

doi.org/10.31043/2410-2733-2023-2-5-13

УДК 639.3.05: 575-115

В. И. Никипелов¹, Н. В. Бардуков¹, В. Р. Харзинова¹, Ю. Н. Грозеску², Н. А. Зиновьева¹

Характеристика микросателлитных локусов и их полиморфизма у аквакультурной стерляди (*Acipenser ruthenus*)

Аннотация.

Цель: сравнительная характеристика микросателлитных локусов стерляди (*Acipenser ruthenus*), описанных в научной литературе, и выявление наиболее перспективных из них.

Материалы и методы. Электронные библиотеки и базы данных: <https://elibrary.ru/>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Результаты. Проведён поиск и анализ научных публикаций, посвящённых полиморфизму STR-локусов у стерляди. В научной литературе найдено описание 45-ти микросателлитных маркеров, апробированных для тестирования стерляди. Проведено сравнение их полиморфизма.

Заключение. Анализ литературных данных позволил выявить 45 STR-маркеров, апробированных для работы со стерлядью. Проведено сравнение ключевых характеристик полиморфизма этих локусов, среди них определены консервативные и полиморфные.

Ключевые слова: стерлядь; аквакультура; STR-маркеры; полиморфизм; SNP-маркеры; микросателлиты; инбридинг; генетическое разнообразие.

Авторы:

Никипелов Владислав Игоревич — аспирант; e-mail: vladnikipelovvij@mail.ru;

Бардуков Николай Владимирович — научный сотрудник bardukv-nikolajj@mail.ru;

Харзинова Вероника Руслановна — кандидат биологических наук, e-mail: veronika0784@mail.ru;

Грозеску Юлия Николаевна — доктор сельскохозяйственных наук, e-mail: grozesku@yandex.ru;

Зиновьева Наталия Анатольевна — доктор биологических наук, академик РАН, e-mail: n_zinovieva@mail.ru

¹ ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, 142132, Российская Федерация, Московская область, Городской округ Подольск, п. Дубровицы 60.

² Астраханский Государственный Технический Университет, 414056, Российская Федерация, Астраханская обл., г.о. город Астрахань, г. Астрахань, ул. Татищева, стр. 16/1

Введение. Осетровые — уникальные реликтовые рыбы. За десятки миллионов лет их внешний вид и строение тела не были подвергнуты серьезным изменениям. Из-за антропогенного воздействия популяции осетровых резко сократились, и многие виды в настоящее время занесены в красную книгу. Поддержание популяций осетровых на сегодняшний день почти целиком зависит от искусственного воспроизводства и выпуска молоди на осетровых рыбохозяйственных предприятиях [1]. В современных условиях аквакультура осетровых рыб способствует решению важнейших задач — восстановлению природных ресурсов и сохранению генофондов этих видов рыб, с одной стороны, и насыщению потребительского рынка

ценной деликатесной продукцией, с другой [2].

Как уже показано на практике селекции в животноводстве, для проведения успешной племенной работы информация только по фенотипическим характеристикам особи является недостаточной. В этой связи использование генетических технологий в аквакультуре является необходимым условием повышения эффективности работы отрасли. Внедрение генетических технологий в селекционную практику позволит значительно улучшить качество племенного материала осетровых видов рыб.

Известно, что в аквакультуре генофонд маточных стад может характеризоваться высоким уровнем

нем инбридинга. Генетические исследования рыб показывают, что небольшие популяции-основатели могут быстро терять редкие аллели [3]. Обычно — это следствие неправильных методов разведения, использования только нескольких особей с отчетливыми характеристиками, выбранными для конкретной цели, например, производства тысяч потомков [4]. По мнению автора, данный метод провоцирует высокий риск возникновения эффекта «бутылочного горлышка» и инбридинга [4]. Поэтому в осетроводстве существует необходимость в наличии хорошо разработанных систем оценки генетического разнообразия и индивидуальной идентификации особей.

Цель исследований — сравнительная характеристика микросателлитных локусов стерляди (*Acipenser ruthenus*), описанных в научной литературе, и выявление наиболее перспективных из них.

Результаты и обсуждение.

Краткий обзор молекулярно-генетических маркеров, разработанных для стерляди.

Биохимические маркеры. Одним из самых первых разработанных методов определения генетического полиморфизма считаются биохимические маркеры. Основная идея этого метода заключается в том, что макромолекулы белка подвергаются фракционной перегонке в различных гелях-носителях на электрофорезе. Из-за различий электростатических зарядов и молекулярному весу можно увидеть полиморфизм белковых макромолекул. С помощью этого метода были проведены первые работы по определению полиморфизма некоторых видов осетровых, выполненные на образцах крови рыб [5].

