

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ
ВНИРО

ПРИБРЕЖНЫЕ ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ

Сборник научных трудов

Москва 1999

БИОХИМИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕГУЛИРОВАНИЯ ПРОМЫСЛА МОРСКИХ ЕЖЕЙ РОДА *Strongylocentrotus*

Жуковская Е.А., Кодолова О.П., Правдухина О.Ю.,
Переладов М.В., Манюров И.Р.

Правильные ежи рода *Strongylocentrotus* в настоящее время являются объектом широкого промысла. В водах России промысел морских ежей ведется не более 10 лет. Тем не менее, при нарастании темпов промысла, уже сейчас остро встал вопрос о его регуляции. Регулирование промысла морских ежей невозможно без учета их видовой принадлежности и популяционно-генетической структурированности каждого промыслового вида. Знание этих параметров дает возможность определять родственные связи скоплений, источники их пополнения и прогнозировать объемы запасов для регулируемого промысла.

Тем не менее, вопрос видовой принадлежности морских ежей в основных районах промысла (юго-западное побережье острова Сахалин) до сих пор остается спорным. Так, например, по мнению А.М. Дьяконова (1958) у юго-западного побережья острова Сахалин обитают 5 видов р.*Strongylocentrotus*: *S.sachalinicus*, *S.echinoides*, *S.intermedius*, *S.pulchellus*, *S.droebaechiensis*. Однако, М. Йенсен (Jensen, 1974), проведя ревизию этого рода, рассматривает виды *S.sachalinicus*, *S.echinoides*, *S.droebahiensis sachalinicus* как один морфологически вариабельный вид – *S.pallidus*, а В.С. Левин и С.В. Бакулин (1984) на основании исследования изменчивости диагностических морфологических признаков, приходят к выводу, что *S.pulchellus* и *S.intermedius* представляют собой единый вид с приоритетным названием *S.intermedius*. Основываясь на работах М. Йенсен (Jensen, 1974), В.С. Левина и С.М. Бакунина (1984) можно было бы предположить, что у юго-западного побережья острова Сахалин обитают всего два вида р.*Strongylocentrotus* – *S.intermedius* и *S.pallidus*, но В.И. Фадеевым и В.В. Ивиным (1985) в этом же районе отмечены *S.nudus*, а К.Г. Гамизяновым (1981) обнаружены скопления вида этого рода, который он обозначил как *Str.sp.*

Таким образом, даже на таком ограниченном участке шельфа, как юго-западное побережье Сахалина, дискутируется видовой состав р.*Strongylocentrotus*. Что же касается морского побережья России в целом, то число видов этого рода колеблется между 5 и 12 в зависимости от точки зрения автора. Причина столь значительных расхождений во взглядах на видовой состав р.*Strongylocentrotus* очевидно кроется в индивидуальной изменчивости диагностических морфологических признаков (Дьяконов, 1946; Левин, Бакулин, 1984; Бажин, 1986).

Однако, степень морфологических различий не является решающим критерием при определении видового статуса (Майр, 1973). Если следовать концепции биологического вида, рассматривающей вид как единый обособленный уникальный защищенный генофонд, то, очевидно, что для характеристики и выделения видов следует искать признаки, которые бы отражали как общность его генетической программы для всех особей, так и его генетическую уникальность. Если для идентификации вида применяются морфологические признаки, то очевидно, что характер и масштаб морфологического различия должен отражать генетическую уникальность вида.

Очевидно, наряду со всеми общепринятыми методиками желательно было бы применить такой метод исследования, который с одной стороны может непосредственно отражать геном, а с другой – достаточно прост, экономичен и позволяет использовать любой объем материала.

В настоящее время для исследования генетической уникальности вида все чаще привлекают методы электрофоретического сравнения белков. Генетическая информация, закодированная в нуклеотидной последовательности ДНК структурных генов преобразуется в процессе трансляции в последовательность аминокислот, образующих полипептиды. Таким образом, белки находятся под непосредственным генным контролем.

Примерно с 50-х годов появляются работы, посвященные видоспецифичности электрофоретических спектров белков. Эти работы идут широким фронтом на самых разных группах животных, например, на простейших (Corbett, 1970), медузах (Lin, Zubkoff, 1973), олигохетах (Milbrink, Nyman, 1973), моллюсках (Wright, 1959; Кодолова, Логвиненко, 1973, 1974), насекомых (Whitmore, Gilbert, 1974), рыбах (Tsuyuki et al, 1965), амфибиях (Flindt, Hemmer, 1973), пресмыкающихся (Engelmann, Kabisch, 1973), птиц (Feduccia, 1970), млекопитающих (Valdivisio, Tamsitt, 1974). Появляются работы, авторы которых, обобщая данные исследования и высоко оценивая метод электрофореза белков, заявляют о возможности и необходимости использования этого метода в целях исследования видообразования и ревизии зоологических таксонов (Avisé, 1974; Алтухов, 1975).

