

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
Программа фундаментальных исследований ОБН РАН
“Рациональное использование биологических ресурсов России:
фундаментальные основы управления”

В.С. АРТАМОНОВА

А.А. МАХРОВ

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
В ЛОСОСЕВОДСТВЕ И ФОРЕЛЕВОДСТВЕ:
ОТ ТРАДИЦИОННОЙ СЕЛЕКЦИИ
ДО НАНОБИОТЕХНОЛОГИЙ**

*Светлой памяти Андрея Кузьмича Богерука,
доктора биологических наук, профессора,
выдающегося деятеля отечественного рыбо-
водства, посвящают авторы эту книгу*

Товарищество научных изданий КМК
Москва 2015

Артамонова В.С., Махров А.А. Генетические методы в лососеводстве и форелеводстве: от традиционной селекции до нанобиотехнологий. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2015. 128 с.

В монографии представлены основные сведения о систематике, экологии, структуре популяций и генетике лососевых, а также данные о хозяйственном значении этой группы рыб. Основное содержание книги – подробное описание всех генетических методов, используемых в селекции благородных лососей, начиная с гибридизации и отбора, применяемых с XIX века, и заканчивая генетической инженерией. Кроме того, в книге подробно описаны основные методы молекулярно-генетического анализа и приведены результаты применения этих методов, полученные при изучении атлантического лосося, радужной форели и кумжи, выращиваемых в искусственных условиях. Рассмотрена также проблема сохранения генофонда популяций при искусственном воспроизводстве.

Artamonova V.S., Makhrov A.A. Genetic Methods in Salmon and Trout Breeding: From Traditional Selection to Nanobiotechnologies. Moscow: KMK Scientific Press. 2015. 128 p.

The monograph presents the basic data on the systematics, ecology, population structure, and genetics of salmonid fish, as well as commercial significance of salmonids. The major part of the book is a detailed description of all genetic methods used in the breeding of noble salmons in a historical perspective, from hybridization and selection used since the 19th century to genetic engineering. In addition, the main methods of molecular genetic analysis are described in detail, and the results of application of these methods to studying Atlantic salmon, rainbow trout, and brown trout bred under artificial conditions are presented. The issue of population gene pool conservation under the conditions of artificial reproduction is discussed.

Р е ц е н з е н т ы:

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, иностранный член РАН *В.И. Глазко*
(Центр нанобиотехнологий Российского государственного аграрного университета –
МСХА имени К.А. Тимирязева)

доктор биологических наук, профессор *К.В. Кузицин*
(кафедра ихтиологии биологического факультета
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова)

ВВЕДЕНИЕ

С момента возникновения первого научного учреждения России – Академии наук – прошло уже более 290 лет, но до сих пор, несмотря на все усилия, устойчивого взаимодействия между наукой и практикой в нашей стране добиться не удается. В отчетах отечественных рыбоводных заводов не раз приходилось читать горькие слова о безразличии ученых к проблемам рыбоводов. Более того, в последние годы этот разрыв стремительно увеличивается, – современные отечественные исследователи гораздо прочнее связаны с западной наукой, чем с отечественным производством.

Со своей стороны, отечественное производство, в том числе рыбоводство, все больше ориентируется на зарубежные технологии, имея зачастую весьма смутное представление об их сути и назначении. Вместо независимых ученых-экспертов появляется лобби, активно защищающее интересы западных компаний. Как следствие, в Россию все чаще завозят некачественные зарубежные корма, зараженный опасными болезнями посадочный материал, а под видом триплоидов рыбоводы могут получить обычную или даже выбракованную рыбу с пороками развития.

По замыслу авторов, эта книга должна содействовать смычке науки и производства, решая двойную задачу. С одной стороны, хотелось бы продемонстрировать специалистам-практикам и студентам мощный арсенал генетических технологий, позволяющих резко повысить эффективность лососеводства и форелеводства в России, в том числе, благодаря использованию отечественных разработок. С другой стороны, мы надеемся заинтересовать коллег-ученых теми перспективами, которые открывает для фундаментальных исследований работа в области рыбоводства. Ведь работы по получению новых пород и гибридов способны объединить рыбоводов и ученых на взаимовыгодной основе – для одних это перспективные объекты выращивания, для других – носители новых, неведомых ранее генотипов, формируемых по заранее заданной программе.

А поскольку лососевые рыбы уже давно стали модельным объектом для генетических исследований, изложенные в нашей работе сведения могут представлять интерес не только для форелеводов, но и для специалистов по другим группам рыб.

Во время работы над книгой мы не раз с признательностью вспоминали наших покойных учителей, для которых лососевые рыбы были любимыми объектами исследований – академика Ю.П. Алтухова, Ю.П. Зелинского, Б.М. Медникова, Л.П. Рыжкова. Мы также искренне благодарны нашим руководителям – академику Ю.Ю. Дгебуадзе и академику Д.С. Павлову – знатокам биологии лососей, успешно решавшим и решающим сложнейшие проблемы – как научные, так и административные.

Авторы признательны коллективам институтов, где довелось работать – Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Института биологии Карельского филиала АН СССР, Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Института экологических проблем Севера УрО РАН, Санкт-Петербургского государственного университета, ФГУП “Федеральный селекционный государственный центр рыбоводства”.

Следует отметить также, что идея этой книги формировалась в ходе обширных экспериментальных исследований, соавторами которых были в разное время: Д.И. Александров, М.Ю. Алексеев, Н.В. Бардуков, Ю.Ю. Барская, Ю.В. Беспалая, И.Н. Болотов, Е.А. Боровикова, А.Л. Буханова, И.С. Ворошилова, М.В. Ганченко, А.И. Груздев, В.В. Игнатенко, Н.В. Ильмаст, Д.П. Карабанов, А.В. Кондаков, Я.В. Кондратенко, И.Я. Крамаренко, К.В. Кузишин, С.А. Кулян, Д.Л. Лайус, Н.И. Лапочкина, И.И. Лыжов, Е.В. Моисеева, И.Г. Мурза, Г.Г. Новиков, А.Н. Пашков, Е.В. Пономарева, М.В. Пономарева, И.Ю. Попов, Э.К. Попова, С.И. Решетников, А.Ю. Рольский, К.С. Рысакова, Е.А. Салменкова, И.С. Сальникова, О.В. Хаймина, О.Л. Христофоров, А.В. Феофилов, В.А. Широков, Б.С. Шульман, И.Л. Щуров, А.О. Юрцева, В.А. Янковская, М. Schreider, Ø. Skaala, E. Verspoor.

Особая благодарность – лососеводам и форелеводам, делившимся с нами огромным опытом работы: Н.Г. Арсенюку, В.Ф. Бугаеву, Н.П. Бушуевой, В.Е. Гилеппу, В.М. Голоду, В.П. Дерезу, А.В. Дихничу, О.В. Ефимовой, Н.П. Ивановой, В.Е. Ильиной, А.Г. Лайдинену, В.А. Мовчану, Т.А. Нечаевой, В.Я. Никандрову, А.С. Резанову, В.Е. Сртлян, Е.Г. Терентьевой, Л.М. Труновой, А.Н. Ульянову, Н.И. Шиндавиной.

Мы признательны коллегам, помогавшим нам в сборе материала, дававшим советы, готовившим отзывы на наши работы – В.И. Ананьеву, М.А. Андрияшевой, Э.Л. Бакштанскому, И.Н. Бахмету, Е.Г. Берестовскому, В.И. Глазко, А.И. Груздеву, А.С. Груниной, Д.К. Дирину, Е.А. Дорофеевой, Н.В. Евсеевой, Г.Ю. Жаркову, А.В. Зубченко, Т.А. Карасевой, А.К. Козьмину, И.В. Кононову, А.М. Краснову,

Е.Ю. Крысанову, Л.А. Кудерскому, Д.О. Кузьмину, С.В. Кулиде, Н.П. Лукашенко, В.Г. Мартынову, Е.В. Микодиной, М.В. Мине, В.А. Мухину, Н.С. Мюге, Т.В. Неретиной, С.И. Никонорову, А.Г. Осиннову, М.В. Офицерову, И.В. Самохвалову, А.С. Северцову, Ю.А. Смирнову, Н.Г. Степановой, О.П. Стерлиговой, В.С. Фридману, Н.И. Шилину, А.Д. Шпаку .

В поисках литературы для книги нам помогали сотрудники библиотек ББС МГУ, биостанции “Картеш”, ВНИРО, ГосНИОРХ, ЗИН РАН, Зоологического музея МГУ, Института морских исследований (г. Берген), ИОГен РАН, Карельского НЦ РАН, Кольского НЦ РАН, МОИП, Московского государственного университета, ММБИ, ОБН РАН, Петрозаводского государственного университета, ПИНРО, Санкт-Петербургского государственного университета, СевНИРХ, СевПИНРО, Архангельской областной научной библиотеки им. Н.А. Добролюбова, БАН, БЕН РАН, Мурманской областной научной библиотеки, Национальной библиотеки Карелии, Российской Государственной библиотеки, ЦНСХБ, а также университетов Абердина, Бергена, Гданьска и Манчестера.

В работе использованы результаты, полученные при выполнении гранта РФФИ № 15-29-02550-офи_м.

ГЛАВА I. ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О ЛОСОСЕВЫХ РЫБАХ

1.1. Систематика, биология и экологические особенности лососевых

1.1.1. Рода и виды семейства лососевых, их распространение

Лососевые рыбы населяют многие водоемы севера Евразии, Северной Америки и Африки. Эти рыбы очень пластичны, и их разнообразие с трудом поддается классификации, поэтому не удивительно, что единого мнения по поводу сис-

тематики лососевых до сих пор не существует (обзоры: Глубоковский, 1995; Дорофеева, 1999). В настоящей работе использована классификация, принятая составителями отечественной сводки (Атлас ..., 2003). Сведения о распространении лососевых рыб, если не приведены иные источники, также соответствуют данным, представленным в этой книге. (Рис. 1).

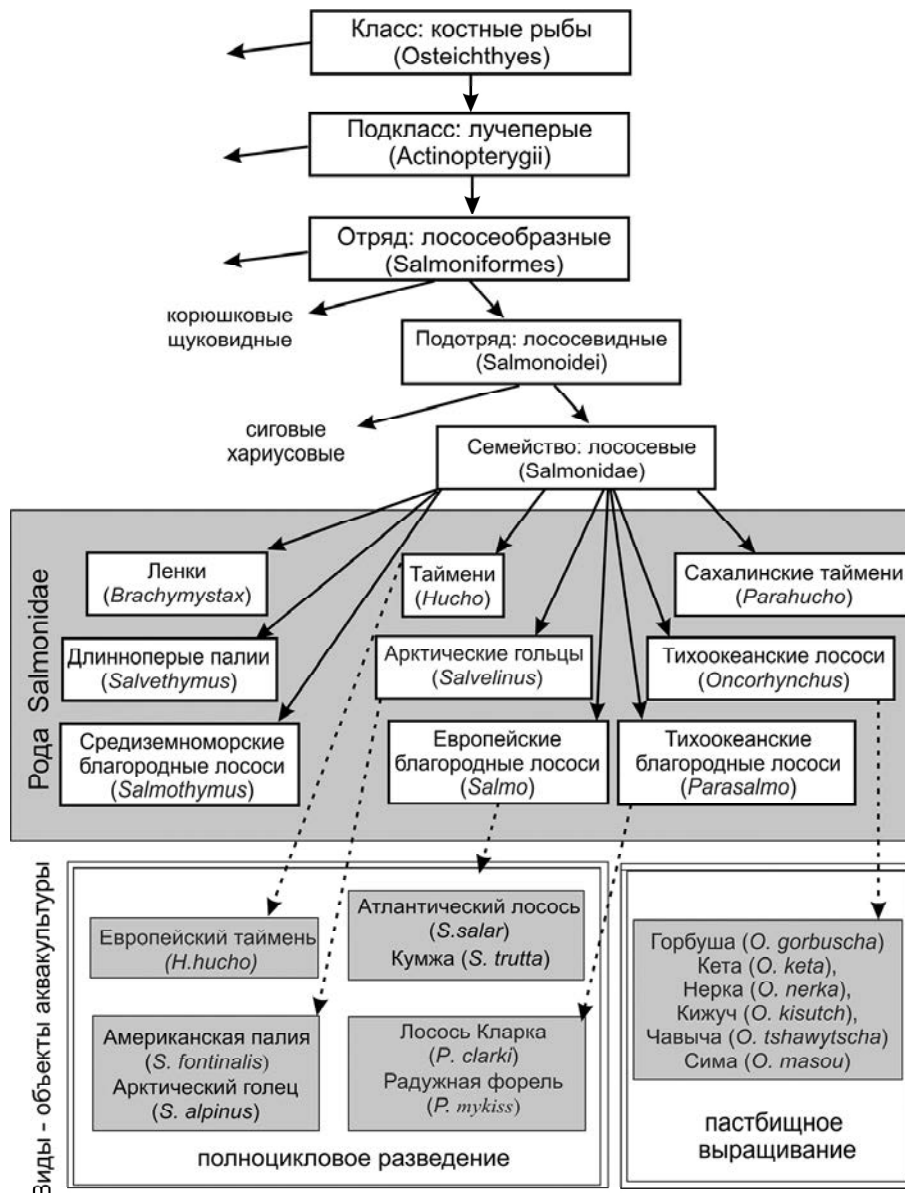


Рис. 1. Систематическая принадлежность лососевых рыб – объектов аквакультуры.

К роду *Brachymystax* (ленки) относятся пресноводные рыбы, распространенные в северной Азии. Известно несколько форм ленков (Мина, 1986), причем иногда эти формы описывают как разные виды.

Таймени (род *Hucho*) тоже являются обитателями пресных водоемов, но распространены они несколько шире ленков. Сибирский таймень (*H. taimen*) встречается не только на севере Азии, но и в Европе – в бассейнах Печоры и Волги. В бассейне Дуная обитает европейский таймень (*H. hucho*).

Сахалинский таймень, относящийся к другому роду (*Parahucho perryi*), ведет преимущественно проходной образ жизни. Нерестовый ареал этого эндемичного вида охватывает Сахалин, Хоккайдо, Курильские острова и Приморье.

Арктические гольцы (род *Salvelinus*) – наиболее холодолюбивая и пластичная группа лососевых. Десятки форм гольцов, рассматриваемых некоторыми авторами как виды, распространены в арктических и горных водоемах, а также в больших холодных озерах Северной Америки и Евразии (монография: Савваитова, 1989). Экологически и систематически к арктическим гольцам близок эндемичный род, представленный одним видом, *Salvelinus svetovidovi*, обитающим в озере Эльгыгытгын на Чукотке (Черешнев, Скопец, 1990).

Согласно номенклатуре, принятой большинством отечественных исследователей, род тихоокеанских лососей (*Oncorhynchus*) включает шесть видов, которые встречаются в северной части бассейна Тихого океана. Это горбуша (*O. gorbuscha*), кета (*O. keta*), нерка (*O. nerka*), кижуч (*O. kisutch*), чавыча (*O. tshawytscha*) и сима (*O. masou*). Некоторые японские исследователи рассматривают популяцию симы из озера Бива как самостоятельный вид – *O. rhodurus* (Дорофеева, 2008). Отличительная особенность представителей рода *Oncorhynchus* – биологически запрограммированная гибель практически всех производителей после первого нереста.

В отличие от них, для представителей благородных лососей (роды *Salmo* и *Parasalmo*) характерен многократный нерест.

Род европейских благородных лососей (*Salmo*) включает два широко распространенных вида – атлантического лосося (*S. salar*), обитающего на северо-востоке Северной Америки, в западной и северной Европе (обзор: MacCrimmon, Gots, 1979), а также кумжу (*S. trutta*). Кумжа широко распространена в Европе, встречается в горах Атлас в Северной Африке, в Малой Азии, а также в бассейнах Черного, Каспийского и Аральского морей (обзор: MacCrimmon, Marshall, 1968). Кроме того, к роду *Salmo* принадлежит ряд эндемиков – *S. marmoratus*, *S. letnica*, *S. ischchan*, *S. carpio*, *S. platycephalis* (обзоры: Берг, 1962; Frost,

Brown, 1967; Behnke, 1968; Дорофеева, 1998; Delling, 2003). В бассейне Средиземного моря обитает близкий к *Salmo* эндемичный род *Salmothymus* (Световидов, 1975).

Большинство видов тихоокеанских благородных лососей (*Parasalmo*) распространены в западной части Северной Америки. Здесь обитает, в частности, лосось Кларка, иногда называемый красноротым лососем или пурпурной форелью (*P. clarki*).

Радужная форель (*P. mykiss*) имеет более широкий ареал. Он простирается вдоль тихоокеанского побережья Северной Америки – от северной Мексики до Аляски. Этот вид встречается также на российском Дальнем Востоке – на Камчатке и Шантарских островах, единично – в водоемах материкового побережья Охотского моря, в Амурском лимане и на Командорских островах; в России эту рыбу называют микижей (обзоры: MacCrimmon, 1971; Behnke, 1992; Павлов и др., 2001). Радужная форель образует ряд форм неясного статуса. В частности, в озерах тихоокеанского побережья Канады обитает форель камлоопс (Scott, Crossman, 1973), которая привлекательна для рыболовов тем, что в идентичных условиях содержания нерестится она, в отличие от обычной радужной форели, осенью, а не весной. В Калифорнии встречаются формы золотистой окраски – *P. m. aguabonita* и *P. m. whitei*, которым обычно придают статус подвидов (Cutter, 1991; Stephens, 2007).

В 1988 году Комитет по названиям рыб Американского общества рыболовства и Американского общества ихтиологов и герпентологов причислил тихоокеанских благородных лососей к роду *Oncorhynchus*, хотя работы, в которых сделаны попытки обосновать такое изменение систематики, появились уже после принятия соответствующего решения (Smith, Stearley, 1989; Sanford, 1990; Stearley, Smith, 1993). Критика подобного подхода приведена в ряде отечественных работ; в частности, в них представлены аргументы в пользу самостоятельности рода *Parasalmo* (ссылки см.: Зелинский, Махров, 2001; Павлов и др., 2001).

Отметим, что лососевых часто пытались расселять за пределами их естественного ареала, причем интродукцию осуществляли даже на других континентах. В ряде случаев акклиматизанты образовали самовоспроизводящиеся популяции, и лидером по этому показателю была радужная форель. Кумжа приживалась в чужих для нее водоемах менее успешно, и только в немногих из них натурализовались атлантический лосось и лососи рода *Oncorhynchus* (обзоры: MacCrimmon, Marshall, 1968; MacCrimmon, 1971; MacCrimmon, Gots, 1979; Crawford, Muir, 2008).

1.1.2. Жизненный цикл лососевых. Лососи и форели

Часто лососевых рыб подразделяют не только на рода и виды. У этих рыб хорошо выражены две экологические формы – проходная и жилая, в соответствии с которыми их делят на лососей и форелей. Лососи – это крупные рыбы, проводящие в реках только первые месяцы или годы жизни, а затем уходящие на нагул в моря или крупные озера. Форели обычно мельче лососей; всю свою жизнь они проводят в пресной воде – в ручьях, реках или небольших озерах.

Следует, однако, иметь в виду, что деление на лососей и форелей весьма условно. Действительно, существуют рода лососевых, для которых характерен пресноводный образ жизни (*Brachymystax*, *Hucho*, *Salmothymus*, *Salvelthymus*), в то время как представители других родов (*Oncorhynchus* и *Parahucho*) – это в основном проходные рыбы. Однако арктические гольцы и благородные лососи могут образовывать обе экологические формы. Их молодь появляется на свет в пресных водах, где конкурентов и хищников относительно немного. С другой стороны, пресные водоемы бедны пищей, а потому некоторые подросшие мальки претерпевают процесс смолтификации и мигрируют затем на нагул в морскую воду или в эстуарии. Оставшиеся в реке особи переходят к хищному образу жизни в пресной воде.

Стремление лососевых рыб максимально использовать ограниченные ресурсы северных и горных водоемов заставляет их образовывать разные экологические формы (или, по другой терминологии, использовать разные жизненные стратегии) в зависимости от условий среды, в которых они оказываются.

Таким образом, даже единая популяция лососевых часто представлена несколькими группами, использующими разные жизненные стратегии. Д.С. Павлов и К.А. Савваитова (2008) выделяют у лососевых следующие типы жизненных стратегий: проходные рыбы (несколько типов, различающихся временем нагула в море), факультативно анадромные, эстуарные, речные эстуарные, речные, озерные, озерно-речные особи. Кроме того, существуют карликовые речные самцы и самки, а также жилые самцы и самки, которые после нереста могут скатываться в море. При описании разнообразия жизненных циклов благородных лососей представления о дискретных жизненных стратегиях зарубежные исследователи, как правило, не используют (монография: Jonsson, Jonsson, 2011).

В то же время, не только отечественные, но и зарубежные ихтиологи используют для некоторых экологических форм лососевых устоявшиеся традиционные названия. Так, ручьевую форму кумжи называют ручьевой форелью (brown trout), озерную и озерно-речную форму кумжи –

озерной форелью (lake trout), озерную и озерно-речную формы атлантического лосося – озерным лососем (landlocked salmon), проходную форму радужной форели – стальноголового лососем (steelhead trout) (на Камчатке – камчатской семгой). На Русском Севере проходную форму атлантического лосося называют семгой, а озерную форму арктического гольца – палией.

1.1.3. Роль лососевых рыб в экосистемах

Экологи считают проходных рыб, в том числе лососевых, ключевыми видами сообществ. Ими питаются морские и наземные звери и птицы, часть лососевой икры выносит течением из нерестовых ям, и ею подкармливаются пресноводные рыбы (Willson, Halupka, 1995). Проходные лососевые, заходящие в реки и погибающие после нереста, тем самым возвращают биогены в обедненные пресноводные экосистемы (Кучерявый и др., 2010). Жемчужницы рода *Margaritifera* – пресноводные моллюски – на ранних этапах онтогенеза паразитируют на жабрах лососевых рыб (Зюганов и др., 1993). Экологически тесно связаны с лососевыми и миноги. Они паразитируют на лососях и нерестятся на их нерестовых буграх (Савваитова и др., 2007; Nika, Virbickas, 2010, и ссылки в этих работах).

Снижение запасов лососевых приводит к значительным изменениям в экосистемах рек. Так, падение численности проходных лососей в Каспийском море привело к снижению темпа роста крупных осетровых рыб (Карпевич и др., 1991). Снижение численности европейской жемчужницы (*M. margaritifera*), занесенной в Красную книгу России, в значительной степени связано с бедственным положением популяций европейских благородных лососей – хозяев жемчужницы на личиночной стадии (Makhrov et al., 2014).

С другой стороны, акклиматизированные (то есть переселенные в водоемы за пределами естественного ареала) лососевые рыбы могут нанести существенный ущерб природным экосистемам. Такие факты описаны в Европе, восточной и южной Азии, Северной и Южной Америке, Австралии, Новой Зеландии, южной Африке (обзоры: Krueger, May, 1991; Crowl et al., 1992; Pethiyagoda, 1994; Cambray, 2003; Jackson et al., 2004; Kitano, 2004; Vigliano et al., 2007; Stanković et al., 2015).

В России последствия акклиматизации и случайного расселения радужной форели изучены плохо, однако были отмечены случаи образования самовоспроизводящихся популяций в озере Имандра на Кольском полуострове (Лукин, 1998) и на Алтае (Голубцов, Малков, 2007). Следует, однако, помнить, что вероятность натурализации радужной форели в различных точках на территории нашей страны очень велика – мировой опыт показывает, что более чем в половине случаев

интродукция этого вида приводила к образованию новых популяций. При этом важно отметить, что в 88 % случаев вселение радужной форели вызвало изменение экосистем – по этому показателю вид лидирует среди всех изученных водных организмов (обзор: Garcia-Berthou et al., 2005). Не случайно радужная форель попала в список наиболее опасных инвазионных видов (Lowe et al., 2004).

В Финляндии американская палия (*Salvelinus fontinalis*) вытесняет кумжу из небольших ручьев (Korsu et al., 2007). Пятая часть популяций кумжи из озер Швеции, куда попала американская палия, вымерла, при том что исчезло только 2 % популяций кумжи из озер, куда чужеродный вид не попал (Spens et al., 2007).

Несмотря на недостаточную изученность последствий акклиматизации горбуши на Европейском Севере России, было отмечено, что в годы ее массового захода в реку Варзуга (Беломорское побережье Кольского полуострова) динамика хода семги существенно менялась (Лысенко, Берестовский, 1999; Зубченко и др., 2004). Аналогичное явление наблюдается в реке Кереть, расположенной на Карельском берегу Белого моря (сообщение сотрудников Выгского рыбноводного завода).

О.Г. Кузьмин (1980) сообщает, что в 1973 году в реке Порье (Карельский берег Белого моря) горбуша заняла все участки, на которых обычно нерестилась семга. Нерест горбуши продолжался до начала октября, и созревшие производители семги все это время держались вне нерестилищ. По наблюдениям А.В. Зубченко с соавторами (2004), даже после окончания нереста горбуши

семга часто избегает мест, выбранных горбушей для нереста.

Дополнительную угрозу экосистемам в связи с акклиматизацией лососевых несут нередко сопутствующие ей паразитарные инвазии. Так, специалисты считают, что существует угроза проникновения бактерии *Aeromonas salmonicida*, возбудителя опасного заболевания лососевых – фурункулеза, в бассейны Баренцева и Белого морей при завозе в регион оплодотворенной икры горбуши с Дальнего Востока (Можарова, Бычкова, 1995).

Как ни странно, но до 2005 года на лососевых рыбноводных заводах Магаданской области, в том числе на Ольской экспериментальной производственно-акклиматизационной базе, откуда завозят икру горбуши на Европейский Север России, даже не проводился ихтиопатологический мониторинг. Позже в этом хозяйстве обнаружены вирусные заболевания – синдром эритроцитарных телец-включений (СЭТВ или EIBS, Erythrocytic inclusion body syndrome) и вирусный некроз эритроцитов (ВНЭ или VEN, Viral erythrocytic necrosis) (Головин и др., 2008).

Результаты исследований, проведенные на Камчатке, показали, что у дальневосточных лососевых встречается вирус, вызывающий инфекционный некроз гемопоэтической ткани (IHNV-infectious hematopoietic necrosis virus) (Рудакова, 2005).

У горбуши, искусственно поддерживаемой рыбноводными заводами Мурманской области, уже отмечено инфекционное заболевание, ранее не известное в регионе (Карасева и др., 1998).

1.2. Генетические особенности природных популяций лососевых

1.2.1. Генетические механизмы эволюции семейства лососевых

Подотряд лососевидных (Salmonoidei), к которому относятся семейства лососевых, хариусовых и сиговых, возник в результате полиплоидии, то есть удвоения хромосомного набора у рыб предковой формы, ныне, судя по всему, вымершей (монография: Фролов, 2000). Дальнейшая эволюция лососевых также сопровождалась целым рядом скачкообразных перестроек генома.

Еще в 1974 году Ю.П. Алтухов высказал предположение о возникновении некоторых видов лососевых в результате крупных перестроек генома, и современные работы подтверждают, что в филогенезе лососевых такие мутации (в частности, хромосомные перестройки), действительно имели место (Медников и др., 1999; Зелинский, Махров, 2001, 2002). Подобные перестройки, в частности, сопряженные с изменением числа хромосом, носили явно закономерный характер (Рис. 2), однако природа этих закономернос-

тей еще не вполне ясна, хотя понятно, что обусловлены они необходимостью совместного наследования определенных групп генов. И, несмотря на то, что сами по себе крупные перестройки генома к видообразованию не ведут, они, несомненно, поставляют для него материал.

Еще один пример мутаций, исключительно важных для видообразования и неоднократно имевших место в процессе эволюции лососевых рыб – увеличение числа копий некоторых генов, например, кодирующих вителлогенины (белки, содержащиеся в икре) (Buisine et al., 2002). При этом необходимо отметить, что изменение числа копий генов может происходить исключительно быстро, закрепляясь или не закрепляясь в последующих поколениях. Для этого имеются специальные механизмы – от неравного кроссинговера до экстрахромосомной репликации повторяющегося участка генома, которая отвечает, в частности, за увеличение числа копий рибосомных генов на ранних стадиях развития организ-

ма. О регулярном включении подобных механизмов свидетельствуют, например, неоднократно отмечавшиеся различия в числе копий повторяющихся последовательностей в геномах жилых и проходных форм лососевых, входящих в состав одной популяции (Медников, 1977; Косюк, Борхсениус, 1981; Чернов, Борхсениус, 1987).

К числу крупных мутаций, возникающих у лососевых на наших глазах, относятся спонтанный гиногенез и спонтанное образование диплоидных спермиев, ведущие к триплоидизации генома у потомков (Nygren et al., 1968; Cuellar, Uyeno, 1972; Thorgaard, Gall, 1979; Зелинский, 1985; Flajshans, Rab, 1987; Ueda et al., 1988; Guoxiong et al., 1989; Quillet et al., 1991; Miller et al., 1994; Jones, Hutchings, 2001; Johnson et al., 2007; Ocalewicz, Dobosz, 2009; Young et al., 2009; Akhan et al., 2011), а также гетероплазмия, зарегистрированная у трех видов лососевых рыб (Gyllensten et al., unpubl., in: Wilson et al., 1985; Shigenobu et al., 2005; Артамонова и др., 2008).

Молекулярно-генетические исследования позволили установить, что ряд форм лососевых имеет гибридное происхождение (обзор: Артамонова и др., 2013). Это показано и для некоторых видов благородных лососей, в частности, для карпюна (*Salmo carpio*) из озера Гарда в Италии (Giuffra et al., 1996; Antunes et al., 2002). Предполагают также, что необычный гаплотип митохондриальной ДНК, обнаруженный в одной из природных популяций радужной форели, появился у особей этого вида в результате межвидовой гибридизации с лососем Кларка, имевшей место в реке несколько тысяч лет назад (Brown et al., 2004).

Кроме того, и в эксперименте, и в природе неоднократно выявляли диплоидных гибридов атлантического лосося и кумжи, а также триплоидных гибридов этих видов, способных размножаться гиногенетически. Особенно важно, что при скрещивании таких гибридов с атлантическим лососем некоторые потомки выживают, а это может вести к интрогрессии генов кумжи в геном атлантического лосося (обзор: Makhrov, 2008).

Нами предложена гипотеза о происхождении тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* в результате появления триплоидных гибридов представителей родов *Salmo* и *Parasalmo*, геном которых впоследствии претерпел существенные изменения, но сохранил некоторые черты обеих родительских форм. Однако эта гипотеза еще нуждается в тщательной проверке (Артамонова и др., 2007).

К числу механизмов, сыгравших заметную роль в эволюции лососевых, следует отнести также массовые включения в их геном различных мобильных генетических элементов. О древности и многократной повторяемости событий такого рода в филогенезе лососевых свидетельствует

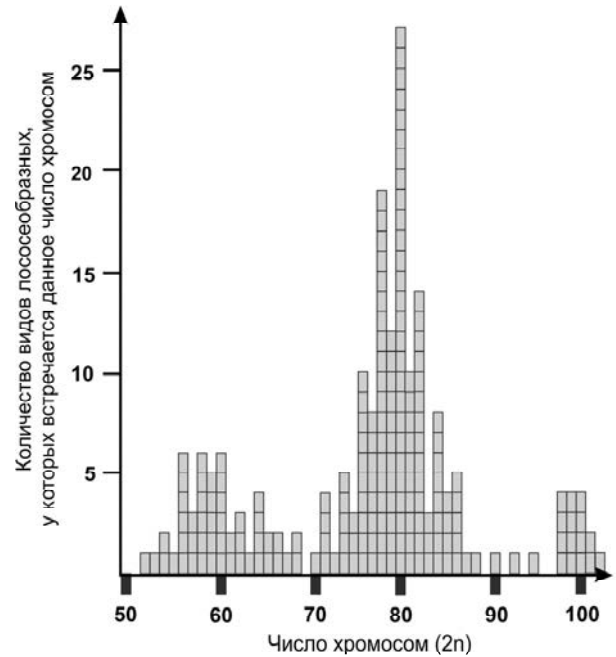


Рис. 2. Распределение числа хромосом среди видов лососеобразных рыб, общий предок которых претерпел тетраплоидизацию генома.

тот факт, что сходные последовательности порой обнаруживают у рыб других семейств, некоторых видов лягушек, и даже у паразитических червей рода *Schistosoma* (обзор: Артамонова и др., 2013).

Попытки реконструировать филогению родов лососевых с использованием молекулярно-генетических маркеров (то есть, тех или иных участков ДНК) предпринимались неоднократно. Однако, результаты реконструкций, полученные с использованием разных маркеров, во многом противоречивы (ссылки см.: Зелинский, Махров, 2001). Такая ситуация объясняется, судя по всему, тем, что на эволюцию отдельных последовательностей периодически накладывались эволюционные события, связанные с крупными перестройками генома.

При этом нельзя забывать и о том, что такие перестройки происходили на фоне постоянно идущего процесса отбора, приспособляющего популяцию к новым условиям среды. Сохранялись и распространялись только те перестройки, которые вели к фиксации благоприятного сочетания адаптивных признаков (Махров, 2005). В этом случае отбор можно образно сравнить с руками швеи, складывающими ткань нужным образом, а перестройки генома — с движениями швейной иглы, закрепляющими складки.

К сожалению, подавляющее большинство существующих статистических программ, используемых для реконструкции филогенеза, предполагают полную нейтральность молекулярно-генетических маркеров, хотя такое предположение противоречит многочисленным эксперименталь-

ным данным (см. следующий раздел). Тем не менее, даже с помощью этих статистических программ удалось показать, что имеющиеся данные по эволюции генов главного комплекса гистосовместимости, а также генов, кодирующих белки трансферрин и опсин, явно не вписываются в концепцию “нейтралистской” модели (Ford et al., 1999; Dann et al., 2004; Aguilar et al., 2007).

Вся совокупность имеющихся данных свидетельствует о том, что эволюция лососевых, как и большинства других организмов, шла нелинейно. Чередование длительных периодов эволюционного стазиса и относительно коротких периодов быстрой эволюции в значительной степени объясняется наличием у сложно организованных живых организмов целого ряда так называемых генетических систем. Под ними обычно понимают комплексы генов, работающих согласованно для решения конкретных задач, связанных с адаптацией организма к условиям среды и передачей полезных признаков следующим поколениям. Генетические системы включают в себя системы онтогенетической адаптации, задающие норму реакции организма на внешние условия, системы филогенетической адаптации, обеспечивающие быструю эволюцию в неоптимальных для организма условиях (Жученко, 2004) и системы стабилизации генофонда, действующие в период эволюционного стазиса (Рис. 3) (Артамонова, Махров, 2008).

Таким образом, описанные в этом разделе эволюционные механизмы, характерные для лососевых, можно трактовать как результат действия систем филогенетической адаптации, присущих этой группе организмов. А в следующем разделе мы рассмотрим генетические процессы, имеющие место в период стабильного существования

популяций лососевых, которое обеспечивают системы онтогенетической адаптации.

1.2.2. Генофонд благородных лососей, его значение для адаптации природных популяций к среде обитания и для селекции

Адаптивное значение генетического разнообразия мы рассмотрим на примере благородных лососей – основных объектов лососеводства и форелеводства; обзор данных по другим видам лососевых имеется в монографии Ю.П. Алтухова с соавторами (1997).

Кумжа относится к тем видам рыб, для которых характерен исключительно высокий уровень генетического разнообразия (Ferguson, 1980). У радужной форели данный показатель несколько ниже, чем у кумжи, а атлантический лосось уступает в этом отношении обоим упомянутым видам (Krieg, Guyomard, 1985).

Эти особенности связаны отчасти с историческими причинами: в эволюции отдельных видов благородных лососей значительную роль играли длительная изоляция популяций и последующая внутривидовая гибридизация. Дело в том, что за долгую историю существования таких видов их популяции неоднократно оказывались отделены друг от друга водоразделами или ледниками, а значит миллионы лет они эволюционировали, накапливая наследственные особенности независимо. После исчезновения преград особи из этих популяций получали возможность скрещиваться друг с другом, порождая новые популяции с высоким уровнем генетического разнообразия.

Так, атлантический лосось, судя по всему, пережил оледенение в трех независимых рефуги-

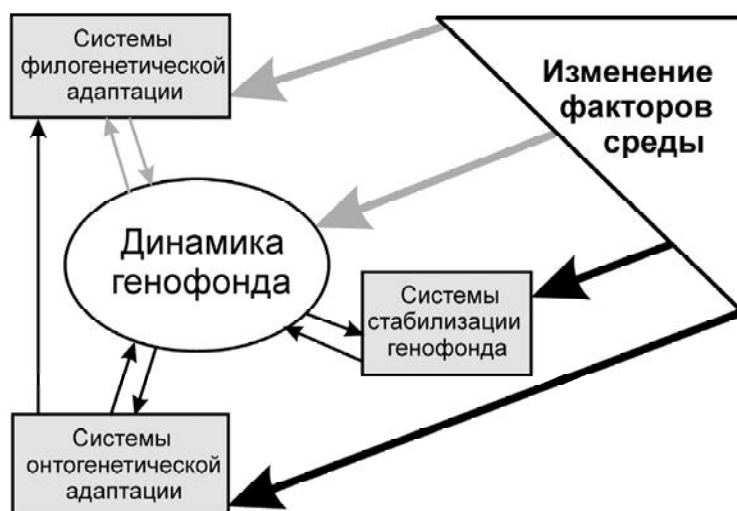


Рис. 3. Влияние генетических систем на динамику генофондов природных или искусственно поддерживаемых популяций. Серые стрелки – активация, черные – подавление (Артамонова, Махров, 2008).

мах, а в период отступления ледника началось его расселение, сопровождавшееся гибридизацией независимых линий вида (обзор: King et al., 2007). Генетические различия между популяциями, происходящими от разных линий, достаточно велики, а вот современные популяции Кольского полуострова и многие популяции бассейна Белого моря имеют гибридное происхождение и являются, по существу, хранилищем генофонда вида в целом. Ведь именно здесь 8–10 тыс. лет назад встретились переселенцы из бассейна Балтики, Восточной Атлантики и Северной Америки (Рис. 4) (обзор: Артамонова, Махров, 2009).

Что касается кумжи, то наиболее значительные генетические различия наблюдаются между популяциями бассейнов Атлантического и Северного Ледовитого океанов с одной стороны, и южных морей (Средиземного, Черного, Каспийского) с другой. Судя по всему, эти группы популяций разделились значительно раньше последнего оледенения, и с тех пор контакт между ними

был весьма ограниченным. Позднее кумжа северной Европы, как и атлантический лосось, пережила оледенение в ряде рефугиумов (Осинов, 1984; Hamilton et al., 1989; Bernatchez, Osinov, 1995; Осинов, Бернате, 1996; Hynes et al., 1996; Bernatchez et al., 2001; Makhrov et al., 2002; Presa et al., 2002; Cortey et al., 2009). При этом, подобно атлантическому лососю, она заселяла бассейн современного Белого моря, почти полностью покрытый во время последнего гляциального периода ледяным щитом, из бассейна Балтики и из западной Европы (Махров, Иешко, 2001).

Генетические исследования радужной форели позволили выявить две большие группы популяций, различающиеся по своему происхождению. Одна из них объединяет рыб западных районов Северной Америки, отдаленных от побережья. Другая группа включает обитателей побережья северной части Тихого океана, которые нерестятся как на американском побережье, так и на Дальнем Востоке. Предполагают, что эти две

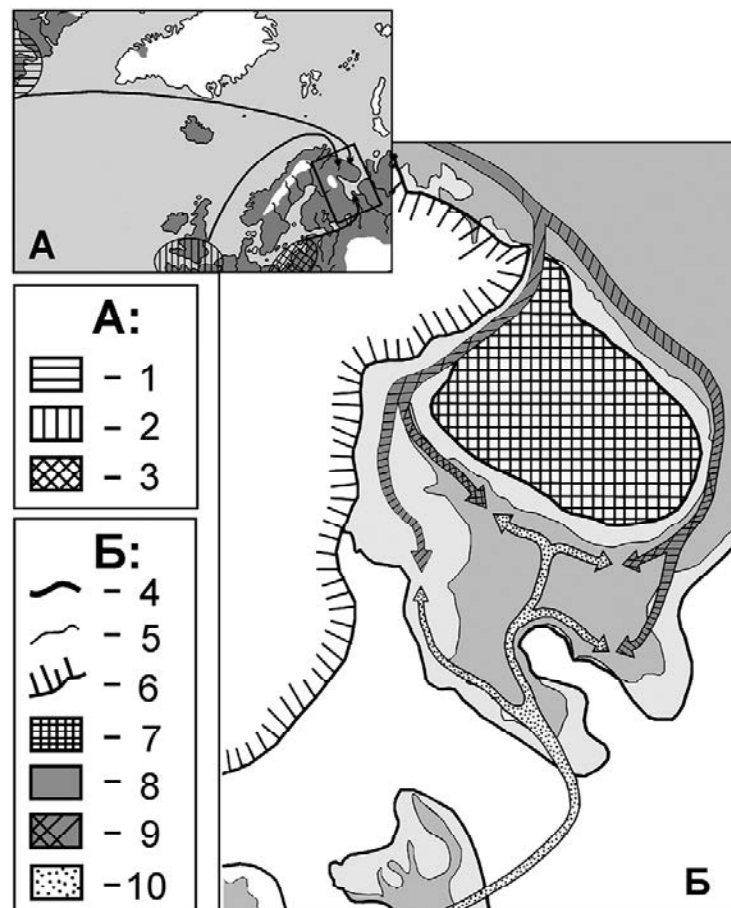


Рис. 4. Расселение атлантического лосося на Европейском Севере России в период отступления последнего ледника (10-8 тыс. лет назад). А – расселение из приледниковых рефугиумов: 1 – Североамериканского, 2 – Восточно-Атлантического, 3 – Балтийского; Б – потоки переселенцев в районе современного Кольского полуострова: 4 – береговая линия в период расселения лосося, 5 – современная береговая линия, 6 – граница отступающего ледника, 7 – “Кольский остров”, отделенный от материка проливом в районе озера Имандра и заселенный переселенцами из Североамериканского рефугиума, 8 – поток переселенцев из Восточно-Атлантического рефугиума, 9 – смешение потоков переселенцев из Североамериканского и Восточно – Атлантического рефугиумов, 10 – поток переселенцев из Балтийского рефугиума.

группы популяций происходят от рыб, переживших оледенение, как минимум, в двух самостоятельных ледниковых рефугиумах, локализация которых не до конца ясна. Некоторые авторы считают, что один из рефугиумов мог располагаться в азиатской части ареала вида (Allendorf, Utter, 1979; Nielsen, 1999; McCusker et al., 2000; Павлов и др., 2001).

Значительная часть генофонда благородных лососей имеет адаптивное значение. Это хорошо показано для атлантического лосося. С одной стороны, для этого вида накоплен значительный массив данных, касающихся генетической детерминации признаков, имеющих заведомо адаптивное значение (темпа роста, устойчивости к низкому рН, заболеваниям, и т.д.) (обзоры: Garcia de Leaniz et al., 2007a,b), а с другой стороны, появляется все больше информации о связи различных молекулярно-генетических маркеров с адаптивно-важными признаками (обзоры: Артамонова, 2007a,б).

Многочисленные факты связи конкретных генов с определенными фенотипическими признаками известны и для радужной форели (см. раздел 3.2.3.2). Показана генетическая природа различий по ряду адаптивно-важных признаков между популяциями кумжи (Alm, 1939; Gjedrem, 1976; Jonsson, 1982; Jonsson et al., 1994; Palm, Ryman, 1999; Lahti et al., 2001, 2002; Pakkasmaa, Piironen, 2001; Glover et al., 2003; Jensen et al., 2008).

Кроме того, для всех видов благородных лососей, имеющих хозяйственное значение, отмечена связь различных адаптивно-значимых признаков со средней гетерозиготностью по нескольким генам (Leary et al., 1985; Nakajima et al., 1991; Ferguson, 1996; Махров и др., 1997; Primmer et al., 2003; Garant et al., 2005; Tiira et al., 2006; Blanchet et al., 2009; обзор: Wang et al., 2002). Это может свидетельствовать о наличии функциональной связи между отдельными генами, их вовлеченности в системы онтогенетической адаптации (генные сети).

Существование таких генетических систем становится очевидным при попытке включить в геном новый элемент или объединить геномы разных видов. (Более подробно вопросы, связанные с нарушениями развития у отдаленных гибридов, трансгенных организмов и полиплоидов описаны в главе II).

Кроме того, в эволюции возникла целая группа генетических систем, которые призваны служить барьером, охраняющим генофонд от разрушительного воздействия эволюционных факторов.

Мы выделяем пять групп систем стабилизации генофонда – по числу эволюционных факторов, способных изменить генетическую структуру популяций. Эти факторы – меж- и внутривидовая гибридизация, случайные процессы (дрейф генов и эффект основателя), отбор и мутации.

1.2.3. Системы стабилизации генофонда лососей

Системы репродуктивной изоляции (регуляторы межвидовой гибридизации). Механизмов репродуктивной изоляции известно множество (Майр, 1974). Часто они возникают как побочный результат независимой эволюции генетических систем у разных видов, но иногда формируются под действием отбора специально для предотвращения негативных последствий межвидовой гибридизации. В последнем случае репродуктивная изоляция возникает только в районах совместного (симпатрического) обитания популяций разных видов (Noor, 1999).

В частности, известны механизмы изоляции, препятствующие гибридизации атлантического лосося и кумжи – например, разное время нереста, или предпочтение разных нерестовых биотопов (Makhrov, 2008). Е.А. Шубиной и Б.М. Медниковым (1986) высказана гипотеза о том, что некоторые высокоповторяющиеся последовательности ДНК, структура которых варьирует у лососевых от вида к виду, могут играть роль блокаторов развития межвидовых гибридов.

Популяционные системы (регуляторы миграции, приводящей к межпопуляционной (внутривидовой) гибридизации). В ходе многолетних исследований, проводившихся в лаборатории академика Ю.П. Алтухова, было показано, что в популяционных системах (группах частично изолированных популяций) устанавливается определенный, достаточно низкий, уровень миграции, но именно за счет редких миграций система в целом поддерживает вполне определенные оптимальные частоты аллелей генов (Алтухов, 2003).

Правда, модельные системы, использованные в экспериментах, не в полной мере отражают иерархическую структуру внутри популяционных систем. Обычно в природе можно выделить не только популяционные системы и популяции. Ведь в нерестовых реках бывает, как правило, несколько нерестилищ (часто – в разных притоках), и к каждому из них тяготеет относительно самостоятельная группировка лососей, которую можно считать субпопуляцией. С другой стороны, несколько рек обычно впадают в один морской залив, и тогда возможен стрейнг («блуждание») производителей между реками, а, значит, популяционная система может включать в себя нерестовые стада нескольких речных систем.

Кроме того, при изучении популяционных систем у лососевых всегда следует учитывать, что существует зависимость между числом рыб в популяциях отдельных рек и уровнем миграции. Чем малочисленнее стадо, тем ниже уровень возврата проходных особей в родную реку или на конкретное нерестилище (хоминг) и выше уровень миграции между реками или притоками – стрейнг (Алтухов и др., 1997).

Поэтому у относительно массовых видов (таких, как атлантический лосось) субпопуляциями можно считать группировки, нерестящиеся на отдельных нерестилищах в пределах большой речной системы; эти субпопуляции объединяются в популяционную систему этой реки (обзор: Артамонова, Махров, 2005). А вот у малочисленных видов с высоким уровнем стрейнга (таких, как кумжа) группировки, нерестящиеся в отдельных небольших реках или ручьях, становятся компонентами популяционных систем, охватывающих целые участки побережья (ссылки см.: Махров и др., 1999).

Благодаря существованию выраженной иерархической структуры, популяционные системы позволяют, с одной стороны, обеспечить сохранение и накопление генетических адаптаций каждой популяции к ее местообитанию (за счет хоминга) и обмен генами между отдельными стадами лососей, предотвращающий генетическое вырождение популяций (за счет стрейнга), с другой стороны.

Системы скрещивания (регуляторы случайных генетических процессов). Сохранению генетического равновесия в популяциях способствует появление в ходе эволюции систем скрещивания, обеспечивающих участие в размножении разнокачественных особей (Шилов, 2002), например, карликовых и проходных самцов лососевых рыб (Шварц, 1980). Эти группы рыб используют при нересте две совершенно разные стратегии. Карликовые самцы не вступают в схватку за самку с проходными. Они затаиваются неподалеку, и приближаются к самке только в момент икрометания. Это позволяет карликовым самцам атлантического лосося оплодотворять до трети икры в присутствии проходного самца (ссылки см.: Артамонова, 2007а).

Кроме того, оказалось, что при нересте дикие атлантические лососи предпочитают партнеров, максимально отличающихся от них самих аллелями генов главного комплекса гистосовместимости, что позволяет потомству приобрести устойчивость к широкому спектру инфекционных агентов (Landry et al., 2001; Evans et al., 2012). Самки кумжи предпочитают самцов с промежуточным уровнем различий по этим генам (Forsberg et al., 2007).

Системы оттогенетической адаптации (регуляторы действия отбора). Эффективность действия отбора зависит от наследуемости признака, по которому идет отбор. Признаки с высокой наследуемостью изменяются под действием отбора быстро. Однако, наследуемость большинства количественных признаков низка. В этом случае адаптация обеспечивается сложившимися в ходе эволюции системами онтогенетической адаптации, обеспечивающими адекватное изменению среды изменение экспрессии уже имеющихся в популяциях вариантов генов. Это изме-

нение выражается в адаптивной фенотипической пластичности.

Многие виды лососевых рыб отличаются высокой фенотипической пластичностью. Она характерна, в частности, для арктического гольца, *Salvelinus alpinus* (обзор: Klements, 2010).

Еще один пример высокой фенотипической пластичности – черноморская кумжа (*Salmo trutta labrax*), нерестящаяся в реках Кавказа. В состав одной популяции входят жилая и проходная формы (Барач, 1962), при этом наследуемость образа жизни очень низкая (Панов, 1958). Наблюдения в искусственных условиях показали, что выбор – оставаться в пресной воде или уходить на нагул в море – определяется условиями жизни конкретной особи (Павлов и др., 2010; Пономарева, 2014). Эксперименты в искусственных условиях показали также, что черноморская кумжа очень легко, за одно поколение, может поменять время нереста (Махров и др., 2011а).

Однако, у видов лососевых, обитающих в нестабильной, но не очень быстро меняющейся среде, достаточно часто встречаются признаки, кодируемые небольшим числом генов. В этом случае определенному альтернативному варианту морфогенеза соответствует небольшое число определенных аллелей.

Например, у радужной форели высока наследуемость времени нереста (Abadna-Cardoso et al., 2013) и признаков, связанных с переходом от проходного к жилному образу жизни (Thrower et al., 2004).

У радужной форели и атлантического лосося есть регуляторный ген *PGM-1r**. У радужной форели носители разных аллелей этого гена различаются скоростью развития и рядом морфологических признаков (Leary et al., 1984). У атлантического лосося частота одного из аллелей этого локуса выше у карликовых самцов (Pollard et al., 1994).

В ходе эксперимента, моделирующего возникновение пресноводной популяции атлантического лосося из проходной, выявлен неконтролируемый отбор в пользу одного из аллелей гена, кодирующего фермент малик-энзим. Ранее было показано, что именно этот аллель с высокой частотой встречается в естественных пресноводных популяциях атлантического лосося (Artamonova et al., 2010а, и ссылки в этой работе).

Видимо, высокая наследуемость количественных признаков способствовала тому, что именно радужная форель и атлантический лосось стали основными объектами селекционных программ (см. раздел 2.2.1.).

Система репарации и компенсации мутаций. Эта система у лососевых рыб, к сожалению, не изучена. Судя по всему, костистые рыбы, в том числе представители семейства лососевых, отличаются от других позвоночных повышенной частотой хромосомных мутаций, но в то же время

жизнеспособность таких мутантов у них тоже оказывается выше по сравнению с позвоночными, находящимися на более высоких ступенях эволюционной лестницы (Митрофанов, 1994). Об этом говорит, в частности, повышенная изменчивость кариотипов у лососевых рыб (Арефьев и др., 1996). Интересно, однако, что в отличие от ядерной, митохондриальная ДНК лососевых показала высокую устойчивость к воздействию радиации (Brown, Thorgaard, 2002).

Разрушение систем стабилизации генофонда в неблагоприятных условиях обитания (при падении численности). Все системы стабилизации генофонда действуют только при достаточном числе особей в популяции. При сильном и длительном падении численности эти системы разрушаются, что открывает путь к изменению генофонда, то есть к эволюции, которая активируется практически по всем пяти возможным направлениям.

При падении численности атлантического лосося усиливается вероятность его **гибридизации** с другим представителем европейских благородных лососей – кумжей (обзор: Makhrov, 2008), поскольку рыбам становится трудно найти особь противоположного пола своего вида. Аналогичным образом, в условиях антропогенного пресса растет число гибридов между представителями рода *Parasalmo* – радужной форелью и лососем Кларка (Heath et al., 2010, и ссылки в этой работе).

В новых или изменившихся условиях обитания выгодным становится **смещение генофондов разных популяций** – это дает более разнообразный материал для последующего отбора. Не случайно, как отмечал С.С. Шварц (1980, с. 199), в периоды депрессий численности «приток особей из соседних популяций резко увеличивается». С этой точки зрения весьма показательны, что в заселении рек, где кумжа или атлантический лосось вымерли, участвуют особи из нескольких популяций (Knutsen et al., 2001; Perrier et al., 2010; Ikediashi et al., 2012).

В условиях падения численности усиливается и **дрейф генов** – он отмечен в малочисленных популяциях кумжи (Махров и др., 1999; Семёнова, Пономарёв, 2011) и семги (Пономарева и др., 2002; Артамонова и др., 2008) Карельского берега Белого моря. В то же время, в популяциях этих видов, сохранивших более высокую численность, частоты аллелей различных генов остаются практически стабильными.

И, конечно же, при падении численности происходит интенсивный **отбор**, который стремится адаптировать популяцию к действию неблагоприятного фактора, вызвавшего падение численности. В разделе 2.6.3 приведены примеры отбора, повысившего устойчивость популяций семги и радужной форели к чужеродным паразитам.

Инбридинг, межвидовая и внутривидовая гибридизация ведут к активации систем филогенетической адаптации, обеспечивающих быструю эволюцию: усиливается генетическая рекомбинация, растет число транспозиций мобильных генетических элементов, что ведет к усилению **мутационного процесса** (обзор: Fontdevila, 1992). Однако у лососевых эти процессы изучены пока еще очень плохо.

При изучении генофонда атлантического лосося реки Кереть (численность этой популяции сильно снизилась в последние годы) обнаружена особь с вновь возникшей мутацией (Артамонова и др., 2008). У этой рыбы отмечена гетероплазмия – наличие двух разных гаплотипов митохондриальной ДНК, хотя пока осталось неясным, возникла эта мутация путем замены единственного нуклеотида в геноме одной из митохондрий или стала следствием переноса митохондрии в икринку со сперматозоидом при оплодотворении. В любом случае, ранее мутации этого типа у атлантического лосося не наблюдались.

Случай гетероплазмии зарегистрирован у потомка диких производителей, однако эта особь была получена в заводских условиях, в результате искусственного оплодотворения икры. Таким образом, осталось неясным, следует ли говорить в данном случае о естественных процессах (хотя и происходящих в популяциях, затронутых антропогенным воздействием), или это один из примеров неконтролируемых генетических процессов, идущих в искусственно поддерживаемых популяциях помимо воли человека (неконтролируемым генетическим процессам посвящен раздел 2.1). Впрочем, обе группы процессов имеют общую причину – они вызваны ослаблением или полным отсутствием систем стабилизации генофонда.

Прежде чем переходить к описанию генетических процессов в искусственно поддерживаемых популяциях, мы должны сообщить читателям основные сведения об этих популяциях, о развитии рыбоводства, обеспечивающего их существование, и о других способах хозяйственного использования лососевых рыб.

1.3. Хозяйственное значение группы

Промысел лососевых. Уже многие тысячи лет (по крайней мере, со времен палеолита) лососи служат важным пищевым объектом человека. Позвонки благородных лососей обнаружены в пе-

щерах Иберийского полуострова в отложениях, возраст которых насчитывает 35–37 тысяч лет. Исторические документы свидетельствуют, что многие века лососи имели огромное экономичес-

кое значение для народов Евразии и Северной Америки, и в значительной степени определяли образ жизни многих из них (Казиков, 1988; Лихатович, 2004).

В настоящее время численность популяций благородных лососей во всем мире резко снизилась, и во многих странах они перестали быть объектом промысла. Однако добыча тихоокеанских лососей все еще остается важной отраслью экономики ряда стран. Кроме того, в значительном количестве их вылавливают для собственных нужд местное население, и практически все виды лососевых – важные объекты спортивного рыболовства.

Акклиматизация лососевых рыб. Развитие транспорта и рыбоводства дало возможность широко расселять рыб, в том числе, перевозить их из одного морского бассейна в другой и даже с континента на континент. Открывшиеся возможности десятки лет использовали тысячи энтузиастов (обзор: Карпевич и др., 1991). При этом результаты интродукции, как и следовало ожидать, очень сильно зависели и от вида рыб, и от особенностей экосистем, в которых они в результате оказывались.

Наиболее удачными были вселения в водоемы с бедной ихтиофауной, где отсутствовали конкуренты, в первую очередь, другие лососевые рыбы. В этом случае вселенцы обычно не только приживались, но и оказывали минимальное влияние на природные экосистемы. Пример – вселение кумжи на Большой Соловецкий остров в Белом море (Алексеева и др., 2014). В то же время нельзя исключить, что на Соловках обитает не интродуцированная, а природная популяция кумжи. Кроме того, кумжа на острове очень малочисленна. Есть сведения о том, что успешным оказалось вселение кумжи в зауральское озеро Аракуль (Кучин, 1916).

При вселении в водные системы, уже населенные лососевыми, переселенцы тоже иногда закреплялись, и даже становились объектами промысла и спортивного рыболовства. Однако в этих случаях акклиматизация новых видов зачастую негативно отражалась на природных экосистемах. И, прежде всего, она вредила природным популяциям лососевых рыб – из-за конкуренции и распространения опасных заболеваний (см. подраздел 1.1.3), а также потому, что нередко способствовала межвидовой гибридизации (см. подраздел 2.6.2).

Впрочем, несмотря на огромные по масштабу перевозки оплодотворенной икры из региона в регион и значительные финансовые затраты, список вселений, завершившихся натурализацией, в России на удивление короток. Кроме упоминавшейся выше акклиматизации горбуши на Европейском Севере, есть только сведения об самовоспроизводящихся популяциях американской палии *Salvelinus fontinalis* в ручьях Ленинградской области (Кудерский, 1984), радужной фореле-

ли на Алтае (Голубцов, Малков, 2007), озере Имандра на Кольском полуострове (Лукин, 1998) и в бассейне Волги (данные рыбаков-любителей). Отметим, что во всех этих случаях популяции возникли за счет несанкционированного вселения или побега рыб из рыбоводных хозяйств. Проблема предотвращения неконтролируемой акклиматизации будет обсуждаться в последнем разделе главы II.

А вот санкционированные и поддержанные государством вселения лососевых рыб в водоемы России, в большинстве случаев были неудачными. Так, интродукция стальноголового лосося в реки черноморского побережья Кавказа, продолжавшаяся десятки лет, не дала никаких результатов (Карпевич и др., 1991). Между тем, выпуски прекратили только в начале 2000-х годов, после освоения Адлерским производственно-экспериментальным рыбоводным лососевым заводом технологии выращивания черноморской кумжи (Кулян, 1999) и проведения реконструкции двух участков завода.

Безуспешным оказалось и вселение стальноголового лосося в бассейн Каспия (Кязимов и др., 1980). Тем не менее, несмотря на неудачу, постигшую предшественников, в последние годы радужную форель снова пытаются акклиматизировать в этом бассейне (Гимбатов, 2003; Ткачева и др., 2015). Только недавно перешел с выпуска радужной форели на выпуск ручьевого форели Чегемский рыбоводный завод (Якимов, 2002). Есть предложения о вселении радужной форели в горные озера (Калюжная, 1996).

Не было положительных результатов и от выпуска в реки Кавказа молоди атлантического лосося, а такие попытки предпринимались неоднократно (Протокол 3-го заседания ..., 1896; Кязимов, 1970; Кязимов и др., 1980). В последний раз для этих работ с Тайбольского рыбоводного завода было завезено более миллиона оплодотворенных икринок семги р. Кола (Кольский полуостров), но акклиматизации вида в регионе снова не произошло. Однако этот горький урок был вскоре забыт, и уже через несколько лет вновь было высказано предложение о выпуске молоди атлантического лосося в реки бассейнов Черного и Каспийского морей – без какого бы то ни было анализа причин, по которым предыдущие работы не дали результата (Гринюк и др., 1977).

Выпуски молоди кеты и нерки на Европейском Севере России тоже оказались безуспешными (Сурков, Суркова, 1975). Однако недавно предложение об акклиматизации кеты в этом регионе высказано снова, и снова без изучения причин неудачи предыдущих работ (Городилов, 2001).

Не дали результатов попытки акклиматизации кеты и кижуча в бассейне Каспийского моря (Карпевич и др., 1991) и эксперименты по вселению севанской форели в водоемы Карелии (Рыжков, 1967) и Дагестана (Гимбатов, 2003).

Единственный документально подтвержденный пример успешной акклиматизации лососевых, санкционированной государством, на территории России – это акклиматизация горбуши в бассейне Белого моря (Дорофеева и др., 2007) (Рис. 5).

Прудовое форелеводство. Желание человека увеличить скудеющие запасы благородных лососей привело к созданию рыбоводных заводов. На территории нашей страны опыты по их искусственному воспроизводству начал еще первый отечественный рыбовод Владимир Павлович Врасский, основатель Никольского рыбоводного завода (1855 г.), вдохновленный успехами рыбоводов-новаторов Франции и Германии (обзоры: Скаткин, 1962; Naish et al., 2008). Именно В.П. Врасский разработал сухой способ осеменения икры, используемый сегодня во всем мире и позволяющий добиваться почти 100%-ого оплодотворения икринок. Эта технология позволила создать в десятках стран мира высокорентабельные прудовые хозяйства.

В Европе первым объектом разведения была кумжа, а на востоке Северной Америки – американская паляя (Кудерский, 1984). Однако уже вскоре форелевые хозяйства всего мира переключились на радужную форель, отличающуюся исключительно высоким темпом роста (Породы..., 2006).

В нашей стране тоже был создан ряд крупных прудовых хозяйств, среди которых главную роль играют предприятия, на которых ведется племенная работа, и создаются отечественные породы радужной форели. Это ФГУП «Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства» (пос. Ропша, Ленинградская область), ФГУП «Племенной форелеводческий завод «Адлер»» (Рис. 6), ФГУП «Племенной рыбоводный завод «Кабардино-Балкарский»», ЗАО «Сельскохозяйственный племенной завод «Форелевый»» (г. Кисловодск).

Пастбищное лососеводство. Недостаток прудового рыбоводства – высокие затраты на строительство и эксплуатацию прудов, а также на кор-



Рис. 5. Горбуша – вид лососевых успешно интродуцированный в бассейн Белого моря. А – улов в устье р. Кереть; Б – зрелый самец горбуши.

ма для рыб. Вот почему наряду с прудовыми хозяйствами, в которых содержат преимущественно форелей, уже почти столетие важную роль играет пастбищное лососеводство. Этот способ хозяйствования основан на том, что молодь лососей, выпущенная непосредственно в реку, уходит на нагул в море, и, повинаясь инстинкту, возвращается, по большей части, в тот же водоем, откуда ушла на нагул (как упоминалось выше, это явление носит название хоминга).

Пастбищное рыбоводство практикуют во многих странах мира. Оно до сих пор преобладает в Балтийском море, где очень благоприятны условия для нагула атлантического лосося. Прибрежные государства фактически используют Балтику как общий нагульный водоем, и каждая страна получает квоту на вылов, пропорциональную

количеству выпущенной молоди (Мурза, Христофоров, 2002). К сожалению, урегулировать таким же образом промысел семги в Атлантическом океане до сих пор не удается; в частности, норвежские рыбаки бесконтрольно вылавливают рыб, происходящих из российских рек (Вигфюссон, 2010). Между тем, на территории России сейчас функционирует 11 лососевых рыбоводных заводов, занятых пастбищным рыбоводством, причем семь из них выпускают молодь в те реки, откуда она уходит на нагул именно в Атлантику (Рис. 7).

Пастбищное рыбоводство остается практически единственным способом разведения лососей рода *Oncorhynchus*, биологические особенности которых невероятно затрудняют их выращивание в прудах. Многочисленные рыбоводные хозяй-



Рис. 6. Племенной форелеводческий завод “Адлер” – самое крупное племенное хозяйство в Европе.

ства функционируют на Камчатке, Сахалине, Курильских островах, в Японии, на тихоокеанском побережье США и Канады. Только в России число рыбодовных заводов, разводящих лососей рода *Oncorhynchus* исчисляется несколькими десятками. В последние годы в Тихий океан выпускают так много лососей, полученных искусственно, что им не хватает кормовых ресурсов, а в результате происходит снижение темпа роста, падает выживаемость производителей из-за прогрессирующей дегенерации мышц и усиленной резорбции ооцитов (Кловач, 2003).

К недостаткам системы пастбищного рыбодовства следует отнести два обстоятельства. В тех случаях, когда производителей для рыбодовных работ ежегодно отлавливают в реке, большое значение имеет не только своевременная установка

перекрытия (Рис. 8) и правильное содержание производителей до нереста – здесь на количество и качество получаемого потомства могут повлиять погодные условия, особенности нагула производителей в море и другие природные факторы, не зависящие от человека.

Попытки создания в рыбодовных хозяйствах резервных маточных стад лососей с целью сделать объемы воспроизводства рыб более стабильными, не зависящими от внешних причин, решают проблему только частично. Дело в том, что у искусственно выращенных лососей, особенно у рыб из селективируемых стад, ослаблен хоминг (Jonsson et al., 2003). В результате часть рыб возвращается не в ту реку, куда их выпускают и где устанавливают перекрытие в период возврата производителей. Это не только снижает экономи-



Рис. 7. Рыбодовные заводы, занятые воспроизводством атлантического лосося с природоохранными целями. Черными кружками обозначены действующие предприятия, белыми – ныне закрытые или не занимающиеся больше выращиванием *Salmo salar*. Серые пятиугольники – хозяйства, занятые экспериментальным или товарным выращиванием атлантического лосося. Желтым цветом показан ареал вида.

ческий эффект от рыбоводства, но и способствует гибридизации рыб из разных популяций, что ведет к нарушению системы генетических адаптаций, которую мы описывали в предыдущем разделе. Не случайно в последние годы пастбищное лососеводство постепенно стало вытесняться более эффективной технологией – садковым рыбоводством.

Садковое лососеводство. В 1970-е годы в Норвегии с успехом начали выращивать атлантического лосося в морских садках, и до сих пор эта страна занимает лидирующие позиции в мире по числу искусственно выращиваемых лососевых рыб. В 2006 году здесь выращено 595 тысяч тонн

лосося; лососеводство стало важной отраслью экономики страны (Зиланов и др., 2008). Садковые хозяйства, занимающиеся выращиванием атлантического лосося, существуют сегодня и в других странах Европы, а также в Канаде, Австралии, Чили.

Длительное время опыты по морскому выращиванию этой рыбы в нашей стране вели на Кольском полуострове отечественные специалисты (Анохина, 1995). В настоящее время на северо-западе региона, вблизи границы с Норвегией, работают предприятия, которые получают посадочный материал из-за рубежа (Калинина, 2012). В то же время, необходимо отметить, что, в отли-



Рис. 8. Устройство рыбоучетного заграждения (РУЗа) для отлова производителей атлантического лосося, используемых для искусственного воспроизводства молоди на рыбоводных заводах. А – перекрытие на р. Кереть (Карелия); Б – обследование ловушки РУЗа на р. Умба (Мурманская область).

чие от Норвегии, на территории России почти нет незамерзающих фьордов, и это лишает нашу страну возможности развивать морское садковое лососеводство на Севере в значительных масштабах.

За рубежом в садках выращивают и других лососевых – кумжу, радужную форель, арктического гольца. В нашей стране садковое выращивание радужной форели в озерных и морских садках интенсивно развивается на северо-западе России (Рыжков и др., 2007; Воробьева, Пестри-

кова, 2011; рис. 9), хотя это часто сопряжено со значительными трудностями и затратами из-за того, что зимой водоемы замерзают. Радужная форель стала объектом садкового рыбоводства и на Черном море (Спешилов, Слизченко, 1991; Муравьев, Бабий, 1999). Успешными оказались эксперименты по выращиванию кумжи в садках на Белом море (Кулида, Тимофеев, 2005, 2007).

Разведение лососевых рыб для сохранения и восстановления природных генофондов (природоохранное рыбоводство). В конце XX-го века



Рис. 9. Морские садки для выращивания лососевых рыб. Вверху – садок в губе Чупа Белого моря, внизу – садок в районе о. Соностров, Белое море.

исчезли или оказались на грани гибели многие популяции лососевых рыб. Одновременно стало ясно, что генофонд каждой из них обладает уникальными характеристиками, обеспечивающими адаптацию к условиям конкретного водоема (см. предыдущий раздел), и потому заселить заново обезрыбевшую реку оказывается очень непростым делом (см. следующий раздел). Перед рыбоводами встала задача – сохранить в искусственных условиях генофонд популяций, которым грозит уничтожение, а также обеспечить реализацию длительных программ по сохранению исчезающих и восстановлению исчезнувших популяций лососевых.

Достаточно часто для сохранения генофондов ценных рыб на рыбоводных заводах создают ма-

точные стада. В Канаде, Исландии, Норвегии, Польше, России, Северной Ирландии, США, Финляндии, Швеции, Эстонии, Германии имеются маточные стада атлантического лосося (обзор: Artamonova et al., 2010; Gross, 2010; Schneider, 2011). В нашей стране такие экспериментальные стада созданы на Выгском рыбоводном заводе (Крамаренко и др., 2002; Махров и др., 2013), Лужском рыбоводном заводе (Мурза, Христофоров, 2010) и в Федеральном селекционно-генетическом центре рыбоводства (Дихнич, 2002, 2004, 2005; Голод, Цикунов, 2005) (Рис. 10).

Поскольку число маточных стад других видов лососевых рыб в мире огромно, мы упомянем здесь только опыт рыбоводов нашей страны. Маточные стада черноморской кумжи (подвид *S. t.*



Рис. 10. Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства (пос. Ропша Ленинградской области). Вверху – общий вид хозяйства, внизу – работа с производителями экспериментального маточного стада атлантического лосося.

labrax) созданы в хозяйстве ФГУП «Племенной форелеводческий завод «Адлер»» и на Адлерском производственно-экспериментальном рыбноводном лососевом заводе (Бабий и др., 2002; Махров и др., 2004б, 2011а; Никандров, Шиндавина, 2007). ФГУП «Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства» содержит маточное стадо каспийского подвида кумжи, *S. t. ciscaucasicus* (Агибайлов, 2003, 2005), такие работы проводились также в Пермской области (Щербенок, Мельникова, 2006) и Кабардино-Балкарии (Якимов и др., 2013). Во ФГУП «ФСГЦР» создано также маточное стадо одной из форм арктического гольца – палии (Аршавский, Дихнич,

2002; Дихнич, Никандров, 2002; Дихнич, 2003).

В заключение следует упомянуть, что нередко маточные стада, создаваемые первоначально с природоохранными целями, поставляют посадочный материал, в том числе, и для товарного производства. В частности, благодаря созданию маточного стада, в России было освоено воспроизводство палии, и недавно она вошла в число объектов товарного выращивания (Богерук, 2007). Предполагается использование в марикультуре черноморской кумжи (Бабий и др., 2002).

Обеспечение спортивного и рекреационного рыболовства. Все больше и больше лососевых рыб вылавливается не профессиональными ры-

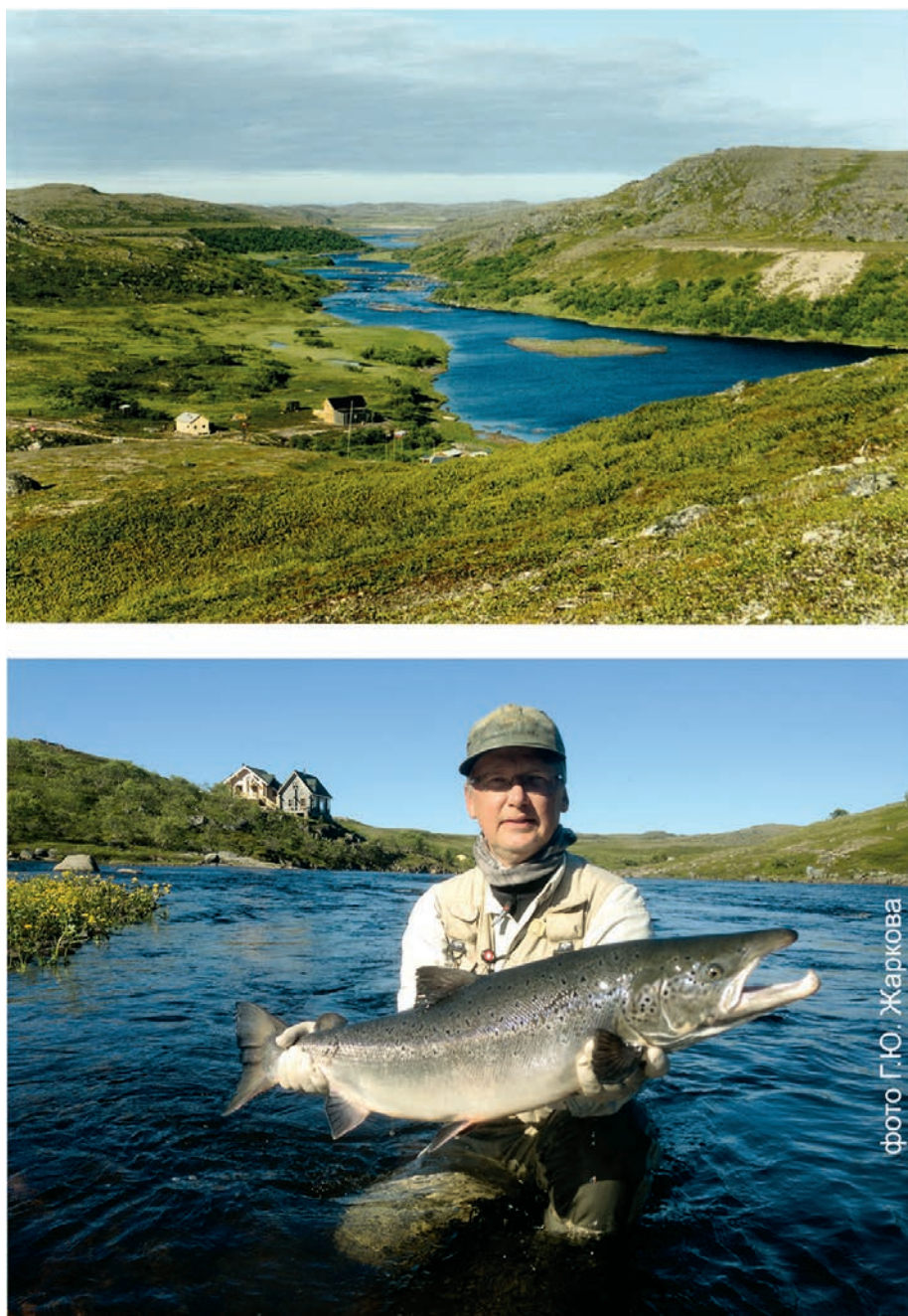


Рис. 11. Международный лагерь рыболовов-спортсменов на р. Рында (Кольский п-ов). Объектом рыболовства по принципу поймал – отпустил здесь служит дикий атлантический лосось (семга).

баками, а рыболовами-любителями и спортсменами. Организация лицензионного рыболовства оказывается в последние годы чрезвычайно выгодным видом деятельности (рис. 11). Только один маленький рыболовный лагерь на 8 клиентов, расположенный на реке Варзина (Кольский полуостров) может приносить за сезон почти 100 000 долларов чистой прибыли (Крылова, 2003)!

