

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 575.174 +597.442:577.112.824

**АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ АЛЬБУМИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ
РУССКОГО (*ACIPENSER GUELDENSTAEDTII*) И СИБИРСКОГО
(*ACIPENSER BAERII*) ОСЕТРОВ**

© 2012 г. Е.В. Кузьмин, О.Ю. Кузьмина

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
пос. Борок Ярославской области 152742

Поступила в редакцию 12.11.2010 г.

Окончательный вариант получен 05.03.2011 г.

Методом диск-электрофореза изучали альбумины сыворотки крови русского (*Acipenser gueldenstaedtii*) и сибирского (*A. baerii*) осетров. На основании денситометрического анализа протеинограмм выдвинута гипотеза о восьмигенном кодировании синтеза альбуминов у исследованных видов. У русского осетра выявлено семь, а у сибирского – пять аллельных вариантов. Показано, что как в северо-каспийской, так и в азово-черноморской популяциях русского осетра, наблюдается снижение генотипического разнообразия по локусу Alb*.

Ключевые слова: осетровые, электрофорез, альбумины.

ВВЕДЕНИЕ

Альбумин относится к наиболее важным в функциональном отношении компонентам крови. Помимо участия в регуляции осмотического давления, этот низкомолекулярный мономерный белок осуществляет в организме транспортные функции. Он переносит по кровяному руслу в связанном состоянии липиды и тяжелые металлы, предохраняя тем самым организм от их токсического воздействия (Чегер, 1975; Уайт и др., 1981; Русанов, Скобелев, 1983). Изучение альбуминов осетровых с помощью электрофоретических методов показало, что у большинства видов они гетерогенны и полиморфны. К настоящему моменту, качественная электрофоретическая изменчивость альбуминов у представителей семейства Acipenseridae, населяющих воды России, довольно полно описана в серии обобщающих работ (Кузьмин, 1996; Кузьмин, Кузьмина, 2005; Лукьяненко, Хабаров, 2005). У ряда видов (в том числе у русского и сибирского осетров), обнаружена количественная изменчивость, проявляющаяся в различной интенсивности окрашивания полос гетерогенных спектров (Лукьяненко и др., 1971; Балахнин и др., 1972; Чихачев, Цветненко, 1979, 1984; Бараев, 1990; Кузьмин, 1996).

Первые попытки дать генетическую интерпретацию электрофоретических паттернов альбуминов были предприняты уже на начальном этапе изучения этих белков у осетровых. Однако, исследователям не удалось прийти к единому мнению при описании и трактовке даже наиболее простых спектров белуги, севрюги и стерляди, не говоря уже о высоко гетерогенных и полиморфных альбуминах осетров (Баль, 1979; Чихачев, Цветненко, 1979, 1984; Попов, 1981; Чихачев, Реков, 1981; Камшилин и др., 1979; Лукьяненко и др., 1979; Чихачев, 1982, 1983). В ходе дискуссии по поводу имеющих разногласий обсуждались разные варианты их объяснения, однако однозначного ответа на вопрос о природе данного феномена получено не было.

Начиная примерно с 90-х годов прошлого века, практически все популяции российских осетровых подверглись неконтролируемому истребительному

промыслу. На фоне сокращения в значительной степени работ по искусственному воспроизводству, многие природные популяции осетровых оказались на грани полного исчезновения. Так, например, обская популяция сибирского осетра, ранее имевшая важное промысловое значение, с 1998 г. была занесена в Красную книгу Российской Федерации (Нефедов и др., 2008), а численность азовской севрюги, по оценкам ФГУП «АзНИИРХ», к 2006 г. снизилась до 200-400 экз. взрослых рыб (Чистяков и др., 2008).

По этой причине резко сократились возможности получения репрезентативных выборок для проведения популяционно-генетических исследований, которые были практически свернуты. В результате, вопрос о генетической трактовке спектров альбуминов осетровых так и остался открытым.

Одновременно с резким сокращением численности природных популяций осетровых, в практику исследований вошли методы изучения генетического полиморфизма на уровне ДНК. Эти методы позволяют анализировать продукты переработки осетровых, продаваемые в торговых сетях, коллекции спилов лучей плавников, отбираемых ихтиологами для определения возраста рыб, а также дают возможность идентифицировать гораздо большее число локусов, чем методы с применением биохимических маркеров. В этой связи, часть исследователей, изучающих генетически детерминированный полиморфизм у рыб, в том числе и осетровых, перешла на ДНК-технологии (Животовский и др., 2008; Рожкован, 2008; Тимошкина и др., 2009; Ludwig, 2008; Zhu, 2008).

В последние годы, биохимические маркеры осетровых, в том числе и альбумины, используются в основном для контроля за биоразнообразием маточных стад осетровых в аквакультуре. Как правило, мониторинг осуществляется на уровне фенотипов, в опубликованных материалах данные по обоснованию генетической детерминации наблюдаемого полиморфизма не приводятся, при этом, результаты зачастую, публикуются в малодоступных изданиях (Рябова и др., 1999; Карнаухов, 2000; Рябова и др., 2002; Карнаухов и др., 2003; Демкина, 2004, 2005; Нефедов и др., 2008; Ivanova, Dobrovolev, 2004; Dobrovolev et al., 2005). Работ, посвященных анализу альбуминов осетровых из природных популяций, совсем немного, и в них не затрагиваются вопросы генетической детерминации этих белков (Хабаров, 2005; Лукьяненко, Хабаров, 2005; Zhang S.-M. et al., 1999; Zhang Y. et al., 2006).

В сложившейся ситуации нам представлялось важным и целесообразным попытаться прояснить генетическую детерминацию альбуминовых фракций осетровых, основываясь на анализе собственных архивных материалов в виде высушенных гелей, накопленных за многолетний предыдущий период исследований. При этом следует подчеркнуть, что в используемых нами для этих целей материалах присутствуют только не модифицированные фракции альбуминов, вероятно детерминированные генетически. В нашей практике уже имеется успешный опыт проведения подобной работы. Ранее, проанализировав архивную базу данных по сывороточным белкам стерляди, удалось показать, что альбумины этого вида представляют собой 3-х аллельную систему с кодоминантным наследованием (Кузьмин, Кузьмина, 2005).

Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы уточнить генетическую детерминацию альбуминов сыворотки крови у двух многохромосомных представителей семейства Acipenseridae – русского и сибирского осетров,

альбуминовая система которых характеризуется особенно высокой степенью гетерогенности и полиморфизма. В этой связи была поставлена задача, на основании денситометрического анализа архивных материалов по этим двум видам, попытаться предложить гипотезу, которая наиболее адекватно описывала бы реальную экспрессию белков на электрофореграммах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пробы сыворотки крови русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* из реки Волги собирали в различные сезоны года (большой частью летом и осенью) в период с 1984 по 1993 гг. Отлов идущих на нерест рыб производили в районе Волгограда (нижний бьеф Волжской ГЭС) и ниже Астрахани (в дельте, на тоне Чкаловской). Суммарно, электрофоретическому анализу была подвергнута сыворотка крови 510 экз. русского осетра северо-каспийской популяции. Пробы крови русского осетра из Черного моря отбирали в 1987 и 1992 гг. у идущих на нерест рыб, отловленных в Днепровском лимане. В общей сложности была проанализирована 71 особь. В Азовском море, русского осетра отлавливали летом 1984 г. на траверзе Приморско-Ахтарск – Геническ. Всего было проанализировано 28 экз. Пробы сыворотки крови сибирского осетра *Acipenser baerii* отбирали летом 1983 г. в дельте Оби, в районе Салехарда, у идущих на нерест рыб. В общей сложности проанализировано 127 особей.