Основным недостатком биохимических маркеров является низкая разрешающая способность. Среди методических трудностей можно отметить недостаточную технологичность и плохую воспроизводимость. Для эффективной работы требуется высококачественный генетический материал, также на результаты сильно влияет степень деградации биологического образца и вид ткани [6].

Митохондриальные маркеры. С конца 90-х годов XX века активное распространение получило секвенирование участков митохондриальной ДНК для видовой, популяционной и даже индивидуальной идентификации. Для анализа обычно используют некодирующий контрольный регион мтДНК (Д-петля), предрасположенный к накоплению мутаций [7]. Митохондриальная ДНК содержится в митохондриях, число которых в каждой клетке может достигать многих десятков и сотен копий [8], имеет относительно не-

большую длину (меньше 20000 п.н.) и удобна для секвенирования [9].

В изучении генетики осетровых рыб мтДНК используется как хороший филогенетический маркер. Большим плюсом работы с митохондриальной ДНК является то, что под конкретную исследовательскую задачу можно выбрать локусы с разным уровнем полиморфизма — d-loop, Cyt-b, COXI [10].

Митохондриальные гены не подчиняются законам Менделя и наследуются у большинства организмов, размножающихся половым путем, только по материнской линии и не подвергаются рекомбинации. Анализ мтДНК дает возможность идентифицировать определенный матрилинейный ряд [11].

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) маркеры. Метод SNP позволяет провести анализ аллельных вариантов какого-либо локуса ДНК, отличающихся на одну нуклеотидную замену. Преимущество SNP-маркеров заключается в технологичности процесса и хорошей воспроизводимости. В то же время их недостатком можно считать относительно невысокую информативность — обычно всего 2 аллеля на локус.

Поэтому для получения высокой дифференцирующей способности маркеров данного типа часто необходимо генотипирование сразу нескольких SNP-локусов. Широкое применение получило SNP-генотипирование с помощью ДНК чипов, которые могут включать в себя от одной до нескольких сотен тысяч различных SNP-локусов [12]. В аквакультуре осетроводства для видовой дифференциации применялись SNP-маркеры, разработанные на основе секвенированного участка гена *Cyt-b* [13].

Микросателлитные маркеры (STR — Short Tandem Repeats). STR-маркеры — это высокополиморфные, некодирующие последовательности ДНК, расположенные по всему геному и являющиеся индивидуальной характеристикой организма. Микросателлиты обычно не находятся под давлением отбора и эволюционируют с более высокой по сравнению с генами скоростью, накапливая наследуемые в потомстве дифференциальные признаки [7, 14]. Существует множество работ, где описано огромное разнообразие STR-маркеров для осетровых видов рыб [15-18].

В ряде случаев фланговые последовательности у микросателлитных локусов консервативны. Это позволяет применять разработанные ранее праймеры и протоколы анализа для работы с филогенетически близкими видами, что несомненно является важным преимуществом метода [18-19].

