

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ АКВАКУЛЬТУРНОЙ И ДИКОЙ ПОПУЛЯЦИЙ СТЕРЛЯДИ (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ*

В.Р. ХАРЗИНОВА¹ ✉, В.В. ВОЛКОВА¹, В.И. НИКИПЕЛОВ¹, А.В. ДОЦЕВ¹,
А.Е. БАРМИНЦЕВА², Н.В. БАРДУКОВ¹, А.К. НИКИПЕЛОВА¹,
А.С. АБДЕЛЬМАНОВА¹, Н.С. МЮГЕ², Н.А. ЗИНОВЬЕВА¹

Стерлядь (*Acipenser ruthenus* L. 1758) — один из наиболее мелких и короткоцикловых видов среди рыб семейства *Acipenseridae* с самым широким ареалом. Одно из ключевых условий, обеспечивающих эффективность мероприятий по сохранению и рациональному использованию генетических ресурсов этого в недавнем прошлом важного промыслового вида, находящегося сейчас в депрессивном состоянии, — изучение и оценка генетического разнообразия популяций стерляди. В настоящей работе на основе анализа полиморфизма 12 микросателлитных локусов (STR, short tandem repeats) представлены сведения о генетической изменчивости нескольких как заводских, так и естественных популяций, относящихся к бассейнам Белого, Каспийского, Карского, Азовского и Черного морей. Исследования проводили в 2023-2024 годах, ДНК выделяли из тканей грудных плавников стерляди ($n = 191$). Выборка состояла из двух групп рыб. Первая группа включала аквакультурные образцы от трех предприятий, на которых стада сформированы из особей стерляди окского (ОК, $n = 50$, Можайский городской округ, Московская обл.), нижеволжского (NV, $n = 34$, аквакомплекс Астраханского государственного технического университета — АГТУ, г. Астрахань, Астраханская обл.) и суходонского (SX, $n = 35$, ООО Рыботоварная фирма «Диана», р. Кадуй, Кадуйский р-н, Вологодская обл.) происхождения. Во вторую группу были включены образцы от рыб из пяти природных популяций: куйбышевской (KV, $n = 16$, р. Волга, Республика Татарстан), саратовской (SV, $n = 16$, р. Волга, Саратовская обл.), донской (DN, $n = 14$, р. Дон, Ростовская обл.), вятской (VT, $n = 16$, р. Вятка, Республика Татарстан) и енисейской (EN, $n = 10$, р. Енисей, Красноярский край). Полиморфизм 12 STR микросателлитов (Aru13, Spl-163, An20, LS-68, AoxD161, AfuG 41, Afu 68 b, AfuG 51, LS-39, AfuG 63, AfuG 112, Aru18) определяли на генетических анализаторах ABI3130xl («Applied Biosystems», США) и НАНОФОР 05 (НПК «Синтол», Россия). Для оценки генетического разнообразия рассчитывали показатели аллельного разнообразия (A_r), скорректированного на размер выборки, наблюдаемой (H_o), несмещенной ожидаемой гетерозиготности (u_{HE}) и коэффициента инбридинга (u_{FIS}), основанного на несмещенной ожидаемой гетерозиготности. Для оценки происхождения, дисперсии и родства, характеристики генетической структуры и генетических связей между исследованными выборками стерляди использовали анализ главных компонент (Principal Component Analysis, PCA) и рассчитывали значения матрицы попарных генетических дистанций F_{ST} и Jost's D с последующим построением дендрограмм «сеть соседей» в программе SplitsTree 4.14.5. По результатам генетического анализа группа аквакультурных образцов из АГТУ (NV) имела наименьшие значения H_o ($0,566 \pm 0,098$) и u_{HE} ($0,573 \pm 0,089$). Во всех остальных семи популяциях стерляди величина H_o варьировалась от 0,569 у SX до 0,708 у EN, а значения показателя u_{HE} были выше 0,6. В семи исследованных выборках стерляди отмечались невысокие положительные значения коэффициента инбридинга (F_{IS}), область доверительного интервала (CI 95 %) которого перекрывала нулевое значение, указывая на недостоверные отклонения числа гетерозигот от теоретически ожидаемого в указанных выборках. Исключение составила енисейская популяция стерляди, у которой детектировали отрицательные значения коэффициента инбридинга, что свидетельствует об избытке гетерозигот ($u_{FIS(EN)} = -0,1$). Применение нескольких статистических подходов для оценки генетической структуры выявило, что наиболее обособлена енисейская популяция. При этом между группами рыб, относящимися к Волго-Каспийскому (окского, куйбышевского, саратовского и вятского происхождения) и Азово-Черноморскому (донская популяция) бассейнам было обнаружено сходство по частоте общих аллелей, общность генетической структуры и низкий уровень генетической дифференциации. Полученные в нашей работе данные о состоянии генетического разнообразия, генетическом сходстве и различиях между заводскими стадами стерляди, а также дикими популяциями Каспийского, Карского, Азово-Черноморского бассейнов могут быть востребованы при планировании управления маточными стадами и мер

* Для проведения исследований использовали оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста. Образцы стерляди из ряда популяций предоставлены УНУ «Биоресурсная коллекция ВБР» ФГБНУ ВНИРО. Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-66-00007).

по сохранению уникального генофонда вида *A. ruthenus*. Для расширения представлений о генетической структуре генофонда российской стерляди эти исследования будут продолжены на выборках большего размера и с привлечением образцов из других стад аквакультуры и природных популяций.

Ключевые слова: *Acipenser ruthenus*, стерлядь, аквакультура, природные популяции, генетическое разнообразие, генетическая структура, STR.

На территории Российской Федерации обитает 12 видов осетровых, относящихся к семейству *Acipenseridae*. К самым перспективным видам для товарной аквакультуры можно отнести белугу (*Huso huso* Linnaeus, 1758), калугу (*Huso dauricus* Georgi, 1775), сибирского (*Acipenser baerii* Brandt, 1869) и русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt, 1833), а также стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) (1). Стерлядь — один из самых мелких представителей осетровых с самым широким ареалом, встречается в бассейнах Каспийского, Черного, Азовского и Карского морей. Это стайная рыба, обитает в реках, обычно держится на глубине с быстрым течением, изредка встречаются особи, способные заходить в слабосоленые воды. Наиболее многочисленной была в речных бассейнах Дуная, Дона, Волги. По судоходным каналам в XIX веке проникла в бассейн Северной Двины, а из нее в середине XX века была интродуцирована в Онежское озеро и реку Печора (2). В бассейнах Оби и Енисея представлена подвидом сибирской стерлядь *Acipenser ruthenus marsiglii*, Brandt, 1833.

Несмотря на широкое распространение, численность популяций осетровых видов рыб сокращается из-за разрушительного антропогенного влияния (промысел, ухудшение экологических условий среды обитания и/или разрушение мест нагула, возведение гидроэнергетических сооружений, препятствующих нерестовым миграциям) (3). В настоящее время все виды осетровых включены в Конвенцию о международной торговле видами дикой фауны и флоры (CITES) в связи с угрозой их исчезновения (4), а также в IUCN Red List (5). Если среднегодовой вылов осетровых за 1900–1917 годы в России составлял 211 т, то в период с 2000 по 2020 годы он сократился до 10,8 т (6), а в настоящее время промышленный и любительский лов осетровых в России запрещен почти повсеместно.

