліджень та їх обговорення.** За період досліджень бичка-кругляка проаналізовано генотипи особин з використанням чотирьох мікросателітних локусів ДНК: *Ame 23*, *Ame 24*, *Ame 129*, *Ame 133*. У ході роботи підібрано оптимальні умови проведення SSR-PCR аналізу. Проведені дослідження дозволили визначити фактори, які мають найбільший вплив на ефективність ампліфікації SSR-алелей бичка-кругляка, а саме: концентрація препарату ДНК, концентрація праймера у реакційній суміші та кількість циклів ампліфікації. Для отримання чітких і відтворюваних але-



**Рис. 1.** Розташування місць збирання іхтіологічного матеріалу: 1 – озеро Ялпуг (ПЗЧМ), 2 – акваторія острова Зміїний (ПЗЧМ), 3 – Дніпровсько-Бузький лиман (ПЗЧМ), 4 – Джарилгацька затока (ПЗЧМ), 5 – Обіточна затока (Азовське море)

лей за кожним локусом було індивідуально підібрано оптимальні умови проведення ПЛР. Приклади отриманих SSR-спектрів наведені нижче (рис. 2)

У процесі досліджень було проведено ідентифікацію алельних варіантів та встановлено особливості генетичної структури бичка-кругляка з п'яти різних вибірок Чорноморсько-Азовського басейну.

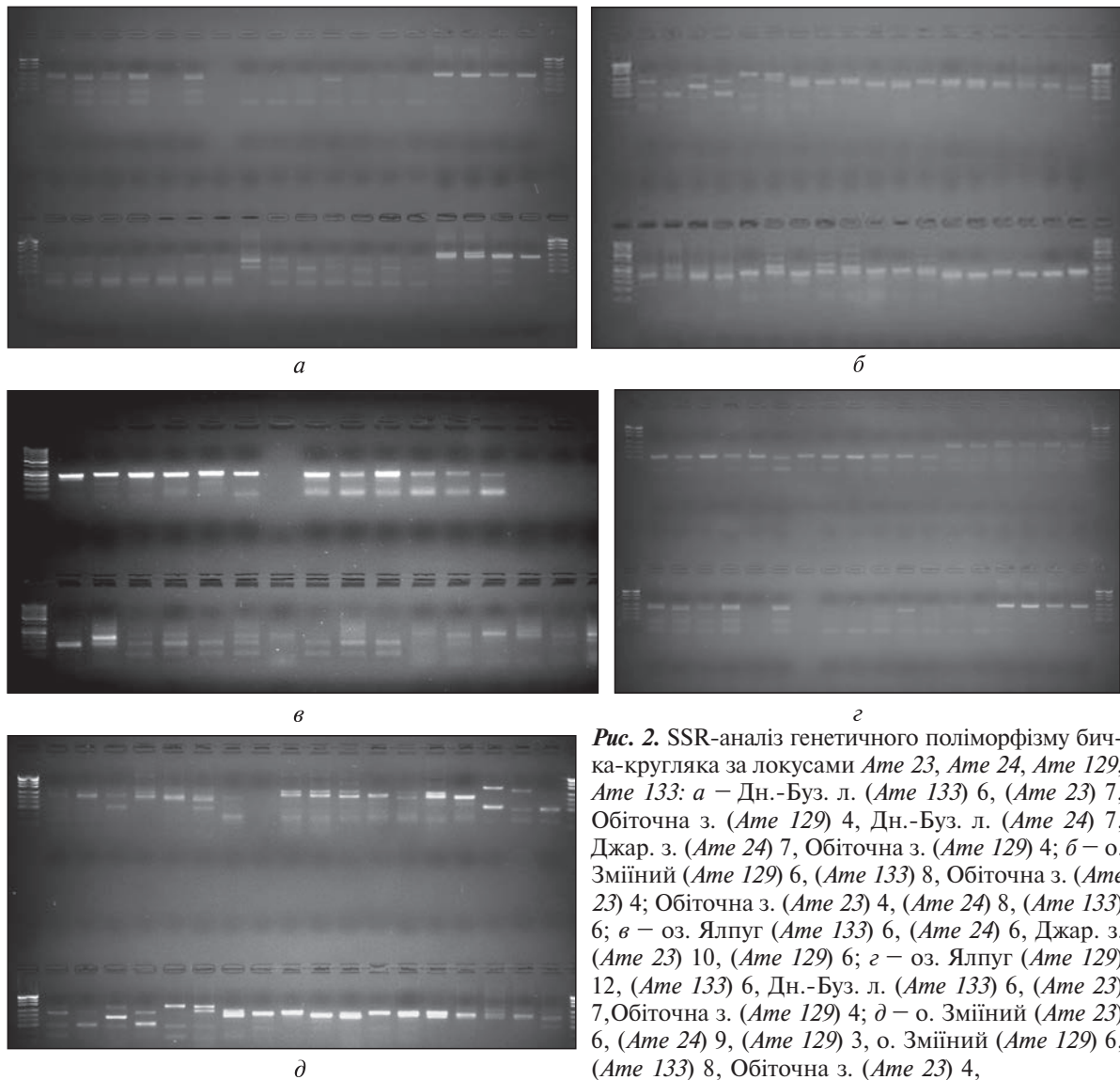
*Особливості генетичної структури бичка-кругляка з озера Ялпуг.* За результатами мікросателітного ДНК-аналізу у вибірці з озера Ялпуг за всіма проаналізованими локусами було виявлено 15 алельних варіантів з молекулярною масою 110–305 п.н. Число алелей на локус варіювало від 2 до 5. Найбільш поліморфним

був локус *Ame133* (виявлено 5 алельних варіантів), серед яких найчастіше зустрічався алель 286 п.н. з частотою 40 %. Найменш поліморфним визнано локус *Ame129*, виявлено 2 алелі – 110 п.н. з частотою 28, 57 % та 123 п.н. – 71,43 % (табл. 2).

