

УДК 575.17
ББК 28.693.324-6

Е. И. Шишанова, И. В. Тренклер, А. С. Мамонова

**ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ
НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ
ЛИЧИНОК РУССКОГО ОСЕТРА**

E. I. Shishanova, I. V. Trenkler, A. S. Mamonova

**INFLUENCE OF MILT CRYOCONSERVATION ON SURVIVAL
AND GENETIC POLYMORPHISM
OF LARVAE OF RUSSIAN STURGEON**

Исследовано влияние криоконсервации спермы на генетические показатели потомства русского осетра. Проведены два опыта по оплодотворению икры с использованием нативной и замороженно/размороженной спермы от тех же производителей и исследованы ферменты малатдегидрогеназа и эстераза в тканях личинок на стадии перехода на активное питание методом электрофореза в полиакриламидном геле. Использование криоконсервированной спермы приводит к снижению числа личинок в конце эксперимента, прежде всего за счет повышенной смертности на ранних эмбриональных стадиях. Селективный характер смертности эмбрионов вызывает увеличение гетерозиготности потомства, изменение соотношения генотипов, а также выщепление редкого аллеля *e* в локусе эстеразы. Выявленный отбор совпадает по направлению с негативным селективным влиянием рыбоводства на генетические показатели популяций волжских осетровых рыб.

Ключевые слова: криоконсервация, генетико-биохимические маркеры, сперма, эмбрионы, личинки, развитие, смертность.

The influence of milt cryopreservation on genetic indices of progeny of Russian sturgeon was investigated. Two experiments on fecundation of eggs with the use of native and frozen-thawed milt from the same breeders were held, and the enzymes of malate dehydrogenase and esterase in tissues of larvae at the stage of beginning of active feeding by methods of polyacrilamide gel electrophoresis are studied. The use of cryopreserved milt led to a decreased number of larvae at the end of the experiment, mainly because of elevated mortality at early embryonal stages. Selective embryonal mortality induced increasing of heterozygosity of brood, changing the rates of genotypes and segregation of rare allele *e* at esterase locus. This selectivity had the same direction as negative selective impact of artificial breeding on genetic parameters of Volga sturgeon populations.

Key words: cryoconservation, genetic-biochemical markers, sperm, embryos, larvae, development, mortality.

Введение

Криоконсервация мужских половых клеток в жидком азоте считается одним из перспективных способов сохранения генетического разнообразия редких и исчезающих видов. Вместе с тем применение существующих методов замораживания и последующего размораживания спермы сопровождается снижением ее активности, т. е. потерей способности значительной доли сперматозоидов к оплодотворению яйцеклетки [1–4]. При изучении размороженной спермы на свето- и электронно-микроскопическом уровнях отмечаются агглютинация спермиев, утрата ими структур, обуславливающих двигательную активность, и другие морфофункциональные изменения [5, 6]. Гибель или инактивация определенной доли спермиев позволяют предполагать существование отбора в пользу определенных изоферментов, поскольку происходит биохимическая адаптация к изменяющимся условиям среды [7]. Существование селективности генотипов при замораживании/размораживании подтверждается и косвенными данными ряда исследователей, использовавших криоконсервированную сперму в рыбоводстве. В частности, отмечено смещение соотношения полов в пользу самок у «криопотомства» сибирского осетра ленской популяции, выращенного на Конаковском заводе товарного осетроводства, и его превосходство по темпу роста над молодью, полученной традиционным способом [8, 9].

Проблема селективности генотипов долгое время недооценивалась в рыбоводстве. Вместе с тем резкое сокращение запасов осетровых и изменение биологических показателей рыб в течение последних 20 лет, которое нельзя объяснить только резким увеличением браконьерства, подняло вопрос о генетической полноценности выпускаемой заводской молоди [10–13]. Изучение влияния рыбоводства показало, в частности, что выпуск «заводской» молоди осетровых в естественные водоемы приводит к увеличению доли гетерозигот, тогда как отклонение этого показателя от исторического оптимума вызывает сокращение численности популяций и их постепенную деградацию в последующих поколениях [12–16].

В связи с возможным влиянием криоконсервации мужских половых клеток на генетическую гетерогенность получаемого потомства нами были проведены прямые опыты на русском осетре с использованием метода определения в тканях личинок изменчивости изозимов ферментов малат-дегидрогеназы и эстеразы, хорошо зарекомендовавших себя как генетико-биохимические маркеры [17]. Ранее специальные эксперименты в этом направлении не проводились.