Не удивительно, что все больше рыбоводных хозяйств ориентируется на интересы рыболово-спортсменов, которые, в отличие от профессионалов, заинтересованы в поимке не только крупных, но, главное, энергичных и сильных рыб. Появилось новое направление аквакультуры – рекреационная аквакультура (Мамонтов, 2002). Вселение в водоемы искусственно выращенных лососевых рыб специально для спортивного рыболовства очень распространено в Европе и США, а в последние годы практикуется в центральной России (Дмитриев, 2006) и на черноморском побережье Кавказа (Решетников, Пашков, 2009).

И рыболовы-любители, и экологи считают удачным объектом спортивного рыболовства триплоидных лососей, в том числе межвидовых гибридов (см. раздел 2.4.2). Ведь такие рыбы не

только обладают качествами, которые ценят спортсмены, но, сверх того, они обычно стерильны, а с экологической точки зрения, важно, чтобы объекты спортивного рыболовства, специально выпускаемые в водоемы, не наносили ущерба природным популяциям лососей (Кузищин и др., 2010).

Основные объекты товарного лососеводства и форелеводства. В 2008 году в мире выращено 2 295 523 тонн лососевидных рыб. Основные объекты выращивания – это благородные лососи, представители родов *Salmo* и *Parasalmo*. Из них продукция атлантического лосося составила 1 456 721 тонну, радужной форели – 576 289 тонн и кумжи – 19 432 тонны. Другие виды лососевых, в число которых входят разные формы гольцов, кижуч, чавыча, таймень – представлены значительно скромнее (Мировое производство ..., 2010). В России в 2008 году выращивали, в основном, радужную форель, объем ее производства составил только 16 500 тонн (Захаров, 2010), но производство этой рыбы быстро росло и в 2012 году достигло 25 000 тонн (Захаров, 2013).

Ввиду того, что ведущую роль в аквакультуре как нашей страны, так и всего мира играют благородные лососи, в следующих главах речь пойдет преимущественно об этих рыбах.

ГЛАВА II.

ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНОФОНДА БЛАГОРОДНЫХ ЛОСОСЕЙ ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ

2.1. Неконтролируемые генетические процессы

Даже при полном отсутствии сознательного отбора в искусственно поддерживаемых популяциях идут дрейф генов и отбор, имеют место мутации, миграция, межвидовая гибридизация – так называемые неконтролируемые генетические процессы (обзоры: Артамонова, Махров, 2006; Frankham, 2008; Fraser, 2008). Эти процессы могут способствовать адаптации популяции к искусственным условиям обитания при поддерживаемом воспроизводстве, но одновременно снижают ее приспособленность к природной среде. К сожалению, идут эти процессы и в искусственно поддерживаемых популяциях благородных лососей. Даже сам термин “неконтролируемый отбор” возник в отечественной литературе при изучении атлантического лосося (Никоноров и др., 1989). В англоязычной литературе эти процессы носят название “unintentional selection” или “inadvertent selection”.

Случайные генетические процессы. Основной недостаток генофонда заводских рыб многие авторы видят в том, что в искусственных условиях молодь получают от ограниченного числа производителей. Дело в том, что критический уровень (50–100 производителей), рекомендуемый для рыбоводных работ (Кирпичников, 1987; Казаков, 1990; Jorstad, Naevdal, 1996) и позволяющий заведомо сохранить генетические характеристики, присущие дикой популяции, удается достигнуть далеко не всегда, – особенно при искусственном получении молоди от диких производителей.

Вопросы, связанные со случайными процессами в маточных стадах и искусственно поддерживаемых популяциях лососевых рыб, наиболее подробно изучены на примере атлантического лосося.

Недостаточная численность производителей, характерная в настоящее время для многих стад этого вида (особенно за рубежом), провоцирует случайные генетические процессы – дрейф генов и эффект основателя (Elliott, Reilly, 2003; Innes, Elliott, 2006; Machado-Schiaffino et al., 2007; Norreo et al., 2008 и ссылки в работах Артамонова, 2007а,б), которые могут оказать очень серьезное влияние на генофонд при создании маточного стада и его последующем разведении в себе. Между тем, снижение генетического разнообра-

зия, которое часто сопутствует дрейфу генов и эффекту основателя, ведет к уменьшению стабильности развития (обзор: Артамонова, 2007а), вплоть до появления уродств (Tiira et al., 2006). Доля потомков, вернувшихся на нерест, в инбредных семьях снижается (Ryman, 1970).

К счастью, в нашей стране проблемы, связанные со случайными генетическими процессами, стоят не так остро, как в Западной Европе и Северной Америке. В настоящее время на рыбоводных заводах России для воспроизводства используют, как правило, достаточное число производителей атлантического лосося, что способствует сохранению генофонда популяций. Так, например, не выявлено изменения генетической структуры в ходе мониторинга маточного стада реки Нарва, созданного на базе ФГУП “Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства” (ФСГЦР), пос. Ропша (Дихнич, 2004). В то же время, следует подчеркнуть, что аналогичные примеры есть и за рубежом (Cross et al., 1993).

Данные для других видов лососевых не так обширны, как для атлантического лосося, однако они свидетельствуют, что выявленные на примере этого вида закономерности являются общими. Так, в некоторых зарубежных маточных стадах кумжи отмечено снижение генетического разнообразия вследствие небольшого числа рыб-основателей (обзор: Ferguson, 2007). В маточном стаде редкого подвида – черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax*), созданном на базе ФГУП «Племенной форелеводческий завод “Адлер”», уровень генетического разнообразия по микросателлитным локусам в изученных нами выборках оказался относительно низким. Судя по всему, это следствие того, что при создании маточного стада было использовано лишь очень небольшое число производителей из реки Мзымта. В то же время, необходимо отметить, что генетическое разнообразие по локусам, кодирующим белки (полиморфизм по этим локусам часто имеет адаптивное значение) в этих выборках было высоким и оказалось сопоставимым с генетическим разнообразием по данным локусам для дикой популяции (Холод и др., 2004).

Методы оценки генетического разнообразия в популяциях и искусственно разводимых стадах

благородных лососей рассмотрены в разделе 3.2.2.2.

Межвидовая гибридизация. Заводское разведение устраняет действие естественных барьеров, препятствующих межвидовой гибридизации. Буквально с первых лет возникновения рыбоводных заводов предпринимались попытки получения искусственных гибридов разных видов лососевых. В некоторых случаях такие эксперименты оказывались успешными, и рыбоводы не только получали гибридов в массовых количествах,

но даже выпускали их в природные водоемы, надеясь “обогатить” существующую в них ихтиофауну.

Десятки лет во многих странах мира получали и выпускали в природу гибридов атлантического лосося и кумжи, прежде чем было показано, что рыболовные качества у гибридов в действительности хуже, чем у рыб родительских видов. К началу 1980-х годов сознательная гибридизация была повсеместно прекращена, но непреднамеренная гибридизация атлантического лосо-

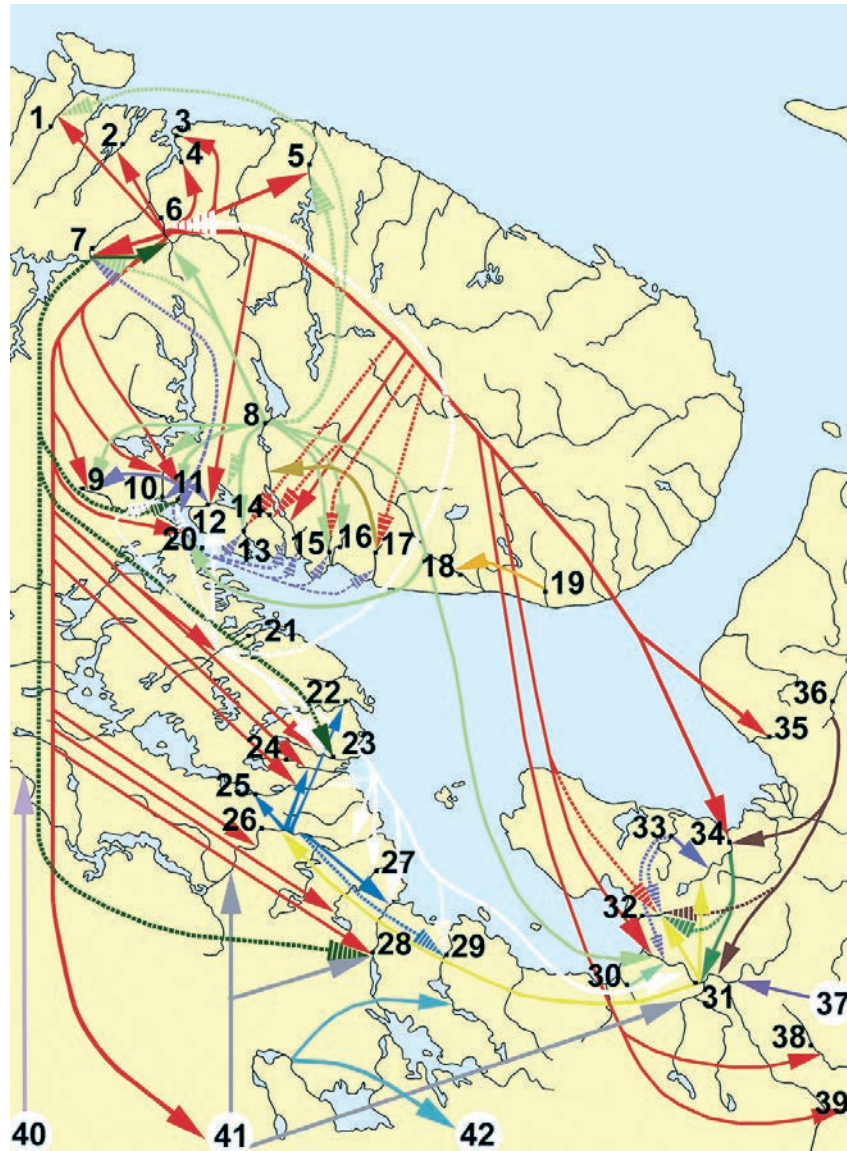


Рис. 12. Вселение чужеродной молоди атлантического лосося в реки Европейского Севера России. Сплошные стрелки – документированные перевозки молоди, пунктирные стрелки – высоковероятные перевозки. **Цифрами обозначены:** 1 – Титовка, 2 – Ура, 3 – Тюва-губа, 4 – Ваенга, 5 – Воронья, 6 – Кола, 7 – Тулома, 8 – Умба, 9 – Канда, Ковда и мелкие притоки Кандалакшского залива, 10 – Нива, 11 – Лувеньга, 12 – Колвица, 13 – Порья, 14 – Пила, 15 – Кузрека, 16 – Хлебная, 17 – Оленица, 18 – Варзуга, 19 – Чаваньга, 20 – Княжая губа, 21 – Кереть, 22 – Калга, 23 – Воньга, 24 – Кузема, 25 – Поньгома, 26 – Кемь, 27 – Шуя (Беломорская), 28 – Выг с притоками, 29 – Сума, 30 – Нименьга, 31 – Онега, 32 – Тамлица, 33 – Сюзьма, 34 – Солза, 35 – Мудьюга, 36 – Сояна. Притоки Северной Двины: 37 – Юла, 38 – Емца, 39 – Пукса. Бассейн Балтийского моря: 40 – притоки озера Сайма, 41 – Шуя (Онежская), 42 – Кумса (приток Онежского озера). Объемы выпусков молоди в эти реки см. в работе (Артамонова, Махров, 2005).

ся и кумжи по-прежнему имела место в рыбоводных хозяйствах из-за ошибочного определения видовой принадлежности производителей (обзор: Makhrov, 2008). Подобные случаи были отмечены и на рыбоводных заводах СССР (Семенова, 1988).

В ходе наших исследований (Махров и др., 2004а) было показано, что в последние годы доля гибридов на российских рыбоводных заводах существенно снизилась: в хозяйствах, расположенных в бассейнах Белого и Баренцева морей они полностью отсутствуют, а в бассейне Балтики встречаются единично. Снижение доли гибридов на рыбоводных заводах Балтийского бассейна потребовало многолетней целенаправленной работы специалистов Санкт-Петербургского университета и рыбоводов (Христофоров и др., 2007; Христофоров, Мурза, 2009).

Гибридов видов рода *Parasalmo* – радужной форели и лосося Кларка – в США получают искусственно до сих пор. Их используют для спортивного рыболовства и ценят за то, что они очень активно сопротивляются поимке. Однако, эти гибриды плодовиты и гибридизируют с дикими особями лосося Кларка (Rohrer, Thorgaard, 1986; Cutter, 1991), что может иметь негативные последствия для природных популяций.

Методы генетической идентификации межвидовых гибридов лососевых рыб в настоящее время хорошо разработаны и активно используются на практике (раздел 3.2.1.1.).

Недоучет популяционной структуры при организации рыбоводного процесса. В настоящее время хорошо известно, что лососевые рыбы, в массе своей, образуют самостоятельные популяции в каждой нерестовой реке за счет выраженного хоминга. При этом длительное существование популяции в неизменных условиях среды обеспечивает ей хорошую адаптацию к различным абиотическим факторам, характерным для конкретной реки, в том числе, на генетическом уровне. К сожалению, при организации рыбоводных работ этому обстоятельству долгое время не придавали значения ни в нашей стране, ни за рубежом. Более того, в первой половине и середине XX века некоторые ученые рекомендовали пополнять малочисленные популяции рыбами из крупных благополучных рек (ссылки см.: Артамонова, Махров, 2005; Христофоров, Мурза, 2009).

Следуя подобным рекомендациям, рыбоводы систематически выпускали молодь лососей, выращенную на рыбоводных заводах, в чужие для нее реки, и даже непосредственно в море. В частности, чужеродную молодь атлантического лосося вселяли во многие реки Европейского Севера России (обзор: Артамонова, Махров, 2005) (Рис. 12), а в бассейне Ладожского озера в чужие реки выпускали как молодь атлантического лосося, так и кумжи (обзор: Христофоров, Мурза,

2009). Что же касается других стран, то выпуски чужеродной молоди лососевых осуществлялись там в еще более значительных масштабах, но данные о них не обобщены.

Показательно, что выпуски в реки чужеродной молоди не оправдали себя, в том числе, и с экономической точки зрения. Возврат чужеродных лососей был существенно ниже, чем возврат рыб, также выращенных искусственно, но принадлежавших к популяции той реки, в которую их выпускали молодь (как правило, в 2–5 раз, а иногда более чем на порядок). Это показали исследования в самых разных регионах, в частности, в России (Ritter et al., 1975; Larsson et al., 1979; Hansen et al., 1989; Казаков, 1990; Артамонова и др., 2002; McGinnity et al., 2004). О влиянии вселения чужеродной молоди на генетическую структуру популяций будет сказано дополнительно в последнем разделе данной главы.

В настоящее время в России вселение чужеродной молоди атлантического лосося в реки, где существуют природные популяции, в основном, не практикуют. Молодь выпускают либо в те реки, откуда берут производителей, либо в водоемы, где собственные популяции атлантического лосося по каким-то причинам исчезли – с целью восстановления исчезнувших популяций. В число вновь зарыбляемых рек входят Нива, Кемь, Выг, Сегежа (бассейн Белого моря), Лососинка и Суна (притоки Онежского озера), Гладышевка (бассейн Балтики, Финский залив).

Однако вселение в реки, где существуют природные популяции черноморской кумжи, искусственно выращенной молоди этого вида, происходящей из других популяций, к сожалению, практикуют до сих пор: в качестве донорной здесь выступает популяция реки Мзымта (Небесихина и др., 2013). Подобные перевозки затронули и ряд популяций тихоокеанских лососей (монография: Алтухов и др., 1997).

Неконтролируемый отбор. Миграция проходных лососей на нерест – рыбаки называют ее “ход” – иногда сильно растянута. В частности, атлантический лосось, кумжа и радужная форель отличаются большим разнообразием сроков хода – с весны до поздней осени (Кузищин, 2010). При этом в ряде исследований было показано, что группы особей разных сроков хода в одной реке могут различаться генетически (Семенова, 1988; Consuegra et al., 2005).

По техническим причинам, для рыбоводных работ обычно не удается использовать производителей, идущих в реку поздней осенью или ранней весной подо льдом, а также озимых особей (рыб, которые заходят в реку незрелыми и проводят в ней до нереста около года). Кроме того, иногда рыбоводы отбирают для воспроизводства только наиболее крупных самок, поскольку они дают больше икры. В результате генетическая

структура выборки производителей, предназначенных для искусственного воспроизводства (а, значит, и полученной от них молоди), может отличаться от генетической структуры природной популяции.

Селективность может иметь место и непосредственно в процессе искусственного оплодотворения икры. Как уже упоминалось в главе I, сперма разных самцов атлантического лосося может различаться по оплодотворяющей способности (Vladic et al., 2010). Таким образом, при осеменении икры спермой двух и более самцов, как это практикуют на рыбоводных заводах, увеличивается процент оплодотворения икры, но часто самцы вносят разный вклад в генофонд потомства.

Следует также иметь в виду, что при использовании для оплодотворения криоконсервированной спермы, вклад разных самцов в генофонд потомства также может оказаться отличным от того, который наблюдался бы в природе. Сперма разных самцов переносит криоконсервацию по-разному (Babiak et al., 1998). Более того, отмечено, что у самцов радужной форели, полученных с использованием криоконсервированной спермы, сперма переносит криоконсервацию лучше, чем у самцов, полученных при оплодотворении икры свежей спермой. Это означает, что в поколениях самцов может идти отбор на потомков, сперма которых устойчива к криогенным воздействиям (Babiak et al., 2002с).

Как отмечалось в разделе 1.3.3, в природе образование нерестовых пар у лососевых не случайно – оно происходит таким образом, чтобы оптимизировать генотип потомства. При искусственном нересте у производителей нет возможности выбора, а значит, качество получаемого потомства может ухудшаться (Wedekind, 2002).

Для молоди семги в целом ряде исследований получены данные о неконтролируемом отборе в заводских условиях по локусам, кодирующим белки. Показано, что в качестве механизма отбора в этом случае часто выступает избирательная гибель носителей некоторых генотипов, – они оказываются хуже приспособленными к содержанию в искусственных условиях (обзор: Артамонова, 2007а) (Рис. 13). Однако, на достаточно благополучных семужьих заводах, где отход личинок и мальков в целом невысок – Выгском и Кемском – селективной гибели рыб в ходе выращивания молоди вплоть до ее смолтификации выявлено не было. В то же время, в ходе формирования экспериментального маточного стада на Выгском рыбоводном заводе отмечен неконтролируемый отбор по ряду белковых локусов, связанный преимущественно с тем, что в составе маточного стада были оставлены лишь наиболее крупные и быстрорастущие особи (Artamonova et al., 2010а) (Рис. 13).

За рубежом систематические целенаправленные исследования неконтролируемых процессов не ведутся, но подобные явления отмечены и там. Например, тот факт, что между поколениями маточного стада озерного лосося, созданного в Швеции, были обнаружены различия в частотах аллелей генов (Hengicson et al., 1995), скорее всего, так же является следствием неконтролируемого отбора, поскольку в работе речь идет о тех же генах, которые оказались подвержены отбору на семужьих рыбоводных заводах России.

Помимо неконтролируемого отбора по белковым локусам, в маточных стадах атлантического лосося зарегистрирован неконтролируемый отбор по хозяйственно-важным количественным признакам. Так, даже в тех случаях, когда целью со-

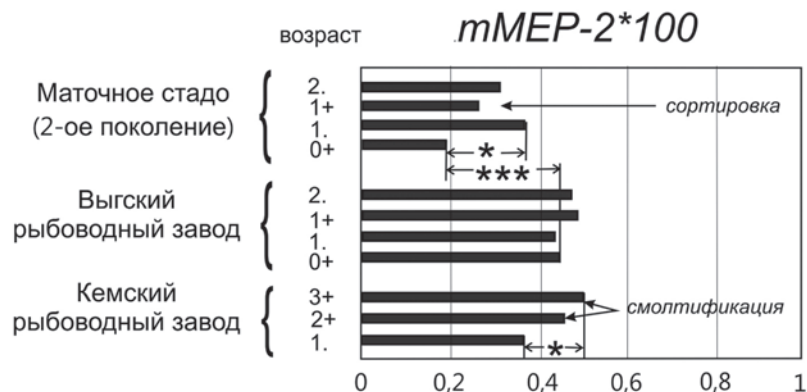


Рис. 13. Пример неконтролируемого отбора по аллозимному локусу *mMEP** у атлантического лосося, происходящего из р. Кереть, в условиях рыбоводных заводов: рост частоты аллеля **100* в группах молоди 2000 года генерации по мере роста рыб за счет избирательной смертности носителей альтернативного аллеля. Видно, что различия в частоте этого аллеля достигли значимых величин (* – $p < 0,05$) у рыб, выращиваемых на Кемском рыбоводном заводе, которые прошли стадию смолтификации в искусственных условиях. Высокозначимые отличия (***) – $p < 0,001$ в частоте этого аллеля у потомства маточного стада объясняются интенсивным искусственным отбором в пользу наиболее быстрорастущих рыб.

здания маточных стад было сохранение ресурса диких популяций, у потомков заводских производителей порой отмечалась повышенная скорость роста и созревания (Jonasson, 1993; Kallio-Nyberg, Koljonen, 1997; Крамаренко и др., 2002; H. King, pers. comm., in: Thorpe, 2004; de Mestral et al., 2013). Кроме того, второе поколение атлантического лосося, выращенного в неволе, отличается от особей из первого поколения пониженной осторожностью (de Mestral, Herbingер, 2013).

Есть основания предполагать, что некоторые признаки линий атлантического лосося, подвергавшихся длительной селекции, возникли вследствие неконтролируемого отбора, а вовсе не являются побочным продуктом селекции, как считалось ранее. Так, при выращивании в идентичных условиях, потомки норвежской селектированной линии отличались от потомков диких производителей менее прогонистым телом и более короткими плавниками, а также более рискованным поведением и агрессивностью в искусственных условиях, хотя в природной среде они занимали подчиненное положение (Norman, 1987; Fleming, Einum, 1997).

Неконтролируемый отбор по генам, кодирующим белки, отмечен не только у атлантического лосося, но и в разводимых линиях радужной форели. В одной из таких линий за время жизни одного поколения отмечен рост частоты аллеля, вызывающего увеличение активности фосфоглюкомутаза в печени (Allendorf et al., 1983). Кроме того, отечественными исследователями было отмечено изменение частот генотипов гена, кодирующего в-глобулин, у молоди, перезимовавшей в Ордежском рыбопитомнике (Варзегова, Пчеловодова, 1988).

Факты такого рода известны и для кумжи. Так, после зимовки на теплой воде у годовиков кумжи наблюдалось изменение частот аллелей двух локусов, кодирующих белки (Казаков и др., 1987). При этом сами авторы работы предположили, что зафиксированное ими изменение было вызвано гибелью части рыб при пересадке молоди в теплую воду осенью и в воду естественной температуры весной. Таким образом, воздействие человека, не предполагавшее избирательной реакции на него рыб, привело в действие один из наиболее мощных механизмов неконтролируемого отбора.

В серии работ шведских исследователей показаны генетические различия между потомками дикой кумжи и потомками кумжи, происходящей из этой же популяции, но несколько поколений подращиваемой на рыбноводном заводе и выпускаемой в море (для искусственного воспроизводства в этом случае каждое поколение брали только рыб заводского происхождения, которых перед выпуском метили). Несмотря на то, что молодь выращивали в идентичных условиях, в искусственной среде потомки «диких» и «завод-

ских» рыб различались по темпу роста и поведению в момент атаки хищника. В то же время, в условиях, близких к естественным (но в отсутствие хищников), рост, выживаемость и доля рыб, смолтифицирующихся в возрасте 1 года, между этими группами не различалась (Dannewitz et al., 2003; Sundström et al., 2004; Pettersson, Järvi, 2006; Rogell et al., 2012 и ссылки в этих работах).

Наследственные изменения в поведении при атаке хищника, а также в уровне агрессивности наблюдаются и у потомков радужной форели, выращенных в искусственных условиях. Важно отметить, что на примере этого вида была продемонстрирована пониженная выживаемость в природе потомков маточного стада, несмотря на то, что рыбы содержались в искусственных условиях всего два поколения. Столь выраженный эффект можно объяснить снижением давления стабилизирующего отбора (обзор: Naish et al., 2008), однако результаты, полученные с применением микросателлитов, показывают, что в данном случае имеет место именно адаптация к искусственной среде обитания (Christie et al., 2012).

Имеются данные о том, что при заводском разведении неконтролируемый отбор начинается уже с момента перехода личинок на внешнее питание. Так, на примере кумжи было показано, что при низких рационах кормления лучше выживают одни семьи, а при высоких – другие. Таким образом, особи – носители генотипов, способствующих выживанию в природной среде, где ресурсы ограничены, могут гибнуть в искусственных условиях чаще, чем молодь, хуже приспособленная к жизни в природных водоемах (Glover et al., 2004).

Отметим, что неконтролируемый отбор при искусственном воспроизводстве возможен и у тихоокеанских лососей (монографии: Алтухов и др., 1997; Варнавская, 2006). Методы выявления неконтролируемого отбора с использованием молекулярно-генетических маркеров рассмотрены в разделе 3.2.3.3.

Мутации. Данных о том, что содержание благородных лососей в искусственных условиях ведет к росту числа мутаций у их потомков, в настоящее время почти нет. В то же время, некоторые особенности рыбоводного процесса и селекции (не связанные с абиотическими факторами искусственной среды), несомненно, провоцируют ускорение мутационного процесса.

Так, недавно анализ молоди, полученной от производителей из маточного стада атлантического лосося, созданного в Эстонии, показал, что среди рыб имеется большое количество триплоидов (около 40 %). Эти рыбы были потомками 49 семей, поэтому очевидно, что триплоиды появились в потомстве не одной, а целого ряда рыб. Причина этого явления осталась неясной (Ozerov et al., 2010), однако данные других авторов по-

звонят высказать предположение, что триплоидия могла быть следствием перезревания икры в полости тела самок.

При искусственном воспроизводстве, особенно если проверку производителей производят нерегулярно, такое случается достаточно часто. Это подтверждается опытами, в которых показано, что длительное хранение икры радужной форели в целомической жидкости ведет к появлению в потомстве триплоидов (Ueda, 1996; Aegerter, Jalabert, 2004), а задержка нереста радужной форели на 4–5 недель провоцирует развитие нежизнеспособных гаплоидных эмбрионов (Yamazaki, 1983), – возможно, из-за того, что ядра икринок деградируют, и весь генетический материал эмбрион получает от сперматозоида. (Это явление носит название андрогенеза, подробнее см. раздел 2.4.4.).

Как уже было упомянуто выше, у одной особи атлантического лосося, полученной в заводских условиях, нами была выявлена гетероплазмия, никогда не обнаруживавшаяся у диких рыб этого вида. При этом независимо от того, возникла данная мутация *de novo* или же явилась следствием проникновения митохондрии в оплодотворяемую икринку со сперматозоидом, появление подобной особи можно трактовать как усиление мутационного процесса при искусственном воспроизводстве (Артамонова и др., 2008).

Одной из причин, ведущих к появлению мутаций в заводских условиях, может быть инбридинг. Ведь, как уже говорилось выше, при низкой эффективной численности популяции системы стабилизации генофонда разрушаются, и мутационный процесс значительно ускоряется.

Особенно часто инбридинг имеет место при выведении новых пород рыб, когда носителями желательных свойств оказывается ограниченная группа особей. В частности, исследуя породу «Росталь» радужной форели, которая происходит всего от одной пары производителей (с последующим скрещиванием потомков только друг с другом), мы зарегистрировали аномально высокое генетическое разнообразие по некоторым микросателлитным локусам. Происхождение породы всего от двух особей предполагает, что число аллелей любого локуса не может превышать четырех, однако в некоторых локусах зарегистрировано более четырех аллелей. Более того, среди них имелись такие, которые не были выявлены у стальноголового лосося, от которого происходит «Росталь» (Artamonova et al., 2010b).

Механизм быстрого возникновения аллельного разнообразия микросателлитов известен – в качестве такового чаще всего выступают неравный кроссинговер и ошибки внутриклеточной ДНК-полимеразы при матричном синтезе tandemно повторяющихся последовательностей (Chistiakov et al., 2006). Однако в неизменных условиях существования, когда мутационный процесс на-

ходится под контролем систем стабилизации генофонда, частоты аллелей микросателлитных локусов остаются стабильными, что было неоднократно показано на разных видах лососевых (см. главу I).

Судя по всему, мутации, затрагивающие некодирующую часть генома, к которой относятся микросателлитные локусы, происходят чаще, чем мутации в последовательностях, кодирующих белки. Однако следует учитывать, что последние гораздо труднее зарегистрировать из-за того, что большинство из них являются летальными. Возможно, именно в силу этого обстоятельства данных о спонтанных мутациях в кодирующих последовательностях у искусственно разводимых лососей в литературе пока не имеется.

Влияние неконтролируемых генетических процессов на генофонд популяций и эффективность работы рыбоводных заводов. Искусственно поддерживаемые популяции имеют большое практическое значение. Заводское воспроизводство с последующим выпуском молоди в реки – это одновременно инструмент сохранения генофонда (в том числе для целей селекции) и возможность пополнения молодью популяций, интенсивно эксплуатируемых человеком. К сожалению, неконтролируемые генетические процессы наносят урон сохраняемому генофонду, и в то же время, как уже отмечалось, негативно влияют на экономическую эффективность работы рыбоводных заводов.

Судя по всему, именно неконтролируемые процессы ответственны за генетически обусловленное изменение адаптивно-важных признаков, которое имеет место и у атлантического лосося, и у кумжи, и у стальноголового лосося, выращиваемых искусственно (Araki et al., 2008).

А вот в тех случаях, когда неконтролируемые генетические процессы идут в линиях лососей, предназначенных для товарного выращивания, неконтролируемый отбор может быть союзником селекционера, поскольку достаточно часто он ведет к увеличению темпов роста и способствует адаптации рыб к условиям искусственной среды обитания. Таким образом, маточные стада, генетическая структура которых искажена неконтролируемым отбором, могут стать родоначальниками линий, предназначенных для товарного выращивания. В частности, мы полагаем, что начало такой линии могло бы дать маточное стадо атлантического лосося Выгского рыбоводного завода (Крамаренко и др., 2002; Махров и др., 2013), которое содержалось в искусственных условиях уже четыре поколения.

Способы борьбы с неконтролируемыми генетическими процессами. Как показывает опыт отечественных семужьих заводов, при использовании достаточного количества производителей, тщательного контроля за их видовой и популяционной принадлежностью, при соблюдении

биотехники выращивания можно добиться практически полного подавления неконтролируемых генетических процессов при содержании молоди в искусственных условиях до смолтификации. (В главе III описаны методы молекулярно-генетического анализа, позволяющие идентифицировать видовую и популяционную принадлежность благородных лососей, выявлять межвидовых гибридов, регистрировать неконтролируемый отбор в группах рыб, содержащихся в искусственных условиях, а также оценивать уровень генетического разнообразия в них.)

Однако случайные процессы и неконтролируемый отбор могут оказать существенное влияние на генетическую структуру маточных стад, создаваемых на рыбоводных заводах в качестве резервного источника производителей для популяций, находящихся в угнетенном состоянии. Для подавления этих процессов теоретически может быть использован целый ряд приемов, хорошо зарекомендовавших себя не только в рыбоводстве, но и в других областях. К их числу относятся, в первую очередь, криоконсервация спермы, фрагментация маточного стада с последующим обменом самостоятельных групп особей единичными производителями (аналог хоминга и стрейнга в природных популяциях), увеличение возраста созревания производителей, уравнивание численности потомков разных семей, приближение условий выращивания к природным (обзоры: Allendorf, Ryman, 1986; Busack, Currens, 1995; Frankham et al., 2002; Bert et al., 2007; O'Reilly, Doyle, 2007; Frankham, 2008; Fraser, 2008; Андрияшева, 2009).

Некоторые из этих методов – криоконсервация спермы, увеличение возраста созревания производителей, уравнивание численности потомков разных семей, меры по увеличению выживания – уже давно с успехом используются в “живом генетическом банке” атлантического лосося, созданном в Норвегии (Walsø, 1998).

Кроме того, на практике испытан ряд приемов, способствующих постепенной адаптации искусственно выращенной молоди лососевых к обитанию в природной среде (Черницкий, Лоенко, 1990; Никоноров, Витвицкая, 1993; Ferguson, 2007), а также метод снижения селективной гибели атлантического лосося благодаря стимуляции личинок лазерным или магнито-инфракрасно-лазерным излучением (Попова и др., 2005; Artamonova et al., 2010a).

Целесообразно было бы вести в маточных стадах “охраняющий отбор”, который компенсировал бы неконтролируемый (Кирпичников, 1987). Однако, ввиду того, что фенотип рыб в искусственных условиях существенно меняется, такой отбор следует вести непосредственно по генотипам, с применением молекулярно-генетических методов диагностики. В настоящее время подобные тесты все еще остаются дорогостоящими и

трудоемкими, поэтому введение в практику рыбоводства приемов охраняющего отбора – дело будущего.

Генетико-селекционные методы восстановления природных популяций. Важность сохранения естественных популяций, к сожалению, часто становится очевидной только после их исчезновения, когда даже самые большие усилия по восстановлению стад оказываются безрезультатными или дают очень небольшой эффект (обзор: Cross et al., 2007). Так, в американскую реку Коннектикут, где прежде существовала популяция атлантического лосося (она исчезла не менее 150 лет назад), ежегодно выпускают миллионы искусственно выращенных мальков, а возвращается в реку, согласно многолетним данным, в среднем 233 производителя. Это не удивительно, поскольку донорные популяции обитают в реках, расположенных гораздо севернее. В них другие условия среды, а значит, хорошо приспособленные к этим условиям стада лососей априори должны иметь совершенно иную генетическую структуру, по сравнению с вымершей популяцией реки Коннектикут (Hendry et al., 2003).

Вот почему для восстановления популяций рекомендуется использовать рыб из близких рек. Так, популяции атлантического лосося в американском штате Мэн не удавалось восстановить, пока для зарыбления использовали рыб из реки Мирамичи, расположенной гораздо севернее, на территории Канады. Однако это удалось сделать, когда в качестве донорных стали использовать популяции рек того же штата (Kincaid, Stanley, 1989).

Для зарыбления восстановленных нерестилищ на реке Суна (приток Онежского озера) использована молодь из притоков этого озера, наиболее близких к Суне – Шуи и Лижмы (Смирнов, 2008). В настоящее время в Суне отмечена молодь от естественного нереста производителей, происходящих из популяций рек-доноров (Щуров и др., 2008).

Использование для восстановления исчезнувших стад производителей из нескольких донорных популяций весьма целесообразно. Только в этом случае вновь создаваемое стадо будет обладать достаточным уровнем генетического разнообразия, которое даст материал для естественного отбора и формирования адаптаций к условиям конкретной реки. В качестве донорных особенно целесообразно использовать популяции не просто из близлежащих рек, но имеющие генетическое сходство с исчезнувшей (если, конечно, генетическая структура исчезнувшей популяции известна). При этом зарыблять реки рекомендуется ежегодно в течение достаточно длительного периода (не менее одного-двух десятилетий), уделяя при этом особое внимание успешному размножению особей, сумевших адаптироваться к новому месту обитания. Это последнее

означает, что следует ежегодно отлавливать в реке рыб, вернувшихся в нее на нерест, получать от них потомство, и постепенно увеличивать долю таких мальков в общей массе молоди, выпускаемой в реку с целью восстановления популяции (Казаков, 1990).

В случае атлантического лосося этот прием успешно применяли при восстановлении популяций реки Нарвы, впадающей в Финский залив (Казаков, 1990), реки Рейн (Schneider, 2011) и английской реки Tyne (Gray, Charleston, 2011). Выгский и Кемский рыбобродные заводы успешно используют чужеродную молодь для восстановления популяций семги в реках Кемь и Выг, где собственные стада атлантического лосося исчезли практически полностью после строительства ГЭС (Сохнов, Щуров, 2001). Хотя возврат производителей от этой молоди очень низок, благодаря еже-

годным выпускам (в течение десятков лет) в реку Кемь генетически разнородных рыб, здесь создаются благоприятные условия для действия естественного отбора.

На раннем этапе восстановления популяции кемской семги было получено потомство от скрещивания самки, зашедшей в Кемь, и самца лосося реки Шуя (бассейн Онежского озера). Потомство от этого скрещивания (названное "лосема") было успешно выращено и выпущено в реку Кемь (личн. сообщ. Н.П. Ивановой и В.Г. Михайленко). В последующие годы наряду с выпусками в Кемь потомков рыб из других популяций, в реке регулярно отлавливали заходящих в нее производителей, которых также использовали для воспроизводства. В настоящее время в реках Кемь и Выг удается отлавливать собственных производителей для рыбобродных работ практически ежегодно.

2.2. Традиционные методы изменения генофонда лососевых рыб

2.2.1. Селекция лососевых рыб

Как мы отметили выше, популяционные биологи, работающие с природными популяциями, и рыбоброды, искусственно поддерживающие природные популяции или породы, фактически ставят своей целью затормозить процесс эволюции, и для этого стараются ослабить действие факторов, вызывающих наследственные изменения, поддерживают природные системы сохранения генофонда или создают их искусственные аналоги.

В отличие от них, селекционер при создании новых пород стремится ускорить процесс эволюции. С этой целью современные исследователи используют не только направленный отбор, – они сочетают его с факторами, дестабилизирующими генофонд, то есть с внутривидовой и межвидовой гибридизацией, инбридингом и даже с искусственным мутагенезом. Кроме того, чтобы обеспечить селекционеров необходимой информацией, проводится огромное количество исследований, посвященных наследованию хозяйственно-важных признаков лососевых рыб (обзор: Carlson, Seamons, 2008). В последнее время такие исследования часто ведут с применением молекулярно-генетических маркеров (см. раздел 3.3.1).

Отметим, что, поскольку для селекции чрезвычайно важен исходный материал, зарубежные специалисты предпринимают значительные усилия по получению оплодотворенной икры от производителей из популяций, отличающихся теми или иными хозяйственно-ценными признаками. В частности, в Японии поддерживают линию жилой нерки с Камчатки (Wada, 1998), в Финляндии – линию атлантического лосося, происходящего из Невы (Piironen, Heinimaa, 1998), а также,

по данным рыбобродов, полученную контрабандой линию палии Ладожского озера (эта популяция отличается высокой скоростью роста). Норвежские селекционеры проявляли интерес и к крупной семге реки Онега.

Программы по селекции лососевых рыб осуществляются как в России, так и в ряде зарубежных стран (таблица 1), однако в литературе имеются сведения лишь о некоторых из них (обзоры: Jorstad, Naevdal, 1996; Araneda et al., 2008). Изучение этих публикаций показывает, что история наиболее популярных пород радужной форели и наиболее распространенной линии атлантического лосося началась с внутривидовой гибридизации.

2.2.2. Отбор и внутривидовая гибридизация

В массе своей, радужная форель, выращиваемая в настоящее время в условиях аквакультуры, ведет свое начало от рыб, одомашненных в 1870-х годах на базе рыбобродного хозяйства, располагавшегося на реке МакКлауд (McCloud) в Калифорнии. Происхождение первых рыб, которых начали разводить искусственно, точно не известно, но, судя по всему, их родоначальниками была не только жилая радужная форель, но и стальноголовый лосось (Needham, Behnke, 1962).

Эта беспородная радужная форель, полученная, по всей видимости, от скрещивания жилой и проходной форм, распространилась по всему миру, и стала родоначальницей ряда пород. В Россию ее завозили неоднократно, причем из разных стран – Германии, Дании, Чехословакии (Савостьянова, 1976). Кроме того, в 1965–1970 гг. в СССР была завезена икра стальноголового лосося из США (Шатуновский и др., 1970); в 1973–1974 гг. икру этой рыбы завозили из Финляндии (Породы ... , 2006). В 1982 году из ГДР в Советс-

Таблица 1. Программы по семейной селекции лососевых рыб, действующие за рубежом (из: Solar, 2009)

<i>Вид</i>	<i>Страна</i>	<i>Компания</i>	<i>Год начала программы</i>	<i>Число тестируемых семей (в среднем за год)</i>	<i>Число основных селектируемых признаков</i>
<i>Атлантический лосось</i>	Норвегия	Aquagen	1971	400	7
	Норвегия	SalmoBreed	1999	300	7
	Норвегия	Marine Harvest	нет данных	нет данных	нет данных
	Норвегия	Rauma Stamfisk AS	1985	400	2
	Канада	Atlantic Salmon Broodstock Development Program	1984	90	2
	Канада	Heritage	2001	нет данных	нет данных
	Канада	Tri-Gen		93	нет данных
	Исландия	Stofnfiskur	1995	400	нет данных
	Шотландия	Landcatch Natural Selection	1996	200	6
	Ирландия	Marine Harvest	1998	нет данных	нет данных
	Чили	Landcatch Natural Selection	1998	160	6
	Чили	AquaChile	1997	200	4
	Чили	Camanchaca	2005	180	1
Австралия	Saltas-SCIRO	2004	144	4	
<i>Радужная форель</i>	Норвегия	AquaGen	1971	300	5
	Норвегия	SalmoBreed	2000	150	8
	Финляндия	MTT	1992	190	2
	Чили	AquaChile	2000	120	3
<i>Чавыча</i>	Канада	Marine Harvest/ Creative Salmon	нет данных	нет данных	нет данных
<i>Арктический голец</i>	Исландия	Правительство Исландии и университетский колледж Холар	1992	150–170	2
	Канада	Waters Arctic Charr Limited	1986	нет данных	3

кий Союз была завезена также форель камлоопс (Титарев, 1988).

Отметим, однако, что далеко не все генетические ресурсы радужной форели доступны для селекционеров, причем не только по техническим причинам. Так, например, с 1939 г. запрещен вывоз из американского штата Калифорния редких и очень красивых золотых форелей – *P. m. aguabonita* и *P. m. whitei* (Cutter, 1991).

Тем не менее, несмотря на ограниченный исходный материал, работы по селекции радужной форели вели во многих странах – США, Дании, Польше, Чехословакии, Югославии, Японии, Норвегии. Отбор осуществляли на ускорение роста, устойчивость к заболеваниям, увеличение плодовитости; большое внимание селекционеры уделяли также изменению времени нереста радужной форели (обзоры: Савостьянова, 1976; Kincaid, 1981; Кирпичников, 1987; Gjedrem, 1992).

Селекция радужной форели продолжается за рубежом и в настоящее время, но детальные опи-

сания этих работ сейчас, как правило, не публикуют. В литературе есть только некоторые сведения о норвежской программе по селекции радужной форели; сообщается, в частности, что эта программа началась с гибридизации нескольких пород (Gjedrem, 2000). Есть сведения о селекции радужной форели на устойчивость к вертежу (Fausch, 2007). Имеются также неполные данные о финской национальной программе по селекции, которая началась в 1980 году (Kause et al., 2003; Каукоранта, 2010), и программе по селекции, проводимой в Закарпатье (Мрук, 2008). Известно, что в Японии и Китае есть линии радужной форели белой окраски (Wada, 1998; You et al., 2006), в Грузии – линия золотой окраски (Graham, 2002). В Японии велись работы по выведению линии радужной форели, лишенной пятен (Ishii et al., 1980).

Интенсивно ведется селекционная работа с радужной форелью и в России. Так, в результате гибридизации радужной форели со стальноголовым лососем и последующей селекции (в первую

очередь, на раннее созревание) на базе рыбоводного хозяйства «Адлер» (ныне ФГУП «Племенной форелеводческий завод “Адлер”») была получена отечественная порода форели «Адлер», которая в 1997 году была утверждена в качестве селекционного достижения (Никандров и др., 2002).

Еще одной породой, полученной в России путем гибридизации рыб разного происхождения с последующей селекцией, стала порода “Рофор”, выведенная на базе ФГУП «ФСГЦР». Эта порода была утверждена в качестве селекционного достижения в 1999 году (Породы ... , 2006).

Происхождение рыб с Чегемского рыбоводного завода, послуживших основой для выведения отечественной породы «Адлерская янтарная», которая характеризуется, в первую очередь, светлой окраской рыб (Рис. 14), проследить не уда-

лось. Однако, как показывают наши предварительные данные, полученные с применением молекулярно-генетических методов, среди предков этой породы не было золотой форели (*P. m. aguabonita*). При выведении этой породы на базе ФГУП «Племенной форелеводческий завод “Адлер”» селекцию вели, в первую очередь, с целью закрепления фенотипа окраски, соответствующих цветовой гамме природного янтаря. Этот тип окраски оказался кодоминантным. Порода “Адлерская янтарная” была зарегистрирована в качестве селекционного достижения в 2003 году (Шиндавина и др., 2005).

В настоящее время на базе ФГУП ПФЗ «Адлер» ведутся работы по выведению линии стального лосося с поздним нерестом (март-апрель) и линии форели камлоопс с ранним нерестом (Породы ..., 2006). Селекционная работа с



Рис. 14. Отечественные линии радужной форели светлой окраски, выведенные путем классической селекции. А – форель, разводимая на базе ЗАО “Сельскохозяйственный племенной завод «Форелевый»” (г. Кисловодск); Б – форель породы «Адлерская янтарная» (ФГУП «Племенной форелеводческий завод “Адлер”»).

радужной форелью на базе ЗАО «Сельскохозяйственный племенной завод «Форелевый»» (г. Кисловодск) и ФГУП «ФСЦР» направлена на получение линий радужной форели, окрашенной в золотисто-желтые тона (Рис. 14) (Арсенюк, Новоженин, 2001; Никандров и др., 2014).

Большой недостаток отечественного форелеводства – отсутствие региональных питомников, которые позволяли бы снабжать товарные хозяйства посадочным материалом, подбирать породы форели, подходящие для каждого конкретного региона, вводить в культуру местные ценные формы лососевых рыб (Никандров, 1995; Рыжков и др., 2007; Воробьева, Пестрикова, 2011). Между тем, подобные хозяйства совершенно необходимы для нормальной постановки племенного дела (Катасонов, Гомельский, 1991).

В последние годы условия выращивания форели в племенных и товарных хозяйствах все больше различаются. Оказалось, что экономически наиболее выгодным является товарное выращивание форели в садках, устанавливаемых в естественных водоемах, особенно в море, в соленой воде. Таким образом, селекцию необходимо вести на адаптацию именно к условиям товарных хозяйств, а для этого необходима обратная связь. Некоторые хозяйства должны играть при этом роль контрольных станций, то есть вести постоянную оценку продуктивности, условий содержания и устойчивости к болезням разных линий, предлагаемых племенными хозяйствами, как это делается в Норвегии (Gjedrem, 1992).

Еще один недостаток российского лососеводства мы видим в том, что в нашей стране, к сожалению, не ведется селекция лососей рода *Salmo*, и пород этих рыб пока не выведено. Между тем, имеющиеся маточные стада атлантического лосося вполне могут стать основой для таких работ. Задача представляется особенно актуальной в связи с тем, что за рубежом такие работы ведутся очень интенсивно.

Широкомасштабная программа по разведению атлантического лосося была начата в Норвегии еще в 1971 году. Для ее реализации были отловлены рыбы из 40 норвежских популяций. Скрещивания между производителями различного происхождения дали богатый материал для интенсивной селекции на увеличение темпа роста, замедление полового созревания, устойчивость к заболеваниям, цвет мяса и содержание в нем жира (Gjedrem et al., 1991; Gjoen, Bentsen, 1997; Gjedrem, Refstie, 2005).

В литературе имеются также некоторые сведения о программе селекции атлантического лосося, проводимой в Канаде. Ее цель – получить рыб с оптимальным сочетанием быстрого роста, хорошими технологическими качествами и низкой частотой раннего полового созревания (Quinton et al., 2005).

Австралийская программа селекции атлантического лосося имеет целью ускорение роста рыб, повышение устойчивости к заболеваниям, снижение числа рано созревающих рыб, стабилизацию цвета и жирности мяса. В ходе программы активно используются молекулярно-генетические маркеры, хотя детали этих работ не сообщаются (Elliott, Kube, 2009).

Во Франции осуществляется программа PROSPER, основанная на массовой селекции кумжи, с целью получения линии для товарного выращивания. Исходная популяция отличалась хорошим темпом роста и высокой генетической гетерогенностью. Благодаря этому, за четыре поколения селекции удалось увеличить длину рыб в годовалом возрасте на 24.6 %, а массу на 86 % (Chevassus et al., 2004).

2.2.3. Отдаленная гибридизация

Попытки получить межвидовых и межродовых гибридов благородных лососей предпринимались неоднократно. При этом экспериментаторами двигало как любопытство, так и надежда получить быстрорастущих особей – явление гетерозиса неоднократно отмечалось при гибридизации рыб различных видов (Андряшева, 1971).

Однако потомки от скрещиваний разных видов *Salmo* и *Parasalmo* часто не выживали, а если и выживали, то, как правило, не проявляли тех качеств, которые оказались бы полезными для рыбоводства. Ввиду того, что ряд видов лососей обитает симпатрично, можно предположить, что все успешные гибридные комбинации уже реализовались в ходе естественной эволюции лососевых и дали начало самостоятельным видам (см. главу I).

Жизнеспособных гибридов, имеющих некоторое хозяйственное значение, не так много. Наиболее известные среди них – гибриды видов рода *Parasalmo* – радужной форели и лосося Кларка, которые, как отмечено в предыдущей главе, встречаются и в природных условиях. Эксперименты показывают, что выживаемость таких гибридов до выклева выше по сравнению с лососем Кларка, однако в первые недели жизни личинок их смертность резко увеличивается, а растут они хуже, чем молодь родительских видов (Leary et al., 1995). Кроме того, оказалось, что гибриды менее симметричны – уровень различий в значениях меристических признаков между правой и левой сторонами тела у них значимо выше, чем у представителей чистых видов, а это свидетельствует о нарушении стабильности развития (Leary et al., 1985). В то же время, взрослые гибриды в природных условиях растут быстрее лосося Кларка (Rohrer, Thorgaard, 1986). Как уже упоминалось, в настоящее время гибридов этих двух видов используют в США для спортивного рыбоводства.

Есть сведения о том, что в конце XIX века лосось Кларка привозили в Германию и гибридизовали с радужной форелью (Schäperclaus, 1961), поэтому не исключено что, выражаясь образно, кровь лосося Кларка течет и в жилах представителей некоторых современных пород радужной форели.

Что касается гибридов атлантического лосося и кумжи, то их выживаемость сильно варьирует. Однако нет сомнений, что эти гибриды уступают атлантическому лососю по всем хозяйственным показателям, если не считать отдельных сообщений о повышенной устойчивости таких гибридов к экстремальным условиям среды. Гибриды кумжи и эндемичных видов рода *Salmo* обычно жизнеспособны, но их хозяйственные качества не изучены (обзор: Makhrov, 2008).

Межродовые гибриды *Salmo* и *Parasalmo*, за исключением спонтанных триплоидов (см. разделы 1.3.1 и 3.2.1.1.), гибнут на ранних стадиях развития (Haack, 1893; Phillipps, 1926; Buss, Wright, 1956; Lieder, 1956; Podubsky, 1956; Sequin, 1957; Hitzeroth et al., 1968; Suzuki, Fukuda, 1971; Refstie, Gjedrem, 1975; Димчева-Грозданова, Белчева, 1976/1977; Blanc, Chevassus, 1979, 1982; Chourrout, 1982; Chevassus et al., 1983; Scheerer, Thorgaard, 1983; Dobosz, Goryczko, 1988; Quillet et al., 1988a; Gray et al., 1993; Babiak et al., 2002; Артамонова и др., 2007; Akhan et al., 2011), получить жизнеспособных гибридов этих родов удастся только с помощью индуцированной триплоидии (см. подраздел 2.4.2).

Выживаемость гибридов лососей рода *Oncorhynchus* с радужной форелью невысока, а их гибриды с кумжей оказываются стерильными, хотя и выживают в значительных количествах. Стерильны также гибриды кумжи с представителями рода *Salvelinus*, но потомство от скрещивания самок кумжи и самцов *Salvelinus fontinalis*, которое называют тигровой форелью, иногда все-таки используют в аквакультуре. Этих рыб ценят за необычную окраску (обзор: Chevassus, 1979).

Методы генетической идентификации межвидовых гибридов благородных лососей рассмотрены в разделе 3.2.1.1.

2.2.4. Отбор и инбридинг

В сельскохозяйственной практике инбридинг справедливо считается одним из самых негативных факторов. Он часто приводит к снижению продуктивности растений и животных, ведет к вырождению пород. Основная причина этих явлений заключается в том, что близкородственные скрещивания часто переводят поврежденные гены в гомозиготное состояние, вызывая уродства или гибель их носителей.

Целый ряд негативных последствий инбридинга отмечен и у радужной форели: повышенная смертность развивающейся икры, личинок и

мальков, снижение темпа роста молоди и взрослых рыб (Pante et al., 2001; обзор: Gjedrem, 1992). Однако, инбридинг, дополненный отбором, оказывается очень эффективным методом выведения новых пород. Примером может служить получение отечественной породы радужной форели «Росталь» на базе ФГУП «ФСЦР».

Исходным материалом для выведения породы был стальноголовый лосось, завезенный из Финляндии. При создании породы использовали метод семейной селекции, а основными признаками, по которым вели селекцию, были скорость роста и плодовитость производителей. Кроме того, при отборе лучших семей учитывали выживаемость и темп роста потомства на ранних этапах онтогенеза (Терентьева, 1995). Всего на начальном этапе работ было отобрано восемь пар производителей, отличающихся хорошим темпом роста и плодовитостью. Однако в результате основателями породы стало потомство только одной пары производителей, которое имело наилучшие показатели по выживаемости и темпу роста. Породу «Росталь» была утверждена в качестве селекционного достижения в 2002 году (Породы..., 2006).

Судя по невысокому уровню генетического разнообразия (см. подраздел 3.2.2.2), достаточно тесный инбридинг имел место и при создании знаменитой форели Дональдсона. Сам создатель породы упоминает, что оставлял на племя только один процент икры каждое поколение. Многие годы он отбирал крупных, сильных, рано созревающих производителей, нерестящихся в нужный сезон и дающих большое количество икры с высоким процентом выклева. Выклюнувшиеся мальки тоже подвергались отбору по целому ряду признаков (Donaldson, Olson, 1955; Donaldson, 1970). В настоящее время форель Дональдсона выращивают во многих странах мира; в 1982 году ее завезли в СССР (Титарев, 1988). В России эта порода, разводимая и адаптированная к местным условиям ФГУП «Племенной форелеводческий завод «Адлер»» занесена в Государственный реестр селекционных достижений.

2.2.5. Искусственный мутагенез

Ненаправленный искусственный мутагенез используют в биологических опытах с целью повысить генетическое разнообразие в экспериментальной группе особей. И хотя многие мутации, происходящие под воздействием радиации или химических веществ, оказываются летальными, исследователи неоднократно получали таким способом особей, наделенных необычными свойствами, которые они были способны передавать по наследству.

Это направление в селекции лососевых рыб так и не вышло из стадии эксперимента, и поэтому трудно сказать, будет ли оно иметь практическое значение. Скорее всего, приоритетными

окажутся все-таки не случайные, а целенаправленные изменения генофонда рыб, то есть методы получения генетически модифицированных организмов (ГМО).

Тем не менее, необходимо упомянуть, что в СССР проводили опыты по обработке спермы радужной форели химическими мутагенами (Черфас, Цой, 1984; Бирюков, 1993). Проследив развитие икры, оплодотворенной этой спермой, исследователи, как и ожидалось, зарегистрировали высокую гибель эмбрионов, начиная со стадии гастрюляции. Среди выклюнувшихся личинок (число которых варьировало в разных экспериментах от 0 до 50% относительно оплодотворенной икры) была повышена доля особей с морфологическими аномалиями.

В то же время, у выживших сеголеток была отмечена более высокая изменчивость по морфологическим признакам, по сравнению с контро-

лем, – в том числе по хозяйственно-важным признакам. Рыб, полученных в этом эксперименте, предполагалось использовать как исходный материал в селекционной программе, осуществляемой на базе Тургенского форелевого хозяйства в Казахстане (Бирюков, 1993), однако сведений о том, получила ли эта программа дальнейшее развитие, в литературе не имеется.

Работы по искусственному мутагенезу знаменуют собой наметившийся переход от традиционной селекции к современным биоинженерным методам, которые все активнее проникают в практику сельского хозяйства. В дальнейшем изложении будет показано, как совершенствовались методы воздействия на геном лососевых, развивались клеточная, хромосомная, а затем и генетическая инженерия, целью которых, как и в классической селекции, остается получение высокопродуктивных пород рыб.

2.3. Клеточные технологии

2.3.1. Криоконсервация клеток

Методы криоконсервации, то есть сохранения живых организмов и отдельных клеток при низких температурах (обычно в жидком азоте), интенсивно практикуют уже не одно десятилетие. Они нашли широкое применение в животноводстве, а в настоящее время используются, в том числе, и при работе с рыбами. Хорошо разработаны методики криоконсервации спермы рыб, среди которых представлены и лососевые – атлантический лосось, кумжа, радужная форель. Опыты со спермой карпа показали, что ее хранение в течение семи лет не приводит к снижению качества спермы (Цветкова, 1998; Lahnsteiner, 2000, и ссылки в этой работе).

Следует отметить, что, поскольку для криоконсервации применяют несколько различных методов и условия проведения опытов сильно разнятся, результаты экспериментов различаются порой достаточно сильно даже для рыб одного вида. Так, в раннем эксперименте на радужной форели при использовании криоконсервированной спермы было отмечено снижение процента активных спермиев по сравнению с контролем (10–40% против 38–60%). Соответственно, снизились также процент оплодотворенной икры (12–25% против 50–80%) и доля выклюнувшихся личинок (8–16% против 15–40%) (Цветкова, 1998).

В другом опыте подвижность сперматозоидов радужной форели после криоконсервации снижалась не так значительно, поэтому при высокой концентрации спермы процент оплодотворения значимо не различался. Однако в случае, когда концентрация сперматозоидов была низкой (около $1,5\text{--}2 \times 10^6$ на икринку), процент оплодотворе-

ния свежей спермой составил 79,8%, а криоконсервированной – только 62,4% (Lahnsteiner, 2000). После криоконсервации спермы радужной форели были отмечены случаи повреждения ядер сперматозоидов, однако это обстоятельство не влияло на выживаемость и качество потомства (Labbe et al., 2001) – видимо потому, что поврежденные сперматозоиды просто не участвовали в оплодотворении.

Еще в одной работе, где дважды оценивали качество криоконсервированной спермы радужной форели, сообщается, что выход живых эмбрионов на стадии глазка при использовании криоконсервированной спермы составил только 67,9% против 96,1% в контроле в один год и 59,1% против 88,2% в контроле в другой. Кроме того, в одной из повторностей контрольные личинки были крупнее опытных. Эта разница сохранялась при совместном выращивании опытной и контрольной молоди на ограниченных рационах, но при раздельном выращивании различий между партиями по размеру, массе и выживаемости не было (Hayes et al., 2005). Каких либо нарушений развития у особей радужной форели, полученных в результате оплодотворения икры размороженной спермой, не выявлено (Young et al., 2009).

В России работы по криоконсервации спермы атлантического лосося начаты Ю.П. Зелинским с соавт. (1990). В настоящее время пробы спермы многих видов рыб, в том числе кумжи, атлантического лосося из нескольких популяций, разных пород радужной форели, а также пробы спермы палии и кеты хранятся в коллекции ВНИИПРХ (Пронина и др., 2010). Работы по криоконсервации спермы кумжи и радужной форели ведутся на Украине (Филиппов и др., 2009, 2015).

В Норвегии создан банк спермы атлантического лосося, где содержатся пробы, взятые от 6500 особей из 169 популяций (O'Reilly, Doyle, 2007). Пробы спермы атлантического лосося и кумжи хранятся также в генетических банках Исландии (Isaksson, 1998) и Финляндии (Piironen, Heinimaa, 1998).

Криоконсервированная сперма может найти применение в тех случаях, когда на рыбоводных заводах, поддерживающих естественные популяции лососевых рыб, наблюдается недостаток самцов. Ее также можно использовать для получения гибридов между формами, значительно различающимися сроками нереста или обитающими (содержащимися) в географически удаленных точках, а в перспективе – при восстановлении исчезнувших популяций и видов. Ниже мы рассмотрим приемы андрогенеза, который может помочь восстановить исчезнувшие формы рыб с использованием спермы, сохраненной в криобанках.

Одновременно, в последние годы быстро развиваются и другие технологии криоконсервации, которые могут оказаться более перспективными для целей сохранения и последующего восстановления генофонда редких видов и популяций. В частности, разрабатываются методики криоконсервации эмбрионов рыб (Ананьев, Манохина, 2013).

Кроме того, проведены успешные эксперименты по замораживанию отдельных бластомеров – клеток, взятых из развивающихся икринок радужной форели, находящихся на стадии бластулы (Nilsson, Cloud, 1993), а также по криоконсервации первичных половых клеток (Kobayashi et al., 2007). И поскольку наряду с технологиями замораживания–размораживания клеток без утраты ими способности к последующему нормальному функционированию разрабатываются методики восстановления целых организмов из отдельных клеток, это открывает новые перспективы сохранения генофондов редких и исчезающих видов животных.

2.3.2. Химерные организмы

Современные биотехнологии позволяют включать в состав организмов клетки, получен-

ные от других объектов. Так появляются жизнеспособные химерные организмы (химеры), состоящие из генетически разнородных клеток. Первая искусственная химера растений получена еще в 1644 году (Кренке, 1947), а первая работа, посвященная химерам животных (тритонов) появилась в 1938 году (Мак-Ларен, 1979). Химеры рыб получены относительно недавно, зато им сразу же нашлось практическое применение.

Дело в том, что в качестве основы для создания химер можно использовать стерильных особей (которых легко получить целенаправленно, например, путем триплоидии, см. раздел 2.4.2), и тогда половые клетки (гаметы) химерного организма будут происходить только от пересаженных клеток донора. Таким образом, гаметы, продуцируемые химерой, будут абсолютно идентичны тем, которые производил бы организм-донор.

Так, отдельные бластомеры радужной форели удалось встроить в триплоидные бластулы этого вида (Nilsson, Cloud, 1992). Однако такой способ получения химер технически сложен и не может быть взят за основу при необходимости массового получения химерных организмов. Поэтому в последние годы интенсивно разрабатывается другой способ создания химерных лососевых рыб – пересадка первичных половых клеток в брюшную полость стерильных рыб (ссылки см.: Okutsu et al., 2008). Эта технология позволяет полностью решить проблему восстановления целых организмов из отдельных клеток, в том числе, сохраненных методами криоконсервации.

Японские ученые, разработавшие и применившие эту технологию, добились поразительных успехов. В эксперименте они делали инъекцию сперматогониев радужной форели в брюшную полость стерильных особей симы. В результате у части опытных рыб развились гонады, причем некоторые из них стали самками, а другие – самцами. Эти рыбы созрели и продуцировали полноценную икру или сперму. Потомство, полученное от химер суррогатного маточного стада, представляло собой нормальных личинок радужной форели, какие бы то ни было признаки симы у них отсутствовали (Okutsu et al., 2008).

2.4. Хромосомная инженерия

В таблице 2 дана краткая характеристика методов, которые можно объединить под общим названием “хромосомная инженерия”. Вообще говоря, это не полный перечень возможных воздействий на геном, которые способны изменить его хромосомный набор, однако другие приемы в лососеводстве не используются и в целом применяются, как правило, для исследовательских, но не для практических целей (Nichols, 2009).

2.4.1. Искусственная тетраплоидия

Как было упомянуто в главе 1, лососевые рыбы, достигающие, как правило, весьма внушительных размеров, прошли в своей эволюции этап удвоения генома (тетраплоидизации), а вот их ныне живущие родственники (корюшковые), которые этап тетраплоидизации генома не прошли – относительно невелики. Тетраплоидные растения также отличаются солидными размера-

Таблица 2. Краткая характеристика основных методов хромосомной инженерии рыб, основанных на изменении плоидности генома

<i>Название процесса</i>	<i>Воздействие на неоплодотворенную яйцеклетку</i>	<i>Воздействие на сперматозоид</i>	<i>Воздействие на оплодотворенную (активированную) яйцеклетку</i>
<i>Искусственная тетраплоидия</i>	нет	нет	подавление первого митотического деления
<i>Искусственная триплоидия</i>	нет	нет	подавление второго деления мейоза
<i>Искусственный андрогенез</i>	инактивация ядра	нет	подавление первого митотического деления
		используется сперма тетраплоидных рыб или сперматозоиды соединяют при помощи химических реагентов	нет
<i>Искусственный гиногенез</i>	нет	разрушение генома	подавление второго деления мейоза или первого митотического деления

ми, поэтому у исследователей были основания полагать, что именно тетраплоидизация генома, имевшая место в эволюции лососевых, обусловила высокий темп роста этих рыб. Отсюда был сделан вывод, что искусственная полиплоидия может способствовать еще большему его ускорению, а значит достижению лососями товарной массы в кратчайшие сроки. Идея получения искусственных полиплоидов выглядела очень перспективной, и уже полвека назад были начаты первые опыты по получению полиплоидной радужной форели (Leider, 1964).

Тетраплоидный организм можно получить из диплоидной зиготы (оплодотворенной яйцеклетки), если подавить первое деление митоза (таблица 2, Рис. 15). При этом после удвоения числа хромосом вместо двух диплоидных клеток образуется одна тетраплоидная, которая и дает начало тетраплоидному организму, если последующие деления происходят нормально. Для подавления первого митотического деления используются шоковые воздействия – высокое давление или термический (тепловой) шок (для холодолюбивых лососевых последнее оказывается весьма эффективным). В первых экспериментах оплодотворенные икринки иногда обрабатывали цитохалазином Б, но в настоящее время этот метод не используют.

Были получены тетраплоидные радужная форель (Refstie et al., 1977; Myers, Hershberger, 1986; Ma et al., 1987; Foisil, Chourrout, 1992; Diter et al., 1993; Hörstgen-Schwark, 1993; Zhang et al., 2005; Hershberger, Hostuttler, 2005, 2007; обзоры: Гомельский, Грунина, 1988; Thorgaard, 1992), атлантический лосось (Refstie et al., 1977) и кумжа

(Myers et al., 1995). Однако, вопреки ожиданиям, темп роста тетраплоидов, которых особенно тщательно изучили на примере радужной форели, оказался низким. Выживаемость тетраплоидов также оказалась низкой, однако часть рыб все-таки выживала и созревала, хотя созревание тетраплоидных самок часто задерживалось, а фертильность тетраплоидных самцов оказалась пониженной (Benfey, 2009a). Впрочем, для тетраплоидных самцов радужной форели была показана высокая наследуемость фертильности, поэтому оказался возможен отбор на повышение фертильности таких самцов (Blanc et al., 1993), – ведь при скрещивании тетраплоидов между собой от них удавалось получать тетраплоидное потомство (Chourrout, Nakayama, 1987).

Таким образом, в ходе экспериментов было показано, что получение и поддержание тетраплоидных линий лососей в принципе возможно, но их хозяйственные качества весьма сомнительны. Тем не менее, применение этим рыбам нашлось – их используют для получения триплоидов (которые оказались в хозяйственном отношении вполне перспективными), скрещивая с диплоидными особями (Chourrout et al., 1986; Chourrout, Nakayama, 1987; Quillet et al., 1988b; Myers, Hershberger, 1991; Рис. 15). И хотя было показано, что процент оплодотворения обычных икринок спермой тетраплоидных самцов невысок (в среднем около 40 %) – видимо, из-за аномально большого размера диплоидных сперматозоидов (обзор: Гомельский, Грунина, 1988) – этот метод позволяет получить, пожалуй, наилучший процент выхода триплоидов, если делать оценку по выклюнувшимся личинкам.

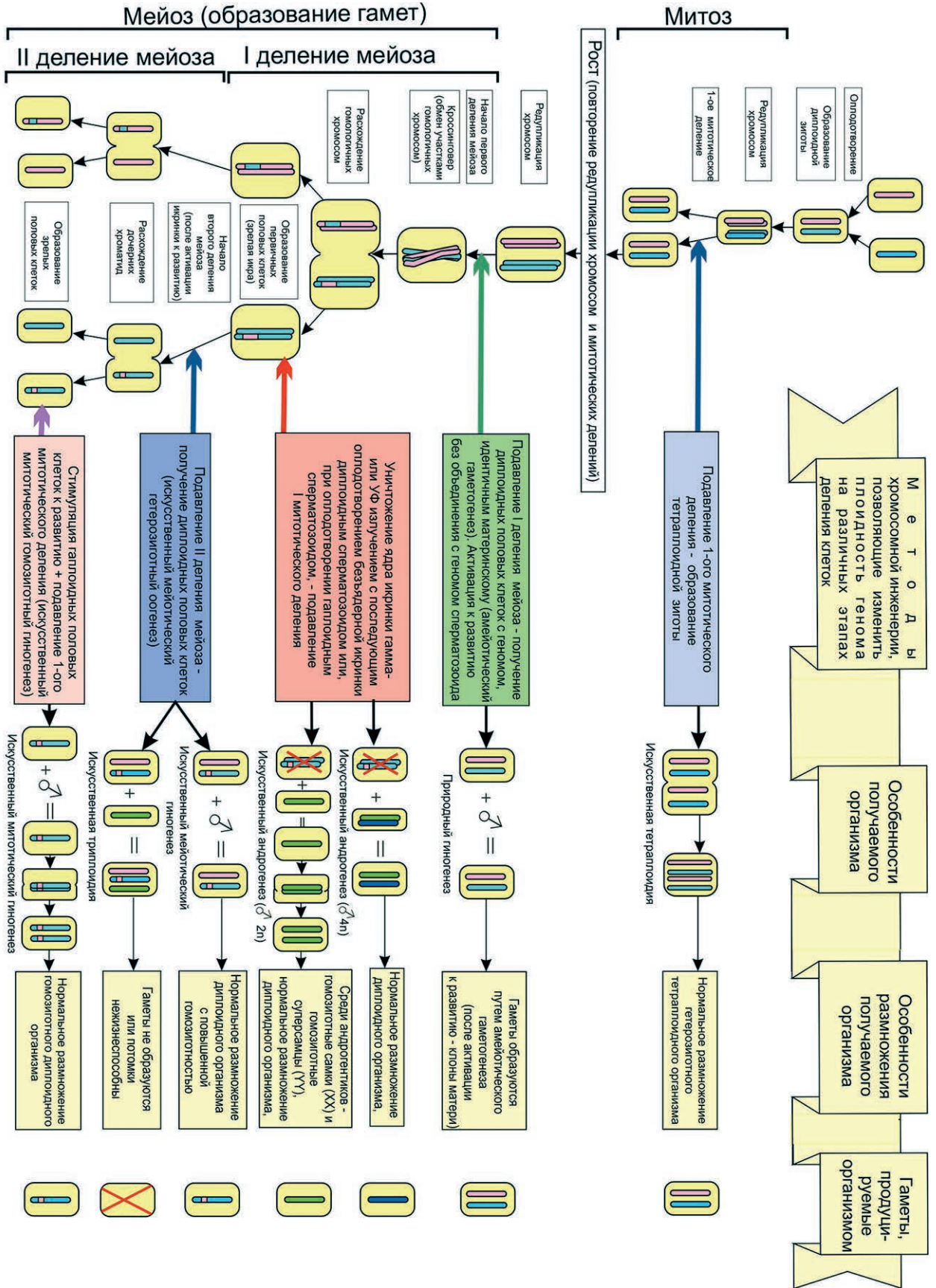


Рис. 15. Способы воздействия на половые клетки лососевых рыб с целью изменения ploidy генома у потомков или изменения характера наследования генетического материала.

Нельзя, однако, не отметить и недостатки данного метода получения триплоидов. Дело в том, что на практике при скрещивании тетраплоидов и диплоидов радужной форели в потомстве, наряду с триплоидами, могут появляться также гаплоиды, диплоиды и мозаики, что связано, в том числе и с тем, что предполагаемые тетраплоиды могут быть в действительности диплоидно-тетраплоидными мозаиками (Benfeuy, 2009a).

2.4.2. Искусственная триплоидия

Получение триплоидов. Триплоиды – организмы, кариотип которых представлен тремя гаплоидными геномами. Триплоиды, в отличие от тетраплоидов, как оказалось, обладают рядом хозяйственно-ценных качеств (о чем ниже будет сказано более подробно), поэтому методам их получения посвящена довольно обширная литература.

Кроме упомянутого выше способа, при котором триплоидов получают скрещиванием диплоидного и тетраплоидного производителей, для их получения используют и шоковые воздействия, аналогичные тем, которые применяют для получения тетраплоидов. Разница состоит в том, что такое воздействие осуществляют уже вскоре после оплодотворения, поскольку в этом случае подавляют не первое митотическое деление зиготы, которое у лососевых происходит через 5 часов 20 минут – 5 часов 30 минут после оплодотворения (обзоры: Гомельский, Грунина, 1988; Benfeuy, 2009a), а второе деление мейоза, которое начинается в результате активации яйца после проникновения сперматозоида и воды (Мурза, Христофоров, 1991).

Мейоз, как известно, процесс, ведущий к формированию гаплоидных половых клеток, которые образуются из диплоидных. В отличие от высших позвоночных, у рыб второе (эквационное) деление мейоза в норме завершается уже вне организма самки (Черфас, Цой, 1984). Шоковое воздействие в тот момент, когда ядро сперматозоида еще обособлено, а хромосомы ядра клетки не успели разойтись, приводит к разрушению веретена деления, и ядро икринки остается диплоидным. После его слияния с ядром гаплоидного сперматозоида икринка становится триплоидной, и из нее развивается триплоидный организм (таблица 2, Рис. 15).

Для получения триплоидов радужной форели обычно используют тепловой шок (обзор: Гомельский, Грунина, 1988). Результаты работ, в которых имеются данные о режимах термошока, доле триплоидов в потомстве и выживаемости рыб в опыте и контроле, приведены в таблице 3.

Здесь, прежде всего, обращают на себя внимание очень большие различия в показателях между отдельными самками. Так, в начале таблицы представлены данные из работы (Scheerer,

Thorgaard, 1983) для трех особей радужной форели: выживаемость личинок, полученных от этих самок, составила для них 16,1, 52,3 и 96,8% при одном и том же режиме термошока.

Эти результаты можно объяснить только разноразнокачественностью самих самок и продуцируемой ими икры: в то время как для одних икринок режим термошока может оказаться недостаточно жестким для разрушения веретена деления, другие икринки уже не выдерживают нагревания и погибают. Так, на примере черноморской кумжи (все особи принадлежали к одному маточному стаду) мы наблюдали высокую устойчивость к тепловому шоку мелкой икры желто-зеленого цвета, в то время как крупная оранжевая икра оказалась наименее устойчивой к тепловому воздействию. Икра желтого цвета имела промежуточные показатели устойчивости. В работе (Stevenson, 1991) было отмечено, что мелкие икринки радужной форели при термошоке погибают чаще, чем крупные.

Из данных, приведенных в таблице 3, хорошо видно, что эмбрионы, формирующиеся из икринок, подвергнутых тепловому шоку, выживают заметно хуже тех, которые не подвергались экстремальным воздействиям.

Анализируя данные, представленные в таблице 3, можно сделать и ряд выводов, имеющих непосредственное отношение к рыбоводной практике. Так, при получении триплоидов с использованием термошока следует иметь в виду, что отходы икры здесь оказываются значительно больше, чем в контроле, и выход личинок обычно не превышает 70-80% от того, который можно было бы ожидать в отсутствии экстремальных воздействий на икру.

Судя по графику, представленному в работе (Chourrout, 1986a), при термошоке с температурой 26°C, который проводили через 25 минут после оплодотворения и длительность которого составляла 15 или 20 минут, выживаемость эмбрионов до стадии выклева оказывалась рекордной и составляла около 80%. Анализ двух выборок объемом по 15 особей из этих партий показал, что от 86 до 93% рыб в них являются триплоидами.