Таблица 1. Микросателлиты, имеющие дисомный характер

Локус	Диапазон длин аллелей	Число аллелей на локус	Последовательности праймеров (5'-3')
1	2	3	4
LS-19	133-142 [11] 138-144 [20] 136 [21]	2 [11] 3 [20] 1 [21]	F: CATCTTAGCCGTCTGTGGTAC R: CAGGTCCCTAATACAATGGC
Aox23	91-166 [11]	11 [11]	F: CAGTGTGCTAGCTTCTCAATA R: GTTAGCTTAACCATGAATTGTG
LS-54	152-168 [11]	3 [11]	F: CTCTAGTCTTTGTTGATTACAG R: CAAAGGACTTGAACTAGG
LS-68	168-232 [11] 174-238 [20]	10 [11] 15 [20]	F: TTATTGCATGGTGTAGCTAAAC R: AGCCCAACACAGACAATATC
LS-34	139-147 [11] 142-154 [21].	3 [11] 4 [21].	F: TACATACCTTCTGCAACG R: GATCCCTTCTGTATTCAAC
LS-57	165-207 [11]	12 [11]	F: GCTTGGTTGCTAGTTTGC R: GTACAGTATGAGACCACAGGC
Aox45	172-217 [11] 121-145 [21]	11 [11] 7 [21]	F: TTGTCCAATAGTTTCCAACGC R: TGTGCTCCTGCTTTTACTGTC
Spl-163	172-220 [20]	10 [20]	F: TGCTTGTAAGTGCCTTACT R: CCACATGCAGTTTGAGCTGC
Aru26	159-163 [20]	3 [20]	F: AAAGCAACAACCTCCACCAGG R: TGCCTTGTCTACTGTCCGAA
AfuG 41	193-261 [20] 197-257 [12]	14 [20] 16 [12]	F: TGACGCACAGTAGTATTATTTATG R: TGATGTTTGCTGAGGCTTTTC
An20	152-178 [20] 141-181 [12]	11 [20] 11 [12]	F: AATAACAATCATTACATGAGGCT R: TGGTCAGTTGTTTTTTATTGAT
Aru12	172-178 [20]	3 [20]	F: AAATAGCATGTTCCCCAGCA R: TCCATTGCACCTTTCTCTCTTT
LS-39	117-132 [20] 111-126 [21]	4 [20] 3 [21]	F: TTCTGAAGTTCACACATTG R: ATGGAGCATTATTGGAAGG
AfuG 51	223-247 [20] 236-276 [12]	5 [20] 9 [12]	F: ATAATAATGAGCGTGCTTTCTGTT R: ATTCCGCTTGCGACTTATTTA
AoxD165	170-206 [20] 164-204 [12]	10 [20] 16 [12]	F: TTTGACAGCTCCTAAGTGATACC R: AAAGCCCTACAACAAATGTAC
Aru13	87-135 [20]	13 [20]	F: TCCACTTTATTCCGTTGTGG R: AGACCGGAATCAAACCCAG
AoxD161	106-130 [20] 102-138 [12]	6 [20] 10 [12]	F: GTTTGAAATGATTGAGAAAATGC R: TGAGACAGACACTCTAGTTAAACAGC
Aru19	159-193 [20]	4 [20]	F: GCGTGGTGTAAGTGAACCCCT R: CTTCAATTGTGCTTGGCTCA
Aru50	123-129 [20]	3 [20]	F: TGGAAACCAAATTAATTCACAAAA R: TGGGATCCTCTGTAGAACAGTCT
Aru18	135-145 [20]	4 [20]	F: CCTGGAACACGTCCAGTTTT R: TGGGTGAATGTTTTGGTGTG
ZHX76	-	4 [18]	F: GCGTTCCTGAGTCAATGCA R: CTGGACAGAGAACAGATAGCGT
ZHX64	-	5 [18]	F: ACCTGCCTTCTTCCAGCTTT R: AATCACGGACAGCCAAGAGG
Z194	-	4 [18]	F: ACAGTGGACAATGTGGCTCA R: CCAGGACCACGGCTAGTTTT
Z217	-	2 [18]	F: TCACGTTGATCAGGGTCTTCA R: TCCACAAACACAAAACATTTGCT

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
LS-19	133-142 [11] 138-144 [20] 136 [21]	2 [11] 3 [20] 1 [21]	F: CATCTTAGCCGTCTGTGGTAC R: CAGGTCCCTAATACAATGGC
Z184	-	4 [18]	F: ACCCTCCCACAGATGCTGTA R: TGATAGTTCAAATTGACGAAGGCT
Z242	-	5 [18]	F: TCGGGGGTAAAATAATGGGAGA R: CTAACCTCGGCCCCAAACCAT
Z250	-	4 [18]	F: GGCCACCACTGTTGATCTGA R: GCCATTCTCCTCCCTGACAC
Z258	-	4 [18]	F: TGTGCTTACTTGCATCTGTTGT R: CGCTCCGCTCTAAGAAGACA
Z268	-	4 [18]	F: GGACATTCTCATTCTCAGCTGC R: ATCACGATCCATGCCTTGCA
Z269	-	4 [18]	F: GCATGTGTCACTGAGATAGTTGC R: TGCTGCAGTTGAGGTCCATT
ZHX70	-	4 [18]	F: GGCATTATAGACCCCTGTCCG R: ACAGCTGGGGAGGAACAGTA
ZHX120	-	6 [18]	F: TCCAGTGACATTTTCAGGGCA R: GCATGGGTGCCACTGAAATA
ZHX85	-	4 [18]	F: TCAACACTATGACCGGTACTGT R: TTAAACGAAAGGCCAGGGG
ZHX62	-	5 [18]	F: CGCTGCATGTACACGTGTAA R: GCTGCGACTTCGAGGTTTCT
Z190	-	4 [18]	F: AGCTACTTTTGTCTTTTGGGTT R: AGGGTGTGAGAAAGAAAGATGGA
Z192	-	4 [18]	F: GGCATTCAAACTCTTTCGTGGA R: GGGGGCCATCCTTATCTCAC
Z199	-	7 [18]	F: GACGTTTGGAGCGTGGAAC R: TGGCATTTACAGCATAAACTAAACCT
Z226	-	7 [18]	F: TTGCAGGTCTCTAGCCTGGT R: GGGGCATACCGTTTGAACCT
Z302	-	6 [18]	F: TCCACACGTACGGCATTTC R: GGTTCCTCCGCTGTAATGCG
Z224	-	5 [18]	F: ATGCATTGCGTTCCCTGAGT R: GGCATTCCATTGCACCACAG
Z236	-	4 [18]	F: TCACTACATCTCCCCTTATTTGAGA R: CCGTTGCGCTACAGAGAAGA
Z238	-	6 [18]	F: CAAAATGGCAGTCGACAGGC R: TGTCAACTTCGTTTGTGCATCC
Z255	-	5 [18]	F: TGGTTTTCTTGTGATCTCGAGA R: GATGAAGGTTCTGGGAGGGC
Z259	-	6 [18]	F: ACGCCACTGGAGGATGTACT R: AGAAACCTGCAGCAACGAGT
Аох27	114 [21].	1 [21].	F: AATAACAATAACGGCAGAACCT R: TGTGTTGCTCAAGACAGTATGA