Локуси *Ame23* та *Ame24* також характеризувались високим рівнем поліморфізму. За кожним локусом виявлено по 4 алелі в діапазоні розміру повторів 113–211 п.н. та 220–298 п.н. відповідно. Для локусу *Ame23* найчастіше виявляли алель 113 п.н. (58,34 %) тоді як алелі 195 та 211 п.н. виявляли найрідше – 8,33 %. Для локусу *Ame24* з найбільшою частотою – 44,44 % ідентифікували алельний варіант 298 п.н.

**Таблиця 1.** Характеристика мікросателітних локусів та їх праймерів, використаних для дослідження бичка-кругляка

Локус	Послідовність праймерів 5'→3'	Повтор	Температура відпалу праймерів, °С	Діапазон розміру повторів, п.н.
<i>Ame23</i>	F:AAAGCATCAGCAGCAGTTGT R: TATGTGAGAGTGCGGATGGT	(ACT) <sub>28</sub>	58	113–314
<i>Ame24</i>	F:CTCGAAAACSTTAGCAGTGCAG R:TCAATGCGCCTCTACTCTACTC	(ACT) <sub>33</sub>	58	127–305
<i>Ame129</i>	F:TGCTCGGTCCCTACTTCAAGC R:GCATTCACATTCCTCCCACT	(TATC) <sub>8</sub> TTG(TATC) <sub>6</sub>	56	110–339
<i>Ame133</i>	F:GCCACCCCTTCACTCTT R: GGCTATGGCATTCTCTCC	(GATA) <sub>13</sub>	56	185–305



**Рис. 2.** SSR-аналіз генетичного поліморфізму бичка-кругляка за локусами *Ame 23*, *Ame 24*, *Ame 129*, *Ame 133*: а – Дн.-Буз. л. (*Ame 133*) 6, (*Ame 23*) 7, Обіточна з. (*Ame 129*) 4, Дн.-Буз. л. (*Ame 24*) 7, Джар. з. (*Ame 24*) 7, Обіточна з. (*Ame 129*) 4; б – о. Зміїний (*Ame 129*) 6, (*Ame 133*) 8, Обіточна з. (*Ame 23*) 4; Обіточна з. (*Ame 23*) 4, (*Ame 24*) 8, (*Ame 133*) 6; в – оз. Ялпуг (*Ame 133*) 6, (*Ame 24*) 6, Джар. з. (*Ame 23*) 10, (*Ame 129*) 6; г – оз. Ялпуг (*Ame 129*) 12, (*Ame 133*) 6, Дн.-Буз. л. (*Ame 133*) 6, (*Ame 23*) 7, Обіточна з. (*Ame 129*) 4; д – о. Зміїний (*Ame 23*) 6, (*Ame 24*) 9, (*Ame 129*) 3, о. Зміїний (*Ame 129*) 6, (*Ame 133*) 8, Обіточна з. (*Ame 23*) 4,

У середньому в досліджуваній вибірці генотипів кількість алелів на локус становила  $N_e = 3,75$ , а ефективне число алелей  $n_e = 2,56$  (табл. 3).

За розрахунками алельних частот визначено основні показники генетичної мінливості (табл. 2). Показник фактичної гетерозиготності ( $H_o$ ) коливався в межах від 0,61 (*Ame129*) до 0,78 (*Ame133*). Найвищий рівень очікуваної гетерозиготності ( $H_e$ ) зафіксований для локусу *Ame133* (0,74), найнижчий – для локусу *Ame129* (0,41). В середньому значення  $H_o$  становило 0,69 та переважало над середнім показником

$H_e = 0,60$ , що може вказувати на переважання гетерозиготних генотипів у досліджуваній вибірці бичка-кругляка.

*Особливості генетичної структури бичка-кругляка з акваторії острова Зміїний.* У ході проведення досліджень визначено особливості генетичної структури бичка-кругляка з акваторії острова Зміїний та загалом ідентифіковано 27 алельних варіантів з молекулярною масою 113–339 п.н. Число алелей на локус варіювало від 5 до 8. За локусом *Ame129* було ідентифіковано 8 алельних варіантів, серед яких 141 п.н. з частотою 20,0 %, а алельні варіанти 162 та

Таблиця 2. Частота алелів для п'яти вибірок окремих локалітетів бичка-кругляка з Чорноморсько-Азовського басейну

Локус	Угрупування окремих районів (кількість риб, екз.)				
	оз. Ялпуг (13)	о. Зміїний (10)	Дніпровсько-Бузький лиман (12)	Джарилгацька затока (11)	Обіточна затока (15)
<i>Ame 23</i>					
113	0,58	0,17	—	—	
146	—	—	—	0,42	
152	—	—	—	0,25	
159	—	—	—	0,08	
168	—	0,08	—	—	
183	—	0,17	—	—	
191	—	—	0,50	—	
195	0,08	—	—	—	
204	0,25	0,25	0,25	—	0,08
209	—	—	0,25	—	—
211	0,08	—	—	—	—
222	—	—	—	—	0,13
228	—	0,17	—	—	—
236	—	0,08	—	—	—
243	—	—	—	0,17	0,21
260	—	—	—	—	0,17
267	—	—	—	0,08	0,08
289	—	0,08	—	—	—
297	—	—	—	—	0,13
314	—	—	—	—	0,21
<i>Ame 24</i>					
127	—	—	—	0,26	—
133	—	—	—	0,21	—
191	—	0,14	0,44	0,05	0,20
199	—	—	—	—	0,20
206	—	0,21	0,44	0,32	0,07
220	0,11	—	—	—	—
225	—	0,29	—	—	—
230	—	—	0,11	—	—
263	—	0,14	—	—	—
273	—	—	—	0,05	—
277	0,33	0,21	—	—	—
284	—	—	—	—	0,27
291	0,11	—	—	0,11	—
298	0,44	—	—	—	—
305	—	—	—	—	0,27
<i>Ame 129</i>					
110	0,29	—	0,22	—	—
115	—	—	0,44	—	—
119	—	—	0,11	—	—
123	0,71	—	0,22	0,22	0,15
135	—	—	—	0,33	—
141	—	0,20	—	0,33	—
145	—	0,13	—	—	—
162	—	0,07	—	—	—
214	—	—	—	—	0,15
220	—	—	—	—	0,38