При получении триплоидов с применением теплового шока наблюдается и еще одна закономерность, которая, правда, оказывается смазанной из-за разнокачественности самок: чем выше температура теплового шока и больше время теплового воздействия, тем ниже выживаемость икры, но выше доля триплоидов (Thorgaard et al., 1981; см. также таблицу 3). Более жесткие режимы теплового шока приводят к более высоким отходам, но при этом процент триплоидов в таких партиях оказывается максимальным и порой достигает величины близкой к 100 %.

В результате специальных экспериментов было установлено, что доля триплоидов при оди-

Таблица 3. Режимы термошока и основные результаты экспериментальных работ по получению триплоидов радужной форели

Число самок	Режим термошока*	% триплоидов (число изученных рыб)	Выживаемость, % (в скобках - контроль). В - до вылупления, П - до перехода на плав, К - до начала кормления	Литературный источник
1	10-10 (28)	60 (10)	К 16,1 (89,2)	Scheerer, Thorgaard, 1983
1	10-10 (28)	100 (10)	К 96,8 (94,1)	то же
1	10-10 (28)	0 (10)	К 52,3 (69,6)	то же
?	10-10 (29)	96,0 (25)	К 48 (84)	Thorgaard, 1986
3	10-10 (29)	100 (15)	П 23,7 (40,6)	Gray et al., 1993
?	40-10 (27 или 28)	74 (24)	В 30 (59)	Lincoln, Scott, 1983
?	40-10 (24)	30 (10)	К 74,6 (60,8-73,0)	Solar et al., 1984
?	40-10 (26)	46	П 69 (74)	Lincoln, Bye, 1984
?	40-10 (26)	90 (21)	К 30,0 (60,8-73,0)	Solar et al., 1984
?	40-10 (27)	87	П 70 (74)	Lincoln, Bye, 1984
?	40-10 (28)	93	П 59 (74)	Lincoln, Bye, 1984
?	40-10 (28,3)	87,5 (24)	В 34,2 (85,1)	Förster et al., 1986
?	40-10 (29)	94	П 48 (74)	Lincoln, Bye, 1984
?	40-10 (30)	91	П 4 (74)	Lincoln, Bye, 1984
?	40-10 (30)	0	К 0 (60,8-73,0)	Solar et al., 1984
4	25-20 (26)	100 (80)	К 63 (67)	Chourrout, Quillet, 1982
5	25-20 (26)	100 (20)	К 22,0 (55,2)	Chevassus et al., 1983
?	25-25 (26)	93,7 (16)	В 54,3 (85,1)	Förster et al., 1986
?	25-25 (27,2)	98,3 (60)	В 65,2 (94,0)	Myers, Hershberger, 1991
?	1-10 (24)	18 (11)	К 34,4 (60,8-73,0)	Solar et al., 1984
?	1-10 (26)	83 (24)	К 38,1 (60,8-73,0)	Solar et al., 1984
?	1-10 (28)	83 (24)	К 24,5 (60,8-73,0)	Solar et al., 1984
?	1-10 (30)	67 (9)	К 41,6 (60,8-73,0)	Solar et al., 1984
12	25-20 (26,5)	95 (20)	В 51.33 (83.66) П 31.93 (77.46)	Akhan et al., 2011
-	-	100	В 67.8 (100), П 61.4 (100)	Deng et al., 1992
4	1-10 (24)	0.0	В 83.0 (94.4), К 79.4 (88.3)	Solar, Donaldson, 1985
4	1-10 (26)	22.5	В 80.0 (94.4), К 67.7 (88.3)	Solar, Donaldson, 1985
4	1-10 (28)	86.1	В 50.5 (94.4), К 40.9 (88.3)	Solar, Donaldson, 1985
4	1-10 (30)	100.0	В 24.3 (94.4), К 17.9 (88.3)	Solar, Donaldson, 1985
4	1-1 (35)	0.0	В 86.9 (94.4), К 82.4 (88.3)	Solar, Donaldson, 1985

* промежуток времени после оплодотворения (в минутах) и длительность термошока (в минутах). В скобках – температура (градусы Цельсия).

наковом режиме термошока различается у разных пород радужной форели (Guo et al., 1990). Термошок более эффективен при получении триплоидов осенненерестующих пород по сравнению с зимненерестующими (Lincoln, Scott, 1983). Выход триплоидов зависит от семьи и от породы и у других видов рыб (Fraser et al., 2012).

Кроме того, на выход триплоидов заметно влияет разница между температурой, при которой происходит забор икры (фоновая температура воды) и температурой, при которой проводят тепловой шок (Diaz et al., 1993). В цитируемой рабо-

те отмечено также увеличение доли триплоидов в партиях перезревшей икры, то есть партиях, взятых через шесть-десять дней после созревания самок; однако, параллельно увеличению доли триплоидов, в этих экспериментах наблюдалось снижение выживаемости икры.

Таким образом, получение триплоидов с помощью термошока, наряду с преимуществами (возможность проведения процедуры без специального оборудования), имеет ряд ограничений. Поэтому по мере развития индустрии получения триплоидных лососей, наряду с тепловым шоком,

все чаще используют метод гидростатического давления. По предварительным данным (Guoxiong et al., 1989; Haffray et al., 2007), при применении этого метода отходы икры в процессе инкубации и доля уродливых особей в потомстве оказываются меньше.

Суть метода заключается в том, что оплодотворенную икру помещают в герметичную емкость, и спустя время, необходимое для формирования веретена второго деления мейоза (10–25 мин.), создают в этой емкости давление, превышающее атмосферное. Такие параметры как давление и время его воздействия на икру подбирают экспериментально. Однако эти параметры авторы работ сообщают не во всех случаях, поскольку режимы получения триплоидов в крупных хозяйствах – поставщиках триплоидной икры – являются коммерческой тайной.

Тем не менее, получение триплоидов радужной форели в результате воздействия гидростатического давления на оплодотворенную икру, в том числе в комбинации с гемиоксидом азота – N_2O , описано в ряде работ (обзор: Гомельский, Грунина, 1988). Гемиоксид азота, как и другие анестетики, одно время пытались использовать в опытах по триплоидии, поскольку было известно, что эти вещества способны разрушать внутриклеточные структуры.

В последнее время гидростатическое давление (без анестетиков) все чаще используют при промышленном получении триплоидов радужной форели. Это позволяет получать в экспериментальных партиях только стерильных рыб (Гомельский, Грунина, 1988), которых можно выпускать в естественные водоемы без опасения, что они будут гибридизовать с особями из природных популяций.

Кроме того, следует упомянуть, что были единичные эксперименты по получению триплоидов из икры, которую длительно хранили в целомической жидкости (аналог перезревания икры в полости тела самок) (Ueda, 1996). Триплоиды появлялись в опытах, где сперму (с целью получения диспермии) или оплодотворенную икру инкубировали в среде с высоким рН и высоким содержанием ионов кальция (Ueda et al., 1988), а также в партиях икры, которые помещали в раствор поваренной соли сразу после оплодотворения (Miller et al., 1994). Однако все эти методы практиковали только отдельные исследовательские группы, и они не получили дальнейшего развития.

Для получения триплоидов атлантического лосося, как и при работе с радужной форелью, используют повышенное давление и тепловой шок; в некоторых экспериментах повышенное давление сочетали с действием анестетиков. Попытка использовать холодовой шок с целью получения триплоидов не удалась (обзор: Гомельский, Грунина, 1988).

Тепловое воздействие применяют и при получении триплоидов кумжи (Scheerer, Thorgaard, 1983; Arai, Wilkins, 1987; Crozier, Moffett, 1989b; Quillet et al., 1991; Carter et al., 1994; Moffett, Crozier, 1995; Рухкян, Григорян, 1998; Bonnet et al., 1999; Borghesan et al., 2006; Dorafshan et al., 2008; Kalbassi et al., 2009). Триплоидов этого вида получают и с помощью повышенного давления (Lincoln, 1996; Solomon, 2003).

Использование триплоидов. Изобилие методов получения триплоидов обусловлено тем, что, как уже упоминалось, такие рыбы нашли широкое применение в форелеводстве. Так, во Франции производится 10 000 тонн триплоидной радужной форели, представленной рыбами массой 3–4 килограмма (Haffray et al., 2004). Триплоиды составляют от 5 до 30% радужной форели, выращиваемой в разных районах Великобритании (Fausch, 2007). Триплоидную форель производят в Канаде (Bridger et al., 2001), на Тасмании (Jungalwalla, 1991), в США, Японии, Корее, Иране, Турции, Польше и Чили; в Европе общий объем этой продукции составляет 15 000 тонн. Триплоидную кумжу выращивают во Франции и Великобритании (Solomon, 2003; Piferrer et al., 2009). Триплоидный атлантический лосось стал обычным объектом выращивания в Австралии (Lijalad, Powell, 2009).

Успешные опыты по получению триплоидов радужной форели с помощью термошока проводили и в СССР (Черненко, 1985; Дума, Гарин, 1991; Gorshkow, Gorshkova, 1992). В настоящее время эту технологию адаптировали к условиям ФГУП «Племенной форелеводческий завод «Адлер»», где были получены и выращены в производственных масштабах первые партии триплоидов. Однако добиться выхода триплоидов, близкого к 100% здесь еще только предстоит.

Расчеты французских специалистов показывают, что относительная продуктивность триплоидов (с учетом выживаемости и скорости роста), оказывается выше, чем у диплоидов, начиная с третьего года жизни. В частности, на четвертом году жизни (в возрасте 3+) продуктивность самок-триплоидов составляет 137% от продуктивности самок-диплоидов (Quillet et al., 1988a). В литературе приводятся данные о том, что в возрасте 78 месяцев масса триплоидов составляла в среднем 5,9 кг, а диплоидов – только 4,2 кг (Poontawee et al., 2007). В другом эксперименте в возрасте 59 месяцев масса триплоидных самок в среднем была 6.6 кг – что примерно на 2 кг больше, чем у диплоидных самок (Kobayashi, 1992). Кроме того, триплоидных рыб отличает хорошее качество мяса (Lincoln, Bye, 1984; Poontawee et al., 2007).

Хорошие рыболовные качества старшевозрастных триплоидов объясняются тем, что гонады у самок-триплоидов, как правило, не развиваются, и все энергоресурсы расходуются организмом

только на увеличение размеров тела. Известны лишь единичные случаи продуцирования зрелых ооцитов триплоидными самками рыб (Benfey, 1999).

Гонады у триплоидных самцов обычно формируются, но очень часто они имеют аномалии развития. Иногда эти самцы продуцируют подвижные сперматозоиды, однако потомство таких рыб нежизнеспособно: ведь в ходе гаметогенеза триплоидный геном должен разделяться на две части, что исключает образование нормальных гаплоидных сперматозоидов (обзоры: Гомельский, Грунина, 1988; Benfey, 1999).

Экспериментальные выпуски триплоидной радужной форели в водоемы на территории США, где практикуется спортивное рыболовство, полностью себя оправдали, и стали в ряде штатов обычной практикой (Kozfkay et al., 2006). При выпуске равных количеств диплоидных и триплоидных рыб длиной более 25 см в реки штата Айдахо доля вылова триплоидов и диплоидов была примерно одинаковой (Dillon et al., 2000). Выпуски в два водохранилища этого штата оказались еще более эффективными – соотношение триплоидов к диплоидам в уловах составляло 1,4:1 и 1,9:1 (Teuscher et al., 2003; Kozfkay et al., 2006). Надо отметить, что в обзоре (Fraser et al., 2012) приводятся и факты меньшей выживаемости триплоидов, чем диплоидов, в естественных водоемах (см. ниже). Есть и данные о равной выживаемости этих групп (Wagner et al., 2006).

В Канаде, в водохранилище Diefenbaker, была выловлена триплоидная рыба массой 19,67 кг, которая оказалась самой крупной пресноводной радужной форелью в мире. Таким образом, триплоиды оказываются прекрасными объектами для спортивной рыбалки (Махров, 2011).

Успехи при использовании триплоидов в качестве объектов спортивного рыболовства объясняются тем, что такие рыбы, как правило, стерильны и не могут натурализоваться в водоемах, куда их выпускают. В то же время, они не гибнут из-за неподходящих условий для нереста, могут пребывать в водоемах длительно, и продолжают постоянно расти. Таким образом, численность рыб легко регулировать в зависимости от нагрузки на экосистему в разные годы или сезоны, от количества рыболовов и т.д..

К соленой воде триплоиды радужной форели адаптируются не хуже диплоидов (Taylor et al., 2007). Интересно, что попавшие в море триплоиды атлантического лосося значительно реже, чем диплоиды, заходят в реки (Cotter et al., 2000), и поэтому бежавшие из садков триплоидные рыбы существенно меньше влияют на пресноводные экосистемы – в частности, не заносят в них патогены.

Однако, несмотря на несомненные достоинства, у триплоидов имеется и ряд недостатков (помимо отмеченной выше относительно высо-

кой гибели на эмбриональной стадии развития). Хотя в большинстве работ не отмечено различий в выживаемости диплоидных и триплоидных радужных форелей в первое лето жизни (Дума, Гарин, 1991), в первые 106 дней после выклева (Happe et al., 1988), в возрасте 50 дней – 20 месяцев (Quillet et al., 1988a) и 6–22 недели (Blanc et al., 2005), в одной из работ (Blanc, Maunas, 2005) сообщается, что в возрасте 141–569 дней после выклева выживаемость триплоидов составляла 80,9%, а диплоидов – 93,9%. Более того, для кумжи выживаемость триплоидных самцов от выклева до возраста 2+ составила только 45,2% от контроля, а самок вообще 36,1% (Lincoln, 1996).

Вылов рыболовами триплоидной радужной форели (самок), выпущенной в возрасте 0+ в водоемы Аляски, был на 39% ниже, чем диплоидной радужной форели (Brock et al., 1994). Реже, чем диплоидная, вылавливалась триплоидная форель, выпущенная в возрасте 8 месяцев в пруды Южной Дакоты (Simon et al., 1993). Выживаемость триплоидной кумжи, выпущенной в возрасте 0+ в природные водоемы Северной Ирландии, составила до возраста 2+ только 39,3% относительно диплоидов (Lincoln, 1996). Эти факты согласуются с данными о более низкой выживаемости триплоидов в начальный период жизни, которые были получены в экспериментах при содержании рыб в искусственных условиях.

К тому же до того момента, когда у диплоидов начинается половое созревание, триплоиды радужной форели растут несколько медленнее, чем их диплоидные ровесники: в возрасте 106 дней после выклева разница в массе по данным Happe et al. (1988) составляла 9%, а в возрасте 20 месяцев по данным других авторов достигала 13% (Quillet et al., 1988a). В другом исследовании (Oliva-Teles, Kaushik, 1990) различие в массе сеголетков между диплоидами и триплоидами было незначимо, но двухлетние диплоиды были все-таки несколько крупнее триплоидов (434,6 и 409,6 гр, соответственно). В ранней работе (Solar et al., 1984) и вовсе сообщалось, что через 40 недель после выклева масса триплоидов составляла 60% от массы диплоидов, а через 48 недель после выклева – 38%. По данным отечественных исследователей, к концу первого лета жизни масса триплоидов радужной форели составляла в среднем 5,2 г, а диплоидов – 7,0 г, то есть различия между ними достигали 26% (Дума, Гарин, 1991).

Согласно экспериментальным данным, триплоиды радужной форели начинают догонять диплоидов по массе только спустя два года. Во всяком случае, в работах, где изучали двухлетних самцов и трехлетних самок (Benfey et al., 1989) и рыб в возрасте 75 недель (Müller-Belecke et al., 2006), различия в скорости роста диплоидов и триплоидов уже не наблюдали.

В отличие от радужной форели, у атлантического лосося ускоренный темп роста триплоидов отмечали уже в пресноводный период жизни (Boeuf et al., 1994; Wilkins et al., 2002; Burke et al., 2010; Fjelldal, Hansen, 2010), или, по крайней мере, темп роста диплоидов и триплоидов в этот период был одинаковым (см. ссылки в работе: Piferrer et al., 2009).

В соленой воде триплоиды атлантического лосося растут обычно не хуже диплоидов, иногда даже обгоняют их, особенно в тот период, когда диплоиды начинают созревать (обзор: Benfey, 2009b). Правда, в аналогичных условиях были отмечены и случаи более медленного роста триплоидов по сравнению с диплоидными рыбами (Boeuf et al., 1994). В то же время, выживаемость триплоидов атлантического лосося в морской воде оказалась ниже, чем у диплоидов, поэтому экономически выгодно их оказалось выращивать только на Тасмании, где диплоидный атлантический лосось часто созревает аномально рано – уже после одной зимовки в море (обзор: Benfey, 2009b).

Иногда у триплоидов обнаруживаются пороки развития, редко встречающиеся у диплоидов. Так, например, в некоторых партиях триплоидной радужной форели и атлантического лосося отмечена повышенная частота аномалий строения позвоночника (обзор: Fraser et al., 2012). Конечно, при детальном исследовании может оказаться, что ряд аномалий связан не с триплоидией, как таковой, а с повреждением некоторых икринок в процессе теплового или гидростатического воздействия на них, а значит, этих аномалий можно избежать при более бережном обращении с икрой. Тем не менее, некоторые специфические пороки развития у триплоидов действительно имеются.

Для атлантического лосося эта проблема стоит значительно острее, чем для радужной форели. Доля рыб с уродствами здесь существенно выше, и особенно часто встречаются рыбы с аномалиями строения нижней челюсти (обзоры: Benfey, 1999; Fraser et al., 2012).

Устойчивость к некоторым инфекционным заболеваниям триплоидов атлантического лосося и радужной форели оказалась ниже, чем у диплоидов или такой же (Ozerov et al., 2010, и ссылки в этой работе). С другой стороны, триплоиды менее чем диплоиды, подвержены раковым заболеваниям, что было показано на примере радужной форели (Thorgaard et al., 1999). Кроме того, у триплоидных рыб лучше регенерируют плавники (Alonso et al., 2000). Физиологические особенности триплоидных рыб, в том числе лососевых, детально рассмотрены в обзорах (Benfey, 1999; Maxime, 2008; Piferrer et al., 2009; Fraser et al., 2012).

В целом же, подводя итог, можно сказать что для триплоидов характерна большая чувствитель-

ность к ухудшению условий выращивания, чем для диплоидов; при совместном выращивании диплоиды могут расти хуже триплоидов.

О молекулярно-генетических методах идентификации полиплоидов будет рассказано в разделе 3.2.2.1.

Триплоидные межвидовые гибриды. Эти рыбы заслуживают особого внимания. Хотя некоторые виды лососевых способны скрещиваться друг с другом, и их потомство жизнеспособно, возможность получения межвидовых триплоидных гибридов открывает перед исследователями и практиками совершенно новые перспективы в этой области. Ведь благодаря триплоидизации генома потомков становится реальностью получение жизнеспособных гибридов лососевых между такими видами, которые в норме не скрещиваются.

При этом некоторые межвидовые триплоидные гибриды обладают ценными хозяйственными признаками. Например, гибридов самок радужной форели и самцов лосося *Oncorhynchus rhodurus* отличают быстрый рост, хорошие вкусовые качества и отсутствие пятен на теле (в тех случаях, когда пятна отсутствуют на теле самок-производителей), а это сочетание особенно нравится потребителям (Hattori, Seko, 1998). Для практического использования считаются перспективными и гибриды между радужной форелью и кумжей (в диплоидном варианте они не доживают даже до выклева).

Интересно, что этих последних удается получить только при использовании самок радужной форели и самцов кумжи, – потомство от обратного скрещивания до выклева не доживает даже в триплоидном варианте (Chevassus et al., 1983; Dobosz, Goryczko, 1988; Quillet et al., 1988a; Scheerer, Thorgaard, 1983; Deng et al., 1992; Gray et al., 1993; Blanc, 2003; Blanc, Maunas, 2005; Аптамонова и др., 2007; Махров и др., 2011б; Akhan et al., 2011). Такую ситуацию можно попытаться объяснить, предположив, что жизнеспособность гибрида, по крайней мере, на ранних стадиях развития, обеспечивают два генома радужной форели. Однако наши наблюдения заставляют предположить, что невозможность получения гибридов между самками кумжи и самцами радужной форели связана, видимо, с рассогласованием взаимодействия между ядерным и митохондриальным геномами, поскольку в норме икринки радужной форели развиваются значительно быстрее, чем икринки кумжи.

Хотя молодь триплоидных гибридов растет медленнее молоди радужной форели как в пресной, так и в соленой воде (Quillet et al., 1987, 1988a; Гарин, Дума, 1990), выращивание таких рыб часто оказывается целесообразным. Во-первых, по скорости роста гибриды все-таки опережают кумжу (Deng et al., 1992; Blanc, Maunas, 2005). Во-вторых, гибриды лучше, чем радужная форель, переносят пересадку в морскую воду и

лучше выживают в тот период, когда у высаженной одновременно с ними радужной форели начинается период созревания (Quillet et al., 1987).

При использовании в качестве материнской формы радужной форели породы «Адлерская янтарная» полученное потомство отличается большим разнообразием окрасок, и такие рыбы могут использоваться в качестве декоративных (Рис. 16) (Махров и др., 2011б). Более того, в качестве побочного продукта при получении межвидовых триплоидных гибридов практически всегда появляются в небольших количествах рыбы ярко-синей окраски (Рис. 17), напоминающие так называемую «кобальтовую» форель, которая иногда, чрезвычайно редко, появляется в

потомстве форели обычной окраски. Эти рыбы лишены анатомически сформированного гипофиза и не способны размножаться (Yada et al., 2000), однако очень красивы и пользуются большой популярностью в качестве декоративных. Генетический статус этих рыб пока не установлен.

А вот черно-желтые особи, которые по внешнему виду являются близким холодноводным аналогом карпа кои (Рис. 16, 17), оказались диплоидно-триплоидными мозаиками, подобно некоторым особям аналогичной окраски одного из дальневосточных лососей – симы (Yamaki et al., 2006).

Подавляющее большинство рыб, появившихся в результате экспериментов по получению межвидовых триплоидных гибридов на базе



Рис. 16. Потомство от скрещивания самки *Parasalmo mykiss* (порода «Адлерская янтарная») и самца *Salmo trutta labrax*. 1 – контроль, *Salmo trutta labrax*, 2–6 – потомство от межродового скрещивания, полученное с применением теплового шока, 7 – контроль, *Parasalmo mykiss* (порода «Адлерская янтарная»). Все рыбы – одного возраста.

ФГУП «Племенной форелеводческий завод «Адлер» были стерильны, однако от нескольких самок, сходных по окраске с особями материнского вида породы «Адлерская янтарная», при их скрещивании с самцами породы «Адлерская янтарная», удалось получить потомство. Интересно, что окраска этих рыб заметно отличалась от родительской: она была розовато-коричневой, с черным узором, как на древесине бука (Рис. 18), за что эта линия, которая впоследствии сохраня-

ла свои особенности при разведении «в себе» и получила рабочее название «буковая форель». По нашим предварительным данным «буковые форели» – это диплоиды, которые большую часть генов унаследовали от радужной форели, но в их геноме могут содержаться отдельные хромосомы или фрагменты хромосом кумжи. Насколько устойчиво наследование той части генома, которую «буковая форель» получила от черноморской кумжи, сказать пока невозможно.



Рис. 17. Рыбы синей окраски регулярно появляются в экспериментах по получению межродовых триплоидных гибридов между радужной форелью и черноморской кумжей. В тех же партиях имеют место диплоидно-триплоидные мозаики с характерной пестрой окраской.



Рис. 18. «Буковая форель». Выведена путем скрещивания самок, полученных при осеменении икры радужной форели породы «Адлерская янтарная» спермой самцов черноморской кумжи с применением теплового шока, с самцами «Адлерской янтарной». По данным предварительного анализа содержит в своем геноме отдельные хромосомы или фрагменты хромосом черноморской кумжи.

Мировой экспорт декоративных рыб к 2005 году достиг уже 190 миллионов долларов, экзотических рыб активно закупают и в России. В то же время, вместе с экспортируемыми рыбами распространяются и опасные болезни (раздел 2.6.3). В этих условиях весьма перспективным представляется выращивание декоративных рыб, в том числе и лососей, полученных путем межвидовой гибридизации с применением теплового шока, на базе отечественных хозяйств, благополучных по инфекционным заболеваниям.

Еще одно достоинство триплоидных гибридов состоит в том, что они оказываются удачным объектом спортивного рыболовства. При выращивании в большом пруду (площадью 1300 м²) или небольших водохранилищах (площадью 10–20 тысяч м²) они продемонстрировали значительно лучшую боевитость (*combativeness*), по сравнению с радужной форелью, а это качество, выражающееся в том, что рыбы активно сопротивляются поимке, привлекает опытных рыболовов (Estournes и Pedebidou, личные сообщения, в: Blanc, Maunas, 2005).

Как уже упоминалось выше, гибрид лосося Кларка и радужной форели пользуется в США большой популярностью у рыболовов-спортсменов. Однако, эта рыба плодовита и во многих водоемах гибридизирует с местными популяциями лосося Кларка. Для предотвращения негативных последствий подобной гибридизации с помощью термошока были получены триплоидные гибриды этих видов (Rohrer, Thorgaard, 1986).

В то же время, справедливости ради, необходимо отметить, что иногда, очень редко, и некоторые триплоидные межвидовые гибриды могут быть плодовиты. В частности, они встречаются среди триплоидных гибридов атлантического лосося и кумжи (обзор: Makhrov, 2008). Безусловно, в подавляющем большинстве случаев такие гибриды продуцируют сперматозоиды или икру с несбалансированным ядерным геномом, и потому потомство от их скрещивания с одним из родительских видов погибает. Однако в опытах было показано, что около 3% икринок одного из родительских видов, оплодотворенных спермой межвидовых триплоидных гибридов-самцов и чуть более 1% икринок, полученных от гибридов-самок и оплодотворенных спермой диплоидных самцов, способны развиваться относительно нормально вплоть до рассасывания желточного мешка. При этом у потомков от такого возвратного скрещивания в геноме были обнаружены некоторые гены как атлантического лосося, так и кумжи, то есть имела место интрогрессия генов одного вида лососевых в геном другого. Безусловно, как сам нерест триплоидных гибридов, так и выживание их потомков в природе, практически невозможны, однако не исключено, что в эксперименте таким путем можно получить формы,

обладающие ценными хозяйственными признаками.

Триплоиды, как внутривидовые, так и межвидовые, интересуют не только хозяйственников, но и экологов. Перспективно, к примеру, использование триплоидии для стерилизации трансгенных рыб, которые в этом случае не смогут размножаться, и, стало быть, генетически загрязнять естественные популяции. Стерильные триплоиды могут использоваться как основа для создания химер с целью восстановления вымерших видов (см. раздел 2.3.2). И хотя полностью стерильны только самки-триплоиды, триплоидные самцы тоже могут найти применение для природоохранных целей. Поскольку внутривидовые триплоидные самцы продуцируют сперматозоиды, иногда способные двигаться, но всегда обладающие несбалансированным геномом, в котором некоторые хромосомы удвоены, полученное от них потомство оказывается нежизнеспособным (обзор: Гомельский, Грунина, 1988). Таким образом, массовые выпуски триплоидных самцов способны подавить популяции соответствующих видов, возникшие в результате непреднамеренной интродукции (Piferret et al., 2009).

Отсюда следует, что триплоидных самок и триплоидных самцов целесообразно использовать для решения разных задач, а это означает, что практическая необходимость требует получения триплоидных особей определенного пола. Поэтому в следующих разделах мы рассмотрим методики, которые позволяют это делать.

2.4.3. Гормональное переопределение пола

При отсутствии стрессовых воздействий среды, пол у лососевых рыб определяется половыми хромосомами (у самки две X хромосомы, у самца – по одной хромосоме X и Y), несмотря на то, что у некоторых видов этого семейства, в частности, у атлантического лосося, половые хромосомы цитологически не выражены (Зелинский, 1985).

Получение потомства, представленного одними самками, возможно в результате гиногенеза (см. раздел 2.4.5). Однако этот способ технически сложен и ведет к гибели значительной доли потомства на ранних стадиях развития.

В то же время, в отличие от высших позвоночных, генетический пол у рыб может не соответствовать фенотипическому, и под воздействием некоторых факторов среды пол может быть переопределен. Это означает, что у рыбы с генотипом XX могут развиваться молоки, а носитель генотипа XY может созреть как самка. Более того, не так уж редко у той же радужной форели встречаются особи-гермафродиты, у которых одна гонада развита как гонада самки, а другая – как гонада самца, а изредка даже часть гонады представляет собой ястык с икрой, а часть – молоку.

В экспериментах наиболее детально был разработан метод переопределения пола на ранних стадиях развития рыб путем гормонального воздействия – микродозы гормонов добавляют в корм личинкам или прямо в воду.

Обычно, из-за высокого спроса на икру, рыбободы заинтересованы в увеличении доли самок в товарном стаде, поэтому для переопределения пола часто применяли женские половые гормоны – эстрогены, что позволяло сдвинуть соотношение полов в пользу самок у радужной форели и атлантического лосося. Оказалось, однако, что применение эстрогенов иногда заметно увеличивало не только долю самок, но и долю гермафродитов (обзор: Devlin, Nagahama, 2002), да к тому же прямое гормональное воздействие на рыб, предназначенных в пищу, крайне нежелательно из-за жестких медицинских норм, предъявляемых к продуктам питания.

Обойти все эти трудности удалось, используя рыб с переопределенным полом не в качестве товара, а в качестве производителей. Переопределяя пол генетических самок с помощью 17 α -метилтестостерона (Quillet, Gaignon, 1990; Quillet et al., 1991; обзор: Devlin, Nagahama, 2002) или тестостерон-пропионата (Метальникова, 1991) – синтетических аналогов мужского полового гормона – удается получать самцов с генотипом XX у атлантического лосося, кумжи и радужной форели. Такие самцы при скрещивании с обычными самками дают потомство, представленное только самками.

При гормональном воздействии аналогов мужских половых гормонов на личинок лососевых соотношение полов всегда смещается в сторону самцов. При этом среди рыб могут появиться гермафродиты, а некоторая часть фенотипических самцов имеет гонады характерной округлой формы, без выводных протоков. Оказалось, что именно особи с необычными гонадами и есть генотипические самки. В потомстве большинства из них самцы отсутствовали (обзор: Devlin, Nagahama, 2002). И хотя качество спермы у самцов с генотипом XX, как было показано для радужной форели, хуже, чем у самцов с генотипом XY (Geffen, Evans, 2000), их использование оказалось экономически оправданным. В некоторых случаях, чтобы избавиться от генотипических самцов, для переопределения пола используют гиногенетических особей (Sheehan et al., 1999).

Для сперматозоидов тех самцов кумжи, которые генетически являются самками, характерна очень плохая подвижность. Чтобы улучшить этот показатель, таким производителям делают инъекции гонадолиберина и гонадостимулина, а также используют активирующие растворы с ионами кальция при оплодотворении икры (Maisse et al., 1995).

Объемы получения производителей с переопределенным полом в мире можно оценить, если

учесть, например, что в Австралии 95% выращиваемого атлантического лосося – это однополые рыбы, самки (Elliott, Kube, 2009).

Использование самцов с генотипом XX в сочетании с шокowymi воздействиями позволяет получать триплоидное стерильное потомство, (представленное только самками) у радужной форели (Lincoln, Scott, 1983; Okada, 1985; Sheehan et al., 1999; Tabata et al., 1999; Johari et al., 2006; Kalbassi, Johari, 2008) и атлантического лосося (Jungalwalla, 1991; Johnston et al., 1999; Benfey, 2001; Sadler et al., 2001; Wilkins et al., 2002; Lijalad, Powell, 2009).

Стерильных самок-триплоидов радужной форели рекомендовано использовать, когда необходимо получить крупных рыб, предназначенных для копчения (Lincoln, Scott, 1984). Эти рыбы отличаются более быстрым ростом, чем диплоидные однополые рыбы (самки) и обычная радужная форель (Sheehan et al., 1999).

Кроме того, как уже отмечено в предыдущем подразделе, эти рыбы не представляют угрозы для генофонда природных популяций и потому их можно выпускать в естественные водоемы, где практикуется спортивное рыболовство, а также использовать для получения химер с целью восстановления исчезающих видов.

Идентификация генетического пола возможна с помощью молекулярно-генетических методов (см. раздел 3.2.3.4.).

2.4.4. Искусственный андрогенез

Андрогенез – процесс, при котором всю ядерную ДНК организм получает от отца (митохондриальная ДНК, в любом случае, достается ему от матери). Факты спонтанного андрогенеза в настоящее время известны (Chourrout et al., 1986), однако такие события нельзя назвать типичными. В большинстве случаев андрогенетических особей получали экспериментально, преимущественно в надежде разработать метод восстановления исчезнувших видов с использованием спермы, хранящейся в криобанках, хотя выход андрогенетиков во всех экспериментах был низким.

Тем не менее, методика искусственного андрогенеза отработана на целом ряде видов рыб, в том числе на радужной форели. Обычно она включает два этапа воздействия на яйцеклетку (таблица 2, Рис. 15).

Первый этап – инактивация ядра неоплодотворенной икринки. Чаще всего этого добиваются воздействием радиоактивного излучения. Для некоторых видов рыб с той же целью используют ультрафиолет, но для икринок диаметром свыше 2 мм он неэффективен, поэтому для лососевых данный метод неприменим (обзор: Komen, Thorgaard, 2007). В то же время, следует отметить, что частичную или полную инактивацию ядра наблюдали у радужной форели и как побоч-

ный результат других, менее специфичных воздействий – например, при перезревании икры (Yamazaki, 1983) или под воздействием теплового шока (Chourgout, Nakayama, 1987; Артамонова и др., 2007).

Оплодотворение икринки, лишенной ядра, спермой тетраплоидных самцов (половые клетки которых содержат два набора хромосом), приводит к появлению диплоидных андрогенетиков без каких-либо дополнительных воздействий на оплодотворенную икринку. Иногда диплоидные сперматозоиды спонтанно образуются и у диплоидных самцов, в частности, такое явление наблюдали у атлантического лосося (см. главу I). Кроме того, диплоидные сперматозоиды можно получить искусственно, предварительно обработав сперму некоторыми веществами, которые приводят к «склеиванию» клеток. Однако этот способ не вполне надежен, так как процесс «склеивания» носит статистический характер, и выход жизнеспособных диплоидных андрогенетиков оказывается в этом случае крайне низким (обзоры: Devlin, Nagahama, 2002; Komen, Thorgaard, 2007).

Поэтому для получения андрогенетиков требуется, как правило, еще один этап воздействия на икринку – с целью удвоить гаплоидный отцовский геном уже после оплодотворения икринок, лишенных ядер. В тот момент, когда гаплоидное ядро, образовавшееся после оплодотворения, претерпевает первое митотическое деление, процесс расхождения хромосом можно подавить, подобно тому, как это делают при получении тетраплоидных рыб – с помощью гидростатического давления или термошока. Например, у радужной форели андрогенетических особей получали под воздействием давления (обзоры: Devlin, Nagahama, 2002; Komen, Thorgaard, 2007).

Следует обратить внимание на то, что половые хромосомы при удвоении отцовского генома при андрогенезе также удваиваются. Поэтому если в икринку проникает сперматозоид несущий X-хромосому – андрогенетическая особь будет самкой с генотипом XX, а если Y-хромосому, то суперсамцом с генотипом YY. Потомство суперсамцов представлено только самцами (обзор: Devlin, Nagahama, 2002). Отметим, что суперсамцы радужной форели могут быть получены также путем самооплодотворения искусственно полученных гермафродитов (Chevassus et al., 1988).

Андрогенетики получены не только у радужной форели, но и у кумжи, однако попытки межвидового андрогенеза у лососевых рыб были безуспешны. В частности, не выжили андрогенетики в экспериментах, где безъядерные икринки кумжи оплодотворяли спермой радужной форели и, наоборот, безъядерные икринки радужной форели оплодотворяли спермой кумжи, с последующим удвоением отцовского генома (Babiak et al., 2002b). Поэтому, хотя андрогенетиков радуж-

ной форели вполне успешно получают с применением замороженной спермы (Babiak et al., 2002a), использовать андрогенез для восстановления вымерших видов лососевых, видимо, не удастся. Тем не менее, восстановление исчезнувших внутривидовых форм с его помощью может оказаться вполне эффективным.

Хотя прямой хозяйственной ценности андрогенетики, по всей видимости, не представляют, андрогенез широко используют в исследовательских целях. С его помощью изучают наследование количественных признаков, строят генетические карты, анализируют влияние митохондриальной ДНК на адаптивно- и хозяйственно-важные признаки, он незаменим при изучении половых хромосом (обзоры: Komen, Thorgaard, 2007; Robinson, Thorgaard, 2012).

Интересно, что объектом изучения в недавно стартовавшем проекте по секвенированию генома атлантического лосося стала андрогенетическая особь – самка, которая получила имя Салли. Такой выбор обусловлен тем, что андрогенетики, полученные путем удвоения гаплоидного генома сперматозоида по определению должны быть гомозиготами по всем локусам, что, безусловно, намного облегчает процедуру секвенирования (Davidson et al., 2010).

2.4.5. Искусственный гиногенез

При гиногенезе потомство получает всю генетическую информацию исключительно от матери. Как и при андрогенезе, в этом случае необходимо разрушение генома одного из родителей и удвоение гаплоидного генома другого, только в случае гиногенеза разрушению подвергается геном сперматозоида (таблица 2, Рис. 15).

Между индуцированным гиногенезом, и гиногенезом рыб, который изредка наблюдается в природе (в том числе у лососевых рыб, раздел 1.3.1.), имеются принципиальные различия (см. Рис. 15). Дело в том, что в случае естественного гиногенеза при формировании половых клеток не происходит первого деления мейоза и сопутствующего ему кроссинговера. Таким образом, при формировании гамет у этих рыб отсутствует именно та стадия, которая отличает мейоз от митоза – расхождение гомологичных хромосом. Не случайно такой гаметогенез называют амейотическим.

В результате после единственного последующего деления гаметы оказываются диплоидными, и каждая из них содержит набор хромосом, полностью идентичный материнскому. Из таких икринок, стимулированных к развитию сперматозоидами, ядра которых, однако, не сливаются с ядрами икринок, а деградируют (и, стало быть, не вносят своего вклада в геном формирующегося организма), развиваются особи, которые являются, по существу, клонами матери.

Понятно, что искусственно повлиять на процессы, происходящие в организме самки при гаметогенезе, гораздо сложнее, чем на процессы, происходящие в икринке, находящейся вне организма матери. Поэтому при искусственном гиногенезе подавляют не первое, а второе деление мейоза, которое имеет место уже после осеменения икры спермой.

Для получения гиногенетиков необходимо, чтобы сперматозоиды активировали икринку к развитию, но не вносили в нее собственный генетический материал. Возможность получения гиногенетиков значительно облегчается благодаря тому, что ядра сперматозоидов могут быть с легкостью разрушены без потери этими половыми клетками активности и проникающей способности. Безъядерные сперматозоиды как раз способны активировать икринку к развитию, но не вносят в нее собственного генетического материала, поэтому для получения гиногенетиков в искусственных условиях, в принципе, можно использовать даже сперму рыб другого вида.

С целью разрушения ДНК сперматозоидов радужной форели, атлантического лосося и кумжи с успехом использовали гамма-излучение, а для первых двух видов – еще и ультрафиолетовое излучение (Oppermann, 1913; Vassileva-Dryanovska, Belcheva, 1965; Chourrout, 1980; Refstie, 1983; Onozato, 1984; Purdom et al., 1985; Guyomard, 1986; Kaastrup, Horlyck, 1987; Wunner et al., 1990; Quillet et al., 1991; Johnstone, Stet, 1995; Palti et al., 1997; обзор: Komen, Thorgaard, 2007). Ядра сперматозоидов радужной форели удавалось разрушить и при обработке спермы диметилсульфатом (Цой, 1969; Chourrout, 1986a). Подчеркнем, что диметилсульфат (ДМС) – опасный яд и канцероген, не следует путать его с диметилсульфоксидом (ДМСО), который входит в некоторые смеси для криоконсервации клеток (Химическая ..., 1990).

После активации икринки безъядерным сперматозоидом в ней начинается последнее деление мейоза, которое приводит к гаплоидизации генома. Гаплоидные особи нежизнеспособны, поэтому для получения гиногенетиков необходимо либо подавить второе (эквационное) деление мейоза, как при получении триплоидных особей (мейотический, или гетерозиготный, гиногенез), либо удвоить уже редуцировавшийся гаплоидный геном, подавив первое деления митоза – как при получении тетраплоидных особей (митотический, или гомозиготный, гиногенез) (см. Рис. 15).

Как известно, первое деление мейоза принципиально отличается от митотического. На этом этапе расходятся не хроматиды, генетически абсолютно идентичные друг другу, а гомологичные хромосомы, полученные организмом, продуцирующим половые клетки, от отца и матери, которые могут содержать разные аллели генов. Таким образом, если бы не было кроссинговера, в результате этого деления должны были бы образоваться два

различных, но абсолютно гомозиготных диплоидных генома, и особи, развивающиеся из икринок, в которых второе деление мейоза подавлено, были бы гомозиготами по всем локусам.

Однако ввиду того, что первое деление мейоза сопровождается кроссинговером, при котором хроматиды отцовских и материнских хромосом обмениваются отдельными участками, особи, появившиеся в результате мейотического гиногенеза, все же могут быть гетерозиготами по некоторым генам. Тем не менее, мейотический гиногенез ведет к значительному снижению гетерозиготности и может использоваться для получения высокогомозиготных линий (Черфас, Цой, 1984).

Для подавления второго деления мейоза у радужной форели, атлантического лосося и кумжи использовали гидростатическое давление (Onozato, 1984; Johnstone, Stet, 1995; Palti et al., 1997) и термошок (Chourrout, 1980, 1982, 1986a,b; Chourrout, Quillet, 1982; Refstie, 1983; Thorgaard et al., 1983, 1985; Guyomard, 1984, 1986; Thompson, Scott, 1984; Purdom et al., 1985; Kaastrup, Horlyck, 1987; Dorson et al., 1995; Leary et al., 1985; Purdom et al., 1985; Quillet et al., 1988, 1991, 2002; Quillet, Gaignon, 1990; Wunner et al., 1990; Klupp, 1991; Palti et al., 1997; Krisfalusi et al., 2000). Эти же способы применяли для подавления первого деления митоза у атлантического лосося (Johnstone, Stet, 1995) и радужной форели (обзор: Komen, Thorgaard, 2007). Различие заключалось только в том, что воздействие на икру осуществляли через разные промежутки времени после ее активации безъядерными сперматозоидами.

При митотическом гиногенезе выживаемость эмбрионов низка, что объясняется, по всей видимости, переходом некоторых условно-летальных мутаций в гомозиготное состояние – ведь при митотическом гиногенезе теоретически должны получаться только гомозиготные особи. В то же время, по не совсем понятным причинам (возможно, из-за спонтанного подавления второго деления мейоза) среди особей, полученных таким образом, изредка встречаются гетерозиготы (Purdom et al., 1985; обзор: Komen, Thorgaard, 2007).

В работе французских исследователей (Dorson et al., 1995) мейотический гиногенез использовали при изучении наследования устойчивости радужной форели к вирусной геморрагической септицемии. В последние годы во Франции получены клональные линии радужной форели: сначала был проведен митотический гиногенез, в следующем поколении – мейотический гиногенез. Часть потомства на этой стадии с помощью гормональной обработки сделали самцами и использовали впоследствии для разведения клональной линии «в себе». Такие линии сыграли ключевую роль при оценке наследования устойчивости форели к рабдовирусам и особенностей использования пищи (Quillet et al., 2007; Grima et al., 2008; Dupond-Nivet et al., 2009).

А при изучении сцепления микросателлитных локусов атлантического лосося успешно применяли гаплоидный гиногенез, при котором удвоение материнского генома не индуцируют. Эмбрионы в этом случае до выклева не доживают, но зато исследователи получают из них однородный материал в количествах, достаточных для анализа (Slettan et al., 1997).

Кроме того, при гиногенезе достаточно часто происходят артефактные события, крайне интересные с исследовательской точки зрения. Так, при неполном разрушении ядер сперматозоидов отдельные хромосомы или фрагменты хромосом, полученных от самца, могут попадать в геном потомков. При этом в некоторых случаях они могут закрепляться в их геноме и передаваться следующим поколениям. Таким путем может осуществляться перенос генов даже между представителями разных родов лососевых, если для активации икры была использована облученная сперма рыб другого вида. В частности, в эксперименте показан перенос генов от *Salvelinus fontinalis* к радужной форели (Thorgaard et al., 1985; Disney et al., 1987; Peek et al., 1997).

Подобные случаи, которые носят во многом случайный характер и трудно воспроизводимы в эксперименте, занимают промежуточное положение между хромосомной и генетической инженерией, однако они могут иметь существенное значение для практики. Как уже было упомянуто выше в связи с получением межвидовых гибридов с использованием теплового шока, на базе ФГУП «Племенной форелеводческий завод «Адлер»» таким путем была получена рыба необычной окраски с рабочим названием «буковая форель». По ряду исследованных нами генетических локусов самки-родоначальники этой линии, полученные в результате осеменения икры радужной форели спермой черноморской кумжи с последующим термошоком, проявили себя как гиногенетики (видимо, ядра некоторых сперматозоидов в результате термошока оказались разрушены или существенно повреждены). Однако их потомство, полученное путем скрещивания таких самок с самцами радужной форели, отличалось от исходной формы как по окраске, так и по поведенческим особенностям (Махров и др., 2011б; рис. 18).

2.5. Генетическая инженерия

2.5.1. Генно-инженерно модифицированные организмы

Согласно Федеральному закону РФ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» под генетической инженерией понимают «совокупность методов и технологий, в том числе технологий получения рекомбинантных рибонуклеиновых и дезоксирибонуклеиновых кислот, по выделению генов из организма, осуществлению манипуляций с генами и введению их в другие организмы» (Федеральный закон ..., 2000).

В результате искусственного закрепления генов одного организма в геноме другого (такие гены называют трансгенами) появляются трансгенные организмы. В то же время, следует отметить, что генетическая инженерия располагает методами, которые позволяют не только переносить гены из одного генома в другой, но также изменять уже существующие или даже создавать искусственные гены. Таким образом, хотя трансгенные организмы и являются в настоящее время широко распространенными представителями генно-инженерно модифицированных организмов (ГМО), это далеко не единственные их представители (Devlin et al., 2007).

Федеральное законодательство России дает следующее определение ГМО: «Генно-инженерно модифицированный организм – организм или несколько организмов, любое неклеточное, одноклеточное или многоклеточное образование, спо-

собные к воспроизводству или передаче наследственного генетического материала, отличные от природных организмов, полученные с применением методов генной инженерии и содержащие генно-инженерный материал, в том числе гены, их фрагменты или комбинации генов» (Федеральный закон ..., 2000).

Определения генетической инженерии и генно-инженерно модифицированного организма взяты нами из юридического документа, а не из научного издания вполне сознательно. Во-первых, точное юридическое определение необходимо для правильной организации мероприятий по обеспечению биобезопасности на уровне, предусмотренном законом. Во-вторых, ученые, в отличие от юристов, несмотря на длительную историю вопроса, до сих пор не пришли к единому мнению о том, что именно следует понимать под термином «генно-инженерно модифицированный организм» («genetically modified organism») (Colombo, 2007).

Во избежание недоразумений надо специально отметить, что полиплоиды, рассмотренные нами в предыдущем разделе, не подпадают под определение генно-инженерно модифицированных организмов, отраженное в российском законодательстве. Наши европейские соседи также специально отметили это в своем законе (Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001).

История генетической инженерии начинается с 1970-х годов (Щелкунов, 2004; Nicholl, 2008).

Первыми генно-инженерно модифицированными организмами были бактерии. В настоящее время генетически измененные бактерии и дрожжи производят лекарственные препараты, вакцины, ферменты для пищевой промышленности и многие другие полезные вещества – их использование в ряде областей давно стало рутинной.

В сельском хозяйстве наиболее благодатным объектом для генетической инженерии оказались растения, поскольку их достаточно легко вырастить даже из одной-единственной генетически модифицированной клетки. Генетическая модификация растений была направлена, в основном, на повышение урожайности и устойчивости к вредителям. В 1996 году такие растения впервые поступили в продажу, а уже в 2004 году ими было засажено 4 % пахотных земель мира (Харченко, Глазко, 2006).

Первая публикация о трансгенном животном (мыши) относится к 1982 году, а в 1985 впервые появилось сообщение о генетически модифицированной рыбе (Ye et al., 2015). К настоящему времени уже около 30 видов рыб стали объектами генетической инженерии (обзоры: Beardmore, Porter, 2003; Исаева, Морозов-Леонов, 2007; Rasmussen, Morrissey, 2007; Микодина, 2008). Особое внимание исследователи уделяли лососевым.

2.5.2. Трансгенные благородные лососи

Среди благородных лососей главным объектом экспериментов по трансгенезу была радужная форель, причем в ряде таких работ принимали участие отечественные специалисты (Основные ..., 1995). И хотя, как видно из таблицы 4, многие работы выполняли с чисто исследовательскими целями, попытки включения в геном радужной форели генов, кодирующих гормон роста различных объектов, имели непосредственную практическую направленность. Не все эти опыты привели к успеху. Более того, даже в тех случаях, когда рыб с заранее заданными изменениями в геноме все-таки удавалось получить, их польза для практики оказывалась порой неоднозначной.

Например, когда ген, кодирующий гормон роста, ввели в геном дикой радужной форели, исследователи наблюдали значительное увеличение темпа роста рыб. Однако в аналогичном опыте с одомашненной радужной форелью, ранее подвергнутой интенсивной селекции, темп роста рыб не изменился. Это означает, по всей видимости, что “резервы роста” радужной форели за десятилетия отбора по этому признаку были исчерпаны (Devlin et al., 2001), и получение трансгенной радужной форели с дополнительным геном гормона роста для целей аквакультуры не целесообразно.

Таким образом, проведенные исследования убедительно доказывают, что одного и того же

эффекта можно добиться как путем введения в геном рыб подходящих генов, так и путем отбора производителей по хозяйственно-важным признакам. Конечный результат оказывается сходным, но получение трансгенных организмов при нынешнем состоянии науки позволяет достичь нужного результата намного быстрее и с меньшими затратами. Ведь если трансгенную рыбу порой можно получить и полностью протестировать за одно – два поколения, то разведение и селекцию радужной форели, которая привела в итоге к исключительно высоким темпам ее роста, практикуют уже около 100 лет.

В свете сказанного, совсем не удивительно, что трансгенный атлантический лосось (вид, относительно недавно введенный в аквакультуру) продемонстрировал гораздо лучшие хозяйственные показатели по сравнению с трансгенной радужной форелью (Таблица 5). Это отражено в результатах работ группы канадских специалистов, которые работали над получением и тестированием двух линий трансгенного атлантического лосося в течение двадцати лет.

Одна из линий была носителем гена, кодирующего гормон роста, который был получен из генома другого представителя семейства лососевых – чавычи. В этом случае удалось добиться не только устойчивого наследования гена, но и повышения темпа роста трансгенных рыб: они росли в 4–6 раз быстрее обычных лососей и достигли товарной массы (3–4 кг) на год раньше (Fletcher et al., 2002; Yaskowiak et al., 2006).

Для сравнения отметим, что традиционная селекция атлантического лосося, в широких масштабах проводимая в Норвегии, позволяла добиваться ускорения темпа роста рыб каждого нового поколения на 10–15 % (Gjedrem, 2000). Таким образом, генетическая инженерия оказалась в десятки раз эффективнее, чем искусственный отбор, и, несомненно, значительно дешевле.

В то же время необходимо отметить, что наши знания о генах, их регуляции, взаимодействии белков, кодируемых ими, с другими макромолекулами клетки, далеко не полны. Это не позволяет исследователям заранее надежно прогнозировать свойства получаемых ими трансгенных организмов. Так, уже упомянутая группа канадских исследователей долгие годы работала над включением в геном атлантического лосося гена, кодирующего белок-антифриз холодоустойчивой рыбы – зимней (американской) камбалы. Однако, несмотря на то, что исследователям удалось добиться устойчивого наследования этого гена, уровень его экспрессии был очень низок, и белков, поступающих в кровь, было явно недостаточно, чтобы повысить холодоустойчивость атлантического лосося (Fletcher et al., 2002).

Трансгенный холодоустойчивый лосось мог бы значительно расширить возможности для выращивания этой рыбы в северных странах, в том

Таблица 4. Обзор экспериментальных работ по получению трансгенной радужной форели (по: Thorgaard et al., 2002, с изменениями)

<i>Область исследований</i>	<i>Трансген</i>	<i>Влияние на фенотип</i>	<i>Литературные источники*</i>
<i>Гормональный контроль роста</i>	гормон роста человека или коровы	нет	(Chourrout et al., 1986; Tewari et al., 1992)
	гормон роста человека, коровы или крысы	нет	(Guyomard et al., 1989; Rokkones et al., 1989; Penman et al., 1990; Chourrout and Perrot, 1992)
	гормон роста крысы	не указано	(Maclean et al., 1987; Penman et al., 1991; Maclean et al., 1992)
	гормон роста форели	ускорение роста	(Inoue et al., 1993)
	гормон роста чавычи	ускорение роста	(Devlin et al., 1995)
	гормон роста атлантического лосося	нет	(Pitkaenen et al., 1999)
	гормон роста нерки	ускорение роста некоторых линий	(Devlin et al., 2001)
<i>Изменение физиологии и метаболизма</i>	α -глобин карпа	нет	(Yoshizaki et al., 1991)
	гулонолактонооксидаза	нет	(Krasnov et al., 1999)
	глюкозотранспортер I человека и гексокиназа II крысы	Экспрессия гена, изменение метаболизма	(Krasnov et al., 1999; Pitkanen et al., 1999)
<i>Иммунитет</i>	Репортерный ген	Лимфоцит-специфическая экспрессия	(Michard-Vanhee et al., 1994)
<i>Контроль размножения</i>	Антисмысловая последовательность к гонадотропин-рилизинг гормону	замедленное созревание	(Uzbekova et al., 2000)
<i>Биология развития</i>	Ген зеленого флуоресцентного белка (происхождение гена не указано)	Специфическая экспрессия в половых клетках	(Yoshizaki et al., 2000)
<i>Анализ промоторов</i>	Репортерный ген	Анализ экспрессии репортерного гена	(Amoros et al., 1998)
	Репортерный ген	экспрессия репортерного гена	(Gibbs et al., 1988)
	Репортерный ген	экспрессия	(Iyengar and Maclean, 1995)
	Ген зеленого флуоресцентного белка (происхождение гена не указано)	экспрессия белка	(Takeuchi et al., 1999)
	Репортерный ген	экспрессия репортерного гена	(Inoue, 1991; Tewari et al., 1992; Yoshizaki et al., 1992; Michard-Vanhee et al., 1994)

* Ссылки на оригинальные публикации в списке литературы не приведены

числе, и в России, где, как уже упоминалось, условия очень суровы и почти нет незамерзающих морских фьордов. Но поскольку объемы выращивания этой рыбы у нас в стране невелики, Россия не получит большой экономической выгоды, перейдя на выращивание быстрорастущего трансгенного лосося, даже если такая практика станет общепринятой в других странах. Наоборот, может оказаться, что России будет выгоднее продавать за высокую цену ставшего редким обычного лосося.

В настоящее время трансгенных животных используют для производства медицинских препаратов и тканей для трансплантации, но до самого последнего времени ни одно такое животное не стало (по крайней мере, легально) пищей для людей (обзор: Forabosco et al., 2013). Разумеется, компании, затратившие огромные суммы на получение таких животных, предпринимают огромные усилия, чтобы вывести мясо трансгенных животных на рынок пищевых продуктов.

Таблица 5. Обзор экспериментальных работ по получению трансгенного атлантического лосося (по: Devlin et al., 1997).

<i>Трансген</i>	<i>Влияние на фенотип</i>	<i>Литературные источники*</i>
Антифризный белок камбалы	не указано	(Fletcher et al., 1988)
Ген, кодирующий бета-галактозидазу <i>E. coli</i>	не указано	(McEvoy et al., 1988)
Ген гормона роста человека	не указано	(Rokkones et al., 1989)
Ген гормона роста атлантического лосося	+	(Lorens et al., 1990)
Антифризный белок камбалы	не указано	(Davies et al., 1990; Shears et al., 1991)
Ген гормона роста чавычи	ускорение роста в 3-5 раз	(Du et al., 1992)
Ген гормона роста нерки	Ускорение роста примерно в 5 раз	(Devlin et al., unpubl.)

* Ссылки на оригинальные публикации в списке литературы не приведены

В частности, компания AquaBounty с 1989 энергично добивалась разрешения торговать созданным ей трансгенным атлантическим лососем (в него был введен ген гормона роста чавычи) в США (Van Eenennaam, Muir, 2011; Махмен, 2012). Эти усилия привели к тому, что 19 ноября 2015 года такое разрешение было получено (<http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/GeneticEngineering/GeneticallyEngineeredAnimals/ucm280853.htm>).

В настоящее время использование генно-инженерно модифицированных организмов в России регулируется «Правилами государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов, предназначенных для выпуска в окружающую среду, а также продукции, полученной с применением таких организмов или содержащей такие организмы», утвержденными Постановлением Правительства РФ от 23 сентября 2013 г. № 839. Процедура государственной регистрации включает проведение экспертизы для подтверждения биологической безопасности модифицированного организма (Беляков и др., 2010).

Вопросы, связанные с предотвращением попадания трансгенных рыб в естественные экосистемы рассматриваются нами в разделе 2.6.4, а методические аспекты идентификации трансгенов – в разделе 3.2.1.2.

Следует особо подчеркнуть, что, несмотря на общественное мнение, отрицательно настроенное по отношению к трансгенным организмам, никаких экспериментальных доказательств их негативного влияния на здоровье людей нет. Существует лишь вероятность того, что ГМО могут нести аллергены, да и то не в большей степени, чем обычные компоненты пищи (Genetically modified ..., 2002). В то же время, исследованию влияния ГМО (в том числе, опосредованного) на самые разные системы организма уделяется очень мно-

го внимания. В частности, ряд работ посвящен исследованию состояния рыб, питающихся кормом, содержащим трансгенные растения.

2.5.3. Трансгенные организмы в кормах для рыб

Выращивание высокопродуктивных трансгенных растений, устойчивых к болезням, экономически очень выгодно. Посевные площади, занятые под трансгенные культуры постоянно растут, и такая продукция находит все более широкое применение. В частности, трансгенная соя обнаружена в шести из 12-ти тестируемых кормов для рыб, продаваемых в России – как отечественных, так и импортных (Микодина, Ганжа, 2008). Данных о воздействии этих кормов на рыб пока немного, однако, имеющиеся в настоящее время сведения, в основном, не подтверждают негативного влияния таких кормов на объекты аквакультуры.

Отметим, что оценить влияние кормов, содержащих трансгены, на здоровье рыб не так-то просто. Так, например, сравнение по ряду физиологических показателей атлантических лососей, питавшихся кормами, содержащими генетически модифицированную и обычную сою, показало, что эти группы рыб различаются между собой только величиной селезенки. Однако размер селезенки у рыб, питавшихся кормами, содержащими трансгенную сою, оказался точно таким же, как у рыб, питавшихся кормами из рыбьего мяса (Hemre et al., 2005). Это означает, что от нормы отклонялся размер селезенки как раз тех рыб, в кормовом рационе которых присутствовала обычная, а не трансгенная соя, и если бы экспериментаторы не сравнили обе экспериментальные группы с рыбами, питавшимися кормами из рыбьего мяса, выводы, сделанные из данного эксперимента, могли бы быть прямо противоположными.

Питание кормом, содержащим генетически модифицированную сою, не влияло на скорость роста радужной форели (Chainark et al., 2006), а также на скорость роста и физиологические характеристики молоди атлантического лосося в ходе смолтификации (Sissener et al., 2009). Правда, в последнем случае у рыб, питавшихся генетически модифицированной соей, уровень триацилглицерола в плазме крови оказался выше, а средняя часть кишечника короче, чем в контроле. Однако, проанализировав собственные и ранее опубликованные данные, авторы работы пришли к выводу, что различия в физиологическом состоянии рыб экспериментальной и контрольной групп связаны не с генетической модификацией сои, входящей в состав корма, а с другими различиями между линиями сои (Sissener et al., 2009).

Небольшие отличия от контроля наблюдались в физиологическом состоянии атлантического лосося, выращиваемого на кормах, содержащих генетически модифицированную кукурузу (Sagstad et al., 2007). Было показано, что темп роста рыб, питающихся такими кормами, несколько замедляется. Однако состояние лососей обеих групп (экспериментальной и контрольной) было хорошим, а наблюдаемые различия находились в пределах физиологической нормы (Hemre et al., 2007). Обнаружено увеличение синтеза одного из десяти изученных белков у рыб из экспериментальной группы (Frøystad-Saugen et al., 2009).

Различий в питательной ценности кормов для радужной форели, содержащих обычный рапс и рапс, несущий ген устойчивости к гербициду глифосату, не выявлено. Не обнаружено также различий в физиологическом состоянии рыб, питавшихся этими двумя видами кормов (Brown et al., 2003).

Известно, что ДНК пищевых объектов расщепляется в пищеварительном тракте рыб. Тем не менее, достаточно большие фрагменты чужеродной ДНК иногда попадают в их организм. Так, при кормлении радужной форели трансгенной соей в мышцах некоторых рыб был обнаружен фрагмент ДНК длиной 220 пар оснований, содержащий промотор, входящий в состав трансгенной сои (Chainark et al., 2006). У атлантического лосося самый крупный из обнаруженных в печени и почках фрагментов чужеродной ДНК состоял из 282 пар оснований (Nielsen et al., 2005). В этом последнем опыте рыбам специально добавляли в корма амплифицированные фрагменты ДНК в значительных количествах, однако даже в этом случае они были обнаружены вне пищеварительного тракта далеко не у всех изученных рыб; вероятность их обнаружения зависела от количества этих фрагментов в пище.

В другой работе (Sanden et al., 2004), где атлантических лососей кормили пищей с добавлением трансгенной сои, чужеродной ДНК в печени, мышцах и мозге рыб выявить не удалось.

Отметим, что чужеродная ДНК не выявлялась в мышцах радужной форели уже через пять дней после прекращения кормления рыб кормами, содержащими фрагменты чужеродной ДНК (Chainark et al., 2006), то есть, как и следовало ожидать, эти фрагменты не включались в геном рыб.

2.5.4. Генно-инженерные вакцины в лососеводстве и форелеводстве

Традиционные вакцины получают либо на основе инактивированных возбудителей заболевания, либо на основе живых, но ослабленных возбудителей. Попадая в организм, они вызывают образование антител к инфекционному агенту, и впоследствии, в случае заражения, эти антитела быстро нейтрализуют настоящего возбудителя. В то же время, давно известно, что для стимуляции образования антител достаточно ввести в организм лишь отдельные биологические макромолекулы, характерные для болезнетворной бактерии или вируса – например, один из белков или фрагмент ДНК, кодирующий специфический белок.

Сделать это позволяют генно-инженерные вакцины (ДНК-вакцины), которые широко используют, в том числе, в медицине. Такая вакцина представляет собой ген или фрагмент гена возбудителя, который кодирует белок, вызывающий специфический иммунный ответ. Этот фрагмент ДНК встроен в специальную конструкцию (вектор), обеспечивающую его экспрессию в организме хозяина. Появление в организме чужеродного белка стимулирует образование антител (обзор: Щелкунов, 2001).

В настоящее время генно-инженерные вакцины начинают использовать для борьбы с возбудителями опасных болезней лососевых рыб – рабдовирусами, вызывающих инфекционный некроз гемопоэтической ткани (IHN – infectious hematopoietic necrosis) и вирусную геморрагическую септицемию (VHS – viral haemorrhagic septicaemia). Обе вакцины успешно испытаны на радужной форели (обзор: Щелкунов, 2001). Для атлантического лосося разработана и опробована ДНК-вакцина против вируса инфекционного некроза поджелудочной железы (IPNV – infectious pancreatic necrosis virus). Некоторые ДНК-вакцины уже успешно используют в зарубежных хозяйствах (обзор: Lorenzen, LaPatra, 2005).

2.5.5. Трансплантация митохондрий как метод генетической инженерии

Яйцеклетки позвоночных с внутренним оплодотворением хорошо различимы, как правило, лишь под микроскопом, и потому манипуляции с ними затруднены. Но хотя трансплантация ядер, митохондрий или введение в клетки трансгенов требуют виртуозной техники, подобные приемы отработаны в настоящее время настолько хорошо, что позволяют вводить митохондрии донора

даже в яйцеклетки человека, с целью компенсировать мутации в митохондриальной ДНК матери. Первые сообщения о рождении генетически модифицированных детей, появившихся на свет благодаря применению такого приема, относятся к 2001 году (Barritt et al., 2001).

Икринки большинства рыб, и лососевых в особенности, имеют достаточно большой диаметр (в среднем 3–6 мм), а потому перенос ооплазмы, содержащей митохондрии, из одной икринки в другую не составляет труда и при необходимости может применяться массово. Метод переноса митохондрий в икринки рыб разработан уже давно (Абрамова и др., 1979), но на лососевых до сих пор не использовался.

Между тем, этот метод неожиданно оказался очень востребован в связи с тем, что недавно была

показана различная устойчивость носителей разных гаплотипов митохондриальной ДНК атлантического лосося к опасному паразиту *Gyrodactylus salaris* (Артамонова и др., 2008), который широко распространился в реках Норвегии и уже подорвал популяции атлантического лосося в 45 реках (см. следующий раздел).

В связи с этим, нами (Артамонова и др., 2010) предложено вводить митохондрии с устойчивыми гаплотипами в икринки атлантического лосося селективируемых линий. При этом особи с гетероплазмией должны приобрести устойчивость к заражению *G. salaris*, и в то же время сохранить набор хозяйственно-важных признаков, характерных для родителей, поскольку за эти признаки отвечают, как правило, не митохондриальные, а ядерные гены.

2.6. Влияние аквакультуры на природные популяции

2.6.1. Факторы влияния рыбоводства на природные экосистемы

Изучать изменения, происходящие в любой природной системе, сложно само по себе; еще сложнее доказать связь наблюдаемых изменений с каким-то конкретным фактором. Тем не менее, недавно появилась работа (Ford, Myers, 2008), где сравнивали выживание или численность рыб в природных популяциях лососевых из регионов, где практикуют садковое выращивание, и соседних районов, где садковых хозяйств нет. Оказалось, что в районах садкового выращивания оба показателя снижались, часто более чем на 50%.

Анализ обзорных работ по взаимоотношению диких и искусственно выращенных лососевых (Heggberget et al., 1993; Jonsson, 1997; Gross, 1998; Youngson, Verspoor, 1998; Einum, Fleming, 2001; Fleming, Petersson, 2001; Weber, Fausch, 2003; Bentsen, Thodesen, 2005; Naylor et al., 2005; Weir, Grant, 2005; Jonsson, Jonsson, 2006; Hindar, Fleming, 2007; Naish et al., 2008; Kostow, 2009) позволяет выделить четыре основных фактора влияния садкового рыбоводства на природные популяции. Это загрязнение среды, конкуренция искусственно выращенных лососей с дикими, распространение заболеваний и, наконец, генетическое взаимодействие между объектами аквакультуры и аборигенными видами.

К сожалению, мы не имеем возможности рассмотреть подробно первые два фактора в монографии, посвященной, генетическим проблемам лососеводства и форелеводства, однако два последних имеют к этой теме самое непосредственное отношение. Мы постараемся оценить, какое влияние оказывают заводские рыбы, попавшие в природную среду, на генофонд природных популяций лососевых, а также проанализируем генетические изменения в природных популяциях

лососей, связанные с отбором на устойчивость к патогенным организмам, проникающим в водоемы вместе с объектами аквакультуры.

Эти проблемы очень актуальны – ежегодно только из садков, установленных у побережья Норвегии, уходит огромное количество лососей. Например, в 2006 году число беглых рыб оценили в 920 000 экземпляров (www.ssb.no). При этом специальные опыты показали, что оказываясь в море, лососи, покинувшие садки, мигрируют вдоль всего побережья Норвегии, заходя в реки, попадающиеся на их пути. При этом одна из 208 выпущенных в море меченых рыб, вновь попавших в руки исследователей, была поймана на Кольском полуострове, в российской реке Туломе (Hansen, 2006). А генетический анализ продемонстрировал, что ежегодно в реке Тэна (Teno/Tana, северная Норвегия) 0,25 % лососей были представлены беглецами из садков (Vaha, 2007).

Кроме того, часто рыб, выращенных искусственно, специально выпускают в природные воды – с целью акклиматизации чужеродных видов, при пастбищном выращивании, для спортивного рыболовства, для того, чтобы поддержать вымирающие природные популяции. И только в последнем случае, да и то при условии, что производителей для искусственного воспроизводства отлавливают в той же реке, а при разведении удается избежать неконтролируемых генетических процессов, выпуск искусственно выращенных рыб приносит реальную пользу природным популяциям лососевых.

2.6.2. Изменение генетической структуры природных популяций в результате гибридизации диких рыб с объектами аквакультуры

Как упоминалось выше, для товарного выращивания используют преимущественно рыб, ко-

торые прошли длительную селекцию. Такие рыбы хорошо растут на искусственных кормах, выдерживают посадку с высокими плотностями, да и в целом имеют совсем другой набор адаптивно-важных генетических признаков по сравнению с благородными лососями из природных популяций. Отсюда следует, что распространение вариантов генов, характерных для товарных лососей, в природных популяциях крайне нежелательно (Ferguson, 2007).

Между тем, как показали молекулярно-генетические исследования разных видов благородных лососей (методика таких исследований рассмотрена в разделе 3.2.4.), во многих реках генетическая структура популяций изменяется в результате гибридизации диких рыб с беглыми товарными лососями, даже вопреки тому, что существует ряд факторов, препятствующих разрушению системы сбалансированного полиморфизма в популяциях.

К числу этих факторов относится то, что в естественных условиях чужеродные лососи оставляют существенно меньше потомства по сравнению с дикими (Skaala et al., 2006; Пономарева, 2007; Vaha, 2007; Finnegan, Stevens, 2008; см. также ссылки в работах: Bentsen, Thodesen, 2005; Артамонова, 2007б; Ferguson, 2007; Naish et al., 2008). Конечно, плохая выживаемость в природе и низкий репродуктивный успех могут быть связаны не только генетическими, но и с физиологическими особенностями рыб, выращиваемых в искусственных условиях. Однако, генетическая компонента здесь тоже, несомненно, присутствует. Ведь, как показали данные мечения, любые рыбы, выращенные на заводах, лучше выживают именно в той реке, откуда происходят их родители. В реках, к которым рыбы оказываются генетически неприспособленными, их выживаемость обычно падает (см. раздел 2.1).

В целом можно сделать заключение, что обычно (хотя и не во всех случаях) рыбы, выращенные в искусственных условиях сравнительно хуже адаптированы к природной среде обитания (ссылки см.: Hindar et al., 2006; Araki et al., 2008). Более того, не только чужеродные рыбы, но и их потомки, как правило, не могут конкурировать на равных с рыбами тех природных популяций, в которых они оказываются. Например, для гибридов от скрещивания атлантических лососей жилых и проходных популяций характерна повышенная смертность (Sutterlin et al., 1987), а гибридизация особей из разных анадромных популяций приводит к нарушению ориентации в море у потомков (Kallio-Nyberg, Koljonen, 1999) и, как следствие, снижению возврата в реку после морского нагула (Bailey, Saunders, 1984). Есть данные о том, что при возвратном скрещивании особей, полученных ранее гибридизацией производителей из разных популяций, с рыбами одной из родительских популяций, выживаемость потомков снижается (Cauwelier et al., 2006).

Тем не менее, существуют факторы, которые, способствуют проникновению чужеродных генов в природные популяции рыб. Так, лососи, разводимые искусственно, частично утрачивают характерные особенности полового поведения, свойственные диким особям. В результате рыбы, вселенные в реку, где обитают дикие популяции лососевых, скрещиваются не только с представителями своего вида, но и с другими, близкородственными лососями. Это распространяется не только на вселенцев из иных популяций, но и на потомков местных рыб, если они были получены и выращены в искусственных условиях. Например, при выпусках в реки одомашненной радужной форели отмечена ее широкомасштабная гибридизация с лососем Кларка (обзор: Taylor, 2004), а выращенные искусственно представители этих двух видов скрещивались в природной среде с редким эндемиком *P. apache* (Carmichael et al., 1993). Заводская кумжа гибридизовалась с представителями эндемичных видов рода *Salmo*, а вселяемый атлантический лосось – с кумжей (обзор: Makhrov, 2008). В последнем случае было показано, что гибридизация может вести к интродукции генов, которую удается выявлять даже спустя годы после прекращения вселения чужеродных рыб (Castillo et al., 2008).

2.6.3. Распространение патогенных организмов и их влияние на генетическую структуру природных популяций благородных лососей

Распространение патогенных организмов на территории России и приграничных европейских стран. В разделе, посвященном экологии лососевых (глава I), мы упоминали о возможности заражения диких рыб инфекционными заболеваниями, которые распространяют акклиматизанты. Лососи, выращиваемые в садках, также могут быть источником опасных заболеваний. В частности, вместе с радужной форелью распространяются паразитарные заболевания – диплостомоз и триэнофороз, быстро «приживающиеся» в природе (Румянцев, 2007).

Высокая концентрация товарных рыб на ограниченном пространстве способствует вспышкам вирусных, бактериальных и паразитарных заболеваний, а борьба с ними затруднена. В то же время, к сожалению, «ни внутри нашей страны, ни на международном уровне не ведется обобщения и учета эпизоотической обстановки по болезням рыб. что может привести, а в некоторых регионах уже привело, не только к экономическим потерям на самих предприятиях, но и к расширению ареала патогенов и/или их адаптации к не типичным хозяевам, за счет массовой бесконтрольной перевозки рыбопосадочного материала как внутри страны, так и из-за рубежа» (Рудакова, 2011). Более того - российские специали-

ты-ихтиопатологи практически не контролируют частные товарные хозяйства

Но и за рубежом ситуация весьма тревожна: в Норвегии число погибших товарных рыб увеличивается ежегодно, и в 2014 году эта цифра достигла трудно представимой величины – 39 277 000 атлантических лососей! (Directorate of Fisheries, www.fiskeridir.no). Более того – эта цифра не включает погибшую молодежь. В 2007 году только на вирусном заболевании поджелудочной железы лососевых Норвегия потеряла 200 миллионов долларов США (Зиланов, Лука, 2009).

При этом большинство болезней садковых рыб с легкостью передается диким. По мнению ряда специалистов, копепода *Lepeophtheirus salmonis*, размножившись на лососевых, содержащихся в садках, становится причиной гибели диких особей атлантического лосося и кумжи. И хотя Норвегия приняла и выполняет специальный Национальный план действий по борьбе с этим паразитом (обзоры: Cross, 1998; Voxaspen, 2006), численность копеподы продолжает увеличиваться (Johansen et al., 2011).

Следует отметить, что этого паразита находили и у лососевых, выращиваемых в морских заливах на северо-западе Кольского полуострова (Итоги работы ..., 2009), однако никаких исследований влияния искусственного разведения на численность этого паразита в России не проводится.

Тяжелый удар по природным популяциям атлантического лосося нанесло проникновение в норвежские реки моногенеи *Gyrodactylus salaris*. На территорию страны этот сосальщик попал, скорее всего, с молодежью, происходящей из Балтийского бассейна, которую завезли из Швеции. В 45 зараженных реках численность лосося катастрофически снизилась; в целом по Норвегии его уловы упали на 15% (обзоры: Johnsen, Jensen, 2003; Peeler, 2006). Впоследствии оказалось, что у балтийского лосося устойчивость к паразиту закреплена генетически, а некоторые норвежские популяции очень чувствительны к нему (Bakke et al., 2004).

Особую роль в распространении *G. salaris* играет радужная форель, которая не погибает при заражении, но становится носителем паразита (Bakke et al., 1991; Dalgaard et al., 2004). Похоже, что именно вместе с ней *G. salaris* попал в Данию и Германию (обзор: Peeler et al., 2006). Встречается он на радужной форели и в рыбоводных хозяйствах Финляндии (Keranen et al., 1992), Польши и Македонии (Ziętara et al., 2010).