Изучение фракционного состава сывороточных белков осетровых мы проводили, начиная с 80-х годов прошлого века. Белки фракционировали в блоках 7%-ного полиакриламидного геля размером 250мм x 75мм x 1,5мм. Первоначально, как и другие исследователи, мы четко следовали инструкциям по электрофоретическому разделению белков, изложенным в методических руководствах (Ornstein, 1964; Davis, 1964; Сомбатхейн и др., 1969). Однако, довольно скоро мы обратили внимание на феномен появления дополнительных полос альбуминов с нестабильными характеристиками при повышенном количестве вносимой для анализа сыворотки. Стремясь избежать появления модифицированных альбуминов, мы не просто снижали до минимума количество вносимого белка, как это делали в подобной ситуации другие исследователи (Ларский, 1981; Иваненков, Камшилин, 1984, 1985, 1991), но использовали целый комплекс методических приемов.

Основная цель, которая стояла перед нами, заключалась в том, чтобы фракционировать белки в наиболее щадящих условиях. Для этого мы отказались от рекомендованного в методических пособиях способа внесения проб в составе так называемого «стартового» («sample») геля (Ornstein, 1964; Davis, 1964). При этом исходили из тех соображений, что в этом случае, сыворотка, смешанная с мономерным раствором крупнопористого геля, в процессе полимеризации, неизбежно проходит этап достаточно жесткого прессинга, в результате которого возможно повреждение молекул белков. При проведении фотополимеризации, под воздействием интенсивного ультрафиолетового облучения (которое само по себе может оказаться повреждающим фактором), рибофлавин, входящий в состав раствора в качестве катализатора, разрушается с образованием свободных радикалов, высокая химическая активность которых может привести к неконтролируемым реакциям в пробе. С той же целью оградить белки сыворотки от возможных нежелательных воздействий, перед опытом обязательно проводили

предфорез, т.е. электрофоретическое удаление катализаторов и других агрессивных соединений, не прореагировавших в ходе полимеризации (Маурер, 1971). Лишь после этого производилось насаивание проб сыворотки (смешанной с 60%-ным раствором сахарозы в кюветном буфере), непосредственно на дно лунок концентрирующего геля, под слой уже налитого в кювету буферного раствора.

Опытным путем было установлено, что наилучшее качество фракционирования альбуминов (при используемых нами условиях электрофореза и окрашивания), достигается при внесении 10-20 мкг белка сыворотки в объеме 10 мкл при ширине лунок 6 мм (1-2 мкг белка на 1 мм² поверхности концентрирующего геля). При таком внесении гарантированно отсутствуют дополнительные полосы модифицированного альбумина с нестабильными характеристиками, и выявляются только фракции, предположительно детерминированные генетически. При этом не происходит размывания границ фракций и, как результат, слияния близко расположенных полос. В то же время, количество альбумина вполне достаточно для четкой визуализации и денситометрического анализа фракций. Проведенная проверка показала, что при используемых нами условиях электрофореза, повышение количества вносимого сывороточного белка до 4-5 мкг/мм² не вызывало появления модифицированных альбуминов. Количество фракций оставалось таким же, как и при снижении внесения белка до 0,5 мкг/мм². Полученные нами оптимальные значения внесения белка близки к тем, которые приводят В.В. Иваненков и И.Н. Камшилин (1985) для русского осетра и сибирского осетра ленской популяции (схемы на рисунках 2 и 3 вышеуказанной работы). По данным этих авторов, в случае использования красителя Кумасси R-250, модифицированные фракции альбуминов на протеинограммах отсутствуют, если внесение сыворотки меньше или равно 2 мкг/мм² и 0,7 мкг/мм² соответственно, и появляются при внесении 4 мкг/мм² сыворотки у русского и 3 мкг/мм² у ленского осетров.

Некоторые дополнительные подробности проведения нами электрофореза, а также приготовления проб для анализа сыворотки разных видов можно найти в ранее опубликованных работах (Кузьмин, 1994, 1996; Кузьмин, Кузьмина, 2005).

В наших исследованиях выбор для визуализации белков Кумасси R-250 объясняется тем, что этот краситель обладает гораздо более высокой чувствительностью, чем использованный в ранних работах амидочерный 10Б, а также широким диапазоном, в котором сохраняется линейная зависимость между количеством белка в полосах и интенсивностью их окрашивания (Маурер, 1971; Fishbein, 1972). Количество сыворотки, вносимой нами при электрофорезе, а также длина пробега альбуминов в мелкопористом геле (5-6 см), с многократным запасом гарантировали, что полученные паттерны укладываются в диапазон линейной зависимости между количеством белка во фракциях и количеством связанного красителя (Bennett, Scott, 1971; Fishbein, 1972; Wong et al., 1985).

После электрофореза и окрашивания гелевые блоки высушивались по разработанной нами методике (Кузьмин, 1983) и в сухом виде хранились в темноте до момента проведения денситометрического анализа. Сканирование высушенных гелей осуществляли на денситометре MD 100 («Carl Zeiss», Jena), спектральный диапазон измерительного света которого составлял 590-720 нм. При таких условиях денситометрирования с достаточно большим запасом обеспечивалось сохранение

линейной зависимости между площадями соответствующих пиков и количеством белка во фракциях (Bennett, Scott, 1971). Оцифровку полученных денситограмм и определение соотношения интенсивности окрашивания альбуминовых фракций производили при помощи оригинальной компьютерной программы. На основании оценки соотношения интенсивности окрашивания полос гетерогенных спектров, рыбы со сходными характеристиками объединялись в группы, предположительно имеющие одинаковые генотипы по альбуминовому локусу.

При статистической обработке полученных данных, там, где возможно, производилась оценка гетерогенности выборочных группировок при помощи модифицированного теста на гетерогенность (χ^2_G), с соответствующей модификацией числа степеней свободы (v_G). Критические значения для χ^2_α вычисляли по формуле для 5%-ного уровня значимости (Животовский, 1991). Для оценки сходства выборок по частотам генотипов использовали индекс генетического подобия (ИГП) Джеффриса-Матуситы. Формирование ветвей дендрограммы, построенной на основании полученных ИГП, производили взвешенным парно-групповым методом (Богданов и др., 1980). Оценку отклонений фактических частот генотипов от теоретически ожидаемых в соответствии с распределением Харди-Вайнберга производили при помощи стандартного критерия χ^2 . Для этого, как и ранее в подобных случаях, использовали метод последовательного сведения многоаллельной ситуации к двухаллельной: проверяемый аллель (a_i) – сумма всех остальных аллелей (S), с последующим суммированием значений критерия, полученных для каждого аллельного варианта (Ли, 1978; Животовский, 1991; Кузьмин, 2002, 2008). В тексте, при обсуждении соотношений интенсивности окрашивания фракций, приведены средние значения признака (x) и доверительные интервалы ($\pm ts_x$) (Лакин, 1980). Более подробное описание используемых нами приемов статистической обработки данных опубликовано в печати (Кузьмин, 2002, 2008).

В соответствии с ранее принятой схемой, фракции альбуминов обозначали буквами латинского алфавита в порядке убывания электрофоретической подвижности. Обозначение начинали с быстро мигрирующей полосы, общей для стерляди, шипа, севрюги, калуги, русского, сибирского и амурского осетров (Кузьмин, 1996). Фракции, обнаруженные позднее и имеющие электрофоретическую подвижность, превышающую таковую полосы, первоначально принятой за точку отсчета, получили обозначения, несколько выпадающие из общей системы (Лукьяненко, Хабаров, 2005). Фракции альбуминов русского и сибирского осетров, имеющие одинаковую подвижность, имеют, соответственно, и одинаковые буквенные обозначения. При описании фракций, фенотипов, аллелей и генотипов учитывались рекомендации по стандартизации генетической номенклатуры в работах, посвященных биохимической генетике рыб (Shaklee et al., 1990). При записи генотипов, перед буквенным обозначением аллельных вариантов проставлен коэффициент, показывающий дозу гена в общем пуле, определяющую синтез данного типа молекул.