Локус	Угрупування окремих районів (кількість риб, екз.)				
	оз. Ялпуг (13)	о. Зміїний (10)	Дніпровсько-Бузький лиман (12)	Джарилгацька затока (11)	Обігочна затока (15)
228	—	0,07	—	—	—
237	—	—	—	—	0,15
262	—	—	—	—	0,15
275	—	0,13	—	—	—
284	—	0,13	—	—	—
323	—	0,13	—	—	—
339	—	0,13	—	0,11	—
Ame 133	—	0,13	—	—	—
185	0,20	—	—	—	—
190	—	—	0,20	—	—
193	—	—	0,30	—	—
204	—	—	0,20	—	—
219	—	0,12	—	—	—
225	—	—	—	0,20	—
234	0,10	0,12	—	—	—
241	—	0,12	0,30	—	0,25
249	—	0,12	—	—	—
253	—	—	—	—	0,25
258	—	0,18	—	—	0,50
265	—	0,12	—	0,10	—
272	—	0,24	—	0,30	—
279	0,20	—	—	—	—
286	0,40	—	—	—	—
305	0,10	—	—	0,40	—

228 п.н. – 6,67 %. Високим рівнем поліморфізму характеризувалися локуси *Ame23* та *Ame133* – по 7 алельних варіантів. Для локусу *Ame23* з найбільшою частотою на рівні 25,0 % зустрічався алель 204 п.н., а алельні варіанти 168, 236 та 289 п.н з частотою 8,34 %. Для локусу *Ame133* алель 272 п.н. виявлено з частотою 23,53 %, 258 п.н. – 17,65 %, а алелі 219, 234, 241, 249 та 265 п.н. з частотою 11,76 %. Для локусу *Ame24* було ідентифіковано 5 алельних варіантів з молекулярною масою 191–277 п.н., серед яких з найвищою частотою (28,57 %) алельні варіанти 225 п.н, а з найнижчою (14,2 %) – 191 та 263 п.н.

Середня кількість алелів на локус в досліджуваній вибірці генотипів становила  $N_e = 6,75$ , а ефективне число алелей  $n_e = 6,09$ . Середні значення фактичної ( $H_o$ ) та очікува-

ної ( $H_e$ ) гетерозиготності становили 0,89–0,83 відповідно, що може вказувати на переважання гетерозиготних генотипів. Найвищий рівень фактичної гетерозиготності зафіксований для локусу *Ame23* (0,92), найнижчий – для локусу *Ame24* (0,87). Рівень очікуваної гетерозиготності коливався в межах від 0,79 до 0,86 для локусів *Ame24* та *Ame129* відповідно.

*Особливості генетичної структури бичка-кругляка з Дніпровсько-Бузького лиману.* У процесі досліджень проведено ідентифікацію алельних варіантів та встановлено особливості генетичної структури бичка-кругляка з Дніпровсько-Бузького лиману. Загалом ідентифіковано 14 алельних варіантів з молекулярною масою 110–241 п.н. Число алелей на локус варіювало від 3 до 4. Високим рівнем поліморфізму характеризувалися локуси *Ame129* та

*Ame133* – по 4 алельних варіанти. Для локусу *Ame129* з найбільшою частотою на рівні 44,44 % зустрічався алель 115 п.н., алельні варіанти 110 та 123 п.н. – 22,22 %, а алель 119 п.н. – 11,11 %.

Для локусу *Ame133* алелі 190 та 204 п.н. виявлено з частотою 20,00 %, а алелі 193 та 241 п.н. з частотою 30,00 %. Нижчим рівнем поліморфізму характеризувались локуси *Ame23* та *Ame24*. Виявлено по 3 алелі в діапазоні розміру повторів 191–209 п.н. та 191–230 п.н. від-

повідно. Для локусу *Ame23* найчастіше виявляли алель 191 п.н. (50,00 %), тоді як алелі 204 та 209 п.н. – 25,00 %. Для локусу *Ame24* з частотою 44,44 % ідентифікували алельні варіанти 191 та 206 п.н.

У середньому в досліджуваній вибірці генотипів кількість алелів на локус становила  $N_e = 3,50$ , а ефективне число алелей  $n_e = 3,05$ . Середні значення фактичної ( $H_o$ ) та очікуваної ( $H_e$ ) гетерозиготності становили 0,80–0,66 відповідно, що може вказувати на знач-

Таблиця 3. Діапазон розміру повторів (Rs), загальне число алелів (Ne), ефективне число алелів ( $n_e$ ), фактична ( $H_o$ ) та очікувана ( $H_e$ ) гетерозиготність у вибірках бичка-кругляка за всіма проаналізованими локусами