Для решения проблемы снижения природных запасов этих ценных видов рыб приняты программы восстановления популяций. Одно из таких направлений — искусственное воспроизводство в рыбоводных хозяйствах с последующим выпуском подращенной молодежи в их естественную среду обитания (7). Так, с 2010 по 2020 год заводской молодежью пополнились популяции в Горьковском, Угличском, Ивановском, Камском, Краснодарском, Волгоградском водохранилищах, а также в реках Сухона, Молога, Днепр, Дон, Кубань, Ока (6).

Активно развивающимся в последние десятилетия направлением по восполнению биологических ресурсов осетровых стало развитие индустриальной аквакультуры на рыбоводных заводах, работающих под эгидой ФГБУ Главное бассейновое управление по рыболовству и сохранению водных биологических ресурсов (ФГБУ Главрыбвод). Особое внимание уделяется искусственному воспроизводству редких и находящихся под угрозой исчезновения видов, таких как осетровые (8). На сегодняшний день в бассейне Азовского моря функционируют четыре осетровых рыбоводных завода (ОРЗ), входящих в структуру ФГБУ Главрыбвод, которые обеспечивают более 95 % выпуска молодежи этих ценных видов рыб (Донской ОРЗ, Гривенский ОРЗ, Ачуевский ОРЗ, Темрюкский ОРЗ) (9). В бассейне Каспийского моря искусственное воспроизводство осетровых осуществляется на нескольких рыбоводных заводах (Лебяжий ОРЗ, Александровский ОРЗ, Кизанский ОРЗ, Житнинский ОРЗ, Волгоградский ОРЗ, Сергиевский ОРЗ)

(10), также искусственным воспроизводством занимается НЭБ «БИОС» Каспийского филиала ФГБНУ ВНИРО.

Развитие товарной аквакультуры достигается благодаря применению современных технологий выращивания осетровых в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ) и в садковых хозяйствах, что обеспечивает потребительский рынок, снижая при этом нагрузку на природные популяции, осетровых (11). В настоящее время по всей территории России функционирует более 70 подобных предприятий, на которых осуществляется интенсивное товарное выращивание этих уникальных гидробионтов (12). Несмотря на высокий уровень технологии разведения, при репродукции осетровых рыбодоводные заводы сталкиваются с серьезными проблемами, такими как дефицит производителей, а также получение нежизнеспособного потомства (6). Одной из возможных причин последнего считается формирование ремонтно-маточного стада из близкородственных особей, что приводит к снижению генетического разнообразия и качества рыбопосадочного материала (13). Поскольку для восполнения природных популяций используют заводские стада, контроль биоразнообразия в них исключительно важен для сохранения аллельного разнообразия в исходных диких популяциях. В свою очередь, уникальные аллели, распространенные в диких популяциях, могут стать важным генетическим ресурсом для селекции в товарной аквакультуре. Этим обусловлена необходимость постоянного контроля за уровнем генетического разнообразия в аквакультурных стадах осетровых, и в частности стерляди (14).

Оценку генетического полиморфизма аквакультурных стад и диких популяций стерляди можно осуществлять с помощью систем ДНК маркеров. Известны молекулярные маркеры, пригодные для изучения большого числа особей в природных и селекционных популяциях (15). За последние десятилетия описано несколько типов молекулярных маркеров для использования в аквакультуре и рыболовстве. Среди маркеров ядерного генома высокую эффективность при получении информации о популяционных процессах и анализе родства у объектов аквакультуры показали микросателлиты (15-17) — простые повторы последовательности ДНК (simple sequence repeat, SSR) (18) и короткие tandemные повторы ДНК (short tandem repeat, STR) (19). Благодаря их преимуществам — высокой степени полиморфизма, кодоминантному типу наследования (20), возможности мультиплексирования различных микросателлитов в ПЦР (21) и частичной автоматизации генотипирования с помощью фрагментного анализа на капиллярных секвенаторах (22) микросателлиты приобрели большое значение в мониторинге генетических процессов в искусственно воспроизводимых популяциях и промышленных стадах осетровых рыб (23). Так, эффективность STR маркеров как инструментов для решения широкого спектра популяционно-генетических задач обеспечила их применение в исследованиях русского осетра (*A. gueldenstaedtii*), сибирского осетра (*A. baerii*), амурского осетра (*A. schrenckii*), севрюги (*A. stellatus*), калуги (*H. dauricus*) (24), стерляди (*A. ruthenus*) (25, 26), белуги (*H. huso*) (27), китайского осетра (*A. sinensis*) (28).

В настоящей работе с использованием высокополиморфных ДНК маркеров получены данные о генетической изменчивости современных заводских стад и естественных популяций стерляди Каспийского, Карского, Азово-Черноморского бассейнов России, что необходимо для планирования мер по охране этого важного промыслового вида, находящегося под угрозой исчезновения.

Наша цель заключалась в оценке актуального состояния генетического разнообразия и определении генетической структуры диких популяций

и аквакультурных стад стерляди в России.

Методика. Работу проводили в 2023–2024 годах. Объектами исследования служили особи заводских и природных популяций стерляди. Для создания карты с точками отбора образцов для анализа использовали R пакет maps (<https://CRAN.R-project.org/package=maps>) (29).

Изученная выборка включала восемь групп рыб. Пять групп были представлены образцами диких популяций: куйбышевской (р. Волга, Республика Татарстан), саратовской (р. Волга, Саратовская обл.), донской (р. Дон, Ростовская обл.), вятской (р. Вятка, Республика Татарстан), енисейской (р. Енисей, Красноярский край). Три группы включали образцы аквакультурной рыбы окской (Можайский производственно-экспериментальный рыбоводный завод, д. Горетово, Можайский городской округ, Московская обл.), нижеволжской (аквакомплекс Астраханского государственного технического университета — АГТУ, г. Астрахань, Астраханская обл.) и сухонской (ООО Рыботороварна фирма «Диана», рп Кадуй, Кадуйский р-н, Вологодская обл.) популяций.

Биологический материал был депонирован в УНУ «Банк генетического материала домашних и диких видов животных и птицы» в составе сетевой биоресурсной коллекции сБРК СХЖ (соглашение с Минобрнауки России № 075-15-2021-1037 от 28 сентября 2021 года), созданной и поддерживаемой в ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста. Образцы ткани стерляди естественных популяций были получены из Российской национальной коллекции эталонных генетических материалов (РНКЭГМ) ВНИРО (свидетельство об официальной регистрации базы данных № 2006620351).

ДНК выделяли из ткани фрагментов грудных плавников. Использовали набор реагентов для выделения геномной ДНК серии ДНК-Экстран-2 (НПК «Синтол», Россия), согласно протоколу изготовителя. Качество и количество полученной ДНК контролировали флуориметрически (Qubit 4.0, «Invitrogen/Life Technologies», США) и спектрофотометрически (NanoDrop™ 8000, «Thermo Fisher Scientific, Inc.», США). В результате были отобраны образцы с концентрацией ДНК от 15 нг/мкл и выше и соотношением поглощения при длинах волн 260 нм и 280 нм (OD_{260/280}) от 1,8 и выше.