Полиморфизм микросателлитных локусов способен выявлять очень тонкие популяционные различия. Иллюстрацией этого утверждения, является работа Smith C. с соавт., [20] которые провели анализ STR-локусов некогда единой популяции белого осетра (*A. transmontanus*), но в

настоящее время разделенной из-за строительства плотины. С помощью микросателлитных маркеров была выявлена генетическая дифференциация этих двух новых популяций.

Многие авторы отмечают, что микросателлитные маркеры могут иметь аллели, специфичные

для вида или даже популяций, что позволяет проводить межвидовую, внутривидовую и межпопуляционную дифференциацию. Высокий полиморфизм STR-локусов делает этот тип молекулярно-генетических маркеров наиболее удобным для индивидуальной идентификации особей [14, 21, 22]. Однако существуют и ограничения — необходимо отбирать STR-локусы, которые имеют только дисомный характер наследования [22, 24, 25]. Это необходимо, т.к. подавляющее большинство компьютерных программ (Mega, Genepop, Servus, GenAlEx6), надстройка Microsatellite Toolkit, [26] Microsatellite analyzer (MSA), Arlequin [27], с помощью которых осуществляется статистическая обработка, рассчитаны на данные, полученные при диплоидном наследовании, а стерлядь, как известно, в далеком прошлом пережила процесс удвоения генома. Это до сих пор может сказываться на плоидности некоторых микросателлитных локусов [28].

Сравнение полиморфизма известных микросателлитных локусов. Множество исследователей изучало полиморфизм микросателлитных локусов у популяций осетровых рыб, в том числе и стерляди. Практически все праймеры, разработанные на одном из видов осетровых, подходят для других видов, при этом происходят изменения диапазона и степени полиморфности данного локуса. Например, двадцать пар праймеров, подобранных для русского осетра, были успешно апробированы на 10 различных видах осетровых [29].

Так, в работе, посвященной характеристике уровня полиморфизма стерляди в нижнем Дунае, были использованы 7 STR-маркеров, разработанных для североамериканских видов осетровых. В итоге из них были отобраны четыре высокополиморфных локуса, имевшие дисомный профиль. Авторы показали, что данный метод подходит для получения индивидуального генетического профиля и позволяет оценить биоразнообразие маточного стада стерляди [30].

Klaus K. со своими коллегами среди множества микросателлитных локусов выделил 15 видоспецифичных полиморфных последовательностей и объединил их в 5 мультиплексных ПЦР-панелей.

Каждый локус имел от 3 до 15 аллелей, в среднем — 7,20. Сравнительный анализ полиморфизма аквакультурной и дикой стерляди показал большее генетическое разнообразие у последней [31].

Для наглядного представления результатов их работ по микросателлитным маркерам [30–34] в таблице 1 приведен сравнительный анализ полиморфизма описанных локусов. Сравнив полиморфизм 45-ти микросателлитных маркеров, мы видим, что среднее количество аллелей на локус составляет 6,25, а сами аллели расположены в диапазоне длин от 87 до 276 п.о. (табл.1).