Материалы и методы исследований

В производственных условиях Александровского осетрового рыбоводного завода проведены 2 опыта по изучению влияния криоконсервированной спермы на генетические характеристики потомства русского осетра *Acipenser güldenstädtii* Brandt.

Работа состояла из нескольких этапов.

На первом этапе определяли качество спермы до замораживания (нативная сперма) и выбирали образцы для опыта [18].

На втором этапе проведен процесс замораживания/размораживания образцов спермы, с одновременным сохранением образцов нативной спермы в течение 24 часов в гипотермических условиях [19]. Процессы криоконсервации и дефростации спермы проведены сотрудником Центральной лаборатории по воспроизводству рыбных запасов Г. Е. Луневым по оригинальной методике с использованием метилового спирта вместо традиционного диметилсульфоксида (ДМСО) [20], за что авторы настоящей работы выражают ему свою искреннюю признательность.

На третьем этапе было проведено оплодотворение одинаковых порций икры от двух самок нативной и дефростированной спермой. От каждой из самок одну порцию икры оплодотворили нативной спермой от трех самцов, другую – замороженно/размороженной спермой этих же самцов. Для оплодотворения каждой порции икры было использовано по 3 мл размороженной смеси сперма + протектор (1 : 1) от каждого самца, т. е. расход спермы (4,5 мл неразбавленной протектором спермы на 20–25 г) был в несколько раз выше, чем при оплодотворении икры нативной спермой в производственных условиях (30 мл на 1 кг).

Четвертый этап включал процессы обесклеивания икры, инкубации в аппарате «Осетр» с обработкой противогрибковыми препаратами, отбором, удалением и учетом пораженной сапролегнией икры и поштучным пересчетом выклеывающихся личинок (стадия 36). Определение процента оплодотворения (% оплодотворения) проводили на стадии четырех бластомеров (1–2 стадия развития), процент нормального развития эмбрионов (% НРЭ) определяли на стадии малой желточной пробки (16 стадия) [21]. На этом этапе использовались стандартные производственные методы, рассчитанные на работу с большими объемами икры. Температура воды во время инкубации – 13–14 °С. Период эмбрионального развития составил около 11 суток.

На пятом этапе личинок выдерживали в жестко закрепленных ящиках аппарата «Осетр» до стадии 44, предшествующей началу экзогенного питания. Температура воды в период выдерживания личинок постепенно возрастала от 15 до 17–18 °С в конце эксперимента. На 44-й стадии количество эндогенного желтка (имеющего материнский генотип) сокращалось до минимума и начинали проявляться особенности индивидуального генотипа. В конце эксперимента личинок пересчитали поштучно и заморозили для генетического анализа.

Всего в опытах участвовали 2 самки и 6 самцов, от которых получено около 4 тыс. личинок и подвергнуто генетическому анализу 576 шт.

Генетико-биохимические исследования проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле [22]. Этот метод позволяет охарактеризовать как индивидуальные генотипы рыб, так и уровень гетерогенности и аллельного разнообразия изоферментов исследуемой выборки в целом [23, 24]. О важной роли изоферментов в регуляции метаболических процессов свиде-

тельствует изменение их спектра под влиянием различных воздействий и физиологических состояний (охлаждение, гипоксия и др.). Как отмечается в ряде работ, многие протеолитические и эстеролитические ферменты могут адекватно демонстрировать адаптационные возможности организма [15, 17, 25–28]. Поскольку изоферменты различаются по своим свойствам (оптимуму рН, активации ионами, сродству к субстратам, ингибиторам, активаторам, кофакторам), то характер их электрофоретического спектра отражает регуляторные механизмы, контролирующие метаболизм [7, 17, 25]. В качестве генетических маркеров использовали 2 полиморфные ферментные системы: малатдегидрогеназу (*МДГ*) и эстеразу (*Эст*), у которых уже на личиночной стадии фенотипически проявляются индивидуальные, а не только материнские спектры аллозимов.

Генетическую гетерогенность выборок оценивали по частоте встречаемости аллелей, уровню гетерозиготности – наблюдаемой $H_{об}$ и ожидаемой $H_{е}$, критерию χ^2 [29]. Данные по частотам генов были проанализированы с помощью теста χ^2 на гетерогенность Д. В. Ниля и У. Д. Шелла [30], часто применяемого в популяционной генетике [23, 24, 29].