РЕЗУЛЬТАТЫ

План строения альбуминовой системы русского и сибирского осетров довольно сложный и имеет много общего у этих двух видов. Суммарно, у русского осетра было выявлено семь, а у сибирского – пять электрофоретических вариантов

альбуминов (рис. 1). Пять основных фракций (А, В, С, D, E) были обнаружены как у русского, так и у сибирского осетров, а две наиболее подвижные (А' и А'') отмечены только у русского осетра. Фракция А'' (рис. 1) описана впервые. Максимально, на индивидуальных протеинограммах можно встретить одновременно до четырех электрофоретически различающихся вариантов альбуминов. У русского осетра в исследованной выборке только по наличию тех или иных фракций, без учета вариаций в интенсивности их окрашивания, обнаружено 26, а у сибирского – 18 фенотипов. Общими для русского и сибирского осетров оказались 15 фенотипов (А, АВ, АС, АД, АЕ, ВС, ВЕ, СЕ, ABD, ABE, ACE, ADE, BCE, BDE, ABDE). У русского осетра выявлено 11 фенотипов, которые не встретились у сибирского осетра (В, BD, ABC, ACD, ABCD, А'А, А''А, А'В, А'АВ, А'BD, А'АВЕ), а у сибирского имелись три фенотипа, не выявленные у русского (Е, DE, ABCE). Следует отметить, что другими авторами у русского осетра описаны альбуминовые фракции и фенотипы, которые не встретились в наших выборках (Лукьяненко, Хабаров, 2005).

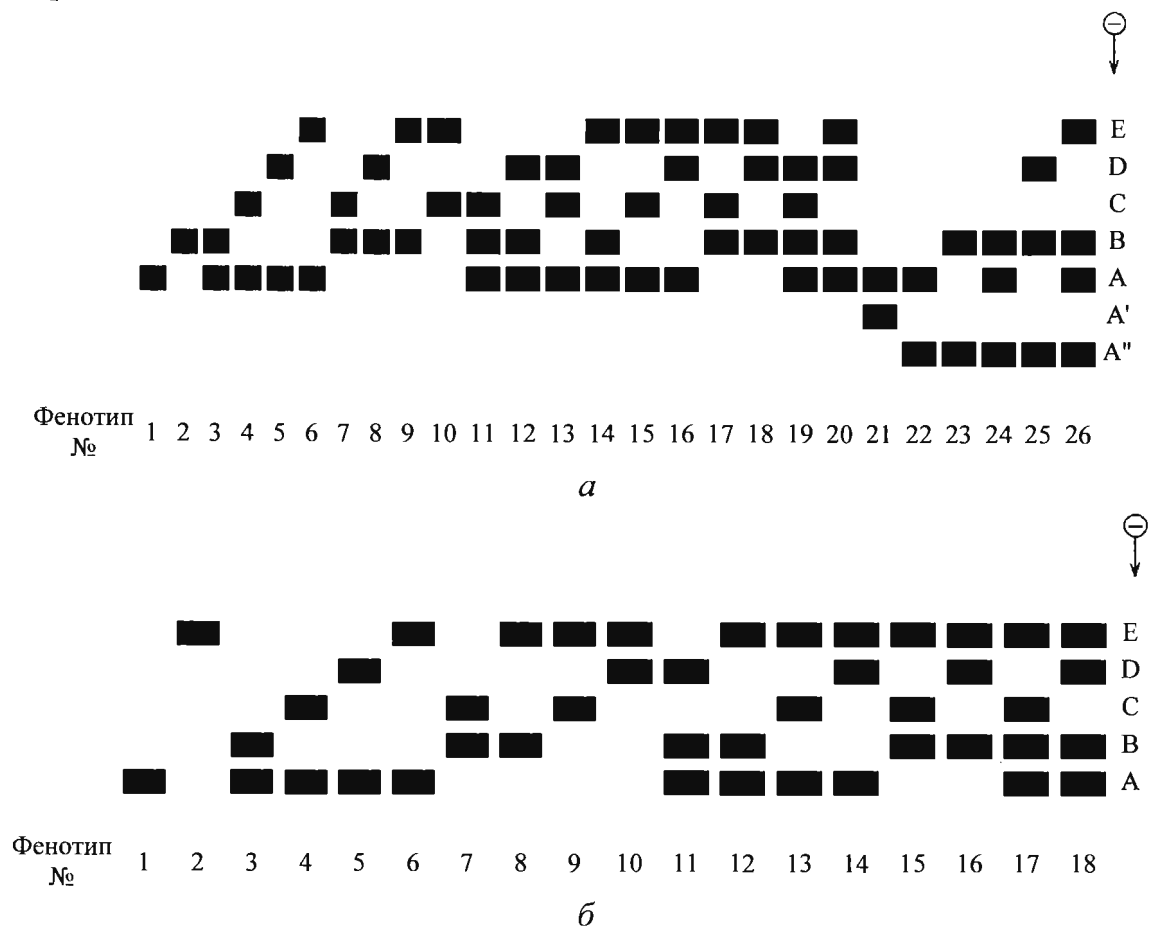


Рис. 1. Схема выявленных типов электрофоретической изменчивости альбуминов сыворотки крови русского (а) и сибирского (б) осетров, без учета вариаций интенсивности окрашивания фракций гетерогенных спектров. С правой стороны рисунка приведены используемые в тексте обозначения фракций.

Fig. 1. A scheme of the revealed types of electrophoretic variability of blood serum albumins in Russian (a) and Siberian (б) sturgeons without taking into account variations in coloring intensity of heterogeneous spectra fractions. Symbols for the fractions used in the text are given on the right side of the figure.

Денситометрический анализ соотношений интенсивности окрашивания гетерогенных спектров русского и сибирского осетров показал, что наиболее близки эти соотношения к тем, которые можно ожидать при восьмигенной детерминации синтеза аллельных вариантов альбуминов. Приняв за основу эту гипотезу, все наблюдаемое разнообразие проявления этих белков можно довольно четко сгруппировать и отнести к тому или иному теоретическому классу. Чтобы оценить соответствие фактических и теоретически ожидаемых соотношений интенсивности окрашивания фракций, результаты денситометрирования подвергались статистической обработке. Для получения репрезентативного размера выборок, при расчетах, в одну группу объединяли особей с одинаковыми соотношениями, независимо от того, какими аллельными вариантами образован тот или иной спектр.

Если исходить из гипотезы о восьмигенной детерминации синтеза альбуминов, то теоретически, соотношения интенсивности окрашивания фракций в наиболее часто встречающихся у русского осетра классах двухкомпонентных спектров должно составлять (после сокращения): 3:1; 1.7:1; 1:1; 1:1.7; 1:3. Фактические же соотношения были следующими: $(2,97 \pm 0,12):1$ ($n=69$); $(1,94 \pm 0,06):1$ ($n=92$); $(1,07 \pm 0,02):(1,02 \pm 0,02)$ ($n=63$); $1:(1,83 \pm 0,10)$ ($n=28$) и $1:(3,05 \pm 0,37)$ ($n=12$) соответственно. У сибирского осетра, с достаточной для статистической обработки частотой встречались особи, отнесенные к следующим теоретическим классам: 1.7:1; 1:1; 1:1.7. У рыб, принадлежащих к этим группировкам, фактические соотношения интенсивности окрашивания фракций были следующими: $(1,80 \pm 0,12):1$ ($n=25$); $(1,06 \pm 0,04):(1,01 \pm 0,01)$ ($n=21$) и $1:(1,61 \pm 0,06)$ ($n=28$) соответственно.