Полиморфизм 12 микросателлитов изучали в трех мультиплексных ПЦР по четырем STR локусам в каждой панели: панель 1 — локусы Aru13, Spl-163, An20, LS-68, панель 2 — локусы AoxD161, AfuG 41, Afu 68 b, AfuG 51 и панель 3 — локусы LS-39, AfuG 63, AfuG 112, Aru18 (авторская разработка ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста) согласно опубликованным протоколам (30).

Размеры полученных продуктов амплификации определяли по электрофоретической подвижности относительно внутреннего стандарта длин GeneScan-350 ROX («Thermo Fisher Scientific, Inc.», США) и СД-450 (НПК «Синтол», Россия). Капиллярный электрофорез проводили на генетических анализаторах ABI3130xl («Applied Biosystems», США) и НАНОФОР 05 (НПК «Синтол», Россия). Исходные данные о длине каждого аллеля были получены в программном обеспечении GeneMapper™ v.4.0 (<https://www.thermo-fisher.com/order/catalog/product/4440915>) и GeneMarker® v. 3.0.1 (<https://softgenetics.com/products/genemarker/>). Матрицу полученных микросателлитных генотипов формировали в программе Microsoft Excel.

Вся исследованная выборка стерляди была протестирована в программе ML-RELATE (31) для выявления родственных особей с их последующим исключением при статистическом анализе.

Внутрипопуляционные показатели, включая рарифицированное аллельное разнообразие (Ar), наблюдаемую (Ho) и несмещенную ожидаемую

(U_{HE}) гетерозиготность, а также значения коэффициента инбридинга (U_{Fis}), основанного на несмещенной ожидаемой гетерозиготности с доверительным интервалом (CI) 95 %, рассчитывали и анализировали с помощью R пакета *diveRsity* (32).

Для оценки генетической структуры изучаемых популяций рыб применяли анализ главных компонент (Principal Component Analysis, PCA), который выполняли с визуализацией результатов, используя R пакеты *adegenet* (33) и *ggplot2* (34).

На основании матрицы попарных значений индекса фиксации F_{ST} (35) и попарных генетических дистанций по Jost's D (36), рассчитанных в R пакете *diveRsity* (32), были построены филогенетические деревья по алгоритму Neighbor-Net в программе SplitsTree 4.14.5 (<https://splitstree4.software.informer.com/4.1/>) (37).

Исходные файлы формировали в формате MS Excel и программной среде R 3.5.0 (R Core Team) (38).

Значения параметров генетического разнообразия представлены в виде средних (M) и стандартных ошибок средних ($\pm SEM$).

Результаты. Основные характеристики изученной выборки рыб представлены в таблице 1.

1. Образцы, использованные в молекулярно-генетических исследованиях стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) из заводских и природных популяций (2023-2024 годы)

Популяция	Обозначение	Выборка, n	Места отбора проб от диких/заводских особей
Заводские популяции			
Окская	OK	50	Можайский производственно-экспериментальный рыбноводный завод, Московская обл.
Сухонская	SX	35	ООО Рыботорварная фирма «Диана», Вологодская обл.
Нижневолжская	NV	34	Аквакомплекс Астраханского государственного технического университета, Астраханская обл.
Естественные популяции			
Куйбышевская	KV	16	Куйбышевское водохранилище
Саратовская	SV	16	Саратовское водохранилище
Донская	DN	14	р. Дон
Вятская	VT	16	р. Вятка
Енисейская	EN	10	р. Енисей

Местоположение точек отбора проб стерляди показано на рисунке 1.

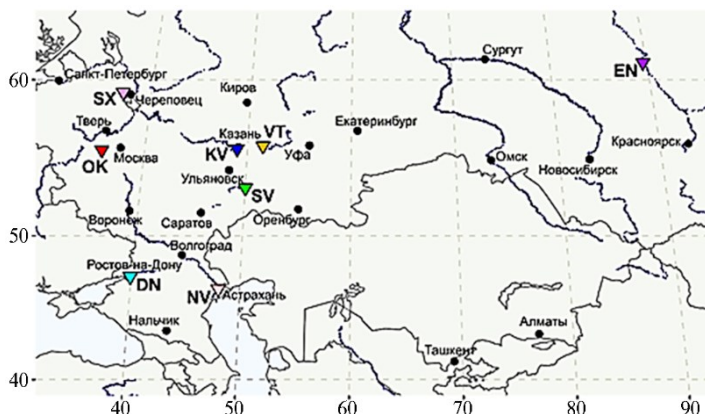


Рис. 1. Географическое распределение особей, отобранных из заводских и природных популяций стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) для проведения молекулярно-генетических исследований (2023-2024 годы). Расшифровка аббревиатур представлена в таблице 1.

В результате анализа 12 микросателлитных локусов у исследованных групп стерляди мы суммарно выявили 154 аллеля, что выше среднего значения этого показателя (126 аллелей), детектированного с использованием

12 микросателлитов при изучении популяций стерляди Карпатского бассейна (26). При этом в нашем исследовании наибольшее число аллелей на locus выявили в локусе AfuG 112 (23 аллеля), а наименьшее — в локусе AfuG 63 (4 аллеля). При анализе популяционно-генетической структуры стерляди из р. Молога (Вологодская обл.) микросателлитный locus AfuG 63 также был малоаллельным (25). Однако, по мнению R. Sharma с соавт. (39), при использовании микросателлитного локуса для оценки генетического разнообразия, как это принято при стандартном выборе микросателлитных локусов, желательно наличие четырех аллелей на locus.

На основании полученных микросателлитных генотипов мы проанализировали основные показатели аллельного разнообразия и степени гетерозиготности в исследованных выборках стерляди (табл. 2).

2. Результаты анализа генетического разнообразия в заводских и природных популяциях стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) на основании полиморфизма 12 микросателлитных STR локусов (2023-2024 годы)

Популяция	<i>n</i>	AR	Ho	uHe	uFis[CI 95 %]
OK	50	6,417±0,956	0,608±0,085	0,651±0,087	0,060[-0,007;0,127]
SX	35	5,286±0,700	0,569±0,074	0,628±0,077	0,086[-0,012;0,184]
NV	34	4,925±0,731	0,566±0,098	0,573±0,089	0,026[-0,1;0,152]
KV	16	6,630±0,974	0,594±0,082	0,660±0,089	0,071[-0,028;0,17]
SV	16	6,042±0,873	0,589±0,092	0,636±0,089	0,139[-0,026;0,304]
DN	14	6,036±0,815	0,631±0,087	0,670±0,077	0,077[-0,039;0,193]
VT	16	6,483±0,949	0,609±0,078	0,661±0,081	0,071[-0,022;0,164]
EN	10	5,000±0,718	0,708±0,078	0,655±0,074	-0,100[-0,212;0,012]

Примечание. *n* — число образцов, AR — рарифицированное аллельное разнообразие, Ho — наблюдаемая гетерозиготность, uHe — несмещенная ожидаемая гетерозиготность, uFis — несмещенный коэффициент инбридинга, CI 95 % — доверительный интервал 95 %, в скобках — размах изменчивости uFis при доверительном интервале 95 %. Выборки аквакультурной стерляди: OK — окская, SX — сухонская, NV — нижеволжская; выборки дикой популяции стерляди: KV — куйбышевская, SV — саратовская, DN — донская, VT — вятская, EN — енисейская (описание см. в табл. 1).

