

Исследование генетического разнообразия севрюги (*Acipenser stellatus*) Северного Каспия в 2012–2014 годы

Канд. биол. наук Е.Г. Макарова, канд. биол. наук Н.В. Козлова,
канд. философ. наук Н.Н. Базелюк – Каспийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства (ФГБНУ «КаспНИРХ»), kaspiy-info@mail.ru

Ключевые слова: севрюга, микросателлитные локусы, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность, индекс Гарза-Вильямсона, стадия «горлышка бутылки»

Представлены результаты генетического мониторинга севрюги Северного Каспия за 2012-2014 годы. Выявлен низкий уровень аллельного разнообразия и дефицит гетерозигот, свидетельствующие, вероятно, о прохождении популяции через стадию «горлышка бутылки».

Введение

Осетровые занимают особое место в ихтиофауне Каспийского моря и являются важнейшими объектами искусственного воспроизводства. Наблюдаемое в настоящее время сокращение численности естественных популяций осетровых приводит к необходимости увеличения объемов выпуска рыб, выращенных в аквакультуре, когда грамотная стратегия искусственного воспроизводства должна основываться на научно-достоверной информации о генетической структуре естественных популяций [1; 2].

Уровень генетического разнообразия позволяет оценить гетерозиготность [3]. Величина гетерозиготности изменяется

от 0 до 1, независимо от числа аллелей. Ожидаемая гетерозиготность (H_e) в свободно скрещивающейся популяции определяется по частотам аллелей [4] и близка к наблюдаемой гетерозиготности (H_o). Однако в популяциях, в которых частоты отклоняются от равновесия Харди-Вайнберга, эти показатели отличаются [3]. Если ожидаемая гетерозиготность выше наблюдаемой (положительное значение индекса фиксации Райта (F_{is}) [5; 6], то это свидетельствует о дефиците гетерозигот [7], вероятно, в результате инбредного скрещивания в популяции [8]. Кроме этого, мерой генетического разнообразия популяции или вида является эффективное число аллелей, поскольку



этот показатель зависит от доли полиморфных локусов, числа аллелей на локус и выравнивания частот аллелей [9].

При резком снижении численности популяции, в определенном поколении наблюдается так называемый эффект «горлышка бутылки», который выражается в снижении числа аллелей и более низкой гетерозиготности. Для более вариабельных локусов потеря числа аллелей происходит быстрее снижения гетерозиготности [3]. Если в дальнейшем численность популяции восстановится, будут фиксироваться снижение числа аллелей и инбредная депрессия. Эти изменения сохраняются на протяжении последующих поколений [4].

Поэтому, весьма актуальным становится изучение генетических изменений в естественных условиях обитания, вызванных прохождением популяции через «бутылочное горлышко» процессов. Наиболее удобно проводить мониторинг генетической изменчивости с помощью анализа микросателлитных локусов, поскольку они наследуются независимо и чувствительны к прохождению популяции через фазу низкой численности [10; 11].

Индекс Гарза-Вильямсона (индекс M) позволяет выявлять недавнеехождение популяции через «горлышко бутылки». Индекс M чувствителен к снижению численности популяции. При этом процессе число аллелей снижается быстрее, чем происходит изменение аллельного ранга. Значение индекса M очень низкое в популяциях, прошедших через «горлышко бутылки», и стремится к единице в стационарных популяциях. В период спада численности популяции частота определенных аллелей может резко и непредсказуемо меняться, происходит утеря тех или иных аллелей и резкое обеднение генетического разнообразия популяции. В результате этого процесса произойдет закрепление в генофонде наиболее часто встречающихся аллелей и исчезновение редких аллелей [12; 13].

Цель работы – оценка генетического разнообразия каспийской популяции севрюги, выловленной в Северной части Каспийского моря в 2012-2014 годах.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

- изучить генетическое разнообразие популяции севрюги на основе анализа панели пяти микросателлитных маркеров;
- дать оценку вероятности прохождения популяции севрюги через стадию низкой численности.