Результаты исследований и их обсуждение

Показатели активности спермы, использованной в опыте 1 (самцы 1–3) и опыте 2 (самцы 4–6) до и после криоконсервации, свидетельствуют о высоком качестве нативной спермы и ее существенном ухудшении после замораживания/размораживания (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика самцов и полученной от них спермы (до и после криоконсервации)

№ самца	Масса, кг	Визуальная оценка спермы, балл	Концентрация спермиев, млн/мм ³	Время сохранения подвижности нативной спермы, мин	Доля спермиев, совершающих поступательное движение, %	
					Нативная	Размороженная
1	9,6	3	0,74 ± 0,26	12	90	20
2	8,5	4	1,07 ± 0,11	6	95	30
3	7,5	3–4	0,74 ± 1,07	10	90	25
4	10,2	3–4	0,91 ± 1,18	5	95	25
5	8,5	4	1,07 ± 0,11	6	95	30
6	7,4	3–4	0,6 ± 1,00	9	90	25

Однако использование криоконсервированной спермы слабо отразилось на показателях оплодотворения икры (снижение на 5–7 %), поскольку при оплодотворении низкую концентрацию и подвижность криоспермиев компенсировали увеличением их численности (количеством спермадоз) (табл. 2).

Наблюдения за эмбриональным и постэмбриональным развитием опытных и контрольных вариантов показали, что использование криоконсервированной спермы приводит к увеличению смертности, прежде всего на самых ранних этапах развития. У 49 % «криоэмбрионов» в опыте 1 и 29 % в опыте 2 развитие прекратилось до 16-й стадии, поэтому % НРЭ в обоих опытных вариантах был в 1,5–2 раза ниже, чем в контроле, с последующим снижением показателей вылупления личинок (табл. 2). Следовательно, уже на стадиях дробления и гаструляции начинается нарушение развития и идет отбор жизнеспособных «криоэмбрионов».

Таблица 2

Результаты наблюдений за развитием эмбрионов и личинок русского осетра, полученных из икры, оплодотворенной криоконсервированной или нативной спермой

№ варианта	Вариант	% оплодотворения	% НРЭ	Выход личинок, %		Выдерживание личинок, %		Выход личинок 44-стадии от икры, %
				Норма	Уроды	36-я стадия	44-я стадия	
1	Контроль 1	99	98	80,8	6,6	100	98,4	72,8
	Опыт 1	92	43	38,6	3,6	100	79,2	30,6
2	Контроль 2	100	99	89,6	1,3	100	97,7	71,2
	Опыт 2	95	66	44,8	0,46	100	97,1	43,5

На постэмбриональных стадиях развития только в опыте 1 проявилась более высокая смертность у личинок, полученных с использованием криоконсервированной спермы, – на 20 %. В варианте 2 смертность личинок в опыте и контроле практически не различалась.

Таким образом, в вариантах с использованием криоконсервированной спермы выживаемость личинок до достижения 44-й стадии была почти в 2 раза ниже, чем в соответствующих контрольных вариантах, при этом основной отбор эмбрионов происходит до 16-й стадии развития. Это свидетельствует о том, что уже на первых этапах развития в «криопотомстве» происходит определенный отбор на выживаемость.

Исследование генетической гетерогенности выживших личинок показало, что аллозимы исследованных ферментных систем дифференцированно реагируют на криовмешательство в процесс размножения (табл. 3, 4).

По частотам встречаемости аллелей локуса *МДГ* в проведенных опытах и контроле не выявлено достоверных различий. Однако в опыте 1 наблюдается увеличение гетерозиготности на 31 % и изменение соотношения частот генотипов гомо- и гетерозиготных генотипов АА и АВ в сторону увеличения гетерозигот почти в 2 раза. В опыте 2 такого явления не наблюдается, видимо потому, что у личинок второго варианта в контроле частота встречаемости гетерозиготного генотипа АВ почти в 3 раза выше, чем в опыте 1 и отмечена более высокая гетерозиготность. Поэтому изменение соотношения частот аллелей в локусе *МДГ* у личинок в опыте 2 было менее выражено в условиях оплодотворения криоконсервированной спермой (табл. 3).

