

УДК 606:62:639.3:639.212

СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ВЕСЛОНОСА (*POLYODON SPATHULA*)

(ОГЛЯД)

Х. М. КУРТА, молодший науковий співробітник,

О. О. МАЛИШЕВА, кандидат сільськогосподарських наук, старший
науковий співробітник

В. Г. СПИРИДОНОВ, доктор сільськогосподарських наук, завідувач
відділу молекулярно-біологічних досліджень

Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК

E-mail: khrystyna.kurta@gmail.com

Анотація. В огляді розглянуто стан та перспективи сучасних способів досліджень генетичної структури веслоноса (*Polyodon spathula*, Walbaum, 1792). Надано характеристику організації структури геному його популяцій, показано особливості генетики визначення статі у веслоноса. Узагальнено результати використання новітніх методів моніторингу генетичного біорізноманіття даного об'єкта. Розглянуто найбільш загальнозживані мікросателітні ДНК-маркери та переваги їх застосування для оцінки генетичної мінливості веслоноса. Наведено та проаналізовано результати попередніх досліджень популяційно-генетичних параметрів природних та штучних популяцій даного виду із застосуванням ДНК-маркерів. Визначено, що на сучасному етапі розвитку молекулярно-генетичних досліджень для контролю ефективності відтворення та збереження популяцій веслоноса застосовують наступні мікросателітні ДНК-маркери: *Psp12*, *Psp18*, *Psp20*, *Psp21*, *Psp26*, *Psp28*, *Psp29* та *Psp32*. В результаті використання запропонованих ДНК-маркерів можна оцінити внутрішньовидовий генетичний поліморфізм, здійснити паспортизацію ремонтно-маточних стад та подальше формування батьківських пар плідників за альтернативними генотипами з метою підвищення якості генетичного матеріалу племінних ресурсів веслоноса для контролю ефективності відтворення в умовах вітчизняних рибницьких господарств.

Ключові слова: веслоніс, мікросателітні ДНК-маркери, генотип, алелі, генетична структура, генетичне біорізноманіття, поліморфізм, аквакультура

Актуальність. Різде зниження чисельності популяцій осетрових риб, традиційного джерела чорної харчової ікри та делікатесного м'яса, призвело до збільшення тиску на природні популяції веслоноса, як альтернативного

продуцента цінної осетрової продукції. Одним із шляхів збільшення обсягів виробництва такої делікатесної та дороговартісної продукції є нарощування прісноводної аквакультури за рахунок культивування веслоноса (*Polyodon spathula*) [1].

Веслоніс (*Polyodon spathula*, англ. *Paddlefish*) – прісноводний вид, представник родини веслоносих (*Polyodontidae*), ряду осетроподібних (*Acipenseriformes*). Веслоніс, як і всі осетроподібні види, є джерелом дороговартісної рибної продукції на вітчизняному та світовому ринках. Погіршення екологічних умов природних місць нагулу та нересту, неконтрольований вилов та незаконна торгівля спричинили різке скорочення природних запасів веслоноса до майже повного зникнення. Такий стан природних популяцій даного виду потребує всебічного моніторингу, управління та застосування заходів контролю вилову, що було основою для включення веслоноса у Додаток II Конвенції CITES та Червоної книги Міжнародного союзу охорони природи та природних ресурсів. Висока економічна цінність та комерційне значення всіх осетроподібних, зокрема й веслоноса, сприяє зростанню глобального наукового інтересу в дослідженнях цих видів. Існує багато міжнародних організацій (World Sturgeon Conservation Society, Wildlife Conservation Society, Natural Resources Defence Council) та науково-дослідних інститутів, які інтенсивно займаються вивченням, збереженням та відновленням цих важливих представників сучасної іхтіофауни [2].

З метою збереження і відновлення природних запасів веслоноса активно проводяться роботи зі штучного відтворення даного виду в умовах рибницьких господарств у США. На теперішній час практика культивування веслоноса в умовах аквакультури розповсюджена в країнах Східної Європи, в тому числі і в Україні [3].

Важливою умовою за штучного відтворення та формування репродуктивних маточних стад веслоноса є застосування таких методів, які

забезпечать збереження максимального генетичного різноманіття як у природних, так і штучних популяціях даного виду риб [4].

На теперішній час одним із найбільш ефективних методів контролю генетичних процесів у штучно відтворюваних популяціях є молекулярно-генетичні дослідження з використанням мікросателітних ДНК-маркерів [2].

Мікросателіти – поліморфні послідовності ДНК у геномах еукаріот, які через високий рівень алельних варіацій дозволяють оцінити внутрішньовидовий генетичний поліморфізм та дослідити генетичну структуру популяцій. Дослідження поліморфізму мікросателітних ДНК-маркерів необхідні для вивчення генетичної різноманітності маточних стад та розуміння причин змін, які в них відбуваються, з метою моніторингу ефективності відтворення та збереження популяцій веслоноса [5, 6].

Основана частина огляду включає аналіз особливостей організації геному веслоноса та порівняльний аналіз результатів досліджень генетичної структури його природних та штучних популяцій із використанням мікросателітних ДНК-маркерів.

Біологічна унікальність та промислово-господарська цінність веслоноса

Веслоніс – представник північноамериканської іхтіофауни, інтродуцент у штучні водойми України з 1991 рр. [3], який є об'єктом штучного розведення та вирощування у таких провідних рибницьких господарствах України, як: ДУ «Виробничо-експериментальний Дніпровський осетровий рибовідтворювальний завод ім. академіка С. Т. Артющика (Херсонська обл.), ВАТ «Сумирибгосп» (Сумська обл.), ПРАТ «Чернігіврибгосп» (Чернігівська обл.), ВАТ "Білгород-Дністровський рибокомбінат" (Одеська обл.) та «Гірський Тікіч» (ПАТ «Черкасирибгосп», Черкаська обл.), дослідне господарство "Нивка" Інституту рибного господарства НААН України, м. Київ тощо. Це швидкоростучий, високопродуктивний вид: приріст маси веслоноса складає близько 2-3 кг/рік, вихід м'яса становить більше 60 %. За спектром живлення – планктофаг, а за рахунок специфічної будови фільтрувального апарату

живлення є біомеліоратором водойм та перспективним об'єктом полікультури з коропом, буфало, канальним сомом та осетровими видами риб. Веслонос є продуцентом делікатесного, ніжного, без дрібних кісточок м'яса та чорної ікри, які за своїми якостями не поступаються продукції інших видів осетрових. За умов штучного вирощування самки веслоноса у віці 10 років досягають маси близько 30-40 кг і можуть давати до 4 кг ікри. Веслонос є альтернативною заміною традиційних представників прісноводної аквакультури – планктофагів, таких як білий та строкатий товстолоби [1, 7].

Одним із основних завдань успішного ведення аквакультури веслоноса в умовах рибницьких господарств України є нарощування чисельності та підвищення якості генетичного матеріалу його ремонтно-маточних стад. В межах вітчизняних рибницьких господарствах племінні стада веслоноса формувалися з обмеженої кількості завезеного зі США іхтіологічного матеріалу. За таких умов у штучних популяціях веслоноса може спостерігатися низький рівень генетичної мінливості, що призводить до високої ймовірності схрещування близькоспоріднених особин (явище інбридингу) [8]. Результатом близькоспорідненого розведення та відсутності вільного схрещування є поява у отриманого потомства аномалій розвитку та зниження виживаності і продуктивності [4]. Проведення спеціальних досліджень із вивчення генетичної структури веслоноса за ДНК-маркерами обумовлено необхідністю встановлення походження плідників, генеалогічних зв'язків між племінними стадами різних господарств та визначення рівня інбридингу. Доцільність подібних досліджень полягає в оптимізації робіт зі штучного відтворення веслоноса шляхом моніторингу генетичної структури популяцій для формування репродуктивних маточних стад та отримання високопродуктивного життестійкого потомства за рахунок збереження і відновлення унікальних генотипів та підтримання видового різноманіття під контролем ДНК-маркерів. Тому, проведення досліджень із вивчення геномної варіабельності веслоноса є важливим питанням сучасного робіт з відтворення та збереження популяцій даного виду риб [9].