Значения аллельного разнообразия варьировались от 4,925±0,731 в выборке стерляди заводской популяции аквакомплекса АГТУ нижеволжского происхождения (NV) до 6,630±0,974 в выборке природной популяции Куйбышевского водохранилища (KV). Выборка стерляди из аквакомплекса АГТУ также характеризовалась минимальными значениями наблюдаемой (Ho) и ожидаемой (uHe) гетерозиготности, что составило соответственно 0,566±0,098 и 0,573±0,089. По распределению значений ожидаемой (uHe) гетерозиготности все остальные выборки рыб характеризовались схожими значениями показателя выше 0,6 с варьированием от 0,628±0,077 в заводской популяции рыб сухонского происхождения до 0,670±0,077 в донской популяции. Следует отметить, что во всех исследованных группах значения ожидаемой гетерозиготности были немного выше значений наблюдаемой гетерозиготности, что указывает на дефицит гетерозигот. Исключение составила выборка стерляди из енисейской популяции, у которой значения наблюдаемой гетерозиготности (Ho) превосходили значения ожидаемой (uHe). Кроме того, в указанной популяции стерляди были детектированы отрицательные значения коэффициента инбридинга, что свидетельствует об избытке гетерозигот ($uFis_{(EN)} = -0,1$). Во всех остальных выборках коэффициент инбридинга имел положительные значения с варьированием от 0,026 у NV до 0,139 у SV. При этом во всех группах рыб область доверительного интервала (CI 95 %) коэффициента инбридинга перекрывала нулевое значение, указывая на недостоверные отклонения числа гетерозигот от теоретически ожидаемого.

Для идентификации и характеристики индивидуумов в исследованных нами заводских стадах и естественных популяциях стерляди, а также для оценки происхождения, дисперсии и родства мы использовали анализ

главных компонент (Principal Component Analysis, PCA) (40). Главные компоненты выстраиваются в порядке убывания той дисперсии, которую они объясняют (первой главной компонентой обусловлена большая часть дисперсии, чем второй компонентой, второй — большая, чем третьей, и т.д.) (41). Чем больше главных компонент учитывается, тем большую часть изменчивости можно объяснить. На рисунке 2 представлены результаты анализа по трем главным компонентам.

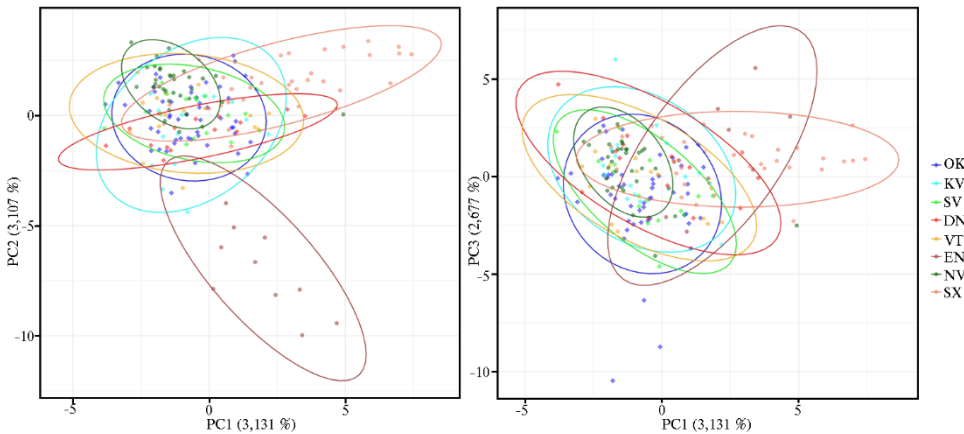


Рис. 2. Анализ генетической структуры заводских и природных популяций стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) методом главных компонент (PCA) на основании полиморфизма 12 микросателлитных STR локусов: выборки аквакультурной стерляди — окская (OK), сухонская (SX), нижеволжская (NV); выборки из природных популяций — куйбышевская (KV), саратовская (SV), донская (DN), вятская (VT), енисейская (EN), описание см. в таблице 1 (2023–2024 годы).

В нашем исследовании первая главная компонента объясняла наибольшее значение дисперсии (3,131 %) и максимально обособила кластер, сформированный особями енисейской популяции. Кроме этого, пара первых двух компонент С1–С2 отделила кластер особей заводской сухонской группы с небольшим перекрытием массива остальных выборок стерляди. Вторая и третья компоненты отражали соответственно 3,107 и 2,677 % генетической изменчивости. При этом все три компоненты показали, что выборки стерляди окского, нижеволжского, куйбышевского, саратовского, донского и вятского происхождения демонстрировали сходство по частоте общих аллелей, образуя единый генетический пул.

3. Генетические дистанции между выборками стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) из заводских и природных популяций, рассчитанные на основании парных генетических дистанций F_{ST} и показателя аллельной дифференциации Jost's D (2023–2024 годы)

Популяция	OK	KV	SV	DN	VT	EN	NV	SX
OK		0,015	0,002	0,039	0,004	0,096	0,050	0,043
KV	0,028		0,020	0,028	–0,001	0,075	0,045	0,043
SV	0,005	0,022		0,055	0,009	0,105	0,038	0,048
DN	0,059	0,034	0,103		0,029	0,087	0,101	0,082
VT	0,008	0	0,022	0,012		0,101	0,055	0,041
EN	0,192	0,138	0,178	0,172	0,175		0,159	0,124
NV	0,099	0,090	0,060	0,182	0,106	0,286		0,070
SX	0,092	0,072	0,076	0,162	0,091	0,179	0,114	

Примечание. Значения F_{ST} указаны над диагональю, значения D — под диагональю при парном сравнении. Выборки аквакультурной стерляди — окская (OK), сухонская (SX), нижеволжская (NV); выборки из природных популяций — куйбышевская (KV), саратовская (SV), донская (DN), вятская (VT), енисейская (EN), описание см. в таблице 1.

Для оценки степени генетической близости изученных выборок стерляди мы рассчитали значения и индекса фиксации F_{ST} (35), и показателя D, предложенного L. Jost (36) (табл. 3). Далее полученные значения

показателей были визуализированы с помощью алгоритма «сети соседей» (Neighbor Net) и представлены в виде филогенетической дендрограммы (рис. 3).