Трехкомпонентные спектры встречались значительно реже, чем двухкомпонентные, поэтому, для того чтобы получить достаточные для статистической обработки размеры выборок, первичные данные группировались следующим образом. В одну группу объединяли всех особей, у которых в общем пуле имелось две дозы одного аллеля, две другого и четыре третьего (соотношение 2:2:4 или, после сокращения, 1:1:2), независимо от того, что это были за аллели. Во вторую группу вошли особи, у которых в общем пуле имелось две дозы одного аллеля, три другого и три третьего (соотношение 2:3:3 или, после сокращения, 1:1,5:1,5). Сгруппировав особей по этому принципу и статистически обработав полученные данные, мы получили следующие средние величины и доверительные интервалы: русский осетр – $(1,07 \pm 0,04):(1,09 \pm 0,04):(1,97 \pm 0,12)$ ($n=37$) и $1:(1,55 \pm 0,36):(1,57 \pm 0,39)$ ($n=6$); сибирский осетр – $(1,06 \pm 0,04):(1,04 \pm 0,04):(1,66 \pm 0,12)$ ($n=23$) и $1:(1,31 \pm 0,11):(1,35 \pm 0,11)$ ($n=15$).

Можно видеть, что в выделенных нами классах как у русского, так и у сибирского осетров, соотношения интенсивности окрашивания фракций близки, а во многих случаях практически совпадают с теми, которые можно ожидать теоретически, в случае их детерминации полиаллельным локусом *ALB** с кодоминантным проявлением аллелей.

Численности генотипов в выборках, фактические частоты аллельных генов, а также соответствие фактических генотипических частот теоретически ожидаемым в соответствии с распределением Харди-Вайнберга, представлены в таблице. В качестве иллюстрации генетически детерминированного полиморфизма альбуминов, на рисунке приведены электрофореграммы русского (рис. 2а) и сибирского (рис. 2б) осетров. Суммарно, у этих двух видов идентифицировано 87

генотипов. Из них 50 генотипов мы встретили только у русского осетра, и 15 – только у сибирского.

Продолжая анализ полученных данных, мы провели попарное сравнение выборок русского осетра по частотам фенотипов и по частотам генов, используя тест χ^2_G на гетерогенность. Частоты генов оказались более чувствительным и информативным показателем, чем частоты фенотипов. В то время как по фенотипам достоверные различия между парами выборок установлены для 50% случаев, по генным частотам подавляющее большинство выборок достоверно отличаются друг от друга и лишь в двух случаях из 24-х различия оказались недостоверными на 5%-ном уровне значимости. Это относится к парам выборок г. Волгоград-1985 ($n=29$) и г. Астрахань-1993 ($n=40$) ($\chi^2_G=9,09 < \chi^2_{0,05}=12,74$; $v_G=6,06$), а также Азовское море-1984 ($n=28$) и Черное море-1987 ($n=33$) ($\chi^2_G=11,80 < \chi^2_{0,05}=12,10$; $v_G=5,63$).

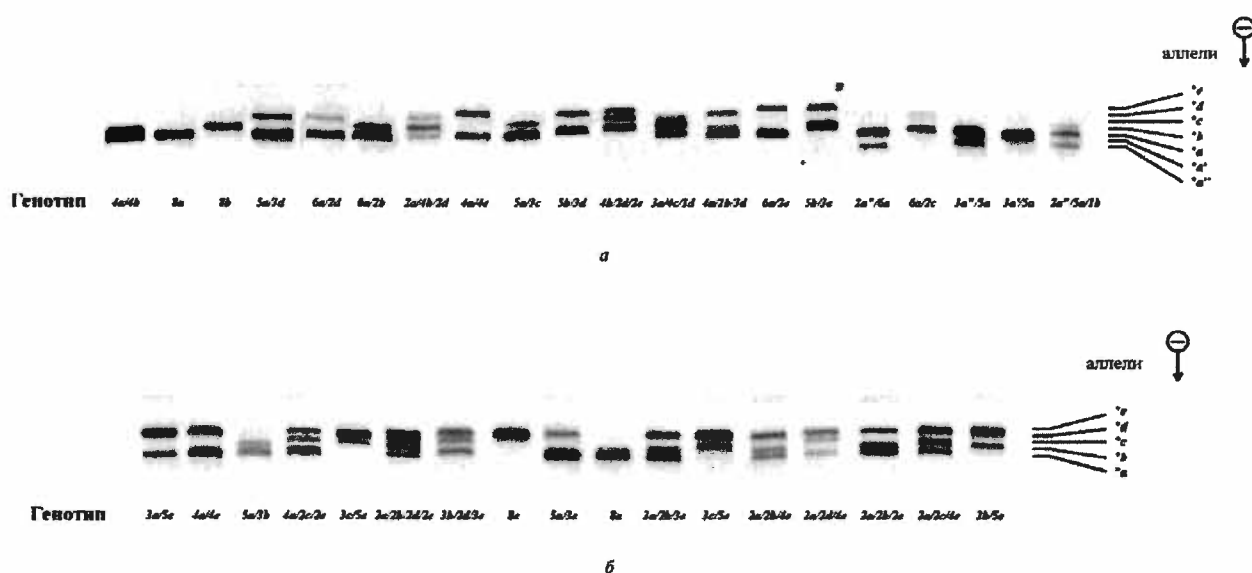


Рис. 2. Примеры электрофоретических спектров альбуминов сыворотки крови русского (а) и сибирского (б) осетров. Внизу под фотографиями приведены обозначения генотипов, детерминирующих данные спектры.

Fig. 2. Examples of electrophoretic patterns of blood serum albumins in Russian (a) and Siberian (b) sturgeons. Symbols for the genotypes determining given spectra are given underneath the photos.

Тестирование на гетерогенность выборочных группировок по численностям генотипов не проводилось, вследствие наличия в данном случае ограничений на применимость χ^2 статистики. Из-за недостаточных для выявленного количества генотипов размеров выборок, слишком многие из теоретически рассчитанных классов имели недопустимо малые ожидаемые численности (Животовский, 1991; Вейр, 1995; Дубина, 2006). Использовать же для устранения этого препятствия обычно применяемые в подобных случаях приемы объединения выборок, либо классов с наименьшей численностью, мы сочли некорректным, т.к., судя по генным частотам, подавляющее большинство выборок достоверно различаются между собой.

Частоты генотипов использовались для вычисления ИГП выборок. Полученные результаты, в виде дендрограммы, представлены на рисунке 3. Следует отметить, что пары выборок г. Волгоград-1985 и г. Астрахань-1993, а также Азовское море-1984 и Черное море-1987, достоверно не различающиеся по генным частотам, по ИГП также оказались наиболее близкими.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный статистический анализ соотношений интенсивности окрашивания фракций свидетельствует в пользу гипотезы о восьмигенном кодировании альбуминовой системы русского и сибирского осетров. Данный характер генной детерминации альбуминов с равной вероятностью может быть обусловлен как октоплоидностью генома, так и дупликацией генов у тетраплоидных видов. Последнее предположение представляется более предпочтительным. Ранее было показано, что у стерляди (имеющей вдвое меньше хромосом, чем русский и сибирский осетры), характер проявления альбуминов соответствует ожидаемому при дисомном кодоминантном наследовании аллелей, при этом подавляющее большинство выборок стерляди находилось в равновесном состоянии в соответствии с формулой Харди-Вайнберга (Кузьмин, Кузьмина, 2005). Однако, в отличие от стерляди, у русского осетра ни в одной из проанализированных выборок частоты генотипов не соответствовали теоретически ожидаемым в соответствии с этим распределением. Аналогичная ситуация наблюдалась и у сибирского осетра.

