

УДК [597-115:597.443]:639.371

DOI: <https://doi.org/10.31073/abg.63.14>

АНАЛІЗ СПЕЦИФІКИ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ВЕСЛОНОСА (*POLYODON SPATHULA* (WALBAUM, 1792)) ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ISSR-МАРКЕРІВ

О. Ю. БЕЛІКОВА, А. Е. МАРИУЦА, О. М. ТРЕТЯК

Інститут рибного господарства НААН (Київ, Україна)

<https://orcid.org/0000-0003-1020-7331> – О. Ю. Белікова

<https://orcid.org/0000-0001-5768-2260> – А. Е. Маріуца

<https://orcid.org/0000-0001-9605-9768> – О. М. Третяк

belikova.e.y@gmail.com

Охарактеризовано специфіку генетичної структури веслоноса (*Polyodon spathula*) херсонського стада за ISSR-маркерами (B – (GAG)₆C; C – (AGC)₆G та E – (AGC)₆C). Встановлено, що 87,5% отриманих ампліконів були поліморфними. Проведена оцінка інформативності обраних ISSR-праймерів під час дослідження веслоноса (середні значення становили: PIC = 0,256; PPB = 85,2%; EMR = 8,4; MI = 2,3; R_p = 9,7). Визначено діапазони ампліконів за обраними міжмікросателітними локусами: за маркером B – (GAG)₆C від 215 до 1275 п. н.; за маркерами C – (AGC)₆G та E – (AGC)₆C в межах 125–1265 п. н. та 320–1470 п. н. відповідно. Продемонстровано наявність мономорфних ампліфікованих фрагментів, що зустрічались у всіх досліджених особин обох вікових груп: за маркером C алелі розміром 125, 245 та 395 п. н.; за маркером B – (GAG)₆C – 1085 п. н. Встановлено рівень біорізноманіття за індексом Шеннона I (0,394 ± 0,043 у молодшої та 0,321 ± 0,043 у старшої вікової групи) та рівень гетерозиготності (об'єктивна очікувана гетерозиготність – 0,286 ± 0,034 та 0,231 ± 0,035 відповідно) досліджених груп веслоноса. Проведений аналіз за методом ISSR-PCR дав змогу охарактеризувати специфіку генетичної структури веслоноса та показати вікові відмінності.

Ключові слова: веслоніс (*Polyodon spathula*), популяційна генетика риб, ISSR-PCR, молекулярно-генетичний аналіз, генетичний поліморфізм, структура популяції

ANALYSIS OF THE SPECIFICITY OF THE GENETIC STRUCTURE OF PADDLEFISH (*POLYODON SPATHULA* (WALBAUM, 1792)) USING ISSR MARKERS

O. Y. Bielikova, A. E. Mariutsa, O. M. Tretiak

Institute of Fisheries of NAAS (Kyiv, Ukraine)

The specifics of the genetic structure of the paddlefish (*Polyodon spathula*) of the Kherson stock have been characterized by ISSR markers (B – (GAG)₆C; C – (AGC)₆G and E – (AGC)₆C). It was found that 87.5% of the obtained amplicons were polymorphic. The informativeness of the selected ISSR primers was assessed during the study (mean values were: PIC = 0.256; PPB = 85.2%; EMR = 8.4; MI = 2.3; R_p = 9.7). Amplicon ranges at selected intermicrosatellite loci were determined: for marker B – (GAG)₆C from 215 to 1275 bp; for markers C – (AGC)₆G and E – (AGC)₆C in the range of 125–1265 bp and 320–1470 bp, respectively. Following monomorphic amplicons for the all studied specimens of both age groups were determined: for marker C – allele 125, 245 and 395 bp; for marker B – (GAG)₆C – 1085 bp. The biodiversity level according to the

Shannon I index (0.394 ± 0.043 in the younger and 0.321 ± 0.043 in the older age group) and the level of heterozygosity (objective expected heterozygosity – 0.286 ± 0.034 and 0.231 ± 0.035 , respectively) of the studied groups of paddlefish were determined. The analysis performed by the ISSR-PCR method allowed characterizing the specifics of the genetic structure of the paddlefish and to showing age differences.