Локус	Rs, п.н.	Ne	$n_e$	$H_o$	$H_e$
<i>озеро Ялуг</i>					
<i>Ame 23</i>	113-211	4	2,40	0,61	0,58
<i>Ame 24</i>	220-298	4	3,00	0,74	0,67
<i>Ame 129</i>	110-123	2	1,69	0,61	0,41
<i>Ame 133</i>	185-305	5	3,85	0,78	0,74
Середня величина		3,75	2,56	0,69	0,60
<i>острів Зміїний</i>					
<i>Ame 23</i>	113-289	7	6,00	0,92	0,83
<i>Ame 24</i>	191-277	5	4,67	0,87	0,79
<i>Ame 129</i>	141-339	8	7,26	0,89	0,86
<i>Ame 133</i>	219-272	7	6,42	0,88	0,84
Середня величина		6,75	6,09	0,89	0,83
<i>Дніпровсько-Бузький лиман</i>					
<i>Ame 23</i>	191-209	3	2,67	0,74	0,63
<i>Ame 24</i>	191-230	3	2,45	0,76	0,59
<i>Ame 129</i>	110-123	4	3,24	0,84	0,69
<i>Ame 133</i>	190-241	4	3,85	0,87	0,74
Середня величина		3,50	3,05	0,80	0,66
<i>Джарилгацька затока</i>					
<i>Ame 23</i>	146-267	5	3,60	0,78	0,72
<i>Ame 24</i>	127-291	6	4,35	0,76	0,77
<i>Ame 129</i>	123-323	4	3,52	0,89	0,72
<i>Ame 133</i>	225-305	4	3,33	0,82	0,70
Середня величина		4,75	3,70	0,81	0,73
<i>Обіточна затока</i>					
<i>Ame 23</i>	204-314	7	6,26	0,81	0,84
<i>Ame 24</i>	191-305	5	4,41	0,84	0,77
<i>Ame 129</i>	123-262	5	4,12	0,85	0,76
<i>Ame 133</i>	241-258	3	2,67	0,74	0,63
Середня величина		5,00	4,37	0,81	0,75

не переважання гетерозиготних генотипів. Найвищий рівень фактичної гетерозиготності зафіксований для локусу *Ame133* (0,87), найнижчий — для локусу *Ame23* (0,74). Рівень очікуваної гетерозиготності коливався в межах від 0,59 до 0,74 для локусів *Ame24* та *Ame133* відповідно.

**Особливості генетичної структури бичка-кругляка з Джарилгацької затоки.** За результатами мікросателітного ДНК-аналізу у вибірці бичка-кругляка з Джарилгацької затоки за всіма проаналізованими локусами виявлено 19 алельних варіантів з молекулярною масою 123–323 п.н. Число алелей на локус варіювало від 4 до 6. Найбільш поліморфним був локус *Ame24* (виявлено 6 алельних варіантів), серед яких найчастіше зустрічався алель 206 п.н. з частотою 31,58 % відповідно. Найменш поліморфними визначено локуси *Ame129* та *Ame133*, виявлено по 4 алельні варіанти. За локусом *Ame133* найчастіше зустрічався алель 305 п.н. (40 %), а найрідше — 265 п.н. (10 %). Для локусу *Ame129* алелі 135 та 141 п.н. виявлено з частотою 33,33 %, 123 п.н. — 22,22 %, а алель 323 п.н. з частотою 11,11 %. Локуси *Ame23* також характеризувався високим рівнем поліморфізму. Виявлено 5 алельних варіантів в діапазоні розміру повторів 146–267 п.н. Найчастіше виявляли алель 146 п.н. (41,67 %) тоді як алелі 159 та 267 п.н. виявляли найрідше — 8,33 %.

У середньому в досліджуваній вибірці генотипів кількість алелів на локус становила  $N_e = 4,75$ , а ефективне число алелей  $n_e = 3,7$ . Середні значення фактичної ( $H_o$ ) та очікуваної ( $H_e$ ) гетерозиготності становили 0,81–0,73 відповідно, що може вказувати на переважання гетерозиготних генотипів. Найвищий рівень

фактичної гетерозиготності зафіксований для локусу *Ame129* (0,8876), найнижчий — для локусу *Ame24* (0,76). Рівень очікуваної гетерозиготності коливався в межах від 0,70 до 0,77 для локусів *Ame133* та *Ame24* відповідно.

**Особливості генетичної структури бичка-кругляка з Обіточної затоки.** В результаті проведених досліджень з вивчення генетичних особливостей бичка-кругляка Обіточної затоки Азовського моря було загалом ідентифіковано 20 алельних варіантів з молекулярною масою 191–314 п.н. (табл. 1). Число алелей на локус варіювало від 3 до 7. Найбільш поліморфним був локус *Ame23*: виявлено 7 алельних варіантів, серед яких найчастіше зустрічалися алелі 243 та 314 п.н. з частотою 20,84 %, а найрідше алелі 204 та 267 п.н. — 8,33 %. Локус *Ame133* був найменш поліморфним серед досліджуваних маркерів і складався з 3 алельних варіантів. Діапазон розміру повторів за даним локусом становив 241–258 п.н., причому з найвищою частотою — 50 % виявлено алель 258 п.н.

Локуси *Ame24* та *Ame129* характеризувалися високим рівнем поліморфізму. За кожним локусом виявлено по 5 алелів в діапазоні розміру повторів 191–305 п.н. та 123–262 п.н. відповідно. Для локусу *Ame24* алель 206 п.н. виявлено з найнижчою частотою 6,67 %, інші алелі зустрічались з частотою 26,67–20,0 %. Для локусу *Ame129* характерним був алель 220 п.н. — 38,47 %, частота чотирьох інших алелів — 15,38 %.

Середня кількість алелів на локус в досліджуваній вибірці генотипів становила  $N_e = 5,00$ , а ефективне число алелей  $n_e = 4,37$ . Середні значення фактичної ( $H_o$ ) та очікуваної ( $H_e$ ) гетерозиготності становили 0,82–0,75 відповідно, що може вказувати на переважання гетеро-

Таблиця 4. Середні показники числа алелів ( $N_e$ ), фактичної ( $H_o$ ), очікуваної ( $H_e$ ) гетерозиготності та тест відхилення від рівноваги Харді-Вайнберга (HWE) за всіма проаналізованими локусами

Локалітети	$N_e$	$H_o$	$H_e$	HWE, $\chi^2$
оз. Ялпуг	3,75	0,69	0,60	0,022 *
о-в Зміїний	6,75	0,89	0,83	0,002 *
Дніпровсько-Бузький лиман	3,50	0,80	0,66	0,002 *
Джарилгацька затока	4,75	0,81	0,73	0,011 *
Обіточна затока	5,00	0,81	0,75	0,008 *

Примітка. \*  $P > 0,05$ .