В обоих вариантах отмечается тенденция к увеличению количества гетерозигот *МДГ*. При этом значения χ^2 в опытах и контроле выше допустимых. Следовательно, не выполняется закон Харди – Вайнберга о равновесном состоянии популяций (выборки), и они находятся под влиянием отбора (табл. 3).

Таблица 3

Частота встречаемости генотипов и аллелей *МДГ* у личинок русского осетра в опыте и контроле

Генотип	AA	AB	AC	BB	BC	CC	N	pA	pB	pC	Ho	He	χ^2	D*
Опыт 1	32	50	20	45	0	0	147	0,456 ± 0,03	0,476 ± 0,03	0,068 ± 0,02	0,476 ± 0,04	0,561 ± 0,01	30,3	-0,151 ± 0,07
Контроль 1	48	27	22	53	0	0	150	0,486 ± 0,03	0,443 ± 0,03	0,073 ± 0,02	0,327 ± 0,04	0,564 ± 0,01	67,9	-0,42 ± 0,05
Опыт 2	8	85	4	40	0	0	137	0,383 ± 0,03	0,602 ± 0,03	0,015 ± 0,01	0,649 ± 0,04	0,490 ± 0,02	23,1	+0,32 ± 0,06
Контроль 2	18	82	6	36	0	0	142	0,437 ± 0,03	0,542 ± 0,03	0,021 ± 0,01	0,620 ± 0,04	0,515 ± 0,01	14,8	+0,20 ± 0,07

* D – отклонение от ожидаемой гетерозиготности.

По локусу *Эст* в первом варианте эксперимента по всем генетическими показателям опыта и контроля не обнаружено различий, однако в опыте 1 полностью отсутствует аллель *e*. Во втором варианте, согласно тесту на гетерогенность, наблюдаются достоверные различия по частоте встречаемости аллеля *a* (8,2 при $p < 0,01$) и аллеля *e* (8,34 при $p < 0,01$), и доля гетерозигот в опыте на 30 % превышает таковую в контроле. Все выборки, согласно критерию χ^2 , находятся в неравновесном состоянии и, следовательно, подвергаются влиянию отбора (табл. 4).

Таблица 4

Частота встречаемости генотипов и аллелей *Эст* у личинок русского осетра в опыте и контроле

Генотип	a	ae	e	Количество, шт.	pa	pe	Ho	He	χ^2	D
Опыт 1	61	86	0	147	0,707 ± 0,26	0,292 ± 0,02	0,585 ± 0,04	0,413 ± 0,02	25,1	+0,413 ± 0,06
Контроль 1	70	84	7	161	0,695 ± 0,03	0,305 ± 0,03	0,524 ± 0,04	0,423 ± 0,02	8,7	+0,232 ± 0,07
Опыт 2	32	130	0	162	0,598 ± 0,03	0,402 ± 0,01	0,802 ± 0,03	0,480 ± 0,01	72,7	+0,67 ± 0,03
Контроль 2	57	74	1	132	0,713 ± 0,03	0,287 ± 0,03	0,560 ± 0,04	0,410 ± 0,03	17,9	+0,367 ± 0,07

В данном локусе разница генетических параметров между контрольными выборками не существенна. Однако во втором варианте опыта наблюдается явный отбор в пользу гетерозигот *ae*, что подчеркивает общую тенденцию к увеличению гетерозиготности.

В целом опыты по оплодотворению икры криоконсервированной спермой показали в опытных вариантах достоверное снижение доли нормально развивающихся эмбрионов – с 98–99 % в контроле до 43 и 66 % в опыте, уменьшение выживаемости личинок «от икры» до достижения 44-й стадии в первом опыте на 58 % по сравнению с контролем, во втором – на 39 %, а также увеличение доли некоторых гетерозигот и гетерозиготности по исследованным локусам.

Таким образом, процесс замораживания/размораживания является для спермиев существенным стрессовым фактором, который обуславливает селективную смертность потомства и избирательное влияние криоконсервации на генофонд. В условиях применения криотехнологий отбор проходит на следующих этапах: подготовки к замораживанию (влияние криопротекторов); замораживания (важнейший фактор – режим понижения температуры); хранения; размораживания; активизации спермы водой; оплодотворения икры; в периоды эмбрионального и постэмбрионального развития. Полученные данные показали, что только в процессе замораживания/размораживания спермы из процесса размножения исключается 75–80 % мужских гамет (см. табл. 1). На этапе развития икры погибает около 40–60 % эмбрионов, следовательно, остается 10–15 % от начального количества криоспермиев (табл. 2). На этапе развития личинок отход сравнительно небольшой (от 3 до 20 %), но в конечном итоге от исходных «криоспермиев» остается чуть больше 10 %, которые и вносят свой вклад в генофонд потомства (см. табл. 2). В это же время вклад нативных спермиев составляет не менее 70 %.