Рассматривая данные, представленные в таблице, можно заметить, что микросателлитные локусы имеют различные диапазоны длин своих аллелей. Теоретически это позволяет комбинировать в одной ПЦР несколько маркеров при соответствии температурных оптимумов их праймеров. А для систем, включающих большое количество локусов — использовать разные флуоресцентные красители. Выполнение анализа с использованием мультиплексных панелей значительно экономит время и снижает трудоёмкость анализа. Так, в работе [32] была описана система из 5-ти локусов (AfuG 41; An20; AoxD165; AoxD161; AfuG 51), а в компании «СИНТОЛ» (Россия) есть разработанная панель для осетровых, состоящая из 7 микросателлитных локусов (Spl173; LS19; AfuG135; AoxD165; AfuG37; AoxD161; AfuG41) [35].

Заключение. Анализ литературных данных показал, что на данный момент разработано и апробировано на стерляди достаточно много микросателлитных маркеров (более 45). Для некоторых из них уже известны характер плоидности, диапазон длин аллелей и количество аллелей на локус. Большинство рассмотренных нами локусов, согласно литературным данным, высокополиморфны и могут быть рекомендованы для внедрения в селекционную работу в аквакультуре со стерлядью с целью индивидуальной идентификации, паспортизации и оценки генетического разнообразия. В свою очередь, локусы, обладающие у стерляди низким полиморфизмом, имеют перспективы для создания тест-систем определения межвидовых гибридов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (Проект № 21-66-00007).

Литература

1. Подушка С. Б. Меристические признаки стерляди *Acipenser ruthenus* / С. Б. Подушка // Осетровое хозяйство. — 2010. — № 4. — С. 26–44.
2. Васильева Л.М. Аквакультура осетровых рыб: проблемы и перспективы: сборник статей Международной научно-практической конференции, 10–12 октября 2017 г., Астрахань: Астраханский государственный университет // Издательский дом «Астраханский университет». 2017. 203 с.

3. Allendorf F. W. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity / F. W. Allendorf // Zoo Biol. — 1986. — Vol. 5. — P. 181-190.
4. Wedekind C. Sexual selection and life-history decisions: implications for supportive breeding and the management of captive populations / C. Wedekind // Conserv. Biol. — 2002. — V. 16. — P. 1204-1211.
5. Галь Э. Электрофорез в разделении биологических макромолекул / Э. Галь, Г. Медеши, Л. Верецкеи. — М.: Мир, 1982. — 448 с.
6. Левонтин Р. С. Генетические основы эволюции / Р. С. Левонтин. — М.: Мир, 1978. — 351 с.
7. Алтухов Ю. П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю. П. Алтухов, Е. А. Салменкова // Генетика. — 2002. — Т. 38. — №9. — С. 1173-1195.
8. Carracedo A. DNA commission of the International society for forensic genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing / A. Carracedo, W. Bar et al. // Forensic Sci. International. — 2000. — V. 110. — P. 79-85.
9. Водолажский Д. И. Гипервариабельность региона D-петли митохондриальной ДНК русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* (*Acipenseriformes*, *Acipenseridae*) / Д. И. Водолажский, И. В. Конриенко, Н. В. Войнова // Вопр. ихтиологии. — 2008. — Т. 48. — С. 266-275.
10. Birstein V. J. Polyphyly of mtDNA lineages in the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*: forensic and evolutionary implications / V. J. Birstein, P. Doukakis, R. DeSalle // Cons. Gen. — 2000. — Vol. 1. — P. 81-88.
11. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях: Учебное пособие. 3-е изд. — М.: ИКЦ «Академкнига». 2003. — 431 с.
12. Vignal A. A review of SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics / A. Vignal, D. Milan et. al. // Genet. Sel. Emol. — 2002. — Vol. 34. — P. 275-305.
13. Rehbein H. Fischartbestimmung von Caviar durch Proteinund DNA-Analyse / H. Rehbein // Info. Fischw. — 1997. — Vol. 44. — P. 27-30.
14. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution / H. Ellegren // Nature Reviews Genetics. — 2004. — V. 5. — P. 435-445.
15. Bork K. Development of new microsatellite primers for green and white sturgeon / K. Bork, A. Drauch et al. // Conserv. Genet. — 2008. — Vol. 9. — P. 973-979.
16. King J. A power analysis of microsatellite-based statistics for inferring past population growth / J. P. King, M. Kimmel, R. Chakraborty // Mol. Biol. and Evol. — 2000. — Vol. 17. — P. 1859-1868.
17. Welsh A. B. Identification of microsatellite loci in lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, and their variability in green sturgeon, *A. medirostris* / A. B. Welsh, M. Blumberg, B. May // Mol. Ecol. Notes. — 2003. — Vol. 3. — P. 47-55.
18. Zane L. Isolation and characterization of microsatellites in the Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) / L. Zane, T. Patarnello, A. Ludwig et al. // Mol. Ecol. Not. — 2002. — Vol. 2. — P. 586-588.
19. May B. Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon: primer sequence homology in *Acipenser* and *Scaphirhynchus* / B. May, C. C. Krueger, H. L. Kincaid // Can. J. Fish. Aquat. Sci. — 1997. — Vol. 54. — P. 1542-1547.
20. Smith C. T. Population genetic analysis of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) in the Fraser River / C. T. Smith, R. J. Nelson, S. Pollard et al. // J. Appl. Ichth. — 2002. — Vol. 18. — P. 307-312.
21. Никитина Т. В. Микросателлитные последовательности ДНК человека: мутационный процесс и эволюция / Т. В. Никитина, С. А. Назаренко // Генетика. — 2004. — Т. 40. — № 10. — С. 1301-1318.
22. 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. VIII. — № 1. — С. 12-24.
23. Ludwig A. Genome duplication events and functional reduction of ploidy levels in sturgeon (*Acipenser*, *Huso* and *Scaphirhynchus*) / A. Ludwig, N. M. Belfiore et al. // Genetics. — 2001. — V. 158. — P. 1203-1215.
24. McQuown E. Characterization and Inheritance of Six Microsatellite Loci in Lake Sturgeon / E. McQuown, G. A. E. Gall, B. May // Transactions of the American Fisheries Society. — 2002. — V. 131(2). — P. 299-307.