зиготних генотипів (табл. 3). Найвищий рівень фактичної гетерозиготності зафіксований для локусу *Ame129* (0,85), найнижчий – для локусу *Ame133* (0,74). Рівень очікуваної гетерозиготності коливався в межах від 0,63 до 0,84 для локусів *Ame133* та *Ame23* відповідно.

Поліморфізм за мікросателітними локусами ДНК бичка-кругляка з різних частин природного ареалу Чорноморсько-Азовського басейну. Виходячи з отриманих даних щодо рівня генетичної мінливості для бичка-кругляка з п'яти вибірок Чорноморсько-Азовського басейну за чотирма локусами ДНК, встановлено перевищення значення фактичної гетерозиготності над очікуваною: спостерігається переважання гетерозиготних генотипів (табл. 4).

При порівнянні значення Но та Не для вибірок з різних локацій встановлено, що найменше середнє значення фактичної гетерозиготності ( $H_o$ ) за всіма проаналізованими локусами відмічається у вибірці оз. Ялпуг та становить 0,69, а найвище середнє значення ( $H_o$ ) – 0,89 зафіксовано у вибірці о. Зміїний. Середнє значення очікуваної гетерозиготності коливалося від 0,60 (оз. Ялпуг) до 0,83 (о. Зміїний). За значеннями  $\chi^2$  встановлена відсутність статис-

тично значущих відхилень від закону Харді-Вайнберга. Для оцінки здатності мікросателітних маркерів фіксувати поліморфізм всередині популяції було розраховано індекс інформаційного поліморфізму PIS (табл. 5).

У вибірці з озера Ялпуг значення даного показника коливалися від 0,32 для локусу *Ame 129* до 0,70 для *Ame 133*, це свідчить про те, що локус *Ame 129* був найменш поліморфним, а локус *Ame 133* найбільш поліморфним. Даний локус також був найбільш поліморфним і для особин у вибірці з Дніпровського лиману, а у риб з вибірок з Обіточної затоки та Джарилгацької затоки – найменш поліморфним. Лише у вибірці з Обіточної затоки локус *Ame 23* був найбільш поліморфним (0,82), так як і локус *Ame 129* (0,85) у вибірці з острова Зміїний. Для кодомінантних ДНК-маркерів, до яких належать мікросателіти, значення індексу поліморфізму більше за 0,5 свідчить про те, що маркер є високоінформативним для аналізу даного виду. Середнє значення індексу поліморфізму становило від 0,64 для локусу *Ame 129* до 0,68 для *Ame 133*, що вказує на високий рівень поліморфізму за обраними маркерами для даного виду риб.

Таблиця 5. Показники величини інформаційного поліморфізму PIS локусів в угрупованнях бичка-кругляка

Локус	Озеро Ялпуг	Острів Зміїний	Дніпровсько-Бузький лиман	Джарилгацька затока	Обіточна затока	Середнє значення за локусами
<i>Ame 23</i>	0,53	0,81	0,55	0,68	0,82	0,68
<i>Ame 24</i>	0,61	0,75	0,50	0,73	0,74	0,67
<i>Ame 129</i>	0,32	0,85	0,64	0,66	0,72	0,64
<i>Ame 133</i>	0,70	0,83	0,69	0,65	0,55	0,68
Середнє	0,54	0,81	0,60	0,68	0,71	0,67

Таблиця 6. Індекс фіксації  $F_{IS}$  (коефіцієнт інбридингу) для оцінки та виявлення переважання гетерозигот в угрупованнях бичка-кругляка по локалітетах

Локус	Озеро Ялпуг	Острів Зміїний	Дніпровсько-Бузький лиман	Джарилгацька затока	Обіточна затока
<i>Ame 23</i>	-0,05	-0,10	-0,19	-0,08	0,04
<i>Ame 24</i>	-0,11	-0,11	-0,28	0,02	-0,09
<i>Ame 129</i>	-0,50	-0,04	-0,22	-0,24	-0,12
<i>Ame 133</i>	-0,05	-0,04	-0,17	-0,18	-0,19
Середнє	-0,18	-0,07	-0,22	-0,12	-0,09

За показниками гетерозиготності для кожного локусу було розраховано індекс фіксації  $F_{IS}$  (коефіцієнт інбридингу), за яким можна виявити та оцінити переважання гетерозигот в окремих локалітетах риб (табл. 6).

За критерієм індексу фіксації найбільше переважання гетерозиготних генотипів спостерігалось у вибірках з озера Ялпуг за локусом *Ame129* (–0,50) та Дніпровського лиману, за локусами *Ame24* (–0,28) та *Ame129* (–0,22), тоді як невеликий дефіцит гетерозиготних генотипів за локусами *Ame23* та *Ame24* (0,04 та 0,02 відповідно) було зафіксовано для особин у вибірках з Обіточної затоки та Джарилгацької затоки. Оцінка середніх показників індексу фіксації вказує на те, що для кожної з досліджуваних угруповань бичка-кругляка спостерігався загальний надлишок гетерозигот.

Отримані дані дозволяють підсумувати спільні та відмінні особливості генетичної структури бичка-кругляка п'яти вибірок. Так, для локусу *Ame23* найбільш характерним був амплікон довжиною 204 п.н. Аналогічні результати отримано дослідниками, які вивчали популяції бичка-кругляка з різних регіонів, і за даним локусом з високою частотою також було виявлено бенд довжиною 204 п.н. (Feldheim, 2009). В наших дослідженнях цей амплікон наявний у особин чотирьох вибірок з п'яти, крім Джарилгацької затоки. Однак слід зауважити, що у особин вибірки з Обіточної затоки частота амплікону була найменшою (0,08) порівняно з вибірками озера Ялпуг, о. Зміїний, Дніпровсько-Бузького лиману (0,25).