Следовательно, даже в условиях нашего опыта с относительно высокими показателями выживаемости эмбрионов и личинок, подтвердилось предположение о селективном выживании как «криоспермиев», так и «криопотомства». Это обстоятельство подтверждает известный факт высокого эмбрионального отбора «криозигот» и наличие более низкого выхода личинок при оплодотворении икры криоконсервированной спермой [2–5, 8, 9]. При этом естественно предположить, что использование различных криопротекторов и технологий замораживания/размораживания может по-разному влиять на генофонд потомства.

Исследование генетических показателей опытного и контрольного потомства показало преимущество в данных условиях гетерозиготных генотипов по исследованным локусам. Следует обратить внимание также на то, что менее распространенный гомозиготный генотип *e* по локусу *Эст* у «криоличинок» обнаружен не был, поэтому использование криотехнологий в процессе размножения осетровых рыб можно рассматривать как жесткое воздействие, в условиях которого происходит увеличение доли гетерозигот в потомстве. Однако сравнение результатов двух вариантов опыта, показавших разную интенсивность смещения соотношения частот генотипов по *МДГ* и *Эст*, позволяет предположить, что направление и интенсивность отбора могут быть связаны с особенностями генотипов родителей, другими изоферментами, а также комплементарностью, полимерным воздействием и другими взаимодействиями генов.

Отсутствие генетического равновесия во всех выборках и смещение равновесия *D* в основном в пользу гетерозигот свидетельствуют о наличии как стрессового отбора в опытах, так и естественного отбора в контроле. Избирательная эмбриональная смертность (отбор) менее приспособленных генотипов в процессе онтогенетического развития, выявленная в контрольных выборках, присуща всему живому – человеку, животным, насекомым, растениям [15, 23, 26, 31], поэтому и в данном эксперименте мы наблюдаем, что в колеблющихся или стрессовых условиях среды любой отбор создает оптимальное для нее соотношение генотипов [10, 15, 26, 31].

Полученные данные, несмотря на предварительный характер экспериментов, свидетельствуют об изменении генетической структуры криопотомства в сторону увеличения доли гетерозигот как более устойчивых к вредным воздействиям. Подобная селективность (в сторону преобладания гетерозигот) присуща рыбоводному процессу и является весьма нежелательным фактором, поскольку увеличение гетерозиготности по сравнению с исторически сложившимся оптимумом, характерным для нетронутых популяций, ведет к нарушению популяционной структуры и снижению численности вида. Более гетерозиготные особи, как правило, мельче, менее плодовиты, имеют более короткий жизненный цикл, отличаются повышенной скоростью роста в начале жизненного цикла и, таким образом, более приспособлены к неоптимальным условиям среды [12–16]. Есть также данные, что гетерозиготы по локусу эстераз различных органов являются менее приспособленными по сравнению с гомозиготами [27]. Следовательно, молодь, полученная с использованием криоконсервированной спермы, оказывается менее соответствующей исторически сложившемуся генетическому оптимуму даже по сравнению с обычной заводской молодью.

Заключение

В настоящее время связь генетической структуры популяции с ее приспособленностью и численностью не вызывает сомнения, поэтому увеличение или элиминация каких-то определенных генотипов в процессе замораживания/размораживания является весьма принципиаль-

ным моментом, если криопотомство будет выпускаться в природные водоемы. В связи с этим, на наш взгляд, применение криоконсервированной спермы при искусственном воспроизводстве осетровых целесообразно ограничить товарными хозяйствами.