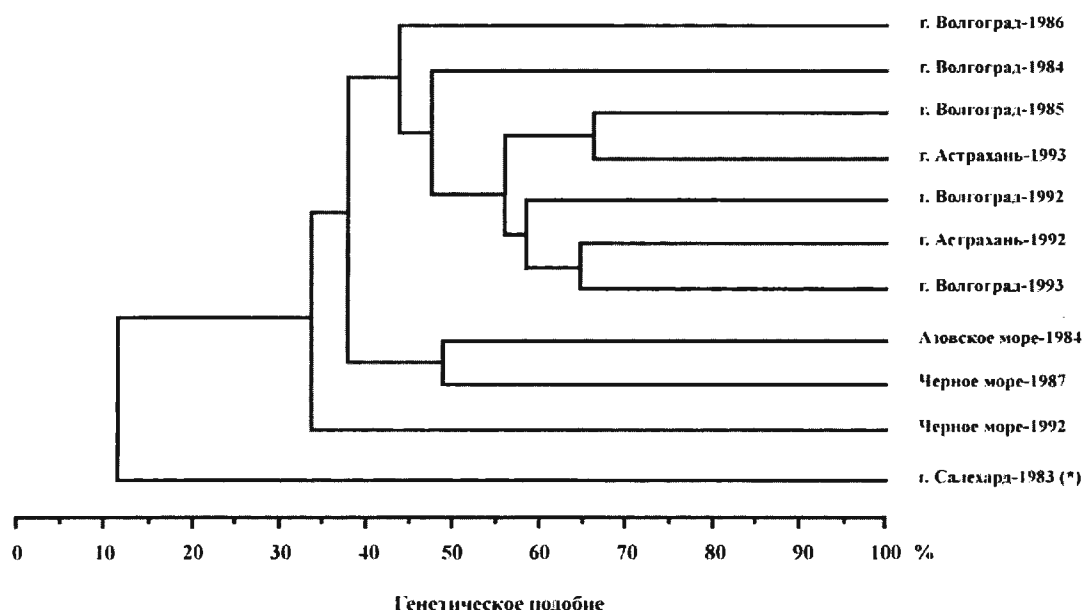


Рис. 3. Дендрограмма сходства проанализированных выборок русского и сибирского осетров по частотам генотипов альбуминового локуса. Звездочкой помечена выборка сибирского осетра.

Fig. 3. A similarity dendrogram of the analyzed samples of Russian and Siberian sturgeons in genotype frequencies of the albumin locus. The asterisk marks the sample of Siberian sturgeon.

У русского осетра фактическая частота встречаемости в выборках гомозигот по наиболее распространенным аллелям **a* (генотип 8*a*) и **b* (генотип 8*b*) в отдельных случаях может на несколько порядков превышать теоретически ожидаемую величину. У сибирского осетра наибольший эксцесс гомозигот характерен для самых часто встречающихся аллелей **a* (генотип 8*a*) и **e* (генотип 8*e*). У обоих видов осетров, из всех вариантов гетерозиготных спектров наибольший дефицит наблюдался для генотипов 1*a*₇*S* (случай, когда испытуемый аллель находится в одиночестве среди других аллелей). Вклад данного генотипа в суммарное значение критерия χ^2 , как правило, наиболее значимый.

Таблица. Численные распределения генотипов локуса *Alb**, частоты аллелей и оценка значимости отклонений от соотношения Харди-Вайнберга в исследованных выборках русского и сибирского осетров.

Table. Numerical distribution of genotypes and allele frequencies at the locus *Alb** and estimation of deviations from Hardy-Weinberg proportion in the analyzed samples of Russian and Siberian sturgeons.

Русский														Сибирский							
р. Волга														Азовское море		Черное море				р. Обь	
г. Волгоград								г. Астрахань												г. Салехард	
1984	n	1985	n	1986	n	1992	n	1993	n	1992	n	1993	n	1984	n	1987	n	1992	n	1983	n
8a	25	8a	13	8a	8	8a	41	8a	33	8a	24	8a	19	8a	3	8a	5	8a	20	8a	4
8b	4	8b	1	8b	14	8b	15	8b	29	8b	10	8b	3	8b	5	8b	7	8b	5	8e	5
3a/5b	3	4a/4b	4	2a/6b	1	2a/6b	2	3a/5b	2	3a/5b	4	4a/4b	4	3a/5b	2	2a/6b	1	2a/6b	1	5a/3b	2
4a/4b	10	5a/3b	1	4a/4b	3	3a/5b	4	4a/4b	5	4a/4b	4	5a/3b	2	4a/4b	7	3a/5b	1	6a/2c	1	6a/2c	1
5a/3b	8	6a/2b	1	5a/3b	1	4a/4b	6	5a/3b	2	5a/3b	2	6a/2b	1	5a/3b	1	4a/4b	7	6a/2e	1	3a/5d	1
6a/2b	4	3a/5c	1	6a/2b	3	5a/3b	11	6a/2b	2	6a/2b	1	5a/3c	3	7a/1c	1	5a/3b	2	3a/5a	2	4a/4d	1
4a/4c	4	5a/3c	2	7a/1b	2	6a/2b	6	5a/3c	3	4a/4c	1	6a/2c	1	5a/3e	1	6a/2c	1	4a/4a	1	5a/3d	2
5a/3c	1	6a/2c	1	2a/6c	1	7a/1b	1	6a/2c	3	5a/3c	3	5a/3d	2	2a/4b/2c	1	4b/4c	1	6a/2a	1	3a/5e	11
6a/2c	2	5a/3d	1	4a/4c	1	3a/5c	1	5a/3d	1	6a/2c	2	6a/2d	2	2a/6b	3	6b/2c	3	2a/6a	1	4a/4e	18
5a/3d	2	6a/2d	1	5a/3c	1	4a/4c	3	6a/2d	1	5a/3d	3	5b/3c	2	1a/2a/5b	2	6b/2d	1	3a/5a	3	5a/3e	18
6a/2d	3	2a/4b/2d	1	6a/2d	1	5a/3c	1	7a/1d	1	5b/3c	1	6b/2c	1	2a/2a/4b	1	2a/4b/2e	1	2a/2a/4b	1	5b/3c	1
4a/4e	1	3a/3b/2e	1	4a/4e	1	6a/2c	2	5b/3c	2	5b/3d	1			1a/6b/1d	1	1a/5b/1c/1d	1	2a/5a/1b	1	3b/5e	11
5a/3e	3	3a/4b/1d	1	5a/3e	2	5a/3d	5	6b/2c	2	6b/2d	1					2a/6b	1			5b/3e	1
6a/2e	5			6a/2e	1	6a/2d	4	4b/4d	2	2a/2b/4d	1					2a/2a/4b	1			3c/5e	1
4b/4c	3			6b/2c	1	4a/4e	1	5b/3d	2	4a/2b/2d	1									4c/4e	2
5b/3d	2			4b/4d	1	5a/3e	2	6b/2d	3	3b/3d/2e	1									3d/5e	5
6b/2d	1			5b/3d	2	6a/2e	1	6b/2e	3											3a/2b/3d	1
5b/3e	1			6b/2d	1	7a/1e	1	2a/4b/2c	2											4a/2b/2d	1
3c/5e	1			5b/3e	1	6b/2c	1	2a/4b/2d	1											2a/2b/4e	5
4c/4e	1			6b/2e	3	5b/3d	3	4a/1b/3d	1											2a/4b/2e	1
3a/4b/1c	1			3a/3b/2d	1	6b/2d	1	4a/2b/2d	3											3a/2b/3e	2
3a/3b/2c	1			4a/2c/2e	1	2a/4b/2d	2	5a/2d/1e	1											3a/3b/2e	1
3a/3b/2d	2			2a/2b/2d/2e	1	4a/2b/2d	1	3b/3c/2e	1											4a/2b/2e	3
3a/2b/3d	1			2a/2a/2b/2e	1	5a/1b/2d	1													4a/2c/2e	4
5a/1b/2d	2					4a/2c/2d	1													3a/3c/2e	1
2a/4c/2d	2					4a/2b/2e	2													2a/2c/4e	5
3a/3c/2d	1					2a/2c/4e	1													2a/3c/3e	1
4a/2c/2d	1					5a/3a	1													2a/2d/4e	1
3a/2b/3e	1					2a/3a/3b	1													2a/3d/3e	2
4a/2b/2e	1					2a/4b/2d	1													3a/2d/3e	3
4a/2c/2e	1																			4a/1d/3e	1
4a/2d/2e	1																			4a/2d/2e	2
4b/2d/2e	1																			3b/3c/2e	1
																				3b/2d/3e	3
																				4b/2d/2e	1
																				2a/2b/2c/2e	1
																				2a/2b/2d/2e	3

Продолжение табл. 1.
Continuation of table 1.