25. Pyatskowitz J. D. Inheritance of microsatellite loci in the polyploid lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) / J. D. Pyatskowitz, C. C. Krueger et al. // Genome. — 2001. — V. 44(2). — P. 185-191.
26. Park S. D. E., 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection // Ph.D. thesis University of Dublin.
27. Excoffier L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows / L. Excoffier, H. E. Lischer // Mol. Ecol. Res. — 2001. — V. 10. — P. 564-567.
28. Peng Z. Age and biogeography of major clades in sturgeons and paddlefishes (Pisces: Acipenseriformes) / Z. Peng, A. Ludwig et al. // Mol Phylogenet Evol. — 2007. — Vol. 42. — P. 854-862.
29. Rajkov J. Evolution of polyploidy and diploidization in sturgeons: microsatellite analysis in 10 sturgeon species / J. Rajkov, Z. Shao, P. Berrebi // Journal of Heredity. — 2014. — V. 105(4). — P. 521-531.
30. Andreea D. Microsatellites Variation in Sterlet Sturgeon, *Acipenser Ruthenus* from the Lower Danube / D. Andreea, G. Sergiu-Emil et al. // Animal Science and Biotechnologies. — 2013. — Vol. 46 (1). — P. 90-94.
31. Klaus Kohlmann. New microsatellite multiplex PCR sets for genetic studies of the sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* / Klaus Kohlmann et al. // Environmental Biotechnology. — 2017. — Vol. 13 (1). — P. 11-17.
32. Barmintseva A. E. The use of micro satellite loci for identification of sturgeon species (*Acipenseridae*) and hybrid forms / A. E. Barmintseva, N. S. Myuge // Russ. J. Genet. — 2013. — Vol. 49. — P. 950-961.
33. Hu Y, et al., 2019. Development and characterization of novel cross-species tetranucleotide microsatellite markers for sterlet (*Acipenser ruthenus*) from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) // Chinese Sturgeon Research Institute, China Three Gorges Corporation, Yichang, Hubei, China P. 3-10.
34. Ladislav Pekarik. Current stocking program of the sterlet (*Acipenser ruthenus*, L.) can negatively shape its genetic variability in the Middle Danube / Ladislav Pekarik, Zuzana Ciamporova-Zatovicova, Darina Arendt, Fedor Ciampor // Zoology Lab, Plant Science and Biodiversity Center. — 2019. — Vol. 8. — № 19. — P. 2-8.
35. ИНСТРУКЦИЯ по применению «Набора реагентов для генетического типирования осетров «ГенЭксперт-Осетр»» - URL: https://www.syntol.ru/docs/Инструкции/Инструкция%20ГенЭксперт-Осетр_270422.pdf (дата обращения: 28.06.2023).

Nikipelov V. ¹, Bardukov N. ¹, Kharzinova V. ¹, Grozescu Y. ², Zinovieva N. ¹

Characterization of microsatellite loci and their polymorphism in the aquaculture sterlet (*Acipenser ruthenus*)

Abstract.

Purpose: comparative characterization of sterlet (*Acipenser ruthenus*) microsatellite loci described in the scientific literature and identification of the most promising of them.