Особливості організації структури геному веслоноса.

Вивчення і моніторинг генетичних процесів, що відбуваються у геномі осетроподібних, у тому числі й веслоноса, має ряд характерних особливостей, що зумовлено виникненням перебудов каріотипів у процесі їх еволюції, які призвели до збільшення числа хромосом – поліплоїдії [10].

Поліплоїдизація – важливий еволюційний механізм, який є наслідком пристосувань осетроподібних видів до специфічних умов існування протягом їх тривалого розвитку. Вважається, що поліплоїдія у риб ряду *Acipenseriformes* відбувалася двома шляхами: в результаті збільшення числа хромосом, кратного гаплоїдному, з подальшими вторинними дуплікаціями геному або за рахунок утворення одно- чи двостатевих комплексів різної плоїдності з періодичною міжвидовою гібридизацією. Основним доказом поліплоїдизації геному є наявність кратних за числом хромосом у риб близьких систематичних груп. Так, більшість осетроподібних риб мають по $\approx 118-120$ хромосом, а російський і сибірський осетри $\approx 248-250$ хромосом [11]. На даний час автори припускають, що всі осетроподібні види являються тетраплоїдними за відношенням до своїх вимерлих диплоїдних предків, в яких число хромосом становило близько 60, а за період їх тривалого розвитку відбулося навіть дві послідовні диплоїдизації [12].

Згідно результатів досліджень закордонних і вітчизняних авторів, таких як Ludwig (2001), Fontana (2008), Vasil'ev (2009, 2010), Rajkov (2014) та інші, за каріотипом осетроподібних розподіляють на багатохромосомні та малохромосомні групи. Хромосомний набір різних видів *Acipenseriformes* може коливатися від $4n$ до $12n$, так, наприклад, у стерляді *Acipenser ruthenus*, шипа *A. nudiventris*, персидського осетра *A. persicus*, білуги *Huso huso* – набір хромосом становить $4n$, у російського *A. gueldenstaedtii*, сибірського *A. baerii*, адриатичного *A. naccarii* та інших осетрів – $8n$, а у тупорилого осетра *A. brevirostrum* – $12n$. Аналіз плоїдності осетроподібних показав, що в результаті диплоїдизації поліплоїдні види мають дуплікований геном, але рівень експресії генів у них такий, як і у диплоїдів. Тому, поліплоїдні види з каріотипом $4n$, $8n$

та $12n$ з урахуванням диплоїдизації визначаються функціональними ди-, тетра- та гексаплоїдами. Загалом вважається, що осетроподібні риби на сучасному етапі їх розвитку досягнули різних рівнів функціональної та структурної диплоїдизації [11, 12].

Веслоніс, зокрема, належить до малохромосомних осетроподібних риб, його диплоїдний набір хромосом становить 120. Каріотип складається з 48 макрохромосом та 72 мікрохромосом. Той факт, що 120 хромосом можна організувати у дві групи по 30 гомологів в кожній, вказує на ймовірність тетраплоїдного походження веслоноса [13, 14].

Поліплоїдний геном осетроподібних зумовлює виникнення ускладнень у разі статистичного аналізу генетичних даних, оскільки більшість сучасних комп'ютерних програм (GenAlEx 6.5, Microsatellite Toolkit for Microsoft Excel, PowerStats V12 (Promega), Cervus v. 3.0.3 та інші) за даними Marshall (1998), King (2000), Peakall (2006), Kalinowski (2007) базуються на диплоїдному характері успадкування та частотах гаплотипів, що відповідають рівнянню Харді-Вайнберга [15, 16]. Тому, дослідники активно ведуть пошуки методичних прийомів щодо спрощення статистичної обробки результатів та ядерних маркерів із диплоїдним характером успадкування у поліплоїдних видів риб [10].

Отже, представники ряду осетроподібних, зокрема й веслоніс, мають складну геномну організацію. Вони є поліплоїдними багато хромосомними видами, за рахунок чого становлять собою унікальну модель для досліджень еволюційних процесів, які проходили через дублювання геному в результаті поліплоїдизації. Поліплоїдія в осетроподібних була проаналізована рядом дослідників: Peng Z. (2007), Crow K. D. (2012), Fontana F. (1994, 2008), Vasil'ev V. (2010), Billard R. (2001) та інші, які вважали це явище головною рушійною силою в процесі тривалого розвитку даних видів риб.

Вивчення хромосомних наборів широко використовується в еволюційних та таксономічних дослідженнях риб, а також під час робіт з віддаленими гібридами та розробок спеціальних генетичних методів селекції. Крім того,

дослідження хромосом дозволяють визначити механізми регуляції співвідношення статі у риб, у яких наявні статеві хромосоми [8].

Детермінація статі у веслоноса.

Статева приналежність роздільностатевих організмів регулюється балансом генів, які відповідають за розвиток чоловічої або жіночої статі, за рахунок чого забезпечують чітку статеву диференціацію особин. У більшості організмів такий баланс генів підтримується системою статевих хромосом. Водночас із функцією детермінації статі, статеві хромосоми регулюють співвідношення статей у потомстві за рахунок наявності гомо- та гетерогаметних різностатевих особин. Дослідження генетики визначення статі у риб показали наявність у них таких генетичних моделей: гомогаметні самки (XX) і гетерогаметні самці (XY) або гомогаметні самці (ZZ) і гетерогаметні самки (WZ) [17].

Для визначення наявності статевих хромосом та їх генетичної моделі у об'єктів промислової аквакультури застосовують метод індукованого гіногенезу – отримання одностатєво-жіночого потомства, шляхом інактивації чоловічих хромосом та уникнення редукції жіночого хромосомного комплексу. Приналежність гіногенетичного потомства виключно до жіночої статі вказує на жіночу гомогаметність, наявність у гіногенетичному потомстві самців і самок – на жіночу гетерогаметність [8].

На відміну від осетрових видів риб, у більшості з яких відсутні статеві хромосоми, диференціація за статтю відбувається епігамно, тобто під впливом факторів зовнішнього середовища, у веслоноса детермінація статі визначається статевими хромосомами. Дослідження генетичної моделі визначення статі у веслоноса були проведені Mims S.D. та Shelton W.L. (1997) під час розробки методу отримання гіногенетичного потомства даного виду у 1994-1995 рр. На основі отриманих результатів було визначено приналежність отриманого гіногенетичного потомства до жіночої статі та висунуто припущення, що визначення статі веслоноса засновано на жіночій гомогаметності. Первинна оцінка статевої приналежності проводилася за допомогою гістологічних

досліджень 70-тижневого потомства на ранніх етапах процесу диференціації за статтю, і все потомство було ідентифіковано як жіноче [18]. Проте через 10 років авторами було повторно здійснено ідентифікацію гіногенетичного потомства з використанням мікросателітного аналізу ДНК і виявлено, що серед досліджуваних особин частка самців і самок становила відповідно 19,8 % та 80,2 %. Згідно отриманих результатів спостережуване співвідношення статей узгоджувалося з типом жіночої гетерогаметності. Так, на основі застосування методу індукованого гіногенезу та аналізу успадкування материнських і батьківських алелів отриманим потомством, було зроблено висновок про гетерогаметний (WZ) тип статевих хромосом у самок та гомогаметний (WW) тип – у самців веслоноса [20, 21].