Keywords: paddlefish (*Polyodon spathula*), fish population genetics, ISSR-PCR, molecular genetic analysis, genetic polymorphism, population structure

Вступ. Аналіз генетичної структури племінного матеріалу веслоноса, що культивується в умовах аквакультури України, є важливим для підтримання поліморфізму та гетерогенності стад [1, 2]. Генетичний контроль дозволить проводити моніторинг стану стад, підбір найбільш прийнятної вихідної племінної фонду та оптимізувати розведення даного об'єкту. Інтродукція та відтворення веслоноса в українських рибних господарствах має важливе значення для компенсації нестачі цінної продукції від осетрових риб, такої як чорна ікра та делікатесне м'ясо, що була зумовлена різким скороченням чисельності осетрових у природних водоймах України [1]. Відповідно до активного розвитку сфери розведення цінних видів осетроподібних в Україні, в тому числі й веслоноса, розробляються та удосконалюються методи молекулярно-генетичних методів аналізу генетичного потенціалу племінного матеріалу. Наразі в Україні успішно розроблено та відпрацьовано умови для проведення мультиплексної ПЛР із системою з поліморфних мікросателітних маркерів для вивчення генетичної структури веслоноса [3]. Дана розробка дозволяє одночасно вивчати чотири локуси при проведенні аналізу ампліконів на генетичному аналізаторі. Для полілокусного генотипування різних видів також застосовуються ISSR-маркери, до переваг яких можна віднести високу поліморфність, простоту обладнання для проведення аналізу та обробки даних. Раніше було показано на прикладі племінного матеріалу веслоноса з рибного господарства України можливість застосування методу ISSR-PCR для оцінки генетичної структури даного виду [2], однак не охарактеризовано показники ефективності міжмікросателітних маркерів. Цей метод є корисним для визначення генетичного профілю різних видів риб, визначення рівня гетерозиготності племінних стад та проведення філогенетичних досліджень [4].

Метою досліджень було визначити рівень ефективності методу ISSR-PCR для вивчення поліморфізму та виявлення специфічних особливостей генетичної структури веслоноса (*Polyodon spathula*), що вирощується на рибовідтворювальних господарствах України.

Матеріали та методи досліджень. Матеріалом для дослідження були особини веслоноса стада, що культивується на базі державної установи "Виробничо-експериментальний Дніпровський осетровий рибовідтворювальний завод ім. академіка С. Т. Артюшика" (Херсонська обл., Білозерський р-н, селище Дніпровське). Для досліджень було відібрано біологічний матеріал від особин різних вікових груп: молодшої (МВ, 4 роки, n = 13) та старшої групи (СВ, 13–15 років, n = 15). Для досліджень були відібрані зразки крові з хвостової вени за допомогою стерильних шприців із розчином гепарину. Загальна ДНК була виділена за допомогою комерційного набору DNA-Go («BioLabTech LTD», Україна).

ISSR-генотипування генетичної структури веслоноса проведено із застосуванням трьох фрагментів тринуклеотидних мікросателітних локусів, які вже застосовувались для популяційно-генетичних досліджень різних видів риб в Україні (табл. 1) [5–8].

1. ISSR-праймери для аналізу генетичної структури веслоноса, що використовувалися в дослідженні

№ з/п	Умовне позначення	Мотив Повтор	Послідовність (5'-3')	Температура відпалу, °С
1	B	(GAG) ₆ C	5'- GAG GAG GAG GAG GAG GAG C-3'	58
2	C	(AGC) ₆ G	5'- AGC AGC AGC AGC AGC AGC G-3'	58
3	E	(AGC) ₆ C	5'- AGC AGC AGC AGC AGC AGC C-3'	60

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) була проведена на ампліфікаторі «Thermo scientific» thermocycler («Arktik Thermal Cycler», Finland) з використанням набору ThermoScientific DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) за наступних умов: один цикл початкової денатурації ДНК тривав 2 хв. за температури 95°C; наступні 32 цикли: денатурація ДНК за 94°C – 30 с, випалювання праймерів за 58–60°C (табл. 1) – 30 с, синтез ланцюга за 72°C – 2 хв.; фінальна елонгація проходила за 72°C – 10 хв.