Материал и методы

Материалом для исследований служили пробы фрагментов плавников севрюги (*Acipenser stellatus*), выловленной в Северном Каспии. Выборка 2014 г. была представлена 22 особями, 2013 г. – 18 особями, 2012 г. – 14 особями. В выборке севрюги средняя масса и средняя длина составили 5,7±0,5 кг и 106,0±3,2/122±3,6 см соответственно.

Пробы спинных или грудных плавников рыб отбирали прижизненно, фиксировали в 96%-ом этаноле на научно-ис-

следовательских судах ФГБНУ «КаспНИРХ», с последующей перезаливкой в лаборатории физиологии и генетики рыб в научно-экспериментальном комплексе по молекулярно-генетическим исследованиям [14]. Все образцы сопровождалась протоколом сбора проб с подробным описанием видовой принадлежности, места вылова, пола и возраста особи, типа ткани и морфометрических параметров рыб.

Выделение тотальной ДНК из проб фрагментов плавников проводили стандартным солевым методом [15] с добавлением в солевой лизирующий буфер протеиназы K (Хеликон, Москва). Контроль качества ДНК осуществляли на спектрофотометре BioRad SmartSpec Plus. Выделенную ДНК хранили в морозильной камере при температуре –20°C.

Реакционная смесь полимеразно-цепной реакции (ПЦР) объемом 15 мкл, при проведении микросателлитного анализа (STR), состояла из следующих компонентов: реакционный буфер – 10 мМ (Силекс, Москва); MgCl₂ – 25 мМ (Силекс, Москва); dNTPs – 2,5 мМ (Силекс, Москва); термостабильная полимеразы – 5,0 U (Силекс, Москва); ДНК – 3 мкл; праймеры – 10 пМ (Applied Biosystems, США), деионизированная вода (milliQ) – до полного объема.

Микросателлитный анализ проводили по пяти локусам ядерной ДНК: An20, Afug41, Afug51, AoxD165 AoxD161-1 с флуоресцентными метками (табл. 1), условия проведения ПЦР были оптимизированы для вида *A.gueldenstadtii* [11; 16; 17; 18; 19].

Аmplификацию ДНК, выделенной из фрагментов плавников, осуществляли в термоциклерах BioRad C-1000 и BioRad S-1000.

Аmplификацию STR-локусов проводили в два этапа. Первый этап – денатурация при 94°C – 2 мин, затем диапазон уменьшения температуры отжига праймеров до 58-65°C, 7 циклов; второй этап – денатурация при 90°C – 20 секунд, диапазон уменьшения температуры отжига праймеров до 54-65°C, 40 циклов, повышение температуры до 70°C – 40 секунд, снижение температуры до 10°C – 15 секунд. Амплифицированные продукты подвергали капиллярному электрофоретическому разделению в генетическом анализаторе Genetic Analyzer (ABI PRIZM 3500) (Applied Biosystems) с использованием GeneScan 600 LIZ Size Standart (Applied Biosystems, США). Анализ STR-спектров проводили с использованием компьютерной программы «GeneMapper 4.1.».

Статистический анализ молекулярно-генетического полиморфизма был проведен с помощью надстройки GenAlEx6 к программному обеспечению MS Excel 2010 [20]. Уровни генетического разнообразия оценивали по следующим показателям: число аллелей (Na), число эффективных аллелей (Ne) [21], частоты аллелей, наблюдаемая (Ho) и ожидаемая гетерозиготность (He), индекс фиксации Райта (Fis), отражающий уровень инбридинга особи относительно популяции, и тест на соответствие генотипических частот равновесию