Materials and methods. Electronic libraries and databases: <https://elibrary.ru/>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Results. A search and analysis of scientific publications on the polymorphism of STR loci in sterlet was carried out. Descriptions of 45 microsatellite markers tested for testing sterlet have been found in the scientific literature. Their polymorphism is compared.

Conclusion. An analysis of the literature data made it possible to identify 45 STR markers tested for work with sterlet. A comparison was made of the key characteristics of the polymorphism of these loci, among which conservative and polymorphic ones were identified.

Key words: sterlet; aquaculture; STR markers; polymorphism; SNP markers; microsatellites; inbreeding; genetic diversity.

Authors:

Nikipelov V. — postgraduate student; e-mail: vladnikipelovvij@mail.ru;

Bardukov N. — researcher; e-mail: bardukv-nikolajj@mail.ru;

Kharzinova V. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: veronika0784@mail.ru;

Grozesku Y. — Dr. Habil. (Agr. Sci.); e-mail: grozesku@yandex.ru;

Zinovieva N. — Dr. Habil. (Biol. Sci.), Academician of the Russian Academy of Sciences, e-mail: n_zinovieva@mail.ru.

¹ L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry; Dubrovitsy, 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia.

² Astrakhan State Technical University, 414056, Russian Federation, Astrakhan Region, city of Astrakhan, Astrakhan, st. Tatishcheva, pp. 16/1.

References

1. Podushka S. B. Meristic signs of sterlet *acipenser ruthenus* / S. B. Pillow // *Sturgeon*. — 2010. — № 4. — P. 26-44.
2. Vasilieva L. M. Aquatigation of sturgeon fish: problems and prospects: a collection of articles of the International Scientific and Practical Conference, October 10–12, 2017, Astrakhan: Astrakhan State University // Publishing House "Astrakhan University". 2017. 203 p.
3. Allendorf F. W. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity / F. W. Allendorf // *Zoo Biol.* — 1986. — Vol. 5. — P. 181-190.
4. Wedekind C. Sexual selection and life-history decisions: implications for supportive breeding and the management of captive populations / C. Wedekind // *Conserv. Biol.* — 2002. — V. 16. — P. 1204-1211.
5. Gal E. Electrophoresis in the separation of biological macromolecules / E. Gal, G. Medeshi, L. Vertet-skii. — M.: Mir, 1982. — 448 p.
6. Levontin R. S. The genetic foundations of evolution / R. S. Levontin. — M.: Mir, 1978. — 351 p.
7. Altukhov Yu. P. Polymorphism of DNA in population genetics / Yu. P. Altukhov, E. A. Salmenkova // *Genetics*. — 2002. — Vol. 38. — № 9. — P. 1173-1195.
8. Carracedo A. DNA commission of the International society for forensic genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing / A. Carracedo, W. Bar et al. // *Forensic Sci. International*. — 2000. — V. 110. — P. 79-85.
9. Vodolazhsky D. I. Hyumpervariabla of the region of the mitochondrial DNA of the Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (*Acipenseriformes*, *Acipenseridae*) / D. I. Vodolazhsky, I. V. Konrienko, N. V. Voinova // *Vopr. ichthyology*. — 2008. — Vol. 48. — P. 266-275.
10. Birstein V. J. Polyphyly of mtDNA lineages in the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*: forensic and evolutionary implications / V. J. Birstein, P. Doukakis, R. DeSalle // *Cons. Gen.* — 2000. — Vol. 1. — P. 81-88.
11. Altukhov Yu. P. Genetic processes in populations: Textbook. 3rd ed. — M.: ICC "Academician". 2003. 431 p.
12. Vignal A. A review of SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics / A. Vignal, D. Milan et. al. // *Genet. Sel. Emol.* — 2002. — Vol. 34. — P. 275-305.
13. Rehbein H. Fischartbestimmung von Caviar durch Proteinund DNA-Analyse / H. Rehbein // *Info. Fischw.* — 1997. — Vol. 44. — P. 27-30.
14. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution / H. Ellegren // *Nature Reviews Genetics*. — 2004. — V. 5. — P. 435-445.
15. Bork K. Development of new microsatellite primers for green and white sturgeon / K. Bork, A. Drauch et al. // *Conserv. Genet.* — 2008. — Vol. 9. — P. 973-979.
16. King J. A power analysis of microsatellite-based statistics for inferring past population growth / J. P. King, M. Kimmel, R. Chakraborty // *Mol. Biol. and Evol.* — 2000. — Vol. 17. — P. 1859-1868.