Амплікони розділяли методом електрофорезу у 2%-му агарозному гелі. Як маркер молекулярних мас ампліконів було обрано Gene Ruler 1kb DNA Ladder («Thermo Scientific»).

Візуалізацію продуктів ампліфікації проводили із застосуванням барвника бромистого етидію (0,5 мкг/мл гелю) на транслюмінаторі з ультрафіолетовим випромінюванням. Розмір амплікованих фрагментів визначено з використанням програми «TotalLab v.2.01».

Визначення кількості алелів на локус (observed number of alleles, N_a), ефективної кількості алелів на локус (effective number of alleles, N_e), індексу Шеннона (Shannon's Information index, I), гетерозиготності (Nei's gene diversity index, H_e) та процента поліморфних локусів (PPL) проводили з використанням програм «POPGENE», version 1.32 [9] та «GenAlEx», v 6.5 [10].

Для обчислення індексу інформаційного поліморфізму (PIC) було використано онлайн-сервіс «GDdom» [11]. Визначення інформативності ISSR-праймерів проводили за такими показниками як ефективне мультиплексне співвідношення (EMR – Effective multiplex ratio), маркерний індекс (MI), роздільна потужність (R_p), обчислені відповідно до методик для домінуючих маркерів [12, 13].

Результати досліджень. Застосування методу ISSR-ПЛР дало змогу визначити особливості генетичної структури веслоноса та провести порівняльний аналіз його вікових груп. Під час аналізу генетичної структури веслоноса за допомогою міжмікросателітних маркерів загалом за трьома праймерами було отримано 32 амплікони, з яких 87,5% були поліморфними (рис. 1).