За локусом *Ame24* алелі довжиною 191 та 206 п.н. виявлено з високою частотою у особин з чотирьох вибірок, крім озера Ялпуг.

Риби акваторії о. Зміїний характеризувались специфічним розподілом алельних варіантів за локусами – *Ame129*, для бичків оз. Ялпуг відмічено виражену своєрідність розподілу алельних варіантів за локусом *Ame24*. Для локусу *Ame23* найчастіше виявляли алель 113 п.н. (58,34 %) тоді як алелі 195 та 211 п.н. виявляли найрідше – 8,33 %. Для локусу *Ame24* з найбільшою частотою – 44,44 % ідентифікували алельний варіант 298 п.н.

Найбільше спільних ампліконів в усіх вибірках було виявлено за локусами *Ame23* та *Ame129*.

*Філогенетичний аналіз бичка-кругляка у Північно-Західному Причорномор'ї.* Мікросателітна ДНК є інформативною для класифікації еволюційних зв'язків близькоспоріднених популяцій (Nei, 1996). Тому на основі даних розрахованих частот ампліконів мікросателітних локусів побудовано дендрограми генетичних дистанцій між п'ятьма локалітетами бичка-кругляка Чорноморсько-Азовського басейну (рис. 3). Було використано неупереджену (об'єктивну) генетичну ідентичність (unbiased genetic identity) та дистанції (unbiased genetic distance) за Неєм (Nei, 1978), що застосовується для малої кількості (до 50) досліджуваних особин кожної популяції. За цим показником оцінюються величини систематичних відхилень, оскільки вони безпосередньо пов'язані зі значеннями гетерозиготності.

Метод невваженого парного середнього UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages), який обрано для побудови дендрограми, застосовується для таких частот алелів, коли еволюційна швидкість майже однакова для всіх популяцій (Nei, 1996; Lukashov, 2009).

Основний кластер дендрограми формують представники бичка-кругляка, відібрані у локалітетах о. Зміїний та Джарилгацької затоки (максимальна ідентичність – 0,33), а також – з Дніпровсько-Бузького лиману (дещо нижчий показник схожості – 0,26). Джарилгацька затока знаходиться на значній відстані від акваторії острова Зміїний, тому генетична спорідненість бичка-кругляка з даних ареалів може бути обумовлено єдиним первинним ареалом розселення (Tserkova, 2015; Snyder, 2017).

Меншу генетичну схожість бичка-кругляка Дніпровсько-Бузького лиману та акваторій о. Зміїний і Джарилгацької затоки, можна пояснити тим, що історично при розселенні відбувалася адаптація до абіотичних факторів і внаслідок чого проходила елімінація генотипів у генофонді популяцій (Zamorov, 2018; Adrian-Kalchhauser, 2020). Так, в ряді робіт показано (Szalyky, 2015; Morissette, 2018; Raab, 2018), що при певній солоності може формуватись специфічна генетична структура. Цим можна пояснити і відмінність генетичної структури бичка-кругляка з Дніпровсько-Бузького лиману (середнє значення показника со-

лоності сягає до 4 %) та риб з Джарилгацької затоки (до 17 %) (Gorev, 1995). Схожість бичка-кругляка з озера Ялпуг з представниками основного кластеру (риб Джарилгацької затоки, акваторії о. Зміїний та Дніпровсько-Бузького лиману) становить 0,230, що може бути обумовленим його географічним положенням. Озеро Ялпуг отримує живлення передусім з озера Курулгай, з'єднаного, у свою чергу, з р. Дунай, що впадає у Чорне море (Gorev, 1995). Можна зробити припущення, що шляхом цього водообміну було здійснено заселення даної географічної зони представниками чорноморських популяцій, що підтверджує високий рівень схожості. Автори (Tserkova, 2017) зробили припущення, що існує два механізми поширення популяцій: 1) «коридор експансії» через європейські річки та штучно створені канали та 2) «стрибок-подібне поширення» через баластні води міжнародних судноплавств. Генетичним дослідженням, спрямованим на розуміння процесів розповсюдження популяцій бичків по судноплавних річках та їх притоках присвячено ряд сучасних робіт (Janáč, 2017; Adrian-Kalchhauser, 2020). Водночас, риби цього локалітету займають відокремлене положення на дендрограмі, що свідчить, про специфічність їх генетичної структури. Суттєвий ступінь генетичної відмінності даної популяції можна пояснити з позицій гідрохімічного складу озера. Можна припустити, що на формування генетичної структури вплинула прісноводність водойми, що викликало ряд особливих адаптацій місцевої популяції, закріплених на генетичному рівні.

Риби з Обіточної затоки Азовського моря, як видно з дендрограми, є найбільш віддаленими від усіх досліджених вибірок бичка-кругляка. Такі суттєві відмінності, виявлені при аналізі окремих локусів, можна пояснити віддаленістю локацій та відмінністю абіотичних факторів Чорноморських та Азовських акваторій.

Американські дослідники при аналізі окремих локалітетів бичка-кругляка із різних районів Чорноморсько-Азовського басейну (Brown, 2008) за мітохондріальним геном цитохрому b та ядерними мікросателітними локусами також виявили відмінності між популяціями бичка-кругляка. Було встановлено, що в дослідженому регіоні існує не менше чотирьох

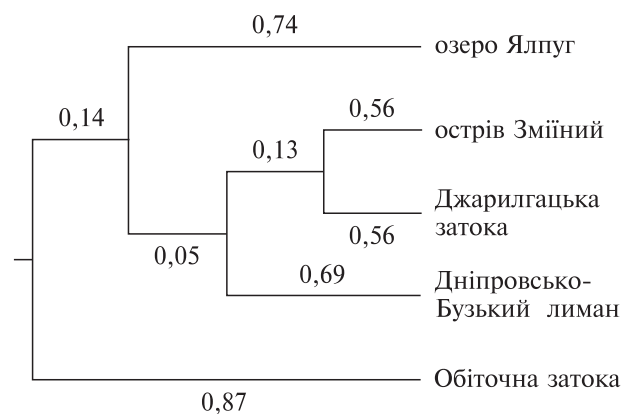


Рис. 3. Дендрограма на основі об'єктивних генетичних дистанцій, що відображає філогенетичні відносини між *N. melanostomus* з п'яти локалітетів Чорноморсько-Азовського басейну

популяцій бичка-кругляка: Азовського моря, морської акваторії півострову Крим, річки Дніпро і північно-західної частини Чорного моря. Неаборигенні угруповання бичка-кругляка з річки Дунай біля Сербії і Словенії найбільш ймовірно відносяться до популяції північно-західної частини Чорного моря (район міста Одеси, Україна) (Brown, 2008).