Отже, механізми визначення статі осетроподібних риб і підтримання рівноваги статевого співвідношення у популяціях значно розрізняються між собою. Детермінація статі майже у всіх представників ряду осетроподібних підлягає модифікації під впливом зовнішніх факторів, тоді як у веслоноса розподіл за статтю визначається наявністю статевих хромосом [17].

Біологічні та екологічні особливості осетрових і веслоноса надають унікальну можливість для аналізу та формування теоретичної концепції визначення статі у процесі їх еволюції. Проведення досліджень із вивчення статевої детермінації у осетроподібних риб через наявність у них різних механізмів визначення статі, дозволить здійснювати розробку та удосконалення альтернативних способів регулювання статі даних видів риб у штучних умовах. Тому, важливим питанням є розуміння репродуктивної біології веслоноса, як цінного об'єкта аквакультури, для забезпечення ефективного управління та прогнозування потенційних впливів на формування статі даного виду за умов штучного вирощування з метою підвищення виходу цінної рибної продукції.

Мікросателітні ДНК-маркери як інструмент для аналізу та оцінки генетичного поліморфізму.

На даний час для визначення генетичного поліморфізму застосовуються різні молекулярно-генетичні маркери, які дозволяють виявити та оцінити

генетичні відмінності, що не розпізнаються методами вивчення поліморфізму генів, які кодують білки та ферменти [5].

На сучасному етапі розвитку досліджень генетичних характеристик осетроподібних риб одними з перспективних є використання молекулярно-генетичних методів із застосування мікросателітних ДНК-маркерів. Мікросателіти (*STR – Short Tandem Repeats* або *SSR – Simple Sequence Repeats*) – це короткі, тандемні повтори ділянок ядерної (сателітної) ДНК довжиною від 2 до 6 пар нуклеотидів (п.н.), які через свої відносно невеликі розміри можуть легко ампліфікуватися у разі використання полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Мікросателіти відносно рівномірно розподілені по всьому геному і в класі риб зустрічаються на кожні 10 000 п.н. [19]. Вони характеризуються високим ступенем поліморфізму та кодомінантним типом успадкування, що дозволяє здійснювати оцінку внутрішньовидового генетичного різноманіття. Мікросателіти – селективно нейтральні маркери некодуючих ділянок ДНК, які не залежать від впливу відбору, проте деякі з них можуть зустрічатися в кодуючих областях та залежати від селективного тиску. Через високу швидкість виникнення популяційно-специфічних мутацій у *STR*-локусах, що складає близько 10^{-2} - 10^{-6} на локус за покоління проти 10^{-5} - 10^{-6} у структурних генах, вони є унікальним інструментом для контролю генетичного змішування порід, навіть якщо вони близькоспоріднені між собою. Мікросателітний аналіз широко використовують для встановлення походження та визначення генетичних взаємозв'язків між видами та популяціями в цілому шляхом реконструкції філогенетичного дерева та оцінки генетичних дистанцій [22].

Сучасні дослідження з використанням мікросателітів потребують виконання наступних етапів: екстракція геномної ДНК зі зразків тканин, оптимізація та проведення ПЛР реакції, візуалізація даних методом електрофоретичного розділення ПЛР-продуктів в агарозному гелі або на генетичному ДНК-аналізаторі методом капілярного електрофорезу з подальшою інтерпретацією та обробкою даних за допомогою спеціального пакета комп'ютерних програм. До того ж, у разі застосування ДНК-аналізатора

можливо здійснювати генетичний аналіз достатньо великої кількості зразків за відносно короткий період часу [22].

Таким чином, у сучасній практиці аквакультури веслоноса та інших осетроподібних риб особливо цінними за інформативністю та достовірністю вважаються саме мікросателітні ДНК-маркери. У наукових дослідженнях їх застосовують для таксономії та видової ідентифікації, визначення походження, порівняння генетичних характеристик природних та промислових стад даних видів риб, оцінки генетичної структури географічно ізольованих популяцій, а також для підтримки програм відновлення природних запасів осетроподібних [19]. Молекулярно-генетична ідентифікація за допомогою мікросателітних ДНК-маркерів дозволяє здійснювати генетичну паспортизацію об'єктів аквакультури, що сприятиме збереженню рідкісних генотипів, проведенню формування батьківських пар плідників за альтернативними генотипами і, як наслідок, дозволить знизити рівень інбредної депресії в одомашнених ремонтно-маточних стадах осетроподібних риб [23]. Тому, саме мікросателіти успішно застосовують в генетичних та генетико-популяційних дослідженнях осетроподібних видів риб, зокрема і веслоноса.

Генетико-популяційні особливості мікросателітної ДНК веслоноса

Багатовікова історія еволюції та вплив тривалих екологічних змін на існуючі популяції веслоноса зумовили виникнення особливого наукового інтересу до вивчення генетичних особливостей даного виду в умовах його природного ареалу. Веслоніс є унікальним об'єктом для дослідження процесів генетичних розбіжностей та рівня генетичної мінливості в результаті географічної ізоляції через зарегулювання стоків річок та надмірну експлуатацію його природних популяцій. Варто наголосити, що усі природні популяції веслоноса локалізовані в річках Північної Америки, таких як: Міссісіпі, Йеллоустоун, Міссурі, Огайо та інших річках, які впадають у Мексиканську затоку, а також в озерах Трумен та Грант-Лейк [24].

Ареал природного мешкання веслоноса наведено на рисунку 1.