Частоты аллелей в выборках (p)										
e=0,058	e=0,009	e=0,064	e=0,021	e=0,011	e=0,004	d=0,031	e=0,013	e=0,008	e=0,007	e=0,426
d=0,054	d=0,034	d=0,042	d=0,047	d=0,046	d=0,048	c=0,059	d=0,005	d=0,011	c=0,007	d=0,067
c=0,075	c=0,056	c=0,040	c=0,031	c=0,038	c=0,042	b=0,200	c=0,013	c=0,049	b=0,168	c=0,044
b=0,221	b=0,172	b=0,465	b=0,275	b=0,441	b=0,306	a=0,710	b=0,549	b=0,561	a=0,717	b=0,103
a=0,592	a=0,716	a=0,384	a=0,617	a=0,464	a=0,600		a=0,371	a=0,356	a'=0,052	a=0,360
	a''=0,013	a''=0,005	a'=0,005	a''=0,004			a''=0,049	a''=0,015	a''=0,049	
$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$	$\chi^2_{\phi} > \chi^2_{st}$
541,30 > 25,00	66,58 > 15,51	179,14 > 19,68	722,85 > 23,68	918,78 > 23,68	185,12 > 18,31	116,85 > 15,51	10,72 > 10,64	39,74 > 10,64	102,75 > 15,51	460,35 > 27,59
d.f. = 15	d.f. = 8	d.f. = 11	d.f. = 14	d.f. = 14	d.f. = 10	d.f. = 8	d.f. = 6	d.f. = 7	d.f. = 8	d.f. = 17

Ранее, при изучении неспецифических эстераз русского осетра, был выявлен полиаллельный локус *EST-3**, характер электрофоретического проявления которого в ряде органов и тканей также позволил предположить его восьмигенную детерминацию (Кузьмин, 2002). При этом также наблюдалось значимое отклонение фактических частот генотипов от теоретически ожидаемых. Особенно значительное превышение фактических частот встречаемости над теоретическими характерно для гомозигот по разным аллелям. Сходная картина была обнаружена и при изучении локуса *СК-А** скелетной мускулатуры русского осетра: количество гомозигот, по аллелю, имеющему наибольшую электрофоретическую подвижность, в несколько десятков раз превышало теоретически ожидаемое (Кузьмин, 2008). Таким образом, по крайней мере для трех белковых систем русского осетра (локусы *EST-3**, *СК-А** и *ALB**) можно констатировать наличие весьма сходного характера электрофоретического проявления: соотношения интенсивности окрашивания фракций соответствуют ожидаемым при их восьмигенной детерминации, но при этом наблюдаются значительные отклонения фактических частот генотипов от распределения Харди-Вайнберга в сторону избыточного количества гомозигот.

Возможно, что наблюдаемый эксцесс гомозигот объясняется эффектом Валунда, возникающим в смешанной выборке, состоящей из сильно различающихся группировок (Ли, 1976; Животовский, 1991), а у русского осетра, как известно, имеется четко выраженная внутривидовая дифференциация различных биологических групп и рас (Гербильский, 1972; Лукьяненко и др., 1988). К тому же, состав нерестового стада не является стабильным и ежегодно меняется, так как период между повторными созреваниями у русского осетра может колебаться от трех до восьми и более лет. В результате, на нерест одновременно идут как впервые нерестящиеся особи, так и рыбы старших возрастов различных генераций (Батычков, 1979; Лукьяненко, Кулик, 1994). Таким образом, имеются веские основания предполагать наличие высокой степени гетерогенности в этом плане проанализированных нами выборок. Помимо эффекта Валунда, отклонения от теоретически ожидаемого распределения могут быть вызваны также и отбором. Так, например, было показано, что рыбы с фенотипами альбуминов А и АВС наименее подвержены такому заболеванию, как расслоение мышечной ткани, а наиболее страдают от него особи, у которых в спектре альбуминов присутствует компонент D (Бараев, 1990а, 1990б). Существенное воздействие на структуру популяций русского осетра может оказывать также такой фактор, как искусственное воспроизводство, за счет которого в значительной степени поддерживается численность этого вида. Учитывая небольшое количество используемых производителей, можно ожидать проявления значительного дрейфа генов в популяциях, затронутых проведением рыбоводных мероприятий.

Формула Харди-Вайнберга справедлива только при соблюдении ряда условий, и в нашем случае можно с достаточной степенью уверенности предположить, что часть этих условий не выполняется. В ситуации, когда на нерест идет стадо рыб, состоящее из особей разных генераций и разных экологических групп, явно прошедших за многолетний период от вылупления из икры до периода полового созревания стадию отбора по тем или иным параметрам, изначальный баланс генотипов очевидно метаморфизуется. В этом случае, при проверке гипотез генетической детерминации трудно полагаться только на такой критерий, как соответствие реального соотношения генотипов распределению Харди-

Вайнберга. При отсутствии возможности проведения скрещивания производителей с известными генотипами и последующего анализа потомства, реальной (хотя и вынужденной) альтернативой для проверки гипотез, позволяющих пролить свет на генетическую детерминацию белков, может служить денситометрический анализ протеинограмм.

При сравнении аллельных частот русского и сибирского осетров можно заметить, что в распределении этих частот имеются существенные различия между видами (табл.). Несмотря на сходство общего плана строения альбуминовой системы, они принципиально отличаются по частотам генотипов. По ИГП, выборка сибирского осетра примыкает к выборкам русского осетра на очень низком уровне генетического подобия (рис. 3). У русского осетра, в подавляющем большинстве случаев, на первом месте по частоте встречаемости стоит аллель **a*, а на втором – аллель **b*, в то время как у сибирского наиболее широко распространен самый медленный вариант альбуминов – аллель **e*. Аллель **a* у сибирского осетра по частоте встречаемости находится на втором месте, а аллель **b* – на третьем (табл.). Не исключено, что такое перераспределение связано с экологическими особенностями этих двух видов. Русский осетр для нагула активно использует осолоненные воды Каспийского, Азовского и Черного морей, в то время как сибирский осетр обской популяции считается более «пресноводным». При нагуле он придерживается приустьевых участков, где соленость не превышает 7-8‰ (Вотинов, 1958; Михалев, 1967). О возможной связи альбуминовых спектров с экологическими условиями обитания говорит и тот факт, что 85% особей калуги, выходящей для нагула в наиболее осолоненные участки Амурского залива, имеют однокомпонентный альбумин, в то время как в опресненной части лимана у 95% особей альбумины представлены двумя компонентами (Крыхтин, 1985). В этой связи можно отметить, что у русского осетра доля однокомпонентных альбуминовых спектров значительно выше, чем у сибирского, а особенно высока доля однокомпонентных альбуминов в выборках из азово-черноморской популяции этого вида (табл.).

В целом же можно отметить еще одну закономерность (табл.): в исследованных популяциях русского осетра общее количество гомозигот ($8a_i$) за исследованный нами период имеет тенденцию к возрастанию. Минимальное количество таких особей мы встречали в 1984 г. в Азовском море (28,57%). В этом же году под Волгоградом доля гомозигот составляла 29,00%. Далее количество гомозиготных по альбуминовому локусу рыб возрастало, и достигало максимальных величин: под Волгоградом в 1993 г. (59,04%) и в Черном море в 1992 г. (65,79%). Доля гомозиготных по альбуминам рыб в выборке сибирского осетра в 1983 г. составляла 7,08%, но даже такое их количество значительно превышает теоретически ожидаемую величину.