Таблица 1. Локусы для микросателлитного анализа

Локус	Последовательность (5'-3')	Флуоресцентная метка	Размер аллелей, п.н.
An20	F:AATAACAATCATTACATGAGGCT R:TGGTCAGTTGTTTTATTGAT	VIC	129-189
Afug41	F:TGACGCACAGTAGTATTATTATG R:TGATGTTTGCTGAGGCTTTTC	FAM	177-241
Afug51	F:ATAATAATGAGCGTGCTTTCTGTT R:ATTCGGCTTGCAGCTATTTA	VIC	252-296
AoxD165	F:TTTGACAGCTCCTAAGTGATACC R:AAAGCCCTACAACAAATGTCAC	PET	148-214
AoxD161-1	F:CATTGAGTATGAGACAGACACTC R:ATCTCAGGACTGCTGTGATTGG	FAM	284-336

Таблица 2. Распределение частот аллелей локусов An20 и AoxD161-1 в ядерной ДНК севрюги

Год	Аллели локуса An20, п.н.										Аллели локуса AoxD161-1, п.н.					
	129	137	141	145	149	153	165	169	177	181	304	308	312	316	320	324
2014	0,100	0,025	0,450	0,200	-	0,025	0,075	0,025	0,050	0,050	0,275	0,150	0,200	0,150	0,175	0,050
2013	-	0,031	0,625	0,125	0,063	-	-	0,031	0,094	0,031	0,313	0,250	0,252	0,062	0,063	0,063
2012	-	0,033	0,667	0,067	-	0,033	-	0,067	0,100	0,033	0,375	0,188	0,250	-	0,125	0,063

Жирным шрифтом выделены частоты доминирующих аллелей

Таблица 3. Распределение частот аллелей локуса Afug51 в ядерной ДНК севрюги

Год	Аллели, п.н.									
	252	256	264	268	272	276	280	284	288	292
2014	0,025	-	0,025	-	-	0,025	0,050	0,150	0,650	0,075
2013	-	0,033	0,033	-	0,033	-	0,100	0,035	0,633	0,133
2012	0,067	0,100	-	0,033	-	0,033	0,033	0,067	0,567	0,100

Жирным шрифтом выделены частоты доминирующих аллелей

Таблица 4. Распределение частот аллелей локуса Afug41 в ядерной ДНК севрюги

Год	Аллели, п.н.												
	193	197	201	205	209	213	217	221	225	229	237	241	245
2014	0,050	0,075	0,025	0,125	0,025	0,325	0,175	0,100	0,050	0,025	0,025	-	-
2013	0,029	0,176	-	0,147	0,059	0,294	-	0,088	0,059	0,118	-	0,029	-
2012	-	0,267	0,033	0,167	0,133	0,233	0,067	0,033	0,033	-	-	-	0,033

Жирным шрифтом выделены частоты доминирующих аллелей

Таблица 5. Распределение частот аллелей локуса AoxD165 в ядерной ДНК севрюги

Год	Аллели, п.н.														
	148	164	168	172	174	176	178	180	184	188	190	192	196	200	204
2014	0,100	-	0,075	-	0,025	0,020	-	0,150	0,200	0,050	-	0,150	0,100	0,075	0,050
2013	0,188	0,031	-	0,031	-	0,031	0,063	0,125	0,150	0,063	0,188	-	0,094	0,031	-
2012	0,200	-	0,100	-	-	-	-	0,167	0,233	0,067	0,167	-	0,033	0,033	-

Жирным шрифтом выделены частоты доминирующих аллелей

Харди-Вайнберга (HW), предложенный Гуо и Томсоном [22], в каждом локусе.

Индекс Гарза-Вильямсона (индекс M) был рассчитан в программе Arlequin 3.1 [12]. Значения индекса Гарза-Вильямсона ниже 0,7 свидетельствует о недавнем прохождении популяции через фазу низкой численности [23; 24; 25].