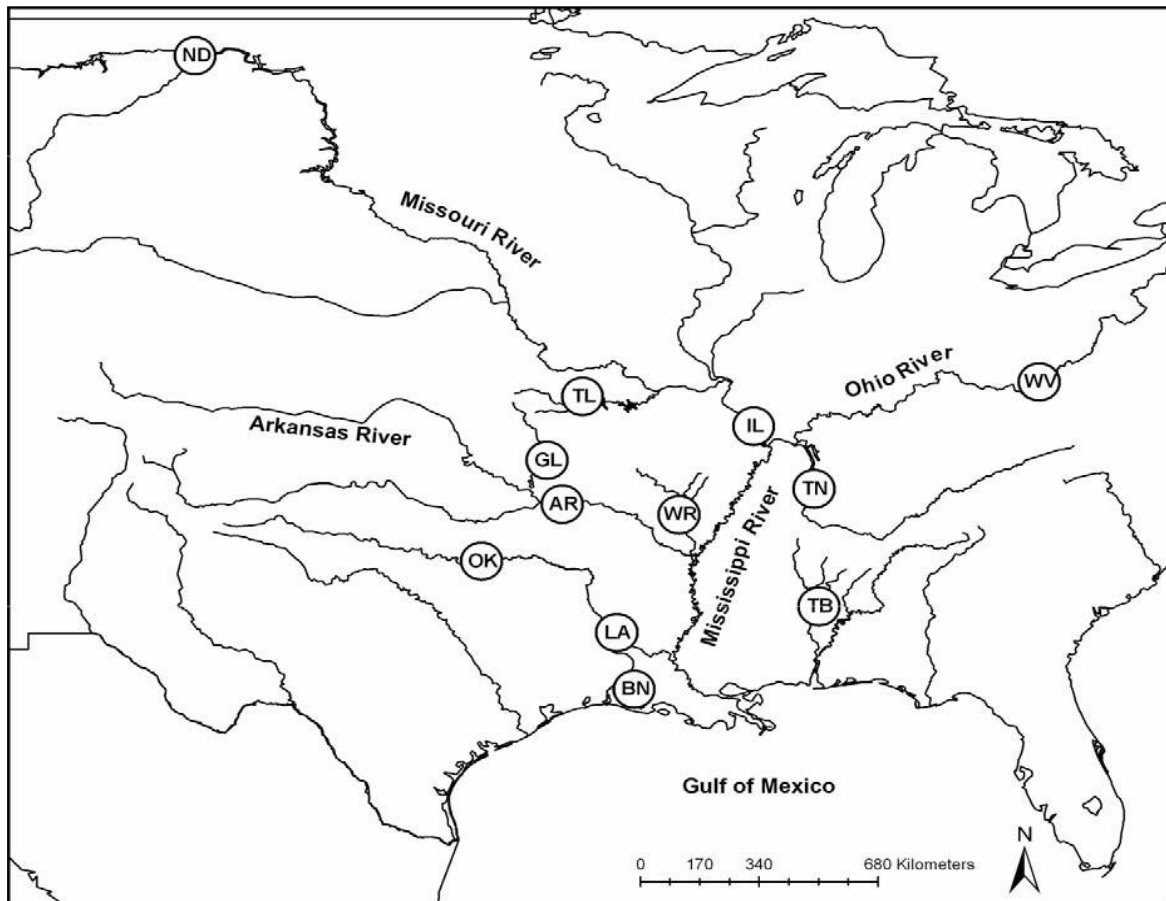


Рис. 1. Природний ареал веслоноса (*Polyodon spathula*, Walbaum, 1792): BN – Баю Незпик, Мерmento Рівер, Луїзіана; LA – Ред Рівер, Луїзіана; ОК – Ред Рівер нижче Лейк Техома, Оклахома; GL – Грант-Лейк, Оклахома; AR – р. Арканзас, Арканзас; WR – Уайт-Рівер, Арканзас; TL – озеро Трумен, Міссурі; ІЛ – Біг Мадді, Іллінойс; TN – р. Теннессі, Теннессі; ТВ – р. Томбігбі, Алабама; WV – р. Огайо, Західна Вірджинія [24].

Генетична структура природних популяцій веслоноса.

Згідно з даними закордонних дослідників для визначення та оцінки генетико-популяційних особливостей веслоноса, зазвичай, застосовують вісім мікросателітних ДНК-маркерів, нуклеотидні послідовності яких зберігаються у міжнародному генетичному банку даних GenBank (табл. 1) [24, 26, 27].

Розробку та впровадження поліморфних генетичних маркерів – мікросателітів – для веслоноса було розпочато Heist із співавторами з метою вивчення та управління генетичними процесами у природних та штучних популяціях даного виду риб [25].

1. Мікросателітні ДНК-маркери для генетичної ідентифікації веслоноса (*Polyodon spathula*) [25]

Назва	Тандемні повтори	Нуклеотидна послідовність праймерів (5' → 3')	Розмір (п.н.)	№ GenBank
Psp12	(GA) ₁₅	F: ATCTGATACAATCTTCACAGTCC R: GAGTTCACAGCTCGCTCTCC	218-228	AF406733.1
Psp18	(GA) ₂₀	F:CTATGTGAGGAATGCCACGAC R:TGACATCACCATGACCTATTGG	164-174	AF406734.1
Psp20	(GA) ₁₃	F:GCATAGTTTTTGGGGGATGGC R:ACAACCTGCTTCACCGCATTCC	202-208	AF406735.1
Psp21	(GA) ₂₅	F:TTCAGCAGGTAGTGAGACAGGCAG R:TCAAGTCCCATCCACTCT	142-170	AF406736.1
Psp26	(GT) ₂₅	F:TCGGTGTTTGTGTGTGTGTATGC R:TGGTTCAGTTTCGCTCATCC	130-160	AF406737.1
Psp28	(GA) ₃₇	F:CAAAGGCATCCCCTACCAC R:GCTGGACAAAAAGTATGGAGTGC	224-260	AF406738.1
Psp29	(GCAC) ₆	F:GGGGTCTAATAAAATCCACCGTTC R:TTGCCTTGTGCTCTGTGTTC	195-215	AF406739.1
Psp32	imp.*	F:AATGACTCAGTTGTGTGCTGC R:AAGTGTAGGGGAATCTCACAG	173-177	AF406740.1

Примітка: * – за локусом Psp32 спостерігалися нерівномірні повтори (GT)_n мотивів.

На підставі мікросателітного аналізу ДНК-маркерів, описаних у таблиці 1, у подальших дослідженнях E.J. Heist, E.H. Nicholson, J.T. Sipiorski, D.B. Keeney (2002) було здійснено оцінку генетичної структури популяцій веслоноса, виловленого з річок Каскаскія, Міссісіпі та Міссурі (США) (табл. 2).

Згідно отриманих даних за динуклеотидними локусами Psp12, Psp20, Psp21, Psp26, Psp28, Psp32 було визначено параметри внутрішньовидового поліморфізму: число алелів та спостережувану й очікувану гетерозиготність, проте за тетрануклеотидними локусами Psp18 та Psp29 було визначено лише кількість алелів.

Проте було відмічено, що тетрануклеотидні локуси можна використовувати для визначення та підбору батьківських пар плідників за найбільш віддаленими алельними варіантами з метою уникнення близькоспорідненого схрещування (інбридингу) у штучних умовах розведення [25].

2. Середні показники генетичного поліморфізму природних популяцій веслоноса з річок Каскаскія, Міссісіпі та Міссурі [Heist, 2002]

Назва локуса	Кількість алелів	H _e	H _o
Psp12	6	0.613	0.571
Psp18	6	-	-
Psp20	4	0.562	0.714
Psp21	7	0.721	0.714
Psp26	11	0.822	0.821
Psp28	14	0.889	0.929
Psp29	4	-	-
Psp32	3	0.198	0.214

Згодом Heist і Mustapha було здійснено оцінку рівня генетичної диференціації географічно віддалених природних популяцій веслоноса з використанням таких ДНК-маркерів: Psp18, Psp21, Psp26, Psp28. Дослідження показали, що майже у всіх проаналізованих популяціях спостерігався генетичний поліморфізм. Найвищий рівень гетерозиготності був у популяціях річок Ред-Рівер та Огайо, а найнижчий – у популяціях річки Томбігбі. Тоді, як низький рівень гетерозиготності спостерігався у досліджуваних популяціях веслоноса Великого озера та озера Трумен. Таким чином, було визначено популяції з високим ступенем відмінності в генетичній структурі з річок Томбігбі та Мерменто, що обумовлено їх географічною ізоляцією від басейну річки Міссісіпі. Особливості генетичної різноманітності популяцій веслоноса з різних географічних точок Heist і Mustapha пояснювали явищем історично високого рівня потоку генів між популяціями, які за останні роки стали ізольованими в результаті антропогенного впливу [24].