Таким чином, на основі отриманих даних, можна зробити висновок про те, що кожне із досліджених локальних угруповань риб має своєрідну генетичну структуру за мікросателітними локусами, які обумовлені специфічним розподілом аельних варіантів.

**Висновки.** Проведені дослідження дозволили охарактеризувати генетичну структуру бичка-кругляка Чорноморсько-Азовського басейну. Отримані дані демонструють специфічні видові особливості бичка-кругляка кожного дослідженого локалітету за обраними мікросателітними локусами, які формувалися історично під впливом абіотичних факторів певних географічних зон в тривалому процесі адаптації.

Враховуючи вищевикладене, можна зробити припущення про наявність субпопуляційної структури дослідженого виду в північно-західній частині Чорного моря і прилеглих водоймах, а також відзначити специфічність генофонду популяції в Азовському морі. Результати проведених досліджень мають принципове

значення для вдосконалення теоретичних і практичних методів контролю рівня генетичної мінливості окремих популяцій бичка-кругляка в різних еколого-географічних зонах.

**Дотримання етичних стандартів.** У роботі керувалися положеннями, рекомендованими Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) ETS No.123.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Дані дослідження виконувалися за держбюджетні кошти Міністерства освіти і науки, які були отримані для виконання науково-дослідних робіт (фундаментальні дослідження) за темою «Закономірності диференціації популяцій бичкових риб (Gobiidae) на морфологічному та генетичному рівнях в Чорноморсько-Азовському басейні України» у 2017–2019 рр.

GENETIC DIFFERENTIATION OF THE ROUND GOBY (NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS) FROM CERTAIN LOCALITIES OF THE BLACK AND AZOV SEA BASIN USING MICROSATELLITE LOCI

S.I. Tarasjuk, V.V. Zamorov, O.V. Zaloilo, O.Iu. Bielikova, D.B. Radionov

Odessa I.I. Mechnikov National University, Ukraine  
Institute of Fisheries, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

E-mail: tarasjuk@ukr.net, v.zamorov@onu.edu.ua, ozaloilo@yahoo.com, belikova.e.y@gmail.com, pppankovae@gmail.com

Allelic variants were identified using SSR-markers and locus-specific features of the genetic structure of the round goby (*Neogobius melanostomus*) populations from five samples of the Black and Azov Sea basin were established. When comparing the values of observed  $H_o$  and expected  $H_e$  heterozygosity, it was found that the lowest average value for all analyzed loci was noted in the sample of Lake Yalpug (0.69 and 0.60, respectively), and the highest – in the sample of Zmeyniy Island (0.89 and 0.83). The average polymorphic index content (PIC) ranged from 0.64 for Ame 129 locus to 0.68 for Ame 133, that indicates a high level of polymorphism of selected markers for this fish species. The phylogenetic analysis showed that the main cluster is formed by representatives of the round goby of the localities Zmeyniy Island and

Dzharylgachsky bay (identity was 0.33), as well as the Dnieper-Bug estuary (0.26). The similarity of the round goby of lake Yalpug with representatives of the main cluster is 0.23. Pisces of this locality occupy a separate position on the dendrogram, which indicates the specificity of their genetic structure, that was formed historically under the influence of abiotic factors of the studied geographical zones during prolonged adaptation.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Adrian-Kalchhauser I, Blomberg A, Larsson T et al (2020) The round goby genome provides insights into mechanisms that may facilitate biological invasions. *BMC Biology* 18(1):1–33. doi:10.1186/s12915-019-0731-8
- Brandner J, Cerwenka A, Schliewen UK et al (2018) Invasion strategies in round goby (*Neogobius melanostomus*): Is bigger really better? *PLoS ONE* 13: e0190777. doi:10.1371/journal.pone.0190777
- Brown JE, Stepien CA (2008) Ancient divisions, recent expansions: phylogeography and population genetics of the round goby *Apollonia melanostoma*. *Mol Ecol* 17:2598–2615. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03777.x
- Burkett EM, Jude DJ (2015) Long-term impacts of invasive round goby *Neogobius melanostomus* on fish community diversity and diets in the St. Clair River, Michigan. *J Great Lakes Res* 41(3):862–872. doi: 10.1016/j.jglr.2015.05.004
- Cerwenka AF, Brandner J, Geist J et al (2014) Strong versus weak population genetic differentiation after a recent invasion of gobiid fishes (*Neogobius melanostomus* and *Ponticola kessleri*) in the upper Danube. *Aquatic Invasions* 9:71–86. doi: 10.3391/ai.2014.9.1.06
- Cristescu ME (2015) Genetic reconstructions of invasion history. *Mol Ecol* 24:2212–2225. doi: 10.1111/mec.13117
- Demchenko VO, Tkachenko MY (2017) Biological characteristics of the round goby, *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814), from different water bodies. *Archives of Polish Fisheries* 25(1):51–61. doi:10.1515/aopf-2017-0006
- Farwell M, Hughes G, Smith JL et al (2017) Differential female preference for individual components of a reproductive male round goby (*Neogobius melanostomus*) pheromone. *J Great Lakes Res* 43(2):379–386. <https://scholar.uwindsor.ca/biologypub/234>
- Feldheim KA, Willink P, Brown JE et al (2009) Microsatellite loci for Ponto-Caspian gobies: markers for assessing exotic invasions. *Mol Ecol Resour* 9(2): 639–644. doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02495.x
- Gorev LM, Peleshenko VI, Khilchevsky VK (1995) *Hydrochemistry of Ukraine*. High school, Kyiv