17. Welsh A. B. Identification of microsatellite loci in lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, and their variability in green sturgeon, *A. medirostris* / A. B. Welsh, M. Blumberg, B. May // Mol. Ecol. Notes. — 2003. — Vol. 3. — P. 47-55.
18. Zane L. Isolation and characterization of microsatellites in the Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) / L. Zane, T. Patarnello, A. Ludwig et al. // Mol. Ecol. Not. — 2002. — Vol. 2. — P. 586-588.
19. May B. Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon: primer sequence homology in *Acipenser* and *Scaphirhynchus* / B. May, C. C. Krueger, H. L. Kincaid // Can. J. Fish. Aquat. Sci. — 1997. — Vol. 54. — P. 1542-1547.
20. Smith C. T. Population genetic analysis of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) in the Fraser River / C. T. Smith, R. J. Nelson, S. Pollard et al. // J. Appl. Ichth. — 2002. — Vol. 18. — P. 307-312.
21. Nikitina T.V. Microsellytite sequences of human DNA: mutation process and evolution / T. V. Nikitin, S. A. Nazarenko // Genetics. — 2004. — Vol. 40. — № 10. — P. 1301-1318.
22. Timoshkina N. N. The molecular genetic markers in the study of intra- and interspecific polymorphism of sturgeon fish (*Acipenseriformes*) / N. N. Timoshkina, D. I. Vodolazhsky, A. V. Usatov // Environmental Genetics. — 2010. — Vol. VIII. — № 1. — P. 12-24.
23. Ludwig A. Genome duplication events and functional reduction of ploidy levels in sturgeon (*Acipenser*, *Huso* and *Scaphirhynchus*) / A. Ludwig, N. M. Belfiore et al. // Genetics. — 2001. — V. 158. — P. 1203-1215.
24. McQuown E. Characterization and Inheritance of Six Microsatellite Loci in Lake Sturgeon / E. McQuown, G. A. E. Gall, B. May // Transactions of the American Fisheries Society. — 2002. — V. 131(2). — P. 299-307.
25. Pyatskowitz J. D. Inheritance of microsatellite loci in the polyploid lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) / J. D. Pyatskowitz, C. C. Krueger et al. // Genome. — 2001. — V. 44(2). — P. 185-191.
26. Park S. D. E., 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection // Ph.D. thesis University of Dublin.
27. Excoffier L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows / L. Excoffier, H. E. Lischer // Mol. Ecol. Res. — 2001. — V. 10. — P. 564-567.
28. Peng Z. Age and biogeography of major clades in sturgeons and paddlefishes (Pisces: *Acipenseriformes*) / Z. Peng, A. Ludwig et al. // Mol Phylogenet Evol. — 2007. — Vol. 42. — P. 854-862.
29. Rajkov J. Evolution of polyploidy and diploidization in sturgeons: microsatellite analysis in 10 sturgeon species / J. Rajkov, Z. Shao, P. Berrebi // Journal of Heredity. — 2014. — V. 105(4). — P. 521-531.
30. Andreea D. Microsatellites Variation in Sterlet Sturgeon, *Acipenser ruthenus* from the Lower Danube / D. Andreea, G. Sergiu-Emil et al. // Animal Science and Biotechnologies. — 2013. — Vol. 46 (1). — P. 90-94.
31. Klaus Kohlmann. New microsatellite multiplex PCR sets for genetic studies of the sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* / Klaus Kohlmann et al. // Environmental Biotechnology. — 2017. — Vol. 13 (1). — P. 11-17.
32. Barmintseva A. E. The use of micro satellite loci for identification of sturgeon species (*Acipenseridae*) and hybrid forms / A. E. Barmintseva, N. S. Myuge // Russ. J. Genet. — 2013. — Vol. 49. — P. 950-961.
33. Hu Y, et al., 2019. Development and characterization of novel cross-species tetranucleotide microsatellite markers for sterlet (*Acipenser ruthenus*) from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) // Chinese Sturgeon Research Institute, China Three Gorges Corporation, Yichang, Hubei, China P. 3-10.
34. Ladislav Pekarik. Current stocking program of the sterlet (*Acipenser ruthenus*, L.) can negatively shape its genetic variability in the Middle Danube / Ladislav Pekarik, Zuzana Ciamporova-Zatovicova, Darina Arendt, Fedor Ciampor // Zoology Lab, Plant Science and Biodiversity Center. — 2019. — Vol. 8. — № 19. — P. 2-8.
35. Instructions for the use of “set of reagents for genetic typos of sturgeon“ Genexpertster - URL: https://www.syntol.ru/docs/Инструкции/Инструкция%20ГенЭксперт-Осетр_270422.pdf (дата обращения: 28.06.2023)