Одним из факторов дальнейшего успеха и оптимизации приложения электрофореза белков в области зоологической систематики была, по мнению Ф. Айала и Дж. Кайгера (1988), разработка математических методов интерпретации электрофоретических данных, позволивших количественно оценивать различия между группами животных и, соответственно, генетические изменения, происходящие в процессе видообразования. В работах 80-х – 90-х годов уже широко использована математическая обработка электрофоретических данных, включающая определение коэффициентов (индексов) генетического сходства и различия, и выводы сделаны авторами исключительно на ее основе (Логвиненко и Кодолова, 1979; Lessios, 1981; Фирсман, Павленко, 1987; Nishioka et al, 1987; Limpus et al, 1988; Zink et al, 1988; Miyazaki, Hirabayashi, 1989; Mulder et al, 1990).

Существуют два направления в области приложения биохимико-генетических методов для целей систематики:

1. Оценка генетической дифференциации организмов путем сравнения частот аллелей различных локусов (Nei, 1972).

2. Оценка генетической дифференциации организмов путем прямого сравнения электрофоретических спектров белков (электрофореграмм) с учетом идентичности фракций по положению и интенсивности (Shaw, 1970).

В первом случае используют, как правило, аллозимные системы. Однако для корректной работы нужно не менее 20 локусов с установленной системой наследования и вычисленной частотой каждого аллеля. Это представляет значительную методическую сложность, требует больших объемов экспериментального материала и расходов на реактивы для специфического окрашивания. При неправильном определении системы наследования ошибочно определяются частоты аллелей и в результате можно получить необъективную информацию о генетических дистанциях между сравниваемыми группами.

Во втором случае используют неспецифически окрашенные, так называемые «общие» белки различных тканей. При этом, техника и разрешимость метода должна быть достаточна высока и фореграмма должна включать не менее 20 фракций.

Б.М. Логвиненко (1983, 1988) был разработан метод электрофоретического сравнения общих водорастворимых белков в разных режимах электрофореза с последующей статистической обработкой электрофоретических индексов сходства. Он основан на том, что при изменении концентрации акриламида в разделяющем геле меняется положение и число фракций. Поэтому, в результате серии экспериментов, мы получаем более репрезентативную выборку белков для вычисления индексов сходства и исследования их изменчивости. При этом, необходимым условием является сравнение спектров попарно только внутри одного блока, для чего разработаны специальные схемы эксперимента. В результате применения этих схем спектр каждого исследуемого вида находится рядом с каждым другим. Это облегчает сравнение фракций при анализе материала.

При сравнении спектров рассчитывают индекс электрофоретического сходства, представляющий выраженное в процентах отношение суммы идентичных фракций к общему числу фракций в двух сравниваемых спектрах (Czekanowski, 1932; Sorensen, 1948). Это соотношение выражается формулой $(2C/(A+B)) \times 100$, где С – число идентичных фракций для каждого спектра, А и В общее число фракций в сравниваемых спектрах. Идентичными считают фракции, занимающие одинаковое положение на спектре и имеющие равную интенсивность. В случаях когда несколько различается интенсивность, либо положение фракций смещено, но частично перекрывается, сходство берут как дробное число от 0,1 до 0,9, в зависимости от степени перекрывания и различия в интенсивности. По серии экспериментов в разных условиях электрофореза вычисляют среднее значение индексов сходства (M), ошибку средней (m), среднее

квадратичное отклонение (σ), коэффициент вариации (C.V.) для каждой сравниваемой пары.

Для примера, на рис. 1 приведены результаты статистической обработки индексов сходства [Логвиненко и др., 1984], полученных при сравнении экземпляров дождевых червей семейства Lumbricidae, относящихся к разным видам и родам, в самостоятельности которых, в целом, никто не сомневается. На диаграмме четко видны 3 группы. В первую группу (от 76,6 до 100 при средних значениях от 87,48 до 90,68) вошли индексы сходства экземпляров одного и того же вида, во вторую группу (от 52,5 до 70,3 при средних значениях от 58,53 до 62,24) вошли индексы сходства, полученные при сравнении экземпляров разных видов одного и того же рода, в третью группу (от 26,9 до 46,4 при средних значениях от 34,20 до 41,55) индексы сходства экземпляров разных родов. Лимиты индексов сходства этих трех групп не перекрываются. Таким образом, используя сравнительный электрофорез водорастворимых общих белков с последующей статистической обработкой индексов сходства были получены три уровня сходства – внутривидовой, видовой и родовой, четко, без переходов, различающиеся между собой.