Результаты и обсуждения

Фрагментный анализ ядерной ДНК у севрюги, выловленной в 2014 г., выявил 44 аллеля в пяти исследованных локусах, в 2013 г. отмечено 40 аллелей, в 2012 г. – 37 аллелей (табл. 2-5). Наименее полиморфным в выборке 2014 г. оказался локус AoxD161-1 с размерным диапазоном от 304 до 324 п.н., такой же диапазон аллелей наблюдался в 2012 и 2013 годах. Однако в 2013 и в 2014 гг. локус был представлен 6 аллелями, в 2012 г. наблюдалось только 5 аллелей. В 2013 и в 2014 гг. присутствовал аллель размером 316 п.н., который не был выявлен в 2012 г. (табл. 2).

В локусе An20 в 2014 г. было выявлено 9 аллелей с размерным диапазоном 129-181 п.н., в 2012 и в 2013 гг. наблюдалось по 7 аллелей с диапазоном 137-181 п.н. Доминировал аллель 141 п.н. в исследуемые годы. В 2014 г. были выявлены аллели 129 п.н. и 165 п.н., не наблюдаемые в предыдущие годы (табл. 2).

При исследовании локуса Afug51 геномной ДНК севрюги, выловленной в 2012-2014 гг., отмечено преобладание аллеля 288 п.н. Локус был представлен 7 аллелями в 2013 и 2014 гг. с размерным диапазоном 252-292 п.н. и 256-292 п.н. соответственно, в 2012 г. наблюдали 8 аллелей (252-292 п.н.). Аллели

268 п.н. и 272 п.н. были зарегистрированы у севрюги только в 2012 и 2013 гг. соответственно (табл. 3).

Высокий полиморфизм (11 аллелей) в 2014 г. проявил локус Afug41 с размерным диапазоном аллелей 193-237 п.н. В 2012 и 2013 гг. в локусе Afug41 было зафиксировано по 9 аллелей с размерными диапазонами 197-245 п.н. и 193-241 п.н. соответственно. В 2014 г. в локусе доминировали аллели 213 п.н., как и в 2013 г. В 2012 в локусе Afug41 преобладали аллели 197 п.н. В 2012 и 2013 гг. у севрюги были отмечены редкие аллели 245 п.н. и 241 п.н. соответственно (табл. 4).

Локус AoxD165 характеризовался высоким полиморфизмом (11 аллелей) у севрюги, выловленной в Северной части Каспийского моря в 2013 и 2014 гг. с аллельными рангами 148-200 п.н. и 148-204 п.н. соответственно. В 2012 г. у севрюги данный участок ядерной ДНК был представлен 8 аллелями в диапазоне 148-200 п.н. В 2014 г. в локусе AoxD165 доминировал аллель 184 п.н., как и в 2012 году. В 2013 г. преобладали аллели 148 и 190 п.н. В 2014 г. были отмечены аллели 174, 192 и 204 п.н., не наблюдаемые в 2012-2013 гг. (табл. 5). Данные о видоспецифичных аллелях согласуются с результатами, описанными в работе Барминцевой и соавторов [19].

Анализ соответствия характера распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга по пяти локусам у севрюги, выловленной в Северном Каспии в 2012 и 2014 г. не выявил отклонений. В выборке 2013 г. отклонение от равновесия Харди-Вайнберга наблюдалось в локусе An20 (P<0,01) (табл. 6).

Эффективное число аллелей (Ne) – показатель, характеризующий локусы по частоте встречаемости аллелей, было ниже,