Для снижения селективной смертности генетического материала в процессе криоконсервации необходимо продолжить экспериментальную работу по определению наиболее щадящих режимов замораживания/оттаивания осетровой спермы и изучение влияния использования такой спермы на генофонд потомства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пономарёва Е. Н., Богатырёва М. М., Тихомиров А. М. Использование криоконсервированного генетического материала для воспроизводства осетровых рыб // Тез. докл. Междунар. конф. (20–22 апреля 2010 г. Санкт-Петербург, ФГНУ ГосНИОРХ). – СПб.: Нестор-История, 2010. – С. 172–173.
2. Пономарёва Е. Н., Богатырёва М. М., Тихомиров А. М. Использование криоконсервированной спермы при искусственном воспроизводстве осетровых рыб в установках замкнутого водообеспечения // Актуальные проблемы обеспечения продовольственной безопасности юга России: инновационные технологии для сохранения биоресурсов, плодородия почв, мелиорации и водообеспечения: материалы Международн. науч. конф. (27–30 сент. 2011 г., Ростов-на-Дону). – Ростов н/Д: ЮНЦ РАН, 2011. – С. 100–101.
3. Тренклер И. В., Лунев Г. Е. Оценка жизнеспособности эмбрионов и личинок русского осетра при использовании дефростированной спермы // Материалы конф. «Современное состояние биоресурсов, 7–9 окт. – Новосибирск: Изд-во ИИЦ ГНУ СибНХСХБ Россельхозакадемии, п. Краснообск, 2010. – С. 171–173.
4. Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm, a review / R. Billard, J. Cosson, S. B. Noeiri, M. Pourkazemi // Aquaculture. – 2004. – N 236. – P. 1–9.
5. Акимочкина Т. И. Цитологические особенности спермиев ценных видов рыб Волго-Каспийского бассейна и их изменение в зависимости от условий криоконсервации: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Астрахань, 2010. – 24 с.
6. Земков Г. В., Акимочкина Т. И. Цитоморфологические и функциональные изменения спермиев русского осетра (*Acipenser güldenshtädti* В.) после криоконсервации // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 11. – С. 945–952.
7. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. – М.: Мир. – 568 с.
8. Савушкина С. И., Цветкова Л. И., Пронина Н. Д. Использование реконсервированной спермы при воспроизводстве рыб и ее влияние на рыбоводно-биологические качества потомства // Тез. докл. I конгресса ихтиологов России (сентябрь 1997 г., Астрахань). – М.: ВНИРО, 1997. – С. 299.
9. Савушкина С. И. Выращивание рыбопосадочного материала, полученного с использованием криоконсервированной спермы // Материалы науч.-практ. конф. «Рациональное использование пресноводных экосистем – перспективное направление реализации национального проекта «Развитие АПК» (17–19 декабря 2007 г.). – М.: Россельхозакадемия, 2007. – С. 303–305.
10. Алтухов Ю. П. Внутривидовое генетическое разнообразие: мониторинг и принципы сохранения // Генетика. – 1995. – Т. 31. – С. 1333–1357.
11. Алтухов Ю. П., Евсюков А. Н. Перепроизводство молоди рыбоводными заводами как причина деградации волжского стада русского осетра // ДАН СССР. – 2001. – Т. 380, № 2. – С. 273–275.
12. О возможном влиянии рыбоводства на генетические и биологические характеристики севрюги / Г. Д. Рябова, М. В. Офицеров, В. О. Климонов и др. // Состояние и перспективы научно-практических работ в области марикультуры России. – М.: ВНИРО, 1996. – С. 269–274.
13. Влияние рыбоводства на генотипические и фенотипические характеристики волжской поздней яровой севрюги / Г. Д. Рябова, В. О. Климонов, К. И. Афанасьев и др. // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. – М.: ВНИРО, 2006. – С. 213–216.
14. Алтухов Ю. П. Генетические последствия селективного рыболовства и рыбоводства // Вопросы рыболовства. – 2000. – Т. 2, № 4 (8). – С. 562–603.
15. Варнавская Н. В. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей. – Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамчатНИРО, 2006. – 488 с.
16. Рябова Г. Д., Климонов В. О., Шишанова Е. И. Генетическая изменчивость в природных популяциях и domestцированных стадах осетровых рыб России. Атлас аллозимов. – М.: Россельхозакадемия, 2008. – 94 с.
17. Биохимические маркёры рыб: справочник / под ред. Е. В. Микодиной. – М.: ВНИРО, 2011. – 148 с.
18. Казаков Р. В., Образцов А. Н. Методы оценки половых клеток рыб: рыбоводная оценка спермы // Обз. инф. Сер.: Марикультура. – ВНИЭРХ, 1990. – № 4. – С. 1–54.
19. Методические рекомендации для стимуляции созревания самок и самцов осетровых рыб на рыбоводных заводах дельты Волги: сост. И. В. Тренклер. – СПб.: ШИК, 2010. – 44 с.