Такие же дискретные различия между уровнями сходства были получены при статистической обработке электрофореграмм мышечных водорастворимых белков бесхвостых амфибий, относящихся к 26 видам разных родов и семейств, видовая и родовая самостоятельность которых в большинстве случаев не вызывала сомнений [Логвиненко, Прялкина, 1981; Прялкина, 1985, 1989]. Подобным же образом были проведены сравнения ряда зоологических видов самых разных групп животных [Логвиненко, Кодолова, 1983а, б; Логвиненко и др., 1984; Логвиненко, Кодолова, 1988; Логвиненко и др., 1988].

Во всех случаях были получены дискретные различия между внутривидовым, видовым и родовым уровнем сходства. При этом необходимо отметить, что у всех исследованных групп животных средние значения внутривидового сходства колеблются от 80 до 100 %, средние значения видового сходства 50 – 60 %, средние значения родового сходства 20 – 30%. Эти данные соответствуют средним значениям внутривидового, видового и родового уровня, встречающимся в мировой литературе [Айала, 1988; Avise, 1975]. Таким образом можно утверждать, что метод электрофоретического сравнения белковых спектров животных со статистической обработкой данных позволяет объективно определять видовую принадлежность исследуемого объекта. В данном сообщении рассматривается возможность использования сравнительного электрофоретического анализа общих белков для решения некоторых вопросов систематики морских ежей рода *Strongylocentrotus*.

Материалом для исследования послужили 4 выборки морских ежей р.*Strongylocentrotus*, собранные в Татарском проливе у юго-западной части острова Сахалин (рис. 2). Морских ежей живыми доставляли в лабораторию, препарировали и хранили в холодильнике при температуре -18°C

Для электрофоретических исследований использовали ткань кишечника. Непосредственно перед экспериментом ткань растирали с кварцевым песком и гомогенизировали с дистиллированной водой в соотношении 1:1,5. Гомогенат центрифугировали ($g = 35000$ м/сек) в течение 45 минут с охлаждением. Для анализа брали надосадочную жидкость, смешанную с 60 % рас-

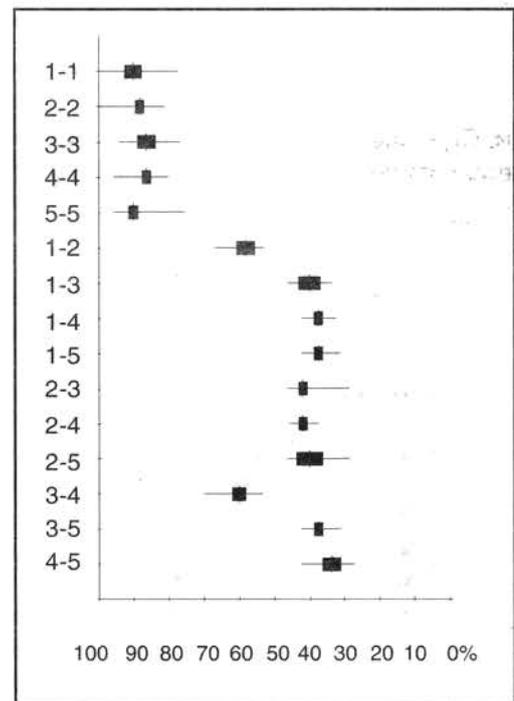


Рис.1. Графическое сравнение индексов сходства электрофореграмм внутри и между видами дождевых червей сем. Lumbricidae (Логвиненко и др., 1984). 1 - *Lumbricus terrestris*, 2 - *L. rubellus*, 3 - *Nicodrillus caliginosus*, 4 - *N. longus*, 5 - *Eisenia foetida*. По вертикали - сравниваемые пары, по горизонтали - шкала сходства. Тонкая горизонтальная линия - лимиты индексов, вертикальная линия - средняя, черный прямоугольник - две ошибки средней

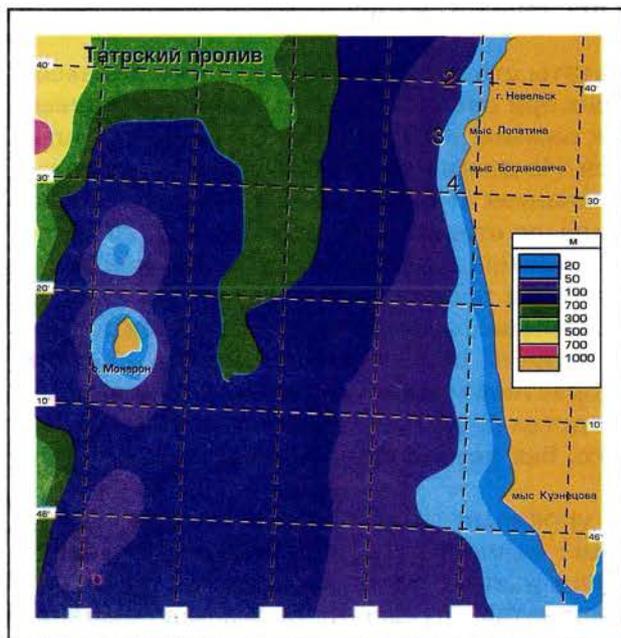


Рис.2. Карта-схема расположения точек взятия выборок морских ежей р. *Strongylocentrotus* на акватории юго-западного побережья о. Сахалин (Японское море). 1 - глубина 3-4 м, 2 - глубина 50 м, 3 - глубина 50 м, 4 - глубина 7-8 м

ки. Одновременную фиксацию и окраску белка проводили 0,2% кумасси R-250 в 40% растворе этилового спирта, включающем 4% уксусной кислоты. Полиакриламидные блоки после окраски отмывали 7% раствором уксусной кислоты.