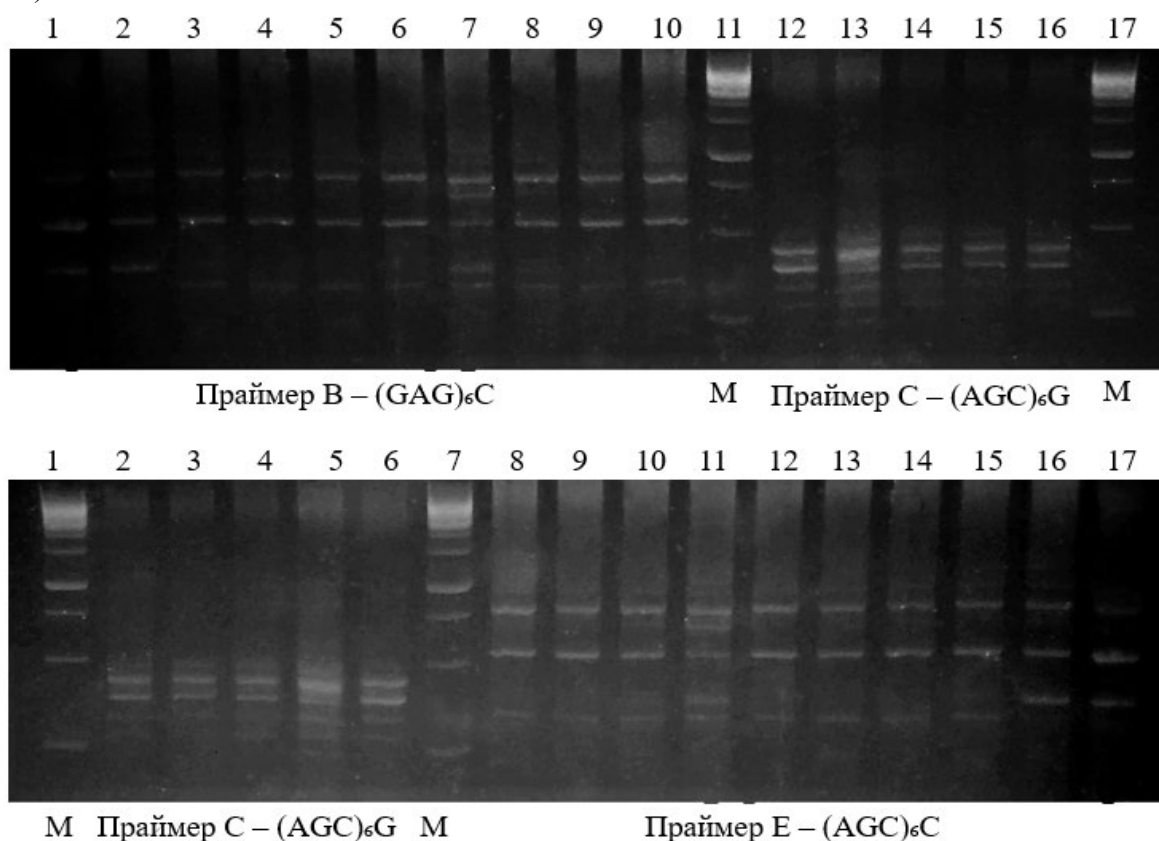


Рис 1. Спектри продуктів ПЛР веслоноса за використання праймерів ISSR.
М – маркер молекулярних мас

Найбільшу кількість ампліконів отримано з використанням праймера E – (AGC)₆C – 14 екземплярів, в той час, як за праймерами B – (GAG)₆C та C – (AGC)₆G було по 9 бендів. У особин молодшої вікової групи спостерігали більшу загальну кількість ампліфікованих фрагментів (NTB) та кількість поліморфних фрагментів (NPB) за трьома дослідженими локусами порівняно з особинами старшої групи (табл. 2).

2. Показники поліморфності генетичної структури веслоноса та інформативності ISSR-маркерів

Позначення – Локус	Група	Діапазон ампліфікованих фрагментів, п.н.	NTB	NPB	PPB, (%)	PIC	EMR	MI	R _p
B – (GAG) ₆ C	MB	215–1275	9	7	77,8	0,195	5,4	1,1	8
	CB	215–1085	6	5	83,3	0,202	4,2	0,8	6,4
	Загалом	215–1275	9	8	88,9	0,229	7,1	1,6	7,2
C – (AGC) ₆ G	MB	125–1265	9	6	66,7	0,275	4,0	1,1	12,4
	CB	125–645	7	4	57,1	0,150	2,3	0,3	9,2
	Загалом	125–1265	9	6	66,7	0,227	4,0	0,9	10,8
E – (AGC) ₆ C	MB	320–1405	14	13	92,9	0,287	12,1	3,5	11,6
	CB	320–1470	13	12	92,3	0,249	11,1	2,8	10,4
	Загалом	320–1470	14	14	100,0	0,314	14,0	4,4	11
Середнє	MB	–	10,7	8,7	79,1	0,252	7,2	1,9	10,7
	CB	–	8,7	7	77,6	0,200	5,8	1,3	8,7
	Загалом	–	10,7	9,3	85,2	0,256	8,4	2,3	9,7

Примітка: NTB – загальна кількість ампліфікованих фрагментів (no. of total bands), NPB – кількість поліморфних фрагментів (no. of polymorph bands), PPB – процент поліморфних бендів (percentage of polymorphic bands), PIC – Індекс інформаційного поліморфізму, EMR – ефективне мультиплексне співвідношення (Effective multiplex ratio), MI – маркерний індекс, R_p – роздільна потужність.