Двадцать лет назад *G. salaris* был впервые выявлен на атлантическом лососе в карельской реке Кереть (Иешко и др., 2008), а не так давно он обнаружен и в реке Писта, впадающей в озера Куйто, расположенные в северной Карелии; верховья этой реки находятся на территории Финляндии (Шульман и др., 2007; Иешко и др., 2012).

Ранее *G. salaris* в реке Писта не находили (Малахова, 1976), а генетический анализ паразита показал, что источником заражения стала, скорее всего, радужная форель одного из хозяйств на финской территории (Meinila et al., 2004; Kuusela et al., 2005). В последние годы паразита вместе с радужной форелью из Финляндии завезли во многие водоемы Карелии, в том числе в Сегозеро, находящееся в бассейне Белого моря (Евсеева, 2009; Евсеева и др., 2009), а между тем, атлантический лосось бассейна Белого моря гораздо более чувствителен к заражению *G. salaris*, чем лосось бассейна Балтики (Хаймина и др., 2009).

Помимо паразитов, в Норвегию попала также бактерия *Aeromonas salmonicida* – возбудитель опасной болезни рыб, фурункулеза. Впервые ее занесли на территорию страны с радужной форелью, и впоследствии она распространилась в природных популяциях лосося и кумжи. В норвежские садковые хозяйства эта бактерия попала в 1985 году с покотниками, завезенными из Шотландии, к концу 1991 года была отмечена на 507 рыбоводных фермах (Heggberget et al., 1993), а к концу 1992 года – уже в 550 хозяйствах (Johnsen, Jensen, 1994). Есть эта опасная бактерия и в рыбоводных хозяйствах Финляндии (Keranen et al., 1992).

Особую озабоченность вызывает то, что если *G. salaris* не выдерживает высокой солености и не выживает на лососях в морской воде, то *Aeromonas salmonicida* быстро распространяется как раз с рыбами, мигрирующими по морю. Бактерию разносят преимущественно лососи, сбегаящие из зараженных садковых хозяйств (Hastein, Lindstad, 1991; Johnsen, Jensen, 1994). По мнению специалиста с многолетним опытом работы, риск заноса в хозяйства Мурманской области возбудителей опасных болезней, в первую очередь, фурункулеза, распространенного в соседних скандинавских странах, в настоящее время очень высок (Карасева, 2000).

Это утверждение справедливо и для других заболеваний лососевых. Так, уже имеются данные о том, что вместе с молодежью атлантического лосося из Исландии в одно из отечественных садковых хозяйств на северо-западе Кольского полуострова уже проник возбудитель микобактериоза (Матишов, Берестовский, 2010).

Рыбы, содержащиеся в садках на территории сопредельных стран, являются носителями целого ряда бактериальных и вирусных заболеваний, которых на территории нашей страны пока нет или не было до последнего времени. В частности, в норвежских садковых хозяйствах впервые обнаружена инфекционная анемия лососевых – болезнь вирусного происхождения (Hastein, Lindstad, 1991; Lyngstad et al., 2008). Впоследствии ее вспышки отмечены в Канаде, США, Шотландии, на Фарерах и в Чили (Aamelfot et al., 2014). В 2015 году инфекционная анемия лосо-

севых, согласно сообщению комитета по ветеринарии Мурманской области, отмечена в морских рыбоводных хозяйствах Кольского полуострова (http://www.gov-murman.ru/info/news/136964/?sphrase_id=132238).

Дикая кумжа Норвегии болеет также йерсинозом, вызываемым бактерией *Yersinia rockery*, которую переносит опять же радужная форель (Hastein, Lindstad, 1991). Эта болезнь широко распространена в Финляндии (Keranen et al., 1992; Ström-Bestor et al., 2010), а в 2006 году она была зарегистрирована в двух форелевых хозяйствах Карелии (Рыжков и др., 2007). В 2012 году это заболевание снова выявлено в Карелии – у радужной форели, завезенной из Дании (Нечаева, 2014).

В Финляндии широко распространена бактериальная почечная болезнь (возбудитель – *Renibacterium salmoninarum*). В России она пока не отмечена, но риск ее завоза из Финляндии с посадочным материалом очень велик (Рыжков и др., 2007). Это – еще одно заболевание, которое представляет большую опасность для природных популяций лососевых (Hastein, Lindstad, 1991).

У атлантического лосося и радужной форели, выращиваемых норвежцами в морских садках, найден альфавирус SPDV (salmon pancreas disease virus) – возбудитель опасного заболевания поджелудочной железы (Taksdal et al., 2007), а также вирус (PRV – piscine reovirus), вызывающий воспаление скелетной мускулатуры и сердечной мышцы (Palasios et al., 2010). Кроме того, на атлантическом лососе, выращиваемом в хозяйствах Норвегии обнаружена амеба рода *Neoparamoeba*, вызывающая жаберную болезнь (Steinum et al., 2008). В этих трех случаях для идентификации патогенных организмов применяют, в том числе, молекулярно-генетические методы анализа, которые позволяют точно определить видовую принадлежность возбудителя (подробнее об этом будет рассказано в разделе 3.2.1.3.).

Вирусы-возбудители инфекционного некроза гемопоэтической ткани (ИHN) и инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых рыб (IPN), распространенные на Западе, в последние годы зарегистрированы в рыбоводных хозяйствах России (Завьялова и др., 2013). IPNV также выявлен у диких атлантических лососей в Норвегии (Johansen et al., 2011).

Кроме того, в нашу страну проник вирус, вызывающий опасное заболевание радужной форели – вирусную геморрагическую септицемию, VHS (Нечаева, 2014). Этот вирус способен инфицировать не только радужную форель, но и европейских благородных лососей – кумжу и атлантического лосося (Бауер, 1983).

При этом даже в Республике Карелия, куда регулярно завозят посадочный материал радужной форели из Финляндии, вирусологических анализов, к сожалению, не проводят (Евсеева, 2008), и риск заноса на территорию нашей стра-

ны болезней лососевых рыб, способных истребить природные популяции и катастрофически подорвать лососеводство и форелеводство, растет с каждым годом.

Молекулярно-генетические методы выявления патогенов лососевых рыб рассмотрены в разделе 3.2.1.3.

Влияние патогенных организмов на генетическую структуру природных популяций благородных лососей. Как показывают исследования атлантического лосося реки Кереть (Карелия) и норвежских рек, куда уже попал опасный паразит *G. salaris* (Johnsen et al., 2005; Артамонова и др., 2008), инфекционные заболевания, помимо всего прочего, вызывают ряд эволюционных последствий на уровне популяций. В зараженных стадах лосося идет отбор на устойчивость к заболеваниям (в случае *G. salaris* он выражается в резком изменении частот гаплотипов митохондриальной ДНК, см. Рис. 19), заметно усиливается дрейф генов (из-за падения численности популяций), а кроме того, в реках растет число гибридов атлантического лосося и кумжи (из-за падения численности популяций и повышенной устойчивости гибридов к заражению паразитом).

Между тем, дрейф генов опасен тем, что ведет к ненаправленным изменениям генетической структуры и тем самым – к разрушению сбалансированной системы генетических адаптаций, существующей в популяциях (Hedrick, Kalinowski, 2000). Гибридизация же опасна для малочисленного вида в еще большей степени, поскольку запускает программу репродуктивного самоуничтожения – из-за того, что все особи включаются в процесс гибридизации, популяция попросту вымирает (Заславский, 1967; Rhymer, Simberloff, 1996; Levin, 2002). Особенно угрожающей становится массовая гибридизация в тех случаях, когда отбор поддерживает гибридов, которые в массе своей не оставляют потомства, а именно такая ситуация имеет место в норвежских реках в случае с заражением *G. salaris*.

В отличие от дрейфа генов и гибридизации, отбор на устойчивость к инфекционным агентам можно отнести к условно-положительным эволюционным явлениям. Избирательная гибель особей снижает численность популяции, и ее генетическое разнообразие при этом падает, однако распространение в популяции генов устойчивости к инфекционному агенту дает популяции шанс на выживание, если ее исходная численность была относительно высока.

Отбор выявлен в природных популяциях кумжи Ирландии, обитающих в районах интенсивного садкового лососеводства. В этих популяциях отмечены изменения частот аллелей одного из генов главного комплекса гистосовместимости (Coughlan et al., 2006). Кроме того, зарегистрирован отбор на устойчивость к болезни, называемой вертежом, в природных популяциях радуж-

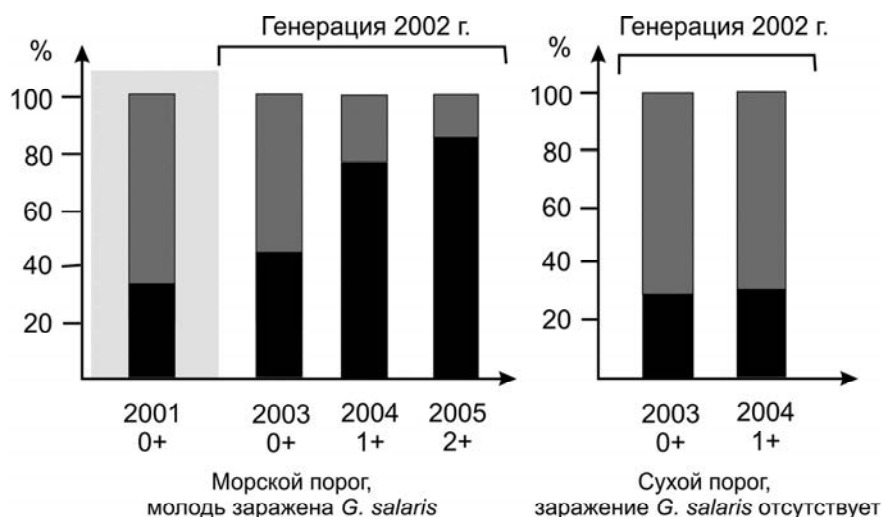


Рис. 19. Изменение частоты встречаемости балтийских (черный цвет) и восточно-атлантических (темно-серый цвет) гаплотипов мтДНК в выборках молоди *Salmo salar* 2002 года генерации по мере роста рыб. Представлены выборки с Морского порога р. Кереть, где молодь была заражена паразитом *Gyrodactylus salaris*, и с Сухого порога, где такое заражение отсутствовало. На светло-сером фоне показано соотношение гаплотипов у молоди первого года жизни, происходящей от производителей, которые смолтифицировались и ушли в море до того, как паразит попал в реку. По горизонтали – год сбора материала и возраст рыб, по вертикали – доля гаплотипов соответствующей группы в % (по материалам работы (Артамонова и др., 2008)).

ной форели, подвергшихся инвазии паразита *Mухоболус cerebralis*, вызывающего данное заболевание (Miller, Vincent, 2008).

2.6.4. Методы снижения влияния аквакультуры на генофонд природных популяций лососевых

Правильное размещение и организация рыбководных хозяйств. Для рациональной организации как мер по поддержанию природных популяций, так и товарного лососеводства, необходимо разделять эти два процесса в пространстве (Черницкий, Лоенко, 1990). Не желательно, чтобы одно и то же хозяйство занималось разведением лососей с природоохранными целями и товарным рыбководством, а если это все-таки неизбежно из соображений экономической целесообразности, два участка должны быть четко разграничены в пространстве, иметь отдельный рыбководный инвентарь. Недопустимо посещение каждого из участков в спецодежде и обуви, предназначенных для работ на другом участке.

При выборе места для рыбководного хозяйства необходимо учесть целый ряд факторов (Прибрежная аквакультура..., 2009). В частности, для садковых хозяйств необходима достаточная глубина акватории, наличие водообмена и в то же время – защищенность садков от сильного волнения. Необходимо принять во внимание также предполагаемый срок эксплуатации хозяйства (от этого зависит уровень нагрузки на экосистему). И особенно важно помнить, что садковые хозяйства могут быть разносчиками инфекции, а значит, ни в коем случае нельзя размещать их в ус-

тых лососевых и форелевых рек. Такие меры позволяют контролировать распространение хотя бы тех паразитов, которые чувствительны к солености воды.

С природоохранными целями компания AquaBounty разместила рыбководное хозяйство для выращивания трансгенного атлантического лосося в Панаме. При побегах рыб с этого хозяйства они будут попадать в слишком теплое для них море, где не смогут выжить (Van Eenennaam, Muir, 2011).

Эффективный путь снижения уровня загрязнения среды рыбководными хозяйствами и уменьшения вероятности побегов искусственно выращиваемой рыбы – создание систем замкнутого водоснабжения. Эти системы выгодны и с хозяйственной точки зрения, поскольку позволяют сделать работу рыбководных модулей более автономной, не зависящей от внешних факторов. В России в настоящее время установка замкнутого водоснабжения создается в пос. Ропша Ленинградской области (Крупкин и др., 2008), начата эксплуатация рыбководного хозяйства с системой очистки воды в Карелии.

В то же время следует помнить, что система замкнутого водоснабжения предъявляет исключительно высокие требования к ветеринарному состоянию посадочного материала, мерам санитарного контроля и к обеззараживанию поступающей воды на всех стадиях. Ведь при попадании любого инфекционного агента в замкнутую систему водоснабжения она автоматически становится рассадником заразы.

Для предотвращения завоза на территорию России рыб-носителей опасных инфекционных

болезней (как показано выше, за рубежом значительно больше опасных заболеваний, чем в хозяйствах нашей страны) необходимо организовать снабжение садковых хозяйств отечественным посадочным материалом. Для этого нужно создавать племенные хозяйства или их филиалы в регионах, где интенсивно развивается форелеводство – прежде всего в Карелии и Мурманской области. Одновременно это позволит существенно увеличить эффективность форелеводства за счет подбора пород, максимально подходящих к условиям региона (см. подраздел 2.2.2).

Меры по сохранению генофонда природных популяций. Для того, чтобы своевременно отслеживать воздействие аквакультуры на генофонд природных популяций лососей, необходим постоянный генетический мониторинг. За рубежом его практикуют достаточно широко, но в России генетическим мониторингом охвачена только популяция семги реки Кереть (Артамонова и др., 2008). Между тем, российские популяции лососевых, так же как и популяции лососей в европейских странах, не застрахованы от проникновения в них чужеродных рыб.

Эффективный метод сохранения генофонда природных популяций – стерилизация искусственно выращиваемых лососей и форелей. Как уже было отмечено разделе 2.4, в ряде зарубежных стран с этой целью в качестве посадочного материала часто используют искусственно полученных триплоидов. Экспериментально получены, в частности, триплоидные трансгенные атлантические лососи (Cogswell et al., 2002). К сожалению, в России триплоидных лососевых пока производят только с экспериментальными целями и в очень ограниченных масштабах.

Особую озабоченность у экологов вызывает возможность побегов из садков генетически модифицированных рыб. Для контроля за распространением трансгенных организмов было предложено включать в их геном дополнительный ген, блокирующий размножение таким образом, чтобы блокировку можно было снять только искусственно, в условиях рыбоводного хозяйства.

С целью реализации этой программы была получена радужная форель, в геном которой был включен ген, кодирующий последовательность РНК, комплементарную информационной РНК гонадотропин-рилизинг гормона (то есть, искусственно синтезированный ген, кодирующий антисмысловую РНК). По замыслу исследователей, взаимодействие смысловой и антисмысловой РНК должно было приводить к отсутствию в клетках свободной РНК-матрицы для синтеза гонадотропин-рилизинг гормона, а при отсутствии данного гормона созревание рыб становится невозможным. Однако эксперимент показал, что наши знания, касающиеся процесса регуляции созревания у рыб пока еще неполны, и на практике удалось добиться лишь незначительного на-

рушения процесса созревания экспериментальных рыб (Uzbekova et al., 2000).

В заключение еще раз отметим, что на случай, если процесс деградации природных популяций лососей пойдет слишком далеко, в ряде стран создаются маточные стада рыб, а также коллекции замороженной спермы. Однако всегда следует помнить, что восстановление популяций – дело крайне сложное и трудоемкое (см. раздел 2.1), и как бы ни складывались обстоятельства, природный генофонд популяций проще сохранить, чем восстановить.

Применение генетических методов при мониторинге организмов, патогенных для рыб. Многочисленные случаи вспышек опасных инфекционных заболеваний в рыбоводных хозяйствах Европейского Севера, описанные в предыдущем подразделе, свидетельствуют о неэффективности существующих мер ихтиопатологического контроля.

Молекулярно-генетические методы (см. раздел 3.1.3) позволяют решить эту проблему. Даже единичный экземпляр паразита, бактерии или вируса, присутствующий в тестируемой пробе, теоретически может быть обнаружен с их помощью: эти методы отличаются высокой чувствительностью, специфичностью, быстротой анализа (Харченко, Глазко, 2006; Ребриков и др., 2009). Особенно важно повышать степень надежности выявления патогенных организмов при тестировании посадочного материала и обследовании хозяйств, его производящих. Если мы ставим своей целью предотвратить распространение патогенов, способных свести на нет все усилия по развитию форелеводства в России, такое обследование хозяйств и завозимого посадочного материала должно стать повсеместным и обязательным.

Молекулярно-генетические методы все чаще используют в зарубежных странах, но для обследования российских популяций благородных лососей их применяют очень редко, а если и применяют, то в основном зарубежные специалисты (Meinila et al., 2004; Kuusela et al., 2005; Zietara et al., 2006, 2008; Евсева и др., 2009; Артамонова и др., 2012). Обследование племенных хозяйств и оценка безопасности посадочного материала с помощью современных высокочувствительных методов в нашей стране до сих пор не практикуется.

Отлов чужеродных рыб, ограничение их распространения и методы борьбы с переносимыми ими инфекциями в природной среде. Методов борьбы с чужеродными рыбами известно уже довольно много (обзоры: Махров и др., 2014; Thresher et al., 2014; Карабанов, Кодухова, 2015).

В США для ограничения численности чужеродных видов лососевых их отлавливают при помощи электролова, в небольших водоемах с этой целью применяют жаберные сети. Более

того, в некоторых случаях даже целиком уничтожают ихтиофауну при помощи токсикантов и заново зарыбляют водоемы местными видами рыб (Moore et al., 1986; Gresswell, 1991; Knapp, Matthews, 1998; Dunham et al., 2002).

В Австрии для селективного отлова радужной форели используют электролов и удочки (Nager, 1998). На Европейском Севере России имеется опыт селективного изъятия горбуши на рыбоучетном заграждении в реке Варзуга: в верховья реки при сортировке рыбы, оказавшейся в ловушке РУЗа, пропускают семгу, но не горбушу (Зубченко и др., 2004).

Для ограничения распространения чужеродных лососей, на небольших реках, где обитают жилые популяции лососевых рыб, сооружают специальные заграждения. Однако использование заграждений ухудшает условия обитания нативных видов, и возникает опасность генетического вырождения небольших популяций, которые при этом становятся полностью изолированными (Novinger, Rahel, 2003; Fausch et al., 2006).

Разработан, но еще не опробован метод подавления популяций чужеродных рыб, предусматривающий выпуск в водоемы, где они обитают, рыб с двумя Y-хромосомами, но фенотипических самок (методы получения суперсамцов с двумя Y-хромосомами и изменения пола рыб описаны в

подразделе 2.4.3). Теоретически, в потомстве таких рыб должны появляться только самцы, а возникающий в результате сильный сдвиг в соотношении полов должен привести к падению численности популяций (Gutierrez, Teem, 2006).

Описанные меры позволяют частично оградить природные популяции от генетического загрязнения и конкуренции с вселенцами, но особенно опасная ситуация возникает в тех случаях, когда в реку проникают не просто чужеродные рыбы, а носители опасных инфекций. К сожалению, бороться с патогенными вирусами, бактериями и паразитами, попавшими в природные водоемы практически невозможно. Единственный способ уничтожить инфекцию – истребить всю ихтиофауну в водной системе, куда попал паразит, а затем зарыблять водоем заново. В таких сложных случаях используют ядовитые вещества, в частности ротенон, умеренно токсичный для теплокровных. Этот способ очень дорог и к тому же применим только на небольших реках. Тем не менее, его достаточно активно используют в Норвегии для борьбы с неоднократно упоминавшимся выше опасным паразитом *Gyrodactylus salaris*, который с середины 1970-х годов стал национальным бедствием страны, где лососеводство является одной из самых значимых отраслей экономики (Johnsen, Jensen, 2003).

ГЛАВА III.

МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В АКВАКУЛЬТУРЕ

В последнее десятилетие молекулярно-генетические методы активно применяют не только при изучении генетического потенциала объектов сельского хозяйства, как это было еще совсем недавно. Они становятся мощным инструментом повышения продуктивности, то есть превращаются в компоненты нанобиотехнологий.

Даже такая относительно молодая отрасль сельского хозяйства как аквакультура, которая еще явно не исчерпала потенциала, предоставляемого методами традиционной селекции, уже не может обходиться без инструментария, активно разрабатываемого современной генетикой.

При этом из всего бесчисленного множества молекулярно-генетических методов, которые основаны на знании физических и химических свойств ДНК, РНК и белков, постоянно совершенствуются и пополняются новыми, практика выбирает лишь малую их часть, которая удовлетворяет достаточно жесткому набору требований.

При этом из всего бесчисленного множества молекулярно-генетических методов, которые основаны на знании физических и химических свойств ДНК, РНК и белков, постоянно совершенствуются и пополняются новыми, практика выбирает лишь малую их часть, которая удовлетворяет достаточно жесткому набору требований.

В первую очередь, метод, претендующий на то, чтобы стать нанобиотехнологией, должен давать возможность осуществлять массовое тестирование образцов за короткий промежуток времени, причем немаловажное значение на этом этапе имеет простота сбора и фиксации биологических образцов для анализа. Во-вторых, нанобиотехнологический метод должен быть относительно недорогим. Далее, к существенным предпосылкам его массового внедрения в практику следует отнести относительную безопасность используемых реагентов для сотрудников, возможность быстрого освоения методики персоналом лаборатории или исследовательской группы.

Одновременно такой метод должен обеспечивать высокую воспроизводимость результатов, возможность их надежной регистрации с созданием полной базы данных. В ряде случаев, он должен обязательно допускать неоднократное прижизненное тестирование объектов исследования. К немаловажным характеристикам следует отнести также простоту и однозначность трактовки полученных данных, что предполагает, с одной стороны, достаточно высокую разрешающую способность метода, а с другой – отсутствие или, по крайней мере, минимизацию избыточной («шумовой») информации.

Большинство методов, используемых на практике в настоящее время, пока не в состоянии удовлетворить всем перечисленным выше критериям

одновременно, однако ситуация быстро меняется, особенно в плане повышения скорости обработки материала и удешевления анализа.

Отсюда неизбежно следует, что уже через 10–15 лет современные нанобиотехнологические приемы уступят место более совершенным методам, хотя предсказать однозначно в каком именно направлении будет происходить совершенствование технологий, возможно далеко не всегда. К тому же перед нанобиотехнологиями будущего остро встанет задача, малоактуальная на современном этапе – это необходимость сопоставления новых данных с результатами предыдущих исследований. При этом особенно остро она встанет именно в аквакультуре, поскольку селекция здесь не имеет такой богатой истории, как в растениеводстве или в животноводстве. Более того, в массе своей объекты аквакультуры до сих пор очень плохо охарактеризованы с генетической точки зрения, неизвестным остается и генетический потенциал природных популяций объектов аквакультуры, а значит и их селекционный потенциал.

Таким образом, перед современными исследователями стоит исключительно ответственная задача: именно сейчас им предстоит задать направление развития нанобиотехнологий в аквакультуре на десятилетия вперед.

В данной главе мы постараемся дать представление о тех молекулярно-биологических методах, которые либо уже активно используются в аквакультуре, либо претендуют на то, чтобы стать компонентами нанобиотехнологий ближайшего будущего. Мы полагаем, что без понимания сути современных молекулярно-биологических тестов невозможно оценить, насколько точными являются выводы, сделанные с их помощью, и призываем читателей не доверять выводам генетиков слепо, особенно в тех случаях, когда генетические исследования не дополнены исследованиями биологическими. Нужно всегда помнить, что у любого метода, даже самого современного и нового, есть свои ограничения и свой диапазон применения, что не бывает методов устаревших – есть методы с узким диапазоном применимости или невысокой разрешающей способностью (которая, однако, может оказаться вполне достаточной для решения конкретной задачи).

Характер изложения материалов данной главы предполагает, что читатель освоил курс об-

щей генетики, знаком со структурой ДНК и белков, механизмами их синтеза в клетке, а также с механизмами митоза и мейоза. Изложение рассчитано на читателя, который представляет себе структуру хромосом и генетических локусов, имеет понятие о генетическом коде. Кроме того, по ходу изложения мы не разъясняем общегенетические термины, хотя и стараемся давать определения тем из них, которые важны для понимания сути конкретной молекулярно-биологической методики.

В этой главе мы не будем ссылаться на широко известные монографии и методические руководства, где подробно освещены общие подходы к изучению белков и ДНК, а также даны конкретные прописи для постановки экспериментов того или иного типа (в частности, это книги: Генетика изоферментов ..., 1977; Глазко, Созинов, 1993; Алтухов, 2003; Avise, 2004; Dunham, 2004; Глазко, Глазко, 2006; Liu, 2007; Картавцев, 2008; Ребриков и др., 2009; Свердлов, 2009; Allendorf et al., 2013). Мы также не сможем уделить внимание статистическим методам, без которых современные популяционные исследования в большинстве случаев попросту невозможны, и отсылаем заинтересованного читателя к специализированной литературе (Вейр, 1995; Ивантер, Коросов, 2003; Хедрик, 2003; Картавцев, 2008).

В книге, ориентированной преимущественно на специалистов, занимающихся практикой аквакультуры, мы не ставим перед собой задачи изложить весь объем знаний, которым располагает

современная генетика. Мы только стремимся продемонстрировать возможности и ограничения генетических методов и научить читателя правильно ставить задачу перед специалистами-генетиками, в тесном контакте с которыми им придется работать уже в самом ближайшем будущем. Кроме того, мы надеемся, что понимание тех принципов, на которых основаны генетические методы, позволит более грамотно интерпретировать результаты генетических исследований и более органично включать их в ту картину, которую дают традиционные исследования морфологических, биологических и физиологических параметров объектов аквакультуры.

Именно поэтому в данной главе основное внимание уделено достоинствам и недостаткам различных подходов для решения задач, связанных с популяционной биологией рыб, их селекцией, воспроизводством в искусственных условиях. Связано это еще и с тем, что в настоящее время среди многочисленных генетических исследований можно встретить немало работ, в которых для решения конкретной поставленной задачи используют методики хотя и очень современные, но не слишком подходящие для данной цели.

Только после изложения сути методических подходов, используемых в аквакультуре или перспективных для применения в этой области (раздел 3.1), мы переходим к изложению конкретных фактов, полученных этими методами на объектах, которым посвящена книга – лососевых рыбах (раздел 3.2).

3.1. Достоинства и недостатки современных молекулярно-генетических методов, используемых в аквакультуре

3.1.1. Анализ белков

Если не считать отдельных иммунологических и кариологических исследований, которые так и не смогли создать достаточно обширную и надежную базу для исследования генетических особенностей объектов аквакультуры, то первым методом, применявшимся для массовых исследований генетики водных организмов, стал анализ изоферментов. Особенно интересную и ценную информацию давал анализ аллозимов – аллельных вариантов белка каждого конкретного генетического локуса у того или иного организма. (Алтухов, 1974).

Этот метод основан на том, что белок, участвующий в метаболизме какого либо субстрата, может иметь несколько аллельных вариантов, которые отличаются друг от друга заменами отдельных аминокислот в полипептидной цепи. (При этом не только разные особи могут быть носителями разных аллелей – хромосомы, полученные от отца и матери могут кодировать разные варианты белка, то есть, особи могут быть гетерозиготами, Рис. 20).

Варьирующие аминокислоты могут быть заряженными или нейтральными, а потому замена одной аминокислоты на другую часто ведет к изменению как массы, так и полного заряда белковой молекулы. В этом случае при разделении белков электрофорезом в полиакриламидном или крахмальном геле белки, соответствующие различным аллелям локуса, мигрируют в постоянном электрическом поле с разной скоростью, а иногда и в разных направлениях от старта.

Как правило, аллели белковых локусов характеризуют, оценивая подвижность молекул, соответствующих разным аллелям, друг относительно друга. Аллель, который в первых исследованиях данного локуса выявляли наиболее часто, обозначают *100 (100 %-ная подвижность). Поэтому, например, для атлантического лосося запись *ESTD*100* обозначает, что речь идет об аллеле фермента эстеразы Д, который наиболее часто встречается в европейских популяциях этого вида. Европейские популяции атлантического лосося были изучены раньше североамериканс-

ких, в которых значительно преобладает другой аллель этого локуса, поэтому обозначение *ESTD*100* закрепилось за аллелем, преобладающим в Европе.

Прочие аллели данного локуса чаще всего характеризуют, выражая их подвижность в процентах от подвижности аллеля **100*, которая может быть как больше, так и меньше 100% или даже отрицательной, когда менее распространенный аллель мигрирует от старта в сторону, противоположную основному аллелю. Например, аллель эстеразы Д атлантического лосося, распространенный в североамериканских популяциях, обозначают обычно как *ESTD*80*. Если ферментная система является двухаллельной, в литературе нередко можно встретить упоминание об этих аллелях как о «быстром» и «медленном», что отражает скорость их миграции в постоянном электрическом поле (в нашем примере «быстрым» является аллель **100*, а «медленным» – аллель **80*). Иногда аллелям дают буквенные обозначения – а, b, с и т.д., однако такая система обозначений может вести к недоразумениям, поскольку при исследовании материала из новых регионов в нем могут быть выявлены аллели с промежуточной подвижностью.

Для визуализации электрофоретической картины, по окончании электрофореза гель приводят в контакт с субстратом, который способен трансформироваться под действием фермента, интересующего исследователя (например, помещают гель в раствор такого субстрата или делают аппликацию с использованием агара). Одновременно в раствор добавляют вещество, способ-

ное окрашивать продукт каталитической реакции с участием фермента или менять цвет под действием продукта реакции.

Следует подчеркнуть, что картина, наблюдаемая после окрашивания геля, представляет собой не места локализации фермента на геле, а зоны, где сосредоточен окрашенный продукт реакции или молекула-краситель, изменившая цвет. Они же, в свою очередь, представляют собой, как правило, относительно небольшие молекулы, которые легко диффундируют в геле. Отсюда вытекает один из существенных недостатков белкового электрофореза – получаемая картина в большинстве случаев оказывается с самого начала размытой, а с течением времени расплывается все больше.

При этом не все электрофореграммы и без этого легко трактовать. Ведь среди белков существуют не только мономеры, но также димеры и тетрамеры, то есть белки, которые обладают так называемой четвертичной структурой: в активной форме они состоят из двух или четырех полипептидных цепей (Рис. 20). Это означает, что в том случае, когда организм является гетерозиготой, на электрофореграмме присутствуют не только зоны, характерные для каждого из аллельных вариантов в чистом виде, но и зоны, где сконцентрированы гибридные молекулы белка, то есть структуры, состоящие из субъединиц, являющихся продуктами двух разных гомологичных хромосом. Примеры электрофореграмм для белка-мономера и белков-димеров представлены на Рис. 21 и 22.

Помимо этого, трактовку наблюдаемой картины сильно затрудняет ряд сопутствующих обстоя-

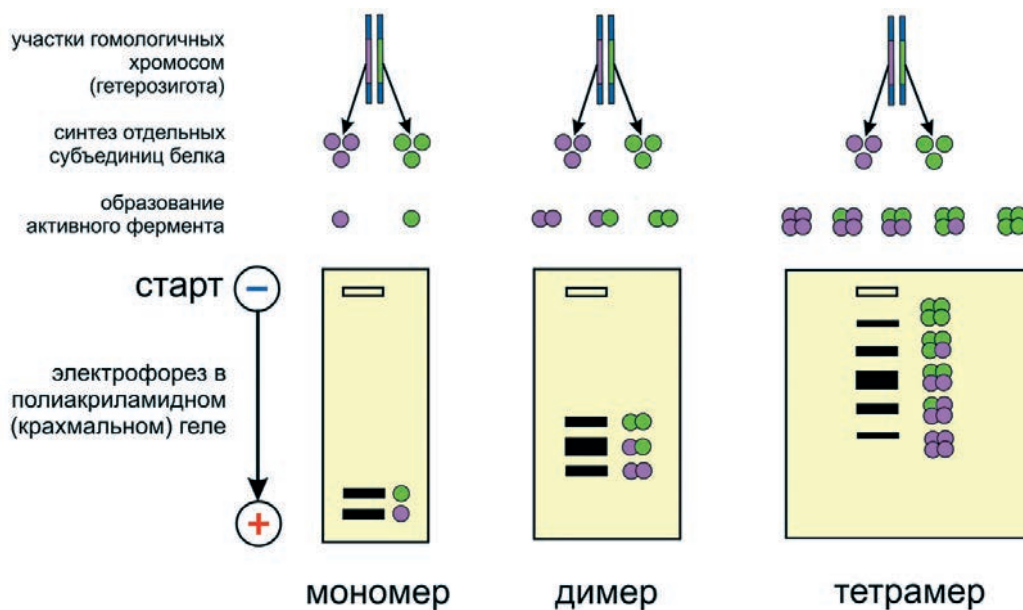


Рис. 20. Схема образования активных молекул белков с различной четвертичной структурой (мономеры, димеры, тетрамеры) у особей, гетерозиготных по соответствующим генам, и миграция этих белков в геле при электрофорезе (аллозимный анализ). Во всех случаях межлокусное взаимодействие отсутствует.

ятельств. Например, в ряде случаев в организме существует не один, а несколько разных ферментов, кодируемых последовательностями ДНК, локализованными в разных хромосомах, но способных взаимодействовать с одним и тем же субстратом. Правда, многие из ферментов такого рода являются тканеспецифичными, и если в составе пробы присутствует только одна ткань, до-

полнительные зоны окрашивания на геле отсутствуют или значительно ослаблены. Однако достаточно часто, особенно у организмов, имеющих полиплодное происхождение (к ним относятся, в частности, такие объекты аквакультуры как лососевые и осетровые рыбы) специфическая реакция с субстратом выявляет на геле несколько зон окрашивания. Даже если при этом полимор-

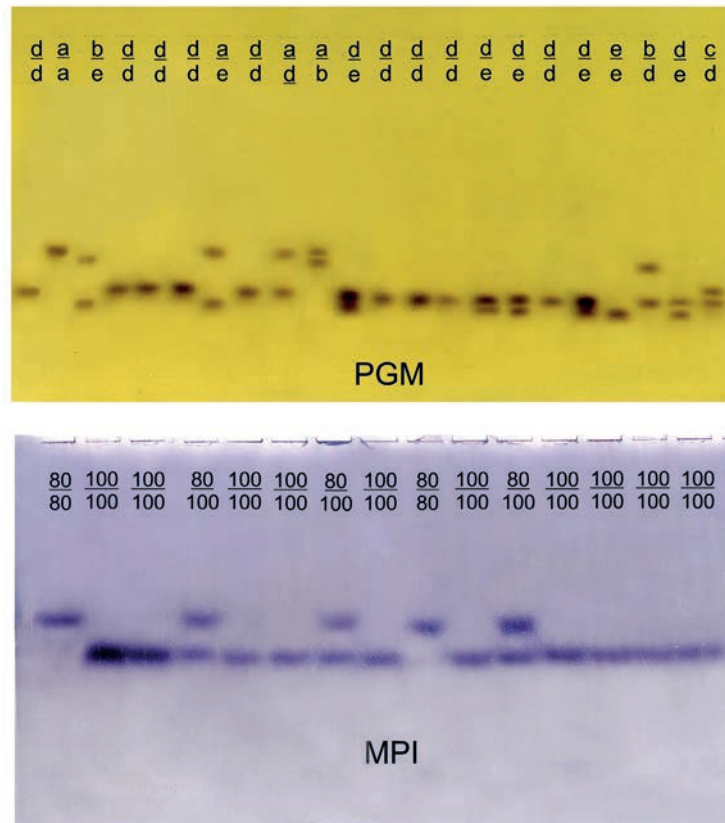


Рис. 21. Примеры электрофореграмм для полиморфных аллозимов-мономеров. PGM – фосфоглюкомутаза исландского гребешка, которая представляет собой пятиаллельную систему. Аллели обозначены буквами: a, b, c, d, e в порядке увеличения подвижности. Буквенные обозначения сверху каждой дорожки – генотипы тестируемых особей. Электрофорез в 13%-ном крахмальном геле. MPI – фермент маннозофосфатизомеразы черноморской кумжи (двухаллельная система). Подвижности аллелей, характерных для каждой тестируемой особи обозначены цифрами сверху. Электрофорез в 7%-ном полиакриламидном геле.

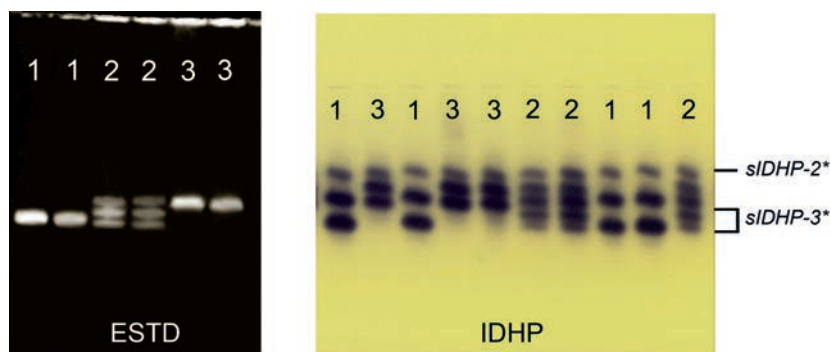


Рис. 22. Примеры электрофореграмм для полиморфных двухаллельных аллозимов-димеров атлантического лосося (*Salmo salar*). ESTD – эстераза Д (флуоресцентная эстераза); IDHP – изоцитратдегидрогеназа (наблюдается межлокусное взаимодействие между продуктами мономорфного локуса *sIDHP-2** и полиморфного локуса *sIDHP-3**). Цифрами обозначены: 1 – «быстрая» гомозигота, 2 – гетерозигота, 3 – «медленная» гомозигота.

фным оказывается только один из ферментов, определить, к какому именно локусу относится наблюдаемое аллельное разнообразие не всегда просто, особенно если в популяции встречается три и более аллеля гена, кодирующего фермент, а продукты этих аллелей значительно различаются по своей электрофоретической подвижности.

Особенно сложной оказывается трактовка электрофореграмм в случае ферментов, представляющих собой димерные, а тем более тетрамерные образования, когда гетерозиготы представлены не одной, а целым набором зон окрашивания (Рис. 20). Если же белковые продукты разных генетических локусов оказываются способными образовывать гибридные молекулы (межлокусное взаимодействие), наблюдаемая картина усложняется еще больше. Ведь при этом даже гомозиготы оказываются представленными в виде триплета полос, а гетерозиготы – в виде шести сливающихся зон окрашивания (Рис. 23). Примером полиморфного двухаллельного локуса, взаимодействующего с мономорфным, может служить локус *sIDHP-3** фермента изоцитратдегидрогеназы, который взаимодействует с локусом *sIDHP-2** этого фермента (Рис. 22). Что же касается ферментов, состоящих из четырех субъединиц, то чаще всего, наблюдаемая картина вообще не поддается однозначной трактовке, тем более при наличии межлокусного взаимодействия

(Рис. 24). Все это сильно затрудняет дальнейшее развитие и практическое использование изоферментного анализа.

В качестве еще одного недостатка метода необходимо отметить, что он допускает прижизненное тестирование особей только в исключительных случаях, например тогда, когда анализируют ферменты крови или же ферменты, экспрессирующиеся в тканях жирового плавника лососей, который может быть ампутирован у рыб даже полностью без потери жизнеспособности. К тому же изоферментный анализ требует исключительно высокого качества проб. Исследуемые ферменты должны сохранять свою функциональную активность как в процессе хранения проб, так и во время проведения электрофореза.

Для того, чтобы соблюсти это условие, пробы тканей обычно замораживают в жидком азоте сразу после сбора образцов и хранят при температурах около -70°C не более года. Хотя некоторые ферменты поддаются анализу и после 2–3 лет хранения образцов в бытовых морозильниках, это скорее исключение, чем правило, и исследователям не стоит рассчитывать на хорошую сохранность образцов, хранившихся в подобных условиях. В то же время, хотим подчеркнуть, что плохая сохранность проб приводит, в подавляющем большинстве случаев, к отсутствию активности фермента и невозможности считать информацию с геля, а вовсе не к возможности неправильной

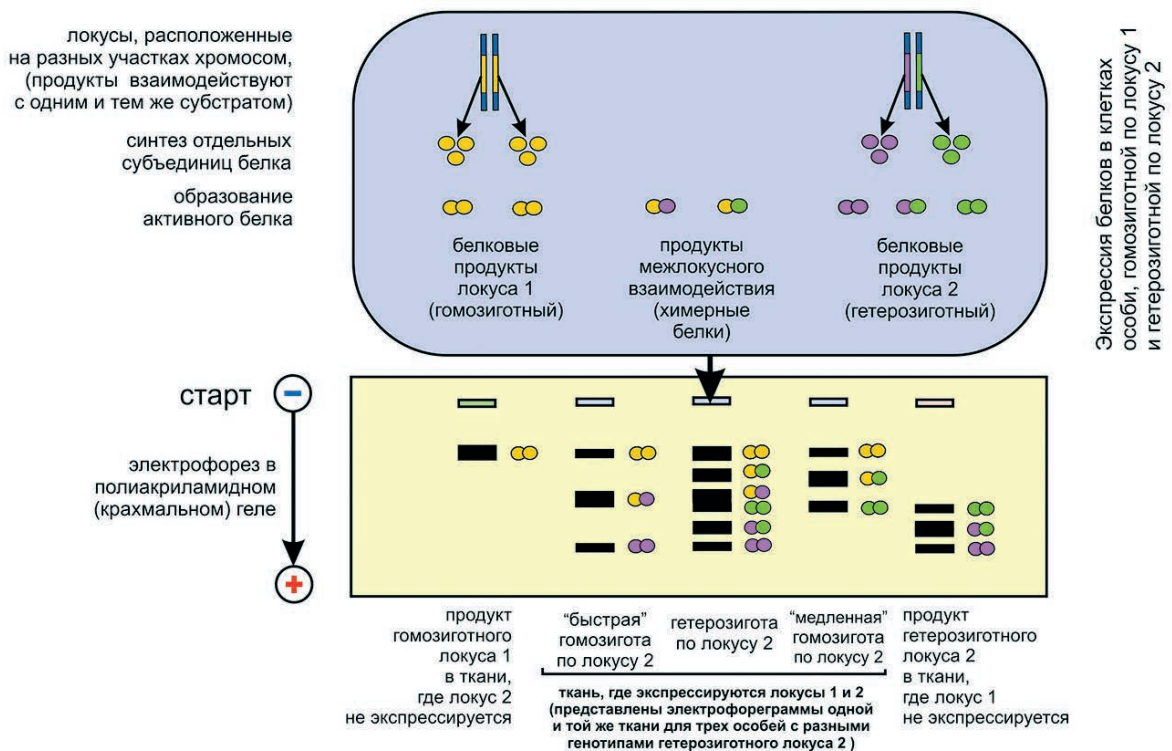


Рис. 23. Схема межлокусного взаимодействия, которое необходимо учитывать при анализе ряда аллозимодимеров: локус 1 – гомозиготный, локус 2 – гетерозиготный. Продукты обоих локусов взаимодействуют с одним и тем же субстратом и способны образовывать биологически активные химерные молекулы.

трактовки получаемых результатов, как иногда полагают. Если считать информацию удаётся, то она, как правило, достоверна, особенно если для анализа выбран фермент, аллельные варианты которого были описаны ранее.

Для сохранения активности ферментов в процессе электрофореза, разделение ферментов проводят в камерах с водяным охлаждением, следя за тем, чтобы температура геля, по возможности, не превышала +5—+8 °С.

И все-таки, несмотря на массу трудностей, которых не удастся избежать при работе с белками, метод изоферментного анализа до сих пор остается достаточно популярным в популяционных исследованиях водных организмов, а также при поиске различий и сходства между разными ли-

ниями рыб – объектов аквакультуры. В частности, еще совсем недавно его использовали при паспортизации отечественных пород радужной форели (Породы ..., 2006).

Дело в том, что исследования полиморфизма белков в последние 30 лет были чрезвычайно масштабными, а потому именно эти маркеры позволили получить достаточно целостную картину генетического разнообразия во времени и пространстве, характерного для многих массовых видов и для рыб в особенности.

Для того чтобы обеспечить преемственность генетических исследований, молекулярным биологам еще предстоит определить последовательности ДНК, кодирующие изоферменты, картировать их на хромосомах и определить нуклеотид-

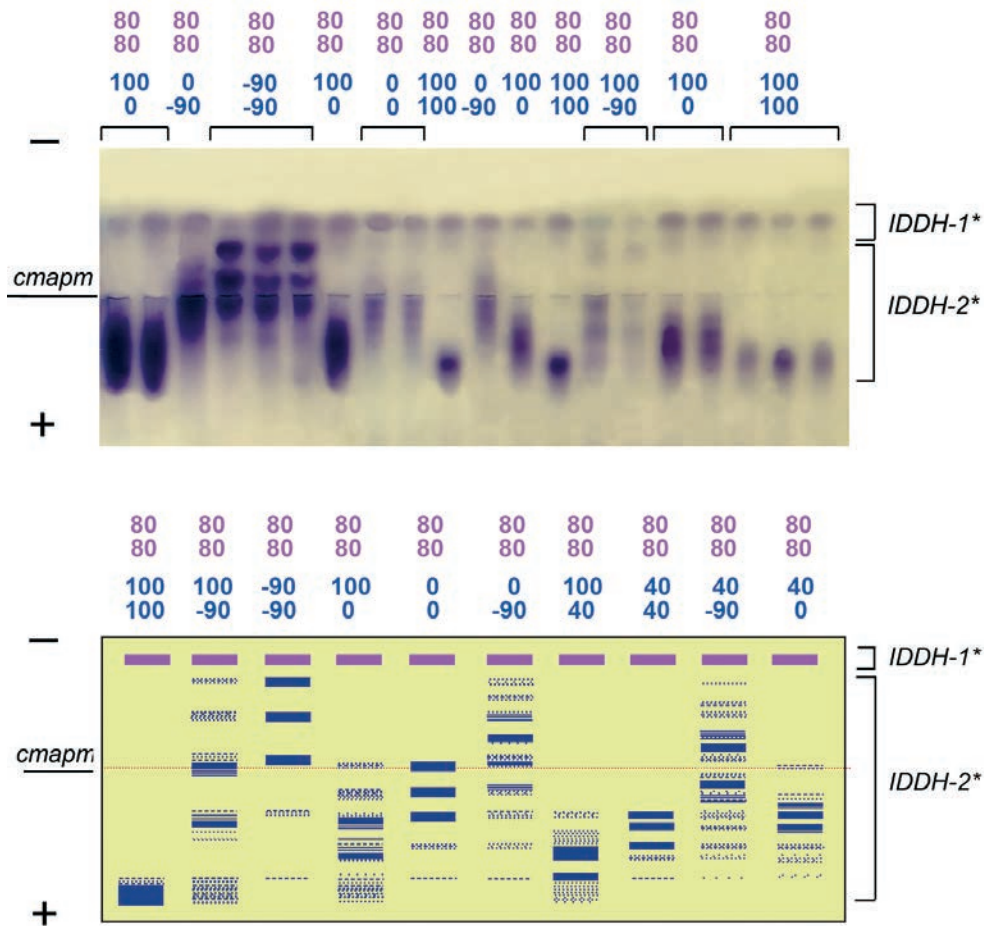


Рис. 24. Наблюдаемые (вверху) и теоретически ожидаемые (внизу) электрофореграммы для идитолдегидрогеназы (сорбитолдегидрогеназы) печени атлантического лосося. Помимо фермента, кодируемого высокополиморфным локусом *IDDH-2**, при анализе в крахмальном геле специфическое окрашивание выявляет белок, кодируемый локусом *IDDH-1**, который мономорфен в выборке, представленной на верхнем рисунке. Теоретически ожидаемые положения выявляемых полос для гомо- и гетерозигот разных типов (подвижности аллелей обозначены вверху каждого рисунка) рассчитаны с учетом межлокусного взаимодействия с *IDDH-1*80* (расчеты впервые представлены Э. Веспуром (E. Vespoor) на Международном совещании по генетике атлантического лосося, Абердин (Великобритания), 12-15 июня 2002 г.). Отметим, что такие сложные ферментные системы на практике обычно не используют. Здесь специфическое окрашивание выявляет два локуса фермента-тетрамера, между которыми наблюдается межлокусное взаимодействие. При этом один из локусов имеет четыре аллельных варианта, причем два из них мигрируют от “-” к “+”, один от “+” к “-”, а один при тех же условиях электрофореза остается в стартовой лунке, то есть имеет нулевую подвижность.

ные вариации, приводящие к характерным заменам аминокислот, которые выявляются при анализе белков как аллельные варианты. Такая работа уже ведется: например, на хромосомах радужной форели картировано не менее четырех изоферментных локусов, задействованных ранее при анализе белков (Nichols et al., 2003; Guyomard et al., 2006), для кумжи и атлантического лосося определены последовательности, кодирующие лактатдегидрогеназу глаза и трансферрин крови, описаны их аллельные варианты (McMeel et al., 2001; Antunes et al., 2002).

В то же время, до тех пор, пока большая часть этой работы не будет проделана, изоферментный анализ не утратит своего значения, тем более что у него есть целый ряд несомненных достоинств.

К их числу относится, в первую очередь, исключительная легкость и быстрота подготовки проб для анализа. Такую ткань, как мышечная, просто разминают шпателем в буфере относительно простого состава, осаждают твердые остатки центрифугированием, а жидкую фазу, где сконцентрированы растворимые клеточные белки, вносят непосредственно в лунки геля. Метод позволяет анализировать десятки и даже сотни проб одновременно, и при этом в его арсенале имеется множество локусов, анализ которых не требует использования дорогостоящих субстратов. Комбинирование различных технических приемов позволяет считывать с одного геля информацию о 2–10 белковых локусах, экспрессирующихся в данной ткани.

Электрофорез белков до сих пор остается наиболее информативным методом исследования кодирующих участков хромосом. Хотя его разрешающая способность при анализе разнообразия внутри индивидуальных локусов часто оказывается недостаточной (лишь незначительная часть нуклеотидных замен, отражающих эволюционную историю вида, приводит к заменам в аминокислотной последовательности белков), только этот метод позволяет пока получать интегральную характеристику кодирующей фракции ядерного генома.

Более того, поскольку изоферментный анализ имеет дело с белками, непосредственно принимающими участие в метаболических процессах, белками, функция которых, как правило, хорошо известна, он незаменим в исследованиях, касающихся динамических процессов в популяциях. Такие процессы обычно связаны с изменением условий обитания популяции, в том числе, при антропогенном воздействии на среду обитания и в условиях искусственного отбора по хозяйственно-ценным признакам. Именно анализ изоферментов во многих случаях позволяет быстро и надежно зарегистрировать изменение аллельных частот генов, а значит оценить силу воздействия внешних факторов на группу организмов.

С этой точки зрения трудно переоценить роль аллозимного анализа для характеристики сортов растений и пород животных, выведенных путем селекции – ведь в ряде случаев внутри сорта или породы происходил отбор в пользу тех или иных аллелей аллозимного локуса, связанных с хозяйственно-важным признаком (монография: Глазко, Созинов, 1993). В то же время, следует отметить, что селекция при получении различных пород и линий лососевых рыб происходила, как правило, не по одному, а по целому комплексу критериев одновременно (например, учитывался возраст созревания, гонадо-соматический индекс и время начала нереста). Кроме того, в разных племенных хозяйствах селекция часто шла в одном и том же направлении, но, благодаря разному исходному материалу, полученные породы рыб отличались друг от друга.

Разрешающая способность изоферментного анализа в такой ситуации часто оказывается недостаточной: мало того, что не все особенности последовательности ДНК трансформируются в аминокислотные замены, выявляемые электрофорезом белков, – из-за сложности анализа электрофореграмм исследователям, как правило, приходится ограничиваться двух-трехаллельными системами, а также отказываться от работы с тетрамерами. Таким образом, зарегистрировать тонкие различия между группами организмов методами изоферментного анализа удается далеко не всегда, а, между тем, они могут оказаться принципиальными.

3.1.2. Анализ ДНК

3.1.2.1. Общие замечания

Анализ ДНК имеет ряд неоспоримых преимуществ по сравнению с анализом белков, и эти преимущества начинают проявляться еще на этапе сбора проб.

Поскольку идентичные молекулы ДНК содержатся почти во всех клетках живых организмов (исключение составляют разве что зрелые эритроциты млекопитающих, у которых отсутствует ядро, или некоторые специализированные клетки, в которых имеет место элиминация части генома), то теоретически ее можно выделить из любой ткани, доступной для исследования. А поскольку у объектов аквакультуры это могут быть такие легко регенерирующие ткани как кровь, чешуя, небольшие фрагменты плавников рыб, то использование методов ДНК-анализа открывает широкие перспективы для прижизненного тестирования объектов исследования, при необходимости, неоднократного.

Кроме того, химически нуклеиновые кислоты – очень устойчивые молекулы, которые легко выдерживают колебания температуры и pH среды в широком диапазоне (деградируют в растворах сильных кислот), а нарушение их вторичной

структуры никак не сказывается на качестве последующего анализа (в отличие от нарушения вторичной структуры белков, для анализа которых необходимо сохранение функции молекул). Только наличие в природе огромного количества ферментов, вызывающих деградацию ДНК и РНК (экзонуклеазы и эндонуклеазы) делает эти молекулы неустойчивыми, приводит к их быстрой деградации. Таким образом, главная задача при сборе проб для анализа ДНК заключается в том, чтобы оградить эту макромолекулу от воздействия ферментов.

Сделать это можно двумя способами – создав условия, в которых даже нативные нуклеазы в принципе не могут функционировать или вызвав нарушение конформации молекул ферментов, вызывающих деградацию. Примером первого способа может служить наиболее распространенный и надежный метод – фиксация биологического материала этиловым спиртом, который обеспечивает дегидратацию (обезвоживание) ДНК. Для того чтобы полностью исключить протекание биохимических реакций, приводящих к деградации ДНК, окончательная концентрация спирта в пробе должна быть не меньше 70%, то есть при использовании 96% спирта объем пробы и спирта должны находиться в соотношении, как минимум, 1:5. Не следует опасаться, однако, что сбор проб потребует большого количества этанола: для ДНК-анализа бывает достаточно материала, объемом со спичечную головку, хотя обычно рекомендуют брать кусочек ткани объемом около 0,5 см³, для того, чтобы при необходимости можно было повторить тестирование несколько раз. Использование разбавленного этанола для фиксации проб недопустимо, поскольку в растворах с окончательной концентрацией спирта менее 70% ДНК в кристаллическую форму не переходит, а значит, подвергается действию нуклеаз. Неплохие результаты можно получить и при выделении ДНК из быстро высушенных образцов тканей (чешуя рыб, мазки крови).

Пример второго способа фиксации – фиксация образцов раствором нейтрализованного формалина (обычно более 4%). Сам по себе раствор формалина имеет рН=2,8–4,0, а в таких растворах происходит химическая деградация ДНК. Именно поэтому доведение рН формалина до нейтрального или даже слабо щелочного (рН=7,2–7,4) – условие обязательное.

Более того, даже в этом случае результаты не всегда оказываются удовлетворительными, поэтому при отсутствии этанола мы рекомендуем делать мазки крови (в случае рыб, эритроциты которых, в отличие от эритроцитов высших позвоночных, имеют ядра), давленные препараты на стекле, высушивать фрагменты плавников рыб в силикагеле или даже просто между слоями бумаги. При таком способе фиксации степень сохранности ДНК в образцах будет не идеальной, но

вполне удовлетворительной, если образцы планируются обработать в течение 1–2 месяцев, а не хранить длительное время.

Пробы для ДНК-анализа, хорошо зафиксированные этанолом, могут храниться десятилетиями при комнатной температуре, хотя при длительном хранении в таких условиях спирт рекомендуется время от времени заменять или хотя бы доливать (обычно не чаще одного раза в год). В настоящее время ДНК-анализу нередко подвергаются музейные экспонаты или образцы старой чешуи рыб, которые хранятся в коллекциях более ста лет (ссылки на такие работы по атлантическому лососю см.: Артамонова, 2007б), и даже ископаемые кости (Consuegra et al., 2002).

В то же время, подготовка проб для анализа ДНК является достаточно трудоемким процессом. Он состоит из двух основных этапов – выделения ДНК из образцов тканей и собственно анализа последовательностей. Последний, в свою очередь, часто распадается еще на две стадии. На первой из полноразмерного генома тем или иным способом вычлениют последовательности, анализ которых собираются провести, и лишь на второй проводят уже сам анализ. Иногда выделению ДНК предшествует этап фракционирования ДНК-содержащих структур клетки (например, с целью выделить ядерную или митохондриальную ДНК в чистом виде), однако из-за своей трудоемкости, методики, в которых такое фракционирование является обязательным, обычно не становятся компонентами нанобиотехнологий.

Классический фенольный метод, позволяющий получать образцы ДНК высокого качества, способные храниться в замороженном виде или в 96% этаноле без заметной деградации годами, позволяет выделить силами одного человека не более 40–50 образцов ДНК в течение одного рабочего дня. Однако в настоящее время появились экспресс-методики и коммерческие наборы реагентов, позволяющие ускорить этот процесс в 2–3 раза, хотя они часто удорожают стоимость работ и/или полученная с их помощью ДНК может не отвечать высоким стандартам, что особенно заметно при длительном хранении. Образцы ДНК, полученные при помощи различных экспресс-методик, должны быть проанализированы, как правило, в течение ограниченного промежутка времени (например, в течение недели, месяца или полугода) и не всегда подходят для создания эталонных коллекций.

Независимо от способа выделения, любые образцы тотальной клеточной ДНК подходят для большинства исследований как ядерной, так и митохондриальной ДНК. Это связано с тем, что изучение интегральных характеристик генома отдельных клеточных структур (например, оценка доли повторяющихся последовательностей в геноме или его GC-состава) ушло в прошлое, и современных исследователей интересуют, как пра-

вило, конкретные последовательности – кодирующие или некодирующие. При этом полная структура митохондриального генома известна уже для многих сотен организмов, и потому вычленивать митохондриальные последовательности из общего массива обычно не составляет труда.

3.1.2.2. Анализ митохондриальной ДНК

Молекулярно-генетические исследования митохондриальной ДНК, которая наследуется только по материнской линии, служат незаменимым инструментом при изучении происхождения видов. Кроме того, мтДНК хорошо маркирует пути расселения различных организмов по ареалу, в связи с тем, что в отличие от ядерной ДНК она не рекомбинирует, и мутации накапливаются в ней последовательно.

Поскольку митохондриальный геном относительно невелик (у рыб длина последовательности кольцевой молекулы мтДНК составляет обычно около 16–17 тысяч пар нуклеотидов), уже сейчас известны его полные последовательности для сотен видов, в том числе, для атлантического лосося (Hurst et al., 1999) и радужной форели (Zadroya et al., 1995). Достаточно хорошо изучены и нуклеотидные вариации, характерные для каждого из этих видов.

Основным инструментом исследования вариативности митохондриального генома последние 20–25 лет служил ПЦР-ПДРФ анализ (анализ полиморфизма длины рестриктных фрагментов, RFLP – restriction fragment length polymorphism).

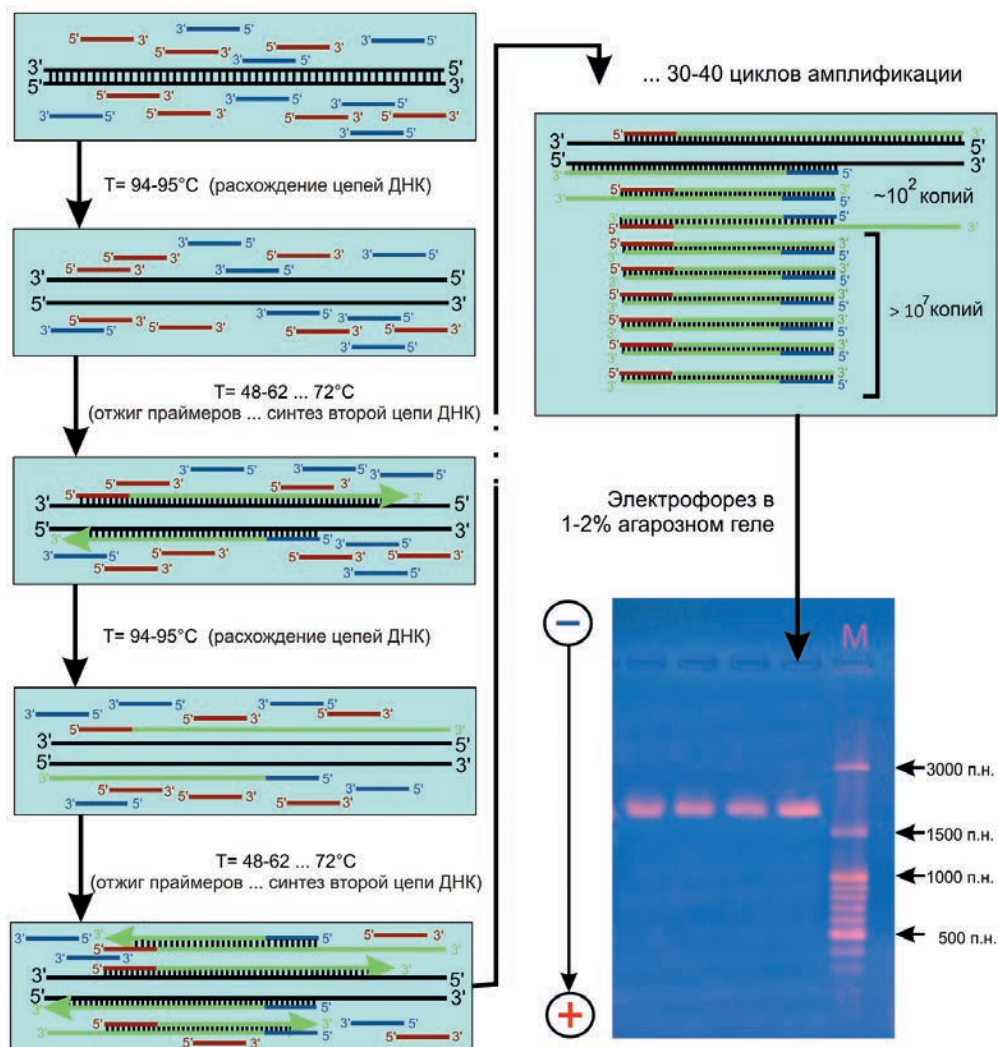


Рис. 25. Схема полимеразной цепной реакции (ПЦР) с двумя уникальными праймерами. **Условные обозначения:** черные линии – исходная ДНК; короткие вертикальные отрезки, соединяющие линии – водородные связи между нуклеотидами двухцепочечной ДНК; синие и красные отрезки – праймеры двух типов; зеленые линии – вновь синтезирующиеся цепи ДНК, стрелки обозначают направление удлинения цепи; нуклеотиды, из которых строятся новые цепи ДНК и фермент Таq-полимераза, осуществляющий удлинение цепей с 3'-конца праймера, на схеме не обозначены. В лунку геля, обозначенную буквой М, внесен маркер длины (набор фрагментов ДНК с известными длинами, справа от изображения геля указаны длины для некоторых фрагментов ДНК, образующих в геле маркерные полосы).

Суть этого метода состоит в том, что на молекуле мтДНК выбирают один из наиболее вариабельных участков (обычно длиной около 1500 – 2500 п.н.), который фланкирован консервативными последовательностями. К консервативным участкам подбирают комплементарные праймеры (затравки), таким образом, чтобы получить при амплификации (то есть в результате полимеразной цепной реакции – ПЦР) фрагмент мтДНК, выбранный для исследования (Рис. 25).

Полученный ПЦР-продукт обрабатывают эндонуклеазами рестрикции (рестриктазами), – ферментами, способными узнавать на последовательности ДНК характерные (обычно 4-6-нуклеотидные) участки и разрезать по этим сайтам молекулу ДНК. В результате расщепления ферментами образуется набор ДНК-фрагментов, которые разделяют электрофорезом в агарозном или полиакриламидном неденатурирующем геле. Вариации числа и/или длины полученных фрагментов у разных особей свидетельствуют о полиморфизме исследуемого участка мтДНК (Рис. 26).

Каждый набор фрагментов соответствует определенному типу последовательности ДНК (с известными сайтами рестрикции в ключевых точках). Эти варианты называют гаплотипами; для каждого гаплотипа указывают, на фрагменты какой длины распадается характеризующий фрагмент ДНК (Рис. 26).

Обычно при ПЦР-ПДРФ анализе один и тот же образец ДНК подвергают рестрикции несколькими разными ферментами, и для каждой рестриктазы получают свой набор гаплотипов (Рис. 26). Этим гаплотипам дают буквенные обозначения, например – А, В и С, если для данной рестриктазы обнаружены три различных варианта расщепления анализируемого фрагмента. Для разных рестриктаз число вариантов расщепления может быть различно.

В качестве полной характеристики анализируемой последовательности выступает комплексный гаплотип, представляющий собой сочетание гаплотипов для всех рестриктаз, использованных при анализе. Таким образом для фрагмента, охарактеризованного по пяти рестриктазам, обозначение комплексного гаплотипа может выглядеть, например так: AADAC. Порядок рестриктаз в каждом конкретном случае обязательно указывают. Например, он может выглядеть следующим образом: *AvaII*, *DraI*, *HaeIII*, *HinfI*, *RsaI*. Тогда приведенная выше запись комплексного гаплотипа означает, что для данной последовательности по рестриктазе *AvaII* характерен гаплотип А, по рестриктазе *DraI* – гаплотип А, по *HaeIII* – гаплотип D и т.д.

Здесь сразу же следует упомянуть, что метод ПЦР-ПДРФ анализа, по крайней мере, в его классическом варианте, для анализа последовательностей ядерного генома неприменим. Хотя не со-

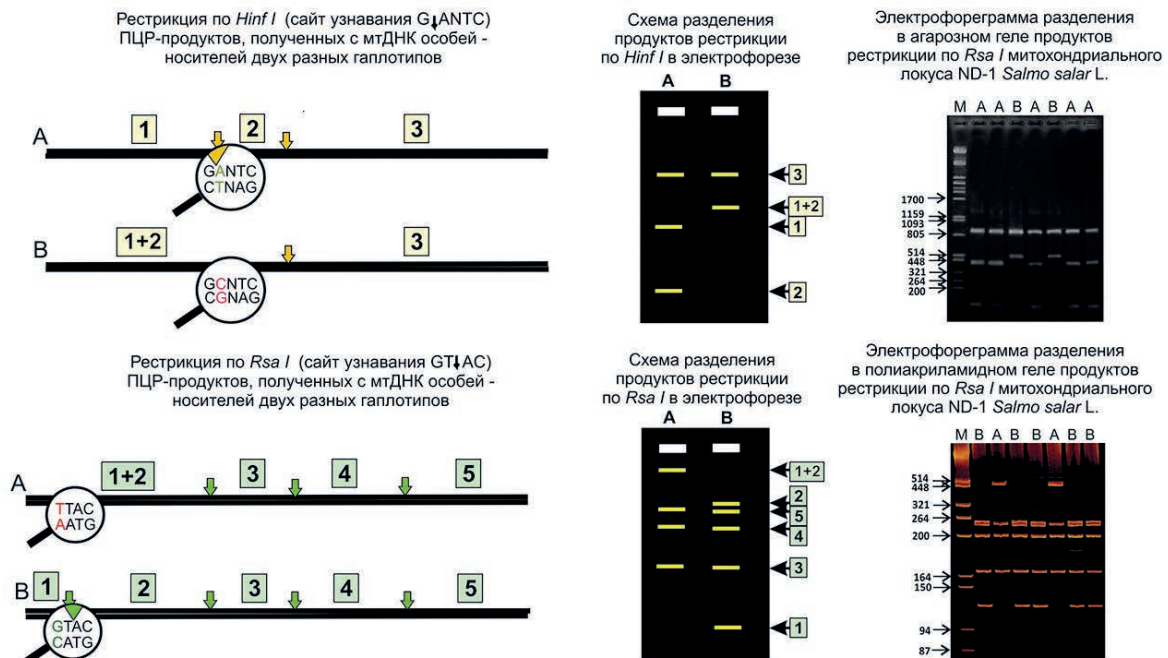


Рис. 26. Пример рестриктоного анализа ПЦР-продукта, полученного с мтДНК двух особей (носителей различных гаплотипов), двумя рестриктазами (*HinfI* и *RsaI*). Цифрами на рестриктной карте обозначены образующиеся в результате рестрикции фрагменты ДНК, на схеме разделения фрагментов в электрофорезе показано положение каждого из этих фрагментов (скорости миграции фрагментов в электрическом поле обратно пропорциональны их длине). Буквой М обозначены лунки геля, в которые была внесена смесь фрагментов ДНК известной длины (маркер или лэддер), длины некоторых фрагментов ДНК (в парах нуклеотидов, п.н.) в составе маркера указаны слева от изображения геля.

ставляет труда получить ПЦР-продукт почти с любого известного участка хромосомы и подвергнуть его рестрикции, анализ электрофореграмм в этом случае становится практически невозможным, если особь является гетерозиготой, а исследуемый участок – высокополиморфным. Митохондриальная ДНК же, как правило, представлена у любой конкретной особи единственным вариантом, несмотря на то, что каждая клетка содержит сотни митохондрий.

Случаи гетероплазмии (то есть присутствия в разных митохондриях клетки разных последовательностей мтДНК) встречаются достаточно редко и зарегистрированы далеко не у всех видов рыб. И если у отдельных видов осетровых гетероплазмия – явление достаточно обычное (до 50% особей в популяции могут оказаться носителями гетероплазмии (Brown et al., 1996)), то у атлантического лосося, например, до сих пор зарегистрирована единственная особь – носительница гетероплазмии (Артамонова и др., 2008), хотя за время существования метода в мире были протестированы, вероятно, уже сотни тысяч рыб этого вида.

Метод ПЦР-ПДРФ анализа в варианте, когда для характеристики участка ДНК используется 5–10 рестриктаз, достаточно трудоемок и дорог. Стоимость анализа одной последовательности в этом случае вполне сопоставима со стоимостью сиквенса (то есть полного прочтения нуклеотидной последовательности, что гораздо более информативно), а по трудоемкости он может даже превышать секвенирование. По этой причине весьма маловероятно, что классический ПЦР-ПДРФ анализ митохондриальной ДНК может иметь широкое применение в практике рыбоводства и аквакультуры в целом. Тем не менее, отдельные компоненты этой технологии, широко применяемой с исследовательскими целями, безусловно, могут быть полезны и даже незаменимы для практики.

Например, с помощью данной методики легко определить видовую принадлежность матери межвидовых гибридов – для этого достаточно провести рестрикцию ПЦР-продукта всего одним–двумя ферментами, поскольку хорошо выраженные виды различаются по набору ДНК-фрагментов, генерируемых некоторыми рестриктазами, достаточно сильно и при этом не демонстрируют внутривидового полиморфизма.

Аналогичным образом, ПЦР-ПДРФ анализ помогает легко установить видовую принадлежность икры рыб: каждая неоплодотворенная икринка содержит миллионы копий митохондриальной ДНК, а значит, даже одной икринки оказывается достаточно для прояснения этого вопроса.

Что же касается перспектив определения породной принадлежности объектов аквакультуры в рамках одного вида, то для такой цели ПЦР-ПДРФ анализ, в основном, непригоден: митохон-

дриальная ДНК рыб, в том числе, лососевых, для этого недостаточно полиморфна. Так, для наиболее вариабельного участка мтДНК атлантического лосося, содержащего ген *ND-1*, методом ПЦР-ПДРФ анализа на всем ареале было выявлено лишь 9 различных гаплотипов, хотя для обнаружения полиморфных участков пытались использовать более 40 различных рестриктаз (обзор: Артамонова, 2007б). При этом максимальное число гаплотипов, зарегистрированное в одной популяции, равнялось пяти, а в подавляющем большинстве случаев составляло 1–3 гаплотипа на популяцию.

У радужной форели из нативного ареала разнообразие гаплотипов несколько больше, однако в каждой популяции присутствует также не более трех гаплотипов мтДНК (Camarena-Rosales et al., 2008).

Кроме того, при селекции изменения в соотношении гаплотипов мтДНК если и происходят, то в подавляющем большинстве случаев только в силу случайных причин: за хозяйственно-важные признаки отвечают, как правило, комплексы ядерных генов. Пока известны лишь единичные случаи связи мтДНК с хозяйственно-ценными признаками, в том числе у благородных лососей (см. раздел 3.2.3.2).

3.1.2.3. Анализ мини- и микросателлитов

Одними из самых перспективных маркеров, особенно для тестирования породной принадлежности объектов аквакультуры, считаются на сегодняшний день мини- и микросателлиты. Работы, в которых представлены сравнительные характеристики различных пород и селекционированных линий лососевых рыб базируются во всем мире, преимущественно, на анализе микросателлитов.

Микросателлитный локус представляет собой участок генома, состоящий из расположенных тандемно ди- три- или тетра-нуклеотидов, (число повторяющихся элементов может варьировать от единиц до нескольких десятков), фланкированных с двух сторон уникальными последовательностями (Рис. 27). Иногда внутри локуса встречаются вставки из нескольких нуклеотидов,рывающие повторяющийся мотив. Минисателлитные локусы устроены аналогичным образом, за исключением того, что длина повторяющегося элемента может быть значительно больше (обычно 10–40 п.н.) (Wirgin, Waldman, 2005). Деление на мини- и микросателлиты, по существу, достаточно условно.

Для практических целей в аквакультуре используют уже известные мини- и микросателлитные локусы – поиском новых занимаются научно-исследовательские лаборатории. Главная ценность этих маркеров заключается в том, что они исключительно высокополиморфны. Друг от дру-

га аллели микросателлитов отличаются числом повторяющихся элементов, и в среднем в природных популяциях лососевых рыб число аллелей составляет 10–20 на локус (обзор: Артамонова, 2007б), но в некоторых случаях может достигать до 50 и более (Skaala et al., 2004).

Трудоемкость микросателлитного анализа значительно ниже, чем ПЦР-ПДРФ анализа митохондриальной ДНК – его проводят всего в два этапа. На первом этапе в результате реакции амплификации с уникальными праймерами, комплементарными фланкирующим последовательностям микросателлитного локуса, получают ПЦР-продукт. При этом в амплификате будет представлен исследуемый микросателлит, полученный с двух гомологичных хромосом, то есть проба является, по существу, смесью ПЦР-продуктов двух типов. Если особь – гетерозигота по данному локусу, то ПЦР-продукты имеют разную длину, а если гомозигота – одинаковую (Рис. 27). На втором этапе анализа проводят

электрофорез в полиакриламидном геле или капиллярный электрофорез с целью разделения ПЦР-продуктов и определения их длины путем сравнения со стандартом. Каждый из методов имеет свои достоинства.

При электрофорезе в полиакриламидном геле можно обойтись без чрезмерно сложной аппаратуры и дорогостоящих расходных материалов, однако он достаточно трудоемок и часто требует собственной калибровки для каждого локуса.

Наиболее надежные результаты можно получить при работе с длинными (не менее 30 см) денатурирующими гелями. В этом случае ДНК перед нанесением денатурируют (то есть отделяют цепи молекулы друг от друга, например, нагреванием в формамиде), а в гель в качестве денатурирующего реагента добавляют мочевины в высокой концентрации. Одну–две лунки геля резервируют для маркера, представляющего собой смесь фрагментов ДНК известной длины, а в остальные вносят исследуемые образцы.