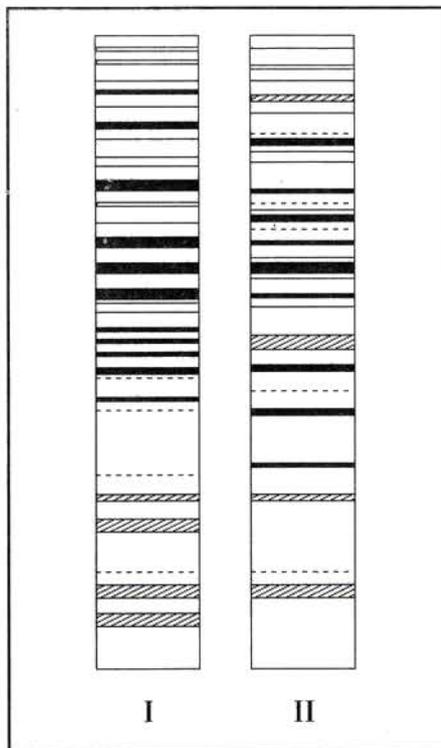


Рис.3. Схемы электрофореграмм общих белков кишечника морских ежей р. *Strongylocentrotus*. I - верхний горизонт, II - нижний горизонт

твором сахарозы на трис-фосфатном буфере (рН – 6,7) в соотношении 1:2.

Электрофорез проводили в вертикальных пластинах (блоках) полиакриламидного геля с системой прерывистых буферов. Каждая пластина состояла из нижнего разделяющего геля, приготовленного на трис-хлоридном буфере (рН–8,9) и верхнего концентрирующего геля, приготовленного на трис-фосфатном буфере (рН–6,9). Концентрация акриламида в концентрирующем геле во всех вариантах опыта была 3,7%. В разделяющем геле концентрация акриламида, в зависимости от эксперимента составляла 11%; 12%; 12,7%; 15%. В электродных сосудах использовали трис-глициновый буфер (рН–8,3). В качестве метки, показывающей скорость движения молекул, использовали бром-фенол голубой. До вхождения в нижний разделяющий гель устанавливали напряжение 200 В при силе тока 80 – 100 мА, после вхождения 400 В при 140 – 160 мА. При концентрации акриламида 11%; 12%; 12,7% электрофорез заканчивали сразу после выхода метки из разделяющего геля, при концентрации 15% – через 20 минут после выхода метки

Порядок внесения проб, сравнение электрофореграмм и статистическая обработка материала была проведена по методике, предложенной Б.М. Логвиненко (1983а).

На рис. 3 представлены схемы электрофореграмм морских ежей р. *Strongylocentrotus* из верхнего и нижнего горизонта, полученные в одном из вариантов опыта (концентрация акриламида – 12%). Различия между электрофореграммами наблюдаются во всех участках спектра. Подобные результаты получены и в остальных вариантах опыта.

Число фракций на фореграммах колеблется, в зависимости от вариантов опыта, между 17 и 37 при амплитуде средних значений от 25,89 до 29,12 (табл.1), что свидетельствует о хорошей разрешимости метода, вполне достаточной для надежности результатов сравнений. Статистическое сравнение выборок по числу фракций выявило ряд достоверных различий. Однако различия распределены мозаично и не связаны, прежде всего, с глубиной местообитания. Так, выборка с глубины 50 м (N 2) не отличается достоверно от обеих мелководных выборок (N1 и N4), но с вероятностью больше 0,95 отличается от второй глубинной выборки (N 3). Предыдущими исследованиями на других видах животных (черви, моллюски), методом двухфакторного дисперсионного анализа было показано, что число фракций на фореграммах, в пределах сравнительно близкой группы не является видоспецифичным, а зависит от условий электрофо-

реза (Логвиненко, Кодолова, 1983; Логвиненко и др., 1984). Применительно к нашему исследованию можно отметить, что, несмотря на некоторые различия по средним, лимиты числа фракций полностью перекрываются, и ни в одном случае мы не можем выделить дискретно по данному признаку какую-либо выборку из ряда других или объединить их в какие либо группы.