Найбільший процент поліморфних бендів був зафіксований під час застосування маркера E – (AGC)₆C (92,9 та 92,3% у MB та CB групах відповідно), а найменший – за маркером C – (AGC)₆G (66,7 та 57,1% аналогічно).

Проведений аналіз дав змогу оцінити інформативність обраних для дослідження ISSR-маркерів. Індекс інформаційного поліморфізму (PIC) був у діапазоні від 0,227 (маркер C) до 0,314 (маркер E), із середнім значенням 0,256. З урахуванням того, що для домінуючих маркерів PIC ≤ 0,5 [14], можна говорити про те, що обрані ISSR-маркери демонструють середні значення. Ефективне мультиплексне співвідношення варіювало в межах від 4,0 (локус C) до 14,0 (локус E), що свідчило про найбільшу ефективність «праймер-маркерної системи» з використанням праймера E – (AGC)₆C. Загальна міра корисності маркерної системи була оцінена за допомогою маркерного індексу. Так, найбільше значення даного показника зафіксоване за локусом E (у молодшій групі 3,5; у старшій групі – 2,8), в той час, як найменше – за локусом C (1,1 та 0,3 відповідно). Проте роздільна потужність (R_p) за обраними ISSR-локусами була найменша з використанням праймеру B – 7,2; а за праймерами B та C становила 10,8 та 11,0 відповідно. Означені показники продемонстрували рівень інформативності та ефективності обраних міжмікросателітних локусів для аналізу поліморфізму генетичної структури веслоноса. Найвищі показники PPB, PIC, EMR, MI та R_p були зафіксовані за маркером E, що свідчило про найбільшу ефективність даного праймеру для встановлення відмінностей серед особин вибірки.

Молекулярна маса ампліфікованих фрагментів за трьома міжмікросателітними локусами була в діапазоні від 125 до 1470 п. н. (табл. 3). Найменш вузький діапазон ампліконів був отриманий за маркером B і становив від 215 до 1275 п. н. За локусами C та E спостерігались ширші спектри ампліконів та перебували в межах 125–1265 п. н. та 320–1470 п. н.

У особин веслоноса старшої вікової групи порівняно з такими молодшої групи за маркерами B та C спостерігали відсутність ампліконів більшого розміру, наприклад, алелів розміром 1265 та 1190 п. н. за локусом C та алелів 1275 та 1175 п. н. за локусом B.

3. Частота алелів за трьома міжмікросателітними локусами у досліджених груп веслоноса

В			С			Е		
(GAG) ₆ C			(AGC) ₆ G			(AGC) ₆ C		
Розмір амплі- кону, п. н.	Частота		Розмір амплі- кону, п. н.	Частота		Розмір амплі- кону, п. н.	Частота	
	МВ	СВ		МВ	СВ		МВ	СВ
1275	0,2	0,0	1265	0,4	0,0	1470	0,0	0,4
1175	0,2	0,0	1190	0,8	0,0	1405	0,6	0,2
1085	1,0	1,0	645	0,6	0,4	1375	0,4	0,0
975	0,2	0,0	615	0,4	0,2	1055	0,2	0,2
745	0,6	0,6	540	0,4	0,4	1015	0,4	0,2
725	0,4	0,4	485	0,6	0,6	985	0,6	0,2
375	0,2	0,4	395	1,0	1,0	835	0,4	0,4
275	1,0	0,6	245	1,0	1,0	815	0,6	0,4
215	0,2	0,2	125	1,0	1,0	735	0,2	0,2
–	–	–	–	–	–	690	0,4	0,4
–	–	–	–	–	–	655	0,6	0,6
–	–	–	–	–	–	530	0,2	0,2
–	–	–	–	–	–	380	1,0	0,8
–	–	–	–	–	–	320	0,2	1,0

Встановлено наявність мономорфних бендів, за маркером С виявлено три амплікони, що зустрічались у всіх особин обох досліджених вікових груп: розміром 125, 245 та 395 п. н. За маркером В мономорфними були ампліфіковані фрагменти 1085 п. н (в обох групах) та 275 п. н. (у молодшій віковій групі). За маркером Е алель 380 п. н. зустрічався у всіх особин молодшої групи та у 80% особин старшої, а алель 320 п. н. спостерігався у 100% зразків старшої групи та з частотою 0,2 у молодшій групі. Визначені мономорфні бенди в майбутньому можна застосовувати для міжвидових порівнянь різних видів та встановлення походження зразків.