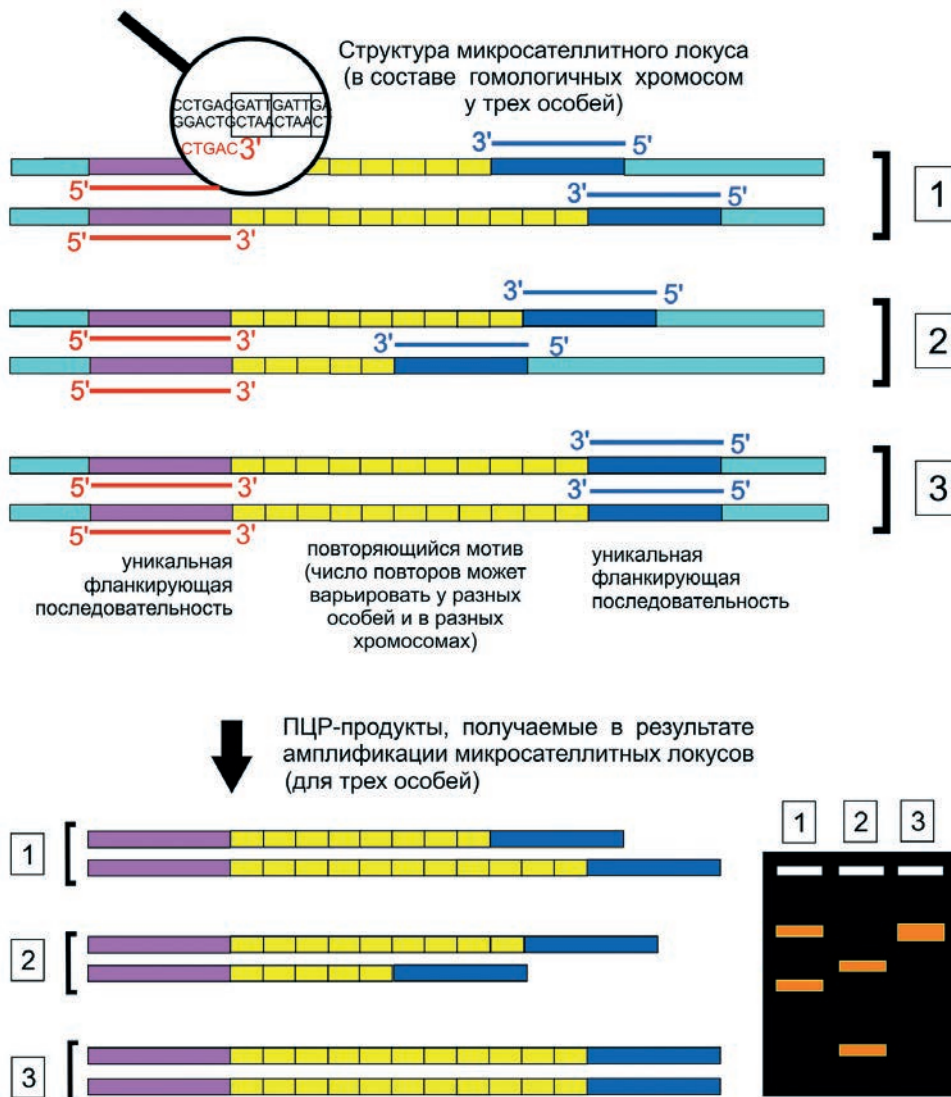


Рис. 27. Пример структуры микросателлитного локуса и методический подход к использованию микросателлитных маркеров в популяционных исследованиях.

Трудность работы с длинными денатурирующими гелями заключается в том, что их, как правило, необходимо пришивать к стеклу, обрабатывая его поверхность специальными реагентами, и после регистрации полученных данных отделение геля от стекла занимает достаточно много времени (требуется замачивание стекол в растворе щелочи, обычно на сутки). Кроме того, денатурирующие гели окрашивают с использованием нитрата серебра, и при этой процедуре необходимы значительные количества воды высокой степени очистки. Зоны окрашивания проявляются на прозрачном геле в виде серых полос.

Работать с неденатурирующими гелями, особенно с короткими (около 20 см), значительно проще. Высокое качество реактивов в этом случае не требуется, и короткие гели к стеклу не пришивают. Кроме того, двунитевые фрагменты ДНК легко окрасить бромистым этидием – красителем, молекулы которого встраиваются между цепями двунитевой молекулы ДНК и делают соответствующие зоны видимыми в ультрафиолете (Рис. 28).

Короткие неденатурирующие гели позволяют вполне надежно идентифицировать аллели, отличающиеся друг от друга на 3–4 нуклеотида, если длины исследуемых фрагментов не превышают

300–350 п.н. Однако аллели динуклеотидных локусов этим методом идентифицируются с трудом даже при незначительных искажениях фронта электрофореза.

Кроме того, следует обратить внимание на то, что данные, полученные путем электрофореза в денатурирующем и неденатурирующем гелях нельзя сравнивать напрямую – это может вести к серьезным ошибкам! Дело в том, что в неденатурирующем геле фрагменты ДНК как самого микросателлита, так и маркера, не обязательно ведут себя как линейные молекулы – они могут иметь вторичную структуру, то есть содержать так называемые шпильки. При этом компактно сложенные молекулы могут двигаться в геле как быстрее, так и медленнее линейных фрагментов ДНК той же длины. Таким образом, при определении длин микросателлитов путем сравнения с маркером может возникнуть систематическая ошибка, зачастую превышающая различия между аллельными вариантами (до 5–7 нуклеотидов и более). Таким образом, начиная работу с новым микросателлитным локусом, следует обязательно оценить эту систематическую ошибку, протестировав несколько проб либо электрофорезом в денатурирующем геле, либо капиллярным электрофорезом и

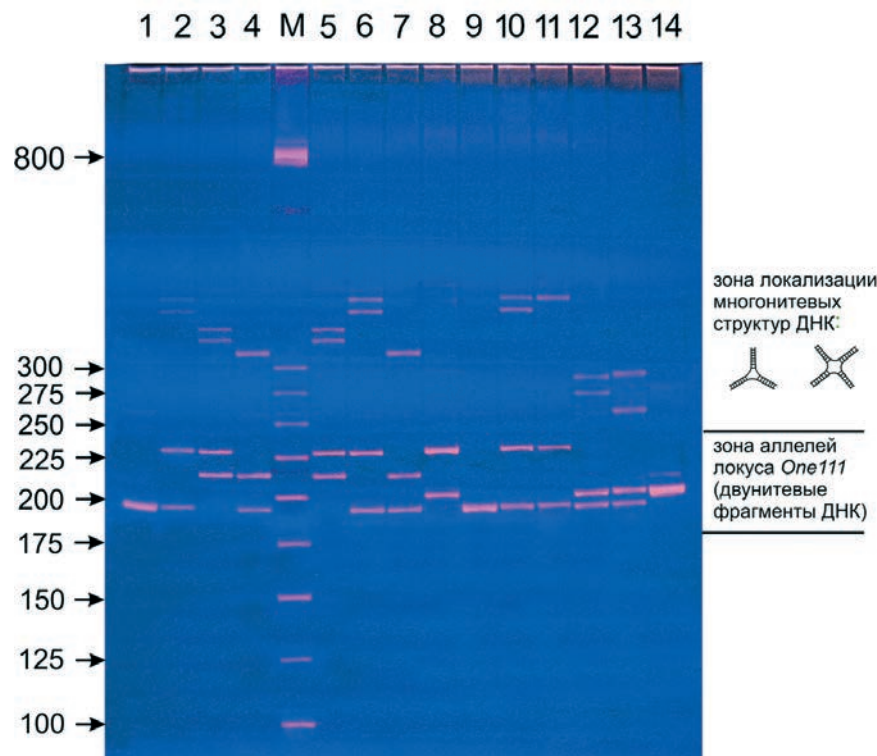


Рис. 28. Пример анализа микросателлитов в неденатурирующем 6 %-ном полиакриламидном геле: анализ выборки радужной форели по локусу *One111*. Выше зоны, где расположены двунитевые фрагменты ДНК, локализуются мультицепочечные структуры, состоящие из тех же нитей ДНК, что и двунитевые фрагменты. Образцы в лунках 10 и 11, а также 12 и 13 содержат аллели локуса *One111* одинаковой длины, но разного нуклеотидного состава, поскольку амплифицированные фрагменты образуют многонитевые структуры с разной подвижностью. В лунку, обозначенную М, внесен маркер. Длины фрагментов ДНК в составе маркера указаны слева (в парах нуклеотидов, п.н.).

сравнив полученные результаты с данными для электрофореза в неденатурирующем геле. Иногда оказывается удобным использовать впоследствии образцы, тестированные капиллярным электрофорезом, в качестве маркеров длины для данного конкретного локуса.

В то же время, у электрофореза в неденатурирующем геле есть одно преимущество, которого лишены методы, где при тестировании ДНК денатурируют. Дело в том, что при амплификации, последующей денатурации синтезированного фрагмента ДНК и следующей за ней ренатурации цепей в составе ПЦР-продукта появляются не только обычные двунитевые фрагменты ДНК, но и мультицепочечные структуры, содержащие три, четыре, и более нитей ДНК. Это становится возможным в тех случаях, когда особь является гетерозиготой, поскольку две цепи, начинающие ренатурировать как комплементарные, могут иметь разную длину повторяющегося участка. В этом случае к концу цепи, где отсутствуют комплементарные нуклеотиды, может присоединиться еще одна цепочка ДНК и т.д. В случае гомозигот мультинитевые структуры не образуются. При анализе в неденатурирующем геле структуры, состоящие из нескольких нитей ДНК проявляются в виде минорных полос в верхней части геля (Рис. 28). Часто их интерпретируют как результат неспецифического отжига праймера, но это неверно: в денатурирующих условиях полосы, соответствующие мультинитевым структурам, исчезают. Подвижность этих структур (да и сама возможность их образования) очень сильно зависит от нуклеотидной последовательности образующих их цепей ДНК, а значит, различия в подвижности минорных полос позволяют диагностировать различия в последовательности микросателлитов, имеющих одинаковую длину. Работы, в которых учитывались бы аллели микросателлитных локусов, имеющие не только разную длину, но и разный состав, в настоящее время отсутствуют. А между тем, разный состав внутренней части микросателлитного локуса (обычно в области вставки, разрывающей повторяющийся мотив) может маркировать, например, происхождение той или иной породы или линии.

Как и электрофорез в денатурирующем геле, капиллярный электрофорез позволяет различать только микросателлиты разной длины, но не разного состава, ДНК при таком типе анализа денатурируют. Капиллярный электрофорез – это автоматизированный метод, для которого используется тот же прибор, что и для автоматического секвенирования. Метод обладает исключительно высокой разрешающей способностью, позволяя легко выявлять различия в длинах фрагментов ДНК даже в один нуклеотид при длине исследуемого фрагмента 600 и более нуклеотидов. Не в последнюю очередь этому способствует то, что маркер наносят в тот же капилляр, что и исследуемый образец, а значит, они одновременно подвергаются воздействию одного и того же электрического поля (Рис. 29).

Особенность капиллярного электрофореза заключается в том, что этот метод требует, чтобы один из праймеров, используемых при получении ПЦР-продукта, был помечен по 5'-концу флуоресцентной меткой (Рис. 29). Каждый ДНК-фрагмент маркера также должен быть меченым (флуоресцентно меченые маркеры (лэддеры) производят в настоящее время несколько зарубежных фирм), причем флуоресцентной меткой другого цвета. Флуоресцентные метки в составе фрагментов ДНК перемещаются в электрическом поле вместе с этими фрагментами и позволяют проводить считывание результатов автоматически, причем без какого-либо дополнительного окрашивания ДНК.

Капиллярный электрофорез позволяет ускорить микросателлитный анализ в 2–5 раз (в зависимости от производительности прибора) по сравнению с электрофорезом в гелях и получить при этом максимально точные данные. Однако высокая стоимость самого прибора, а также расходных материалов, пока еще ограничивает его массовое применение в практике аквакультуры. Ситуация, однако, быстро меняется, и нет сомнений, что автоматизированный капиллярный электрофорез вытеснит со временем другие методы микросателлитного анализа благодаря своей высокой производительности, а электрофорез в гелях сохранит свое значение только для некоторых специализированных задач.

Капиллярный электрофорез позволяет ускорить микросателлитный анализ в 2–5 раз (в зависимости от производительности прибора) по сравнению с электрофорезом в гелях и получить при этом максимально точные данные. Однако высокая стоимость самого прибора, а также расходных материалов, пока еще ограничивает его массовое применение в практике аквакультуры. Ситуация, однако, быстро меняется, и нет сомнений, что автоматизированный капиллярный электрофорез вытеснит со временем другие методы микросателлитного анализа благодаря своей высокой производительности, а электрофорез в гелях сохранит свое значение только для некоторых специализированных задач.

То, что именно микросателлиты находят широкое применение в практике, в немалой степени обусловлено тем, что число таких локусов в хромосомах огромно. Например, один и тот же динуклеотидный мотив (CA) встречается в геноме позвоночных примерно через каждые 7–30 тыс. пар нуклеотидов (kb) (Chistiakov et al., 2006); полное число микросателлитных локусов в геноме человека оценивают примерно в 50 тысяч (1 на 30 тыс. п.н.) (монография: Харченко, Глазко, 2006). Именно благодаря тому, что микросателлиты очень просто устроены, а внутренние участки у множества локусов оказываются гомологичными, их легко находить в геноме при помощи относительно простых молекулярно-биологических приемов. Не случайно число микросателлитных локусов, картированных на хромосомах радужной форели, уже приблизилось к полутора тысячам (Slettan et al., 1996; Rexroad III et al., 2002; Nichols et al., 2003; Paterson et al., 2004; Skaala et al., 2004; Ng et al., 2005; Spies et al., 2005; Guymard et al., 2006). При этом следует еще раз подчеркнуть, что любой микросателлитный локус, как правило, уникален, поскольку уникальны его фланкирующие последовательности.

Целенаправленный поиск различий между породами рыб, как отдельное направление в по-

пуляционной генетике, начал развиваться только в 2000-е годы, после разработки и рутинизации методов микросателлитного анализа и широкого распространения программного обеспечения, позволяющего анализировать большие массивы данных (Silverstein et al., 2004; Gross et al., 2007). Хотя аллельное разнообразие микросателлитов в культивируемых линиях рыб, как правило, снижено в 1,5 и более раз, разрешающая способность микросателлитного анализа оказывается столь высока, что позволяет надежно (обычно с вероятностью более 95%) определять принадлежность отдельных особей к той или иной конкретной линии (породе), если эти линии были предварительно охарактеризованы на материале 30–50 особей (McConnell et al., 1995; Nielsen et al., 1997; Martinez et al., 2001; Nielsen et al., 2001; Saisa

et al., 2003; Vasemagi et al., 2005a; Lage, Kornfield, 2006). В то же время, следует подчеркнуть, что создание баз данных по конкретным породам рыб – задача чрезвычайно трудоемкая и дорогостоящая. Ее решение, безусловно, не под силу ни одному, даже очень крупному племенному хозяйству. И если мы хотим иметь возможность надежно определять происхождение посадочного материала, контролировать чистоту племенных стад лососей, осуществлять охрану селекционных достижений, в том числе, на мировом уровне, паспортизация пород объектов аквакультуры должна стать задачей государственного масштаба с соответствующим финансированием.

Надежность идентификации пород повышается с увеличением числа тестируемых локусов, однако, большинство исследователей сходятся на

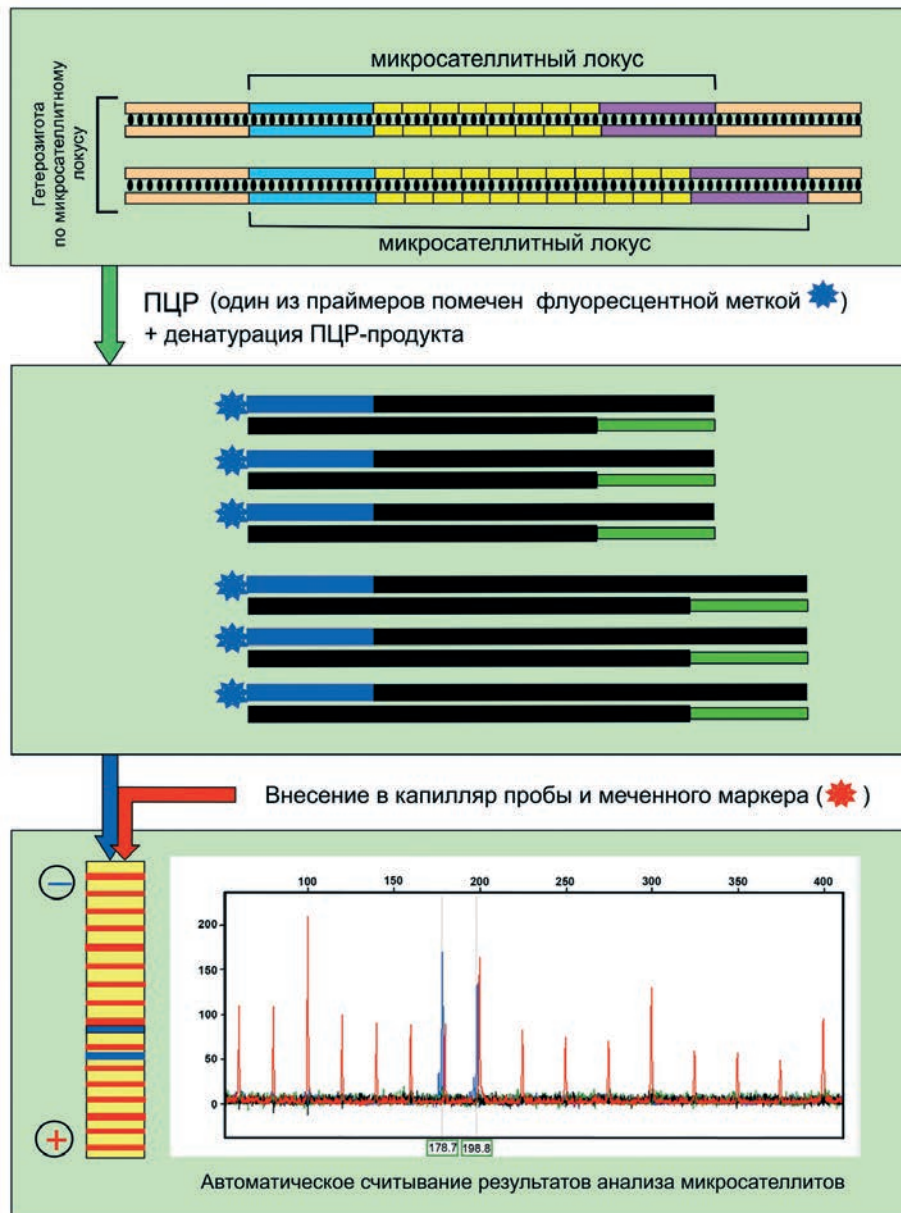


Рис. 29. Автоматизированный анализ микросателлитов в денатурирующих условиях (фрагментный анализ с использованием прибора для проведения капиллярного электрофореза).

том, что для практики достаточно 6–8 наиболее высоковариабельных микросателлитов (Norris et al., 2000; McGinnity et al., 2004; Skaala et al., 2004; Koljonen et al., 2005; Tonteri et al., 2005; Rengmark et al., 2006). При этом статистические оценки показывают, что в тех случаях, когда различия между выборками невелики, увеличение числа тестируемых локусов предпочтительнее, чем увеличение объема выборок – при одном и том же объеме работы увеличение числа тестируемых локусов позволяет получить более надежные результаты (Hansen et al., 2001).

Исключительно высокая чувствительность микросателлитного анализа позволяет использовать его не только для выявления различий между генетически близкими группами организмов, но и для того, чтобы надежно устанавливать родство отдельных особей, поскольку сочетание генотипов для разных микросателлитных локусов является, как правило, уникальным для организма (обзор: Avise, 2004). Это обстоятельство может сделать микросателлитный анализ в недалеком будущем незаменимым инструментом селекции.

И все-таки, несмотря на множество достоинств, микросателлитный анализ как нанобиотехнология имеет пока еще массу недостатков, а также ряд принципиальных ограничений в использовании.

Обилие возможных маркеров при отсутствии характеристик для индивидуальных локусов приводит к тому, что, сравнивая, например, породы и линии лососевых рыб между собой или с природными популяциями, каждая исследовательская группа использует свой набор микросателлитных локусов.

И хотя практически во всех случаях авторам удается отличать рыб, принадлежащих к конкретной породе от других особей со степенью надежности, превышающей 80% (часто 95% и выше), сравнение результатов, полученных в разных лабораториях, затруднено. Между тем, потребность в таком сравнении, безусловно, существует, поскольку некоторые породы лососевых рыб (например, форель Дональдсона) распространены очень широко, культивируются параллельно в Северной и Южной Америке, Европе, Австралии, и остается неизвестным, сохранили ли отдельные линии, существующие в разных хозяйствах, генетическую общность. И если они ее сохранили, то очень важно понимать, какой именно набор маркеров (тех же микросателлитных локусов) за эту генетическую общность отвечает: ведь нет сомнений, что некоторые локусы подвергались воздействию неконтролируемых генетических процессов по ходу адаптации конкретных маточных стад к местным условиям выращивания.

Уже сейчас существуют предпосылки к тому, что в самое ближайшее время набор маркеров используемых при идентификации пород лосо-

севых рыб, будет стандартизирован, по крайней мере, частично.

Так, например, уже предпринята попытка стандартизации исследований микросателлитов в природных популяциях атлантического лосося (Ellis et al., 2011).

Что касается радужной форели, то изучение разнообразия и особенностей наследования генетических локусов здесь упрощается благодаря тому, что для нее не так давно были построены подробные карты сцепления (Nichols et al., 2003; Guymard et al., 2006). В сумме на этих картах локализованы положения более 2 000 различных генетических маркеров. При помощи гибридизации *in situ* карты групп сцепления соотнесены с хромосомами радужной форели, и установлено, что всего геном этого вида насчитывает 31 группу сцепления, среди которых 21 метацентрическая и 10 акроцентрических (Guymard et al., 2006).

Характерно, что в числе микросателлитных маркеров картированы не только локусы, обнаруженные непосредственно у радужной форели, но и микросателлиты, выявленные первоначально у атлантического лосося, кумжи, нерки, кеты, чавычи, кижуча. Относительно целого ряда микросателлитных маркеров уже известно, что они присутствуют в геномах и полиморфны сразу у нескольких видов лососей (Rexroad III et al., 2002; Paterson et al., 2004). Более двухсот локусов, картированных у радужной форели, картированы также и у модельного объекта – рыбки данио (*Danio rerio*), причем в большинстве случаев они, как оказалось, относятся к тем же группам сцепления (Guymard et al., 2006). Таким образом, данные по картированию различных маркеров в геноме радужной форели могут оказаться чрезвычайно полезными при работе не только с этим видом, но и с другими рыбами.

Сведения по хромосомной локализации микросателлитов и других генетических маркеров могут быть востребованы при решении самых разных задач – изучении происхождения лососевых и филогенетических взаимоотношений внутри семейства, выявлении межвидовых гибридов. Это означает, в свою очередь, что особенности хромосомной локализации генетических маркеров следует учитывать при выборе спектра тестируемых локусов, используемых для идентификации пород рыб: эти локусы должны представлять, по возможности, разные хромосомы, в том числе, и половые.

Очевидно, также, что набор маркеров должен быть, в основном, унифицирован и пригоден для использования на разных видах лососей. Поэтому для идентификации пород желательно подбирать локусы, полиморфные сразу у нескольких видов. Для точной идентификации видовой принадлежности всех рыб исследуемой группы и выявления возможных гибридов первого поколения, среди исследуемых генетических локусов (не

обязательно микросателлитных) хотя бы один должен быть мономорфным и видоспецифичным (контроль видовой чистоты).

И, наконец, при отборе генетических локусов, которые целесообразно включить в стандартный набор для идентификации пород лососевых рыб, следует принять во внимание, что в недалеком будущем эти сведения будут активно использоваться в рыбоводной практике, селекции, с целью охраны селекционных достижений. В связи с этим, методика генетического анализа для стандартного набора локусов должна быть единой и максимально простой: желательно, чтобы используемые праймеры имели одинаковую температуру отжига, а диапазон аллельных вариантов каждого локуса располагался в пределах от 90 до 300 п.н.

Это последнее обусловлено необходимостью уверенного распознавания отдельных аллелей микросателлитов при тестировании проб, в том числе с использованием коротких неденатурирующих полиакриламидных гелей. С той же целью (уверенное распознавание аллелей) следует отдавать предпочтение три- и тетрануклеотидным локусам перед динуклеотидными. Предпочтение тетрануклеотидных локусов целесообразно еще и с той точки зрения, что, в среднем, их вариабельность выше, чем у динуклеотидных примерно в два раза (O'Reilly et al., 1996, Garant et al., 2000), хотя в геноме они встречаются в примерно в полтора раза реже (Chistiakov et al., 2006).

Однако даже при соблюдении всех перечисленных выше условий, набор микросателлитных локусов, используемых для идентификации пород лососевых рыб, еще долгое время будет неизбежно варьировать от вида к виду, и меняться с течением времени при появлении новых данных –возможно, кардинально.

В частности, в последние годы появляется все больше сведений о том, что микросателлитные локусы могут находиться под влиянием отбора, в то время как еще совсем недавно их считали нейтральными маркерами, основываясь на том, что они принадлежат к некодирующей фракции генома. По последним оценкам от 12 до 23 % всех известных микросателлитов не являются нейтральными – они либо подвержены отбору непосредственно, либо (в большинстве случаев) сцеплены с генами, по которым может идти отбор (Ng et al., 2005; Vasemagi et al., 2005b; Antunes et al., 2006; Meier et al., 2011).

С одной стороны, это может означать, что маркеры данного типа помогут в дальнейшем выйти на гены, ответственные за локальные адаптации (Vasemagi et al., 2005b), а значит и за хозяйственно-ценные признаки, но, с другой стороны, такая ситуация может осложнить работу по генетической паспортизации пород и оценке степени родства между ними. Ведь может оказаться, что при переносе какой-то селекционируемой линии в новые условия среды частоты аллелей одного или

нескольких микросателлитов будут резко изменяться всего за 2–3 поколения, хотя на хозяйственно-ценных качествах породы это может никак не отразиться. Локусы такого типа должны исключаться из программы генетической паспортизации пород.

Еще одна важная и пока малоизученная особенность микросателлитных локусов заключается в том, что в условиях жесткого инбридинга, судя по всему, активизируются генетические механизмы, способствующие восстановлению их разнообразия. Среди изученных нами шести микросателлитных локусов радужной форели два, похоже, относились именно к числу локусов, способных мутировать с аномально высокой скоростью. У одной из линий радужной форели, происходящей всего от одной пары производителей (скрещивание осуществлено в 1983 году), было зарегистрировано по 10 аллелей двух микросателлитов. В остальных четырех локусах было выявлено два, четыре, и в двух локусах по пять аллелей. При этом в локусах, где имелось по пять аллелей, один из них в обоих случаях присутствовал с крайне низкой частотой (Artamonova et al., 2010b).

В среднем, скорость мутирования микросателлитов у лососевых рыб оценивают как $3,4\text{--}7,8 \times 10^{-4}$ за поколение (O'Reilly et al., 1998; Norris et al., 2000), однако по нашим предварительным данным она может очень сильно различаться для разных локусов. Если дальнейшие исследования это подтвердят, то локусы, мутирующие со скоростью, превышающей некую критическую величину, нужно будет исключать из программ паспортизации пород объектов аквакультуры. При этом они окажутся непригодными и для решения многих других популяционных задач, особенно практических.

Исходя из сказанного, становится понятно, почему выводы разных научных групп, использующих в своих исследованиях разные наборы микросателлитов, иногда противоречивы. В то же время, современное состояние вопроса, к сожалению, естественный и неизбежный этап в становлении микросателлитного анализа как нанобиотехнологического инструмента аквакультуры.

3.1.2.4. Анализ длин анонимных последовательностей генома

Еще десятилетие назад методы этого типа были очень популярны, в том числе, при изучении объектов сельского хозяйства. Это объяснялось тем, что исследователи активно стремились найти альтернативу аллозимному анализу как методу, позволяющему изучать кодирующую фракцию ядерного генома, но уже на основе ДНК-технологий и с более высоким разрешением.

В то же время, сведения о геномах подавляющего большинства растений и животных на момент внедрения методов ДНК-анализа в практи-

ку популяционных исследований были крайне скудны. По этой причине методы, развившиеся первыми, не делали различий между кодирующей и некодирующей фракциями генома. Более того, высокая стоимость и трудоемкость секвенирования на ранних этапах не позволяла массово изучать сами последовательности, и исследователям приходилось довольствоваться сравнением длин участков ДНК с неизвестной первичной последовательностью и функцией, заключенных между известными последовательностями.

К данной группе методов относятся, в первую очередь, **AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)**, **RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**, **ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats)**, а также некоторые другие, более специфичные. Общим для этих методов является то, что все они основаны на присутствии в геномах высших организмов большого числа (десятки тысяч) повторяющихся последовательностей длиной от 5–6 нуклеотидов и более, рассеянных по геному. Такие последовательности служат своеобразными «знаками препинания», разделяя единую последовательность ДНК на фрагменты различной длины. Если удастся найти способ определить длину фрагментов между такими «знаками препинания», это позволяет делать выводы о некоторых особенностях строения генома конкретных особей, пород, видов.

Простейшим примером методик этого типа может служить ПДРФ-анализ митохондриальной ДНК, который был рассмотрен выше. В этом случае в качестве повторяющихся последовательностей выступают сайты рестрикции, а расщепление мтДНК соответствующей рестриктазой делит последовательность на фрагменты в строгом соответствии с расположением рестриктных сайтов. Далее путем сравнения со стандартом (маркером) оценивают длины фрагментов, полученных в результате рестрикции (после проведения электрофореза в агарозном или неденатурирующем полиакриламидном геле), и по набору длин выявленных фрагментов делают выводы о структуре митохондриального генома каждой конкретной особи.

Метод AFLP (Amplified Restriction Fragment Polymorphism) представляет собой, по существу, модификацию рестриктного анализа, который не может быть использован напрямую для изучения ядерного генома, поскольку он в сотни тысяч раз больше митохондриального, да к тому же является диплоидным, а потому содержит множество гетерозиготных сайтов.

В классическом случае, который представлен на Рис. 30, тотальную ядерную (чаще клеточную) ДНК расщепляют рестриктазами (чаще всего для этой цели используют *EcoRI* и *Mse I*), которые генерируют фрагменты ДНК с так называемыми «липкими концами». На следующем этапе к пробе добавляют в избыточных количествах адапте-

ры – короткие синтетические фрагменты двунилевой ДНК (около 14–18 п.н.), имеющие с одной стороны липкий конец, комплементарный концу, генерируемому рестриктазой. Концентрацию адаптеров и другие условия подбирают с таким расчетом, чтобы подавляющее большинство фрагментов геномной последовательности оказалось фланкировано адаптерами, а «залипание» фрагментов друг на друга было минимальным. Одновременно адаптеры и концы фрагментов, между которыми образовались водородные связи, сшивают ковалентно при помощи фермента ДНК-лигазы.

Далее, используя праймеры, комплементарные последовательности адаптера, проводят предварительную амплификацию. Чтобы уменьшить число фрагментов, которые попадут в анализ, на следующем этапе амплификацию делают селективной. Для этого используют праймеры, содержащие на 3'-конце 1–3 дополнительных нуклеотида. Таким образом, амплифицируются и попадают в AFLP-анализ только те фрагменты геномной ДНК, на 3'-конце которых после сайта рестрикции идут строго заданные нуклеотиды. Для определения длин амплифицированных фрагментов используют электрофорез. Чтобы повысить разрешающую способность метода, на последнем этапе ПЦР используют радиоактивно или флуоресцентно меченые праймеры.

Этот метод сложен, трудоемок и пригоден, в основном, для научно-исследовательских целей, но не для рутинного тестирования образцов. В то же время, благодаря тому, что он позволяет выявлять одновременно множество полиморфных сайтов в геноме, его, как и другие методы данного типа, можно использовать для создания тест-систем, позволяющих отличать один вид от другого или одну породу рыб от другой.

В настоящее время такие работы только начинаются. Однако для лососевых нам известен пример создания тест-системы на основе AFLP-фрагмента, который позволяет отличать атлантического лосося от радужной форели (Zhang et al., 2007). Немного о принципах создания таких тест-систем будет сказано ниже.

В случае **RAPD** в качестве повторяющейся используют какую-либо произвольную последовательность длиной около 10 нуклеотидов, и образцы для анализа получают в результате ПЦР, как правило, с единственным праймером. Таким образом, в ходе реакции амплифицируются участки ДНК, расположенные между местами отжига этого праймера на двух противоположно направленных цепях, если 3'-концы праймера в этих сайтах оказываются направлены навстречу друг другу (Рис. 31).

Конечно, не все последовательности встречаются в геноме одинаково часто, и во многих случаях частота встречаемости той или иной последовательности оказывается видоспецифичным

признаком, однако, начиная работу с новым объектом, исследователь вынужден, как правило, подбирать подходящие последовательности (праймеры) экспериментально.

Отжиг коротких праймеров при ПЦР затруднен, и происходит обычно при температуре около $+35 - +40^{\circ}\text{C}$ (Smith, 2005). При этом разброс температур в ходе реакции, профиль нагрева и остывания амплификата на разных стадиях цикла и даже различия в толщине стенок пробирок разных фирм-производителей могут оказать влияние на полученный результат. Таким образом, этот метод никак нельзя назвать надежным и хо-

рошо воспроизводимым. По существу, сравнивать с его помощью можно лишь те образцы, которые были обработаны в абсолютно идентичных условиях, на одном и том же приборе, и желательно в одной серии.

Не случайно интерес к RAPD во всем мире постепенно угасает. Многие зарубежные журналы уже отказались принимать статьи, выводы которых основаны на RAPD. Для создания нанобиотехнологий этот метод, по-видимому, также бесперспективен. Тем не менее, для предварительных исследовательских целей он, как и другие методы анализа длин анонимных последователь-

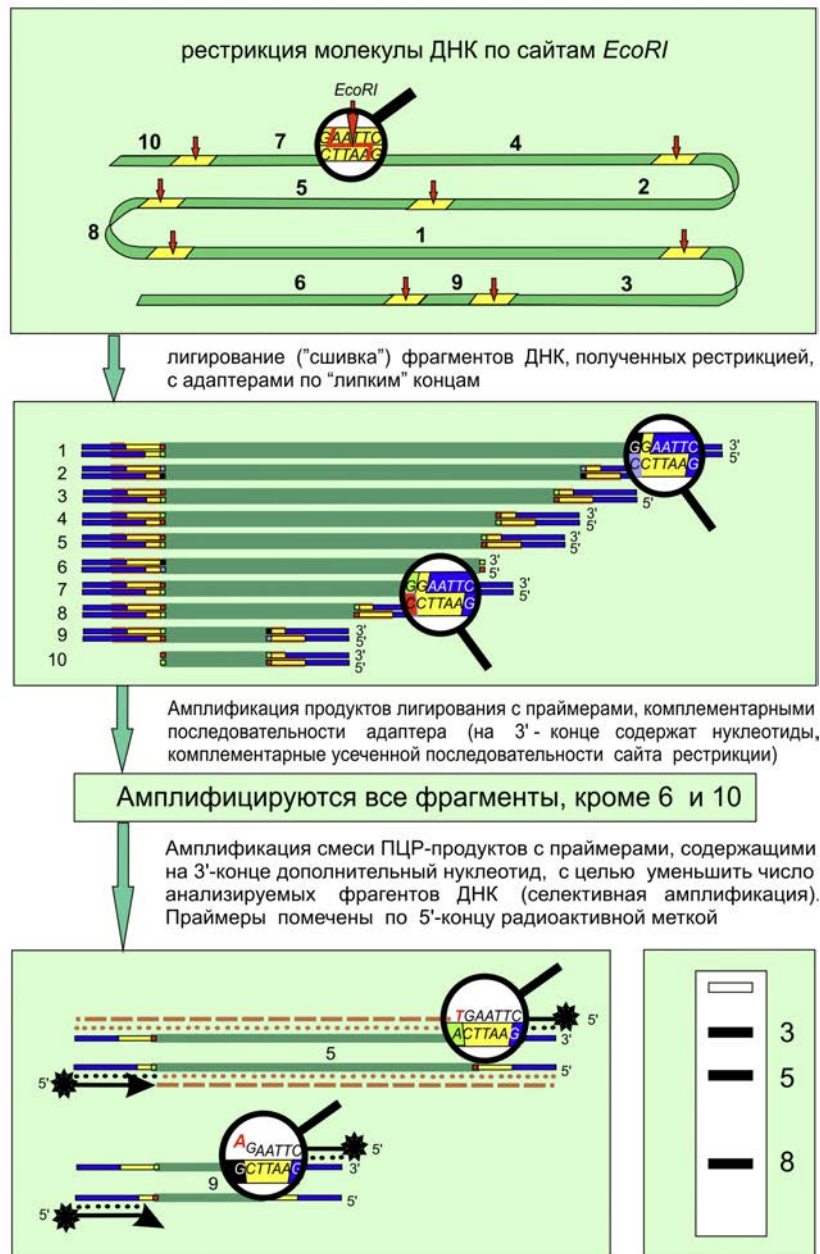


Рис.30. Схема AFLP-анализа. Представлен вариант расщепления ДНК только одной рестриктазой. В случае, если праймер для селективной амплификации помечен радиоактивной меткой, полученные фрагменты ДНК детектируют, помещая гель с наложенной на него рентгеновской пленкой в светонепроницаемую кассету (автордиография).

ностей генома иногда может оказаться весьма полезным.

В частности, отечественные исследователи разработали с использованием RAPD-анализа несколько SCAR-маркеров (Sequence Characterized Amplified Region), позволяющих выявлять полиморфизм на уровне ДНК в природных популяциях радужной форели. Эти маркеры были получены после того, как были подобраны индивидуальные праймеры к полиморфным локусам, выявленным при исследовании образцов методом RAPD с одним и с двумя праймерами (Мельникова и др., 2010). Подробнее о получении маркеров на основе SCAR рассказано в конце данного раздела.

Воспроизводимость результатов для метода ISSR оказывается заметно лучше, чем при RAPD, хотя принципы анализа в этом случае остаются абсолютно такими же. Эти два метода различаются только тем, что в случае ISSR в качестве праймеров выбирают последовательности микросателлитных повторов длиной 15–25 нуклеотидов (Рис. 32).

Как уже было сказано выше, микросателлиты, особенно динуклеотидные, встречаются в геномах достаточно часто, а потому, как и в случае AFLP, изучение одновременно всех возможных последовательностей, заключенных между повторяющимися мотивами, представляется невыполнимой задачей. Кроме того, микросателлитные

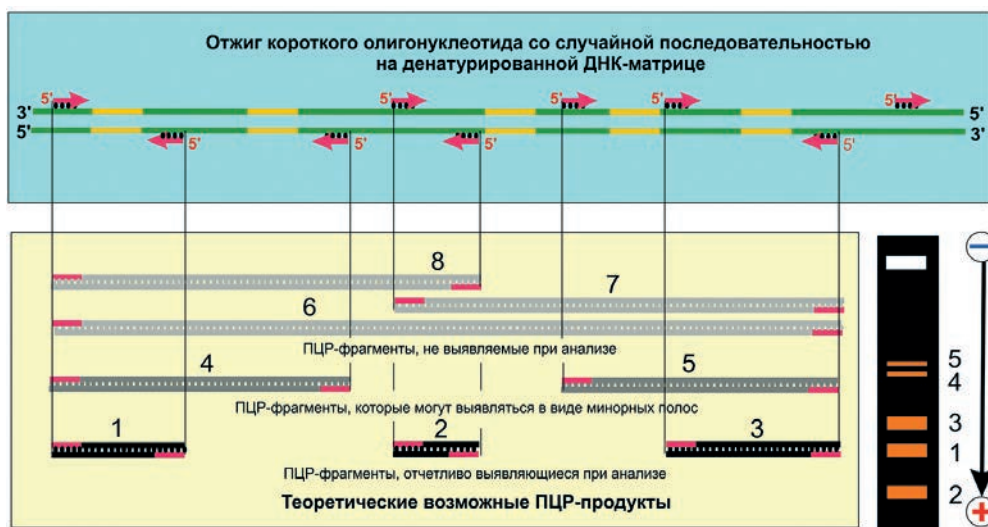


Рис. 31. Схема RAPD-анализа. Желтым цветом обозначены участки тандемно расположенных коротких повторов (минисателлиты, микросателлиты), зеленым цветом – другие (в том числе, кодирующие) последовательности ДНК.

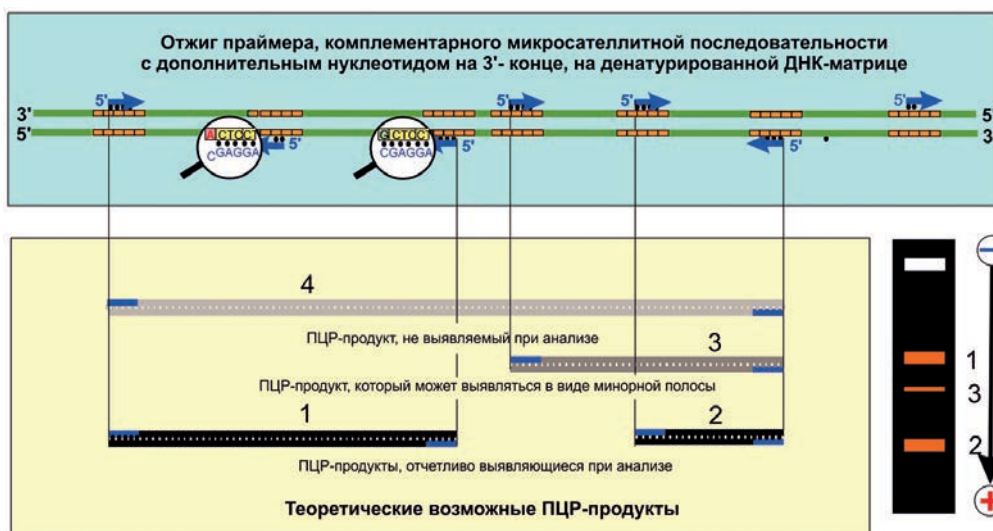


Рис. 32. Схема ISSR-анализа. Желтым цветом обозначены участки микросателлитов – тандемно расположенных коротких повторов, зеленым цветом – другие (в том числе, кодирующие) последовательности ДНК. Показано, что амплифицируются только те последовательности, которые фланкированы такими микросателлитными локусами, где к 5'-концу повторяющегося мотива прилегает нуклеотид, комплементарный нуклеотиду на 3'-конце праймера.

мотивы у разных особей содержат разное число повторов, а потому необходима «привязка» праймера к элементу за пределами повторяющегося мотива. С этой целью на 3'-конце праймера располагают 1–2 дополнительных нуклеотида, отличных от нуклеотидов в повторяющемся мотиве (Рис. 32).

Благодаря большей длине ISSR-праймеров по сравнению с праймерами для RAPD, температура их отжига оказывается существенно выше (часто больше +60° С), что улучшает воспроизводимость результатов. Однако главное достоинство метода состоит в том, что с его помощью можно наиболее близко подойти к решению задачи дифференциального изучения именно кодирующей фракции генома по сравнению с другими аналогичными методами. Дело в том, что хотя обычно микросателлиты расположены в некодирующих участках ДНК (Chistiakov et al., 2006), они достаточно часто фланкируют гены (Харченко, Глазко, 2006), о чем говорит и то обстоятельство, что в среднем каждый четвертый–пятый из них находится под отбором (см. раздел 3.1.2.3.). Это означает, что при некоторых условиях кодирующие последовательности должны оказываться внутри участков ДНК, фланкированных микросателлитными мотивами чаще, чем внутри участков, ограниченных случайными последовательностями. Долю маркеров, представляющих кодирующую фракцию генома можно повысить, если выбирать в качестве праймеров микросателлитные мотивы, наиболее часто представленные в транскрибируемых районах у данного конкретного вида. Таким способом можно увеличить долю кодирующих последовательностей во фракции ISSR в 3–4 раза (Харченко, Глазко, 2006).

Хотя при помощи ISSR-маркеров удается (порой надежно!) выявлять различия между популяциями различных видов, сортами растений и породами животных, этот метод не может массово применяться для рутинных исследований в аквакультуре. Как и в случае других методов того же типа, большое значение для воспроизводимости результатов здесь имеет абсолютная идентичность условий амплификации, поэтому сравнивать данные, полученные в разных лабораториях, довольно затруднительно.

Однако все методы, описанные выше, могут очень пригодиться для **разработки высокотехнологических тест-систем**, в основе которых лежит использование так называемых **SCAR-маркеров (Sequence Characterized Amplified Region)** часто способных давать однозначные ответы, касающиеся видовой, популяционной или породной принадлежности объектов сельского хозяйства. Для этого необходимо выделить в геле, где проводили AFLP, RAPD или ISSR-диагностику, полосу, специфичную для породы, популяции или вида, извлечь ДНК этой полосы

из геля, клонировать (размножить) этот специфичный фрагмент, секвенировать его и разработать уникальные праймеры для его идентификации.

Если данный фрагмент и/или его длина действительно специфичны для какой-то группы объектов, то ПЦР с использованием уникальных праймеров позволит получать для них ПЦР-продукт строго определенной длины, в то время как для представителей другой породы, популяции или вида получаемый продукт должен иметь другую длину или не синтезироваться вовсе. Первое, безусловно, предпочтительнее, поскольку отсутствие ПЦР-продукта иногда может означать не принадлежность объекта к другой группе организмов, а неправильную постановку реакции или плохое качество тестируемой ДНК.

Поэтому для подобных случаев, с целью исключить неоднозначность трактовки, система должна содержать внутренний положительный контроль – в смесь для амплификации необходимо добавлять специально сконструированный фрагмент ДНК, фланкированный последовательностями, комплементарными праймерам; такой фрагмент должен быть обязательно длиннее фрагмента, синтезирующегося в случае положительной реакции. Условия реакции необходимо подбирать таким образом, чтобы этот фрагмент четко идентифицировался при отсутствии специфического участка в тестируемой пробе, но «проигрывал» при конкуренции за праймеры, если проба содержит специфическую последовательность, для выявления которой предназначена тест-система. Однако даже в этом случае тест, где некоторые объекты могут не содержать фрагмента ДНК, фланкированного специфическими праймерами, оказывается в некоторой степени ущербным, поскольку с его помощью нельзя выявлять межвидовых или межпородных гибридов.

В идеале, когда последовательность ДНК характерной длины присутствует у всех представителей группы и отсутствует или имеет другую длину у прочих объектов исследования, для тестирования может быть достаточно единственного локуса, однако в большинстве случаев это возможно только тогда, когда сравнивают филогенетически отдаленные группы организмов – например, разные виды. Для того чтобы уверенно говорить о принадлежности объекта к конкретной породе или популяции, может понадобиться тестирование значительно большего числа специфических локусов – до шести–восьми.

Хотя в настоящее время подобных тест-систем разработано немного (см. раздел 3.2.1.), это направление может оказаться весьма перспективным. По своей надежности и доступности для решения практических задач оно вполне сможет конкурировать с самым перспективным на сегодняшний день методом – SNP-анализом.

3.1.2.5. Анализ сайтов, содержащих единичные полиморфные нуклеотиды (SNP-анализ)

Метод SNP – это метод анализа однонуклеотидных полиморфизмов (Single Nucleotide Polymorphisms). Дело в том, что наиболее часто последовательности ДНК особей разных видов или представителей других близкородственных групп различаются именно единичными заменами нуклеотидов, а потому возможность надежно выявлять такие замены – актуальнейшая задача популяционной генетики. Для ее решения сделано уже немало. Общие принципы выявления SNP разработаны, и, более того, разработаны методики автоматизации SNP-анализа.

Разумеется, первоначальное выявление однонуклеотидных полиморфизмов в последовательности ДНК требует ее секвенирования. Однако тотальное секвенирование – это не только весьма дорогостоящее удовольствие. Для практических целей гораздо важнее не полное прочтение последовательности, а выявление в ней ключевых элементов, от которых зависят хозяйственно-важные признаки, поэтому информация, которую дает секвенирование, для решения практических задач в абсолютном большинстве случаев будет избыточной.

В качестве примера можно привести так называемые синонимичные замены в кодирующих последовательностях, когда триплет нуклеотидов, кодирующий какую-либо аминокислоту, оказывается заменен другим, но кодирующим ту же самую аминокислоту (различия между кодонами касаются, как правило, третьего нуклеотида в триплете – это связано с вырожденностью генетического кода). Белки, синтезирующиеся с этих двух вариантов ДНК, будут абсолютно идентичными, а значит, в большинстве случаев, синонимичная замена не скажется на функционировании организма.

Аллозимный анализ, то есть анализ непосредственно белков, отсекает эту, как правило, избыточную для практики составляющую полиморфизма кодирующих последовательностей генома. Недостаток аллозимного анализа заключается в обратном: в ряде случаев даже замена одной аминокислоты на другую может не приводить к заметному изменению подвижности белка в электрическом поле.

Правильный подбор сайтов для анализа SNP (в зависимости от цели исследования), позволяет решить задачу по изучению полиморфизма конкретных последовательностей оптимальным образом. Для этого вначале анализируют первичные последовательности какого-либо фрагмента ДНК у организмов, принадлежащих к тем группам, которые требуется различать (в каждой группе должно быть не менее 10-15 особей, оптимально – 30). Далее, находят замены, характерные только для одной из групп (в идеале), и все пос-

ледующие процедуры выполняют уже по отношению к выбранным сайтам.

Наиболее простым методом анализа SNP является, конечно же, рестриктный анализ ПЦР-продукта, однако подобрать рестриктазу, сайт которой разрушался или восстанавливался бы при конкретной замене одного нуклеотида на другой, удается не так уж часто. Поэтому в большинстве случаев для диагностики используют другой метод – **аллель-специфическую ПЦР** (Рис. 33).

Этот метод базируется на том, что синтез ПЦР-продукта с какого-либо праймера возможен лишь тогда, когда нуклеотид на его 3'-конце спарен с ДНК-матрицей (напомним, что удлинение цепи ДНК происходит с 3'-конца праймера). Поэтому для полиморфного сайта создают два праймера, которые отличаются друг от друга лишь тем, что на 3'-конце каждого из них располагается тот или иной вариант варьирующего нуклеотида. Нуклеотид, предшествующий варьирующему, обычно делают заведомо неспаренным, чтобы в случае неспаренного 3'-концевого нуклеотида полностью исключить случайный синтез ПЦР-продукта. Все остальные нуклеотиды обеспечивают нормальный отжиг праймера на ДНК-матрице. В качестве обратного для аллель-специфической ПЦР можно использовать любой праймер с подходящей температурой отжига, комплементарный участку на антипараллельной цепи ДНК. Желательно только, чтобы синтезируемый ПЦР-продукт имел длину около 300–600 п.н., то есть был удобен для детекции на геле, если детектирование ПЦР-продукта осуществляется не в автоматическом режиме (ПЦР в реальном времени).

Если тестирование осуществляют вручную, то реакцию с разными праймерами, содержащими варьирующий нуклеотид, проводят для одной и той же пробы в двух разных пробирках (обратный праймер в обоих случаях одинаковый). Успешное прохождение амплификации в одной из них и отсутствие ПЦР-продукта в другой позволяет определить, какой именно нуклеотид присутствует в данном сайте каждой конкретной пробы.

Однако более удобно и практично проводить анализ, когда праймеры с варьирующими нуклеотидами имеют разную длину (то есть, в одном из них имеются на 5'-конце дополнительные нуклеотиды – не обязательно комплементарные цепи ДНК). Если праймеры различаются по длине, то в реакцию берут сразу оба прямых праймера и один обратный, и по длине получаемого ПЦР-продукта определяют в электрофорезе, какой именно нуклеотид находится в положении, интересующем исследователя.

Современные приборы позволяют существенно облегчить подобные исследования, и даже избежать такой длительной и достаточно трудоемкой процедуры, как электрофорез. Если конец каждого из прямых праймеров помечен флуорес-

центной меткой разного цвета, а амплификатор оснащен датчиками, позволяющими регистрировать флуоресцентный сигнал от дунитевого ПЦР-продукта (прибор для ПЦР в реальном времени), то по появлению в пробе сигнала того или иного цвета можно сразу же определить, какой именно нуклеотид присутствует в соответствующей позиции цепи ДНК (Рис. 33).

Приборы для ПЦР в реальном времени существенно упрощают анализ SNP, однако в настоящее время разработаны уже и такие методики, которые позволяют упростить процедуру их выявления еще больше. Существует несколько таких подходов, но самый распространенный из них основан на ДНК-гибридации (Рис. 34).

При использовании этого метода нужно «пришить» к твердой подложке (например, стекло, нейлон или металлическая пластинка) в разных точках два олигонуклеотида (длиной около 8 нуклеотидов, если речь идет об однонуклеотидных SNP), комплементарных двум вариантам последовательности в районе исследуемого сайта. После этого фрагмент тестируемой ДНК денатурируют (например, нагреванием почти до 100°C), и приводят подложку с праймерами в контакт с раствором денатурированной ДНК. Раствор охлаждают до температур, при которых может происходить связывание тестируемой ДНК с олигонуклеотидами. На следующем этапе выполняют отмывку подложки от несвязавшихся фрагментов

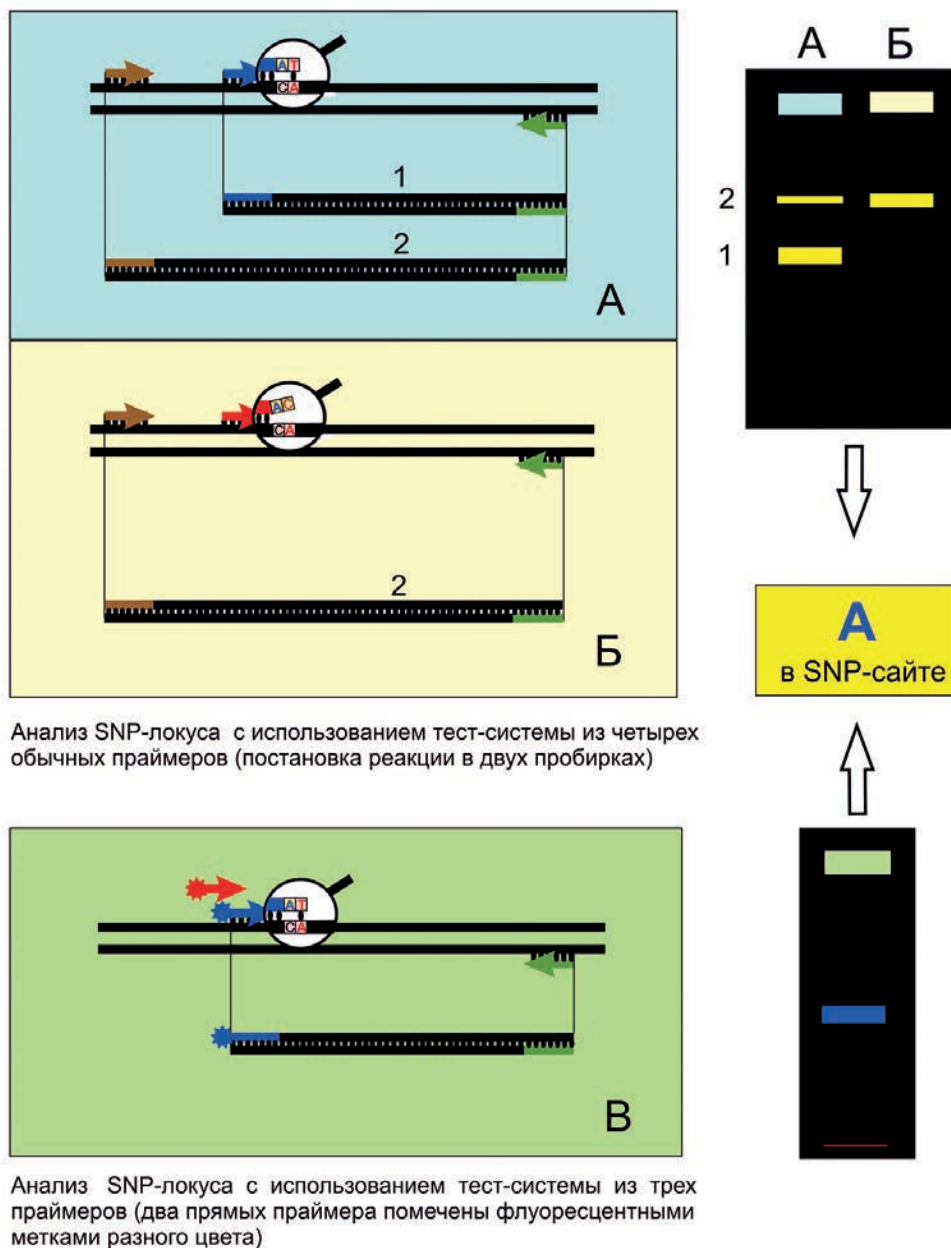


Рис.33. Два варианта аллель-специфической ПЦР (см. пояснения в тексте). Вариант с использованием меченых праймеров подходит для автоматизированной детекции продукта реакции (основанной на определении цвета метки, включившейся в ПЦР-продукт).

ДНК и окраску гибридных молекул красителем, который может связываться только с двунитевой ДНК (окрашивание не требуется в тех случаях, когда тестируемую ДНК заранее метят, например, радиоактивной меткой). Таким образом, только одна из двух точек, в которых локализованы пришитые к подложке олигонуклеотиды, оказывается окрашенной, а именно та, где был нанесен олигонуклеотид, полностью комплементарный последовательности, содержащейся в образце.

(Возможен и обратный вариант тестирования, когда к подложке «пришивают» образцы исследуемой ДНК, а затем гибридизуют их с меченым олигонуклеотидным зондом. При этом детектируются те образцы ДНК, которые содержат нук-

леотидную последовательность, полностью комплементарную последовательности зонда.)

Этот метод кажется громоздким только на первый взгляд. Ведь на одну подложку можно нанести сотни олигонуклеотидов для тестирования огромного количества SNP одновременно (или, как вариант, сотни образцов тестируемой ДНК). Таким образом создают микрочипы, которые достаточно привести на некоторое время в контакт с денатурированной ДНК образца, окрасить – и тут же будет получена исчерпывающая информация обо всех SNP, интересующих исследователя.

Разумеется, созданию таких микрочипов для решения конкретных задач должны предшествовать серьезные исследования, позволяющие оце-

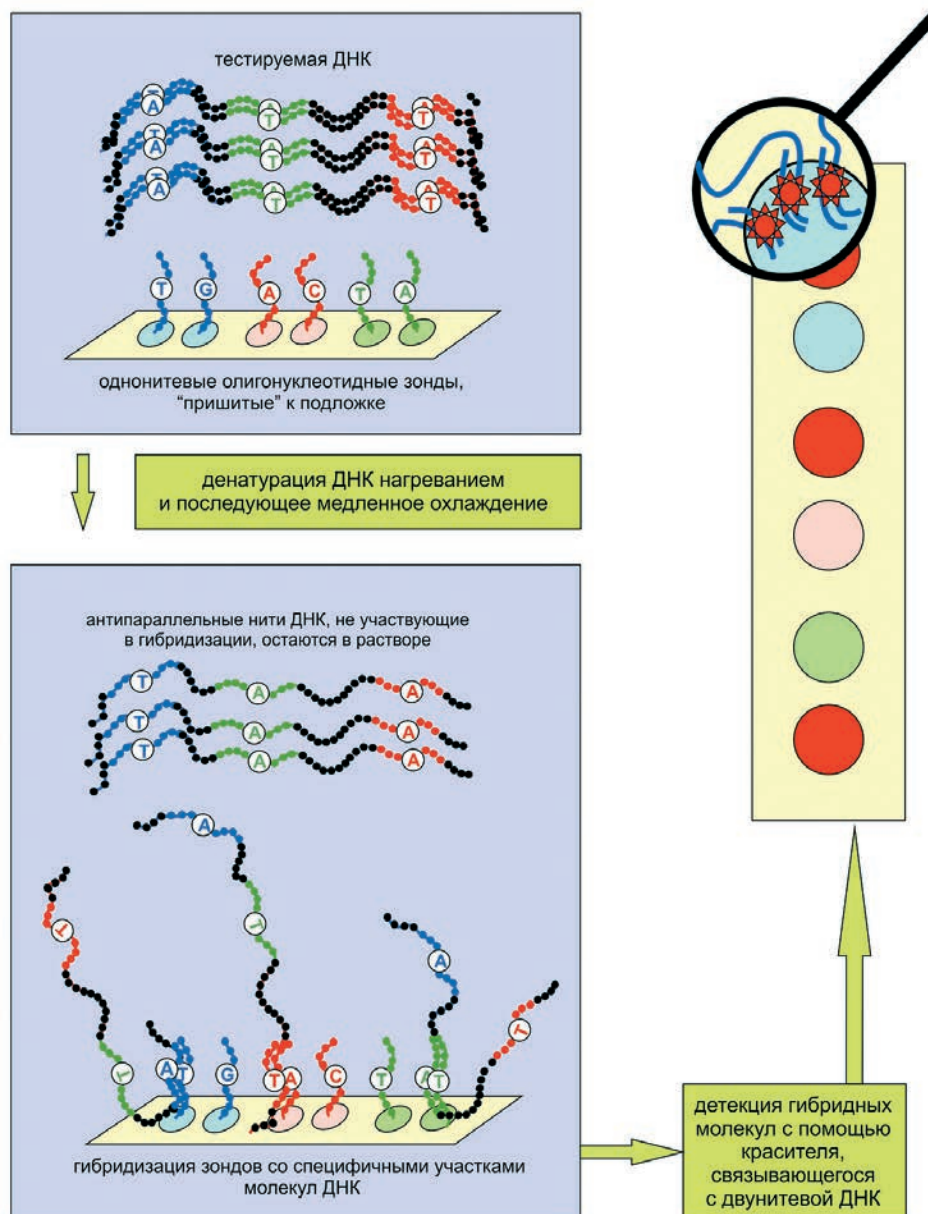


Рис. 34. Тестирование SNP методом гибридизации ДНК с олигонуклеотидными зондами, пришитыми к подложке. В данном примере тестированы три однонуклеотидных полиморфных сайта, расположенных в локусах, выделенных синим, зеленым и красным цветом. Звездочками оранжевого цвета обозначены молекулы красителя, связывающиеся с двунитевой ДНК.

нить, какие именно из всех возможных вариаций внутри последовательности являются существенными для распознавания конкретных пород, видов или внутривидовых группировок особей. В противном случае, тестирование на микрочипах будет давать много «шумовой» информации, несущественной для анализа конкретного типа.

SNP-анализ хорошо поддается автоматизации, и в этом его безусловное преимущество перед другими методами. Поэтому следует ожидать, что по мере выявления SNP, специфичных для диагностики видов, популяций или пород, а также удешевления и стандартизации микрочипов, этот метод заметно потеснит все остальные.

Уже сконструирован ряд микрочипов, позволяющих анализировать гены лососевых (Rise et al., 2007). В частности, в настоящее время созданы микрочипы, позволяющие анализировать од-

новременно 15 225 SNP атлантического лосося (Dominik et al., 2010) и 57 501 SNP радужной форели (Palti et al., 2015).

Мы рассмотрели в данном разделе только те методы молекулярно-генетического анализа, которые представляют безусловный интерес для практического использования в настоящем или в ближайшем будущем. Однако некоторые результаты, важные для практики рыбоводства, были получены с применением и других молекулярно-генетических методов. В тех случаях, когда это необходимо, основные особенности этих специфических методов будут изложены в следующем разделе, посвященном непосредственному применению молекулярно-генетических маркеров в практике форелеводства и лососеводства, а также анализу тех результатов, которые были получены с их помощью.

3.2. Использование молекулярно-генетических маркеров в лососеводстве и форелеводстве

3.2.1. Выявление генетических различий между видами

3.2.1.1. Диагностика видов и межвидовых гибридов благородных лососей

Благородные лососи отличаются высокой морфологической пластичностью, поэтому различать даже взрослых особей близких видов без применения генетических методов не всегда просто, определять видовую принадлежность молоди еще более затруднительно, а идентифицировать икру практически невозможно. Кроме того, как отмечено в предыдущих главах, и в природе, и в результате неконтролируемого скрещивания рыб на рыбоводных заводах, возникают гибриды как между представителями рода *Salmo*, и так между лососями рода *Parasalmo*, а искусственно, с применением специальных приемов, получают даже гибриды между представителями этих двух родов. Таким образом, разработка молекулярно-генетических методик идентификации видов благородных лососей и их гибридов давно уже стала актуальной проблемой рыбоводства.

Опишем, как при помощи генетических маркеров различать виды, выделенные традиционными методами.

Чтобы найти межвидовые различия, в первую очередь проводят анализ достаточно больших групп особей (в зависимости от используемого метода – от 10–15 (секвенирование) до 50 (аллозимный анализ) в каждой выборке), принадлежащих к разным видам. Желательно также, чтобы каждый вид был представлен несколькими популяциями из разных частей ареала. Если в выборках особей разных видов фиксированы разные аллели какого-либо локуса – этот локус пригоден

для диагностики видов и их гибридов. Подходят для этой цели и такие локусы, которые полиморфны у одного или обоих видов, но лишь в том случае, если все аллели видоспецифичны.

Для идентификации видов целесообразно использовать несколько разных генетических локусов, поскольку использование только одного маркера не гарантирует надежности выводов. Ведь теоретически аллель, свойственный другому виду, может попасть в геном в результате происшедшей много поколений назад межвидовой гибридизации, или возникнуть заново в результате мутации. Особенно важно использовать несколько разных локусов при идентификации возвратных гибридов, поскольку от одного из видов у них может быть унаследовано лишь около 25% генетического материала.

Атлантического лосося и кумжу позволяет различать целый ряд ядерных маркеров. Среди них минисателлиты, гены, кодирующие аллозимы, гистоны, препроганадолиберин, трансферрин, 5S рДНК (обзор: Артамонова, 2007б). Различаются и митохондриальные геномы этих видов (обзор: Makhrov, 2008).

Правильная идентификация атлантического лосося, кумжи и их гибридов особенно важна при искусственном поддержании природных популяций – ошибки рыбоводов при определении вида могут вести к появлению гибридов (Makhrov, 2008). Необходим мониторинг состояния популяций на предмет выявления межвидовых гибридов и в тех случаях, когда в водоеме наряду с дикими рыбами присутствуют искусственно выращенные: как отмечено в предыдущем разделе, в этом случае уровень межвидовой гибридизации

возрастает. (Напомним еще раз – гибриды атлантического лосося и кумжи бесполезны с хозяйственной точки зрения и опасны для генофонда природных популяций.)

Генетические различия между видами родов *Salmo* и *Parasalmo* весьма значительны (обзор: Зелинский, Махров, 2001), и в ряде случаев наличие надежных маркеров, различающих их, способствовало решению спорных вопросов. Так, различия в аллельном составе некоторых аллозимов между кумжей и радужной форелью (Осинов, 1999) позволили подтвердить, что рыбы, нерестующие зимой и весной на Адлерском производственно-экспериментальном рыболовном лососевом заводе, действительно являются производителями кумжи, а не радужной форели, хотя принято считать, что кумжа может нереститься только осенью, а весенний нерест характерен для радужной форели (Махров и др., 2004б). Кроме того, А.Г. Осиновым (2009) с помощью анализа контрольного региона митохондриальной ДНК показано, что в одной из работ (Новиков и др., 2008) выборки радужной форели были ошибочно представлены как выборки кумжи.

Вообще, применение генетических маркеров позволяет избежать ошибок при определении видовой принадлежности лососевых и оценке гибридного статуса рыб достаточно часто. Например, наши собственные эксперименты, и многочисленные литературные данные показывают (см. раздел 2.2.3.), что потомство от скрещивания самок радужной форели и самцов кумжи нежизнеспособно, и до выклева не доживает, однако в одном из экспериментов, описанных в литературе, некоторые потомки от такого скрещивания жили более шести месяцев (Hitzeroth et al., 1968). В то же время, приведенная в этой работе электрофореграмма фермента алкогольдегидрогеназы, свидетельствует в пользу предположения (Blanc, Maunas, 2005) о том, что потомки, выжившие в этом эксперименте – это не диплоидные, а триплоидные гибриды, которые появились в результате спонтанного образования диплоидных икринок у самки радужной форели (это явление может вести, в том числе, к воспроизводству этих самок путем гиногенеза). Видимо, аналогичное явление наблюдалось и в экспериментах, описанных в некоторых старых работах (Phillipps, 1922, 1926; Stokell, 1949; Buss, Wright, 1958; Sanders, 1964; Brown, 1970; Pourgholam, Moghadam, 1994), где тоже сообщалось о жизнеспособных гибридах между радужной форелью и кумжей – ведь спонтанное нарушение нормального мейоза у рыб явление достаточно распространенное.

При гибридизации кумжи и радужной форели, выполненной с применением термошока, наряду с триплоидами, генетическими методами были выявлены гиногенетические особи, а также случаи частичного андрогенеза (Артамонова и др., 2007). Здесь для тестирования видовой при-

надлежности и гибридного статуса рыб был использован ядерный маркер, предложенный японскими исследователями (Murata et al., 1996). Дополнительные тесты с использованием в качестве маркеров видоспецифичных микросателлитов подтвердили сделанные выводы.

В главе I мы говорили о многих экологических и хозяйственных проблемах, возникающих в результате целенаправленной или случайной акклиматизации лососевых рыб. В этом случае очень важно тщательно отслеживать процесс акклиматизации, а для этого необходимо точно различать вселенные и нативные виды лососевых. Между тем, при идентификации вселенного вида по внешним признакам возможны ошибки, поскольку в новой среде обитания морфология рыб может изменяться порой достаточно заметно. Так, отмечен случай, когда пойманного в Тихом океане кижуча приняли за атлантического лосося; истину удалось установить только в результате анализа двух ядерных и одного митохондриального гена (Nielsen et al., 2003).

Следует отметить, что в настоящее время к тестированию видовой принадлежности лососевых генетическими методами проявляют интерес не только биологи и рыбоводы. За рубежом значительное внимание уделяется определению видовой принадлежности лососей, из которых изготавливают полуфабрикаты или готовую к употреблению пищевую продукцию, в том числе копченую и консервированную рыбу. Попытки недобросовестных поставщиков из западных стран выдать более дешевую радужную форель за атлантического лосося известны, в частности, в Китае (Zhang et al., 2007).

Для определения видовой принадлежности лососевых в этих случаях часто используют ПЦР-ПДРФ (RFLP) анализ митохондриального гена кодирующего цитохром b (Carrera et al., 1999a; Russell et al., 2000; Hold et al., 2001) или 16S рНК (Carrera et al., 1999b). Метод позволяет надежно различать несколько видов лососевых, в том числе кумжу, атлантического лосося и радужную форель. Отмечен случай, когда в продукте, который по декларации содержал мясо лосося, была идентифицирована мтДНК не только атлантического лосося, но и радужной форели (Hold et al., 2001). Эти два вида различаются и по последовательности другого митохондриального гена, *COI* (Rasmussen et al., 2009, 2010).

Три основных вида благородных лососей – объектов аквакультуры – пробовали различать и другими, порой достаточно экзотическими методами, например методом **анализа конформации одиночных цепей ДНК (single-strand conformation polymorphism – SSCP)**. С этой целью ПЦР-продукты, полученные с праймеров, комплементарных все к тому же митохондриальному гену – цитохрому b, нагревали в денатурирующем растворе, немедленно охлаждали, и об-

разовавшиеся в результате одиночные цепи ДНК разделяли в денатурирующем полиакриламидном геле. Поскольку скорость миграции цепей ДНК зависит от их конформации, а она, в свою очередь, определяется нуклеотидной последовательностью, то с разной скоростью в геле мигрируют и две нити одного ПЦР-продукта, и нити ПЦР-продуктов, полученных с ДНК разных видов лососевых – атлантического лосося, кумжи и радужной форели (Rehbein, 2005).

Генетические различия между видами настолько существенны, что их можно различать, используя в анализе этого типа ПЦР-продукты, полученные с ДНК не только митохондриальных, но и ядерных локусов, например генов, кодирующих парвальбумин (parvalbumin) и гормон роста (Rehbein, 2005).

В качестве близкого аналога данного метода можно рассматривать и метод **электрофореза в градиентном денатурирующем геле (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis – DGGE)**, который тоже оказался пригодным для выявления ДНК радужной форели и ДНК атлантического лосося в пищевых продуктах (если вклад каждого из этих видов лососевых в пробу оказывался не ниже 20%) (Zhang et al., 2007).

Здесь денатурация ПЦР-продукта происходит уже непосредственно в геле, причем степень расхождения цепей растет по мере продвижения фрагмента ДНК: ведь чем дальше от старта, тем выше концентрация денатурирующих веществ – мочевины и формамида. Таким образом, скорость продвижения ПЦР-продукта в геле будет определяться не только его длиной, но и степенью расхождения цепей ДНК в каждый конкретный момент времени. А она, в свою очередь, будет зависеть от последовательности нуклеотидов.

Использование методов, основанных на изменении конформации молекул ДНК при тех или иных условиях, становится возможным лишь тогда, когда межвидовые различия в тестируемых последовательностях ДНК достаточно велики (существенно больше 2%). Только в этом случае видовые особенности конформации будут хорошо отличимы от незначительных изменений, обусловленных внутривидовым полиморфизмом.

Для видов, которые хорошо различаются генетически, уже сейчас удастся создавать надежные тест-системы, которые позволяют определять видовую принадлежность рыб, используемых, в том числе, для производства продуктов питания. Так, тестирование образцов разных видов лососевых рыб методом AFLP (см. раздел 3.1.2.4.) позволило выявить на геле в одном из вариантов анализа полосу, которая была характерна только для радужной форели, но не атлантического лосося. Выделив этот фрагмент из геля, клонировав и секвенировав его, а затем создав праймеры для избирательной амплификации именно этого фрагмента ДНК, китайские исследователи создали тест-систему на основе SCAR (Zhang et al., 2007).

Еще одну хорошую тест-систему представляет собой ядерный ген, кодирующий 5S РНК: ПЦР-продукты, получаемые в ходе амплификации с одних и тех же праймеров, имеют разную длину у разных видов лососевых и хорошо разделяются в агарозном геле (Carrera et al., 2000).

Таким образом, уже сейчас молекулярно-генетические методы дают возможность со 100%-ной вероятностью идентифицировать особей радужной форели, кумжи и атлантического лосося, а также надежно выявлять гибридов первого поколения между этими видами.

3.2.1.2. Поиск генетически модифицированных организмов (ГМО)

Современные методы исследований являются высокодифференцированными, а потому с их помощью не составляет труда идентифицировать в геномах рыб отдельные гены других видов, то есть определять, является ли тот или иной организм трансгенным.

Как было отмечено в разделе 2.5, генетически модифицированные организмы применяют в сельском хозяйстве все чаще. Пользуясь отсутствием отлаженной системы контроля, недобросовестные импортеры без уведомления завозят в нашу страну корма для рыб, приготовленные из генетически модифицированных растений. Между тем, ГМО практически неотличимы от обычных животных и растений по внешним признакам, и выявить их можно только методами генетического анализа.

Хочется, однако, с самого начала подчеркнуть, что не бывает тестов «на трансгены вообще» – можно проверить только, содержит ли данный организм совершенно конкретный участок ДНК из генома другого вида. Присутствие или отсутствие в геноме каждого из возможных трансгенов тестируется индивидуально. При этом в качестве зонда используют саму последовательность трансгена или последовательность перенесенного вместе с ним участка ДНК, например, промотора (Харченко, Глазко, 2006).

В ранних работах по поиску трансгенов основным методом анализа была **блот-гибридизация по Саузерну**. Суть этого метода заключается в том, что выделенную из тестируемого организма тотальную ДНК расщепляют какой-либо умеренно щепящей рестриктазой, разделяют фрагменты в агарозном геле, денатурируют с целью разделения цепей (как правило, в растворе щелочи), и переносят ДНК с геля на фильтр, получая, таким образом, своеобразный отпечаток геля. Перенесенную ДНК «пришивают» к фильтру, например, облучая его ультрафиолетом. Фрагмент предполагаемого трансгена метят радиоактивной меткой и добавляют его в раствор для гибридизации (разумеется, зонд должен быть однонитевым), в который помещен фильтр. После

проведения гибридизации (несколько часов при определенной температуре – температуре гибридизации, способствующей образованию гетеродуплексов между ДНК на фильтре и ДНК зонда), несвязавшийся зонд смывают с фильтра, фильтр высушивают и автордиографируют. Выявление на фильтре вполне определенной ограниченной зоны, с которой связался зонд, указывает на наличие трансгена в геноме тестируемого организма.