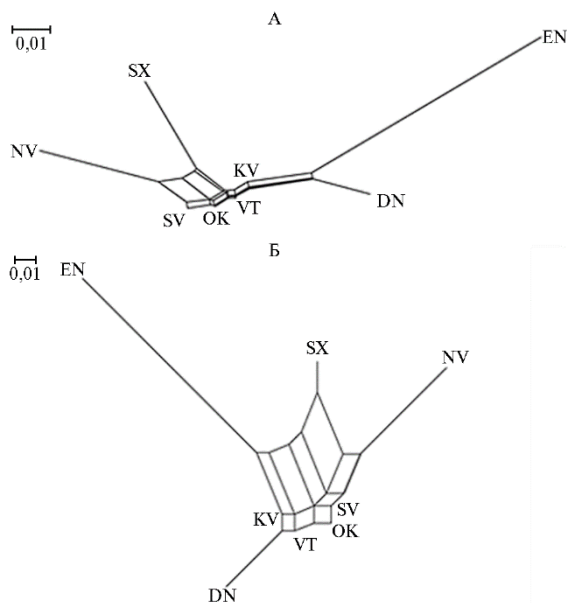


Рис. 3. Визуализация степени генетической близости изученных выборок стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) из заводских и природных популяций на основе матрицы попарных генетических дистанций F_{ST} (А) и Jost's D (Б) по алгоритму «сети соседей» (NeighborNet): выборки аквакультурной стерляди — окская (ОК), сухонская (SX), нижеволжская (NV); выборки из природных популяций — куйбышевская (KV), саратовская (SV), донская (DN), вятская (VT), енисейская (EN), описание см. в таблице 1 (2023–2024 годы).

Анализ значений матрицы попарных генетических дистанций F_{ST} и Jost's D, а также структуры генетических сетей показал отсутствие генетической дифференциации куйбышевской и вятской популяций, между которыми значения обоих показателей равнялись 0, указывая на полный обмен генетическим материалом между ними. Кроме этого была выявлена наибольшая генетическая близость окской группы с вятской и саратовской популяциями: $F_{ST} OK/SV = 0,002$, $F_{ST} OK/VT = 0,004$, $D_{OK/SV} = 0,005$, $D_{OK/VT} = 0,008$. Более высокую степень генетической дифференциации детектировали между енисейской и нижеволжской группами стерляди: $F_{ST} EN/NV = 0,159$, $D_{EN/NV} = 0,286$. Следует отметить, что на топологии дендрограмм (см. рис. 3) мы обнаружили кластер, образованный окской, нижеволжской, куйбышевской, саратовской и вятской выборками. При этом две естественные популяции р. Дон и р. Енисей, так же как две заводские группы р. Волги и р. Сухоны (приток Северной Двины) сформировали отдельные ветви.

Планирование и сохранение генетических ресурсов объектов аквакультуры все больше зависят от генетических данных, которые используются для оценки генетической структуры популяции, репродуктивной динамики и их адаптации (17, 42). Применение микросателлитных маркеров играет в этом важную роль, и во многих исследованиях показано, что именно такой тип ДНК-маркеров востребован как для управления маточным стадом, так и для оценки структуры популяций рыбы (43, 44). Вместе с тем в настоящее время информации об актуальном состоянии генетического разнообразия и генетических взаимоотношениях между популяциями стерляди из бассейнов Белого, Каспийского, Карского, Азовского и Черного морей нашей страны недостаточно.

Согласно Н.В. Козловой с соавт. (23), генетическое разнообразие или генетический полиморфизм (один из компонентов генетической характеристики популяции или вида) имеет большое значение для экологической пластичности популяции, позволяет ей адаптироваться к изменяющимся условиям среды обитания. В нашей работе анализ внутривидовых параметров, рассчитанных на основе полиморфизма 12 микросателлитов, показал, что наименьший уровень полиморфности имела выборка заводской стерляди нижеволжского происхождения: $A_R = 4,925$, $H_O = 0,566$ и $U_{HE} = 0,573$. Учитывая сниженный по сравнению с другими выборками (в том числе с дикими популяциями из р. Волги) уровень полиморфизма, а также выделение этой группы в самостоятельную ветвь на филогенетических дендрограммах (см. рис. 3), можно предположить, что на формирование генетической структуры нижеволжского стада стерляди оказал влияние эффект основателя. При этом максимальные значения аллельного разнообразия были детектированы в трех популяциях Волго-Каспийского бассейна (окская, куйбышевская, вятская), что может свидетельствовать о крупном размере природной популяции и генетическом обмене между популяциями стерляди из различных участков течения р. Волга как важным факторе поддержания генетического разнообразия и структуры популяций рыб (45). Следует отметить, что выявленное нами сходство по частоте общих аллелей (см. рис. 2) и низкий уровень генетической дифференциации (см. табл. 3) между окской, куйбышевской, саратовской, донской и вятской популяциями также предполагает наличие более высокого межпопуляционного потока генов и, следовательно, большую способность к миграции представителей указанных популяций. Она влияет на географическую структуру генетической изменчивости внутри вида и, возможно, является результатом неконтролируемого зарыбления р. Дон молодью стерляди волжского происхождения.

Высокий уровень генетической дифференциации популяций пресноводных рыб (в сравнении с морскими) обусловлен большим числом миграционных барьеров и уменьшением потока генов (46, 47). Анализ генетической структуры исследованных нами популяций стерляди, проведенный с использованием нескольких статистических подходов, показал, что наиболее обособленной структурой характеризуется енисейская популяция. Наше наблюдение согласуется с опубликованными ранее выводами о значительном отличии енисейской популяции стерляди, постулируемом на основе анализа как митохондриальных (48), так и ядерных (49) ДНК-маркеров. На популяции осетровых, населяющих сибирские реки, могли повлиять плейстоценовые оледенения, когда северный сток рек был перекрыт ледниками и большинство рек, изменив свое русло и образовав систему озер, стали впадать в Каспий, а затем и в Черное море (48, 50). Анадромные виды пострадали от таких радикальных изменений в большей степени, чем неандромные и пресноводные. Таким образом, стерлядь и сибирский осетр, возможно, обладали выгодными адаптационными свойствами, которые позволили им выжить в периоды оледенения за счет ограничения путей миграции в пределах пресноводных бассейнов.

Результаты наших исследований также показали, что еще одной группой, продемонстрировавшей более высокую степень генетической обособленности при наличии нескольких гибридных особей, является выборка заводской стерляди сухонского происхождения из ООО РТФ «Диана». Известно, что с 2001 года на этом предприятии велась работа по сохранению уникальной локальной сухонской популяции стерляди, обитающей в р. Сухона (51), откуда были выловлены экземпляры дикой стерляди, которые

использовались для получения молоди и ее последующего выпуска с целью восстановления исходной популяции. Вероятно, избыток молоди стерляди, полученной на предприятии, был использован для формирования ремонтно-маточного стада, аллелофонд которого в настоящий момент содержит высокую долю редких генотипов, характерных для дикой популяции р. Сухона.