Таблица 1. Обобщенные результаты статистической обработки числа фракций на электрофореграммах морских ежей рода *Strongylocentrotus*

№ выборки	N	Лимиты	$M \pm m$	σ	C.V.
1	83	19-34	25.89 ± 04	3.10	12.0
2	61	17-37	27.18 ± 0.1	4.75	17.5
3	17	24-33	29.12 ± 0.5	2.67	9.2
4	35	25-32	28.02 ± 0.9	1.69	6.0

Места сбора выборок на рисунке 2.

В таблице 2 приведены результаты статистической обработки индексов сходства электрофореграмм общих белков для каждого варианта сравнения при всех вариантах концентрации акриламида в геле. Как видно из этих данных, пределы колебаний индексов сходства сравниваемых пар варьируют достаточно широко: от 20,4 до 100 при средних значениях от 32,98 до 86,43.

Таблица 2. Результаты статистической обработки индексов сходства электрофореграмм общих белков морских ежей рода *Strongylocentrotus*

Варианты сравнений	Число сравнений	Лимиты индексов	$M \pm m$	σ	C.V.
1-1	42	64.0-100	86.43 ± 1.09	7.11	8.2
2-2	35	61.7-94.3	77.20 ± 1.51	8.93	11.6
3-3	17	73.7-92.6	82.01 ± 1.23	5.10	6.2
4-4	34	72.4-96.1	86.08 ± 1.08	6.30	7.3
1-2	36	20.4-42.8	32.98 ± 0.98	5.48	16.6
1-3	2	29.4-39.6	34.50 ± 5.09	7.21	20.9
1-4	13	71.7-100	81.83 ± 2.12	7.67	9.4
2-3	4	77.6-96.0	85.12 ± 3.98	7.96	9.3
2-4	4	32.0-40.0	36.48 ± 1.66	3.32	9.1
3-4	3	29.6-38.9	33.03 ± 2.95	5.10	15.5

Одноименные варианты (1-1 и т.д.) – сравнение экземпляров внутри одной выборки. Разноименные варианты (1-2 и т.д.) – сравнение экземпляров из разных выборок. Места сбора выборок на рисунке 2.

На рис. 4 приведено графическое изображение средних значений, их ошибок и лимитов индексов сходства для каждого варианта сравнений. Судя по представленным данным все полученные индексы сходства можно разбить на 2 группы.

В первую группу вошли индексы сходства электрофореграмм, полученных при сравнении экземпляров одной выборки, а также при сравнении экземпляров разных выборок одного горизонта. Индексы сходства этой группы варьируют от 61,7 до 100, при средних значениях от 77,20 до 86,43. Несмотря на ряд достоверных различий (33,3% случаев сравнения) между средними значениями индексов этой группы, лимиты индексов всех вариантов сравнений перекрываются, а средние значения, полученные при сравнении выборок одного и того же горизонта (1-4, 2-3), вообще достоверно не отличаются от полученных при сравнении внутри выборок (1-1, 2-2, 3-3, 4-4).

Во вторую группу вошли индексы сходства экземпляров выборок разных горизонтов. Индексы сходства данной группы варьируют от 20,4 до 42,8 при средних значениях от 32,98 до 34,50. Внутри этой группы средние индексы сходства статистически не различаются.

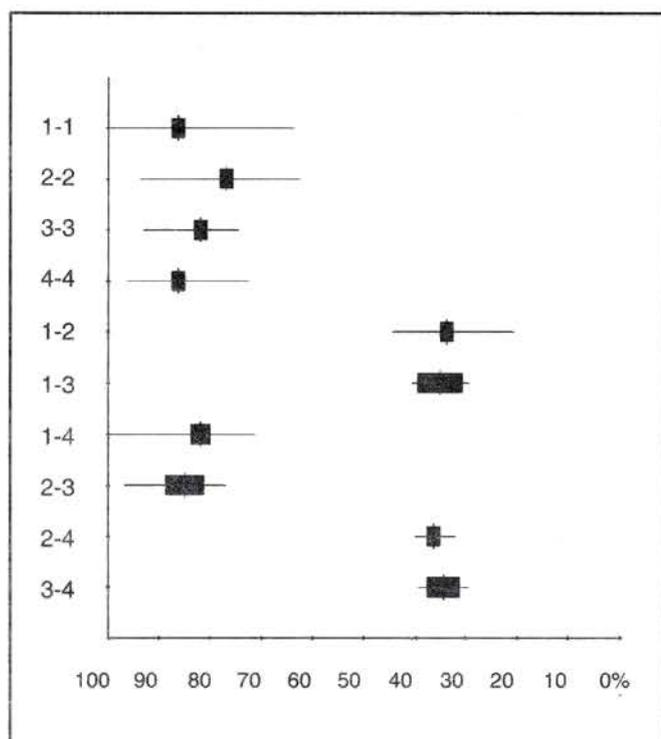


Рис. 4. Графическое сравнение индексов сходства электрофореграмм внутри и между выборками морского ежа р. *Strongylocentrotus*. По вертикали варианты сравнений, по горизонтали - шкала сходства. Тонкая горизонтальная линия - лимиты индексов, вертикальная линия - средняя, черный прямоугольник - две ошибки средней. Места взятия выборок на рис. 2