Следует, однако, сразу же отметить, что этот метод не только трудоемок, но и низкочувствителен (обзор: Sin, 1997). В настоящее время он имеет, скорее, историческое, чем практическое значение, хотя его использовали наряду с методом, основанным на полимеразной цепной реакции, при идентификации трансгенного атлантического лосося, несущего гормон роста (Yaskowiak et al., 2006).

Впрочем, методы, основанные на идентификации белков – продуктов экспрессии трансгена – дают зачастую еще менее надежные результаты, тем более что применять эти методы к готовой продукции в большинстве случаев просто невозможно из-за деградации белков. Методы этого типа используют, как правило, только в исследовательских целях: при изучении функционирования каких-либо промоторов в необычном окружении или с целью выявления закономерностей встраивания чужеродной ДНК в геном. С этими целями в геном различных организмов внедряют конструкции, несущие легко идентифицируемые гены (обзор: Sin, 1997). Так, создана радужная форель, в некоторых тканях которой экспрессируется ген, кодирующий зеленый флуоресцентный белок (Yoshizaki et al., 2000).

В целом же, для тестирования продукции на наличие ГМО, самыми востребованными и простыми являются методы, основанные на полимеразной цепной реакции. Ограничивать их точность может только то, что в геноме самого организма могут найтись последовательности, сходные с чужеродными. Поэтому важную роль здесь играет правильный подбор праймеров, а также контроль длины амплифицируемого участка, который в случае трансгена должен иметь строго определенные размеры. Иногда могут быть проверены и другие характеристики получаемого ПЦР-продукта – например наличие в нем сайта узнавания для какой-либо рестриктазы.

Эффективность тестирования ГМО в настоящее время достаточно высока, поскольку таких организмов все еще не очень много, и подавляющее большинство из них официально зарегистрировано. Это означает, что мы знаем, какие трансгены следует искать в том или ином организме, однако ситуация в скором времени может измениться. Получение трансгенных растений и животных уже поставлено на поток, и решение задачи получения высокопродуктивных ГМО

сейчас под силу даже небольшим негосударственным организациям, которые могут использовать вновь полученные ГМО сначала для собственных целей, а впоследствии широко распространять их без уведомления покупателей.

3.2.1.3. Диагностика патогенных организмов

Одно из самых востребованных направлений молекулярно-генетической диагностики в аквакультуре – это идентификация паразитов, бактерий и вирусов, поражающих благородных лососей.

Определение видовой принадлежности паразитов и микроорганизмов – одна из наиболее сложных биологических проблем. Многие паразиты имеют сложные жизненные циклы, для которых зачастую известны не все стадии. Бактерии и вирусы рыб также изучены недостаточно. Традиционные методики идентификации патогенов, основанные на изучении характера поражения различных органов рыб, исследовании морфологии паразитов под микроскопом, посевах соскобов с разных частей тела хозяев на сложные питательные среды с последующим длительным культивированием, – все это достаточно сложно и трудоемко. Между тем, как показано в предыдущей главе, инфекционные болезни – одна из главных, если не самая главная, проблема современной аквакультуры.

К счастью, во многих случаях молекулярно-генетические методы могут решать проблему точной и быстрой диагностики инфекционного агента, а также использоваться для контроля распространения заболеваний.

Так, уже упоминалось, что на жабрах атлантического лосося, выращиваемого в Норвегии, не раз обнаруживали паразитических амёб рода *Neoparamoeba*. В настоящее время не составляет труда диагностировать их при помощи ПЦР-анализа, который проводят после получения ДНК-копий с РНК, выделенной из жабр рыб со следами поражения. В частности, разработаны праймеры для генов, кодирующих последовательности 18S РНК этих организмов. При этом исследования показали, что рыбы обладают разной устойчивостью по отношению к разным видам и штаммам амёб, но идентифицировать штаммы пока возможно только путем секвенирования амплифицированных фрагментов (Steinum et al., 2008). В то же время, при необходимости в дальнейшем могут быть разработаны приемы анализа SNP внутри диагностических последовательностей с целью идентификации конкретных штаммов амёб.

Даже в тех случаях, когда речь идет об эктопаразитах, выявлять которых достаточно легко, молекулярная диагностика может существенно упростить задачу. И речь идет даже не о различных линиях патогенных организмов, которые поражают рыб в разной степени и не диагностируются

никакими другими методами, кроме молекулярно-генетических. Очень часто точное определение даже видовой принадлежности паразита под силу только специалисту-паразитологу высокой квалификации. Так, многократно упоминавшегося в этой книге моногинетического сосальщика *Gyrodactylus salaris* достаточно сложно отличить от близких видов того же рода, которые значительно менее опасны для лососевых рыб. В то же время, диагностика видов этого рода возможна путем сравнения нуклеотидной последовательности участков, разделяющих гены, которые кодируют рибосомные РНК (ссылки см.: Махров, Болотов, 2006). Более того, последовательность этого внутреннего транскрибируемого спейсера позволяет различать патогенную и непатогенную формы *G. salaris* (Kania et al., 2007).

Еще один пример диагностики эктопаразитов – выявление на жабрах атлантического лосося и кумжи личинок такого моллюска, как европейская жемчужница (*Margaritifera margaritifera*). Встречаются эти личинки не только на жабрах диких пестряток, но и у молоди на тех рыбодных заводах, которые снабжаются водой из рек, где живет жемчужница.

В данном случае борьба с паразитом нецелесообразна, поскольку жемчужница не наносит значительного вреда хозяевам, зато сама по себе относится к числу редких и ценных видов, популяции которых необходимо восстанавливать. Значительную роль в реакклиматизации жемчужницы могут сыграть как раз рыбодные заводы, выпускающие молодь благородных лососей, зараженную глосидиями моллюска. Однако в этом случае очень важно не спутать глосидии жемчужницы с каким-либо другим заболеванием, при котором могут поражаться жабры рыб-хозяев. В настоящее время избегать ошибок такого рода становится легче, поскольку методика идентификации личинок жемчужницы с помощью молекулярно-генетических маркеров отработана (Артамонова и др., 2012). Подобно большинству методов такого рода она основана на ПЦР-диагностике с использованием праймеров, специфичных для одного из митохондриальных генов жемчужницы.

Отметим, однако, что молекулярно-генетические методы (как и любые другие) не свободны от недостатков, и в некоторых случаях они нуждаются в доработке. Например, много ложно-положительных результатов дает основанный на ПЦР метод детекции опасного паразита лососевых, микроспоридии *Myxobolus cerebralis* (Schisler et al., 2001).

Быстро развиваются методы молекулярно-генетической идентификации не только эктопаразитов, но и бактерий, патогенных для рыб. Чувствительность подобных методик уже сейчас достаточно высока, и позволяет, например, обнаружить в икринке лосося буквально две бактери-

альные клетки *Renibacterium salmoninarum* – возбудителя бактериальной почечной болезни. Молекулярно-генетические маркеры позволяют идентифицировать уже многих возбудителей опасных бактериальных болезней лососевых – *Aeromonas salmonicida*, *Piscirickettsia salmonis*, *Yersinia ruckery* (монографии: Cunningham, 2002; Austin, Austin, 2007), а также выявлять представителей некоторых непатогенных бактерий в кишечнике рыб (Navarrete et al., 2010, и ссылки в этой работе).

Развиваются методы молекулярно-генетической идентификации вирусов (Cunningham, 2002). В частности, у атлантического лосося и радужной форели, выращиваемых в Норвегии, распространен альфавирус лососевых (Salmonid alphavirus – SAV), который поражает, в первую очередь, поджелудочную железу лососей и который традиционно выявляли путем гистологических исследований пораженных тканей, иногда с применением иммуногистохимических методов. Оказалось, что диагностику вируса можно успешно проводить и с применением молекулярно-генетических подходов. Для этого из тканей, подвергающихся поражению вирусом в наибольшей степени (поджелудочная железа, сердце) выделяли РНК, методом обратной транскрипции получали на ее основе ДНК-матрицу, а далее, используя праймеры, комплементарные к одной из вирусных последовательностей, проводили амплификацию. Если исходная проба содержала вирусную РНК, в ходе амплификации получали ПЦР-продукт длиной около 230 п.н. Между результатами тестирования классическими методами и тестирования с применением ПЦР-диагностики наблюдалось неплохое соответствие, свидетельствующее о перспективности подхода (Taksdal et al., 2007).

Аналогичный метод применяли для выявления вируса геморрагической септицемии форели (VHSV – viral hemorrhagic septicemia virus), который вызывает микрокровоизлияния во многих органах – в том числе, в мышцах, коже, тканях глаза. При этом симптомы заболевания легко спутать с внешними проявлениями других патологий у рыб, в том числе, не инфекционного характера. Для его выявления разработаны два набора праймеров, комплементарных к участкам двух различных генов данного вируса (Estepa et al., 1995).

Применение молекулярно-генетических методов позволило показать, что воспаление сердечной мышцы и скелетной мускулатуры у атлантического лосося, искусственно выращиваемого в Норвегии, является инфекционным заболеванием, и вызывает его реовирус рыб (piscine reovirus – PRV), имеющий некоторое сходство с одним из реовирусов млекопитающих. К последовательностям, характерным для данного реовируса, были подобраны праймеры, позволяющие надежно идентифицировать этот инфекционный агент при помощи ПЦР-диагностики, на первом этапе ко-

торой осуществляют обратную транскрипцию с РНК, полученной из пораженных органов рыб (Palasios et al., 2010).

Аналогичный подход был использован при разработке методов диагностики вирусов инфекционного некроза гемопоэтической ткани лососевых и инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых (Завьялова и др., 2015).

Генетический анализ патогенных организмов, выделенных из особей, принадлежащих к разным популяциям и разным видам, позволил проследить филогению и/или пути распространения альфа-вируса лососевых и вирусов, вызывающих геморрагическую септицемию, инфекционную анемию (Snow, 2011) и папиллому лососевых (Doszpolo et al., 2013).

3.2.2. Выявление различий между внутривидовыми группировками

3.2.2.1. Выявление полиплоидов

Как уже говорилось в разделе 2.4, полиплоидов, прежде всего триплоидов, все чаще используют в форелеводстве. В то же время, многие методики триплоидизации не позволяют получать большие партии рыб, состоящие только из триплоидных особей, – наряду с ними при массовом производстве в таких партиях с разной частотой присутствуют, как правило, и диплоиды. Контроль доли триплоидов при коммерческих поставках икры или молоди – важная задача как для поставщиков, так и для покупателей, тем более, что на северо-западе России и во Вьетнаме зарегистрированы случаи, когда зарубежные компа-

нии под видом триплоидной радужной форели поставляли диплоидный посадочный материал или икру.

С целью оптимизации процедуры триплоидизации и контроля плоидности генома полученных рыб обычно используют хромосомный анализ, измерение диаметра эритроцитов, анализ содержания ДНК в эритроцитах. Все эти методы вполне адекватны, однако с целью стандартизации методических приемов в настоящее время для выявления полиплоидов разрабатывают и другие, молекулярно-генетические методы тестирования икры и молоди лососевых, которые иногда оказываются более удобными для практического применения, хотя они и не лишены недостатков.

Так, для идентификации искусственно полученных триплоидов кумжи и радужной форели успешно использовали аллозимы: оказалось, что интенсивность отдельных зон окрашивания на гелях пропорциональна числу хромосом – носителей того или иного аллеля (Leary et al., 1985; Crozier, Moffett, 1989a).

Триплоидных особей атлантического лосося и радужной форели удавалось выявлять благодаря тому, что у них обнаруживалось по три аллеля некоторых микросателлитных локусов (Jones, Hutchings, 2001; Palti et al., 2006; Johnson et al., 2007). В то же время, нами показано, что и в тех случаях, когда у экспериментальной молоди радужной форели было зарегистрировано только два аллеля, часть рыб несомненно была триплоидами. Об этом свидетельствовали различия в интенсивности полос на геле при анализе микросателлитов: в отдельных случаях одна из них

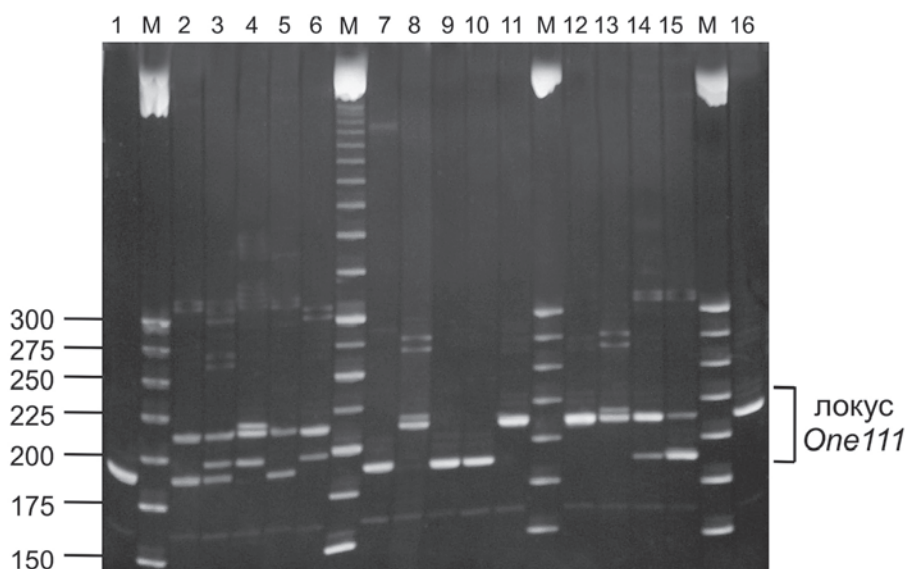


Рис. 35. Выявление триплоидов радужной форели путем анализа микросателлитов. М – маркер длины (слева указаны длины фрагментов ДНК в составе маркера, п.н.). Образцы 3 и 4 имеют по три различных аллеля исследуемого микросателлитного локуса *One111*, образцы 6, 8, 13, 14 и 15 – по два одинаковых аллеля и одному аллелю, отличному от них. Все перечисленные особи являются триплоидами, в отличие от диплоидных рыб 2 и 5. Высока вероятность, что гомозиготы 1, 7, 9, 10, 11, 12, 16 также относятся к триплоидам, но для проверки этого предположения необходимо их тестирование по другим микросателлитным локусам.

оказывалась примерно в два раза интенсивнее другой, и это говорило о том, что микросателлитный локус у данного организма представлен двумя одинаковыми аллелями и одним аллелем, отличным от них (Рис. 35).

В то же время, необходимо подчеркнуть, что такая ситуация сильно затрудняет выявление триплоидов методом анализа микросателлитов, и при этом она совершенно типична. Ведь, как уже было подробно описано в главе II (см. также Рис. 15), при искусственной триплоидии из-за подавления второго, а не первого деления мейоза большинство генов, наследуемых от матери, переходят в гомозиготное состояние. Именно поэтому в микросателлитных локусах триплоидов очень часто присутствует по два одинаковых аллеля, унаследованных от матери и один, чаще всего, отличный от них, отцовский.

Если же по тестируемому локусу организм оказывается полностью гомозиготным, то идентификация его пloidности осложняется еще больше. Отсюда следует, что для оценки пloidности генома методом микросателлитного анализа необходимо использовать сразу несколько высокополиморфных локусов и делать поправку на то, что некоторые полиплоидные особи могут быть не выявлены (Krieger, Keller, 1998).

3.2.2.2. Оценка уровня генетического разнообразия

Генетическое разнообразие – важная характеристика природных популяций и искусственно созданных пород. Снижение этого показателя часто ведет к уменьшению выживаемости, темпа роста, уменьшению стабильности развития, вплоть до появления уродств (см. раздел 2.1.).

Показано, что высокое генетическое разнообразие, маркируемое разнообразием микросателлитов, способствует лучшей адаптации атлантического лосося к условиям среды (Garant et al., 2005). И хотя в одном исследовании авторам не удалось выявить связи между гетерозиготностью по микросателлитным локусам и скоростью роста рыб (Borrell et al., 2004), в другой работе такая связь показана (Primmer et al., 2003). Кроме того, есть данные о различиях в частотах аллелей микросателлитов между группами рыб с разной скоростью развития (Pineda et al. 2003).

Особую природную внутривидовую группировку атлантического лосося представляют собой карликовые самцы, которые скрещиваются с проходными самками. Особенностью этой группировки является повышенная гетерозиготность по аллозимным локусам (McCarthy et al., 2003), что объясняется, по-видимому, тем, что в эту группу рыб попадают особи с высоким темпом роста и развития, а эти показатели коррелируют, в свою очередь, с гетерозиготностью (Blanco et al., 1998).

Повышенная скорость роста гетерозигот и высокая гетерозиготность карликовых самцов отмечена и у кумжи (Махров и др., 1997). Для радужной форели показано, что аллозимная гетерозиготность положительно влияет на такие хозяйственно-важные признаки, как скорость развития, размер икринок, устойчивость к болезням, стабильность развития (ссылки см.: Hershberger, 1992).

Результаты аллозимного анализа пород радужной форели позволяют выявить общую тенденцию: чем более интенсивной была селекция при создании породы, тем меньше генетическое разнообразие внутри нее. Так, в ряде работ показан относительно низкий уровень генетического разнообразия у форели Дональдсона, селекция которой продолжалась почти четыре десятилетия (Koljonen, 1986; Паавер, 1986, 1987, 1988б; Nakajima, Fujio, 1988).

В то же время, анализ микросателлитных локусов показывает, что все разводимые в России породы радужной форели имеют достаточно высокий уровень генетического разнообразия, в том числе форель Дональдсона и порода «Росталь», при создании которой высокий уровень инбридинга сочетали с интенсивным отбором (Artamonova et al., 2010b; Артамонова и др., на рецензии).

Вообще, оценка генетического разнообразия внутри популяций, пород, линий лососевых рыб – это та область, где в разное время применяли едва ли не все современные методы молекулярно-генетического анализа. В последние годы для оценки гетерозиготности разводимого атлантического лосося успешно используют, в том числе, SNP-маркеры (Dominik et al., 2009).

Попытки использовать SCAR-маркеры для изучения внутривидового полиморфизма предпринимались пока только на материале природных популяций радужной форели (Павлов и др., 2010), однако, как уже говорилось выше, есть все основания предполагать, что в ближайшем будущем маркеры этого типа будут использоваться достаточно широко, в том числе, в приложении к аквакультуре.

3.2.2.3. Идентификация пород и их кроссов

Полиморфные аллозимные и микросателлитные локусы, а также SNP-маркеры, можно использовать и для идентификации пород благородных лососей.

Как уже было отмечено в предыдущей главе, селекционерами получено немало пород лососевых, в частности, радужной форели. Они различаются по целому ряду хозяйственных признаков, поэтому рыбоводу очень важно точно знать, с какой именно породой он имеет дело. В отечественном форелеводстве, к сожалению, имеется немало примеров, когда хозяйства, закупая дешевый посадочный материал неясного происхожде-

ния (в том числе, за рубежом), несли значительные убытки из-за повышенной смертности и плохого роста рыб.

Внешне лососевые рыбы разных пород обычно очень сходны, хотя их физиологические особенности могут различаться весьма заметно. По этой причине генетическая паспортизация пород, а значит, возможность установить происхождение посадочного материала и проверить его породную принадлежность, приобретают большое значение для практики рыбоводства.

Первоначально для генетической паспортизации пород радужной форели применяли аллозимный анализ, и в ряде случаев различия между породами форели по частотам аллелей аллозимов действительно были найдены (Busack et al., 1979; Guyomard, 1981; Kincaid, 1981; Thompson, 1985; Koljonen, 1986; Паавер, 1986, 1987, 1988а,б; Nakajima, Fujio, 1988; van der Bank et al., 1992; Wangila, 1994). Однако разрешающая способность данного метода была явно недостаточной: значимые различия между тестируемыми породами удавалось обнаружить далеко не всегда, и только по некоторым локусам. При этом породную принадлежность не выборки, а каждой конкретной особи определить обычно не представлялось возможным.

Более того, различия того же порядка, что и различия между породами, были обнаружены между выборками форели Дональдсона, выращиваемой в отечественных хозяйствах, расположенных в разных регионах (в Ропше и в Адлере) (Породы радужной форели ..., 2006, с. 71, с. 226). Трудно сказать, повлиял ли на этот результат процесс отбора на устойчивость к конкретным условиям выращивания или имели место случайные процессы в одной или обеих линиях. Ясно, однако, что в данном случае характеристика двух маточных стад по аллозимам не позволяла продемонстрировать их большую близость друг к другу, чем к маточным стадам других пород радужной форели, то есть аллозимный анализ в данном конкретном случае не позволял получить адекватную характеристику породы.

Пытались использовать для целей паспортизации и методы ДНК-анализа. Так, например, появлялись указания на различия между породами форели, обнаруженные методом RAPD-PCR (Барминцев и др., 2003; Voguerouk et al., 2007; Сексте и др., 2008). Между некоторыми породами форели были найдены различия с помощью фингерпринтинга (разновидность рестриктового анализа) ДНК (Белаш и др., 2003; Терлецкий и др., 2004, 2009; Дементьева и др., 2005; Яковлев и др., 2009). Однако, как уже было отмечено выше, методы анализа, основанные на сопоставлении длин случайных последовательностей генома, не отличаются высокой степенью надежности и зачастую плохо воспроизводимы, поэто-

му широкого распространения эти методы анализа так и не получили.

Гораздо более обоснованные надежды специалисты возлагают на паспортизацию пород рыб с помощью микросателлитного анализа. Различия между породами радужной форели в частотах аллелей микросателлитных локусов показаны уже в целом ряде работ (Барминцев и др., 2003; Ward et al., 2003; Silverstein et al., 2004; Zhao et al., 2006, 2008; Boguerouk et al., 2007; Gross et al., 2007; Glover, 2008; Artamonova et al., 2010b; Артамонова и др., на рецензии). Особо следует отметить статью эстонских исследователей (Gross et al., 2007), где показано, что анализ микросателлитов позволяет определять принадлежность особей к той или иной породе с точностью от 63 до 100 %, если эта порода предварительно охарактеризована на материале 16–78 особей по 10 локусам. Возможности микросателлитного анализа для целей паспортизации пород лососевых рыб еще не изучены полностью, однако, в сочетании с использованием современного программного обеспечения, этот метод выглядит достаточно перспективным.

Для того чтобы отличать редкую эндемичную форму – золотую форель – от обычной радужной форели, среди пород которой имеются, в том числе, породы, окрашенные в золотистый цвет, использовали, наряду с микросателлитами (Cordes et al., 2006), SNP-маркеры (Stephens et al., 2009). Обнаружен также один минисателлитный локус, позволяющий безошибочно диагностировать две эти формы (Stephens et al., 2009).

С использованием этого маркера мы исследовали ряд отечественных пород и линий радужной форели. Предварительные результаты этой работы показали, что среди предков изученных линий, в том числе породы “Адлерская янтарная”, которая представлена рыбами светлой окраски, золотой форели не было.

Число гаплотипов митохондриальной ДНК даже в природных популяциях лососевых обычно невелико, поэтому использовать этот признак для идентификации пород в целом нецелесообразно. Отметим, однако, что между линиями радужной форели в некоторых случаях наблюдались значительные различия в частотах гаплотипов мтДНК (Palva, Palva, 1987; Sajedi et al., 2003). Подобные различия выявлены и между линиями кумжи, выращиваемыми в американском штате Мичиган (Tiano et al., 2007). Таким образом, иногда сведения об особенностях мтДНК рыб в выборке могут помочь установить происхождение породы или идентифицировать источник посадочного материала.

Линии атлантического лосося не столь многообразны, как породы и линии радужной форели. Однако было показано, что между линиями атлантического лосося, выращиваемыми в разных хозяйствах, имеются значительные различия по

составу и частотам аллелей микросателлитных локусов (Glover et al., 2008, 2009). Благодаря этому, в одном случае удалось определить, из какого именно хозяйства бежали рыбы, пойманные в одном из норвежских фьордов; позже персонал этого хозяйства признал факт ухода лососей (Glover et al., 2008).

Методы идентификации искусственно выращенных и диких рыб, а также проблему мониторинга гибридизации этих двух групп мы рассмотрим в следующем подразделе.

3.2.2.4. Дифференциация искусственно выращенных и диких рыб

Проблема взаимодействия рыб, целенаправленно выпущенных или случайно попавших в природу, с рыбами из природных популяций того же вида, рассмотрена в последнем разделе главы II. Для мониторинга такого взаимодействия используются в основном молекулярно-генетические маркеры.

Линии искусственно выращенных атлантических лососей значительно отличаются по частотам некоторых аллозимных локусов от рыб из природных популяций, причем даже в том случае, когда основатели заводских линий происходят из тех же самых природных популяций. Поэтому в некоторых случаях аллозимы могут быть использованы для оценки воздействия беглых рыб на генофонд природных популяций (обзор: Артамонова, 2007а). Аллозимы использовали и при изучении генетического взаимодействия дикой радужной форели с особями из заводских стад (Williams et al., 1996; Currens et al., 1997).

Для увеличения эффективности такого анализа одно время велись работы по созданию линий радужной форели, предназначенных для аквакультуры, с фиксированными аллелями некоторых аллозимных локусов (Allendorf, Utter, 1979). Предлагали вывести и линию кумжи с аналогичными характеристиками (Taggart, Ferguson, 1984).

Уже много лет для выявления результатов вселения кумжи из других регионов Европы в бассейны Средиземного моря используют аллозимный локус *LDH-C** (*LDH-5**), поскольку один из аллелей этого локуса, широко распространенный в популяциях кумжи западной и северной Европы, в популяциях Средиземного моря исходно отсутствовал (обзор: Laikre, 1999).

В некоторых случаях для выявления генетических последствий вселения атлантического лосося, кумжи и радужной форели из отдаленных регионов могут быть использованы данные о частотах гаплотипов митохондриальной ДНК (Williams et al., 1996; Laikre, 1999; Campos et al., 2008).

Для различения искусственно выращенных и диких благородных лососей активно используют и микросателлиты. Работы такого рода выполняли и для атлантического лосося (обзор: Артамо-

нова, 2007б), и для кумжи (Hansen, 2002; Heggenes et al., 2002; Was, Wenne, 2002), и для радужной форели (Heggenes et al., 2006; Matala et al., 2008). Однако накопившиеся факты о том, что микросателлиты могут находиться под отбором и быстро мутировать в изменяющихся условиях среды, предъявляют высокие требования к выбору локусов, по которым должно проводиться тестирование. Эти особенности микросателлитных локусов до сих пор почти не учитывались, однако весьма вероятно, что в свете новых данных выводы, сделанные в предыдущих работах, могут быть частично пересмотрены.

В ряде работ взаимодействие искусственно выращенных и диких благородных лососей изучают, отслеживая выживаемость потомства отдельных особей. Такие работы будут рассмотрены ниже.

3.2.3. Изучение и контроль генетических процессов в популяциях

3.2.3.1. Идентификация отдельных особей и выявление родственных связей между рыбами

Высокополиморфные генетические маркеры могут быть использованы как своеобразные метки, позволяющие, в отличие от обычного мечения, идентифицировать не только отдельных особей на протяжении всего их онтогенеза, но и выявлять потомков отдельных рыб. Это дает возможность полностью реорганизовать процесс семейной селекции – при таком подходе рыб из разных семей можно выращивать вместе, в больших бассейнах или прудах, в том числе в товарных хозяйствах. Как уже упоминалось, с помощью современных молекулярно-биологических подходов можно проследить даже выживаемость потомков отдельных рыб, попавших в природную среду.

Первые попытки различать отдельных особей радужной форели были предприняты еще до внедрения методов ДНК-диагностики в практику рыбоводства: лососей пытались различать с помощью анализа белков плазмы крови (Варзегова, 1987). В настоящее время для выявления родственных связей между особями радужной форели (Herbinger et al., 1995; Fishback et al., 2002; Quillet et al., 2002; Wilson et al., 2003; Hauser et al., 2006; Palti et al., 2006; Araki et al., 2007a,b; Johnson et al., 2007; Caroffino et al., 2008; McLean et al., 2008; Christie et al., 2012; Vandersteen et al., 2012), атлантического лосося (O'Reilly et al., 1998; Norris et al., 2000; Letcher, King, 2001; de Mestral et al., 2013) и кумжи (Dannewitz et al., 2003; Sourinejad et al., 2011; Rogell et al., 2012) успешно используют микросателлитные маркеры. В этом случае метод оказывается абсолютно адекватным поставленной задаче и вряд ли будет заменен в ближайшее время каким-то другим. Ведь число микросателлитных локусов в геноме огром-

но, аллельное разнообразие каждого из них также велико, а потому сочетание аллелей разных локусов оказывается, как правило, уникальным для организма. Зачастую для адекватной идентификации рыбы диагностика по 6–8 высокополиморфным локусам оказывается вполне достаточной.

Отметим также, что с помощью микросателлитов удавалось не только определить родственные отношения между особями, но и оценить наследуемость ряда количественных признаков радужной форели как в экспериментальных условиях, так и в условиях товарного хозяйства (Fishback et al., 2002; Wilson et al., 2003).

При решении подобных задач у микросателлитного анализа имеется только один существенный недостаток – достаточно высокая стоимость. Однако его применение даже в усеченном виде может помочь в решении практических вопросов. Так, в одном из исследований авторы ограничились определением принадлежности к той или иной семье только 1 % наиболее быстро и 1% наиболее медленно растущих радужных форелей. Но даже такой избирательный анализ позволил показать, что распределение семей по скорости роста не отличается при кормлении рыб кормами на основе рыбной муки и кормами на основе растительных белков (Palti et al., 2006).

С помощью молекулярно-генетических методов определять принадлежность атлантических лососей к той или иной семье удастся с очень высокой точностью (до 99 %). Это позволило успешно решить проблему, вставшую перед организаторами австралийской программы по селекции атлантического лосося. Трудность здесь заключалась в том, что маточное стадо содержалось в пресной воде, а товарное выращивание лосося вели в море. Корреляция темпа роста в пресной и морской воде была не абсолютной и составляла 0,7, однако возможность идентификации принадлежности рыб к той или иной семье на любой стадии онтогенеза позволила идентифицировать семьи, потомство которых росло особенно хорошо именно в соленой воде (Elliott, Kube, 2009).

В последние годы для определения родственных отношений у радужной форели используют также SNP (Abadía-Cardoso et al., 2013).

Как будет показано в следующем подразделе, использование молекулярно-генетических маркеров может не только снабдить селекционера важной информацией о наследуемости хозяйственно-важных признаков и идентифицировать отдельные семьи, но и сделать мишенью селекции не фенотипические признаки, а сами гены, за эти признаки отвечающие.

3.2.3.2. Маркер-специфичная селекция

Этот вид селекции основан на данных о сцеплении, то есть о расположении в одной хромосо-

ме, на небольшом расстоянии друг от друга, неизвестного гена, отвечающего за какой-либо хозяйственно-важный признак, и известного участка ДНК, который может быть как кодирующим, так и некодирующим (маркера).

В настоящее время составлению генетических карт лососевых рыб и выявлению локусов, сцепленных с ядерными генами, влияющими на хозяйственно-важные признаки уделяют очень большое внимание (обзор: Araneda et al., 2008). К сожалению, сведений об использовании этих данных для селекции в литературе нет. Отчасти это может быть связано с тем, что информация такого рода составляет коммерческую тайну. Другой причиной отсутствия подобных данных может быть то, что эти программы еще не дали результатов, поскольку они длительны и очень затратны. Перспективными маркерами для выявления сцепления с генами, влияющими на хозяйственно-важные признаки у атлантического лосося, считаются SNP (Lorenz et al., 2009; Dominik et al., 2010) и участки хромосом, полиморфные по вставкам и делециям (Vasemagi et al., 2010).

Работы, упомянутые выше, посвящены ядерным генам, но для всех хозяйственно-важных видов благородных лососей – атлантического лосося (King et al., 1993; Consuegra et al., 2005; Артамонова и др., 2008), радужной форели (Danzmann et al., 1994; Danzmann, Ferguson, 1995; Ferguson, Danzmann, 1999; Brown et al., 2006) и кумжи (Tiano et al., 2007) – есть данные, касающиеся различий по адаптивно- и хозяйственно-важным признакам также и между носителями разных гаплотипов митохондриальной ДНК.

Кроме того, в литературе накопился значительный объем данных о генах благородных лососей, полиморфизм по которым, судя по всему, имеет важное адаптивное значение сам по себе. Так, например, создается впечатление, что различные аллели гена, кодирующего гормон роста (*GHI*), маркируют группы молоди атлантического лосося, растущие с разной скоростью (Gross, Nilsson, 1999).

Данные о корреляции генотипов ряда локусов, кодирующих белки, с определенными фенотипическими признаками имеются как для атлантического лосося (обзор: Артамонова, 2007а; Morrison et al., 2007; Sundvold et al., 2010), так и для радужной форели (Redding, Schreck, 1979; Northcote, Kelso, 1981; Allendorf et al., 1983; Leary et al., 1984, 1993; Ferguson, Danzmann, 1985; Яблоков, 1988; Ferguson, Ihssen, 1991) и кумжи (Махров и др., 1994, и ссылки в этой работе).

У атлантического лосося описаны аллели одного из генов главного комплекса гистосовместимости, носители которых устойчивы к заражению патогенными бактериями или крайне чувствительны к нему. При этом показано, что в условиях заражения против последних идет интенсивный отбор (ссылки см.: Артамонова, 2007б).

Полиморфизм по данному локусу влияет также на устойчивость к паразиту *Anisakis* sp. (Consuegra, Garcia de Leaniz, 2008) и амёбе *Neoparamoeba* sp. (Wynne et al., 2007).

Данные об адаптивном значении аллельного разнообразия по генам, отвечающим за особенности иммунной системы, имеются и для других благородных лососей – радужной форели (Slierendrecht et al., 1993, 1996; Trobridge et al., 2000) и кумжи (Jacob et al., 2010).

Хотя маркеры, отвечающих за хозяйственно-важные признаки или сцепленных ними, известно пока немного, работы с целью их выявления идут достаточно активно. Например, для выявления адаптивно-важных генов предложено сравнивать интенсивность транскрипции ряда локусов у особей, содержащихся в разных условиях среды. Предполагается, что гены, активно экспрессирующиеся в конкретных условиях, могут отвечать за адаптацию к этим условиям. Данное направление исследований, получившее название транскриптомики, интенсивно развивается в последние годы.

Отметим, однако, что, как это довольно часто бывает, под новым модным названием скрывается давно известный метод. Изучение различий в экспрессии генов в разных условиях среды ведется уже десятки лет, в том числе и на благородных лососях (Груздев и др., 1983; Wilkins, 1983; Мавлетова, Переслени, 1990; Nathanailides, Stickland, 1996). Нововведение состоит в том, что транскриптомика изучает интенсивность экспрессии генов не на уровне конечных продуктов – белков, а на уровне промежуточного продукта – информационной РНК.

С целью выхода на гены, отвечающие за образование разных экологических форм лососевых, этим методом сравнивали жилых и проходных особей атлантического лосося и кумжи, изучали изменение экспрессии генов при смолтификации (Hardiman et al., 1994a,b; Hardiman, Gannon, 1996; Martin et al., 1999; Tipsmarck et al., 2002 и ссылки в этой работе; Hagen-Larsen et al., 2005; Amstutz et al., 2006; Adzhubei et al., 2007; и ссылки в Larsen et al., 2011). Однако результатов, которые оказались бы полезными для практики, эти исследования пока не дали. Физиологические изменения у рыб сопровождаются изменением экспрессии целого пула генов, экспрессия которых взаимосвязана, и вычленив среди десятков локусов те единичные, которые запускают весь каскад преобразований, пока не удастся.

Такая ситуация при исследованиях в рамках транскриптомики типична: без дополнительных данных, которые могут предоставить биохимия, физиология, популяционная генетика эта область исследований обходиться не может (и, видимо, не сможет в будущем). Тем не менее, данный подход пытались применять, чтобы оценить изменение экспрессии генов при некоторых заболеваниях

атлантического лосося и влиянии стрессовых воздействий на рыб (Katchamart et al., 2002 и ссылки в этой работе; Koskinen et al., 2004; Tsoi et al., 2004; Krasnov et al., 2005; Bridle et al., 2006; Lindenstrom et al., 2006; Matejusová et al., 2006; Morrison et al., 2006; Collins et al., 2007a,b; Roberge et al., 2007; Brown, Johnson, 2008; Martin et al., 2010, и ссылки в этой работе), при изучении влияния на атлантического лосося и радужную форель разных температурных режимов (Takle et al., 2005; Li, Leatherland, 2008, см. также ссылки в: Zarate, Bradley, 2003) и конкурентных отношений между атлантическим лососем и радужной форелью (Roberge et al., 2008).

На примере радужной форели изучали особенности экспрессии ряда генов при питании рыб кормами разного состава (Panserat et al., 2009 и ссылки в этой работе), пытались оценить изменения, которые происходят у рыб, содержащихся на оборотной воде, прошедшей очистку (Mansfield et al., 2010), а также имеют место в период, когда начинается развитие гонад (von Schalburg et al., 2005). Подобно исследованиям на атлантическом лососе, при изучении экспрессии генов у радужной форели значительное внимание уделяли ответу организма на некоторые инфекционные заболевания (Trobridge et al., 2000) и на тепловой шок (ссылки см.: Zarate, Bradley, 2003).

Сравнение экспрессии генов у потомков особей из диких популяций и селективируемых линий атлантического лосося, выращенных в идентичных условиях, показало, что экспрессия целого ряда генов может быстро изменяться в результате отбора (Roberge et al., 2006). Хорошо известно, однако, что отбор не может идти по многим генам сразу. Очевидно поэтому, что адаптация группы особей к тем или иным условиям среды происходит за счет отбора лишь по нескольким ключевым локусам. При этом весьма вероятно, что отбору подвергаются не структурные гены (кодирующие белки), а регуляторные последовательности (монография: Davidson, 2006). Некоторые из них могут, вероятно, регулировать синтез таких белков, которые сами по себе являются регуляторами. В пользу предположений такого рода свидетельствует тот факт, что общий синтез РНК у атлантического лосося резко усиливался при введении некоторых веществ, например, нейротропных препаратов (Никоноров, Витвицкая, 1993). Таким образом, выйти на гены, подверженные отбору, используя исключительно методы транскриптомики, в большинстве случаев вряд ли возможно.

Показательно, что в недавнем обзоре, посвященном выявлению отбора и локальных адаптаций у рыб с помощью анализа экспрессии генов (Larsen et al., 2011), не указано ни одного конкретного гена, адаптивное значение которого было бы выявлено методами транскриптомики. Таким образом, по крайней мере, на настоящем этапе свое-

го развития, транскриптомика мало что может дать селекции. Хотя, как показывает обзор А.М. Краснова и др. (2013), ее вклад в изучении физиологии благородных лососей уже значителен.

Нами (Артамонова и др., 2010) был предложен другой подход к реализации идей маркер-специфичной селекции. В качестве мишеней для селекции мы предлагаем использовать локусы, которые оказались под отбором у близкородственных видов, уже подвергавшихся классической селекции по тому или иному признаку. Перспективными нам представляются и маркеры, подверженные неконтролируемому отбору при выращивании рыб в измененных условиях среды. Нет сомнений, что такие маркеры сцеплены с генами, которые играют важную роль в процессе адаптации, и процесс сознательной селекции по ним может оказаться не менее эффективным, чем процесс неконтролируемого отбора.

3.2.3.3. Выявление неконтролируемого отбора

Как отмечалось в первом разделе второй главы, неконтролируемый отбор, который часто идет на рыбоводных заводах, представляет значительную опасность для природных популяций, поддерживаемых искусственно, – поэтому необходим мониторинг данного процесса. При этом следует особо отметить, что изменение количественных признаков у рыб, выращиваемых искусственно, с отбором, как правило, не связано, и зависит, в большинстве случаев, от биотехники выращивания, – а она на современных рыбоводных заводах и в товарных хозяйствах совершенствуется год от года. Достаточно сказать, что очень большое влияние на пропорции тела рыб и длину плавников оказывает скорость течения воды и глубина выростных сооружений, а число позвонков напрямую связано с температурой, при которой идет инкубация икры.

Поэтому для выявления неконтролируемого отбора целесообразно использовать не морфологические, а генетические признаки. Главную роль здесь может сыграть анализ аллозимов или микросателлитов, сцепленных с белок-кодирующими последовательностями, поскольку именно белки задействованы в адаптивных процессах напрямую.

Такие попытки уже были предприняты. Например, отбор у атлантического лосося попытались выявить с применением статистического анализа большого набора микросателлитных и SNP локусов у искусственно поддерживаемых

линий и их диких предков (Vasemägi et al., 2012). И локусы, испытавшие действие отбора, действительно нашлись, однако, в трех искусственно поддерживаемых популяциях эти локусы оказались разными. Отсюда напрашивается вывод о том, что ни один из них не может быть надежным индикатором неконтролируемого отбора, в отличие от локуса, кодирующего малик-энзим (Рис. 13) (Artamonova et al., 2010a).

Если локусы, по которым наблюдается неконтролируемый отбор, предполагается использовать в качестве мишеней при маркер-специфичной селекции, следует обращать внимание на те из них, по которым отбор является движущим, то есть изменяет частоты аллелей генов, а не частоты генотипов. Ведь различие в частотах генотипов между выборками рыб одного поколения, но собранных в разном возрасте, может быть связано, например, с более быстрым созреванием и более быстрой гибелью наиболее гетерозиготных особей или, наоборот, с более высокой смертностью гомозигот. После скрещивания выживших представителей данного стада частоты генотипов вернутся к равновесию Харди-Вайнберга, и не будут отличаться от частот генотипов у особей предыдущего поколения в том же возрасте. Этот так называемый “Сизифов цикл” – естественный процесс, идущий и в природе (Mitton, 1997).

Мониторинг неконтролируемых процессов, идущих в условиях искусственного выращивания, достаточно новое направление исследований, но его специфика заключается в том, что оно уже сейчас может дать очень многое практике аквакультуры.

3.2.3.4. Идентификация генетического пола

Как говорилось в разделе 2.4.3, в настоящее время в форелеводстве широко используется гормональное переопределение пола. При этом встает задача идентификации генотипических самцов и генотипических самок. Для этого подбирают специфические праймеры к генам, локализованным в Y-хромосоме. Аллель-специфическая ПЦР с этими праймерами идет только у генотипических самцов.

Специфические праймеры к генам, локализованным в Y-хромосоме, разработаны для всех основных объектов товарного форелеводства и лососеводства – радужной форели, атлантического лосося и кумжи (Brunelli et al., 2008, 2010; Anglès d’Auriac et al., 2014; Rud, Buchatsky, 2014; Рудь и др., 2015).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, за последние сто лет генетика дала лососеводству и форелеводству целый ряд подходов, позволяющих получать новые и улучшать существующие породы лососевых рыб. Появляются все новые и новые методы генетического анализа, позволяющие оценивать и планировать работу селекционера, идентифицировать виды, породы и даже потомство отдельных особей, выявлять возбудителей опасных заболеваний.

Использование генетических методов в современном форелеводстве и лососеводстве не просто желательно – оно по-настоящему необходимо. По-существу, только эти методы дают возможность осуществлять контроль качества посадочного материала и его соответствия критериям, заявленным поставщиком, что особенно важно в случае зарубежных поставок. Широкое внедрение этих методов позволит предот-

Таблица 6. Сравнительная характеристика методов, используемых в популяционных исследованиях благородных лососей

Задача	Метод	Аллозимные маркеры	Митохондриальная ДНК	Мини- и микросателлиты	Фрагменты ядерных генов
Диагностика видов и межвидовых гибридов		+++	(-/++++)	+	+++
Поиск генетически-модифицированных организмов (ГМО)		–	–	–	++++
Диагностика патогенных организмов		–	++	–	+++
Выявление полиплоидов		+++	–	+++	+
Оценка уровня генетического разнообразия		+++	++	+++	++
Идентификация пород и их кроссов		++	+	+++	+
Дифференциация искусственно выращенных и диких рыб		++	+	++++	+
Идентификация отдельных особей и выявление родственных связей между ними		+	–	++++	+
Маркер-специфичная селекция		+	++	+++	+
Выявление неконтролируемого отбора		++++	++	+	++
Идентификация генетического пола		+	–	–	++++

Обозначения: – метод неприменим, + обычно бесполезен, ++ может быть полезен в отдельных случаях или в сочетании с другими методами, +++ как правило, дает хорошие результаты, ++++ надежен, рекомендуется использовать. Жирным шрифтом значки выделены в случаях, когда данный метод использовался на практике для решения данной задачи.

вратить вспышки опаснейших заболеваний, грозящих форелеводам – разорением, а природным популяциям лососей – уничтожением. Хорошо отлаженная система контроля позволит создать в ближайшей перспективе отечественную систему региональных селекционно-генетических центров, которые смогут обеспечивать потребности в качественном и районированном посадочном материале не только России, но и некоторых соседних стран.

В то же время, ни в коем случае нельзя считать, что новые методы лучше «старых». Ни один из методов, когда-либо использовавшихся в лососеводстве и форелеводстве, нельзя считать устаревшим – каждый из них имеет свое назначение и свою область применения (Таблица 6).

Другое дело, что новые методы иногда позволяют осуществлять «традиционную» селекцию более эффективно, а также дают возможность проводить тестирование таких параметров, оценить которые с помощью традиционных приемов невозможно или слишком трудозатратно. Так, возможность определять родственные отношения с помощью молекулярно-генетических маркеров позволяет оценивать наследуемость хозяйственно-важных признаков без постановки специальных экспериментов, предполагающих раздельное содержание семей.

В то же время, довольно часто новейшие методы уступают разработанным ранее по соотношению цены и качества. Нам известны случаи, когда отечественные лаборатории, закупившие дорогие импортные приборы, не используют их из-за дороговизны расходных материалов. Кроме того, такие приборы в наших условиях часто выходят из строя – из-за скачков напряжения в электросети, перегрева в летний период при работе в помещениях, не оборудованных кондиционерами, отсутствия специалистов по обслуживанию.

Кроме того, как показывает наш собственный опыт, студенты и стажеры, которые начинают работать сразу на сложных, полностью автоматизированных приборах, в подавляющем большинстве случаев не понимают сути выполняемых операций. Они слепо доверяют данным, появляющимся на дисплее прибора, даже если результат заведомо представляет собой артефакт, не способны корректировать условия проведения реакций в зависимости от выполняемой задачи или при переходе на новый объект исследования. В результате, столкновение неподготовленного человека с суперсовременным оборудованием ведет либо к поломке прибора, либо к его обожествлению – в любом случае выигрывают только производители этого оборудования.

В дальнейшем такие специалисты оказываются абсолютно не способны работать на приборах, где отсутствует автоматизированное управление, априори считают, что с их помощью невозможно получать качественные результаты, а в результате стоимость анализа может вырастать на порядок. В то же время исследователи, вначале освоившие работу вручную, с легкостью осваивают и приборы любой сложности, ценят преимущества, которые они дают, вдумчиво подходят к интерпретации результатов.

Остается только сожалеть, что в настоящее время при обучении будущих специалистов пониманию глубинной сути молекулярно-биологических методов и возможной области их применения уделяется так мало внимания.

Надеемся, что наша книга поможет читателям хотя бы частично восполнить этот пробел, а также разобраться в многообразии генетических методов, применяемых в лососеводстве и форелеводстве, научиться адекватно оценивать результаты работы коллег и при необходимости выбирать оптимальные генетические методы для решения собственных задач.

ЛИТЕРАТУРА

- Абрамова Н.Б., Буракова Т.А., Корж В.П., Нейфах А.А. 1979. Инъекция митохондрий в ооциты и оплодотворенные яйца // Онтогенез. т. 10. № 4. с. 401-404.
- Алексеева Я.И., Андреева А.П., Груздева М.А., Дворянkin Г.А., Кузишин К.В., Махров А.А., Новоселов А.П., Попов И.Ю. 2014. Пресноводная ихтиофауна Соловецких островов (Белое море, Европейский Север России): история формирования и современное состояние // Российский журнал биологических инвазий. № 2. с. 2-14.
- Алтухов Ю.П. 1974. Популяционная генетика рыб. М.: Пищевая промышленность. 247 с.
- Алтухов Ю.П. 2003. Генетические процессы в популяциях. 3-е изд., перераб. и доп. М.: ИКЦ “Академкнига”. 431 с.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. 1997. Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука. 288 с.
- Ананьев В.И., Манохина М.С. 2013. Состояние исследований по разработке методов криоконсервации спермы, эмбрионов рыб и водных беспозвоночных // Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб. Матер. междунар. конф., посвящ. памяти профессора, доктора биологических наук Валентина Сергеевича Кирпичникова. СПб: ФГБНУ “ГосНИОРХ”. с. 7-22.
- Андрияшева М.А. 1971. Проявление гетерозиса у рыб и его использование в рыбоводстве // Изв. ГосНИОРХ. т. 75. с. 100-113.
- Андрияшева М.А. 2009. Концепция сохранения генофонда природных популяций рыб (изд. 2-е, перераб. и доп.). СПб.: ГосНИОРХ. 59 с.
- Анохина В.С. 1995. Этапы становления лососевой аквакультуры на Европейском Севере России // Проблемы товарного выращивания лососевых рыб России. Сб. докл. Всер. совещ. 1-4 августа 1995 г. г. Мурманск. Мурманск. с. 5-16.
- Арефьев В.А., Микодина Е.В., Душкина Л.А. 1996. Стальноголовый лосось (радужная форель) как возможный тест-объект для цитогенетического мониторинга в аквакультуре // Рыбное хоз-во. Серия: Аквакультура. Информационный пакет. ВНИЭРХ. вып. 1. с. 15-35.
- Арсенюк Н.Г., Новоженин Н.П. 2001. Развитие селекционно-племенной работы в Кисловодском форелевом хозяйстве // Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России. Матер. докл. научно-практ. конф. Сентябрь, 24-27, 2001 г. Адлер, Россия. Краснодар. с. 9-10.
- Артамонова В.С. 2007а. Генетические маркеры в популяционных исследованиях атлантического лосося (*Salmo salar* L.). I. Признаки кариотипа и аллозимы // Генетика. т. 43. № 3. с. 293-307.
- Артамонова В.С. 2007б. Генетические маркеры в популяционных исследованиях атлантического лосося (*Salmo salar* L.). II. Анализ последовательностей ДНК // Генетика. т. 43. № 4. с. 437-450.
- Артамонова В.С., Янковская В.А., Голод В.М., Махров А.А. Генетическая дифференциация пород радужной форели (*Parasalmo mykiss*), разводимых в Российской Федерации // Труды Института биологии внутренних вод (на рецензии).
- Артамонова В.С., Кондратенко Я.В., Моисеева Е.В., Хаймина О.В., Шрейдер М.Ю., Янковская В.А., Махров А.А. 2013. Быстрая эволюция лососевых рыб в природе и в искусственных условиях // Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб. Матер. междунар. конф., посвящ. памяти профессора, доктора биологических наук Валентина Сергеевича Кирпичникова. СПб: ФГБНУ “ГосНИОРХ”. с. 62-71.
- Артамонова В.С., Махров А.А. 2005. Популяционная структура семги (*Salmo salar* L.) и ее изменение под влиянием рыбоводства // Ихтиофауна малых рек и озер Восточного Мурмана. Апатиты. с. 144-157.
- Артамонова В.С., Махров А.А. 2006. Неконтролируемые генетические процессы в искусственно поддерживаемых популяциях: доказательство ведущей роли отбора в эволюции // Генетика. т. 42. № 3. с. 310-324.
- Артамонова В.С., Махров А.А. 2008. Генетические системы как регуляторы процессов адаптации и видообразования (к системной теории микроэволюции) // Современные проблемы биологической эволюции: труды конференции. К 100-летию Государственного Дарвиновского музея. 17–20 сентября 2007, г. Москва. М. с. 381-403.
- Артамонова В.С., Махров А.А. 2009. Генофонд атлантического лосося Русского Севера: история формирования, адаптивное значение, пути сохранения и использования (обзор исследований) // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера. Материалы XXVIII междунар. конф. 5-8 октября 2009 г. г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия. Петрозаводск. с. 53-58.
- Артамонова В.С., Махров А.А., Крылова С.С. и др. 2002. Выпуск молоди семги в “чужие” реки и эффективность работы рыбоводных заводов // Вопросы рыболовства. т. 3. № 3. с. 463-473.
- Артамонова В.С., Махров А.А., Шульман Б.С., Буханова А.Л., Беспалая Ю.В., Болотов И.Н. 2012. Глохидиоз у искусственно выращиваемой молоди семги (*Salmo salar* L.): диагностика путем анализа гена COI митохондриальной ДНК и возможность использования для восстановления популяций редкого вида - европейской жемчужницы (*Margaritifera margaritifera* L.) // Матер. V Всеросс. конф. с международн. участием по теоретической и морской паразитологии. г. Светлогорск, Калининградской области 23-27 апреля 2012 г. Калининград: АтлантНИРО. с. 23-25.
- Артамонова В.С., Хаймина О.В., Махров А.А. 2010. Устойчивость атлантического лосося к *Gyrodactylus salaris*: перспективы, связанные с митохондриальной ДНК // Сборник тезисов Второго междунар. конгресса “ЕвразияБио-2010”. Москва, 13-15 апреля 2010 г. М. с. 17-18.
- Артамонова В.С., Хаймина О.В., Махров А.А. и др. 2008. Эволюционные последствия вселения паразита (на примере атлантического лосося, *Salmo salar* L.) // ДАН. т. 423. № 2. с. 275-278.
- Артамонова В.С., Янковская В.А., Сальникова И.С., Махров А.А. 2007. Результаты гибридизации радужной форели (*Parasalmo mykiss*) и черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax*) с применением термошока: андрогенез, гиногенез, особи с признаками рода *Oncorhynchus* // Естественные и инвазийные процессы формирования биоразнообразия водных и наземных экосистем. Тез. докл. междунар. научн. конф. 5-8 июня 2007 г. Ростов-на-Дону. с. 32-33.

- Атлас пресноводных рыб России. В 2 т. Т. 1. М.: Наука, 2003. 379 с.
- Барминцев В.А., Зеленина Д.А., Волков А.А. и др. 2003. Молекулярно-генетическая идентификация пород радужной форели // Материалы межд. симпозиума “Холодноводная аквакультура: старт в XXI век”. Россия, СПб, 8-13 сентября 2003 г. М. с. 196-197.
- Барач Г.П. 1962. Черноморская кумжа (лосось-форель). Изд-во АН ГрузССР. 112 с.
- Бауэр О.Н. 1983. Инфекционные болезни лососевых в условиях искусственного выращивания // Обзорная информация ЦНИИТЭИРХ. вып. 1. с. 1-38.
- Белаш Д.Э., Тыщенко В.И., Дементьева Н.В. и др. 2003. Изучение генетического разнообразия пород форели методом ДНК фингерпринтинга // Матер. конф., посвящ. 100-летию научной селекции в России. Москва, 9-11 декабря 2003 г. М. с. 191-192.
- Беляков А.В., Лякишева Ю.А., Прокудина Н.В. 2010. Проблемы правового регулирования генно-инженерной деятельности. М.: NOTA BENE. 280 с.
- Берг Л.С. 1962. Обзор распространения пресноводных рыб Европы // Избр. труды. т. 5. с. 238-319.
- Бирюков Ю.А. 1993. Оценка возможностей химического мутагенеза в селекции радужной форели // Химический мутагенез и задачи сельскохозяйственного производства. М.: Наука. с. 154-159.
- Богерук А.К. 2007. Состояние и направления развития аквакультуры в Российской Федерации. М.: ФГНУ “Росинформагротех”. 88 с.
- Бондарев В.А. 2010. Спасение тайменя реки Лозьва // Любительское рыболовство и сохранение лососевых в России. М.: Фонд “Русский Лосось”. с. 116-124.
- Варзегова С.А. 1987. Техника проведения индивидуального маркирования радужной форели с помощью белков плазмы крови // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 259. с. 40-45.
- Варзегова С.А., Пчеловодова Д.В. 1988. Состав белков сыворотки крови у молоди радужной форели и условия ее содержания в Ордежском рыбобпитомнике // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 276. с. 122-125.
- Варнаевская Н.В. 2006. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей. Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамчатНИРО. 488 с.
- Вейр Б. 1995. Анализ генетических данных. М.: Мир, 400 с.
- Вигфюссон О. 2010. Последний лосось. Двойные стандарты Норвегии мешают попыткам России защитить свою семгу // Нахлыст. № 2. с. 76-77.
- Воробьева Н.К., Пестрикова Л.И. 2011. Форелеводство в Заполярье. Мурманск: Изд-во ПИНРО. 168 с.
- Генетика изоферментов. М.: Наука. 1977. 275 с.
- Гимбагов Г.М. 2003. Холодноводная аквакультура Дагестана // Материалы межд. симпозиума “Холодноводная аквакультура: старт в XXI век”. Россия, СПб, 8-13 сентября 2003 г. М. с. 25-28.
- Глазко В.И., Глазко Т.Т. 2006. ДНК технологии в генетике и селекции. Краснодар: ВНИИ риса. 399 с.
- Глазко В.И., Созинов И.А. 1993. Генетика изоферментов животных и растений. Киев: “Урожай”. 526 с.
- Глубовский М.К. 1995. Эволюционная биология лососевых рыб. М.: Наука, 343 с.
- Головин П.П., Головина Н.А., Учуева Н.К., Пузиков П.И. 2008. Ихтиопатологический мониторинг лососевых рыбозаводных заводов Магаданской области // Современное состояние водных биоресурсов. Научн. конф., посвящ. 70-летию С.М. Коновалова. 25-27 марта 2008 г. Владивосток. с. 724-727.
- Голод В.М., Цикунов А.В. 2005. Формирование стада онежского лосося *Salmo salar morpha sebago* в заводских условиях // Генетика, селекция и племенное дело в аквакультуре России. М. с. 410-415.
- Голубцов А.С., Малков Н.П. 2007. Очерк ихтиофауны Республики Алтай. М.: Товарищество научных изданий КМК. 164 с.
- Гомельский Б.И., Грунина А.С. 1988. Искусственная полиплоидия у рыб и возможности ее использования в рыбководстве // Рыбное хозяйство. Обзорная информация. Серия: Рыбохозяйственное использование внутренних водоемов. вып. 1. 54 с.
- Городилов Ю.Н. 2001. К вопросу о стратегии работ по интродукции тихоокеанских лососей в морях Европейской части России // Вопросы рыболовства. т. 2. № 4. с. 604-618.
- Гринюк И.Н., Городилов Ю.Н., Деева Т.А. 1977. Перспективы морского культивирования лосося в СССР // Рыбное хозяйство. № 10. с. 10-12.
- Груздев А.И., Сидоров В.С., Смирнов Ю.А., Чеченков А.В. 1983. Активность изоферментов лактатдегидрогеназы при некрозе плавников у молоди семги *Salmo salar* L. (*Salmonidae*) // Вопр. ихтиол. т. 23. вып. 4. с. 661-666.
- Дементьева Н.В., Терлецкий В.П., Тыщенко В.И. и др. 2005. Генетическое разнообразие и дивергенция некоторых видов и пород лососевых рыб // Генетика, селекция и племенное дело в аквакультуре России. М. с. 188-195.
- Димчева-Грозданова Л., Белчева Р. 1976/1977. Ембриологични и цитогенетични изследвания върху хибриди F₁ между дъговата пъстърва (*Salmo irideus* Gibb.) x балканската пъстърва (*Salmo trutta* m. *fario* L.) // Годишник на Софийския университет «Климент Охридски». Биологически факултет. Книга 1 – Зоология. т. 70. с. 85-95.
- Дихнич А.В. 2002. Характеристика маточного стада атлантического лосося балтийской популяции (*Salmo salar* L.) // Проблемы воспроизводства, кормления и борьбы с болезнями рыб при выращивании в искусственных условиях. Матер. научн. конф. 14-18 октября 2002 г. Петрозаводск. с. 58-62.
- Дихнич А.В. 2003. Формирование стада ладожской палии (*Salvelinus alpinus* complex) в заводских условиях // Материалы межд. симпозиума “Холодноводная аквакультура: старт в XXI век”. Россия, СПб, 8-13 сентября 2003 г. М. с. 103-104.
- Дихнич А.В. 2004. Биологические основы формирования маточных стад атлантического лосося *Salmo salar* L. в заводских условиях. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. СПб.: ГосНИОРХ. 24 с.
- Дихнич А.В. 2005. Сравнительная характеристика производителей атлантического лосося *Salmo salar* L. анадромных и заводских маточных стад // Генетика, селекция и племенное дело в аквакультуре России. М. с. 373-391.
- Дихнич А.В., Никандров В.Я. 2002. Размерно-весовая и фенетическая структура исходного стада ладожской палии (*Salvelinus alpinus* complex) // Генетика, селекция и воспроизводство рыб. Доклады Первой Всеросс. конф. по генетике, селекции и воспроизводству рыб. 29-30 октября 2002 г. СПб. с. 99-104.
- Дмитриев М. 2006. Рыбалка по принципу “выпустил – поймал”. Прудовая ловля радужной форели // Нахлыст. № 3. с. 30-35.

- Дорофеева Е.А. 1998. Систематика и история расселения европейских лососей рода *Salmo* // *Вопр. ихтиол.* т. 38. № 4. с. 437-447.
- Дорофеева Е.А. 1999. Лососи и форели Евразии: сравнительная морфология, систематика и филогения. Дисс. ... д-ра биол. наук в виде научного доклада. СПб.: Зоол. ин-т РАН, 55 с.
- Дорофеева Е.А. 2008. Морфологические особенности озерных форм лососевых рыб родов *Salmo* и *Oncorhynchus* (Pisces: Salmonidae) // *Труды ЗИН РАН.* т. 312. № 1/2. с. 114-126.
- Дорофеева Е.А., Зеленников О.В., Боркичев В.С., Алексеев А.П. 2007. Формирование популяций горбуши в Белом море // *Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря.* Матер. X Междунар. конф. 18-20 сентября 2007 г., Архангельск, Россия. Архангельск. с. 116-122.
- Дума В.В., Гарин А.В. 1991. Выращивание молоди триплоидной радужной форели // *Рыбное хоз-во.* № 2. с. 42.
- Евсеева Н.В. 2008. Состояние и перспективы ихтиопатологических исследований в аквакультуре Карелии // *Садковое рыбоводство.* Матер. научн. конф. 13-17 октября 2008 г. Петрозаводск. с. 68-71.
- Евсеева Н.В. 2009. Распространение моногени *Gyrodactylus salaris* в садковой аквакультуре Карелии // *Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера.* Материалы XXVIII междунар. конф. 5-8 октября 2009 г. г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия. Петрозаводск. с. 206-209.
- Евсеева Н.В., Барская Ю.Ю., Лебедева Д.И. 2009. Первый случай гиродактилеза радужной форели в аквакультуре Карелии // *Сб. научн. тр. ГосНИОРХ.* вып. 338. с. 71-76.
- Жученко А.А. 2004. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы (теория и практика). В двух томах. М.: ООО «Издательство Агрорус», т. 1. 690 с., т. 2. 466 с.
- Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е., Гулюкин М.И., Львов Д.К. 2013. Вирусные инфекции рыб // *Руководство по вирусологии.* М. с. 1123-1132.
- Завьялова Е.А., Кандрин Н.Ю., Ломакина Н.Ф., Гулюкин М.И. 2015. Индикация и идентификация некоторых особо опасных вирусов рыб методом ПЦР // *Рыбоводство и рыбное хозяйство.* № 3. с. 21-25.
- Заславский В.А. 1967. Репродуктивное самоуничтожение как экологический фактор (экологические последствия генетического взаимодействия популяций) // *Журн. общ. биол.* т. 28. № 1. с. 3-11.
- Захаров В.С. 2010. Товарное форелеводство России, его современное состояние и перспективы роста // *Вклад молодых ученых в рыбохозяйственную науку России.* Тез. докл. Всеросс. молод. конф. (Санкт-Петербург, 12-14 октября 2010 г.). С.-Петербург. с. 59-62.
- Захаров В.С. 2013. Товарное рыбоводство в Российской Федерации и тенденции его развития // *Состояние и перспективы развития пресноводной аквакультуры.* Докл. междунар. научно-практич. конф. (Москва, ВВЦ, 5-6 февраля 2013 г.). М. с. 39-42.
- Зелинский Ю.П. 1985. Структура и дифференциация популяций и форм атлантического лосося. Л.: Наука. 128 с.
- Зелинский Ю.П., Махров А.А. 2001. Хромосомная изменчивость, реорганизации генома в филогенезе и систематические отношения благородных лососей *Salmo* и *Parasalmo* (Salmonidae) // *Вопр. ихтиол.* т. 41. № 2. с. 184-191.
- Зелинский Ю.П., Махров А.А. 2002. Гомологические ряды по числу хромосом и перестройки генома в филогенезе лососевидных рыб (Salmonoidei) // *Генетика.* т. 38. № 10. с. 1317-1323.
- Зелинский Ю.П., Сидоров В.С., Нефедова З.А., Болгова О.М. 1990. Некоторые структурно-популяционные и эколого-биохимические проблемы криоконсервации генетических ресурсов атлантического лосося // *Симпозиум по атлантическому лососю.* Тез. докл. Сыктывкар. с. 25.
- Зиланов В.К., Лука Г.И. 2009. Аквакультура Норвегии. Мурманск: Изд-во ПИНРО. 186 с.
- Зубченко А.В., Веселов А.Е., Калюжин С.М. 2004. Горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*): проблемы акклиматизации на Европейском Севере России. Петрозаводск-Мурманск: «Фолиум». 82 с.
- Зюганов В.В., Зотин А.А., Третьяков В.А. 1993. Жемчужницы и их связь с лососевыми рыбами. М.: Ин-т биологии развития РАН. 134 с.
- Ивантер Э.В., Коросов А.В. 2003. Введение в количественную биологию. Петрозаводск: Изд-во Петрозаводск. Гос. Ун-та. 302 с.
- Иешко Е.П., Шульман Б.С., Щуров И.Л., Барская Ю.Ю. 2008. Многолетние изменения эпизоотии молоди лосося (*Salmo salar* L.) в реке Кереть (бассейн Белого моря), вызванной вселением *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 // *Паразитология.* т. 42. вып. 6. с. 486-496.
- Иешко Е.П., Щуров И.Л., Шульман Б.С., Барская Ю.Ю., Лебедева Д.И., Широков В.А. 2012. Особенности биологии, паразитофауны и встречаемости опасного паразита *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 на молоди пресноводного лосося (*Salmo salar* m. sebago Girard) реки Писта (бассейн Белого моря) // *Паразитология.* т. 46. вып. 4. с. 279-289.
- Исаева Н.М., Морозов-Леонов С.Ю. 2007. Трансгенные рыбы: современное состояние проблемы // *Цитология и генетика.* № 4. с. 72-79.
- Итоги работы государственной ветеринарной службы Мурманской области в 2006-2008 годах. http://www.gov-murm.ru/power/commit/veterinary/supervision/files/-20090304_1612.pdf
- Казаков Р.В. 1988. История освоения и экономическое значение атлантического лосося и кумжи // *Сб. научн. тр. ГосНИОРХ.* вып. 286. с. 111-129.
- Казаков Р.В. 1990. Искусственное формирование популяций проходных лососевых рыб. М.: Агропромиздат. 239 с.
- Казаков Р.В., Христофоров О.Л., Мурза И.Г., Ильенкова С.А., Титов С.Ф. 1987. Использование сбросных теплых вод для совершенствования технологии выращивания молоди атлантического лосося *Salmo salar* L. и кумжи *Salmo trutta* L. // *Вопросы лососевого хозяйства на Европейском Севере.* Петрозаводск. с. 79-95.
- Калинина Н.Р. 2012. Качественный посадочный материал – основа биобезопасности лососевых товарных ферм // *Вестник МГТУ.* т. 15. № 3. с. 517-525.
- Калюжная Т.И. 1996. Перспективные объекты холодноводной аквакультуры на северном Кавказе // *Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре.* Тез. докл. межд. симпоз. 21-24 октября 1996 г., Адлер, Россия. Краснодар. с. 44.
- Карабанов Д.П., Кодухова Ю.В. 2015. Традиционные и перспективные методы борьбы с чужеродными видами рыб // *Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хоз-во.* № 1. с. 124-133.

- Карасева Т.А. 2000. Санитарно-эпизоотическая ситуация в садковых форелевых хозяйствах Белого моря // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре. Сб. тез. докл. научно-практ. конф. 21-22 ноября 2000 г. М. с. 71-72.
- Карасева Т.А., Альтов А.В., Донецков В.В. 1998. Болезни искусственно выращенной горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) // Паразиты и болезни морских и пресноводных рыб Северного бассейна. Мурманск. с. 103-114.
- Карпевич А.Ф., Агапов В.С., Магомедов Г.М. 1991. Акклиматизация и культивирование лососевых рыб - интродуцентов. М.: ВНИРО. 209 с.
- Картавцев Ю.Ф. 2008. Молекулярная эволюция и популяционная генетика. 2-е изд. Владивосток: Изд-во Дальневосточного гос. университета. 307 с.
- Катасонов В.Я., Гомельский Б.И. 1991. Селекция рыб с основами генетики. М.: ВО "Агропромиздат". 208 с.
- Каукоранта М. 2010. Современное состояние и перспективы развития аквакультуры Финляндии // Рыбные ресурсы. № 2. с. 50-51.
- Кирпичников В.С. 1987. Генетика и селекция рыб. 2-е изд., пер. и доп. Л.: Наука, 520 с.
- Кловач Н.В. 2003. Экологические последствия крупномасштабного разведения кеты. М.: Изд-во ВНИРО. 164 с.
- Косюк Г.Н., Борхсениус С.Н. 1981. Внутрипопуляционные различия в структурах геномов у двух видов лососевых рыб // Молекулярная биология. т. 15. вып. 3. с. 547-553.
- Крамаренко И.Я., Лапочкина Н.И., Артамонова В.С., Махров А.А. 2002. Опыт создания пресноводного маточного стада семги (*Salmo salar* L.) // Проблемы воспроизводства, кормления и борьбы с болезнями рыб при выращивании в искусственных условиях. Матер. научн. конф. 14-18 октября 2002 г. Петрозаводск. с. 68-72.
- Краснов А.М., Афанасьев С.В., Йоргенсен С.М. 2013. Функциональная геномика лососевых рыб: анализы множественной экспрессии генов и их применение в аквакультуре // Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб. Матер. междунар. конф., посвящ. памяти профессора, доктора биологических наук Валентина Сергеевича Кирпичникова. СПб.: ФГБНУ "ГосНИОРХ". с. 237-246.
- Кренке Н.П. 1947. Химеры растений. М.-Л.: Изд-во АН СССР. 386 с.
- Крупкин В.З., Голод В.М., Сахаров А.М., Паньков В.Ю. 2008. Производство посадочного материала в УЗВ // Современное состояние и перспективы развития аквакультуры в России. М. с. 103-107.
- Крылова С.С. 2003. Кумжа (*Salmo trutta* L.) Кольского полуострова. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Петрозаводск: Петрозаводский Гос. Ун-т. 26 с.
- Кудерский Л.А. 1984. Американская палия в ручьях Ленинградской области // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 220. с. 97-116.
- Кузицин К.В. 2010. Формирование и адаптивное значение внутривидового экологического разнообразия лососевых рыб (семейство Salmonidae). Дисс. ... д-ра биол. наук в форме научного доклада. М.: МГУ. 49 с.
- Кузицин К.В., Савваитова К.А., Павлов Д.С. 2010. Научные основы организации любительского и спортивного рыболовства и управления лососевыми водоемами // Любительское рыболовство и сохранение лососевых в России. М: Фонд «Русский лосось». с. 54-75.
- Кузьмин О.Г. 1980. О взаимоотношениях атлантического лосося (*Salmo salar* и горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*) в малых реках Кольского полуострова // Итоги и перспективы акклиматизации рыб и беспозвоночных в водоемах СССР. Тез. докл. Всесоюз. конф. Махачкала, 23-25 сентября 1980 г. М. с. 226-228.
- Кулида С.В., Тимофеев В.И. 2005. Кумжа рек юго-восточной части Белого моря, перспективы ее искусственного разведения // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера. Сборник материалов IV (XXVII) междунар. конф. 5-10 декабря 2005 г. Вологда, Россия. часть 1. Вологда. с. 233-235.
- Кулида С.В., Тимофеев В.И. 2007. Опыт искусственного воспроизводства беломорской кумжи // Матер. отчетн. сессии Сев. фил. ПИИРО по итогам НИР 2003-2004 гг. Архангельск. с. 143-151.
- Кулян С.А. 1999. Черноморский лосось не исчезнет // Рыбоводство и рыболовство. № 1. с. 17-18.
- Кучерявый А.В., Пельгунова Л.А., Савваитова К.А., Павлов Д.С. 2010. Влияние миног и некоторых других животных на утилизацию вещества морского происхождения в лососевых реках // Изв. ТИНРО. т. 163. с. 131-140.
- Кучин И. 1916. Отчет о деятельности Зауральской рыболовной станции на озере Аракуль за 1915 год // Зап. Уральского общества любителей естествознания. т. 36. вып. 5-8. с. 49-56.
- Кязимов И.Б. 1970. Искусственное выращивание семги в Азербайджане // Рыбное хоз-во. № 5. с. 20-21.
- Кязимов И.Б., Алекперов А.П., Оруджев А.М., Смаженко Н.Н. 1980. Результаты вселения некоторых видов лососевых в Каспийский бассейн // Итоги и перспективы акклиматизации рыб и беспозвоночных в водоемах СССР. Тез. докл. Всесоюз. конф. Махачкала, 23-25 сентября 1980 г. М. с. 164-166.
- Лихатович Д. 2004. Лосось без рек. История кризиса тихоокеанского лосося. Владивосток: Издательский дом "Дальний Восток". 376 с.
- Лукин А.А. 1998. Интродукция радужной форели *Parasalmo mykiss* в озеро Имандра (Кольский полуостров) // Вопр. ихтиол. т. 38. № 4. с. 485-491.
- Лысенко Л.Ф., Берестовский Е.Г. 1999. Лососи реки Варзуга. Мурманск: ММБИ КНЦ РАН, 36 с.
- Мавлетова Д.А., Переслени Т.Ю. 1990. Индукция синтеза белка в ооцитах *Parasalmo mykiss* при тепловом шоке // Молекулярные механизмы генетических процессов. Тез. докл. VII Всес. симпоз. (Москва, 20-23 марта 1990 г.). М. с. 38.
- Майр Э. 1974. Популяции, виды и эволюция. М.: Мир, 460 с.
- Мак-Ларен Э. 1979. Химеры млекопитающих. М.: Мир. 176 с.
- Малахова Р.П. 1976. О паразитофауне рыб лососевой реки Писты (бассейн озер Куйто) // Лососевые (Salmonidae) Карелии. Петрозаводск. с. 122-130.
- Мамонтов Ю.П. 2002. Новое направление: рекреационная аквакультура // Рыбоводство и рыболовство. № 3-4. с. 2-3.
- Магишов Г.Г., Берестовский Е.Г. 2010. Сохранение разнообразия лососевых рыб северных и дальневосточных регионов России // Вестник РАН. т. 80. № 1. с. 52-56.
- Махров А.А. 2005. "Диалектическое" видообразование: от кумжи (*Salmo trutta* L.) к атлантическому лосою (*S. salar* L.) // Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М. с. 248-256.
- Махров А. 2011. О рекордах в рыбалке. Зачем нужны триплоидные рыбы? // Нахлыст. № 4. с. 66-69.