Таблица 6. Генетические показатели для микросателлитных локусов

Локус	Генетические показатели	2012	2013	2014
An20	N	14	16	19
	Na	7	7	9
	Ne	1,903	2,370	3,209
	Ho	0,500	0,375	0,579
	He	0,474	0,578	0,688
	Fis	-0,054	0,351	0,159
	индекс М	0,156	0,156	0,170
	HW	ns	0,005**	ns
Afug41	N	14	18	22
	Na	8	9	11
	Ne	5,091	6,353	6,585
	Ho	0,786	0,889	0,909
	He	0,804	0,843	0,848
	Fis	0,022	-0,055	-0,072
	индекс М	0,275	0,184	0,244
	HW	ns	ns	ns
Afug51	N	14	16	22
	Na	7	7	7
	Ne	2,497	2,338	2,390
	Ho	0,571	0,625	0,727
	He	0,599	0,572	0,582
	Fis	0,047	-0,092	-0,250
	индекс М	0,189	0,189	0,150
	HW	ns	ns	ns
AoxD165	N	14	17	22
	Na	8	11	10
	Ne	6,125	7,506	7,066
	Ho	0,929	0,824	0,909
	He	0,837	0,867	0,858
	Fis	-0,110	0,050	-0,059
	индекс М	0,151	0,208	0,175
	HW	ns	ns	ns
AoxD161-1	N	8	17	22
	Na	5	10	6
	Ne	3,879	6,881	5,319
	Ho	1,000	0,706	0,773
	He	0,742	0,855	0,812
	Fis	-0,347	0,174	0,048
	индекс М	0,238	0,435	0,286
	HW	ns	ns	ns

Примечение: N – число особей, Na – число аллелей, Ne – число эффективных аллелей, Fis – индекс фиксации Райта, Ho – наблюдаемая гетерозиготность, He – ожидаемая гетерозиготность, M – индекс Гарза-Вильямсона, HW – значимость нарушения равновесия Харди-Вайнберга, приведены: ** – P<0,01, NS – различия не достоверны

чем абсолютное число аллелей (Na) на локус, во всех исследованных выборках (табл. 6). Эффективное число аллелей оценивает величину, обратную гомозиготности, и представляет собой такое число аллелей, при одинаковой частоте которых в популяции гетерозиготность будет равна фактической.

Во всех проанализированных выборках эффективное число аллелей было ниже, чем абсолютное число аллелей на локус, что согласуется с результатами, полученными при исследовании других видов животных и растений [9].

В локусе An20 наблюдаемая гетерозиготность (Ho) варьировала от 0,375 до 0,500, ожидаемая – от 0,474 до 0,688 в исследуемый период. Индекс фиксации Райта характеризовался отрицательным значением (Fis = -0,054) в 2012 г., свидетельствующим об избытке гетерозигот, в остальных выборках индекс фиксации Райта имел положительные значения, что свидетельствовало о дефиците гетерозигот (табл. 6).

В локусе Afug41 наблюдаемая гетерозиготность (Ho) варьировала от 0,786 до 0,909, ожидаемая – от 0,804 до 0,848. Дефицит гетерозигот наблюдался только в 2012 г. (Fis=0,022), в остальных выборках наблюдался избыток ге-

терозигот (Fis = -0,055 (2013 г.) и -0,072 (2014 г.) (табл. 6).

В локусе Afug51 наблюдаемая гетерозиготность (Ho) варьировала от 0,571 до 0,727, ожидаемая – от 0,572 до 0,599. Дефицит гетерозигот наблюдался только в выборке 2012 г. (Fis=0,047), эксцесс был выявлен по данному локусу в остальных исследуемых выборках 2013 и 2014 гг. (Fis = -0,092 и -0,250 соответственно) (табл. 6).

В локусе AoxD165 наблюдаемая гетерозиготность (Ho) составила 0,824-0,929, ожидаемая гетерозиготность колебалась от 0,837 до 0,867 в выборках исследованных лет. Дефицит гетерозигот наблюдался только в выборке 2013 г. (Fis= 0,050), в выборках 2012 и 2014 гг. был отмечен избыток гетерозигот (Fis= -0,110 и -0,059 соответственно) (табл. 6).

В локусе AoxD161-1 наблюдаемая гетерозиготность (Ho) принимала значения от 0,706 до 1,000, He – от 0,742 до 0,855. Избыток гетерозигот наблюдался только в выборке 2012 г. (Fis= -0,347), в выборках 2013 и 2014 гг. был отмечен дефицит гетерозигот (Fis=0,174 и 0,048 соответственно) (табл. 6).