Поэтому, в соответствии с нашими результатами, исследованные нами экземпляры, безусловно, относятся к двум различным видам, один из которых обитает в верхнем горизонте шельфа, а другой - в значительно более нижнем. Используя определительные таблицы А.М. Дьяконова (1949), работы М. Йенсен (Jensen, 1974), В. Фадера (Vader et al, 1986), А.Г. Бажина (1995), мы считаем, что исследованные экземпляры верхнего горизонта (выборки N1 и N4) являются представителями вида *S.intermedius*, а экземпляры выборок нижнего горизонта (N2 и N3) относятся к виду *S.pallidus*. Оба эти вида признаны в настоящее время рядом авторов как самостоятельные, валидные для р. *Strongylocentrotus* и оба (как указывалось ранее) в соответствии с

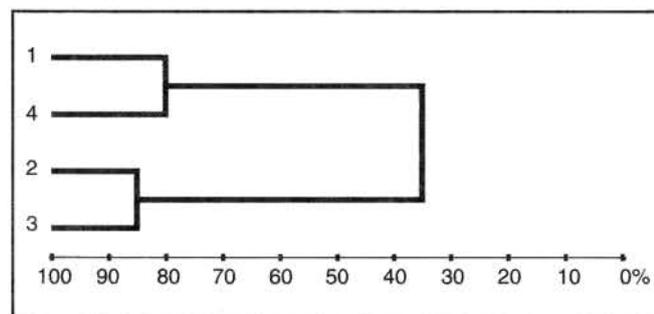


Рис. 5. Дендрограмма, построенная на основании индексов сходства между выборками. Места взятия выборок на рис. 2

рядом исследований считаются характерными для юго-западного побережья Сахалина. Наши исследования согласуются с данной точкой зрения, однако вопрос о родовой принадлежности этих видов требует дальнейших исследований.

Таким образом, полученные данные показывают, что использование сравнительного электрофоретического анализа общих водорастворимых белков ткани кишечника с соответствующей статистической обработкой материала позволяет четко и дискретно разграничить внутривидовой и видовой уровень при таксономических исследованиях морских ежей и является весьма перспективным для изучения видовой состава семейства *Strongylocentridae*.

Как видно из приведенного материала, лимиты индексов сходства этих групп не перекрываются. Таким образом, при статистическом сравнении индексов сходства общих водорастворимых белков ткани кишечника морских ежей рода *Strongylocentrotus*, нами на имеющемся материале выявлены два дискретных уровня генетического сходства: I - для экземпляров одной выборки и разных выборок с одного горизонта (верхнего или нижнего), II - для экземпляров выборок с разных горизонтов.

На дендрограмме (рис. 5), построенной по обобщенным результатам полученных данных, отчетливо видно различие в генетических дистанциях между выборками одного горизонта и выборками разных горизонтов. Если в одном случае мы имеем более 80% общих генов (I уровень сходства), то в другом случае лишь 35% (II уровень сходства). Согласно нашим исследованиям и данным мировой литературы, выявленный нами I уровень генетического сходства соответствует внутривидовому, а II - не ниже видового. По нашим данным подобные значения индексов электрофоретического сходства имеют виды разных родов.

В заключение необходимо сказать, что полученное четкое генетическое дистанцирование выборок и дифференцирование их в качестве двух самостоятельных видов означает, что скопления этих видов репродуктивно изолированы, даже если находятся в близких географических точках. Поэтому промысловые запасы этих видов и промысловые прогнозы нужно определять отдельно для каждого из них и также отдельно исследовать популяционную структуру. И в этом случае рентабельно использовать биохимико-генетические методы исследования, так как применяя их можно получить наиболее объективную, быструю и надежную информацию об организации популяционной структуры любого зоологического вида.