- Махров А.А., Артамонова В.С., Сумароков В.С., Пашков А.Н., Решетников С.И., Ганченко М.В., Кулян С.А. 2011а. Изменчивость сроков нереста у черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* Pallas в искусственных и естественных условиях // Изв. РАН. Серия биол. № 2. с. 178-186.
- Махров А.А., Артамонова В.С., Христофоров О.Л. и др. 2004. Гибридизация атлантического лосося (*Salmo salar* L.) и кумжи (*S. trutta* L.) при искусственном воспроизводстве // Генетика. т. 40. № 11. с. 1523-1529.
- Махров А.А., Болотов И.Н. 2006. Пути расселения и видовая принадлежность пресноводных животных севера Европы (обзор молекулярно-генетических исследований) // Генетика. т. 42. № 10. 1319-1334.
- Махров А.А., Иешко Е.П. 2001. Генетическая дифференциация и послеледниковое расселение кумжи (*Salmo trutta* L.) бассейна Белого моря // Биогеография Карелии. Труды Карельского НЦ РАН. Серия Б. Биология. вып. 2. с. 175-178.
- Махров А.А., Карабанов Д.П., Кодухова Ю.В. 2014. Генетические методы борьбы с чужеродными видами // Российский журнал биологических инвазий. № 2. с. 110-126.
- Махров А.А., Кузищин К.В., Алтухов Ю.П. 1997. Связь аллозимной гетерозиготности с темпом роста и экологической дифференциацией кумжи (*Salmo trutta* L.) // Генетика. т. 33. № 5. с. 681-686.
- Махров А.А., Кузищин К.В., Новиков Г.Г. 1999. Генетическая дифференциация кумжи (*Salmo trutta* L.) побережья пролива Великая Салма (Белое море) // Генетика. т. 35. № 7. с. 969-975.
- Махров А.А., Кулян С.А., Артамонова В.С., Холод О.Н. 2004б. Зимне-весенний нерест у черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax* Pallas), выращенной на родниковой воде // Проблемы естественного и искусственного воспроизводства рыб в морских и пресноводных водоемах. Тез. междунар. научн. конф. 9-10 июня 2004 г. Ростов-на-Дону. с. 87-88.
- Махров А.А., Пономарева М.В., Хаймина О.В., Гилепп В.Е., Ефимова О.В., Нечаева Т.А., Василенкова Т.И. 2013. Нарушение развития гонад карликовых самок и пониженная выживаемость их потомства как причины редкости жилых популяций атлантического лосося (*Salmo salar* L.) // Онтогенез. т. 44. № 6. с. 423-433.
- Махров А.А., Салменкова Е.А., Зелинский Ю.П., Груздев А.И. 1994. Распределение генотипов локуса LDH-5* в возрастных группах трех популяций кумжи (*Salmo trutta* L.) // Генетика. т. 30. № 1. с. 92-94.
- Махров А.А., Янковская В.А., Моисеева Е.В., Артамонова В.С., Кондратенко Я.В. 2011б. Получение декоративных форм лососевых рыб // Рыбное хоз-во. № 1. с. 68-70.
- Медников Б.М. 1977. Дивергенция геномов и некоторые вопросы эволюционной теории. Дисс. ... д-ра биол. наук. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова. 178 с.
- Медников Б.М., Шубина Е.А., Мельникова М.Н., Савваитова К.А. 1999. Проблема родового статуса тихоокеанских лососей и форелей (геносистематический анализ) // Вопр. ихтиол. т. 39. № 1. с. 14-21.
- Мельникова М.Н., Павлов С.Д., Колесников А.А., Петров Н.Б. 2010. Поиск и конструирование популяционно-генетических SCAR-маркеров для камчатской микижи *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* // Генетика. т. 46. № 6. с. 792-797.
- Метальникова К.В. 1991. Потомство реверсантов стальноголового лосося // Рыбное хоз-во. № 12. с. 59-61.
- Микодина Е.В. 2008. Генетически модифицированные организмы (ГМО) и биологическая безопасность рыб в аквакультуре // Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов. Материалы второй междунар. научно-практ. конф. 26-27 ноября 2008 г., Москва, ВВЦ, павильоны № 38, 57. М. с. 167-170.
- Микодина Е.В., Ганжа Е.В. 2008. Генетически модифицированные источники в комбикормах для рыб // Рыбное хоз-во. № 2. с. 84-87.
- Мина М.В. 1986. Микроэволюция рыб. Эволюционные аспекты фенетического разнообразия. М.: Наука, 207 с.
- Мировое производство аквакультуры. 2004-2008 (по материалам ФАО). М.: ФГУП "ВНИРО". 2010. 171 с.
- Митрофанов Ю.А. 1994. Индуцированная изменчивость хромосом эукариот. М: Наука, 140 с.
- Можарова А.И., Бычкова Л.И. 1995. Организация противоэпизоотических мероприятий на лососевых рыбодных заводах // Проблемы товарного выращивания лососевых рыб России. Сборник докладов Всеросс. совещ. 1-4 августа 1995 г. г. Мурманск. Мурманск. с. 67-70.
- Мрук А.І. 2008. Рибницько-біологічна характеристика райдужної форелі селекційного покоління F2 вирощуваної у ВАТ «Закарпатський рибкомбінат» // Рибгосподарська наука України. № 2. с. 56-60.
- Муравьев В.Б., Бабий В.А. 1999. Об особенностях организации морской товарной рыбодной фермы в акватории Адлера // Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре. Матер. докл. второго междунар. симп. Октябрь, 4-7, 1999 г., Адлер, Россия. Краснодар. с. 66-67.
- Мурза И.Г., Христофоров О.Л. 1991. Определение степени зрелости гонад и прогнозирование возраста достижения половой зрелости у атлантического лосося и кумжи. Л.: ГосНИОРХ, Физиол. НИИ ЛГУ. 102 с.
- Мурза И.Г., Христофоров О.Л. 2010. Рост и половое созревание самок атлантического лосося *Salmo salar* L. без нагула в природных водоемах // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. т. 1. Петрозаводск. с. 176-192.
- Небесихина Н.А., Тимошкина Н.Н., Барминцева А.Е., Туниев С.Б., Гогуга М.Л. 2013. Оценка генетической изменчивости кумжи *Salmo trutta* рек северо-восточной части Черного моря // Вопросы рыболовства. т. 14. № 4. с. 811-817.
- Нечаева Т.А. 2014. Инфекционные болезни радужной форели в рыбодных хозяйствах Карелии // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. № 2. с. 84-87.
- Никандров В.Я. 1995. Основные направления племенной работы в форелеводстве // Проблемы товарного выращивания лососевых рыб России. Сборник докладов Всеросс. совещ. 1-4 августа 1995 г. г. Мурманск. Мурманск. с. 19-21.
- Никандров В.Я., Шиндавина Н.И. 2007. Характеристика черноморской кумжи *Salmo trutta labrax*, выращенной в заводских условиях // Вопр. ихтиол. т. 47. № 2. с. 238-246.
- Никандров В.Я., Шиндавина Н.И., Бабий В.А. и др. 2002. Характеристика породы радужной форели Адлер и перспективы ее использования // Рыбное хоз-во. Сер. "Актуальные научно-технические проблемы отрасли". вып. 2. с. 33-58.
- Никандров В.Я., Шиндавина Н.И., Голод В.М., Терентьева Е.Г. 2014. Вариант желтой окраски у форели Рофор // Рыбное хоз-во. № 2. с. 95-98.
- Никонов С.И., Витвицкая Л.В. 1993. Эколого-генетические проблемы искусственного воспроизводства осетровых и лососевых рыб. М.: Наука. 254 с.
- Никонов С.И., Офицеров М.В., Витвицкая Л.В., Лоечко А.А. 1989. Неконтролируемый генетический отбор лососей // Рыбное хоз-во. № 1. с. 54-55.

- Новиков Г.Г., Семенова А.В., Строганов А.Н., Тагизадэ В. 2008. Аллозимная изменчивость в популяциях кумжи *Salmo trutta* из рек Ирана // Вопр. ихтиол. т. 48. № 3. с. 421-426.
- Осинов А.Г. 1984. К вопросу о происхождении современного ареала кумжи *Salmo trutta* L. (Salmonidae): Данные по биохимическим маркерам генов // Вопр. ихтиол. т. 24. вып. 1. с. 11-24.
- Осинов А.Г. 1999. Лососевые рыбы *Salmo*, *Parasalmo* и *Oncorhynchus*: генетическая дивергенция, филогения и классификация // Вопр. ихтиол. т. 39. № 5. с. 595-611.
- Осинов А.Г. 2009. Иранские выборки кумжи *Salmo trutta* или микижи *Oncorhynchus mykiss*: сравнение результатов анализов аллозимов и последовательностей контрольного региона митохондриальной ДНК // Вопр. ихтиол. т. 49. № 6. с. 848-851.
- Осинов А.Г., Берначе Л. 1996. "Атлантическая" и "дунайская" филогенетические группы кумжи *Salmo trutta* complex: генетическая дивергенция, эволюция, охрана // Вопр. ихтиол. т. 36. № 6. с. 762-786.
- Основные результаты научной деятельности ученых Петрозаводского государственного университета. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ. 1995. 76 с.
- Паавер Т.К. 1986. Заниженный уровень генетической изменчивости белков радужной форели Дональдсона // Изв. АН ЭССР. Биология. т. 35. № 3. с. 193-197.
- Паавер Т.К. 1987. Внутривидовая генетическая изменчивость карпа и радужной форели по биохимическим маркерам // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 261. с. 51-59.
- Паавер Т.К. 1988а. Молекулярная гетерогенность и генетический полиморфизм белков желтка яйцеклеток радужной форели *Salmo gairdneri* Richardson // Онтогенез. т. 19. № 4. с. 400-404.
- Паавер Т.К. 1988б. Электрофоретическая изменчивость белков и генетические особенности выращиваемых в СССР породных групп и стад радужной форели *Salmo gairdneri* // Вопр. ихтиол. т. 28. № 4. с. 595-603.
- Павлов Д.С., Костин В.В., Пономарева В.Ю. 2010. Поведенческая дифференциация сеголеток черноморской кумжи *Salmo trutta labrax*: реореакция в год, предшествующий смолтификации // Вопр. ихтиол. т. 50. № 2. с. 251-261.
- Павлов Д.С., Савваитова К.А. 2008. К проблеме соотношения анадромии и резидентности у лососевых рыб (Salmonidae) // Вопр. ихтиол. т. 48. № 6. с. 810-824.
- Павлов Д.С., Савваитова К.А., Кузищин К.В. и др. 2001. Тихоокеанские благородные лососи и форели Азии. М.: Научный мир. 200 с.
- Павлов С.Д., Мельникова М.Н., Сенчукова А.Л., Пивоваров Е.А. 2010. Разработка новых маркерных систем для оценки генетического разнообразия камчатской микижи *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* // Вестн. Моск. ун-та. сер. 16. Биология. № 4. с. 65-68.
- Панов Д.А. 1958. О единстве стад черноморского лосося и ручьевой форели // Биологические науки. № 1. с. 46-48.
- Пономарева Е.В. 2007. Популяционная структура атлантического лосося (*Salmo salar* L.) Европейского Севера России. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.: ВНИРО. 24 с.
- Пономарева Е.В., Пономарева М.В., Кузищин К.В. и др. 2002. Межгодовые изменения структуры популяции и генетическая изменчивость атлантического лосося *Salmo salar* реки Нильмы (Белое море) // Вопр. ихтиол. т. 42. № 3. с. 347-355.
- Пономарева В.Ю. 2014. Выбор жизненной стратегии у молоди черноморской кумжи - *Salmo trutta labrax* (Salmonidae, Pisces) при разной продолжительности обитания у дна и в толще воды // Поволжский экологический журнал. № 4. с. 564-569.
- Попова Э.К., Артамонова В.С., Холод О.Н., Махров А.А. 2005. Стабилизация фенотипического и генотипического разнообразия молоди семги (*Salmo salar* L.) в аквакультуре путем кратковременного воздействия на личинок лазерным излучением // Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря. Петрозаводск. с. 263-268.
- Породы радужной форели (*Oncorhynchus mykiss* W.). М.: ФГНУ «Росинформагротех». 2006. 316 с.
- Прибрежная аквакультура. СПб.: РГГМУ. 2009. 287 с.
- Пронина Н.Д., Цветкова Л.И., Докина О.Б., Миленко В.А. 2010. Криоконсервация половых продуктов рыб для сохранения исходной генетической и популяционной структуры // Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб. Тез. докл. межд. конф. Санкт-Петербург, 20-22 апреля 2010 г. СПб. с. 176-177.
- Протокол 3-го заседания Тифлисского отдела Российского общества рыбоводства и рыболовства, происходившего 28-го апреля 1895 года // Вестник рыбпром. 1896. № 2-3. с. 102-109.
- Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю., Семёнов П.А., Савилова А.М., Кофиади И.А., Абрамов Д.Д. 2009. ПЦР "в реальном времени". М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 215 с.
- Решетников С.И., Пашков А.Н. 2009. Экосистемы малых рек Черноморского побережья Северо-Западного Кавказа. Краснодар: ООО "Биотех-Юг". 152 с.
- Рудакова С.Л. 2005. Вероятность распространения вируса инфекционного некроза гемопоэтической ткани в водоемы России при акклиматизации и искусственном воспроизводстве лососей // Чужеродные виды в Голарктике (Борок - 2). Тез. докл. Второго междунар. симпоз. по изучению инвазивных видов. Борок Ярославской области, Россия. 27 сентября - 1 октября 2005 г. Рыбинск - Борок. с. 167-168.
- Рудакова С.Л. 2011. К вопросу о бесконтрольных перевозках икры и личинок для выращивания рыб в рыбоводных хозяйствах России // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. Расшир. матер. III междунар. конф., Борок, 18-22 июля 2011 г. М. с. 253-257.
- Рудь Ю.П., Майстратенко М.И., Бучацкий Л.П. 2015. Идентификация пола у радужной форели *Oncorhynchus mykiss* методом полимеразной цепной реакции // Онтогенез. т. 46. № 2. с. 87-93.
- Румянцев Е.А. 2007. Паразиты рыб в озерах Европейского Севера (фауна, экология, эволюция). Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ. 252 с.
- Рухкян Р.Г., Григорян К.А. 1998. Опыт получения триплоидных особей у лососевых рыб Армении // Тезисы докладов республиканской научн. конф. по зоологии (14, 15 мая 1998 г.). Ереван. с. 98-99.
- Рыжков Л.П. 1967. Об акклиматизации севанской форели в водоемы Карелии // Тр. Карельск. отд-ния ГосНИОРХ. т. 5. вып. 1. с. 315-319.
- Рыжков Л.П., Нечаева Т.А., Евсеева Н.В. 2007. Садковое рыбоводство - проблемы здоровья рыб. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ. 120 с.

- Савваитова К.А., Павлов Д.С., Кузишин К.В., Груздева М.А., Кучерявый А.В. 2007. Экологические аналогии у тихоокеанской миноги *Lethenteron camtschaticum* и микижи *Parasalmo mykiss* Камчатки // Вопр. ихтиол. т. 47. № 3. с. 296-302.
- Савостьянова Г.Г. 1976. Происхождение, разведение и селекция радужной форели в СССР и за рубежом // Изв. ГосНИОРХ. т. 117. с. 3-13.
- Свердлов Е.Д. 2009. Взгляд на жизнь через окно генома. Т. 1. Очерки структурной молекулярной генетики. М.: Наука. 525 с.
- Световидов А.Н. 1975. Сравнительно-остеологическое изучение балканского эндемичного рода *Salmothymus* в связи с классификацией // Зоол. журн. т. 54. вып. 8. с. 1174-1190.
- Сексте Э.А., Дементьева Н.В., Терлецкий В.П. и др. 2008. Молекулярно-генетический анализ гетерогенности пород радужной форели // Докл. РАСХН. № 1. с. 43-46.
- Семёнова А.В., Пономарёв С.А. 2011. Временная изменчивость генетических характеристик кумжи *Salmo trutta* L. ручья Воробьева (Белое море) на основании анализа аллозимов // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. № 4. с. 13-16.
- Семенова С.К. 1988. Генетическая дифференциация популяций атлантического лосося (*Salmo salar* L.) северо-западной части СССР. Дисс. ... канд. биол. наук. М.: ИОГен АН СССР. 107 с.
- Скаткин П.Н. 1962. Биологические основы искусственного рыборазведения. М.: Изд-во АН СССР. 244 с.
- Смирнов Ю.А. 2008. Справка к истории починки нерестово-вырастных угодий лосося (*Salmo salar* L.) в останце реки Суна // Тр. Гос. прир. заповедника "Кивач". вып. 4. с. 150-153.
- Сохнов В.В., Щуров И.Л. 2001. Воспроизводство лососевых в Карелии // Рыбоводство и рыболовство. № 1. с. 54-55.
- Спешилов Л.И., Слизченко А.А. 1991. Выращивание форели в крупногабаритных садках на Черном море // Рыбное хоз-во. № 12. с. 19-21.
- Справочник по племенным рыбоводным хозяйствам Российской Федерации. М.: ФГНУ «Росинформагротех». 2007. 184 с.
- Сурков С.С., Суркова Е.И. 1975. Основные вопросы теории и практики работ по акклиматизации тихоокеанских лососей на Европейском Севере // Изв. ГосНИОРХ. т. 103. с. 93-99.
- Терентьева Е.Г. 1995. Создание породы форели Росталь (методика и предварительные результаты) // Проблемы товарного выращивания лососевых рыб России. Сборник докладов Всеросс. совещ. 1-4 августа 1995 г. г. Мурманск. Мурманск. с. 36-42.
- Терлецкий В.П., Дементьева Н.В., Тыщенко В.И. и др. 2004. Молекулярно-генетическая характеристика некоторых видов рыб семейства лососевых // Цитология. т. 46. № 10. с. 868-869.
- Терлецкий В.П., Сексте Э.А., Дементьева Н.В. и др. 2009. Генетическая гетерогенность в различных популяциях лососевых рыб // Вестник РАСХН. № 5. с. 78-79.
- Титарев Е.Ф. 1988. Новые объекты в форелеводстве страны и перспектива их использования // Сб. научн. тр. ВНИИПРХ. вып. 54. с. 55-61.
- Ткачева И.В., Типаева Д.Р., Валиев М.С. 2015. Современное состояние аквакультуры России: разведение радужной форели // Актуальные проблемы аквакультуры в современный период. Матер. Междунар. научн. конф. 28 сентября – 2 октября 2015 г., г. Ростов-на-Дону. Ростов-на-Дону. с. 178-180.
- Шатуновский М.И., Агрба М.А., Котова Н.И. 1970. Перевозка и акклиматизация стальноголового лосося в СССР // Труды ВНИРО. т. 76. с. 123-129.
- Хаймина О.В., Шульман Б.С., Широков В.А. и др. 2009. Различия в устойчивости к паразиту *Gyrodactylus salaris* атлантического лосося (*Salmo salar*) двух популяций бассейнов Белого и Балтийского морей // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 338. с. 205-209.
- Харченко П.Н., Глазко В.И. 2006. ДНК-технологии в развитии агробиологии. М.: «Воскресенье». 480 с.
- Хедрик Ф. 2003. Генетика популяций. М.: Техносфера. 592 с.
- Химическая энциклопедия. В 5 томах. т. 2. М.: Сов. энцикл. 671 с.
- Холод О.Н., Махров А.А., Кулян С.А. и др. 2004. Генетические особенности маточных стад черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax*) рыбоводных хозяйств Российской Федерации // Цитология. т. 46. № 10. с. 875-876.
- Христофоров О.Л., Мурза И.Г. 2002. Промысел и воспроизводство атлантического лосося в бассейне Балтийского моря: общая характеристика и вклад России // Вопросы рыболовства. т. 3. № 2. с. 227-247.
- Христофоров О.Л., Мурза И.Г. 2009. Проблемы сохранения популяций ладожских проходных лососей и сигов реки Свири, зарегулированной плотинами ГЭС // "Экологическая школа в Петергофе - наукограде Российской Федерации": 2009 г. "Биоразнообразие и биоиндикация в естественных и трансформированных экосистемах северо-западного региона". Матер. IV Регион. молодежн. экол. конф. Санкт-Петербург, Старый Петергоф, 26-27 ноября 2009 г. СПб. с. 143-161.
- Христофоров О.Л., Мурза И.Г., Румянцева Н.Н. 2007. 50 лет Нарвскому рыбоводному заводу // Рыбное хоз-во. № 4. с. 34-36.
- Федеральный закон от 12 июля 2000 г. N 96-ФЗ "О внесении изменений и дополнений в Федеральный закон "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности" // "Российская газета". 12.07.2000.
- Филиппов В.Ю., Мрук А.И., Бучацкий Л.П. 2009. Воспроизводство радужной форели *Oncorhynchus mykiss* с использованием криоконсервированных половых продуктов // Рибогосподарська наука Украпини. № 4. с. 82-84 (на украинском, резюме на русском и английском).
- Филиппов В.Ю., Мрук А.И., Драган Л.П., Галоян Л.Л., Бучацкий Л.П. 2015. Оценка эффективности реализации составляющих этапов криоконсервации спермы ручьевой форели (*Salmo trutta morpha fario* Linne) // Рибогосподарська наука Украпини. № 1. с. 88-95. (на украинском, резюме на русском и английском).
- Фролов С.В. 2000. Изменчивость и эволюция карิโอ типов лососевых рыб. Владивосток: Дальнаука, 229 с.
- Черешнев И.А., Скопец М.Б. 1990. *Salvelthymus svetovidovi gen et sp. nova* - новая эндемичная рыба из подсемейства лососевых (Salmoninae) из озера Эльгыгытгын (Центральная Чукотка) // Вопр. ихтиол. т. 30. вып. 2. с. 201-213.
- Черненко Е.В. 1985. Индукция триплоидии у тихоокеанских лососей (Salmonidae) // Вопр. ихтиол. т. 25. вып. 4. с. 561-567.
- Черницкий А.Г., Лоенко Л.А. 1990. Биология заводской молоди семги после выпуска в реку. Апатиты. 118 с.
- Чернов В.М., Борхсениус С.Н. 1987. Количественное определение гомологии геномов между видами тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* и внутривидовыми формами нерки // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. вып. 261. с. 84-94.
- Черфас Н.Б., Цой Р.М. 1984. Новые генетические методы селекции рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть. 104 с.

- Цветкова Л.И. 1998. Создание низкотемпературной коллекции спермы рыб // Проблемы репродуктивной биологии в трудах профессора С.И. Кулаева и его последователей. М.: МГУ. с. 326-330.
- Цой Р.М. 1969. Действие нитрозометилмочевины и деметилсульфата на спермии радужной форели (*Salmo irideus* Gibb.) и пеляди (*Coregonus peled* Gmel.) // Доклады АН СССР. т. 189. № 2. с. 411-414.
- Шварц С. С. 1980. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 278 с.
- Шилов И.А. 2002. Популяционный гомеостаз // Зоол. журн. т. 81. № 9. с. 1029-1047.
- Шиндавина Н.И., Никандров В.Я., Янковская В.А. 2005. Порода радужной форели золотистой окраски форель Адлерская янтарная // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 33. с. 161-181.
- Шубина Е.А., Медников Б.М. 1986. Семейства повторяющихся последовательностей в ДНК дальневосточных лососей рода *Oncorhynchus* // Молекулярная биология. т. 20. вып. 4. с. 947-956.
- Шульман Б.С., Щуров И.Л., Широков В.А., Гайда Р.В. 2007. Паразитофауна молоди пресноводного лосося (*Salmo salar m. sebago* Girard) реки Писта (бассейн Белого моря) // Паразитология. т. 41. № 1. с. 72-77.
- Щелкунов И.С. 2001. Генно-инженерные вакцины рыб: итоги первых двенадцати лет исследований по созданию противорабдовирусных вакцин // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 329. с. 54-66.
- Щелкунов С.Н. 2004. Генетическая инженерия. Учеб.-справ. пособие. 2-е изд., испр. и доп. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во. 496 с.
- Щербенок Ю.И., Мельникова А.Г. 2006. Первый опыт по формированию ремонтно-маточного стада ручьевой форели в Пермской области // Проблемы Красных книг регионов России. Матер. межрегион. научно-практич. конф. (30 ноября - 1 декабря 2006 г., Пермь). Пермь. с. 273-276.
- Щуров И.Л., Гайда Р.В., Шульман Б.С., Широков В.А. 2005. Пресноводный лосось (*Salmo salar m. sebago* Girard) реки Писта бассейна Белого моря // Проблемы изучения, рац. использования и охраны ресурсов Белого моря. Матер. IX междунар. конф., 11-14 октября 2004 г., г. Петрозаводск. Петрозаводск. с. 343-348.
- Щуров И.Л., Широков В.А., Тыркин И.А., Шульман Б.С. 2008. Результаты рекультивации нерестилища лосося в реке Суна // Тр. Гос. прир. заповедника "Кивач". вып. 4. с. 154-155.
- Яблоков А.Г. 1988. Обоснование оптимальной генетической сочетаемости производителей радужной форели // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. вып. 276. с. 111-121.
- Якимов А.В. 2002. Экология и биология ручьевой форели (*Salmo trutta morpha fario* L., 1758) в условиях центрального Кавказа (в пределах Кабардино-Балкарии). Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Ростов-на-Дону: АзНИИРХ. 23 с.
- Якимов А.В., Львов В.Д., Ерижиков А.Л., Шахмурзов М.М., Березгов М.Х., Этуев М.Б., Абдурахманов Р.К. 2013. Методика восстановления запасов ручьевой форели *Salmo trutta ciscaucasicus* (Dorofeeva, 1967) в естественных родниковых речках Центрального Предкавказья (на примере Кабардино-Балкарии) // Рыбное хоз-во. № 1. с. 95-99.
- Яковлев А.Ф., Терлецкий В.П., Дементьева Н.В. и др. 2009. Контроль генетического разнообразия при гибридизации форелевых рыб // Доклады РАСХН. № 5. с. 41-43.
- Aamelfot M., Dale O.B., Falk K. 2014. Infectious salmon anaemia – pathogenesis and tropism // J. Fish Diseases. v. 37. P. 291-307.
- Abadia-Cardoso A., Anderson E.C., Pearse D.E., Garza J.C. 2013. Large-scale parentage analysis reveals reproductive patterns and heritability of spawn timing in a hatchery population of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) // Mol. Ecol. v. 22. p. 4733-4746.
- Adzhubei A., Vlasova A.V., Hagen-Larsen H. et al. 2007. Annotated expressed sequence tags (ESTs) from pre-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in a searchable data resource // BMC Genomics. v. 8. 209.
- Aegerter S., Jalabert B. 2004. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Aquaculture. v. 231. p. 59-71.
- Aguilar A., Garza J.C. 2007. Patterns of historical balancing selection on the salmonid major histocompatibility complex class II σ gene // J. Mol. Evol. v. 65. p. 34-43.
- Allendorf F.W., Knudsen K.L., Leary R.F. 1983. Adaptive significance of differences in the tissue-specific expression of a phosphoglucosylase gene in rainbow trout // PNAS USA. v. 80. p. 1397-1400.
- Allendorf F.W., Luikart G., Aitken S.N. 2013. Conservation and the genetics of populations. Second Edition. Oxford: Wiley-Blackwell. 602 p.
- Allendorf F.W., Ryman N. 1986. Genetic management of hatchery stocks // Population genetics and Fishery Management. N. Ryman, F. Utter (eds.). Seattle and London: University of Washington Press. p. 141-159.
- Allendorf F.W., Utter F.M. 1979. Population genetics // Fish physiology. W.S. Hoar, D.J. Randall, J.R. Brett (eds.). v. 8. New York, San Francisco, London: Academic Press. p. 407-454.
- Alm G. 1939. Investigations on growth etc. by different forms of trout // Kungl. Lantbruksstyrelsen. No. 15. p. 1-93. (In Swedish, English summary)
- Alonso M., Tabata Y.A., Rigolino M.G., Tsukamoto R.Y. 2000. Effect of induced triploidy on fin regeneration of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // J. Exp. Zool. v. 287. p. 493-502.
- Amstutz U., Giger T., Champigneulle A., Day P.J.R., Largiadèr C.R. 2006. Distinct temporal patterns of Transaldolase 1 gene expression in future migratory and sedentary brown trout (*Salmo trutta*) // Aquaculture. v. 260. p. 326-336.
- Anglès d'Auriac M.B., Urke H.A., Kristensen T. 2014. A rapid qPCR method for genetic sex identification of *Salmo salar* and *Salmo trutta* including simultaneous elucidation of interspecies hybrid paternity by high-resolution melt analysis // J. Fish Biol. v. 84. p. 1971-1977.
- Antunes A., Gharbi K., Alexandrino P., Guyomard R. 2006. Characterization of *transferrin*-linked microsatellites in brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Mol. Ecol. Notes. v. 6. p. 547-549.
- Antunes A., Templeton A.R., Guyomard R., Alexandrino P. 2002. The role of nuclear genes in intraspecific evolutionary inference: genealogy of the *transferrin* gene in the brown trout // Mol. Biol. Evol. v. 19. p. 1272-1287.
- Arai K., Wilkins N.P. 1987. Triploidization of brown trout (*Salmo trutta*) by heat shocks // Aquaculture. v. 64. p. 97-103.
- Araki H., Ardren W.R., Olsen E. et al. 2007a. Reproductive success of captive-bred steelhead trout in the wild: evaluation of three hatchery programs in the Hood river // Conserv. Biol. v. 21. p. 181-190.
- Araki H., Berejikian B.A., Ford M.J., Blouin M.S. 2008. Fitness of hatchery-reared salmonids in the wild // Evol. App. v. 1. p. 342-355.

- Araki H., Cooper B., Blouin M.S. 2007b. Genetic effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild // *Science*. v. 318. p. 100-103.
- Araneda C., Neira R., Lam N., Iturra P. 2008. Salmonids // *Genome Mapping and Genomics in Animals*. v. 2. T.D. Kocher, C. Kole (eds.). Berlin, Heidelberg. p. 1-43.
- Akhan S., Sonay F.D., Okumus I., Köse Ö., Yandi I. 2011. Inter-specific hybridization between Black Sea trout (*Salmo labrax* Pallas, 1814) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) // *Aquaculture Research*. v. 42. p. 1632-1638.
- Artamonova V.S., Makhrov A.A., Popova E.K. 2010a. Unintentional Selection in Captive Broodstocks Intended for Restoring Natural Populations: Description of the Phenomenon and a Novel Method of Controlling It // *Stream Restoration: Halting Disturbances, Assisted Recovery and Managed Recovery*. G.D. Hayes and T.S. Flores (eds.). New York: Nova Science Publishers, Inc. p. 149-160.
- Artamonova V.A., Terentyeva E.G., Rysakova K.S., Golod V.M., Makhrov A.A., Boguerouk A.K., Lyzhov I.I. 2010b. Maintenance and rapid restoration of genetic diversity in an experimental model of the founder effect in the rainbow trout // *The III International Symposium "Invasion of alien species in Holarctic. Borok – 3"*. Programme and Book of Abstracts. October 5th-9th 2010, Borok - Myshkin, Yaroslavl District, Russia. Yaroslavl. p. 33.
- Austin B., Austin D.A. 2007. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish. Fourth Edition. Dordrecht etc.: Springer. 552 p.
- Avise J.C. 2004. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Second Edition. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers. 684 p.
- Babiak I., Dobosz S., Goryczko K. et al. 2002a. Androgenesis in rainbow trout using cryopreserved spermatozoa: the effect of processing and biological factors // *Theriogenology*. v. 57. p. 1229-1249.
- Babiak I., Dobosz S., Kuzminski H. et al. 2002b. Failure of interspecies androgenesis in salmonids // *J. Fish Biol.* v. 61. p. 432-447.
- Babiak I., Glogowski J., Dobosz S., Kuzminski H., Goryczko K. 2002c. Semen from rainbow trout produced using cryopreserved spermatozoa is more suitable for cryopreservation // *J. Fish Biol.* v. 60. p. 561-570.
- Babiak I., Glogowski J., Luczynski M. et al. 1998. The effect of individual male potency on fertilization ability of fresh and cryopreserved milt of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) // *Aquac. Res.* v. 29. p. 337-340.
- Bailey J.K., Saunders R.L. 1984. Returns of three year-classes of sea-ranched Atlantic salmon of various river strains and strain crosses // *Aquaculture*. v. 41. p. 259-270.
- Bakke T.A., Harris P.D., Hansen H., et al. 2004. Susceptibility of Baltic and East Atlantic salmon *Salmo salar* stocks to *Gyrodactylus salaris* (Monogenea) // *Diseases of Aquatic Organisms*. v. 58. p. 171-177.
- Bakke T.A., Jansen P.A., Kennedy C.R. 1991. The host specificity of *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Platyhelminthes, Monogenea): susceptibility of *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) under experimental conditions // *J. Fish Biol.* v. 39. p. 45-57.
- Barritt J.A., Brenner C.A., Malter H.E., Cohen J. 2001. Mitochondria in human offspring derived from ooplasmic transplantation // *Human Reproduction*. v. 16. p. 513-516.
- Beardmore J.A., Porter J.S. 2003. Genetically modified organisms and aquaculture. Rome: Food and agriculture organization of the United Nations. 35 p.
- Behnke R.J. 1968. A new subgenus and species of trout, *Salmo (Platysalmo) platycephalis*, from southcentral Turkey, with comments on the classification of the subfamily Salmonidae // *Mitt. Hamburg. Zool. Mus. Inst.* Band 66. p. 1-15.
- Behnke R.J. 1992. Native trout of western North America. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society.
- Benfey T.J. 1999. The physiology and behaviour of triploid fishes // *Reviews in Fisheries Sciences*. v. 7. p. 39-67.
- Benfey T.J. 2001. Use of sterile triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) for aquaculture in New Brunswick, Canada // *ICES J. Mar. Sci.* v. 58. p. 525-529.
- Benfey T.J. 2009a. Producing sterile and single-sex populations of fish for aquaculture // *New Technologies in Aquaculture: Improving Production Efficiency, Quality and Environmental Management*. G. Burnell, G. Allan (eds.). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd. p. 143-164.
- Benfey T.J. 2009b. Triploid Atlantic salmon: current status and future prospects // *ICES CM 2009/Q:11*. 10 pp.
- Benfey T.J., Dye H.M., Solar I.I., Donaldson E.M. 1989. The growth and reproductive endocrinology of adult triploid Pacific salmonids // *Fish Physiology and Biochemistry*. v. 6. p. 113-120.
- Bentsen H.B., Thodesen J. 2005. Genetic interactions between farmed and wild fish, with examples from the Atlantic salmon case in Norway // *Selection and Breeding Programs in Aquaculture*. T. Gjedrem (ed.). Springer. p. 319-334.
- Bernatchez L. 2001. The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation // *Evolution*. v. 55. p. 351-379.
- Bernatchez L., Osinov A. 1995. Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation // *Mol. Ecol.* v. 4. p. 285-297.
- Bert T.M., Crawford C.R., Tringali M.D. et al. 2007. Genetic management of hatchery-based stock enhancement // *Ecological and genetic implications of aquaculture activities*. T.M. Bert (ed.). Dordrecht. p. 123-174.
- Blanc J.M. 2003. Paternal variation in juvenile survival and growth of the triploid hybrid between female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and male brown trout (*Salmo trutta* L.) // *Aquac. Res.* v. 34. p. 205-210.
- Blanc J.M., Chevassus B. 1979. Interspecific hybridization of salmonid fish. I. Hatching and survival up to the 15th day after hatching in F1 generation hybrids // *Aquaculture*. v. 18. p. 21-34.
- Blanc J.M., Chevassus B. 1982. Interspecific hybridization of salmonid fish. II. Survival and growth up to the 4th month after hatching in F1 generation hybrids // *Aquaculture*. v. 29. p. 383-387.
- Blanc J.M., Maunas P. 2005. Farming evaluation of the 'brownbow' triploid hybrid (*Oncorhynchus mykiss* x *Salmo trutta*) // *Aquaculture International*. v. 13. p. 271-281.
- Blanc J.M., Vallee F., Maunas P., Fouriot J.-P. 2005. Maternal variation in juvenile survival and growth of triploid hybrids between rainbow trout and male brown trout and brook charr // *Aquaculture Research*. v. 36. p. 120-129.
- Blanchet S., Bernatchez L., Dodson J.J. 2009. Does interspecific competition influence relationships between heterozygosity and fitness-related behaviours in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*)? // *Behav. Ecol. Sociobiol.* v. 63. p. 605-615.
- Blanc J.M., Poisson H., Escaffre A.M., Aguirre P., Vallée F. 1993. Inheritance of fertilizing ability in male tetraploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture*. v. 110. p. 61-70.

- Blanco G., Presa P., Vazquez E., Sanchez J.A. 1998. Allozyme heterozygosity and development in Atlantic salmon, *Salmo salar* // Fish Physiology and Biochemistry. v. 19. p. 163-169.
- Boeuf G., Seddiki H., Le Roux A., Severe A., Le Bail P.-Y. 1994. Influence of triploid status on salmon smoltification // Aquaculture. v. 121. p. 300.
- Boguerouk A.K., Volkov A.A., Zelenina D.A., Barmintsev V.A. 2007. Discrimination of *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) strains by the microsatellite and RAPD-PCR analysis // Aquaculture. v. 272. Suppl. 1. p. S246.
- Bonnet S., Haffray P., Blanc J.M. et al. 1999. Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seawater brown trout (*Salmo trutta*) // Aquaculture. v. 173. p. 359-375.
- Borghesan F., Salviati S., Trisolini R., Zanon B., Libertini A. 2006. Produzione di triploidi di trota fario (*Salmo trutta trutta* L.) per il ripopolamento // Biologia Ambientale. v. 20. p. 259-262.
- Borrell Y.J., Pineda H., McCarthy I. et al. 2004. Correlation between fitness and heterozygosity at allozyme and microsatellite loci in the Atlantic salmon, *Salmo salar* // Heredity. v. 92. p. 585-593.
- Boxaspen K. 2006. A review of the biology and genetics of the sea lice // ICES J. Mar. Sci. v. 63. p. 1304-1316.
- Bridger C.J., Booth R.K., McKinley R.S., Scruton D.A. 2001. Site fidelity and dispersal patterns of domestic triploid steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) released to the wild // ICES J. Mar. Sci. v. 58. p. 510-516.
- Bridle A.R., Morrison R.N., Cunningham P.M.C., Nowak B.F. 2006. Quantitation of immune response genes expression and cellular localization of interleukin-1 β mRNA in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., affected by amoebic gill disease (AGD) // Veterinary Immunology and Immunopathology. v. 114. p. 121-134.
- Brock I.V., Hansen P.A., McBride D.N., Havens A.C. 1994. Culture and performance of triploid rainbow trout in Alaska // Transactions of the Fifty-ninth North American Wildlife and Natural Resources Conference. Washington, D.C. p. 263-273.
- Brown E.E. 1970. Hybrid vigor reported // Progressive Fish-Culturist. v. 32. p. 8.
- Brown J.R., Beckenbach K., Beckenbach A.T., Smith M.J. 1996. Length Variation, Heteroplasmy and Sequence Divergence in the Mitochondrial DNA of Four Species of Sturgeon (*Acipenser*) // Genetics. v. 142. p. 525-535.
- Brown K.H., Lee R.W., Thorgaard G.H. 2006. Use of androgenesis for estimating maternal and mitochondrial genome effects on development and oxygen consumption in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. v. 143. p. 415-421.
- Brown K.H., Patton S.J., Martin K.E., Nichols K.M. 2004. Genetic analysis of interior Pacific northwest *Oncorhynchus mykiss* reveals apparent ancient hybridization with westslope cutthroat trout // Trans. Amer. Fish. Soc. v. 133. p. 1078-1088.
- Brown K.H., Thorgaard G.H. 2002. Mitochondrial and nuclear inheritance in an androgenetic line of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Aquaculture. v. 204. p. 323-335.
- Brown L.L., Johnson S.C. 2008. Molecular interactions between fish pathogens and host aquatic animals // Fisheries for global welfare and environment. K. Tsukamoto, T. Kawamura, T. Takeuchi, T.D. Beard, Jr., M.J. Kaiser (eds.). Tokyo: TERRAPUB. p. 277-288.
- Brown P.B., Wilson K.A., Jonker Y., Nickson T.E. 2003. Glyphosate tolerant canola meal is equivalent to the parental line in diets fed to rainbow trout // J. Agric. Food Chem. v. 51. p. 4268-4272.
- Brunelli J.P., Steele C.A., Thorgaard G.H. 2010. Deep divergence and apparent sex-biased dispersal revealed by a Y-linked marker in rainbow trout // Mol. Phyl. Evol. v. 56. p. 983-990.
- Brunelli J.P., Wertzler K.J., Sundin K., Thorgaard G.H. 2008. Y-specific sequences and polymorphisms in rainbow trout and Chinook salmon // Genome. v. 51. p. 739-748.
- Buisine N., Trichet V., Wolff J. 2002. Complex evolution of vitellogenin genes in salmonid fishes // Mol. Genet. Genomics. v. 268. p. 535-542.
- Burke H.A., Sacobie C.F.D., Lall S.P., Benfey T.J. 2010. The effects of triploidy on juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) response to varying levels of dietary phosphorus // Aquaculture. v. 306. p. 295-301.
- Busack C.A., Currens K.P. 1995. Genetic risks and hazards in hatchery operations: fundamental concepts and issues // Amer. Fish. Soc. Symp. v. 15. p. 71-80.
- Busack C.A., Halliburton R., Gall G.A.E. 1979. Electrophoretic variation and differentiation in four strain of domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Can. J. Genet. Cytol. v. 21. p. 81-94.
- Buss K., Wright J.E., Jr. 1956. Results of species hybridization within the family Salmonidae // Progressive Fish-Culturist. v. 18. p. 149-158.
- Buss K., Wright J.E. 1958. Appearance and fertility of trout hybrids // Trans. Am. Fish. Soc. v. 87. p. 172-181.
- Cadrin S.X., Friedland K.D., Waldman J.R. 2005. Stock identification methods. Application in fishery science. Edited Amsterdam etc.: Elsevier Academic Press. 719 p.
- Camarena-Rosales F., Ruiz-Campos G., De La Rosa-Velez J. et. al. 2008. Mitochondrial haplotype variation in wild trout populations (Teleostei: Salmonidae) from northwestern Mexico // Rev. Fish Biol. Fisheries. v. 18. p. 33-45.
- Cambrey J.A. 2003. The global impact of alien trout species – a review; with reference to their impact in South Africa // Afr. J. Aquat. Sci. v. 28. p. 61-67.
- Campos J.L., Posada D., Moran P. 2008. Introgression and genetic structure in northern Spanish Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations according to mtDNA data // Conserv. Genet. v. 9. p. 157-169.
- Carlson S.M., Seamons T.R. 2008. A review of quantitative genetic components of fitness in salmonids: implications for adaptation to future change // Evol. Appl. v. 1. p. 222-238.
- Carmichael G.J., Hanson J.N., Schmidt M.E., Morizot D.C. 1993. Introgression among Apache, cutthroat, and rainbow trout in Arizona // Trans. Amer. Fish. Soc. v. 122. p. 121-130.
- Caroffino D.C., Miller L.M., Kapuscinski A.R., Ostazeski J.J. 2008. Stocking success of local-origin fry and impact of hatchery ancestry: monitoring a new steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) stocking program in a Minnesota tributary to Lake Superior // Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 65. P. 309-318.
- Carrera E., Garcya T., Cespedes A. et al. 1999a. PCR-RFLP of the mitochondrial cytochrome oxidase gene: a simple method for the discrimination between Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // J. Sci. Food Agric. v. 79. p. 1654-1658.

- Carrera E., Garcya T., Cespedes A. et al. 1999b. Salmon and trout analysis by PCR-RFLP for identity authentication // *J. Food. Sci.* v. 64. p. 410–413.
- Carrera E., Garcya T., Cespedes A. et al. 2000. Differentiation of smoked *Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss* and *Brama raii* using the nuclear marker 5S rDNA // *Int. J. Food. Sci. Technol.* v. 35. p. 401–406.
- Carter C.G., McCarty I.D., Houlihan D.F., Johnstone R., Walsingham M.V., Mitchell A.I. 1994. Food consumption, feeding behaviour, and growth of triploid and diploid Atlantic salmon, *Salmo salar*, parr // *Can. J. Zool.* v. 72. p. 609–617.
- Castillo A.G.F., Ayllon F., Moran P. et al. 2008. Interspecific hybridization and introgression are associated with stock transfer in salmonids // *Aquaculture.* v. 278. p. 31–36.
- Cauwelier E., Jones C.S., Noble L.R., Verspoor E. 2006. The genetical architecture of outbreeding depression in Atlantic salmon // *J. Fish Biol.* v. 69. Suppl. C. p. 240.
- Chainark P., Satoh S., Hino T. et al. 2006. Availability of genetically modified soybean meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* diets // *Fish. Sci.* v. 72. p. 1072–1078.
- Chevassus B. 1979. Hybridization in salmonids: Results and perspectives // *Aquaculture.* v. 17. p. 113–128.
- Chevassus B., Devaux A., Chourrout D., Jalabert B. 1988. Production of YY rainbow trout males by self-fertilization of induced hermaphrodites // *J. Heredity.* v. 79. p. 89–92.
- Chevassus B., Guymard R., Chourrout D., Quillet E. 1983. Production of viable hybrids in salmonids by triploidization // *Genet. Sel. Evol.* v. 15. p. 519–532.
- Chevassus B., Quillet E., Krieg F., Hollebecq M.-G., Mambrini M., Faure A., Labbe L., Hiseux J.-P., Vandeputte M. 2004. Enhanced individual selection for selecting fast growing fish: the “PROSPER” method, with application on brown trout (*Salmo trutta fario*) // *Genet. Sel. Evol.* v. 36. p. 643–661.
- Chistiakov D.A., Hellemans B., Volckaert F.A.M. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and application: A review with special reference to fish genetics // *Aquaculture.* v. 255. p. 1–29.
- Chourrout D. 1980. Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) // *Reprod. Nutr. Dev.* v. 20. p. 727–733.
- Chourrout D. 1982. Gynogenesis caused by ultraviolet irradiation of salmonid sperm // *J. Experimental Zoology.* v. 223. p. 175–181.
- Chourrout D. 1986a. Techniques of chromosome manipulation in rainbow trout: a new evaluation with karyology // *Theor. Appl. Genet.* v. 72. p. 627–632.
- Chourrout D. 1986b. Use of grayling sperm (*Thymallus thymallus*) as a marker for the production of gynogenetic rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Theor. Appl. Genet.* v. 72. p. 633–636.
- Chourrout D., Chevassus B., Krieg F. et al. 1986. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females - Potential of tetraploid fish // *Theor. Appl. Genet.* v. 72. p. 193–206.
- Chourrout D., Nakayama I. 1987. Chromosome studies of progenies issued from tetraploid females of rainbow trout // *Theor. Appl. Genet.* v. 74. p. 687–692.
- Chourrout D., Quillet E. 1982. Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies. Production of all-triploid populations // *Theor. Appl. Genet.* v. 63. p. 201–205.
- Christie M.R., Marine M.L., French R.A., Blouin M.S. 2012. Genetic adaptation to captivity can occur in a single generation // *PNAS USA.* v. 109. p. 238–242.
- Cogswell A.T., Benfey T.J., Sutterlin A.M. 2002. The hematology of triploid and diploid transgenic Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Fish Physiology and Biochemistry.* v. 24. p. 271–277.
- Collins C.M., Olstad K., Sterud E., Jones C.S., Noble L.R., Mo T.A., Cunningham C.O. 2007a. Isolation of a FIP2-like gene from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), found up-regulated following infection with the monogenean parasite *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 // *Fish and Shellfish Immunology.* v. 22. p. 282–288.
- Collins C.A., Olstad K., Sterud E., Jones C.S., Noble L.R., Mo T.A., Cunningham C.O. 2007b. Isolation of a novel fish thymidylate kinase gene, upregulated in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following infection with the monogenean parasite *Gyrodactylus salaris* // *Fish and Shellfish Immunology.* v. 23. p. 793–807.
- Colombo L. 2007. The semantics of the term “genetically modified organism” // Genetic impact of aquaculture activities on native populations. Genimpact final scientific report (EU contract n. RICA-CT-2005-022802). p. 123–125. <http://genimpact.imr.no/>
- Consuegra S., Garcia de Leaniz C.G. 2008. MHC-mediated mate choice increases parasite resistance in salmon // *Proc. R. Soc. B.* v. 275. p. 1397–1403.
- Consuegra S., Garcia de Leaniz C., Serdio A. et al. 2002. Mitochondrial DNA variation in Pleistocene and modern Atlantic salmon from the Iberian glacial refugium // *Mol. Ecol.* v. 11. p. 2037–2048.
- Consuegra S., Garcia de Leaniz C., Serdio A., Verspoor E. 2005. Selective exploitation of early running fish may induce genetic and phenotypic changes in Atlantic salmon // *J. Fish Biol.* v. 67. Suppl. A. p. 129–145.
- Cordes J.F., Stephens M.R., Blumberg M.A., May B. 2006. Identifying introgressive hybridization in native populations of California golden trout based on molecular markers // *Trans. Amer. Fish. Soc.* v. 135. p. 110–128.
- Cortey M., Vera M., Pla C., Garcia-Marin J.-L. 2009. Northern and Southern expansions of Atlantic brown trout (*Salmo trutta*) populations during the Pleistocene // *Biol. J. Linn. Soc.* v. 97. p. 904–917.
- Cotter D., O'Donovan V., O'Maoléidigh N. et al. 2000. An evaluation of the use of triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in minimizing the impact of escaped farmed salmon on wild population // *Aquaculture.* v. 186. p. 61–75.
- Coughlan J., McGinnity P., O'Farrell B. et al. 2006. Temporal variation in an immune response gene (MHC I) in anadromous *Salmo trutta* in an Irish river before and during aquaculture activities // *ICES J. Mar. Sci.* v. 63. p. 1248–1255.
- Crawford S.S., Muir A.M. 2008. Global introductions of salmon and trout in the genus *Oncorhynchus*: 1870–2007 // *Rev. Fish. Biol. Fisheries.* v. 18. p. 313–344.
- Cross T., Bailey J., Friars G., O'Flynn F. 1993. Maintenance of genetic variability in reared Atlantic salmon (*Salmo salar*) stocks // *Salmon in the sea and new enhancement strategies.* D. Mills (ed.). London. p. 356–366.
- Cross T.F., McGinnity P., Coughlan J. et al. 2007. Stocking and ranching // *The Atlantic salmon. Genetics, Conservation and Management.* E. Verspoor, L. Stradmeyer, J.L. Nielsen (eds.). Oxford. p. 325–356.

- Crowl T.A., Townsend C.R., McIntosh A.R. 1992. The impact of introduced brown and rainbow trout on native fish: the case of Australasia // *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. v. 2. p. 217-241.
- Crozier W.W., Moffett I.J.J. 1989a. Application of an electrophoretically detectable genetic marker to ploidy testing in brown trout (*Salmo trutta* L.) triploidised by heat shock // *Aquaculture*. v. 80. p. 231-239.
- Crozier W.W., Moffett I.J.J. 1989b. Experimental production of triploid brown trout, *Salmo trutta* L., using heat shock // *Aquaculture and Fisheries Management*. v. 20. p. 343-353.
- Cuellar O., Uyeno T. 1972. Triploidy in rainbow trout // *Cytogenetics*. v. 11. p. 508-515.
- Cunningham C.O., ed. 2002. *Molecular diagnosis of salmonid diseases*. Dordrecht: Springer Science+Business Media. 345 p.
- Currens K.P., Hemmingsen A.R., French R.A., Buchanan D.V., Schreck C.B., Li H.W. 1997. Introgression and susceptibility to disease in a wild population of rainbow trout // *North American Journal of Fisheries Management*. v. 17. p. 1065-1078.
- Cutter R. 1991. *Sierra trout guide*. Portland, Oregon: Frank Amato Publications. 112 p.
- Dalgaard M.B., Larsen T.B., Jorndrup S., Buchmann K. 2004. Differing resistance of Atlantic salmon strains and rainbow trout to *Gyrodactylus salaris* infection // *J. Aquat. Anim. Health*. v. 16. p. 109-115.
- Dann S.G., Allison W.E., Levin D.B. et al. 2004. Salmonid opsin sequences undergo positive selection and indicate an alternate evolutionary relationship in *Oncorhynchus* // *J. Mol. Evol.* v. 58. p. 400-412.
- Dannewitz J., Pettersson E., Prestegard T., Järvi T. 2003. Effects of sea-ranching and family background on fitness traits in brown trout *Salmo trutta* reared under near-natural conditions // *J. Appl. Ecol.* v. 40. p. 241-250.
- Danzmann R.G., Ferguson M.M. 1995. Heterogeneity in the body size of Ontario cultured rainbow trout with different mitochondrial DNA haplotypes // *Aquaculture*. v. 137. p. 231-244.
- Danzmann R.G., Ferguson M.M., Heculuck D.M. 1994. Heterogeneity in the distribution of mitochondrial DNA haplotypes in female rainbow trout spawning in different seasons // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 51. Suppl. 1. p. 284-289.
- Davidson E.H. 2006. *The Regulatory Genome. Gene regulatory networks in development and evolution*. Amsterdam etc: Academic Press. 289 p.
- Davidson W.S., Koop B.F., Jones S.J.M., Iturra P., Vidal R., Maass A., Jonassen I., Lien S., Omholt S.W. 2010. Sequencing the genome of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Genome Biology*. v. 11:403.
- de Mestral L.G., Herbinger C.M. 2013. Reduction in antipredator response detected between first and second generations of endangered juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* in a captive breeding and rearing programme // *J. Fish Biol.* v. 83. p. 1268-1286.
- de Mestral L.G., O'Reilly P.T., Jones R., Flanagan J., Herbinger C.M. 2013. Preliminary assessment of the environmental and selective effects of a captive breeding and rearing programme for endangered Atlantic salmon, *Salmo salar* // *Fisheries Management and Ecology*. v. 20. p. 75-89.
- Delling B. 2003. *Species diversity and phylogeny of Salmo with emphasis on southern trouts (Teleostei, Salmonidae)*. Doctoral dissertation. Stockholm: Department of Zoology, Stockholm University. 25 p.
- Deng G.Y., Oshiro T., Higaki S., Takashima F. 1992. Survival, growth and morphometric characteristics in diploid and triploid hybrids of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // *Suizanzoshoku*. v. 40. p. 121-129 (Abstract in English).
- Devlin R.H. 1997. *Transgenic salmonids // Transgenic animals: Generation and use*. L.M. Houdebine (ed.). Amsterdam: Harwood Academic Publishers. p. 105-117.
- Devlin R.H., Biagi C.A., Yesaki T.Y. et al. 2001. Growth of domesticated transgenic fish // *Nature*. v. 409. p. 781-782.
- Devlin R.H., Nagahama Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences // *Aquaculture*. v. 208. p. 191-364.
- Devlin R., Traavik T., Colombo L. 2007. Applicability of gene transfer into the germinal line in fish culture // *Genetic impact of aquaculture activities on native populations. Genimpact final scientific report (EU contract n. RICA-CT-2005-022802)*. p. 104-116. <http://genimpact.imr.no/>
- Diaz N.F., Iturra P., Veloso A., Estay F., Colihueque N. 1993. Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Aquaculture*. v. 114. p. 33-40.
- Dillon J.C., Schill D.J., Teuscher D.M. 2000. Relative return to creel of triploid and diploid rainbow trout stocked in eighteen Idaho streams // *North American Journal of Fisheries Management*. v. 20. p. 1-9.
- Disney J.E., Johnson K.R., Thorgaard G.H. 1987. Intergeneric gene transfer of six isozyme loci in rainbow trout by sperm chromosome fragmentation and gynogenesis // *J. Exp. Zool.* v. 244. p. 151-158.
- Diter A., Quillet E., Chourrout D. 1993. Suppression of first egg mitosis induced by heat shocks in the rainbow trout // *J. Fish Biol.* v. 42. p. 777-786.
- Dobosz S., Goryczko K. 1988. Effect of polyploidization on survival of sea, brook, and rainbow trout hybrids during incubation and early feeding period // *Acta Ichthyologica et piscatoria*. v. 18. p. 19-22.
- Dominik S., Henshall J.M., Kube P. et al. 2009. Assessment of the level of heterozygosity in the Tasmanian Atlantic salmon (*Salmo salar*) population using single nucleotide polymorphism markers // *18th Proceedings of the Association for Advancement in Animal Breeding Genetics, 27 September-2 October, 2009. Barossa Valley, SA, Australia*. <http://www.aaabg.org/proceedings18/files/dominik354.pdf>
- Dominik S., Henshall J.M., Kube P.D. et al. 2010. Evaluation of an Atlantic salmon SNP chip as a genomic tool for the application in a Tasmanian Atlantic salmon (*Salmo salar*) breeding population // *Aquaculture*. v. 308. p. S56-S61.
- Donaldson L.R. 1970. *Selective breeding of salmonoid fishes // Marine aquaculture*. Edited by W.J. McNeil. Corvallis: Oregon State University Press. p. 65-74.
- Donaldson L.R., Olson P.R. 1955. Development of rainbow trout brood stock by selective breeding // *Trans. Am. Fish. Soc.* v. 85. p. 93-101.
- Dorafshan S., Kalbassi M.R., Pourkazemi M., Amiri B.M., Karimi S.S. 2008. Effects of triploidy on the Caspian salmon *Salmo trutta caspius* haematology // *Fish Physiology and Biochemistry*. v. 34. p. 195-200.
- Dorson M., Quillet E., Hollebecq M.G. et al. 1995. Selection of rainbow trout resistant to viral haemorrhagic septicaemia virus and transmission of resistance by gynogenesis // *Veterinary Research*. v. 26. p. 361-368.
- Doszpoly A., Karaseva T.A., Waltzek T.D., Kalabekov I.M., Shchelkunov I.S. 2013. Atlantic salmon papillomatosis in Russia and molecular characterization of the associated herpesvirus // *Diseases of Aquatic Organisms*. v. 107. p. 121-127.

- Dunham J.B., Adams S.B., Schroeter R.E., Novinger D.C. 2002. Alien invasions in aquatic ecosystems: Toward an understanding of brook trout invasions and potential impacts on inland cutthroat trout in western North America // *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. v. 12. p. 373-391.
- Dunham R.A. 2004. *Aquaculture and Fisheries Biotechnology. Genetic Approaches*. Cambridge (USA): CABI Publishing. 372 p.
- Dupond-Nivet M., Médale F., Leonard J., Le Guillou S., Tiquet F., Quillet E., Geurden I. 2009. Evidence of genotype-diet interactions in the response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clones to a diet with or without fishmeal at early growth // *Aquaculture*. v. 295. p. 15-21.
- Elliott N.G., Reilly A. 2003. Likelihood of bottleneck event in the history of the Australian population of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Aquaculture*. v. 215. p. 31-44.
- Ellis J.S., Gilbey J., Armstrong A. et al. 2011. Microsatellite standardization and evaluation of genotyping error in a large multi-partner research programme for conservation of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Genetica*. v. 139. p. 353-367.
- Einum S., Fleming I.A. 2001. Implications of stocking: Ecological interactions between wild and released salmonids // *Nordic. J. Freshw. Res.* v. 75. p. 56-70.
- Elliott N.G., Kube P.D. 2009. Development and early results of the Tasmanian Atlantic salmon breeding program // *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* v. 18. p. 362-265.
- Estepa A., De Blas C., Ponz F., Coll J.M. 1995. Detection of trout haemorrhagic septicaemia rhabdovirus by capture with monoclonal antibodies and amplification with PCR // *Vet. Res.* v. 26. p. 530-532.
- Evans M.L., Dionne M., Miller K.M., Bernatchez L. 2012. Mate choice for major histocompatibility complex genetic divergence as a bet-hedging strategy in the Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Proc. R. Soc. B.* v. 279. P. 379-386.
- Fausch K.D. 2007. Introduction, establishment and effects of non-native salmonids: considering the risk of rainbow trout invasion in the United Kingdom // *J. Fish Biol.* v. 71. Suppl. D. p. 1-32.
- Fausch K.D., Rieman B.E., Young M.K., Dunham J.B. 2006. Strategies for conserving native salmonid populations at risk from nonnative fish invasions: Tradeoffs in using barriers to upstream movement. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. 44 p.
- Ferguson A. 1980. *Biochemical Systematics and Evolution*. Glasgow and London: Blackie. 194 p.
- Ferguson A. 2007. Genetic impacts of stocking on indigenous brown trout populations. Environment Agency Science Report, 81 p.
- Ferguson M.M. 1996. Variation at enzyme coding loci and correlates of fitness in rainbow trout: a cohort analysis // *J. Fish Biol.* v. 48. p. 1088-1096.
- Ferguson M.M., Danzmann R.G. 1985. Pleiotropic effects of a regulatory gene (*Pgm-1-t*) on the social behavior of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Can. J. Zool.* v. 63. p. 2847-2851.
- Ferguson M.M., Danzmann R.G. 1999. Inter-strain differences in the association between mitochondrial DNA haplotype and growth in cultured Ontario rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture*. v. 178. p. 245-252.
- Ferguson M.M., Ihssen P.E. 1991. Distribution and phenotypic correlates of variation at enzyme coding loci in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from the Lower Laurentian Great Lakes // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 48. p. 1308-1315.
- Finnegan A.K., Stevens J.R. 2008. Assessing the long-term genetic impact of historical stocking events on contemporary populations of Atlantic salmon, *Salmo salar* // *Fisheries Management and Ecology*. v. 15. p. 315-326.
- Fishback A.G., Danzmann R.G., Ferguson M.M., Gibson J.P. 2002. Estimates of genetic parameters and genotype by environment interactions for growth traits of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as inferred using molecular pedigrees // *Aquaculture*. v. 206. p. 137-150.
- Fjelldal P.G., Hansen T. 2010. Vertebral deformities in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) underyearling smolts // *Aquaculture*. v. 309. p. 131-138.
- Flajshans M., Rab P. 1987. Nalez triploidniho pstruha duhoveho formy kamloops (*Salmo gairdnerii kamloops*) // *Zivocisna Vyroba*. v. 32. p. 279-282.
- Fleming I.A., Einum S. 1997. Experimental tests of genetic divergence of farmed from wild Atlantic salmon due to domestication // *ICES J. Mar. Sci.* v. 54. p. 1051-1063.
- Fleming I.A., Petersson E. 2001. The ability of realized, hatchery salmonids to breed and contribute to the natural productivity of wild populations // *Nordic. J. Freshw. Res.* v. 75. p. 71-98.
- Fletcher G.L., Shears M.A., King M.J., Goddard S.V. 2002. Transgenic salmon for culture and consumption // *Proceeding of the International Congress on the Biology of Fish*. Vancouver, Canada: University of British Columbia. p. 5-14.
- Foisil L., Chourrout D. 1992. Chromosome doubling by pressure treatments for tetraploidy and mitotic gynogenesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): re-examination and improvements // *Aquaculture and Fisheries Management*. v. 23. p. 567-575.
- Fontdevila A. 1992. Genetic instability and rapid speciation: are they coupled? // *Genetica*. v. 86. p. 247-258.
- Forabosco F., Löhms M., Rydhmer L., Sundström L.F. 2013. Genetically modified farm animals and fish in agriculture: A review // *Livestock Science*. v. 153. p. 1-9.
- Ford J.S., Myers R.A. 2008. A global assessment of salmon aquaculture impacts on wild salmonids // *PLoS Biology*. v. 6. e33.
- Ford M.J., Thornton P.J., Park L.K. 1999. Natural selection promotes divergence of transferrin among salmonid species // *Mol. Ecol.* v. 8. p. 1055-1061.
- Forsberg L.A., Dannewitz J., Petersson E., Grahn M. 2007. Influence of genetic dissimilarity in the reproductive success and mate choice of brown trout - females fishing for optimal MHC dissimilarity // *J. Evol. Biol.* v. 20. p. 1859-1869.
- Förster M., Klupp R., Mayer L. 1986. Erzeugung triploider Regenbogenforellen unter Praxisbedingungen // *Fischer & Teichwirt*. No. 4. p. 98-100.
- Frankham R. 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs // *Mol. Ecol.* v. 17. p. 325-333.
- Frankham R., Ballou J.D., Briscoe D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press. 617 p.
- Fraser D.J. 2008. How well can captive breeding programs conserve biodiversity? A review of salmonids // *Evol. Appl.* v. 1. p. 535-586.
- Fraser T.W.K., Fjelldal P.G., Hansen T., Mayer I. 2012. Welfare Considerations of Triploid Fish // *Reviews in Fisheries Science*. v. 20. p. 192-211.

- Frost W.E., Brown M.E. 1967. The trout. London: Collins. 286 p.
- Frøystad-Saugen M.K., Lilleeng E., Bakke-McKellep A.M., Vekterud K., Valen E.C., Hemre G.-I., Krogdahl E. 2009. Distal intestinal gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed genetically modified maize // *Aquaculture Nutrition*. v. 15. p. 104-115.
- Garant D., Dodson J.J., Bernatchez L. 2000. Ecological determinants and temporal stability of the within-river population structure in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Mol. Ecol.* v. 9. p. 615-628.
- Garant D., Dodson J.J., Bernatchez L. 2005. Offspring genetic diversity increases fitness of female Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Behav. Ecol. Sociobiol.* v. 57. p. 240-244.
- Garcia de Leaniz C., Fleming I.A. et al. 2007a. Local adaptation // *The Atlantic salmon. Genetics, Conservation and Management*. E. Verspoor, L. Stradmeyer, J.L. Nielsen (eds.). Oxford. p. 195-235.
- Garcia de Leaniz C., Fleming I.A. et al. 2007b. A critical review of adaptive genetic variation in Atlantic salmon: implications for conservation // *Biol. Rev.* v. 82. p. 173-211.
- Garcia-Berthou E., Alcaraz C., Pou-Rovira Q. et al. 2005. Introduction pathways and establishment rates of invasive aquatic species in Europe // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 62. p. 453-463.
- Geffen A.J., Evans J.P. 2000. Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture*. v. 182. p. 61-72.
- Genetically modified plants for food use and human health – an update. The Royal Society. Policy document 4/02. February 2002. 19 p.
- Giuffra E., Guyomard R., Forneris G. 1996. Phylogenetic relationships and introgression patterns between incipient parapatric species of Italian brown trout (*Salmo trutta* L. complex) // *Mol. Ecol.* v. 5. p. 207-220.
- Gjedrem T. 1976. Genetic variation in tolerance of brown trout to acid water // *Fagrapport*. No. 5. 11 p.
- Gjedrem T. 1992. Breeding plans for rainbow trout // *Aquaculture*. v. 100. p. 73-83.
- Gjedrem T. 2000. Genetic improvement of cold-water fish species // *Aquac. Res.* v. 31. p. 25-33.
- Gjedrem T., Gjoen H.M., Gjerde B. 1991. Genetic origin of Norwegian farmed salmon // *Aquaculture*. v. 98. p. 41-50.
- Gjedrem T., Refstie T. 2005. Organising breeding programs // *Selection and breeding programs in aquaculture*. T. Gjedrem (ed.). Dordrecht. p. 279-285.
- Gjoen H.M., Bentsen H.B. 1997. Past, present, and future of genetic improvement in salmon aquaculture // *ICES J. Mar. Sci.* v. 54. p. 1009-1014.
- Glover K.A. 2008. Genetic characterization of farmed rainbow trout in Norway: intra- and inter-strain variation reveals potential for identification of escapees // *BMC Genetics*. v. 9. 87.
- Glover K.A., Hansen M.M., Skaala Ø. 2009. Identifying the source of farmed escaped Atlantic salmon (*Salmo salar*): Bayesian clustering analysis increases accuracy of assignment // *Aquaculture*. v. 290. p. 37-46.
- Glover K.A., Skilbrei O.T., Skaala Ø. 2003. Stock-specific growth and length frequency bimodality in brown trout // *Trans. Amer. Fish. Soc.* v. 132. p. 307-315.
- Glover K.A., Skilbrei O.T., Skaala Ø. 2008. Genetic assignment identifies farm of origin for Atlantic salmon *Salmo salar* escapees in a Norwegian fjord // *ICES J. Mar. Sci.* v. 65. p. 912-920.
- Glover K.A., Taggart J.B., Skaala Ø., Teale A.J. 2004. A study of inadvertent domestication selection during start-feeding of brown trout families // *J. Fish Biol.* v. 64. p. 1168-1178.
- Gorshkov S.A., Gorshkova G.V. 1992. Application of chromosome manipulation in aquaculture of rainbow trout in the Baltic Sea region, USSR // *Aquaculture*. v. 100. p. 99-100.
- Graham C. 2002. Aquaculture in the Republic of Georgia // *Aquaculture Magazine*. September/October. p. 15-22.
- Gray A.K., Evans M.A., Thorgaard G.H. 1993. Viability and development of diploid and triploid salmonid hybrids // *Aquaculture*. v. 112. p. 125-142.
- Gray P., Charleston M. 2011. Swimming against the tide. Restoring salmon to the Tyne. Ellesmere: The Medlar Press. 298 p.
- Gresswell R.E. 1991. Use of antimycin for removal of brook trout from a tributary of Yellowstone lake // *North American Journal of Fisheries Management*. v. 11. p. 83-90.
- Grima L., Quillet E., Boujard T., Robert-Granie C., Chatain B., Mambrini M. 2008. Genetic variability in residual feed intake in rainbow trout clones and testing of indirect selection criteria // *Genet. Sel. Evol.* v. 40. p. 607-624.
- Gross M.R. 1998. One species with two biologies: Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the wild and in aquaculture // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 55. Suppl. 1. p. 131-144.
- Gross R. 2010. Genetic aspects of reproduction of Atlantic salmon in Estonia // *Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб*. Тез. докл. Междунар. конф. Санкт-Петербург, 20-22 апреля 2010 г. СПб. с. 50-52.
- Gross R., Lulla P., Paaver T. 2007. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe // *Aquaculture*. v. 272. Suppl. 1. p. S139-S146.
- Gross R., Nilsson J. 1999. Restriction fragment length polymorphism at the growth hormone 1 gene in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and its association with weight among the offspring of a hatchery stock // *Aquaculture*. v. 173. p. 73-80.
- Guoxiong C., Solar I.I., Donaldson E.M. 1989. Comparison of heat and hydrostatic pressure shocks to induce triploidy in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* No. 1718. 11 p.
- Gutierrez J.B., Teem J.L. 2006. A model describing the effect of sex-reversed YY fish in an established wild population: the use of a Trojan Y chromosome to cause extinction of an introduced exotic species // *J. Theor. Biol.* v. 241. p. 333-341.
- Guyomard R. 1981. Electrophoretic variation in four French populations of domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Can. J. Genet. Cytol.* v. 23. p. 33-47.
- Guyomard R. 1984. High level of residual heterozygosity in gynogenetic rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson // *Theor. Appl. Genet.* v. 67. p. 307-316.
- Guyomard R. 1986. Gene segregation in gynogenetic brown trout (*Salmo trutta* L.): systematically high frequencies of post-reduction // *Genet. Sel. Evol.* v. 18. p. 385-392.
- Guyomard R., Mauger S., Tabet-Canale K., Martineau S., Genet C., Krieg F., Quillet E. 2006. A type I and type II microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with presumptive coverage of all chromosome arms // *BMC Genomics*. v. 7. p. 302.

- Haack H. 1893. Bastardirung der Forelle durch den Bachsaibling // Allgemeine Fischerei-Zeitung. V. 18. p. 210.
- Hagen-Larsen H., Laerdahl J.K., Panitz F., Aszhubei A., Høyheim B. 2005. An EST-based approach for identifying genes expressed in the intestine and gills of pre-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) // BMC Genomics. v. 6. 171.
- Hager J. 1998. Regenbogenforelle kontra Äsche und Bachforelle // Österreichische Fischerei. j. 51. p. 129-131.
- Haffray P., Aubin J., Houis V., Labble L., Jalabert B. 2007. Comparison of pressure or thermal treatments on triploid yield and malformation up to swim up stage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Aquaculture. v. 272. Suppl. 1. p. S265.
- Haffray P., Pincet C., Rault P., Coudurier B. 2004. Domestication et amelioration genetique des cheptels piscicoles francais dans le candre du SYSAAF // INRA Prod. Anim. V. 17. p. 243-252.
- Hamilton K.E., Ferguson A., Taggart J.B. et al. 1989. Post-glacial colonization of brown trout, *Salmo trutta* L.: Ldh-5 as a phylogeographic marker locus // J. Fish Biol. v. 35. p. 651-664.
- Hansen L.P. 2006. Migration and survival of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) released from two Norwegian fish farms // ICES J. Mar. Sci. v. 63. p. 1211-1217.
- Hansen L.P., Jonsson B., Andersen R. 1989. Salmon ranching experiments in the River Imsa: is homing dependent on sequential imprinting of the smolt? // Proceedings of the salmon migration and distribution symposium. (Ed. E. Brannon, B. Jonsson). Seattle, WA. p. 19-29.
- Hansen M.M. 2002. Estimating the long-term effects of stocking domesticated trout into wild brown trout (*Salmo trutta*) populations: an approach using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples // Mol. Ecol. v. 11. p. 1003-1015.
- Hansen M.M., Kenchington E., Nielsen E.E. 2001. Assigning individual fish to populations using microsatellite DNA markers // Fish and Fisheries. v. 2. p. 93-112.
- Happe A., Quillet E., Chevassus B. 1988. Early life history of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) // Aquaculture. v. 71. p. 107-118.
- Hardiman G., Byrnes L., Gannon F. 1994a. An analysis of highly expressed salmon liver genes during smoltification in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Mol. Mar. Biol. Biotech. v. 3. p. 51-56.
- Hardiman G., Byrnes L., Peden J., Wolff J. 1994b. Cloning and sequencing of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) cytochrome c oxidase subunit III gene (*coxIII*) and analysis of *coxIII* expression during parr-smolt transformation // Mol. Mar. Biol. Biotech. v. 3. p. 210-216.
- Hardiman G., Gannon F. 1996. Differential transferrin gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) freshwater parr and seawater smolts // J. Appl. Ichthyol. v. 12. p. 43-47.
- Hastein T., Lindstad T. 1991. Diseases in wild and cultured salmon: possible interaction // Aquaculture. v. 98. p. 277-288.
- Hattori K., Seko Y. 1998. Production of spotless allotriploids from female non-spotted rainbow trout (houraimasu), *Oncorhynchus mykiss*, and male amago salmon, *O. rhodurus* // J. Appl. Aquaculture. v. 8. p. 11-16.
- Hauser L., Seamons T.R., Dauer M. et al. 2006. An empirical verification of population assignment methods by marking and parentage data: hatchery and wild steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) in Forks Creek, Washington, USA // Mol. Ecol. v. 15. p. 3157-3173.
- Hayes M.C., Rubin S.P., Hensleigh J.E., Reisenbichler R.R., Wetzel L.A. 2005. Performance of juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) produced from untreated and cryopreserved milt // Aquaculture. v. 249. p. 291-302.
- Heath D., Bettles C.M., Roff D. 2010. Environmental factors associated with reproductive barrier breakdown in sympatric trout populations on Vancouver island // Evol. Appl. v. 3. p. 77-90.
- Hedrick P.W., Kalinowski S.T. 2000. Inbreeding depression in conservation biology // Annu. Rev. Ecol. Syst. v. 31. p. 139-162.
- Heggberget T.G., Johnsen B.O., Hindar K. et al. 1993. Interactions between wild and cultured Atlantic salmon: a review of the Norwegian experience // Fisheries Research. v. 18. p. 123-146.
- Heggenes J., Beere M., Tamkee P., Taylor E.B. 2006. Genetic diversity in steelhead before and after conservation hatchery operation in a coastal, boreal river // Trans. Amer. Fish. Soc. v. 135. p. 251-267.
- Heggenes J., Røed K.H., Høyheim B., Rosef L. 2002. Microsatellite diversity assessment of brown trout (*Salmo trutta*) population structure indicate limited genetic impact of stocking in a Norwegian alpine lake // Ecology of Freshwater Fish. v. 11. p. 93-100.
- Hemre G.-I., Sagstad A., Bakke-Mckellep A.M. et al. 2007. Nutritional, physiological, and histological responses in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. fed diets with genetically modified maize // Aquac. Nutr. v. 13. p. 186-199.
- Hemre G.-I., Sanden M., Bakke-McKeller A.M., Sagstad A., Krogdahl E. 2005. Growth, feed utilization and health of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed genetically modified compared to non-modified commercial hybrid soybeans // Aquaculture Nutrition. v. 11. p. 157-167.
- Hendry A.P., Letcher B.H., Gries G. 2003. Estimating natural selection acting on stream-dwelling Atlantic salmon: implications for the restoration of extirpated populations // Conserv. Biol. v. 17. p. 795-805.
- Henricson J., Jansson H., Ring O., Andersson T. 1995. Rearing of a hatchery strain of the landlocked Gullspeng salmon at Kälarne, Sweden: history, genetic characterization and established of a new broodline // Information från Sötvattenslaboratoriet. 1. p. 1-11. (in Swedish, English summary).
- Herbinger C.M., Doyle R.W., Pitman E.R. et al. 1995. DNA fingerprint based analysis of parental and maternal effects on offspring growth and survival in communally reared rainbow trout // Aquaculture. v. 137. p. 245-256.
- Hershberger W.K. 1992. Genetic variability in rainbow trout populations // Aquaculture. v. 100. p. 51-71.
- Hershberger W.K., Hostuttler M.A. 2005. Variation in time to first cleavage in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* embryos: a major factor in induction of tetraploids // Journal of the World Aquaculture Society. v. 36. p. 96-102.
- Hershberger W.K., Hostuttler M.A. 2007. Protocols for more effective induction of tetraploid rainbow trout // North American Journal of Aquaculture. v. 69. p. 367-372.
- Hindar K., Fleming I.A. 2007. Behavioral and genetic interactions between escaped farmed salmon and wild Atlantic salmon // Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities. T.M. Bert (ed.). Amsterdam. p. 115-122.
- Hindar K., Fleming I.A., McGinnity P., Diserud O. 2006. Genetic and ecological effects of salmon farming on wild salmon: modeling from experimental results // ICES J. Mar. Sci. v. 63. p. 1234-1247.
- Hitzeroth H., Klose J., Ohno S., Wolf U. 1968. Asynchronous activation of parental alleles at the tissue-specific gene loci observed on hybrid trout during early development // Biochemical Genetics. v. 1. p. 287-300.