У русского осетра, на фоне возрастания за исследованный период встречаемости гомозигот, наблюдается тенденция к снижению общего уровня генотипического разнообразия. Такой показатель, как количество генотипов, обнаруженных в выборке, отнесенное к числу проанализированных рыб, снизился примерно в 1,5-2 раза. Причем это относится как к северо-каспийской, так и к азово-черноморской популяции русского осетра. Если под Волгоградом в 1984, 1985 и 1986 гг. этот показатель составлял соответственно 0,330, 0,448 и 0,453, то в 1992 и 1993 гг. – 0,244 и 0,219. В 1990-е годы, под Астраханью, количество выявляемых

генотипов находилось примерно на том же уровне, что и под Волгоградом: в 1992 г. – 0,267 генотипов на особь, а в 1993 г. – 0,275. В Азово-Черноморском бассейне наблюдалась аналогичная картина. В Азовском море в 1984 г. выявлялось 0,429 генотипа на особь, в Черном море в 1987 г. – 0,424, а в 1992 г. – 0,316. Таким образом, можно констатировать, что за исследованный период прослеживается тенденция снижения генотипического разнообразия альбуминов как у русского осетра северо-каспийской популяции, так и русского осетра азово-черноморской популяции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Баль Н.В. Фракционный состав сывороточных белков нижеволжской стерляди // II Всес. совещ. «Осетровое хозяйство внутренних водоемов СССР». Тез. и реф. Астрахань: Волга, 1979. С. 26-27.

Балахнин И.А., Галаган Н.П., Лукьяненко В.И., Попов А.В. О генетическом полиморфизме некоторых компонентов крови у рыб (на примере осетровых и карповых) // Докл. АН СССР. 1972. Т. 204. №5. С. 1250-1251.

Бараев А.А. Количественное соотношение фракций в двухкомпонентных альбуминах русского осетра // Второй симпозиум по экологической биохимии рыб. Тез. докл. Ростов Великий. Декабрь. Ярославль, 1990а. С. 16-17.

Бараев А.А. Степень расслоения мышечной ткани русского осетра с различными фенотипами сывороточных альбуминов в речной период жизни. В сб.: Физиолого-биохимический статус Волго-Каспийских осетровых в норме и при расслоении мышечной ткани. Рыбинск, 1990б. С. 146-149.

Батычков Г.А. Ход и состав нерестового стада осетра в районе Волгограда в 1975 и 1977 гг. // II Всес. совещ. «Осетровое хозяйство внутренних водоемов СССР». Тез. и реф. Астрахань: Волга, 1979. С. 27-28.

Богданов Л.В., Коваль Е.З., Черноиванов В.А. Рекомендации по использованию электрофоретических данных при межпопуляционных и межвидовых сравнениях. Владивосток: ТИНРО, 1980. 38 с.

Вейр В.С. Анализ генетических данных. Дискретные генетические признаки. М.: Мир, 1995. 400 с.

Вотинов Н.П. Осетровые рыбы обского бассейна. Тюмень: Тюменское книжное изд-во, 1958. 44 с.

Гербильский Н.Л. Сравнительное исследование проявлений внутривидовой биологической разнокачественности у осетровых в связи с особенностями гидрографии южных рек СССР. Сб. Осетровые и проблемы осетрового хозяйства. М., 1972. С. 71-78.

Демкина Н.В. Биохимические маркеры в селекции и разведении объектов пресноводной аквакультуры: опыт ВНИИПРХ // Рыбное хозяйство. 2004. №6. С. 47-48.

Демкина Н.В. Биохимические маркеры в селекции и разведении карповых и осетровых рыб: Автореф. диссерт. на соиск. учен. степени доктора биол. наук. Рыбное: ВНИИПРХ, 2005. 53с.

Дубина И.Н. Математические основы эмпирических социально-экономических исследований. Барнаул: Алтайский университет, 2006. 263 с.

Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.

Животовский Л.А., Афанасьев К.И., Рубцова Г.И. и др. О создании базы ДНК-данных для решения проблем воспроизводства, идентификации и сертификации популяций тихоокеанских лососей на примере кеты о. Итуруп // Вопросы рыболовства. 2008. Т. 9. №1. С. 96-109.

Иваненков В.В., Камшилин И.Н. Различия в электрофоретической подвижности двух фракций сывороточного альбумина белуги не детерминированы генетически // Генетика. 1984. Т. 20. №7. С. 1211-1218.

Иваненков В.В., Камшилин И.Н. Негенетические различия в электрофоретической подвижности некоторых фракций сывороточного альбумина осетровых рыб // Генетика. 1985. Т. 21. №10. С. 1731-1739.

Иваненков В.В., Камшилин И.Н. О возможности использования фракций альбуминов осетровых рыб в качестве генетических маркеров для популяционных исследований // Вопросы ихтиологии. 1991. Т. 31. Вып. 2. С. 324-332.

Камшилин И.Н., Лукьяненко В.И., Мишин Э.А., Попов А.В. Биохимический полиморфизм северокаспийской севрюги // II Всес. совещ. «Осетровое хозяйство внутренних водоемов СССР». Тез. и реф. Астрахань: Волга, 1979. С. 96-97.

Карнаухов Г.И. Альбумины волжской стерляди из генетической коллекции южного филиала ФСГРЦ // Междунар. конф. «Осетровые на рубеже XXI века». Тез. докл. Астрахань: КаспНИИРХ, 2000. С. 148-149.

Карнаухов Г.И., Чебанов М.С., Василиади В.Д. Методические рекомендации по определению видовой принадлежности осетровых рыб электрофоретическим методом. Краснодар: КрасНИИРХ, 2003. 16с.

Крыхтин М.Л. Эколого-физиологическая разнокачественность популяции калуги в лимане Амура // Экологическая физиология и биохимия рыб / VI Всес. конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. Тез. докл. Вильнюс, 1985. С. 105-106.

Кузьмин Е.В. Приспособление для сушки полиакриламидных гелей // Лабораторное дело. 1983. №6. С. 53-54.

Кузьмин Е.В. Сравнительный анализ фракционного состава саркоплазматических мышечных белков различных представителей семейства осетровых (*Acipenseridae*) // Вопросы ихтиологии. 1994. Т. 34. №4. С. 548-556.

Кузьмин Е.В. Альбуминовая система сыворотки крови осетрообразных в речной период жизни // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. №1. С. 101-108.

Кузьмин Е.В. Аллозимная изменчивость неспецифических эстераз русского осетра (*Acipenser guldenstadti* Brandt) // Генетика. 2002. Т. 38. №4. С. 507-514.

Кузьмин Е.В., Кузьмина О.Ю. Популяционный анализ электрофоретической изменчивости альбуминов сыворотки крови европейской (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) и сибирской (*A. ruthenus marsiglii* Brandt) стерляди // Генетика. 2005. Т. 41. №2. С. 246-253.

Кузьмин Е.В. Анализ изменчивости креатинкиназы некоторых представителей семейства осетровых (*Acipenseridae*) // Генетика. 2008. Т. 44. №4. С. 507-515.

Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293 с.

Ларский Э.Г. Методы зонального электрофореза. М.: Медицина, 1971. 112 с.

Ли Ч. Введение в популяционную генетику. М.: Мир, 1978. 555 с.

Лукьяненко В.И., Попов А.В., Мишин Э.А. Гетерогенность и полиморфизм сывороточных альбуминов у рыб // Докл. АН СССР. 1971. Т. 201. №3. С. 737-740.

Лукьяненко В.И., Камшилин И.Н., Попов А.В., Мишин Э.А. Экологическая обусловленность полиморфизма сывороточных альбуминов северо-каспийской севрюги. Сб. Экологическая физиология и биохимия рыб. Астрахань, 1979. Т. 2. С. 224-226.

Лукьяненко В.И., Каратаева Б.Б., Камшилин И.Н. Сезонные расы Волго-Каспийских осетровых рыб. Андропов, 1988. 191 с.