Литература

1. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. // М.: Мир, 1988. Т.3. 332 с.
2. Алтухов Ю.П. Популяционная генетика рыб. // М.: Пищ.пром., 1974. 245 с.
3. Бажин А.Г. Таксономическое значение морфологии зубов морских ежей рода *Strongylocentrotus* // Гидробиологические исследования в Авачинской губе. Владивосток: ДВО АН СССР. 1989. С.69–76.
4. Бажин А.Г. Видовой состав, условия существования и распределение морских ежей рода *Strongylocentrotus* морей России. // Автореферат диссертации. Владивосток: Дальнаука, 1995, 22 с.
5. Галимзянов К.Г. Распределение и некоторые черты биологии морских ежей рода *Strongylocentrotus* на мелководье у Юго-Западного Сахалина. // Итоги исследований по вопросам рационального использования и охраны биологических ресурсов Сахалина и Курильских островов. Южно-Сахалинск, 1981. С.9–10.
6. Дьяконов А.М. Индивидуальная изменчивость и возрастные изменения у некоторых групп иглокожих. // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. М-Л. 1946. Т.8. Вып.1. С.145–193.
7. Дьяконов А.М. Определитель иглокожих дальневосточных морей // Изв. ТИНРО. 1949. Т.30. С.1–127.
8. Дьяконов А.М. Новости фауны иглокожих (Echinodermata) юго-западного побережья Сахалина по сборам экспедиции Зоологического института Академии наук СССР в 1946 г. // Исслед. дальневосточ. морей СССР. М-Л. 1958. Вып.5. С.260–270.
9. Кодолова О.П., Логвиненко Б.М. Сравнение разных популяций двустворчатых моллюсков *U.pictorum* и *U.timidus* (Unionidae) по системам миогенов и морфологии раковин. // Зоол.ж. 1973. Т.52. Вып.7. С.988–999.
10. Кодолова О.П., Логвиненко Б.М. Сравнение разных популяций двустворчатых моллюсков рода *Anodonta* (Unionidae) по системам миогенов и морфологии раковин. // Зоол.ж. 1974. Т.53. Вып.4. С.531–544.
11. Кодолова О.П., Логвиненко Б.М. О спорных вопросах систематики амуро-ханкайских моллюсков рода *Cristaria* (Bivalvia, Unionidae). // Зоол.ж. 1988. Т.68. Вып.4. С.506–510.
12. Левин В.С., Бакулин С.В. Морфологическая изменчивость *Strongylocentrotus intermedius* и вопрос о таксономическом статусе *S. pulchellus* (Camarodontia, Strongylocentrotidae). // Зоол.ж. 1984. Т.63. Вып.11. С.1661–1670.
13. Логвиненко Б.М. О реальности зоологических таксонов. // Тез.докл. 2-ой Всес. конф. по пробл. эвол. Проблемы микроэволюц. М. Наука. 1988. С.106.
14. Логвиненко Б.М., Кодолова О.П. Сравнение систем миогенов некоторых видов моллюсков надсемейства Unionacea. // Вестник МГУ. Сер. биол. 1979. №2. С.65–79.
15. Логвиненко Б.М., Кодолова О.П. Об уровне сходства электрофоретических спектров миогенов разных видов и родов моллюсков семейства Unionidae // Зоол.ж. 1983а. Т.63. Вып.11. С.1736–1740.
16. Логвиненко Б.М., Кодолова О.П. Сравнение электрофоретических спектров миогенов некоторых представителей наземных моллюсков семейства *Bradybaenidae* // Зоол.ж. 1983б. Т.63. Вып.11. С.1733–1740.
17. Логвиненко Б.М., Прялкина Т.И. Сравнительный анализ электрофореграмм миогенов представителей бесхвостых амфибий фауны СССР. // Вопросы герпетологии. Л. 1982. С.83–84.
18. Логвиненко Б.М., Кодолова О.П., Болотецкий Н.М. Сравнение некоторых видов дождевых червей семейства *Lumbricidae* (Oligochaeta) по электрофоретическим спектрам общих белков // Докл.АН СССР. 1984. Т.275. №5. С.1253–1255.
19. Логвиненко Б.М., Кодолова О.П., Катугин О.Н., Жуковская Е.А. Сравнение мидий Черного моря из разных мест обитания по электрофоретическим спектрам миогенов и морфометрическим признакам раковин. // ВИНТИ. 1986. №585–В.86. Деп. 15с.