Индекс Гарза-Вильямсона (индекс M) у севрюги в локусе An20 составил 0,156-0,170 в выборках 2012, 2013 и 2014 го-

дов. В локусе Afug41 индекс Гарза-Вильямсона варьировал от 0,184 до 0,275 в выборках исследованных лет. В локусе Afu51 индекс M составил 0,150–0,189, в локусе AoxD165 северюги он составил 0,151–0,208. В локусе AoxD161-1 индекс M был выше, чем с остальных локусах и колебался от 0,238 до 0,435. Низкое значение индекса M (ниже 0,7) во всех исследованных выборках свидетельствовало о прохождении популяции через фазу низкой численности и снижении генетического разнообразия.

Таким образом, фрагментный анализ ядерной ДНК северюги, выловленной в Северном Каспии, показал генетическое разнообразие по пяти микросателлитным локусам. Отмечены высокие уровни аллельного полиморфизма по микросателлитным локусам An20, Afug41, Afug51, AoxD165, AoxD161-1 на фоне низкого уровня наблюдаемой гетерозиготности по двум локусам (An20, Afug51). Высокий уровень наблюдаемой гетерозиготности был отмечен по трем локусам (Afug41, AoxD165 и AoxD161-1). Отсутствие дефицита гетерозигот наблюдалось в исследуемые годы в отдельных локусах (в 2012 г. – в An20, AoxD165 и AoxD161-1, в 2013 г. – Afug41 и Afug51, в 2014 г. – Afug4, Afug51 и AoxD165). Дефицит гетерозигот, выявленный у северюги, был наиболее выражен в 2013 г. (по трем локусам An20, AoxD165 и AoxD161-1).

Расчет индекса фиксации Райта (Fis), отражающего инбридинг особи относительно популяции, показал наличие близкородственного скрещивания и, как следствие, дефицита гетерозигот. Низкое значение индекса Гарза-Вильямсона во всех исследованных выборках свидетельствовало о прохождении популяции через фазу низкой численности и снижении генетического разнообразия.

Основной причиной возникновения выявленной ситуации в популяции исследованной северюги Северного Каспия, вероятно, является снижение интенсивности обмена генетическим материалом между локальными популяциями, вследствие снижения численности особей вида. Большой геологический возраст осетровых и стратегия выживания свидетельствуют о пластичности вида и наличии в организме осетровых рыб адаптационных возможностей, необходимых для длительного существования.

Описанные в работе методы используются для ежегодного мониторинга генетического разнообразия осетровых, включая северюгу, в Каспийском море и могут применяться для паспортизации производителей аквакультуры.

Приведенные результаты исследований используются для оценки разнообразия северюги в Каспийском море.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алтухов Ю.П. Внутривидовое генетическое разнообразие: Мониторинг и принципы сохранения // Генетика. 1995. Т. 31. № 10. С. 1331-1357.
2. Рябова Г.Д., Климонов В.О., Афанасьев К.И., Рубцова Г.А., Москалейчук Ф.Ф. Влияние рыбоводства на генотипические и фенотипические характеристики волжской поздней яровой северюги // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. М.: ВНИРО, 2006. С. 213–216.
3. Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
4. Айала Ф. Введение в популяционную и эволюционную генетику. М.: Изво Мир, 1984. 230 с.
5. Wright S. The genetical structure of populations // Ann.Eugen. 1951. V. 15. P. 323-354.