Визначені амплікони, що зустрічались з високою частотою (понад 40%), дають змогу продемонструвати специфіку генетичної структури веслоноса за обраними ISSR-маркерами та виявити особливості мінливості у різновікових групах риб. Отриманий генофондний профіль можна застосовувати як основу при проведенні паспортизації стад веслоноса.

Середнє значення алелів на локус N_a становило 1,75 ± 0,09 у молодшій віковій групі та 1,47 ± 0,14 у старшій, а ефективна кількість алелів N_e становила 1,42 ± 0,06 та 1,33 ± 0,06 відповідно (рис. 1). Обрані маркери дали змогу охарактеризувати генетичне різноманіття та стан досліджених груп веслоноса. Встановлено, що середнє значення індексу Шеннона I дорівнювало 0,394 ± 0,043 у МВ та 0,321 ± 0,043 у СВ групи, а об'єктивна очікувана гетерозиготність – 0,286 ± 0,034 та 0,231 ± 0,035 відповідно.

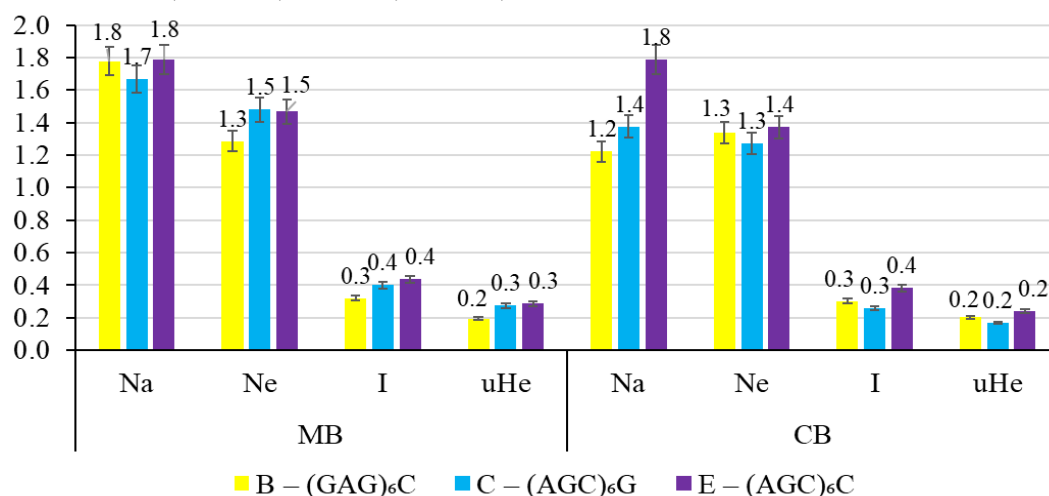


Рис. 1. Показники генетичного різноманіття досліджених груп веслоноса за ISSR-маркерами: N_a – кількість алелів на локус; N_e – ефективна кількість алелів на локус; I – інформаційний індекс Шеннона; uHe – неупереджена очікувана гетерозиготність

Висновки. Проведений аналіз дав змогу охарактеризувати специфіку генетичної структури веслоноса та показати вікові відмінності. Отримані результати продемонстрували ефективність застосування обраних ISSR-маркерів для оцінки поліморфізму генетичної структури веслоноса, стану різноманіття та гетерозиготності стад. Визначення панелі специфічних алелів за ДНК-маркерами дасть змогу створювати молекулярні інструменти для визначення походження посадкового матеріалу під час формування та дослідження племінних стад веслоноса в рибницьких господарствах України.