20. Логвиненко Б.М., Кодолова О.П., Панютин К.К. Сравнение некоторых видов семейства обыкновенных летучих мышей по электрофоретическим спектрам миогенов. // Популяционная изменчивость вида и проблемы охраны генофонда млекопитающих. М. 1983. С.119–120.
21. Логвиненко Б.М., Кодолова О.П., Симдянов Т.Г. Сравнительный анализ моллюсков рода *Bataviana* (*Bivalvia*, *Unionidae*) по электрофоретическим спектрам мышечных водорастворимых белков и морфологическим признакам раковин. // ВИНТИ. 1988. №8389–В.88. Деп. 29с.
22. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. // М.: Мир, 1974. 460с.
23. Прялкина Т.И. Исследование систематического положения бесхвостых амфибий фауны СССР на основе сравнительного анализа белков. // Автореферат диссертации. Л., Зоол. ин-т РАН. 1988. 22с.
26. Фадеев В.И., Ивин В.В. Фауна и экология морских ежей шельфа острова Монерон. // Бентос шельфа острова Монерон. Владивосток. ДВНЦ АН СССР. 1985. С.114–127.
27. Фирсман Л.Р., Павленко М.В. Генетическая дифференциация в процессе видообразования (на примере грызунов). // Вопр. эволюц. зоол. и генет. млекопитающих. Владивосток. 1987. С.4–36.
28. Avise J.S. Systematic value of electrophoretic data. // *Syst.Zool.* 1975. №23. P.465–481.
29. Corbett J. Biochemical comparison of some classical *Tetrahymena pyriformis* and *T. vorax* strains. // *J.Protozool.* 1970. V.17. №2. P.181–182.
30. Czekanovski J. Coefficient of racial likeness and durchschnittliche Differenz. // *Anthropol. Anz.* 1932. Bd.9. P.227–249.
31. Engelmann W.E., Kabisch K. Disk-elektrophoretische Untersuchungen der Serumproteine europäischer Echsen der Familien Anguidae und Lacertidae. // *Experientia.* 1973. V.29. №11. P.1440–1441.
32. Fedausia J. A. Variation in arrian plasma proteins. // *Condor.* 1970. V.72. №4. P.498–499.
33. Flindt R., Hemmer H. Die Bedeutung des Serumeiweißbildes zur Diagnose von *Bufo calamita* zaur *Bufo viridis* zaur und deren Bastarden.(Amphibia, Anura, Bufonidae). // *Experientia.* 1973. V.29. №3. P.361–364.
34. Jensen M. The Strongylocentrotidae (Echinoides) a morphologic and systematic study. // *Sarsia.* 1974. V.57. P.113–148.
35. Lessios H.A. Divergence in allopatry: molecular and morphological differentiation between sea urchins separated by the Isthmus of Panama. // *Evolution (USA).* 1981. V.35. №4. P.618–634.
36. Limpus C.J., Girinis E., Miller Y.D. Reassessment of the taxonomic status of the sea turtle genus *Natator* Mc.Culloch 1908, with a redescription of the genus and species. // *Frans.Roy. Soc.Austral.* 1988. V.112. №1–2. P.1–9.
37. Lin A.L., Zubkoff P.L. Malate dehydrogenase and tetrazolium oxidase of scyphistomae of *Aurelia aurita*, *Chrysaora guinguecirrha* and *Cyanea capillata* (Scyphozoa: Semaestomeae). // *Helgoland Wiss. Meeresuntersuch.* 1973. Bd.25. № 2–3. S.206–213.
38. Milbrink G., Nyman L. On the protein taxonomy of aquatic oligochaetus. // *Zoon.* 1973. V.1. №1. P.29–35.
39. Miyazaki J., Hirabayashi T. The systematic study of cypriniform fish by two dimensional electrophoresis of liver proteins. // *Zool.Sci.* 1989. V.6. №6. P.1224.
40. Mulder P.F.S., van Vuuren N.G., Ferreira J.T., van der Bank F.H. A preliminary biochemical comparison of two species of the genus *Barbus* from the Vaal River sistem. // *Water S. Afr.* 1990. V.16. №3. P.147–150.
41. Nei M. Genetic distance between populations. // *Am.Nat.* 1972. V.106. P.283–292.
42. Nishioka M., Sumida M., Ohta Sh., Suzuki H. Speciation of three allied genera *Buergoria*, *Rhacophorus* and *Polypedates*, elucidated by the method of electrophoretic analyses. // *Sci.Rept. Lab. Amphib. Biol. Hirosima. Univ.* 1987. №9. P.53–96.
43. Shaw C.R. How many genes evolve. // *Biochem. genet.* 1970. №4. P.275–283.
44. Sorensen T. A new method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of a species content and its application to analysis of the vegetation on Danish commons. // *Kgl. Dan. Videnskab. Selskab. Biol. Skr.* 1948. Bd.5. №4. S.1–34.
45. Tsuyuki H., Roberts E., Wanstone W., Markert I.R. The species specificity and constancy of muscle myogen and hemoglobin electropherograms of *Oncorhynchus*. // *J. Fish. Res. Board. Can.* 1965. V.22. №1. P.215–217.

46. Vader W., Pedersen B.S.H., Lonning S. Morphological differences between two closely related sea urchin species *Strongylocentrotus droebachiensis* and *S. pallidus* in northern Norway (Echinodermata, Echinoidea) // *Fauna norv.* 1986. Ser.A7. S.10–14.
47. Valdivisico D., Tamsitt F.R. Electrophoretic patterns of serum proteins of motropical Bats (Chiroptera). // *Life. Sci. Contribs. Roy. Ontario Mus.* 1974. №98. P.24.
48. Whitmore E., Gilbert L. Haemolymph proteins and lipoproteins in Lepidoptera – a comparative electrophoretic study. // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1974. V.47. P.63–78.
49. Wright C.A. The application of paper chromatography to a taxonomic study in the molluscan genus *Lymnea*. // *J.Linn. Soc.* 1959. V.44. P.222–237.
50. Zink R.M., Marten G.L., Jonson N.K. Genetic evidence for relationships in the avian family Vireonidae. // *Condor.* 1988. V.90. №2. P.428–445.