- Hempel M, Thiel R (2013) First records of the round goby *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) in the Elbe River, Germany. *BioInvasions Records* 2: 291–295. doi: 10.3391/bir.2013.2.4.05
- Janáč M, Roche K, Šlapanský L et al (2017) Long-term monitoring of native bullhead and invasive gobiids in the Danubian rip-rap zone. *Hydrobiologia* 807(1):263–275. doi: 10.1007/s10750-017-3398-6
- Janáč M, Valová Z, Roche K et al (2016) No effect of round goby *Neogobius melanostomus* colonisation on young-of-the-year fish density or microhabitat use. *Biol Invasions* 18:2333–2347. doi: 10.1007/s10530-016-1165-7
- Janáč M, Bryja J, Ondračková M et al (2017) Genetic structure of three invasive gobiid species along the Danube-Rhine invasion corridor: Similar distributions, different histories. *Aquatic Invasions* 12: 551–564. doi: 10.3391/ai.2017.12.4.11
- Johansson ML, Dufour BA, Wellband KW et al (2018) Human-mediated and natural dispersal of an invasive fish in the eastern Great Lakes. *Heredit* 120(6):533–546. doi: 10.1038/s41437-017-0038-x
- Kornis MS, Mercado-Silva N, Vander Zanden MJ (2012) Twenty years of invasion: a review of round goby *Neogobius melanostomus* biology, spread and ecological implications. *J of Fish Biol* 80:235–285. doi: 10.1111/j.1095-8649.2011.03157.x
- Kumar S, Stecher G, Li M et al (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol Biol and Evol* 35(6):1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
- Kuznetsov VM (2014) Wright's F-Statistics: Evaluation and Interpretation. *Problem Biol Produc Anim* 4: 80–104
- Lukashov VV (2009) Molecular evolution and phylogenetic analysis. BINOM, Moscow
- Maqsood HM, Ahmad SM (2017) Advances in molecular markers and their applications in aquaculture and fisheries. *GenAqua* 1:27–41. doi: 10.4194/2459-1831-v1\_1\_05
- Morissette O, Paradis Y, Pouliot R et al (2018) Spatio-temporal changes in littoral fish community structure along the St. Lawrence River (Quebec, Canada) following round goby (*Neogobius melanostomus*) invasion. *Aquatic Invasion* 13:501–512. doi: 10.3391/ai.2018.13.4.08
- Nagy S, Poczai P, Cernák I et al (2012) PICcalc: An Online Program to Calculate Polymorphic Information Content for Molecular Genetic Studies. *Biochem Genet* 50(9–10):670–672. doi: 10.1007/s10528-012-9509-1
- Nei M (1996) Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics. *Annu Rev Genet* 30:371–403. doi: 10.1146/annurev.genet.30.1.371
- Nei M (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89(3):583–590.
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28: 2537–2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Raab D, Mandrak NE, Ricciardi A (2018) Low-head dams facilitate Round Goby *Neogobius melanostomus* invasion. *Biological Invasions* 20:757–776. doi: 10.1007/s10530-017-1573-3
- Snyder MR, Stepien CA (2017) Genetic patterns across an invasion's history: a test of change versus stasis for the Eurasian round goby in North America. *Mol Ecol* 26(4):1075–1090. doi: 10.1111/mec.13997
- Szalyky Z, Bammer V, Gyorgy A et al (2015) Offshore distribution of invasive gobies (Pisces: Gobiidae) along the longitudinal profile of the Danube River. *Fundamental and Applied Limnology* 187(2):127–133. doi: 10.1127/fal/2015/0768
- Tserkova F, Gevezova-Kazakova M, Gospodinov G et al (2017) Genetic Diversity and Geographic Distribution of Round Goby *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) (Perciformes: Gobiidae) as Revealed by mt DNA cyt b Gene Haplotypes. *Acta Zoologica Bulgarica. Supplementum* 41–45
- Tserkova F, Kirilova I, Tcholakova T et al (2015) Comparative study of round goby (*Neogobius melanostomus*) populations inhabiting Black Sea and North-West European water basins as revealed by variability in cytochrome b gene. *Bulgar J Agric Sci* 21(1):100–105.
- White NJ, Snook RR, Eyres I (2020) The Past and Future of Experimental Speciation. *Trends Ecol. Evol.* 35:10–21. doi:10.1016/j.tree.2019.08.009
- Zamorov VV, Karavanskiy Y, Leonchuk Y et al (2018) The effect of atmospheric pressure and water temperature on the swimming activity of round goby, *Neogobius melanostomus* (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae). *Acta Ichthyol Piscat* 48(4):373–379. doi: 10.3750/AIEP/02445
- Zamorov VV, Radionov DB (2014) Polymorphism at the  $\beta$ -esterase locus of the *Neogobius melanostomus* goby of the Odessa Bay and the waters of the Snake Island. *Hydrobiol J* 50(3):67–77. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/gbj\\_2014\\_50\\_3\\_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/gbj_2014_50_3_8)
- Zamorov VV, Radionov DB, Kucherov VA et al (2017) The dynamics of genetic structure of round goby *Neogobius melanostomus* (Pallas) groupings in the Odessa Bay of the Black Sea utilizing biochemical marker loci. *Acta Biol. Univ. Daugavpils* 17(2):257–264.

Надійшла в редакцію 09.07.20  
Після доопрацювання 02.11.20  
Прийнята до друку 18.05.21