Вдячності. Проведення наукових досліджень виконано завдяки фінансовій підтримці Національної академії аграрних наук України, № ДР 0121U109920. Виражаємо вдячність працівникам державної установи "Виробничо-експериментальний Дніпровський осетровий рибовідтворювальний завод ім. академіка С. Т. Артющика" за допомогу при відборі проб.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Третяк О. М. Система науково-обґрунтованого розвитку аквакультури веслоноса в Україні. *Рибогосподарська наука України*. 2010. № 2 (12). С. 3–25.
2. Третяк О. М., Грициняк І. І., Тарасюк С. І. Використання ДНК-маркерів у дослідженнях генетичної структури племінного матеріалу веслоноса (*Polyodon spathula* (Walb.)). *Рибогосподарська наука України*. 2012. № 4 (22). С. 117–120.
3. Курта Х. М., Малишева О. О., Спиридонов В. Г. Розробка мультиплекс ПЛР для генетичного аналізу популяцій веслоноса (*Polyodon spathula*). *Рибогосподарська наука України*. 2017. № 4 (42). С. 65–74. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2017.04.065>
4. Marwal A., Sahu A. K., Gaur R. K. Molecular Markers. *Animal Biotechnology*. Elsevier, 2014. P. 289–305. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00016-X>
5. Bielikova O. Y., Mariutsa A. E., Mruk A. I., Tarasjuk S. I., Romanenko V. M. Genetic structure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes, Salmonidae) from aquaculture by DNA-markers. *Biosystems Diversity*. 2021. Vol. 29 (1). P. 28–32. DOI: <https://doi.org/10.15421/012104>
6. Дубін О. В. Ампліфікація міжмікросателітних послідовностей як метод оцінювання поліморфізму популяції азовської севрюги. *Вісник Житомирського національного агроекологічного університету*. 2012. Вип. 2, № 1. С. 129–133. URL : http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vzhnau_2012_2%281%29_20 (дата звернення : 06.06.2022).
7. Грициняк І. І., Маріуца А. Е., Тарасюк С. І. Генетическая структура отдельных групп пестрого толстолобика (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Рибогосподарська наука України*. 2015. № 2 (32). С. 41–50. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2015.02.041>
8. Нагорнюк Т. А., Залоїло О. В., Тарасюк С. І. Аналіз генетичної структури коропа антонінсько-зозуленецького типу. *Вісник аграрної науки*. 2013. № 9. С. 36–40. URL : http://nbuv.gov.ua/UJRN/vaan_2013_9_10 (дата звернення : 06.06.2022).
9. Yeh F. C., Boyle T. J. B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*. 1997. Vol. 129. P. 157–163.
10. Peakall R., Smouse P. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 2012. Vol. 28, iss. 19. P. 2537–2539. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>.
11. Abuzayed M., El-Dabba N., Frary S. Doganlar. GDdom: an online tool for calculation of dominant marker gene diversity. *Biochemical Genetics*. 2016. Vol. 55, iss. 2. P. 155–157. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-016-9779-0>
12. Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*. 1996. Vol. 2, iss. 3. P. 225–238. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00564200>

13. Prevost A., Wilkinson M. J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. 1999. Vol. 98, iss. 1. P. 107–112. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001220051046>
14. Chesnokov Y. V., Artemyeva A. M. Evaluation of the measure of polymorphism in formation of genetic diversity. *Agricultural Biology*. 2015. Vol. 50, iss. 5. P. 571–578. DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2015.5.571eng>