Оцінку генетичної різноманітності чотирьох популяцій веслоноса з географічно віддалених великих річок Північної Америки (Огайо, Алабама, Ред-Рівер та Йеллоустоун (Міссурі)) із застосуванням восьми динуклеотидних мікросателітних ДНК-маркерів (табл. 3) здійснював Zheng зі співавторами [28].

3. Динуклеотидні мікросателітні ДНК-маркери для генетичної ідентифікації веслоноса (*Polyodon spathula*) [28]

Назва локуса	Нуклеотидна послідовність праймерів (5' → 3')	Розмір (п.н.)

<i>Psp D102</i>	F: CAGCAACACTAAAGGAAACTTG R: TGGGAAC TCACTATTATCAAAC	280–352
<i>Psp D111</i>	F: GCTTGTGCCATTCTGTCTAC R: TTGCTGTCTTTATCAAACCAG	192–260
<i>Psp B105</i>	F: GCAAAGTCACAAAATGGTCAG R:GTTTCCTGTAGTCACCCTCCAACTC	189–225
<i>Psp D9</i>	F: CATTATCGCTGCTCTCAATATC R: AGCTTAGTTCTGGGTTTAGACC	121–161
<i>Psp D8</i>	F: ATGGGCTCTACACAGTGATTC R: AAACCCTCACCAAGTAAATTC	181–277
<i>Psp C6</i>	F: CCGAGTGTGTGTGTTTCTTTTG R: AAGTTGCTGCCTTTTGTCTTC	182–194
<i>Psp H26</i>	F: TCGGTGTTTGTGTGTGTGTATGC R: GTTTGGTTCCAGTTTCGCTCATCC	130–162
<i>Psp C10</i>	F: AAGGGGCTAATGAGCAATG R: AAGTGGGGGTGCTGAAAG	219–223

Результати досліджень (табл. 4) показали генетичну унікальність популяції веслоноса з річки Алабама.

4. Генетичний поліморфізм природних популяцій веслоноса з чотирьох географічно віддалених річок Північної Америки [28]

Популяції \ Параметри	Кількість алелів	Кількість видоспецифічних алелів	H_o	H_e
р. Огайо (n-21)	7.00 ± 1.27	0.50 ± 0.27	0.673 ± 0.066	0.691 ± 0.069
р. Алабама (n-30)	5.88 ± 1.03	0.63 ± 0.38	0.585 ± 0.087	0.591 ± 0.093
Ред-Рівер (n-24)	7.75 ± 1.45	0.38 ± 0.18	0.648 ± 0.082	0.676 ± 0.091
р.Йеллоустоун (Міссурі) (n-29)	7.63 ± 1.16	0.75 ± 0.25	0.711 ± 0.115	0.7173± 0.085

Подібні результати раніше були отримані Carlson, 1982 під час оцінки білкового поліморфізму веслоноса, аналізу мітохондріальної ДНК Epifanio та ін. (1996) та за рахунок застосування мікросателітних ДНК-маркерів Heist та Mustapha (2008). У кожній із досліджуваних груп популяцій було ідентифіковано видоспецифічні алелі, проте у популяції з річки Алабама спостерігали їх найвищу частоту [28].

На відміну від висновків Heist і Mustapha (2008), відносно низькі рівні генетичної різноманітності були виявлені між популяціями річок Огайо, Ред-Рівер та Міссурі. Проте, на основі оцінки алелофонду в межах кожної групи

популяцій з цих річок спостерігали вищий рівень генетичної диференціації у порівнянні з річкою Алабама. Генетична відмінність та низька кількість ідентифікованих алелей популяції веслоноса з річки Алабама пов'язана з тривалою репродуктивною ізоляцією цього виду риб від басейну річки Міссісіпі в результаті гідробудівництва [28].

Таким чином, за теперішніх умов збільшення антропогенного тиску на природні запаси веслоноса генетичний моніторинг матиме вагоме значення для успішного збереження та управління природними генетичними ресурсами даного виду риб. Важливим аспектом управління генетичним різноманіттям веслоноса є збереження унікальних алелів, які можуть бути втрачені в результаті репродуктивної ізоляції та негативного впливу близькоспорідненого схрещування. Варто відмітити, що зменшення тиску на природні популяції веслоноса може бути досягнуто за рахунок зростання ролі аквакультури даного виду, яка повинна бути спрямована на нарощування виробництва цінної рибної продукції та відтворення природних запасів веслоноса [1].

Генетична структура штучних популяцій веслоноса.

Веслоніс – цінний об'єкт вітчизняної та світової аквакультури. Так, у США роботи зі штучного відтворення почали проводитися з другої половини ХХ століття з використанням плідників, виловлених з природних водойм та водосховищ. У Східній Європі рибогосподарське освоєння веслоноса розпочалося з 1974 року, коли іхтіологічний матеріал був вперше завезений зі США до колишнього СРСР [9]. Згодом, роботи зі штучного відтворення веслоноса були успішно проведені у Росії, Молдові, Румунії, Німеччині, Польщі та в інших країнах. В Україні потомство веслоноса вперше було отримано у 2001 – 2002 рр. від плідників у віці 10 років на базі рибницького господарства «Гірський Тікіч» (ПАТ «Черкасирибгосп», Черкаська обл.). Проте масштаби проведення робіт зі штучного відтворення веслоноса в умовах європейських рибних господарств обмежувалися малочисельністю ремонтно-маточних стад. Тому, необхідним виявилось питання всебічної оцінки наявного

вихідного племінного фонду веслоноса, зокрема шляхом вивчення генетичної структури його штучних популяцій [1].

Порівняльні дослідження поліморфізму мікросателітних ДНК-маркерів (Psp18, Psp20, Psp21, Psp26, Psp28, Psp29, Psp32) та генетичної різноманітності популяцій веслоноса, вирощених в умовах польських рибницьких господарств та українського господарства «Гірський Тікіч», як потенційного джерела генетичного збагачення запасів веслоноса для польської популяції, було здійснене D. Kaczmarczyk, M. Luczynski та P. Brzuzan (2012). Отримані дані внутрішньовидового генетичного поліморфізму були співставлені з відповідними значеннями, які спостерігалися у популяціях веслоноса з природного ареалу мешкання (табл. 4) [27].

За результатами проведених досліджень з використанням вищевказаних мікросателітних ДНК-маркерів було виявлено різні рівні поліморфізму між природними та штучними популяціями. Число ідентифікованих алелів у кожному локусі та їх частота були значно вищими у природній популяції веслоноса з річки Міссісіпі у порівнянні з українськими та польськими маточними стадами. Згідно порівняльного аналізу алелофонду природних та штучних популяцій веслоноса, було виявлено відсутність деяких алелів у досліджуваних штучних популяціях. Kaczmarczyk зі співавторами (2012) було висунуто припущення, що такі результати вказують на зниження генетичної різноманітності у польських та українських популяціях веслоноса.

Проте, спостережувана та очікувана гетерозиготність штучних популяцій були близькими до значень популяції річки Міссісіпі, які було визначено Heist (2008). Генетичні варіації та генетичні відстані для порівнюваних маточних стад між польськими рибницькими господарствами вказували на високу генетичну подібність, що свідчило про їх спільне походження.