Итак, проведенные нами исследования не только подчеркнули потенциал микросателлитных маркеров для проведения базовых генетических исследований недостаточно изученных видов рыб, требующих сохранения, но и предоставили уникальную информацию о состоянии генетического разнообразия, генетическом сходстве и различиях между дикими популяциями *Acipenser ruthenus* в реках бассейнов Каспийского, Карского, Азовского и Черного морей, а также заводскими стадами стерляди. Так, установлено, что среди трех исследованных групп аквакультурной стерляди показатели аллельного и генетического разнообразия были выше в окской популяции: $A_R = 6,417 \pm 0,956$, $H_o = 0,608 \pm 0,085$, $u_{HE} = 0,651 \pm 0,087$. В изученных нами естественных популяциях наибольшие значения по аллельному разнообразию выявлены в выборке стерляди из р. Вятки ($A_R = 6,483 \pm 0,949$), по наблюдаемой гетерозиготности — в выборке из р. Енисей ($H_o = 0,708 \pm 0,078$), по ожидаемой гетерозиготности — в выборке из р. Дон ($u_{HE} = 0,670 \pm 0,077$). При этом, выборка аквакультурной стерляди из Астраханской области характеризовалась наименьшим как аллельным ($A_{RN} = 4,925 \pm 0,731$), так и генетическим разнообразием ($H_{ONV} = 0,566 \pm 0,098$, $u_{HENV} = 0,573 \pm 0,089$). Полученные результаты могут быть использованы при генетическом мониторинге популяций стерляди для сохранения их генетической структуры и изменчивости, при управлении маточным стадом и резервировании уникального генофонда вида *A. ruthenus*. Для получения более детальной информации о генетической вариабельности и генетической структуре генофонда российской стерляди мы продолжим исследования на выборках большего размера и с привлечением образцов из других стад аквакультурной стерляди и ее природных популяций.

Выражаем благодарность ООО РТФ «Диана» и Союзу осетроводов за предоставление образцов биоматериала для исследований.

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60, e-mail: veronika0784@mail.ru ✉, moonlit_elf@mail.ru, vladnikipelovvij@mail.ru, asnd@mail.ru, bardukv-nikolajj@mail.ru, nikipelova_aminavij@mail.ru, abdelmanova@vij.ru, n_zinovieva@mail.ru;

²ФГБНУ Всероссийский НИИ рыбного хозяйства

и океанографии,

105187 Россия, г. Москва, Окружной проезд, 19, e-mail: bac69@mail.ru, mague@mail.ru

Поступила в редакцию
14 июня 2024 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2024, V. 59, № 4, pp. 666-679

CHARACTERIZATION OF THE GENETIC STRUCTURE IN AQUACULTURE AND WILD STERLET (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) POPULATIONS BASED ON MICROSATELLITE ANALYSIS

V.R. Kharzjinova¹ ✉, V.V. Volkova¹, V.I. Nikipelov¹, A.V. Dotsev¹, A.E. Barmintseva²,
N.V. Bardukov¹, A.K. Nikipelova¹, A.S. Abdelmanova¹, N.S. Myuge², N.A. Zinovieva¹

¹Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail veronika0784@mail.ru (✉ corresponding author), moonlit_elf@mail.ru, vladnikipelovvij@mail.ru, asnd@mail.ru, bardukv-nikolajj@mail.ru, nikipelova_aminavij@mail.ru, abdelmanova@vij.ru, n_zinovieva@mail.ru;

²Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, 19, Okružhnoi proezd, Moscow, 105187 Russia, e-mail bac69@mail.ru, mague@mail.ru

ORCID:Kharzinova V.R. orcid.org/0000-0002-8067-0404Volkova V.V. orcid.org/0000-0002-2080-0182Nikipelov V.I. orcid.org/0009-0008-6411-2454Dotsev A.V. orcid.org/0000-0003-3418-25111Barmintseva A.E. orcid.org/0009-0005-5870-5454

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Carried out using the equipment of the Center for Collective Use “Bioresources and Bioengineering of Agricultural Animals”, the Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry. Sterlet samples of several populations were provided by the USI “Bioresource Collection of water biological resources”, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO).

The authors express their gratitude to OOO RTF Diana and the Union of Sturgeon Breeders for providing samples for research.

Supported financially by the Russian Science Foundation (grant No. 21-66-00007)

Final revision received June 14, 2024

doi: 10.15389/agrobiologia.2024.4.666eng

Accepted July 22, 2024

Abstract

Sterlet (*Acipenser ruthenus* L. 1758) is one of the smallest and short-cycle species among fish of the *Acipenseridae* family, with the widest distribution area. For conservation and proper use of this species which was commercially important in the recent past but now is in a depressed state, information on genetic diversity in its populations is crucial. In this work, based on the analysis of polymorphism of 12 microsatellite loci, we assessed the genetic variability of several hatchery and natural populations of sterlet from the basins of the White, Caspian, Kara, Azov and Black seas. The research was carried out in 2023–2024. Fragments of pectoral fins ($n = 191$) of aquaculture and wild individuals were used to isolate DNA. The origin of the aquaculture fish was as follows: the Oka (OK, $n = 50$, Mozhaik production and experimental fish hatchery, Goretovo village, Mozhaik Urban District, Moscow Province), Nizhnevolzhsky (NV, $n = 34$, ASTU aqua complex, Astrakhan, Astrakhan Province) and Sukhonovsky (SX, $n = 35$, RTF Diana, Kaduy river, Kaduysky District, Vologda Province). The wild fish samples represented five populations, the Kuibyshevskaya (KV, $n = 16$, Volga River, Republic of Tatarstan), Saratovskaya (SV, $n = 16$, Volga River, Saratov Province), Don (DN, $n = 14$, Don River, Rostov Province), Vyatskaya (VT, $n = 16$, Vyatka River, Republic of Tatarstan) and Yeniseiskaya (EN, $n = 10$ Yenisei River, Krasnoyarsk Territory). Polymorphism of 12 STR microsatellites, the Aru13, Spl-163, An20, LS-68, AoxD161, AfuG 41, Afu 68 b, AfuG 51, LS-39, AfuG 63, AfuG 112, Aru18 was determined using genetic analyzers (an ABI3130xl, Applied Biosystems, USA and NANOFOR 05, NPK Synthol, Russia). To assess genetic diversity, allelic diversity (A_r) adjusted for sample size, observed (H_o) heterozygosity, unbiased expected (uH_e) heterozygosity and coefficient of inbreeding (F_{IS}) based on unbiased expected heterozygosity were calculated. To assess the origin, dispersion and relatedness, and to characterize the genetic structure and genetic relationships between the studied samples of sterlet, we used Principal Component Analysis (PCA) and calculated the values of the pairwise matrix genetic distances F_{ST} and Jost's D , followed by construction of dendrograms “network of neighbors” in the SplitsTree 4.14.5 program. According to the results of genetic analysis, the group of aquaculture samples from ASTU (NV) had the lowest values of H_o (0.566 ± 0.098) and uH_e (0.573 ± 0.089). In all other seven sterlet populations, H_o varied from 0.569 in SX to 0.708 in EN, and the uH_e values were higher than 0.6. In the seven studied sterlet groups, low positive values of the inbreeding coefficient (F_{IS}) were noted, the confidence interval (CI 95 %) of which overlapped the zero value, indicating unreliable deviations of the number of heterozygotes from that theoretically expected in these samples. The exception was the Yenisei sterlet population with negative values of the inbreeding coefficient, indicating an excess of heterozygotes ($uF_{IS(EN)} = -0.1$). The use of several statistical approaches revealed that the Yenisei population is the most isolated in genetic structure. Vice versa, similarity in the frequency of common alleles, common genetic structure and a low level of genetic differentiation were identified between groups of fish belonging to the Volga-Caspian (Oka, Upper Volga, Middle Volga and Vyatka origin) and Azov-Black Sea (Don population) basins. The data obtained in our work on the genetic diversity, genetic similarities and differences between individual hatchery herds of sterlet, as well as wild populations of the Caspian, Kara, Azov-Black Sea basins can be used to plan the broodstocks management and the conservation of the unique gene pool of the species *A. ruthenus*. To expand our understanding of the genetic structure of the Russian sterlet gene pool, these studies will be continued on larger samples and a wider range of samples from other aquaculture stocks and natural populations.