20. Лунев Г. Е. Использование метилового спирта для криоконсервации спермы русского осетра // Материалы 3-й науч.-практ. конф., 13–15 окт. 2009 г. – Астрахань: КаспНИРХ, 2009. – С. 131–132.
21. Детлаф Т. А., Гинзбург А. С., Шмальгаузен О. И. Развитие осетровых рыб. (Созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинки). – М.: Наука, 1981. – 224 с.
22. Peacock A. C., Bunting S. L., Queen K. G. Serum protein electrophoresis in acrylamide gel // Science. – 1965. – Vol. 147. – P. 1451–1543.
23. Животовский Л. А. Проблемы анализа комплекса признаков // Экологическая генетика и эволюция: сб. науч. тр. – Кишинев: Штиинца, 1987. – С. 134–177.
24. Алтухов Ю. П., Салменкова Е. О., Омельченко В. Т. Популяционная генетика лососевых рыб. – М.: Наука, 1997. – 288 с.
25. Генетика изоферментов / Л. И. Корочкин, О. Л. Серов, А. И. Пудовкин и др. – М.: Наука, 1977. – 275 с.
26. Голубцов А. С. Внутрипопуляционная изменчивость животных и белковый полиморфизм. – М.: Наука, 1988. – 168 с.
27. Сравнительное биохимическое изучение двух аллопатрических популяций севрюги / Е. В. Кузьмин, В. И. Лукьяненко, А. С. Васильев и др. // Осетровые на рубеже 21 века: материалы Междунар. конф. – Астрахань: КаспНИРХ, 2000. – С. 161–162.
28. Онтогенетические особенности экспрессии карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* / Андриевский А. М., Кучеров В. А., Тоцкий В. Н., Деркач Е. В. // Вісник ОНУ. – 2005. – Т. 10, вип. 5. – Біологія. – С. 26–35.
29. Айала Ф. Введение в популяционную и эволюционную генетику. – М.: Мир, 1984. – 232 с.
30. Ниль Д. В., Шелл У. Д. Наследственность человека. – М.: Изд-во иностр. лит., 1958. – 389 с.
31. Шварц С. С. Экологические закономерности эволюции. – М.: Наука, 1980. – 278 с.

Статья поступила в редакцию 19.07.2013

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Шшанова Елена Ивановна – Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства Российской академии сельскохозяйственных наук (поселок им. Воровского, Ногинский район, Московская область); канд. биол. наук; старший научный сотрудник лаборатории культивирования высокоценных видов рыб; lena-vniir@mail.ru.

Shishanova Elena Ivanovna – All-Russian Scientific Research Institute of Irrigation Fish Breeding of Russian Academy of Agricultural Sciences (village named after Vorovskiy, Noginskiy region, Moscow region); Candidate of Biological Sciences; Senior Research Worker of the Laboratory of Cultivation of Valuable Kinds of Fishes; lena-vniir@mail.ru.

Тренклер Игорь Владимирович – Северо-Западное бассейновое управление по охране, воспроизводству рыбных запасов и регулированию рыболовства «Севзапрыбвод», Санкт-Петербург; канд. биол. наук; зам. зав. центральной лабораторией по воспроизводству рыбных запасов; trenkler@list.ru.

Trenkler Igor Vladimirovich – Northern-Western Basin Department on Protection, Reproduction of Fish Resources and Regulation of Fishery "Sevzaprybvod" St. Petersburg; Candidate of Biological Sciences; Assistant Manager of the Central Laboratory of Fish Reproduction; trenkler@list.ru.

Мамонова Анастасия Сергеевна – Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства Российской академии сельскохозяйственных наук (поселок им. Воровского, Ногинский район, Московская область); младший научный сотрудник лаборатории культивирования высокоценных видов рыб; mamonova84@gmail.com.

Mamonova Anastasiy Sergeevna – All-Russian Scientific Research Institute of Irrigation Fish Breeding of Russian Academy of Agricultural Sciences (village named after Vorovskiy, Noginskiy region, Moscow region); Junior Research Worker of the Laboratory of Cultivation of Valuable Kinds of Fishes; mamonova84@gmail.com.