4. Порівняльні дослідження поліморфізму мікросателітних ДНК-маркерів польських та українських популяцій веслоноса з природною популяцією даного виду (р. Міссісіпі) [27]

Назва	«Погорже» (Польща, n = 24)			«Вазозже» (Польща, n = 29)			«Гірський Тікіч» (Україна, n = 47)			р. Міссісіпі (США, n = 28) [Heist и др., 2002]		
	Кількість алелів	H _o	H _e	Кількість алелів	H _o	H _e	Кількість алелів	H _o	H _e	Кількість алелів	H _o	H _e
Psp18	3	0.17	0.16	3	0.21	0.38	3	0.90	0.80	6	-	-
Psp20	2	0.46	0.47	2	0.76	0.49	3	0.72	0.54	4	0.71	0.56
Psp21	4	0.62	0.57	4	0.69	0.55	4	0.40	0.40	7	0.71	0.72
Psp26	5	0.83	0.72	9	0.79	0.72	8	0.70	0.75	11	0.82	0.82
Psp28	5	0.96	0.77	6	0.97	0.87	7	0.94	0.74	14	0.93	0.89
Psp29	4	0.71	0.47	4	0.62	0.44	4	0.66	0.50	4	-	-
Psp32	2	0.29	0.25	2	0.21	0.19	1	-	-	3	0.21	0.20
Всього	25	-	-	30	-	-	30	-	-	49	-	-
Середнє	-	0,58	0,49	-	0,61	0,52	-	0,72	0,61	-	0,68	0,64

Значні генетичні дистанції спостерігалися між польськими та українськими маточними стадами веслоноса, що, на думку авторів, вказувало на різне походження батьківських особин або виникнення змін генофонду популяцій в результаті тривалої практики штучного відтворення та вирощування даного виду. Згідно результатів проведених досліджень, європейським рибницьким господарствам запропоновано здійснювати генетичне збагачення племінних ресурсів веслоноса, шляхом обміну іхтіологічним матеріалом або статевими продуктами, з метою збереження генетичного різноманіття даного виду риб в умовах штучного розведення [26, 27].

Висновки

Аналіз літературних даних свідчить про важливість досліджень генетичної структури веслоноса для відтворення і збереження його генофонду, ефективного культивування та підвищення обсягів осетрової продукції як

альтернативної заміни традиційних видів осетрових риб. Одним із основних завдань успішної організації робіт із відтворення веслоноса в умовах вітчизняних рибницьких господарств є нарощування чисельності та підвищення якості генетичного матеріалу його ремонтно-маточних стад.

Нині, у дослідженнях генетичної структури веслоноса в умовах сучасної аквакультури існує тенденція до виявлення низького рівня генетичного різноманіття штучних популяцій, що пояснюється формуванням племінних стад з обмеженої кількості завезеного зі США іхтіологічного матеріалу.

На сучасному етапі розвитку молекулярно-генетичних досліджень для оцінки генетичної мінливості осетроподібних видів широко застосовують нові високополіморфні мікросателітні ДНК-маркери, які є унікальним інструментом контролю ефективності відтворення та збереження генетичного різноманіття популяцій веслоноса.

Вивчення та моніторинг генетичних процесів у веслоноса, як і в усіх осетроподібних, має ряд характерних особливостей, що пов'язано з поліплоїдним походженням даних видів риб. Тому, на даний час дослідники активно ведуть пошуки ядерних маркерів з диплоїдним характером успадкування, з метою підвищення достовірності статистичної обробки результатів мікросателітного аналізу осетроподібних риб [10].

Розробка і впровадження поліморфних генетичних маркерів для вивчення та оцінки генетико-популяційних особливостей природних популяцій веслоноса була започаткована колективом вчених на чолі із Heist (2002, 2008). В результаті було розроблено вісім загальнозживаних мікросателітних ДНК-маркерів, нуклеотидні послідовності яких зберігаються у міжнародному генетичному банку даних GenBank. На підставі мікросателітного аналізу з використанням цих ДНК-маркерів було здійснено оцінку та порівняння генетичної структури природних та штучних популяцій веслоноса, вирощених в умовах польських та українських рибницьких господарств. Формування особливостей та розбіжностей генетичного біорізноманіття природних популяцій веслоноса з різних географічно віддалених точок пояснюється

ізоляцією таких популяцій в результаті штучного зарегулювання стоків річок, які забезпечували природний обмін генами за рахунок вільного схрещування. Згідно результатів порівняльних досліджень внутрішньовидового генетичного поліморфізму природних та штучних популяцій веслоноса було виявлено відсутність деяких алелів, які були ідентифіковані у природних популяціях, що вказує на зниження генетичного біорізноманіття веслоноса в результаті тривалої практики штучного розведення [28].

Таким чином, всебічний моніторинг генетичної складової веслоноса з використанням мікросателітних ДНК-маркерів має вагоме значення та перспективи для оптимізації збереження та відтворення популяцій у природних та штучних водоймах. Важливим питанням підтримки біорізноманіття даного виду є збереження унікальних алелів, які можуть бути втрачені в результаті репродуктивної ізоляції природних популяцій та негативного впливу близькоспорідненого розведення в штучних умовах. В даному аспекті молекулярно-генетичні дослідження з використанням мікросателітних ДНК-маркерів дозволять виявляти відмінності та оцінювати статус племінних ресурсів веслоноса, а також забезпечать теоретичну та практичну підтримку відтворення та збереження даного виду риб.

Список літератури

1. Онученко О.В. Основи рибогосподарського освоєння веслоноса *Polyodon spathula* (Walbaum): монографія/ Онученко О.В., Третяк О.М., Кулешов О.В. – К.: Вища освіта, 2003. – 111 с.
2. Costache M, Dudu A and Georgescu S Emil Low Danube Sturgeon Identification Using DNA Markers, *Analysis of Genetic Variation in Animals*, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.). –2012. – 243-268 p.
3. Третяк О. М. Рибницько-біологічні основи формування та експлуатації племінних стад веслоноса (*Polyodon Spathula*, Walbaum) в умовах інтродукції / О. М. Третяк/ Рибогосподарська наука України. – 2009. – №3. – С. 4-20.
4. Третяк О. М. Система науково обґрунтованого розвитку аквакультури веслоноса в Україні/ О. М. Третяк // Рибогосподарська наука України. – 2010. – № 2. – С. 3-25.
5. Третяк, О. М. Аналіз генетичної структури груп веслоноса за окремими генетико-біохімічними системами / О. М. Третяк, С. І. Тарасюк // Рибогосподарська наука України. – 2011. – № 1. – С.50-57.