REFERENCES

1. Tretyak, O. M. 2010. Systema naukovo-obgruntovanoho rozvytku akvakul'tury veslonosa v Ukraini – The system of scientifically sound development of otter aquaculture in Ukraine. *Ribogospodars'ka nauka Ukraïni – Fisheries science of Ukraine*. 2:3–25 (in Ukrainian).
2. Tretyak, O. M., I. I. Hrytsynyak, and S. I. Tarasyuk. 2012. Vykorystannya DNK-markeriv u doslidzhennyakh henetychnoyi struktury plemynnoho materialu veslonosa (*Polyodon spathula* (Walb.)) – The use of DNA markers in studies of the genetic structure of pedigree material of the otter (*Polyodon spathula* (Walb.)). *Ribogospodars'ka nauka Ukraïni – Fisheries science of Ukraine*. 4:117–120 (in Ukrainian).
3. Kurta, Kh. M., O. O. Malysheva, and V. H. Spirydonov. 2017. Rozrobka mul'typleks PLR dlya henetychnoho analizu populyatsiy veslonosa (*Polyodon spathula*) – Development of multiplex PCR for genetic analysis of otter populations (*Polyodon spathula*). *Ribogospodars'ka nauka Ukraïni – Fisheries science of Ukraine*. 4(42):65–74. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2017.04.065> (in Ukrainian).
4. Marwal, A., A. K. Sahu, and R. K. Gaur. 2014. Molecular Markers: *Animal Biotechnology*. Elsevier. 289–305. DOI:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00016-X> (in English).
5. Bielikova, O. Y., A. E. Mariutsa, A. I. Mruk, S. I. Tarasjuk, and V. M. Romanenko. 2021. Genetic structure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes, Salmonidae) from aquaculture by DNA-markers. *Biosystems Diversity*. 29(1):28–32. DOI: <https://doi.org/10.15421/012104> (in English).
6. Dubin, O. V. 2012. Amplifikatsiya mizhmikrosatelitnykh poslidovnostey yak metod otsinyuvannya polimorfizmu populyatsiyi azovs'koyi sevryuhy – Amplification of intermicrosatellite sequences as a method of estimating polymorphism of the Azov sturgeon population. *Visnyk Zhytomyrs'koho natsional'noho ahroekologichnoho universytetu – Bulletin of Zhytomyr National Agroecological University*. 2(1):129–133. Retrieved from http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vzhnau_2012_2%281%_20 (in Ukrainian).
7. Gricinjak, I. I., A. E. Mariuca, and S. I. Tarasjuk. 2015. Geneticheskaja struktura otdel'nyh grupp pestrogo tolstolobika (*Hypophthalmichthys nobilis*) – Genetic structure of individual groups of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Ribogospodar science of Ukraine – Fisheries science of Ukraine*. 2(32):41–50. DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2015.02.041> (in Russian).
8. Nahornyuk, T. A., O. V. Zaloyilo, and S. I. Tarasyuk. 2013. Analiz henetychnoyi struktury koropa antonins'ko-zozulenets'koho typu – Analysis of the genetic structure of carp of Antonin-Zozulen type. *Visnyk ahrarnoyi nauky – Bulletin of Agricultural Science*. 9:36–40. Retrieved from http://nbuv.gov.ua/UJRN/vaan_2013_9_10 (in Ukrainian).
9. Yeh, F. C., and T. J. B. Boyle. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*. 129:157–163 (in English).
10. Peakall, R., and P. Smouse. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 28(19):2537–2539. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460> (in English).
11. Abuzayed, M., N. El-Dabba, and Frary S. Doganlar. 2016. GDDom: an online tool for

calculation of dominant marker gene diversity. *Biochemical Genetics*. 55(2):55–157. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-016-9779-0> (in English).

12. Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey, and A. Rafalski. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*. 2(3):225–238. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00564200> (in English).

13. Prevost, A., and M. J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. 98(1):107–112. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001220051046> (in English).

14. Chesnokov, Y. V., and A. M. Artemyeva. 2015. Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. *Agricultural Biology*. Vol. 50(5):571–578. DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.5.571eng> (in English).

Одержано редколегією 14.06.2022 р.

Прийнято до друку 26.07.2022 р.