Keywords: *Acipenser ruthenus*, sterlet, aquaculture, wild populations, genetic diversity, genetic structure, STR.

REFERENCES

1. Makeeva A.P., Pavlov D.S., Pavlov D.A. *Atlas molodi presnovodnykh ryb Rossii* [Atlas of young

- freshwater fish of Russia]. Moscow, 2011 (in Russ.).
2. Volosnikov G.I. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*, 2017, 2(64): 67-72 (in Russ.).
 3. Ruban G.I., Khodorevskaya R.P., Koshelev V.N. O sostoyanii osetrovyykh v Rossii. *Astrakhanskiy vestnik ekologicheskogo obrazovaniya*, 2015, 1(31): 42-50 (in Russ.).
 4. Niu X., Wang X., Zhang Y., Zhao Z., Fan E. Integration and application of sturgeon identification methods. *Biodiversity Science*, 2022, 30(6): 22034 (doi: 10.17520/biods.2022034).
 5. IUCN Biodiversity Assessment & Knowledge Team: Red List Unit. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Available: <https://www.iucnredlist.org/search?query=Sturgeon&search-Type=species>. Accessed: 05/01/2024.
 6. Bykov A.D., Brazhnik S.Yu. *Voprosy rybolovstva*, 2022, 23(3): 5-30 (doi 10.36038/0234-2774-2022-23-3-5-30) (in Russ.).
 7. Chebanov M.S., Galich E.V. *Rukovodstvo po iskusstvennomu vosproizvodstvu osetrovyykh ryb. Tekhnicheskie doklady FAO po rybnomu khozyaystvu i akvakul'ture. № 558* [Guidelines for the artificial propagation of sturgeons. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Reports No. 558]. Ankara, 2013 (in Russ.).
 8. FGBU «Glavrybvod». *Deyatel'nost'* [Activity]. Available: <https://glavrybvod.ru/>. Accessed: 05/01/2024 (in Russ.).
 9. Bugaev L.A., Nebesikhina N.A., Alimova A.Sh., Gaydamachenko V.N. *Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-tekhnicheskoy konferentsii, Vladivostok, 26-27 oktyabrya 2023 goda* [Proc. Int. Conf., Vladivostok, October 26-27, 2023]. Vladivostok, 2023: 140-146 (in Russ.).
 10. Shcherbakova V.D., Barmintseva A.E., Safronov A.S. *Materialy XI Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov, St. Petersburg, 25-26 sentyabrya 2023 goda* [Proc. XI Int. Conf. young scientists and specialists, St. Petersburg, September 25-26, 2023]. Moscow, 2023: 243-245 (in Russ.).
 11. Sudakova N.V., El'khetavi A., Vasil'eva L.M., Anokhina A.Z. *Tekhnologii pishchevoy i pererabatyvayushchey promyshlennosti APK — produkty zdorovogo pitaniya*, 2019, 2(28): 40-45 (in Russ.).
 12. GK «Agrikonsalt». *Rynok osetrovyykh: sostoyanie i perspektivy* [Sturgeon market: status and prospects]. Available: <https://agricos.ru/publikatsii/nashi-publikatsii/rynok-osetrovykh-sostoyanie-i-perspektivy/>. Accessed: 05/02/2024 (in Russ.).
 13. Pavlyuk A.A., Gorbenko E.V. *Sbornik tezisev dokladov uchastnikov pula nauchno-prakticheskikh konferentsiy, Sochi, 23-27 yanvarya 2020 goda* [Collection of abstracts of reports of participants of the pool of scientific and practical conferences, Sochi, January 23-27, 2020]. Kerch', 2020: 220-222 (in Russ.).
 14. Vasil'eva L.M. *Sbornik statey Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Akvakul'tura osetrovyykh ryb: problemy i perspektivy», Astrakhan', 10-12 oktyabrya 2017 goda* [Proc. Int. Conf. «Aquaculture of sturgeon fish: problems and prospects», Astrakhan, October 10-12, 2017]. Astrakhan', 2017: 7-10 (in Russ.).
 15. Wenne R. Microsatellites as molecular markers with applications in exploitation and conservation of aquatic animal populations. *Genes (Basel)*, 2023, 14(4): 808 (doi: 10.3390/genes14040808).
 16. Hauser L., Baird M., Hilborn R., Seeb L.W., Seeb J.E. An empirical comparison of SNPs and microsatellites for parentage and kinship assignment in a wild sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) population. *Mol. Ecol. Resour.*, 2011, 11: 150-161 (doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02961.x).
 17. Wilson A.B., Ashe J., Padron M., Hamilton H. Comprehensive genus-wide screening of seahorse microsatellite loci identifies priority species for conservation assessment. *Conserv. Genet. Resour.*, 2021, 13: 221-230. (doi: 10.1007/s12686-021-01198-4).
 18. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17: 6463-6471 (doi: 10.1093/nar/17.16.6463).
 19. Edwards A., Civitello A., Hammond H.A., Caskey C.T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *The American Journal of Human Genetics*, 1991, 49(4): 746-775.
 20. Baron E.E., Mário L.M., Verneque R.S., Coutinho L.L. Parentage testing and effect of misidentification on the estimation of breeding value in Gir cattle. *Genet. Mol. Biol.*, 2002, 25(4): 389-394 (doi: 10.1590/S1415-47572002000400006).
 21. Kuleung C., Baenziger P.S., Dweikat I. Transferability of SSR markers among wheat, rye and triticale. *Theor. Appl. Genet.*, 2004, 108(6): 1147-1150 (doi: 10.1007/s00122-003-1532-5).
 22. Yang W., Kang X., Yang Q., Lin Y., Fang M. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Anim. Sci. Biotechnol.*, 2013, 4(1): 2 (doi: 10.1186/2049-1891-4-2).
 23. Kozlova N., Bazelyuk N., Fayzulina D., Stonogina E. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khozyaystvo*, 2013, 3: 113-117 (in Russ.).
 24. Barmintseva A.E., Myuge N.S. *Genetika*, 2013, 49(9): 1093 (doi: 10.7868/S0016675813090038) (in Russ.).
 25. Ignashev A.A., Shcherbakova V.D., Borisov M.Ya., Barmintseva A.E., Dumnich N.V., Myuge N.S. *Transformatsiya ekosistem*, 2023, 6(4): 79-95 (doi: 10.23859/estr-230810) (in Russ.).
 26. Fazekas G., Kovács G., Sándor Z.J., Bogár K., Géczi A., Kovács B. Genetic characterization of