6. Тарасюк С. І. Молекулярно-генетичні дослідження в рибництві : монографія / С. І. Тарасюк, І. І. Грициняк. – К.: Аграрна наука, 2013. – 312 с.
7. Mims, S.D., R.J. Onders, B. Tim Parrott, and J. Stickney.. Caviar from Paddlefish Grown in Water Supply Lakes. A quarterly publication of the Kentucky Rural Water Association, Bowling Green, KY. Waterproof. – 2006. – 8 (4). –P. 12-13.
8. Катасонов В. Я., Селекция рыб с основами генетики / В. Я. Катасонов, Б. И. Гомельский. – М.: Агропромиздат, 1991. – 321с.
9. Третяк О. М. Використання ДНК-маркерів у дослідженнях генетичної структури племінного матеріалу веслоноса (*Polyodon spathula* (Walb.)) / О. М. Третяк, І. І. Грициняк, С. І. Тарасюк // Рибогосподарська наука України. – 2012. – № 4. – С.117-120.
10. Тимошкина Н. Н. Молекулярно-генетические маркеры в исследовании внутри-и межвидового полиморфизма осетровых рыб (*Acipenseriformes*) / Н. Н. Тимошкина, Д. И. Водолажский, А. В. Усатов // Экологическая генетика. – 2010.–Т.8. – №1. – С. 12-24.
11. Vasil'ev V. P., 2009. Mechanisms of Polyploid Evolution in Fish: Polyploidy in Sturgeons // Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons / Eds. R. Carmona et al.: Springer Science + Business Media B. – Vol. 29.– P. 97–117.
12. Ludwig, A. Genome duplication events and functional reduction of ploidy levels in sturgeon (*Acipenser*, *Huso*, and *Scaphirhynchus*) / A. Ludwig, N.M. Belfiore, C. Pitra, V. Svirsky and I. Jenneckens // Genetics. – 2001. –158. – 1203-1215.
13. Dingerkus G. Karyotypic analysis and evidence of tetraploidy in the North American paddlefish, *Polyodon spathula*/ G. Dingerkus, W.M. Howell // Science. – 1976. – Vol. 194. – P. 842–844.
14. Rajkov J. Evolution of Polyploidy and Functional Diploidization in Sturgeons: Microsatellite Analysis in 10 Sturgeon Species/ J. Rajkov, Z. Shao, and P. Berrebi // The Journal of heredity. – 2014. – 105(4). – P . 521–531
15. Marshall T.C.Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations / T.C. Marshall[et al] // Mol.ecol. – 1998. – P. 639-655.
16. Kalinowski S.T.. HP-RARE 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic diversity. Molecular Ecology Notes. – 2005. – 5 (1). – 187–189.
17. Devlin R H, Nagahama Y Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences / R H Devlin, Y Nagahama // Aquaculture. – 2002. – С. 191–364.
18. Mims, S.D., Shelton, W.L., Linhart, O., Wang, C.. Induced gynogenesis of paddlefish *Polyodon spathula* / S.D. Mims, W.L. Shelton, O.Linhart, C. Wang, //Journal of the World Aquaculture Society – 1997. – 28. – P. 334-343.
19. Askari G. Application of molecular markers in fisheries and aquaculture/ G. Askari, A Shabani, H Kolangi Miandare // Scientific Journal of Animal Science. – 2013. – 2 (4). – P. 82-88.

20. Zou Y. C. Induction of meiotic gynogenesis in paddlefish (*Polyodon spathula*) and its confirmation using microsatellite markers // Y. C. Zou, Q. W. Wei, G. B. Pan // Journal of Applied Ichthyology. – 2011. – Vol. 27. – Issue 2. – P. 505–509.

21. Shelton W.L., Mims, S.D., Evidence for female heterogametic sex determination in paddlefish *Polyodon spathula* based on gynogenesis // Aquaculture.– 2012. – P. 356-357 (116-118).

22. Dunham Rex A. Aquaculture and fisheries biotechnology: genetic approaches / Rex A. Dunham. – 2004. – 372 p.

23. Малишева О. О. Впровадження генетичної паспортизації осетрових в Україні / О. О. Малишева, В. Г. Спиридонов, С. Д. Мельничук // Тваринництво України Національне об'єднання по племінній справі у тваринництві. – 2015. – Вип. 9. – С. 12-15.

24. Heist E.J Genetic Structure in Paddlefish Inferred from DNA Microsatellite Loci / E.J. Heist, A. Mustapha// Transactions of the American Fisheries Society. – 2008. – Vol. 137, Iss. 3. – P. 909–915.

25. Heist, E.J. Microsatellite markers for the paddlefish (*Polyodon spathula*) / E.J. Heist, E.H. Nicholson, J.T. Sipiorski, D.B. Keeney //Conservation Genetics . – 2002. – Vol. 3. – P. 205-207.

26. Kaczmarczyk D. Polymorphism of microsatellite loci – a tool in studying biodiversity of paddlefish aquaculture broodstock / D. Kaczmarczyk, K. Kohlmann, P. Kersten, M. Luczynski // Environmental Biotechnology. – 2007. – 3. – P. 44–48.

27. Kaczmarczyk D. Genetic variation in three paddlefish (*Polyodon spathula* Walbaum) stocks based on microsatellite DNA analysis / D. Kaczmarczyk, M. Luczynski, P. Brzuzan // Czech J. Anim. Sci. – 2012. – № 57 (8). – P. 345-352.

28. Zheng X., Schneider K., Lowe J.D., Gomelsky B., Mims S.D., Bu S.. Genetic structure among four populations of paddlefish, *Polyodon spathula* (Actinopterygii: Acipenseriformes: Polyodontidae), based on disomic microsatellite markers / X. Zheng, K. Schneider, J.D. Lowe, B. Gomelsky, S.D. Mims, S Bu // Acta Ichthyol. Piscat. – 2014. – 44 (3). – P. 213–219.

References

1. Costache M, Dudu, A and Georgescu, S Emil (2012). Low Danube Sturgeon Identification Using DNA Markers, Analysis of Genetic Variation in Animals, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), 243-268 p. doi: 10.5772/34889.

2. Tretiak O.M. (2009). Rybnytsko-biologichni osnovy formuvannya ta ekspluatatsii plemynnykh stad veslonosa (*Polyodon Spathula*, Walbaum) v umovakh introduktsii [Fishery and biological basis for the formation and operation of paddlefish (*Polyodon Spathula*, Walbaum) breeding stocks in the conditions of introduction]. Rybohospodarska nauka Ukrainy (3), 4-20.

3. Tretiak O.M. 2010 Systema naukovo obhruntovanoho rozvytku akvakultury veslonosa v Ukraini [The system of science-based aquaculture paddlefish in Ukraine]. Rybohospodarska nauka Ukrainy (2), 3–25.

4. Tretiak, O. M., Tarasiuk S. I. (2011) Analiz henetychnoi struktury hrup veslonosa za okremymy henetyko-biokhimichnymy systemamy [Analysis of the

genetic structure of paddlefish groups for certain genetic and biochemical systems]. Rybohospodarska nauka Ukrainy (1), 50-57.

5. Tarasiuk S. I., Hrytsyniak I. I. (2013) Molekuliarno-henetychni doslidzhennia v rybnytstvi [Molecular genetic studies in fish culture] : monohrafiia. Ahrarna nauka, 312.

6. Onuchenko O.V., Tretiak O.M., Kuleshov O.V. (2003) Osnovy rybohospodarskoho osvoiennia veslonosa Polyodon spathula (Walbaum): monohrafiia [Fundamentals paddlefish (*Polyodon spathula* (Walbaum)) fisheries development]. Vyshcha osvita, 111.

7. Mims, S.D., R.J. Onders, B. Tim Parrott, and J. Stickney (2006). Caviar from Paddlefish Grown in Water Supply Lakes. Waterproof 8 (4):12-13. A quarterly publication of the Kentucky Rural Water Association, Bowling Green, KY.

8. Katasonov V. Ia. (1991) Seleksyia ryb s osnovamy henetyky [Selective breeding of fish with the basics of genetics]. Ahropromyzdat, 321.

9. Tretiak O.M., Hrytsyniak I.I., Tarasiuk S.I. (2012). Vykorystannia DNK-markeriv u doslidzhenniakh henetychnoi struktury pleminnoho materialu veslonosa (*Polyodon spathula* (Walb.)) [Using DNA markers to study the genetic structure of breeding material of paddlefish (*Polyodon spathula* (Walb.))]. Rybohospodarska nauka Ukrainy (4), 117-120.