6. Long J.C. The allelic correlation structure of Gainj and Kalam speaking people. I. The estimation and interpretation of Wright's F-statistics // Genetics. 1986. V. 112. P. 629-647.
7. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure // Evolution. 1984. V. 38(6). P. 1358-1370.
8. Сурсо М.В. Генетический полиморфизм популяций хвойных европейского севера // Изв. Самарского научного центра РАН. 2009. Т. 11. № 1(3). С. 389-393.
9. Столповский Ю.А., Шимиит Л.В., Кол Н.В., Евсюков А.Н., Рузина М.Н., Чургуй-Оол О.И., Сулимова Г.Е. Анализ генетической изменчивости и филогенетических связей у популяций тувинской короткожирнохвостой овцы с использованием ISSR-маркеров // Сельскохозяйственная биология. 2009. № 6. С. 34-43.
10. Kimmel M., Chakraborty R., King J.P., Bamshad M., Watkins W.S., Jorde L.B. Signatures of population expansion in microsatellite repeat data // Genetics. 1998. V. 148. P. 1921–1930.
11. King J.P., Kimmel M., Chakraborty R. A power analysis of microsatellite-based statistics for inferring past population growth // Mol. Biol. Evol. 2000. V. 17. P. 1859–1868.
12. Garza J.C., Williamson E.G. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci // Mol Ecol. 2001. V. 10. P. 305-318.
13. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software for population genetics data analysis // Evol. Bioinformatics Online. № 1. 2005. P. 47-50.
14. Мюге Н.С., Барминцева А.Е., Расторгуев С.М., Мюге В.Н., Барминцев В.А. Полиморфизм контрольного региона митохондриальной ДНК восьми видов осетровых и разработка системы ДНК-идентификации видов // Генетика. 2008. Т. 44. С. 1-7.
15. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt – extraction of high quality genomic DNA for PCR – based techniques // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25(20). P. 4692-4693.
16. Zane L., Patarnello T., Ludwig A. et al. Isolation and characterization of microsatellites in the Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) // Mol. Ecol. Notes. 2002. V. 2. P. 586–588.
17. Welsh A.B., Blumberg M., May B. Identification of crosatellite loci in lake sturgeon, *Acipenser fuland* their variability in green sturgeon, *A. medirostris* // Mol. Ecology Notes. 2003. V. 3. P. 47–55.
18. Henderson-Arzapalo A., King T.L. Novel microsatellimarkers for Atlantic sturgeon (*Acipenser* population delineation and brood stock management // Mol. Ecology Notes. 2002. V. 2. P. 437–439.
19. Барминцева А.Е., Мюге Н.С. Использование микросателлитных локусов для установления видовой принадлежности осетровых (*Acipenseridae*) и выявления особей гибридного происхождения // Генетика. 2013. Т. 49(9). С. 1093–1105.
20. Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecology Notes. 2006. V. 6. P. 288–295.
21. Kimura M., Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics (US). 1964. Vol. 49. P. 725–738.
22. Guo S., Thompson E. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles // Biometrics. 1992. V.48. P. 361-372.
23. Бондарь Е.И. Генетические процессы в природных изолированных популяциях гольцов рода *Salvelinus*: автореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток, 2010. 28 с.
24. Бакаева С.С. Современное состояние популяций крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Güld.) в восточной части ареала: метапопуляционная структура, биотопическая приуроченность, генетическое разнообразие: автореф. дис. канд. биол. наук. Пенза, 2013. 24 с.
25. Peery M.Z., Kirby R., Reid B.N., Stoelting R., Doucet-Béer E., Robinson S., Vásquez-Carrillo C., Pauli J.N., Palsbøll P.J. Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines // Mol. Ecol. 2012. V. 21(14). P. 3403-3418.

The study of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) genetic diversity in the northern Caspian Sea during 2012-2014

Makarova E.G., PhD, Kozlova N.V., PhD, Bazeljuk N.N., PhD – Caspian Research Institute for Fisheries, kaspjy-info@mail.ru

In the article, the results of stellate sturgeon genetic monitoring in the Northern Caspian Sea during 2012-2014 are presented. The low level of allelic diversity and deficiency of heterozygote are revealed. This probably testifies to the stage of "bottle neck" in the population developing.

Key words: stellate sturgeon, microsatellite locus, observed and expected heterozygosity, the index of the Garza-Williamson, stage of "bottle neck"