Лукьяненко В.И., Кулик П.В. Физиолого-биохимическая и рыбоводная характеристика разновозрастных производителей волго-каспийских осетровых рыб. Рыбинск, 1994. 271 с.

Лукьяненко В.И., Хабаров М.В. Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб. Ярославль, 2005. 232 с.

Маурер Г. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971. 247 с.

Михалев Ю.В. К биологии и регулированию промысла проходного осетра р. Енисей // Тр. Красноярск. отд. Сиб. НИИРХ. 1967. Т. 9. С. 343-361.

Нефедов С.А., Демкина Н.В., Новикова Е.В., Нефедова И.В. Формирование маточного стада сибирского осетра *Acipenser baeri* Brandt обской популяции в промышленных условиях и оценка его генетической гетерогенности // Вопросы рыболовства. 2008. Т. 9. №3. С. 717-723.

Попов А.В. Полиморфизм альбуминов трех популяций волжской стерляди // Рациональные основы ведения осетрового хозяйства. Волгоград: Волгоградская правда, 1981. С. 206-207.

Рожкован К.В. Молекулярная эволюция 18S рДНК и генетическое разнообразие осетров Амура *Acipenser schrenckii* Brandt, 1869 и *Huso dauricus* (Georgii, 1775): Автореф. диссерт. на соиск. уч. степени кандидата биол. наук. Владивосток: ТИНРО, 2008. 21 с.

Русанов В.М., Скобелев Л.И. Фракционирование белков плазмы в производстве препаратов крови. М.: Медицина, 1983. 224 с.

Рябова Г.Д., Политов Д.В., Офицеров М.В. и др. Первые итоги исследования генетической изменчивости сибирского осетра и стерляди на Конаковском заводе // Первая научно-практ. конф. «Пробл. совр. товарн. Осетроводства». Тез. докл. Астрахань: КаспНИИРХ, 1999. С. 75-76.

Рябова Г.Д., Демкина Н.В., Баранова Н.А., Илясов Ю.И. Исследование генетического полиморфизма сибирского обского осетра // Сб. научн. тр. ВНИИПРХ «Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры». М.: ВНИРО, 2002. Вып. 78. С. 117-120.

Сомбатхейн Д., Надь И., Курц М., Бараньяи П., Хевеши А., Такач-Винокурова В.Я. Модель 69. Прибор для электрофореза в полиакриламидном геле и набор реактивов. Методическое руководство. Будапешт: Реанал, 1969. 36 с.

Тимошкина Н.Н., Барминцева А.Е., Усатов А.В., Мюге Н.С. Внутривидовой генетический полиморфизм русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) // Генетика. 2009. Т. 45. №9. С. 1250-1259.

Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии. М.: Мир, 1981. Т. 3. 727 с.

Хабаров М.В. Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб // Автореф. диссерт. на соискание учен. степени кандидата биол. наук. Ярославль: ЯрГТУ, 2005. 21 с.

Чегер С.И. Транспортная функция сывороточных альбуминов. Бухарест: Академия социалистической республики Румынии, 1975. 183 с.

Чистяков В.А., Тимошкина Н.Н., Рынза Е.Т., Мирзоян А.В., Воинова Н.В. RAPD анализ генетического разнообразия азовской популяции севрюги (*Acipenser stellatus*) и русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) // Вопросы рыболовства. 2008. Т. 9. №4. С. 797-801.

Чихачев А.С. Комплексные исследования причин полиморфизма белков у рыб. Сб. Экологическая физиология и биохимия рыб. Киев: Наукова думка, 1982. Ч. 4. С. 33-35.

Чихачев А.С. Контроль за генетической структурой популяций и гибридизацией ценных пород рыб при искусственном разведении. Сб. Биологические основы рыбоводства: генетика и селекция. Л.: Наука, 1983. С. 91-102.

Чихачев А.С., Реков Ю.И. Генетическая структура популяций азовских осетровых // Генетика, селекция и гибридизация рыб. Ростов-на-Дону, 1981. С. 36-38.

Чихачев А.С., Цветненко Ю.Б. Исследования белков крови азовских осетровых при их искусственном воспроизводстве // Тр. ВНИРО. 1979. Т. 133. С. 104 -121.

Чихачев А.С., Цветненко Ю.Б. Оценка влияния искусственного воспроизводства и интродукции на генетическую структуру популяции азовских осетровых. Сб. Воспроизводство рыбных запасов Каспийского и Азовского морей. М.: Наука, 1984. С. 114-125.

Bennett J., Scott K.J. Quantitative staining of fraction I protein in polyacrylamide gels using Coomassie brilliant blue // Anal. Biochem. 1971. V. 43. №1. Pp. 173-182.

Davis B.J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964. V. 121. Pp. 404-427.

Dobrovolov I.S., Ivanova P.I., Tzekov A.G. Genetic-biochemical identification of some sturgeons and their hybrids (Pisces, Acipenseridae) // Verh. Internat. Verein. Limnol. 2005. V. 29. №2. Pp. 917-921.

Fishbein W.N. Quantitative Densitometry of 1-50µg protein in acrilamide gel slabs with Coomassie Blue // Anal. Biochem. 1972. V. 46. Pp. 388-401.

Ivanova P.I., Dobrovolov I.S. Genetic-biochemical identification of some sturgeons and their hybrids (Pisces, Acipenseridae) // Danube News. Bull. Internat. Associat. Danube Res. 2004. №10. Pp. 3-4.

Ludwig A. Identification of Acipenseriformes species in trade // J. Appl. Ichthyol. 2008. V. 24. Issue Suppl. s1. Pp. 2-19.

Ornstein L. Disc electrophoresis. I. Background and theory. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964. V. 121. Pp. 321-349.

Shaklee J.B., Allendorf F.W., Morizot D.C., Witt G.S. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish // Trans. Amer. Fish. Soc. 1990. V. 119. №1. Pp. 2-15.

Wong P., Barbeau A., Roses A.D. A method to quantitate Coomassie Blue-stained proteins in cylindrical polyacrylamide gels // Anal. Biochem. 1985. V. 150. Pp. 288-293.

Zhang S.-M., Deng H., Wei Q., Wang D., Wu Q.J. The preliminary evidence for low genetic diversity of the Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* revealed by protein electrophoresis // Zool. Res. 1999. V. 20. №2. Pp. 93-98.

Zhang Y., Sun D.-J., Liu H.-B. Electrophoretic Analysis of Serum Proteins in Three Sturgeon (*Acipenser sinensis* Gruy, *Huso dauricus* Georgi, *Acipenser schrencki* Brandt) // J. Dalian Fish. Univ. 2006. V. 21. №3. Pp. 283-286

Zhu B., Que Y., Yang Z., Chang J. A review on genetic studies in sturgeons and their trade control in China // J. Appl. Ichthyol. 2008. V. 24. Issue Suppl. s1. Pp. 29-35.

**ANALYSIS OF VARIABILITY OF BLOOD SERUM ALBUMINS IN RUSSIAN
(*ACIPENSER GUELDENSTAEDTII*) AND SIBERIAN
(*ACIPENSER BAERII*) STURGEON**

© 2012 г. Е.В. Кузьмин, О.Ю. Кузьмина

*The Institution of the Russian academy of sciences I.D.Papanin Institute for biology
of inland waters RAS, Yaroslavl' oblast, Borok settlement*

The blood serum albumins in Russian (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt) and Siberian (*A. baerii* Brandt) sturgeons have been studied using the method of disk electrophoresis. Based on the results of densitometric analysis of proteinograms, the hypothesis has been made that the synthesis of albumins in these species is controlled by eight genes. Seven and five allelic variants are revealed in Russian and Siberian sturgeon, correspondingly. It is shown that in the North Caspian as well as in the Azov-Black Sea populations of Russian sturgeon the decrease in the genotypical diversity on locus Alb* is recorded.

Key words: sturgeon, electrophoresis, albumins.