10. Tymoshkyna N.N. Vodolazhskyy D.Y., Usatov A.V. (2010) Molekulyarno-henetycheskye markery v yssledovanny vnutyry-y mezhvydovoho polymorfyzma osetrovnykh ryb (Acipenseriformes) [Molecular genetic markers in the study of intra- and interspecific polymorphism of sturgeons (Acipenseriformes)]. Экологическая генетика, V.8 (1), 12–24.

11. Vasil'ev, V. P. (2009). Mechanisms of Polyploid Evolution in Fish: Polyploidy in Sturgeons // Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons / Eds. R. Carmona et al.: Springer Science + Business Media B. Vol. 29, 97–117.

12. Ludwig, A., Belfiore, N. M., Pitra, C., Svirsky, V., and Jenneckens, I. (2001). Genome duplication events and functional reduction of ploidy levels in sturgeon (*Acipenser*, *Huso*, and *Scaphirhynchus*). Genetics 158: 1203-1215.

13. Dingerkus, G., Howell, W.M. (1976). Karyotypic analysis and evidence of tetraploidy in the North American paddlefish, *Polyodon spathula*/ Dingerkus, G., // Science. Vol. 194, 842–844.

14. Rajkov, J., Shao, Z. and Berrebi, P. (2014). Evolution of Polyploidy and Functional Diploidization in Sturgeons: Microsatellite Analysis in 10 Sturgeon Species. The Journal of heredity, vol. 105(4), 521–531.

15. Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L. E., Pemberton J. M. (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Mol.ecol. 7(5), 639-655.

16. Kalinowski S.T. (2005). HP-RARE 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic diversity. Molecular Ecology Notes 5 (1): 187–189.

17. Devlin, R. H, Nagahama, Y. (2002) Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture, 191–364.

18. Mims, S.D., Shelton, W.L., Linhart, O., Wang, C. (1997). Induced gynogenesis of paddlefish *Polyodon spathula*. Journal of the World Aquaculture Society 28, 334-343.

19. Askari, G., Shabani, A., Kolangi Miandare, H (2013) Application of molecular markers in fisheries and aquaculture. Scientific Journal of Animal Science. 2 (4), 82-88.

20. Zou, Y. C., Wei, Q. W., Pan, G. B. (2011) Induction of meiotic gynogenesis in paddlefish (*Polyodon spathula*) and its confirmation using microsatellite markers // Y. C. Zou, // Journal of Applied Ichthyology, Vol. 27(2), P. 505–509.

21. Shelton, W.L., Mims, S.D. (2012) Evidence for female heterogametic sex determination in paddlefish *Polyodon spathula* based on gynogenesis. Aquaculture., 356-357: 116-118.

22. Dunham, Rex A. (2004) Aquaculture and fisheries biotechnology: genetic approaches, 372 p.

23. Malysheva, O. O., Spyrydonov, V. H., Melnychuk, S. D. (2015) Vprovadzhennia henetychnoi pasportyzatsii osetrovykh v Ukraini [The introduction of genetic certification sturgeon in Ukraine]. Tvarynnytstvo Ukrainy Natsionalne obiednannia po pleminnii spravi u tvarynnytstvi (9), 12-15.

24. Heist, E.J, A. Mustapha (2008) Rangewide Genetic Structure in Paddlefish Inferred from DNA Microsatellite Loci. Transactions of the American Fisheries Society. Vol. 137 (3), P. 909–915.

25. Heist, E.J. Nicholson, E.H., Sipiorski, J.T., Keeney D.B. (2002) Microsatellite markers for the paddlefish (*Polyodon spathula*). Conservation Genetics. Vol. 3, 205-207.

26. Kaczmarczyk, D., Kohlmann, K., Kersten, P., Luczynski, M. (2007): Polymorphism of microsatellite loci – a tool in studying biodiversity of paddlefish aquaculture broodstock. Environmental Biotechnology. (3), 44–48.

27. Kaczmarczyk, D., Luczynski, M., Brzuzan, P. (2012) Genetic variation in three paddlefish (*Polyodon spathula* Walbaum) stocks based on microsatellite DNA analysis. Czech J. Anim. Sci. 57 (8), 345-352.

28. Zheng, X., Schneider, K., Lowe, J. D., Gomelsky, B., Mims, S. D., Bu, S. (2014). Genetic structure among four populations of paddlefish, *Polyodon spathula* (Actinopterygii: Acipenseriformes: Polyodontidae), based on disomic microsatellite markers. Acta Ichthyol. Piscat. 44 (3): 213–219.

**СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ
ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ВЕСЛОНОСА
(POLYODON SPATHULA)
(ОБЗОР)**

К. Н. Курта, О. А. Малышева, В. Г. Спиридонов

Аннотация. В обзоре рассмотрено состояние и перспективы современных способов исследований генетической структуры веслоноса (*Polyodon spathula*, Walbaum, 1792). Представлена характеристика организации структуры генома его популяций, показаны особенности генетики

определения пола у веслоноса. Обобщены результаты использования новейших методов мониторинга генетического биоразнообразия данного объекта. Рассмотрены наиболее широко используемые микросателлитные ДНК-маркеры и преимущества их применения для оценки генетической изменчивости веслоноса. Приведены и проанализированы результаты предыдущих исследований популяционно-генетических параметров природных и искусственных популяций данного вида с применением ДНК-маркеров. Определено, что на современном этапе развития молекулярно-генетических исследований для контроля эффективности воспроизводства и сохранения популяций веслоноса применяют следующие микросателлитные ДНК-маркеры: Psp12, Psp18, Psp20, Psp21, Psp26, Psp28, Psp29 и Psp32. В результате использования предложенных ДНК-маркеров можно оценить внутривидовой генетический полиморфизм, осуществить паспортизацию ремонтно-маточных стад и дальнейшее формирование родительских пар производителей по альтернативным генотипам с целью повышения качества генетического материала племенных ресурсов веслоноса для контроля эффективности воспроизводства в условиях отечественных рыбоводных хозяйств.

Ключевые слова: веслонос, микросателлитные ДНК-маркеры, генотип, аллели, генетическая структура, генетическое биоразнообразие, полиморфизм, аквакультура

CONTEMPORARY STATE AND PROSPECTS OF RESEARCH OF PADDLEFISH (*POLYODON SPATHULA*) GENETIC STRUCTURE (REVIEW)

K. Kurta, O. Malysheva, V. Spyrydonov

Abstract. *The contemporary state and prospects of modern methods of research of the genetic paddlefish (*Polyodon spathula*, Walbaum, 1792) structure are reviewed. The characteristic of organization of structure of its genome populations particular properties of genetic of sex determination in paddlefish are presented and observed in the article. The results of using modern methods of monitoring of genetic biodiversity of this object are generalized. The most commonly used microsatellite DNA-markers and profits of using it for the evaluating genetic variation of paddlefish are considered. The analysis of previous studies of population genetic data of natural and artificial populations of this species using DNA-markers is quoted. According to current stage of development of molecular genetic studies it was determined that for making monitoring of the efficiency of conservation and reproduction of paddlefish populations the following microsatellite DNA markers are used: Psp12, Psp18, Psp20, Psp21, Psp26, Psp28, Psp29 and Psp32. In the result of using suggested DNA-markers intraspecific genetic polymorphism can be evaluated. As a consequence, passportisation of paddlefish broodstocks and further formation of pairs for breeding with alternative genotypes can be made for the main target of increasing quality of paddlefish stocking material for monitoring the efficiency of reproduction of this species in fish farms.*

Keywords: *Paddlefish, microsatellite DNA-markers, genotype, alleles, genetic structure, genetic biodiversity, polymorphism, aquaculture*