- endangered Sterlet (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus 1758) Gene Bank Broodstock, natural and cultured populations in Hungary. *Fishes*, 2024, 9: 201 (doi: 10.3390/fishes9060201).
27. Alimova A.Sh., Nebesikhina N.A., Abrosimova E.B. *Materialy Vserossiyskoy (natsional'noy) nauchno-prakticheskoy konferentsii «Aktual'nye problemy nauki i tekhniki», Rostov-na-Donu, 16-18 marta 2022 goda* [Proc. All-Russian (national) scientific and practical conference «Actual problems of science and technology», Rostov-on-Don, March 16-18, 2022]. Rostov-na-Donu, 2022: 133-134 (in Russ.).
 28. Hu Y., Liu X., Yang J., Xiao K., Wang B., Du H. Development and characterization of a duplex PCR assay in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) for genetic analysis. *Sci. Rep.*, 2020, 10(1): 3451 (doi: 10.1038/s41598-020-60401-y).
 29. Becker R.A., Wilks A.R., Brownrigg R., Minka T.P., Deckmyn A. Draw geographical maps. R package version 3.3.0. 2018. Available: <https://CRAN.R-project.org/package=maps>. No date.
 30. Nikipelov V.I., Kharzinova V.R., Volkova V.V., Nikipelova A.K., Bardukov N.V., Grozesku Yu.N., Zinov'eva N.A. *Izvestiya NV AUK*, 2024. 3(75): 273-282 (doi: 10.32786/2071-9485-2024-03) (in Russ.).
 31. Kalinowski S.T., Taper M.L. Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conservation Genetics*, 2006, 7(6): 991-995 (doi: 10.1007/s10592-006-9134-9).
 32. Keenan J.D., Hotez P.J., Amza A., Stoller N.E., Gaynor B.D., Porco T.C., Lietman T.M. Elimination and eradication of neglected tropical diseases with mass drug administrations: a survey of experts. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2013, 7(12): 2562 (doi: 10.1371/journal.pntd.0002562).
 33. Jombart T., Ahmed I. Adegnet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 3070-3071 (doi: 10.1093/bioinformatics/btr521).
 34. Wickham H. *Ggplot2: elegant graphics for data analysis (use R!)*. Springer, New York, 2009.
 35. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1984, 38(6): 1358-1370 (doi: 10.2307/2408641).
 36. Jost L. G(ST) and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 2008, 17: 4015-4026 (doi: 10.1111/j.1365-294x.2008.03887.x).
 37. Huson D.H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution*, 2006, 23(2): 254-267 (doi: 10.1093/molbev/msj030).
 38. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for statistical computing. Vienna, Austria, 2012. Available: <https://www.semanticscholar.org/paper/R%3A-A-language-and-environment-for-statistical-Team/659408b243cec55de8d0a3bc51b81173007aa89b>. No date.
 39. Sharma R., Kishore A., Mukesh M., Ahlawat S., Maitra A., Pandey A.K., Tantia M.S. Genetic diversity and relationship of Indian cattle inferred from microsatellite and mitochondrial DNA markers. *BMC Genet.*, 2015, 16: 73 (doi: 10.1186/s12863-015-0221-0).
 40. Elhaik E. Principal Component Analyses (PCA)-based findings in population genetic studies are highly biased and must be reevaluated. *Sci. Rep.*, 2022, 12: 14683 (doi: 10.1038/s41598-022-14395-4).
 41. Boryakova E.E., Kochetkov I.B. *Aktual'nye voprosy sovremennoy nauki*, 2009, 7-1: 6-11 (in Russ.).
 42. Garner B.A., Hoban S., Luikart G. IUCN Red List and the value of integrating genetics. *Conservation Genetics*, 2020, 21: 795-801 (doi: 10.1007/s10592-020-01301-6).
 43. Moghim M., Javanmard A., Pourkazemi M., Tan S., Panandam J., Kor D., Laloei F. Application of microsatellite markers for genetic conservation and management of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*, Borodin, 1897) in the Caspian Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, 2013, 29: 696-703 (doi: 10.1111/JAI.12195).
 44. Boscaro E., Pujolar J.M., Dupanloup I., Corradin R., Congiu L. Captive breeding programs based on family groups in polyploid sturgeons. *PLoS ONE*, 2014, 9: e110951 (doi: 10.1371/journal.pone.0110951).
 45. Song N., Nwafili S.A., Gao T.X. Genetic diversity and population structure of *Chrysiichthys nigrodigitatus* from Niger Delta based on AFLP analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, 39(4-6): 320-327 (doi: 10.1016/j.bse.2011.04.002).
 46. Abbas K., Zhou X., Li Y., Gao Z., Wang W. Microsatellite diversity and population genetic structure of yellowcheek, *Elopichthys bambusa* (Cyprinidae) in the Yangtze River. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2010, 38(4): 806-812 (doi: 10.1016/j.bse.2010.08.003).
 47. Cvijanovi G., Adnadevi T., Jari I., Lenhardt M., Mari S. Genetic analysis of sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) populations in the Middle and Lower Danube sections. *North-Western Journal of Zoology*, 2017, 13(1): 34-43.
 48. Pobedintseva M.A., Makunin A.I., Kichigin I.G., Kulemzina A.I., Serdyukova N.A., Romanenko S.A., Vorobieva N.V., Interesova E.A., Korentovich M.A., Zaytsev V.F., Mischenko A.V., Zadelenov V.A., Yurchenko A.A., Sherbakov D.Y., Graphodatsky A.S., Trifonov V.A. Population genetic structure and phylogeography of sterlet (*Acipenser ruthenus*, *Acipenseridae*) in the Ob and Yenisei river basins. *Mitochondrial DNA. Part A, DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*. 2019, 30(1): 156-164 (doi: 10.1080/24701394.2018.1467409).
 49. Fopp-Bayat D., Kuzniar P., Kolman R., Liszewski T., Kucinski M. Genetic analysis of six sterlet (*Acipenser ruthenus*) populations —recommendations for the plan of restitution in the Dniester River. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 2015, 14: 634-645.

50. Barmintseva A.E., Myuge N.S. *Genetika*, 2018, 54(2): 216-223 (doi: 10.7868/S0016675818020030) (in Russ.).
51. Slyn'ko E.E., Slyn'ko Yu.V. *Sbornik nauchnykh trudov po materialam Natsional'noy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Nauchno-prikladnye aspekty proizvodstva, pererabotki i veterinarno-sanitarnogo kontrolya sel'skokhozyaystvennoy produktitsii», Yaroslavl', 27-28 marta 2019 goda* [Proc. National scientific and practical conference with international participation «Scientific and applied aspects of production, processing and veterinary and sanitary control of agricultural products», Yaroslavl, March 27-28, 2019]. Yaroslavl', 2019: 150-154 (in Russ.).