- Hold G.L., Russell V.J., Pryde S.E. et al. 2001. Validation of a PCR-RFLP based method for the identification of salmon species in food products // *Eur. Food Res. Technol.* v. 212. p. 385–389.
- Horreo J.L., Machado-Schiaffino G., Griffiths A. et al. 2008. Identification of differential broodstock contribution affecting genetic variability in hatchery stock of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Aquaculture*. v. 280. p. 89-93.
- Hurstgen-Schwark G. 1993. Initiation of tetraploid breeding line development in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) // *Aquat. Fish. Manag.* v. 24. p. 641-652.
- Hurst C.D., Bartlett S.E., Davidson W.S., Bruce I.J. 1999. The complete mitochondrial DNA sequence of the Atlantic salmon, *Salmo salar* // *Gene*. v. 239. p. 237-242.
- Hynes R.A., Ferguson A., McCann M.A. 1996. Variation in mitochondrial DNA and post-glacial colonization of north western Europe by brown trout // *J. Fish Biol.* v. 48. p. 54-67.
- Ikediaschi C., Billington S., Stevens J.R. 2012. The origins of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) recolonizing the River Mersey in northwest England // *Ecology and Evolution*. V. 2. P. 2532-2543.
- Innes B.H., Elliott N.G. 2006. Genetic diversity in a Tasmanian hatchery population of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) compared with its Canadian progenitor population // *Aquaculture Research*. v. 37. p. 563-569.
- Isaksson A. 1998. The status of Icelandic salmonid resources, with special reference to genetic conservation policy // *Action before extinction*. B. Harvey, C. Ross, D. Greer, J. Carolsfeld (eds.). Victoria, British Columbia, Canada. p. 115-127.
- Ishii Y., Koyama Y., Imaizumi K. 1980. On the culture of spotless rainbow trout // *Suisanzoshoku*. v. 28. p. 128-133 (in Japanese).
- Jacob A., Evanno G., von Siebenthal B.A., Grossen C., Wedekind C. 2010. Effects of different mating scenarios on embryo viability in brown trout // *Mol. Ecol.* v. 19. p. 5296-5307.
- Jackson J.E., Raadik T.A., Lintermans M., Hammer M. 2004. Alien salmonids in Australia: impediments to effective impact management, and future directions // *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. v. 38. p. 447-455.
- Jensen L.F., Hansen M.M., Pertoldi C. et al. 2008. Local adaptation in brown trout early life-history traits: implications for climate change adaptability // *Proceedings of the Royal Society B*. v. 275. p. 2859-2868.
- Johansen L.-H., Jensen I., Mikkelsen H., Bjørn P.-A., Jansen P.A., Bergh Ø. 2011. Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway // *Aquaculture*. v. 315. p. 167-186.
- Johari S.A., Kalbassi M.R., Amiri B.M., Hallajian A. 2006. Production of all-female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using sex-reversed males and investigation of their growth parameters in the first year of culture // *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. v. 15. p. 45-54 (In Farsi).
- Johnsen B.O., Hindar K., Balstad T. et al. 2005. Atlantic salmon and *Gyrodactylus* in the river Vefsna and Driva // *NINA rapport 34*. 33 p. (in Norwegian, English Abstract)
- Johnsen B.O., Jensen A.J. 2003. *Gyrodactylus salaris* in Norwegian rivers // *Atlantic salmon: biology, conservation and restoration*. Petrozavodsk. p. 38-44.
- Johnsen B.O., Jensen A.J. 1994. The spread of furunculosis in salmonids in Norwegian rivers // *J. Fish Biol.* v. 45. p. 47-55.
- Johnson N.A., Rexroad C.E.III, Hallerman E.M. et al. 2007. Development and evaluation of a new microsatellite multiplex systems for parental allocation and management of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstocks // *Aquaculture*. v. 266. p. 53-62.
- Johnston I.A., Strugnell G., McCracken M.L., Johnstone R. 1999. Muscle growth and development in normal-sex-ratio and all-female diploid and triploid Atlantic salmon // *J. Exp. Biol.* v. 202. p. 1991-2016.
- Johnstone R., Stet R.J.M. 1995. The production of gynogenetic Atlantic salmon, *Salmo salar* L. // *Theor. Appl. Genet.* v. 90. p. 819-826.
- Jones M.W., Hutchings J.A. 2001. The influence of male parr body size and mate competition on fertilization success and effective population size in Atlantic salmon // *Heredity*. v. 86. p. 675-684.
- Jonasson J. 1993. Selection experiments in salmon ranching. I. Genetic and environmental sources of variation in survival and growth in freshwater // *Aquaculture*. v. 109. p. 225-236.
- Jonsson B. 1982. Diadromous and resident trout *Salmo trutta*: is their difference due to genetics? // *Oikos*. v. 38. p. 297-300.
- Jonsson B. 1997. A review of ecological and behavioural interactions between cultured and wild Atlantic salmon // *ICES J. Mar. Sci.* v. 54. p. 1031-1039.
- Jonsson B., Jonsson N. 2006. Cultured Atlantic salmon in nature: a review of their ecology and interaction with wild fish // *ICES J. Mar. Sci.* v. 63. p. 1162-1181.
- Jonsson B., Jonsson N. 2011. *Ecology of Atlantic Salmon and Brown Trout. Habitat as a Template for Life Histories*. Dordrecht: Springer. 708 p.
- Jonsson B., Jonsson N., Hansen L.P. 2003. Atlantic salmon straying from the river Imsa // *J. Fish Biol.* v. 62. p. 641-657.
- Jonsson N., Jonsson B., Skurdal J., Hansen L.P. 1994. Differential response to water current in offspring of inlet- and outlet-spawning brown trout *Salmo trutta* // *J. Fish Biol.* v. 45. p. 356-359.
- Jorstad K.E., Naevdal G. 1996. Breeding and genetics // *Principles of salmonid culture*. W. Pennell, B.A. Barton (eds.). Amsterdam etc. p. 655-725.
- Jungalwalla P.J. 1991. Production of non-maturing Atlantic salmon in Tasmania // *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* v. 1789. p. 47-71.
- Kaastrup P., Horlyck V. 1987. Development of a simple method to optimize the conditions for producing gynogenetic offspring, using albino rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, females as an indicator for gynogenesis // *J. Fish Biol.* V. 31. Suppl. A. p. 29-33.
- Kalbassi M.R., Dorafshan S., Poukazemi M., Amiri B.M. 2009. Triploidy induction in the Caspian salmon, *Salmo trutta caspius*, by heat shock // *J. Appl. Ichthyol.* v. 25. p. 104-107.
- Kalbassi M.R., Johari A. 2008. A study on the production possibility of all-female triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Journal of science and technology of agriculture and natural resources*. v. 12. p. 278.
- Kallio-Nyberg I., Koljonen M.L. 1997. The genetic consequence of hatchery-rearing on life-history traits of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): a comparative analysis of sea-ranched salmon with wild and reared parents // *Aquaculture*. v. 153. p. 207-224.
- Kallio-Nyberg I., Koljonen M.L. 1999. Sea migration patterns in the Atlantic salmon: a comparative study of two stocks and their hybrids // *Boreal Environmental Research*. v. 4. p. 163-174.

- Kania P.W., Jørgensen T.R., Buchmann K. 2007. Differentiation between a pathogenic and a non-pathogenic form of *Gyrodactylus salaris* using PCR-RFLP // J. Fish Diseases. v. 30. p. 123-126.
- Katchamart S., Miranda C.L., Henderson M.C., Pereira C.B., Buhler D.R. 2002. Effect of xenoestrogen exposure on the expression of cytochrome P450 isoforms in rainbow trout liver // Environ. Toxicol. Chem. v. 21. p. 2445-2451.
- Kause A., Ritola O., Paananen T. et al. 2003. Big and beautiful? Quantitative genetic parameters for appearance of large rainbow trout // J. Fish Biol. v. 62. p. 610-622.
- Keranen A.-L., Koski P., Kulonen K. et al. 1992. Occurrence of infectious fish diseases in fish farms in Northern Finland // Acta. Vet. Scand. v. 33. p. 161-167.
- Kincaid H.L. 1981. Trout strain registry. Kearneysville: National Fisheries Center-Leetown. 118 p.
- King D.P.F., Hovey S.L., Thompson D., Scott A. 1993. Mitochondrial DNA variation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., populations // J. Fish Biol. v. 42. p. 25-33.
- King T.L., Verspoor E., Spidle A.P. et al. 2007. Biodiversity and population structure // The Atlantic salmon. Genetics, Conservation and Management. E. Verspoor, L. Stradmeyer, J.L. Nielsen (eds.). Oxford. p. 117-166.
- Kincaid H.L. 1981. Trout strain registry. Kearneysville: National Fisheries Center-Leetown. 118 p.
- Kincaid H.L., Stanley J.G., eds. 1989. Atlantic salmon brood stock management and breeding handbook. Washington: U.S. Department of the Interior Fish and Wildlife Service. 42 p.
- Kitano S. 2004. Ecological impacts of rainbow, brown and brook trout in Japanese inland waters // Global Environmental Research. v. 8. p. 41-50.
- Klemetsen A. 2010. The charr problems revisited: exceptional phenotypic plasticity promotes ecological speciation in postglacial lakes // Freshwater Reviews. v. 3. p. 49-74.
- Klemetsen A., Amundsen P.-A., Dempson J.B. et al. 2003. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories // Ecology of Freshwater Fish. v. 12: p. 1-59.
- Klupp R. 1991. Gescheckte Regenbogenforellen // Fischer & Teichwirt. № 12. p. 420-421.
- Knapp R.A., Matthews K.R. 1998. Eradication of nonnative fish by gill netting from a small mountain lake in California // Restoration Ecology. v. 6. p. 207-213.
- Knutsen H., Knutsen J.A., Jorde P.J. 2001. Genetic evidence for mixed origin of recolonized sea trout populations // Heredity. v. 87. p. 207-214.
- Kobayashi T. 1992. Growth, survival and reproductive cycle of induced triploid rainbow trout under the communal rearing condition with diploid for long period // Suisanzoshoku. v. 40. p. 57-70 (in Japanese with English Abstract).
- Kobayashi T., Takeuchi Y., Takeuchi T., Yoshizaki G. 2007. Generation of viable fish from cryopreserved primordial germ cell // Molecular Reproduction and Development. v. 74. p. 207-213.
- Koljonen M.-L. 1986. The enzyme gene variation of ten Finnish rainbow trout strains and the relation between growth rate and mean heterozygosity // Aquaculture. v. 57. p. 253-260.
- Koljonen M.-L., Pella J.J., Masuda M. 2005. Classical individual assignments versus mixture modelling to estimate stock proportions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) catches from DNA microsatellite data // Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 62. p. 2143-2158.
- Komen H., Thorgaard G.H. 2007. Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: A review // Aquaculture. v. 269. p. 150-173.
- Korsu K., Huusko A., Muotka T. 2007. Niche characteristics explain the reciprocal invasion success of stream salmonids in different continents // PNAS USA. v. 104. p. 9725-9729.
- Koskinen H., Pehkonen P., Vehniäinen E. et al. 2004. Response of rainbow trout transcriptome to model chemical contaminants // Biochem. Biophys. Res. Commun. v. 320. p. 745-753.
- Kostow K. 2009. Factors that contribute to the ecological risks of salmon and steelhead hatchery programs and some mitigating strategies // Rev. Fish. Biol. Fisheries. v. 19. p. 9-31.
- Kozfkay J.R., Dillon J.C., Schill D.J. 2006. Routine use of sterile fish in salmonid sport fisheries: are we there yet? // Fisheries. v. 31. p. 392-401.
- Krasnov A., Koskinen H., Pehkonen P. et al. 2005. Gene expression in the brain and kidney of rainbow trout in response to handling stress // BMC Genomics. v. 6. 3.
- Krieg F., Guyomard R. 1985. Population genetics of French brown trout (*Salmo trutta* L.): large geographical differentiation of wild populations and high similarity of domesticated stocks // Genet. Sel. Evol. v. 17. p. 225-242.
- Krieger M.J.B., Keller L. 1998. Estimation of the proportion of triploid in populations with diploid and triploid individuals // J. Heredity. v. 89. p. 275-279.
- Krueger C.C., May B. 1991. Ecological and genetic effects of salmonid introduction in North America // Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 48. Suppl. 1. p. 66-77.
- Kuusela J., Holopainen R., Meinila M. et al. 2005. Potentially dangerous *Gyrodactylus salaris* in Russian Karelia: harmless and harmful combination of host species and parasite strains // Лососевидные рыбы Восточной Фенноскандии. Петрозаводск. с. 47-55.
- Labbe C., Martoriati A., Devaux A., Maise G. 2001. Effects of sperm cryopreservation on sperm DNA stability and progeny development in rainbow trout // Mol. Reprod. Devel. v. 60. p. 397-404.
- Lage C., Kornfield I. 2006. Reduced genetic diversity and effective population size in an endangered Atlantic salmon (*Salmo salar*) population from Maine, USA // Conserv. Genet. v. 7. p. 91-104.
- Lahnsteiner F. 2000. Semen cryopreservation in the Salmonidae and in the Northern pike // Aquac. Res. v. 31. p. 245-258.
- Lahti K., Huuskonen H., Laurila A., Piironen J. 2002. Metabolic rate and aggressiveness between brown trout populations // Funct. Ecol. v. 16. p. 167-174.
- Lahti K., Laurila A., Enberg K., Piironen J. 2001. Variation in aggressive behaviour and growth rate between populations and migrating forms in the brown trout, *Salmo trutta* // Animal Behaviour. v. 62. p. 935-944.
- Laikre L. (ed.). 1999. Conservation genetic management of brown trout (*Salmo trutta*) in Europe. Report. European Commission FAIR programme. 91 p.

- Landry C., Garant D., Duchesne P., Bernatchez L. 2001. 'Good genes as heterozygosity': the major histocompatibility complex and mate choice in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Proc. R. Soc. Lond. B. v. 268. p. 1279-1285.
- Larsen P.F., Schulte P.M., Nielsen E.E. 2011. Gene expression analysis for the identification of selection and local adaptation in fishes // J. Fish Biol. v. 78. p. 1-22.
- Larsson P.-O., Larsson H.-O., Eriksson C. 1979. Review of Swedish salmon (*Salmo salar* L.) stocks based on results of tagging experiments // Salmon research Institute Report. v. 5. p. 1-28. (In Swedish, English summary).
- Leary R.F., Allendorf F.W., Knudsen K.L. 1984. Major morphological effects of a regulatory gene: *Pgm1-t* in rainbow trout // Mol. Biol. Evol. v. 1. p. 183-194.
- Leary R.F., Allendorf F.W., Knudsen K.L. 1985. Developmental instability and high meristic counts in interspecific hybrids of salmonid fishes // Evolution. v. 39. p. 1318-1326.
- Leary R.F., Allendorf F.W., Knudsen K.L. 1993. Null alleles at two lactate dehydrogenase loci in rainbow trout are associated with decreased developmental stability // Genetica. v. 89. p. 3-13.
- Leary R.F., Allendorf F.W., Knudsen K.L., Thorgaard G.H. 1985. Heterozygosity and developmental stability in gynogenetic diploid and triploid rainbow trout // Heredity. v. 54. p. 219-225.
- Leary R.F., Allendorf F.W., Sage G.K. 1995. Hybridization and introgression between introduced and native fish // American Fisheries Society Symposium. v. 15. p. 91-101.
- Leider U. 1964. Polyploidisierungsversuche bei Fischen mittels Temperaturschock und Colchizinbehandlung // Z. Fischerei. v. 12. p. 247-257.
- Letcher B.H., King T.L. 2001. Parentage and grandparentage assignment with known and unknown mating: application to Connecticut river Atlantic salmon restoration // Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 58. p. 1812-1821.
- Levin D.A. 2002. Hybridization and extinction // American Scientist. v. 90. p. 254-261.
- Li M., Leatherland J. 2008. Temperature and ration effects on components of the IGF system and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during the transition from late stage embryos to early stage juveniles // General and Comparative Endocrinology. v. 155. p. 668-679.
- Lieder U. 1956. Chromosomenstudien an Knochenfischen. IV. Die Chromosomenverhältnisse bei der Regenbogen- und Bachforelle und ihren Bastarden // Zeitschrift für Fischerei und deren Flulfswissenschaften. Bd. 4. p. 589-594.
- Lijalad M., Powell M.D. 2009. Effects of lower jaw deformity on swimming performance and recovery from exhaustive exercise in triploid and diploid Atlantic salmon *Salmo salar* L. // Aquaculture. v. 290. p. 145-154.
- Lincoln R. 1996. Progress towards the commercial production of triploid brown trout // Trout News. No. 22. p. 23-28.
- Lincoln R.F., Bye V.J. 1984. Triploid rainbows show commercial potential // Fish Farmer. v. 7. No. 5. p. 30-32.
- Lincoln R.F., Scott A.P. 1983. Production of all-female triploid rainbow trout // Aquaculture. v. 30. p. 375-380.
- Lincoln R.F., Scott A.P. 1984. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson // J. Fish Biol. v. 25. p. 385-392.
- Lindenstrom T., Sigh J., Dalgaard M.B., Buchmann K. 2006. Skin expression of IL-1 β in East Atlantic salmon, *Salmo salar* L., highly susceptible to *Gyrodactylus salaris* infection is enhanced compared to a low susceptibility Baltic stock // J. Fish Diseases. v. 29. p. 123-128.
- Liu Z. 2007. Aquaculture genome technologies. Ames, Iowa: Blackwell Publishing. 551 p.
- Lorenz S., Brenna-Hansen S., Moen T. et al. 2009. BAC-based upgrading and physical integration of a genetic SNP map in Atlantic salmon // Animal Genetics. v. 41. p. 48-54.
- Lorenzen N., LaPatra S.E. 2005. DNA vaccines for aquacultured fish // Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. v. 24. p. 201-213.
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S., De Poorter M. 2004. 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database. Auckland: Invasive species specialist group. 12 p.
- Lou Y.D., Purdom C.E. 1984. Diploid gynogenesis induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson // J. Fish Biol. v. 24. p. 665-670.
- Lyngstad T.M., Jansen P.A., Sindre H., Jonassen C.M., Hjortaa M.J., Johnsen S., Brun E. 2008. Epidemiological investigation of infectious salmon anaemia (ISA) outbreaks in Norway // Preventive Veterinary Medicine. V. 84. P. 213-227.
- Ma T., Zhu C., Zhu B. 1987. Tetraploid of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) induced by heat shocks // Acta Hydrobiol. Sin. v. 11. p. 329-336 (in Chinese, Abstract in English).
- MacCrimmon H.R. 1971. World distribution of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // J. Fish. Res. Board Canada. v. 28. p. 663-704.
- MacCrimmon H.R., Gots B.L. 1979. World distribution of Atlantic salmon, *Salmo salar* // J. Fish. Res. Board Can. v. 36. p. 422-457.
- MacCrimmon H.R., Marshall T.L. 1968. World distribution of Brown Trout, *Salmo trutta* // J. Fish. Res. Bd. Canada. v. 25. p. 2527-2548.
- Machado-Schiaffino G., Dopico E., Garcia-Vazquez E. 2007. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding // Aquaculture. v. 264. p. 59-65.
- Maclean N., Laight R.J. 2000. Transgenic fish: an evaluation of benefits and risks // Fish and Fisheries. v. 1. p. 146-172.
- Maisse G., Billard R., Andre F., Cosson J., Le-Gae F. 1995. Improvement of the motility of testicular spermatozoa of six inverted brown trout females (*Salmo trutta*) at the beginning of spawning season // Aquatic Living Resources. v. 8. p. 191-194 (in French).
- Makhrov A.A. 2008. Hybridization of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and brown trout (*S. trutta* L.) // Zoosystematica Rossica. v. 17. p. 129-143.
- Makhrov A., Bespalaya Ju., Bolotov I., Vikhrev I., Gofarov M., Alekseeva Ya., Zotin A. 2014. Historical geography of pearl harvesting and current status of populations of freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.) in the western part of Northern European Russia // Hydrobiologia. v. 735. p. 149-159.
- Makhrov A.A., Skaala O., Altukhov Yu.P. 2002. Alleles of *sAAT-1,2** isococi in brown trout: potential diagnostic marker for tracking routes of post-glacial colonization in northern Europe // J. Fish Biol. v. 61. p. 842-846.
- Mansfield G.S., Desai A.R., Nilson S.A. et al. 2010. Characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestinal microbiota and inflammatory marker gene expression in a recirculating aquaculture system // Aquaculture. v. 307. p. 95-104.
- Martin S.A.M., Douglas A., Houlihan D.F., Secomber C.J. 2010. Starvation alters the liver transcriptome of the innate immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // BMC Genomics. v. 11:418.

- Martin S.A.M., Wallner W., Youngson A.F., Smith T. 1999. Differential expression of Atlantic salmon thyrotropin β subunit mRNA and its cDNA sequence // *J. Fish Biol.* v. 54. p. 757-766.
- Martinez J.L., Dumas J., Beall E., Garcia-Vazquez E. 2001. Assessing introgression of foreign strains in wild Atlantic salmon populations: variation in microsatellites assessed in historic scale collections // *Freshwater Biology.* v. 46. p. 835-844.
- Matala A.P., Marx S., Wise T.G. 2008. A genetically distinct wild redband trout (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*) population in Crane Prairie Reservoir, Oregon, persists despite extensive stocking of hatchery rainbow trout (*O. m. irideus*) // *Conserv. Genet.* v. 9. p. 1643-1652.
- Matejusová I., Felix B., Sorsa-Leslie T., Gilbey J., Noble L.R., Jones C.S., Cunningham C.O. 2006. Gene expression profiles of some immune relevant genes from skin of susceptible and responding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) infected with *Gyrodactylus salaris* (Monogenea) revealed by suppressive subtractive hybridization // *International Journal of Parasitology.* v. 36. p. 1175-1183.
- Maxime V. 2008. The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish // *Fish Fisheries.* v. 9. p. 67-78.
- Maxmen A. 2012. Politics holds back animal engineers // *Nature.* v. 490. p. 318-319.
- McCarthy I.D., Sanchez J.A., Blanco G. 2003. Allozyme heterozygosity, date of first feeding and life history strategy in Atlantic salmon // *J. Fish Biol.* v. 62. p. 341-357.
- McConnell S., Hamilton L., Morris D. et al. 1995. Isolation of salmonid microsatellite loci and their application to the population genetics of Canadian east coast stocks of Atlantic salmon // *Aquaculture.* v. 137. p. 19-30.
- McCusker M.R., Parkinson E., Taylor E.B. 2000. Mitochondrial DNA variation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) across its native range: testing biogeographical hypotheses and their relevance to conservation // *Mol. Ecol.* v. 9. p. 2089-2108.
- McGinnity P., Prodohl P., Maoiléidigh N.Y. et al. 2004. Differential lifetime success and performance of native and non-native Atlantic salmon examined under communal natural conditions // *J. Fish Biol.* v. 65. Suppl. A. p. 173-187.
- McLean J.E., Seamons T.R., Dauer M.B. et al. 2008. Variation in reproductive success and effective number of breeders in a hatchery population of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*): examination by microsatellite-based parentage analysis // *Conserv. Genet.* v. 9. p. 295-304.
- McMeel O.M., Hoey E.M., Ferguson A. 2001. Partial nucleotide sequences, and routine typing by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, of the brown trout (*Salmo trutta*) lactate dehydrogenase, *LDH-C1*90* and **100* alleles // *Mol. Ecol.* v. 10. p. 29-34.
- Meier K., Hansen M.M., Bekkevold D., Skaala Ø., Mensberg K.-L.D. 2011. An assessment of the spatial scale of local adaptation in brown trout (*Salmo trutta* L.): footprints of selection at microsatellite DNA loci // *Heredity.* v. 106. p. 488-499.
- Meinila M., Kuusela J., Zietara M.S., Lumme J. 2004. Initial steps of speciation by geographic isolation and host switch in salmonid pathogen *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae) // *Int. J. Parasitol.* v. 34. p. 515-526.
- Miller G.D., Seeb J.E., Bue B.G., Sharr S. 1994. Saltwater exposure at fertilization induces ploidy alterations, including mosaicism, in salmonids // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 51. Suppl. 1. p. 42-49.
- Miller M.P., Vincent E.R. 2008. Rapid natural selection for resistance to an introduced parasite of rainbow trout // *Evol. Appl.* v. 1. p. 336-341.
- Miller R.R. 1972. Classification of the native trouts of Arizona with the description of a new species, *Salmo apache* // *Copeia.* p. 401-422.
- Mitton J.B. 1997. Selection in Natural Populations. Oxford, New York: Oxford Univ. Press. 240 p.
- Moffett I.J.J., Crozier W.W. 1995. An investigation into the reproducibility of triploid brown trout, *Salmo trutta* L., production using heat shock // *Aquac. Res.* v. 26. p. 67-70.
- Moore S.E., Larson G.L., Ridley B. 1986. Population control of exotic rainbow trout in streams of a natural area park // *Environmental Management.* v. 10. p. 215-219.
- Morrison R.N., Cooper G.A., Koop B.F., Rise M.L., Bridle A.R., Adams M.B., Nowak B.F. 2006. Transcriptome profiling of the gills of amoebic gill disease (AGD)-affected Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): a role for tumor suppressor protein p53 in AGD pathogenesis? // *Physiological Genomics.* v. 26. p. 15-34.
- Morrison R.N., Zou J., Secombes C.J., Scapigliati G., Adams M.B., Nowak B.F. 2007. Molecular cloning and expression analysis of tumor necrosis factor- δ in amoebic gill disease (AGD)-affected Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Fish and Shellfish Immunology.* v. 23. p. 1015-1031.
- Murata S., Takasaki N., Saitoh M. et al. 1996. Details of retropositional genome dynamics that provide rationale for a generic division: the distinct branching of all the pacific salmon and trout (*Oncorhynchus*) from the Atlantic salmon and trout (*Salmo*) // *Genetics.* v. 142. p. 915-926.
- Müller-Belecke A., Gebhardt S., Werner C., Poontawee K., Wicke M., Hörstgen-Schwark G. 2006. Comparison of growth and carcass composition of diploid and triploid pan-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under farm conditions // *Züchtungskunde.* v. 78. p. 129-135.
- Myers J.M., Hershberger W.K. 1986. The induction of tetraploidy in salmonids // *Journal of the World Aquaculture Society.* v. 17. p. 1-7.
- Myers J.M., Hershberger W.K. 1991. Early growth and survival of heat-shocked and tetraploid-derived triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture.* v. 96. p. 97-107.
- Myers J.M., Powell S.F., McAndrew B.J. 1995. Induction of tetraploidy in brown trout, *Salmo trutta* L., using hydrostatic pressure // *Aquac. Res.* v. 26. p. 229-232.
- Naish K.A., Taylor J.E.III, Levin P.S. et al. 2008. An evaluation of the effects of conservation and fishery enhancement hatcheries on wild populations of salmon // *Advances in Marine Biology.* v. 53. p. 61-194.
- Nakajima M., Kijima A., Fujio Y. 1991. Difference of average standard length in heterozygous or homozygous individuals at the isozymic loci in cultured stocks of rainbow trout in Japan // *Nippon Suisan Gakkaishi.* v. 57. p. 1035-1041.
- Nakajima M., Fujio Y. 1988. Genetic differentiation in cultured populations of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Japan // *Tohoku Journal of Agricultural Research.* v. 38. p. 35-48.
- Nathanailides C., Stickland N.C. 1996. Activity of cytochrome c oxidase and lactate dehydrogenase in muscle tissue of slow growing (lower modal group) and fast growing (upper modal group) Atlantic salmon // *J. Fish Biol.* v. 48. p. 549-551.

- Navarrete P., Magne F., Mardones P. et al. 2010. Molecular analysis of intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // FEMS Microbiol. Ecol. v. 71. p. 148–156.
- Naylor R., Hindar K., Fleming I.A. et al. 2005. Fugitive salmon: Assessing the risks of escaped fish from net-pen aquaculture // BioScience. v. 55. p. 427-437.
- Needham P.R., Behnke R.J. 1962. The origin of hatchery rainbow trout // Progressive Fish Culturist. v. 24. p. 156-158.
- Ng S.H.S., Chang A., Brown G.B. et al. 2005. Type I microsatellite markers from Atlantic salmon (*Salmo salar*) expressed sequence tags // Mol. Ecol. Notes. v. 5. p. 762-766.
- Nicholl D.S.T. 2008. An introduction to genetic engineering. Third Edition. Cambridge: Cambridge University Press. 336 p.
- Nichols K.M. 2009. Clonal lines and chromosome manipulation for aquaculture research and production // Molecular Research in Aquaculture. K. Overturf (ed.). Ames, Iowa: Wiley-Blackwell. p. 195-216.
- Nichols K.M., Young W.P., Danzmann R.G. et al. 2003. A consolidated linkage map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Animal Genetics. v. 34. p. 102-115.
- Nielsen C.R., Berdal K.G., Bakke-McKellep A.M., Holst-Jensen A. 2005. Dietary DNA in blood and organs of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Eur. Food Res. Technol. v. 221. p. 1-8.
- Nielsen E.E., Hansen M.M., Bach L. A. 2001. Looking for a needle in a haystack: Discovery of indigenous Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in stocked populations // Conserv. Genet. v. 2. p. 219-232.
- Nielsen E.E., Hansen M.M., Loeschcke V. 1997. Analysis of microsatellite DNA from old scale samples of Atlantic salmon *Salmo salar*: a comparison of genetic composition over 60 years // Mol. Ecol. v. 6. p. 487-492.
- Nielsen J.L. 1999. The evolutionary history of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) along the US Pacific Coast: Developing a conservation strategy using genetic diversity // ICES J. Mar. Sci. v. 56. p. 449-458.
- Nielsen J.L., Williams I., Sage G.K., Zimmerman C.E. 2003. The importance of genetic verification for determination of Atlantic salmon in north Pacific waters // J. Fish Biol. v. 62. p. 871-878.
- Nika N., Virbickas T. 2010. Brown trout *Salmo trutta* redd superimposition by spawning *Lampetra* species in a lowland stream // J. Fish Biol. v. 77. p. 2358-2372.
- Nilsson E.E., Cloud J.G. 1992. Rainbow trout chimeras produced by injection of blastomeres into recipient blastulae // PNAS USA. v. 89. p. 9425-9428.
- Nilsson E., Cloud J.G. 1993. Cryopreservation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) blastomeres // Aquat. Living Resour. v. 6. p. 77-80.
- Noor M.A.F. 1999. Reinforcement and other consequences of sympatry // Heredity. v. 83. p. 503-508.
- Norman L. 1987. Stream aquarium observations of territorial behaviour in young salmon (*Salmo salar* L.) of wild and hatchery origin // Laxforskningsinstitutet Meddelande. Report 2. p. 1-7 (in Swedish, English Abstract).
- Norris A.T., Bradley D.G., Cunningham E.P. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers // Aquaculture. v. 182. p. 73-83.
- Northcote T.G., Kelso B.W. 1981. Differential response to water current by two homozygous LDH phenotypes of young rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 38. p. 348-352.
- Novinger D.C., Rahel F.J. 2003. Isolation management with artificial barriers as a conservation strategy for cutthroat trout in headwater streams // Conserv. Biol. v. 17. p. 772-781.
- Nygren A., Nilsson B., Jahnke M. 1968. Cytological studies in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Ann. Acad. Regiae Scient. Upsal. No. 12. p. 21-52.
- Ocalewicz K., Dobosz S. 2009. Karyotype variation in the albino rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) // Genome. v. 52. p. 347-352.
- Okada H. 1985. Studies on the artificial sex control in rainbow trout, *Salmo gairdneri* // Sci. Reports Hokkaido Fish. Hatchery. p. 1-49 (English abstract).
- Okutsu T., Takeuchi Y., Yoshizaki G. 2008. Spermatogonial transplantation in fish: production of trout offspring from salmon parents // Fisheries for global welfare and environment, 5th World Fisheries Congress 2008. K. Tsukamoto, T. Kawamura, T. Takeuchi, T.D. Beard Jr., M.J. Kaiser (eds.). Tokyo: TERRAPUB. p. 209-219.
- Oliva-Teles A., Kaushik S.J. 1990. Growth and nutrient utilization by 0+ and 1+ triploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // J. Fish Biol. v. 37. p. 125-133.
- Onozato H. 1984. Diploidization of gynogenetically activated salmonid eggs using hydrostatic pressure // Aquaculture. v. 43. p. 91-97.
- Oppermann K. 1913. Die Entwicklung van Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfügen // Archiv für Mikroskopische Anatomie. v. 83. p. 141-189.
- O'Reilly P.T., Hamilton L.C., McConnell S.K., Wright J.M. 1996. Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites // Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 53. p. 2292-2298.
- O'Reilly P., Doyle R. 2007. Live gene banking of endangered populations of Atlantic salmon // The Atlantic salmon. Genetics, Conservation and Management. E. Verspoor, L. Stradmeyer, J.L. Nielsen (eds.). Oxford. p. 425-469.
- O'Reilly P.T., Herbinger C., Wright J.M. 1998. Analysis of parentage determination in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellites // Animal Genetics. v. 29. p. 363-370.
- Ozerov M.Y., Lumme J., Päck P., Rintamäki P., Ziętara M.S., Barskaya Y., Lebedeva D., Saadre E., Gross R., Primmer C.R., Vasemägi A. 2010. High *Gyrodactylus salaris* infection rate in triploid Atlantic salmon *Salmo salar* // Dis. Aquat. Org. v. 91. p. 129-136.
- Pakkasmaa S., Piironen J. 2001. Morphological differentiation among local trout (*Salmo trutta*) populations // Biol. J. Linn. Soc. v. 72. p. 231-239.
- Palasios G., Lovoll M., Tengs T. et al. 2010. Heart and skeletal muscle inflammation of farmed salmon is associated with infection with a novel reovirus // PLoS ONE. v. 5. e11487.
- Palm S., Ryman N. 1999. Genetic basis of phenotypic differences between transplanted stock of brown trout // Ecol. Fresh. Fish. v. 8. p. 169-180.
- Palti Y., Gao G., Liu S., Kent M.P., Lien S., Miller M.R., Rexroad C.E. III, Moen T. 2015. The development and characterization of a 57K single nucleotide polymorphism array for rainbow trout // Mol. Ecol. Res. v. 15. p. 662-672.

- Palti Y., Li J.J., Thorgaard G.H. 1997. Improved efficiency of heat and pressure shocks for producing gynogenetic rainbow trout // *Progressive Fish-Culturist*. v. 59. p. 1–13.
- Palti Y., Silverstein J.T., Wieman H. et al. 2006. Evaluation of family growth response to fishmeal and gluten-based diet in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture*. v. 255. p. 548-556.
- Palva T.K., Palva E.T. 1987. Restriction site polymorphism in mitochondrial DNA of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, stocks in Finland // *Aquaculture*. v. 67. p. 283-289.
- Panserat S., Hortopan G.A., Plagnes-Juan E. et al. 2009. Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver // *Aquaculture*. v. 294. p. 123-131.
- Pante M.J.R., Gjerde B., McMillan I. 2001. Effect of inbreeding on body weight at harvest in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Aquaculture*. v. 192. p. 201-211.
- Paterson S., Piernney S.B., Knox D. et al. 2004. Characterization and PCR multiplexing of novel highly variable tetranucleotide Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) microsatellites // *Mol. Ecol. Notes*. v. 4. p. 160-162.
- Peek A.S., Wheeler P.A., Ostberg C.O., Thorgaard G.H. 1997. A minichromosome carrying a pigmentation gene and brook trout DNA sequence in transgenic rainbow trout // *Genome*. v. 40. p. 594-599.
- Peeler E., Thrush M., Paisley L., Rodgers C. 2006. An assessment of the risk of spreading the fish parasite *Gyrodactylus salaris* to uninfected territories in the European Union with the movement of live Atlantic salmon (*Salmo salar*) from coastal waters // *Aquaculture*. v. 258. p. 187-197.
- Perrier C., Evanno G., Belliard J., Guyomard R., Bagliniere J.-L. 2010. Natural recolonization of the Seine river by Atlantic salmon (*Salmo salar*) of multiple origins // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 67. p. 1-4.
- Pethiyagoda R. 1994. Threats to the indigenous freshwater fishes of Sri Lanka and remarks on their conservation // *Hydrobiologia*. v. 285. p. 189-201.
- Pettersson E., Järvi T. 2006. Ant-predator response in wild and sea-ranched brown trout and their crosses // *Aquaculture*. v. 253. p. 218-228.
- Phillipps W.J. 1922. Hybridism of *Salmo irideus* and *Salmo fario* in Australasia // *N.Z. Journal of Science and Technology*. V. 5. p. 98-100.
- Phillipps W.J. 1926. Hybridism of brown and rainbow trout: No. 2 // *New Zealand Journal of Science and Technology*. v. 8. p. 255-256.
- Piferrer F., Beaumont A., Falguière J.-C. et al. 2009. Polyploid fish and shellfish: Production, biology and application to aquaculture for performance improvement and genetic containment // *Aquaculture*. v. 293. p. 125-156.
- Piironen J., Heinimaa P. 1998. Preservation programs for endangered fish stocks in Finland // *Action before extinction*. B. Harvey, C. Ross, D. Greer, J. Carolsfeld (eds.). Victoria, British Columbia, Canada. p. 105-113.
- Pineda H., Borrell Y.J., McCarthy I. et al. 2003. Timing of first feeding and life history strategies in salmon: genetic data // *Hereditas*. v. 139. p. 41-48.
- Podubsky V. 1956. Bastardace pstruha obochnego f. potochi (*Trutta trutta morpha fario* L.) se pstruhem americkym duhovym (*Trutta gairdneri irideus* Gibb.) // *Sbornik Cesk. Akad. Zemedel. Ved. (Zivocisna vyroba)*. v. 29. p. 611-618.
- Pollard S.M., Danzmann R.G., Claytor R.R. 1994. Association between the regulatory locus *PGM-1r** and life-history types of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 51. p. 1322-1329.
- Poontawee K., Werner C., Müller-Belecke A., Hörstgen-Schwark G., Wicke M. 2007. Flesh qualities and muscle fiber characteristics in triploid and diploid rainbow trout // *J. Appl. Ichthyol.* v. 23. p. 273-275.
- Pourgholam R., Moghadam H.N. 1994. Hybridization in Salmonidae // *Fifth International Symposium on Genetics in Aquaculture. Book of Abstracts*. June 19 to 25, 1994, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada.
- Presa P., Pardo B.G., Martinez P., Bernatchez L. 2002. Phylogeographic congruence between mtDNA and rDNA ITS markers in brown trout // *Mol. Biol. Evol.* v. 19. p. 2161-2175.
- Primmer C.R., Landry P.-A., Ranta E. et al. 2003. Prediction of offspring fitness based on parental genetic diversity in endangered salmonid populations // *J. Fish Biol.* v. 63. p. 909-927.
- Purdom C.E., Thompson D., Lou Y.D. 1985. Genetic engineering in rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson, by the suppression of meiotic and mitotic metaphase // *J. Fish Biol.* v. 27. p. 73-79.
- Quillet E., Aubard G., Quéau I. 2002. Mutation in a sex-determining gene in rainbow trout: detection and genetic analysis // *J. Heredity*. v. 93. p. 91-99.
- Quillet E., Chevassus B., Blanc J.-M. et al. 1988a. Performances of auto and allotriploids in salmonids. I. Survival and growth in fresh water farming // *Aquat. Living. Resour.* v. 1. p. 29-43.
- Quillet E., Chevassus B., Devaux A. 1988b. Timing and duration of hatching in gynogenetic, triploid, tetraploid and hybrid progenies in rainbow trout // *Genet. Sel. Evol.* v. 20. p. 199-210.
- Quillet E., Chevassus B., Krieg F. 1987. Characterization of auto- and allotriploid salmonids for rearing in seawater cages // *Proceedings of the World Symposium on selection, hybridization and genetic engineering in aquaculture*, Bordeaux, 27-30 May 1986. K. Tiews (ed.). v. II. Berlin. p. 239-252.
- Quillet E., Dorson M., Le Guillou S., Benmansour A., Boudinot P. 2007. Wide range of susceptibility to rhabdoviruses in homozygous clones of rainbow trout // *Fish & Shellfish Immunology*. v. 22. p. 510-519.
- Quillet E., Foisil L., Chevassus B. et al. 1991. Production of all-triploid and all-female brown trout for aquaculture // *Aquat. Living Resour.* v. 4. p. 27-32.
- Quillet E., Gaignon J.L. 1990. Thermal induction of gynogenesis and triploidy in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and their potential interest for aquaculture // *Aquaculture*. v. 89. p. 351-364.
- Quinton C.D., McMillan I., Glebe B.D. 2005. Development of an Atlantic salmon (*Salmo salar*) genetic improvement program: Genetic parameters of harvest body weight and carcass quality traits estimated with animal models // *Aquaculture*. v. 247. p. 211-217.
- Rasmussen R.S., Morrissey M.T. 2007. Biotechnology in aquaculture: transgenic and polyploidy // *Comp. Rev. Food Sci.* v. 6. p. 2-16.
- Rasmussen R.S., Morrissey M.T., Hanner R.H. 2010. A Multiplex PCR Method for the Identification of Commercially Important Salmon and Trout Species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) in North America // *J. Food Science*. v. 75. p. 595-606.

- Rasmussen R.S., Morrissey M.T., Hebert P.D.N. 2009. DNA Barcoding of Commercially Important Salmon and Trout Species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) from North America // *J. Agric. Food Chem.* v. 57. p. 8379–8385.
- Rhymer J.M., Simberloff D. 1996. Extinction by hybridization and introgression // *Annual Review of Ecology and Systematics.* v. 27. p. 83-109.
- Redding J.M., Schreck C.B. 1979. Possible adaptive significance of certain enzyme polymorphisms in steelhead trout (*Salmo gairdneri*) // *J. Fish. Res. Board. Can.* v. 36. p. 544-551.
- Refstie T. 1983. Induction of diploid gynogenesis in Atlantic salmon and rainbow trout using irradiated sperm and heat shock // *Can. J. Zool.* v. 61. p. 2411-2416.
- Refstie T., Gjedrem T. 1975. Hybrids between Salmonidae species. Hatchability and growth rate in the freshwater period // *Aquaculture.* v. 6. p. 333-342.
- Refstie T., Vassvik V., Giedrem T. 1977. Induction of polyploidy in salmonids by cytochalasin B // *Aquaculture.* v. 10. p. 65-74.
- Rehbein H. 2005. Identification of the fish species of raw or cold-smoked salmon and salmon caviar by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis // *Eur. Food Res. Technol.* v. 220. p. 625–632.
- Rengmark A.H., Sletten A., Skaala Ø. et al. 2006. Genetic variability in wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) strains estimates by SNP and microsatellites // *Aquaculture.* v. 253. p. 229-237.
- Rexroad III C.E., Coleman R.L., Gustafson A.L., Hershberger W.K., Killefer J. 2002. Development of rainbow trout microsatellite markers from repeat enriched libraries // *Marine Biotechnology.* v. 3. p. 12-16.
- Rise M.L., von Schalburg K.R., Cooper G.A., Koop B.F. 2007. Salmonid DNA Microarrays and Other Tools for Functional Genomics Research // *Aquaculture genome technologies.* Z. Liu (ed.). Ames, Iowa: Blackwell Publishing. p. 369-411.
- Ritter J.A. 1975. Lower ocean survival rates for hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar*) stocks released in rivers other than their native streams // *ICES. C.M. M.* 26. 10 p.
- Roberge C., Blanchet S., Dodson J.J., Guderley H., Bernatchez L. 2008. Disturbance of social hierarchy by an invasive species: A gene transcription study // *PLoS ONE.* V. 3. Issue 6. e 2408.
- Roberge C., Einum S., Guderley H., Bernatchez L. 2006. Rapid parallel evolutionary changes of gene transcription profiles in farmed Atlantic salmon // *Mol. Ecol.* v. 15. p. 9-20.
- Roberge C., Páez D.J., Rossignol O., Guderley H., Dodson J., Bernatchez L. 2007. Genome-wide survey of the gene expression response to saprolegniasis in Atlantic salmon // *Molecular Immunology.* v. 44. p. 1374-1383.
- Robinson B.D., Thorgaard G.H. 2012. Prospects and pitfalls of clonal fishes in the postgenomic era // *Aquaculture Biotechnology.* G.L. Fletcher, M.L. Rise (eds.). Oxford: Wiley-Blackwell. p. 55-67.
- Rogell B., Dannewitz J., Palm S., Petersson E., Dahl J., Prestegard T., Järvi T., Laurila A. 2012. Strong divergence in trait means but not in plasticity across hatchery and wild populations of sea-run brown trout *Salmo trutta* // *Mol. Ecol.* v. 21. p. 2963-2976.
- Rohrer R.L., Thorgaard G.H. 1986. Evaluation of two hybrid trout strains in Henry's Lake, Idaho, and comments on the potential use of sterile triploid hybrids // *North American Journal of Fisheries Management.* v. 6. p. 367-371.
- Rud Yu.P., Buchatsky L.P. 2014. The rapid diagnostics of sex of salmonids using DNA-markers // *Biotechnologia Acta.* v. 7. p. 17-22.
- Russell V., Hold G., Pryde S. et al. 2000. Use of restriction fragment length polymorphism to distinguish between salmon species // *J. Agric. Food Chem.* v. 48. p. 2184–2188.
- Ryman N. 1970. A genetic analysis of recapture frequencies of released young of salmon (*Salmo salar* L.) // *Hereditas.* v. 65. p. 159-160.
- Sadler J., Pankhurst P.M., King H.R. 2001. High prevalence of skeletal deformity and reduced gill surface area in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Aquaculture.* v. 198. p. 369-386.
- Sagstad A., Sanden M., Haugland Ø. et al. 2007. Evaluation of stress- and immune-response biomarkers in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed different levels of genetically modified maize (Bt maize), compared with its near-isogenic parental line and a commercial suprex maize // *J. Fish Diseases.* v. 30. p. 201-212.
- Saisa M., Koljonen M.-L., Tahtinen J. 2003. Genetic changes in Atlantic salmon stocks since historical times and the effective population size of a long-term captive breeding programme // *Conserv. Genet.* v. 4. p. 613-627.
- Sajedi R.H., Aminzadeh S., Naderi-Manesh H., Sadeghizadeh M., Abdolhay H., Naderi-Manesh M. 2003. Genetic variation within and among rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, hatchery populations from Iran assessed by PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA segments // *J. Food Science.* v. 68. p. 870-873.
- Sanden M., Bruce I.J., Rahman M.A., Hemre G.-I. 2004. The fate of transgenic sequences present in genetically modified plant products in fish feed, investigating the survival of GM soybean DNA fragments during feeding trials in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. // *Aquaculture.* v. 237. p. 391–405.
- Sanders B.G. 1964. Electrophoretic studies of serum proteins of three trout species and the resulting hybrids within the family Salmonidae // *Taxonomic biochemistry and serology.* C.A. Leone (ed.). New York: The Ronald Press Company. p. 673-679.
- Sanford C.P.J. 1990. The phylogenetic relationships of salmonoid fishes // *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.)* v. 56. p. 145-153.
- Schäperclaus W. 1961. *Lehrbuch der Teichwirtschaft.* Berlin: Paul Perey. 582 p.
- Scheerer P.D., Thorgaard G.H. 1983. Increased survival in salmonid hybrids by induced triploidy // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 40. p. 2040-2044.
- Schisler G.J., Bergersen E.P., Walker P.G. et al. 2001. Comparison of single-round polymerase chain reaction (PCR) and pepsin-trypsin digest (PTD) methods for detection of *Myxobolus cerebralis* // *Diseases of Aquatic Organisms.* v. 45. p. 109-114.
- von Schalburg K.R., Rise M.L., Brown G.D., Davidson W.S., Koop B.F. 2005. A comprehensive survey of the genes involved in maturation and development of the rainbow trout ovary // *Biology of Reproduction.* v. 72. p. 687-699.
- Schneider J. 2011. Review of reintroduction of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in tributaries of the Rhine River in the German Federal States of Rhineland-Palatinate and Hesse // *J. Appl. Ichthyol.* v. 27. Suppl. 3. p. 24-32.
- Scott W.B., Crossman E.J. 1973. *Freshwater fishes of Canada.* Ottawa: Fisheries Research Board of Canada. 966 p.
- Sheehan R.J., Shasteen S.P., Suresh A.V., Kapuscinski A.R., Seeb J.E. 1999. Better growth in all-female diploid and triploid rainbow trout // *Trans. Amer. Fish. Soc.* v. 128. p. 491-498.
- Shigenobu Yu., Saitoh K., Hayashizaki K., Ida H. 2005. Nonsynonymous site heteroplasmy in fish mitochondrial DNA // *Genes and Genetic Systems.* v. 80. p. 297-301.

- Sequin L.-R. 1957. Scientific fish culture in Quebec since 1945 // *Trans. Amer. Fish. Soc.* v. 86. p. 136-143.
- Silverstein J.T., Rexroad III C.E., King T.L. 2004. Genetic variation measured by microsatellites among three strains of domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) // *Aquac. Res.* v. 35. p. 40-48.
- Simon D.C., Scarlet C.G., Dillon J.C. 1993. Field performance of triploid and diploid rainbow trout in South Dakota ponds // *North American Journal of Fisheries Management.* v. 13. p. 134-140.
- Sin F.Y.T. 1997. Transgenic fish // *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* v. 7. p. 417-441.
- Sissener N.H., Sanden M., Bakke A.M. et al. 2009. A long term trial with Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed genetically modified soy; focusing general health and performance before, during and after the parr-smolt transformation // *Aquaculture.* v. 294. p. 108-117.
- Skaala O., Hoyheim B., Glover K., Dahle G. 2004. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals // *Aquaculture.* v. 240. p. 131-143.
- Skaala O., Wennevik V., Glover K.A. 2006. Evidence of temporal genetic change in wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., populations affected by farm escapes // *ICES J. Mar. Sci.* v. 63. p. 1224-1233.
- Slettan A., Olsaker I., Lie O. 1996. Polymorphic Atlantic salmon, *Salmo salar* L., microsatellites at the SSOSL438, SSOSL439 and SSOSL444 loci // *Animal Genetics.* v. 27. p. 57-58.
- Slettan A., Olsaker I., Lie Ø. 1997. Segregation studies and linkage analysis of Atlantic salmon microsatellites using haploid genetics // *Heredity.* v. 78. p. 620-627.
- Slierendrecht W.J., Jensen L.B., Hørlyck V., Koch C. 1993. Genetic polymorphism of complement component C3 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and resistance to viral haemorrhagic septicaemia // *Fish and Shellfish Immunology.* v. 3. p. 199-206.
- Slierendrecht W.J., Olesen N.J., Lorensen N. et al. 1996. Genetic alloforms of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) complement component C3 and resistance to viral haemorrhagic septicaemia under experimental conditions // *Fish and Shellfish Immunology.* v. 6. p. 235-237.
- Smith G.R., Stearley R.F. 1989. The Classification and Scientific Names of Rainbow and Cutthroat Trout // *Fisheries.* v. 14. p. 4-10.
- Smith P.J. 2005. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) // *Stock identification methods. Application in fishery science.* S.X. Cadrin, K.D. Friedland, J.R. Waldman (eds.). Amsterdam etc. p. 371-387.
- Snow M. 2011. The contribution of molecular epidemiology to the understanding and control of viral diseases of salmonid aquaculture // *Veterinary Research.* v. 42:56.
- Solar I.I. 2009. Use and exchange of salmonid genetic resources relevant for food and aquaculture // *Reviews in Aquaculture.* v. 1. p. 174-196.
- Solar I.I., Donaldson E.M. 1985. Studies on genetic and hormonal sex control in domesticated rainbow trout. I. The effect of heat shock treatment for induction of triploidy in cultured rainbow trout // *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* v. 1379. 15 p.
- Solar I.I., Donaldson E.M., Hunter G.A. 1984. Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat shock, and investigation of early growth // *Aquaculture.* v. 42. p. 57-67.
- Solomon D.J. 2003. The potential for restocking using all-female triploid brown trout to avoid genetic impact upon native stocks // *Trout News.* No. 35. p. 28-31.
- Sourinejad I., Kalbassi M.R., Pino-Querido A., Vera M., Bouza C., Martinez P. 2011. Parentage assignment of progeny in mixed milt fertilization of Caspian brown trout *Salmo trutta caspius* using microsatellite DNA markers: Implications for conservation // *African Journal of Biotechnology.* v. 10. p. 5084-5090.
- Spens J., Alanära A., Eriksson L.-O. 2007. Nonnative brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and the demise of native brown trout (*Salmo trutta*) in northern boreal lakes: stealthy, long-term patterns? // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 64. p. 654-664.
- Spies I.B., Brasier D.J., O'Reilly T.L., Seamons T.R., Bentzen P. 2005. Development and characterization of novel tetra-, tri-, and dinucleotide microsatellite markers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Mol. Ecol. Notes.* v. 5. p. 278-281.
- Stanković D., Crivelli A.J., Snoj A. 2015. Rainbow Trout in Europe: Introduction, Naturalization, and Impacts // *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture.* v. 23. p. 39-71.
- Stearley R.F., Smith G.R. 1993. Phylogeny of the Pacific Trout and Salmon (*Oncorhynchus*) and Genera of the Family Salmonidae // *Trans. Amer. Fish. Soc.* v. 122. p. 1-33.
- Steinum T., Kvellstad A., Rønneberg L.B. et al. 2008. First cases of amoebic gill disease (AGD) in Norwegian seawater farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and phylogeny of the causative amoeba using 18s cDNA sequences // *J. Fish Diseases.* v. 31. p. 205-214.
- Stephens M.R. 2007. Systematics, Genetics and Conservation of Golden Trout. Dissertation submitted in partial satisfaction of the requirements for the degree of Doctor of philosophy. Davis: University of California. 150 p.
- Stephens M.R., Clipperton N.W., May B. 2009. Subspecies-informative SNP assays for evaluating introgression between native golden trout and introduced rainbow trout // *Mol. Ecol. Res.* v. 9. p. 339-343.
- Stevenson J. 1991. Maturity suppression in rainbow trout from the producer's perspective // *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* v. 1789. p. 101-109.
- Stokell G. 1949. The numerical characters of five hybrid trout // *Rec. Canterbury Mus. (New Zealand).* v. 5. p. 209-212.
- Ström-Bestor M., Mustamäki N., Heinikainen S., Hirvelä-Koski V., Verner-Jeffreys D., Wiklund T. 2010. Introduction of *Yersinia ruckeri* biotype 2 into Finnish fish farms // *Aquaculture.* v. 308. p. 1-5.
- Svardson G., Fagerstrom A. 1982. Adaptive differences in the long-distance migration of some trout (*Salmo trutta* L.) stocks // *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm.* No. 60. p. 51-80.
- Sundström L.F., Peterson E., Höjesjö J. et al. 2004. Hatchery selection promotes boldness in newly hatched brown trout (*Salmo trutta*): implications for dominance // *Behavioural Ecology.* v. 15. p. 192-198.
- Sundvold H., Ruyter B., Ostbye T.-K., Moen T. 2010. Identification of a novel allele of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG) and its association with resistance to *Aeromonas salmonicida* in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Fish Shellfish Immunology.* v. 28. p. 394-400.
- Sutterlin A.M., Holder J., Benfey T.J. 1987. Early survival rates and subsequent morphological abnormalities in landlocked, anadromous and hybrid (landlocked x anadromous) diploid and triploid Atlantic salmon // *Aquaculture.* v. 64. p. 157-164.

- Suzuki R., Fukuda Y. 1971. Survival potential of F1 hybrids among salmonid fishes // *Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory*. v. 21. p. 69-83.
- Tabata Y.A., Rigolino M.G., Tsukamoto R.Y. 1999. Production of all female triploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Pisces, Salmonidae). III. Growth up to first sexual maturation // *Boletim do Instituto de Pesca Sao Paulo*. v. 25. p. 67-76 (English abstract).
- Taggart J.B., Ferguson A. 1984. An electrophoretically-detectable genetic tag for hatchery-reared brown trout (*Salmo trutta* L.) // *Aquaculture*. v. 41. p. 119-130.
- Takle H., Baevefjord G., Lunde M. et al. 2005. The effect of heat and cold exposure on *HSP70* expression and development of deformities during embryogenesis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Aquaculture*. v. 249. p. 515-524.
- Taksdal T., Olsen A.B., Bjerkes I. et al. 2007. Pancreas disease in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Norway // *J. Fish Diseases*. v. 30. p. 545-558.
- Taylor E.B. 2004. Evolution in mixed company: Evolutionary inferences from studies of natural hybridization in Salmonidae. // *Evolution illuminated: Salmon and their relatives*. A. Hendry, S. Stearns (eds.). Oxford. p. 232-263.
- Taylor J.F., Needham M.P., North B.P. et al. 2007. The influence of ploidy on saltwater adaptation, acute stress response and immune function following seawater transfer in non-smolting rainbow trout // *Gen. Comp. Endocrinol.* v. 152. p. 314-325.
- Teuscher D.M., Schill D.J., Megargle D.J., Dillon J.C. 2003. Relative Survival and Growth of Triploid and Diploid Rainbow Trout in Two Idaho Reservoirs // *North American Journal of Fisheries Management*. v. 23. p. 983-988.
- Thompson D. 1985. Genetic identification of trout strains // *Aquaculture*. v. 46. p. 341-345.
- Thompson D., Scott A.P. 1984. An analysis of recombination data in gynogenetic diploid rainbow trout // *Heredity*. v. 53. p. 441-452.
- Thorgaard G.H. 1986. Ploidy manipulation and performance // *Aquaculture*. v. 57. p. 57-64.
- Thorgaard G.H. 1992. Application of genetic technologies to rainbow trout // *Aquaculture*. v. 100. p. 85-97.
- Thorgaard G.H., Allendorf F.W., Knudsen K.L. 1983. Gene-centromere mapping in rainbow trout: high interference over long map distances // *Genetics*. v. 103. p. 771-783.
- Thorgaard G.H., Arbogast D.N., Hendricks J.D., Pereira C.B., Bailey G.S. 1999. Tumor suppression in triploid trout // *Aquatic Toxicology*. v. 46. p. 121-126.
- Thorgaard G.H., Bailey G.S., Williams D. et al. 2002. Status and opportunities for genomics research with rainbow trout // *Comp. Biochem. Physiol. B*. v. 133. p. 609-646.
- Thorgaard G.H., Gall G.A.E. 1979. Adult triploids in a rainbow trout family // *Genetics*. v. 93. p. 961-973.
- Thorgaard G.H., Jazwin M.E., Stier A.R. 1981. Polyploidy induced by heat shock in the rainbow trout // *Trans. Am. Fish. Soc.* v. 110. p. 546-550.
- Thorgaard G.H., Rabinovitch P.S., Shen M.W. et al. 1982. Triploid rainbow trout identified by flow cytometry // *Aquaculture*. v. 29. p. 305-309.
- Thorgaard G.H., Scheerer P.D., Parsons J.E. 1985. Residual paternal inheritance in gynogenetic rainbow trout: implication for gene transfer // *Theor. Appl. Genet.* v. 71. p. 119-121.
- Thorgaard G.H., Spruell P., Wheeler P.A. et al. 1995. Incidence of albinos as a monitor for induced triploidy in rainbow trout // *Aquaculture*. v. 137. p. 121-130.
- Thorpe J.E. 2004. Life history responses of fishes to culture // *J. Fish Biol.* v. 65. Suppl. A. p. 263-285.
- Thresher R., Hayes K., Bax N.J., Teem J., Benfey T.J., Gould F. 2009. Genetic control of invasive fish: technological options and its role in integrated pest management // *Biol. Invasions*. v. 16. p. 1201-1216.
- Thrower F.P., Hard J.J., Joyce J.E. 2004. Genetic architecture of growth and early life-history transitions in anadromous and derived freshwater populations of steelhead // *J. Fish Biol.* v. 65. Suppl. A. p. 286-307.
- Tiano T.J., Willis C.M., Noble A.A., Luttenton M.R., Nikitin A.G. 2007. Genetic identification of hatchery stocks of brown trout using mitochondrial DNA polymorphism // *North American Journal of Fisheries Management*. v. 27. p. 965-970.
- Tiira K., Piironen J., Primmer C. R. 2006. Evidence for reduced genetic variation in severely deformed juvenile salmonids // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 63. p. 2700-2707.
- Tipsmarck C.K., Madsen S.S., Seidelin M. et al. 2002. Dynamics of Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransporter and Na⁺, K⁺-ATPase expression in the branchial epithelium of brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *J. Exp. Zool.* v. 293. p. 106-118.
- Tonteri A., Titov S., Veselov A. et al. 2005. Phylogeography of anadromous and non-anadromous Atlantic salmon (*Salmo salar*) from northern Europe // *Ann. Zool. Fennici*. v. 42. p. 1-22.
- Trobridge G.D., LaPatra S.E., Kim C.H., Leong J.C. 2000. Mx mRNA expression and RFLP analysis of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* genetic crosses selected for susceptibility or resistance to IHNV // *Dis. Aquat. Org.* v. 40. p. 1-7.
- Tsoi S.C.M., Ewart K.V., Penny S. et al. 2004. Identification of immune-relevant genes from Atlantic salmon using suppression subtractive hybridization // *Marine Biotechnol.* v. 6. p. 199-214.
- Vaha J.-P. 2007. Conservation Genetics of Teno River Atlantic salmon (*Salmo salar*). Genetic Structure in Space and Time, and the Effects of Escaped Farmed Salmon. Academic Dissertation. Turku: Turun Yliopisto. 54 p.
- van der Bank F.H., Swart M.K.J., Ferreira J.T. 1992. Genetic variation in nine rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations in South Africa // *Comparative Biochemical Physiology*. v. 103B. p. 495-499.
- Van Eenennaam A.L., Muir W.M. 2011. Transgenic salmon: a final leap to the grocery shelf? // *Nature Biotechnology*. v. 29. p. 706-710.
- Vandersteen W., Biro P., Harris L., Devlin R. 2012. Introgression of domesticated alleles into a wild trout genotype and the impact on seasonal survival in natural lakes // *Evol. Appl.* v. 5. p. 76-88.
- Vasemagi A., Gross R., Paaver T. et al. 2005a. Analysis of gene-associated tandem repeat markers in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations: implications for restoration and conservation in the Baltic Sea // *Conserv. Genet.* v. 6. p. 385-397.
- Vasemägi A., Gross R., Palm D., Paaver T., Primmer C.R. 2010. Discovery and application of insertion-deletion (INDEL) polymorphisms for QTL mapping of early life-history traits in Atlantic salmon // *BMC Genomics*. v. 11. 156.
- Vasemägi A., Nilsson J., McGinnity P., Cross T., O'Reilly P., Glebe B., Peng B., Berg P.R., Primmer C.R. 2012. Screen for Footprints of Selection during Domestication / Captive Breeding of Atlantic Salmon // *Comparative and Functional Genomics*. v. 2012. Article ID 628204, 14 pages.

- Vasemägi A., Nilsson J., Primmer C.R. 2005b. Expressed sequence tag-linked microsatellites as a source of gene-associated polymorphisms for detecting signatures of divergent selection in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Mol. Biol. Evol.* v. 22. p. 1067-1076.
- Vassileva-Dryanovska O., Belcheva R. 1965. Radiation gynogenesis in *Salmo irideus* Gibb. // *Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences.* v. 18. p. 359-362.
- Vigliano P.H., Alonso M.F., Aquaculture M. 2007. Salmonid introductions in Patagonia: a mixed blessing // *Ecological and genetic implications of aquaculture activities.* T.M. Bert (ed.). Dordrecht. p. 315-331.
- Vladic T., Forsberg L.A., Jarvi T. 2010. Sperm competition between alternative reproductive tactics of the Atlantic salmon *in vitro* // *Aquaculture.* v. 302. p. 265-269.
- von Schalburg K., Rise M.L., Brown G.D., Davidson W.S., Koop B.F. 2005. A comprehensive survey of the genes involved in maturation and development of the rainbow trout ovary // *Biology of Reproduction.* v. 72. p. 687-699.
- Wada K.T. 1998. The present status of genetic conservation of cultured aquatic species in Japan // *Action before extinction.* B. Harvey, C. Ross, D. Greer, J. Carolsfeld (eds.). Victoria, British Columbia, Canada. p. 225-230.
- Wagner E.J., Arndt R.E., Routledge M.D., Larremouille D., Mellenthin R.F. 2006. Comparison of hatchery performance, agonistic behaviour, and poststocking survival between diploid and triploid rainbow trout of three different Utah strains // *North American Journal of Aquaculture.* v. 68. p. 63-73.
- Walsø Ø. 1998. The Norwegian gene bank program for Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Action before extinction.* Harvey, C. Ross, D. Greer, J. Carolsfeld (eds.). Victoria, British Columbia, Canada. p. 97-103.
- Wang S., Hard J.J., Utter F. 2002. Genetic variation and fitness in salmonids // *Conserv. Genet.* v. 3. p. 321-333.
- Wangila B.C.C. 1994. Electrophoretic characterization of three hatchery-reared strains of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) // *Aquaculture and Fisheries Management.* v. 25. p. 565-570.
- Ward R.D., Jørstad K.E., Maguire G.B. 2003. Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introduced to Western Australia // *Aquaculture.* v. 219. p. 169-179.
- Was A., Wenne R. 2002. Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the Southern Baltic at microsatellite loci // *Aquaculture.* v. 204. p. 493-506.
- Weber E. D., Fausch K. D. 2003. Interactions between hatchery and wild salmonids in streams: differences in biology and evidence for competition // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* v. 60. p. 1018-1036.
- Wedekind C. 2002. Sexual selection and life-history decisions: implications for supportive breeding and the management of captive populations // *Conserv. Biol.* v. 16. p. 1204-1211.
- Weir L.K., Grant J.W.A. 2005. Effects of aquaculture on wild fish populations: a synthesis of data // *Environmental Reviews.* v. 13. p. 145-168.
- Wilkins N.P. 1983. Haemoglobin and the salmon-grilse problem // *Irish Fish. Invest. Ser. A. No. 23.* p. 67-71.
- Wilkins N.P., Unlu A., Hubert S. 2002. Triploid Atlantic salmon grow better to smoltification than diploids: a comprehensive evaluation at pilot scale // *Aquaculture.* v. 204. p. 249-250.
- Williams R.N., Shiozawa D.K., Carter J.E., Leary R.F. 1996. Genetic detection of putative hybridization between native and introduced rainbow trout populations of the Upper Snake River // *Trans. Amer. Fish. Soc.* v. 125. p. 387-401.
- Willson M.F., Halupka K.C. 1995. Anadromous fish as keystone species in vertebrate communities // *Conserv. Biol.* v. 9. p. 489-497.
- Wilson A.C., Cann R.L., Carr S.M. et al. 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics // *Biol. J. Linn. Soc.* v. 26. p. 375-400.
- Wilson A.J., McDonald G., Moghadam H.K., Herbinge C.M., Ferguson M.M. 2003. Marker-assisted estimation of quantitative genetic parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Genet. Res. Camb.* v. 81. p. 145-156.
- Wirgin I., Waldman J.R. 2005. Use of nuclear DNA in stock identification: single-copy and repetitive sequence markers // *Stock identification methods. Application in fishery science.* S.X. Cadrin, K.D. Friedland, J.R. Waldman (eds.). Amsterdam etc.: Elsevier Academic Press. p. 331-370.
- Wunner U., Stein H., Hartmann H.R. 1990. Gynogenese bei der Bachforelle (*Salmo trutta forma fario*) // *Fisher & Teichwirt.* v. 41. p. 347-352.
- Wynne J.W., Cook M.T., Nowak B.F., Elliott N.G. 2007. Major histocompatibility polymorphism associated with resistance towards amoebic gill disease in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Fish and Shellfish Immunology.* v. 22. p. 707-717.
- Ueda T. 1996. Chromosome aberrations in salmonid fish embryos using prolonged-stored eggs in coelomic fluid // *Chromosome Information Service.* № 61. p. 13-15.
- Ueda T., Sato R., Kobayashi J. 1988. Triploid rainbow trout induced by high-pH • High-calcium // *Nippon Suisan Gakkaishi.* v. 54. p. 2045.
- Uzbekova S., Chyb J., Ferrière F. et al. 2000. Transgenic rainbow trout expressed sGnRH-antisense RNA under the control of sGnRH promoter of Atlantic salmon // *Journal of Molecular Endocrinology.* v. 25. p. 337-350.
- Yada T., Azuma T. 2000. Studies of the "cobalt" variant of rainbow trout // *UJNR Technical Report.* No. 28. p. 163-166.
- Yamaki M., Yamaguchi S., Arai K. 2006. Mottled coloration of haploid-diploid and diploid-triploid mosaic amago salmon *Oncorhynchus masou ishikawae* // *Fisheries Science.* v. 72. p. 157-165.
- Yamazaki F. 1983. Sex control and manipulation in fish // *Aquaculture.* v. 33. p. 329-354.
- Yaskowiak E.S., Shears M.A., Agarwal-Mawal A., Fletcher G.L. 2006. Characterization and multi-generation stability of the growth hormone transgene (EO-16) responsible for enhanced growth rates in Atlantic salmon // *Transgenic Res.* v. 15. p. 465-480.
- Ye D., Zhu Z., Sun Y. 2015. Fish genome manipulation and directional breeding // *Science China. Life Sciences.* v. 58. p. 170-177.
- Yoshizaki G., Takeuchi Y., Sakatani S., Takeuchi T. 2000. Germ cell-specific expression of green fluorescent protein in transgenic rainbow trout under control of the rainbow trout *vasa*-like gene promoter // *International Journal of Developmental Biology.* v. 44. p. 323-326.
- You P., Wang Y., Sun X., Qiang X., Cone D. 2008. Seasonality of *Gyrodactylus brachymystacis* Ergens on farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in central China, with a report of an infection on wild Manchurian trout, *Brachymystax lenok* (Pallas) // *J. Fish Diseases.* v. 31. p. 941-945.

- Young W.P., Frenyea K., Wheeler P.A., Thorgaard G.H. 2009. No increase in developmental deformities or fluctuating asymmetry in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) produced with cryopreserved sperm // Aquaculture. v. 289. p. 13-18.
- Youngson A.F., Verspoor E. 1998. Interactions between wild and introduced Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. v. 55. Suppl. 1. p. 153-160.
- Zardoya R., Garrido-Pertierra A., Bautista J.M. 1995. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA genome of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // J. Mol. Evol. v. 41. p. 942-951.
- Zarate J., Bradley T.M. 2003. Heat shock proteins are not sensitive indicators of hatchery stress in salmon // Aquaculture. v. 223. p. 175-187.
- Zhang J., Wang H., Cai Z. 2007. The application of DGGE and AFLP-derived SCAR for discrimination between Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Food Control. v. 18. p. 672-676.
- Zhang X., Mutsukawa K., Onozato H. 2005. Correlation between delay in the earlier cleavage stage and the tetraploidization rate in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* embryos treated with heat or hydrostatic pressure shock during the first cell cycle // Fisheries Science. v. 71. p. 239-241.
- Zhao Y.-Y., Zhu X.-C., Sun X.-W. 2006. Genetic diversity of the cultured populations of six rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by microsatellite // Hereditas (Beijing). v. 28. p. 956-962 (English abstract).
- Zhao Y., Zhu X., Sun X. 2008. Microsatellite diversity in cultured populations of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in China // J. Fish Biol. v. 73. p. 1249-1255.
- Zietara M.S., Kuusela J., Lumme J. 2006. Escape from an evolutionary dead end: a triploid clone of *Gyrodactylus salaris* is able to revert to sex and switch host (Platyhelminthes, Monogenea, Gyrodactylidae) // Hereditas. v. 143. p. 84-90.
- Zietara M.S., Kuusela J., Veselov A., Lumme J. 2008. Molecular faunistics of accidental infections of *Gyrodactylus Nordmann, 1832* (Monogenea) parasitic on salmon *Salmo salar* L. and brown trout *Salmo trutta* L. in NW Russia // Syst. Parasitol. v. 69. p. 123-135.
- Zietara M.S., Rokicka M., Stojanovski S., Lumme J. 2010. Introgression of distant mitochondria into the genome of *Gyrodactylus salaris*: Nuclear and mitochondrial markers are necessary to identify parasite strains // Acta Parasitologica. v. 55. p. 20-28.

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА I. ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О ЛОСОСЕВЫХ РЫБАХ	5
1.1. Систематика, биология и экологические особенности лососевых	5
1.1.1. Рода и виды семейства лососевых, их распространение	5
1.1.2. Жизненный цикл лососевых. Лососи и форели	7
1.1.3. Роль лососевых рыб в экосистемах	7
1.2. Генетические особенности природных популяций лососевых	8
1.2.1. Генетические механизмы эволюции семейства лососевых	8
1.2.2. Генофонд благородных лососей, его значение для адаптации природных популяций к среде обитания и для селекции	10
1.2.3. Системы стабилизации генофонда лососей	12
1.3. Хозяйственное значение группы	14
ГЛАВА II. ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНОФОНДА БЛАГОРОДНЫХ ЛОСОСЕЙ ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ	24
2.1. Неконтролируемые генетические процессы	24
2.2. Традиционные методы изменения генофонда лососевых рыб	31
2.2.1. Селекция лососевых рыб	31
2.2.2. Отбор и внутривидовая гибридизация	31
2.2.3. Отдаленная гибридизация	34
2.2.4. Отбор и инбридинг	35
2.2.5. Искусственный мутагенез	35
2.3. Клеточные технологии	36
2.3.1. Кримоконсервация клеток	36
2.3.2. Химерные организмы	37
2.4. Хромосомная инженерия	37
2.4.1. Искусственная тетраплоидия	37
2.4.2. Искусственная триплоидия	40
2.4.3. Гормональное переопределение пола	47
2.4.4. Искусственный андрогенез	48
2.4.5. Искусственный гиногенез	49
2.5. Генетическая инженерия	51
2.5.1. Генно-инженерно модифицированные организмы	51
2.5.2. Трансгенные благородные лососи	52
2.5.3. Трансгенные организмы в кормах для рыб	54
2.5.4. Генно-инженерные вакцины в лососеводстве и форелеводстве	55
2.5.5. Трансплантация митохондрий как метод генетической инженерии	55
2.6. Влияние аквакультуры на природные популяции	56
2.6.1. Факторы влияния рыбоводства на природные экосистемы	56
2.6.2. Изменение генетической структуры природных популяций в результате гибридизации диких рыб с объектами аквакультуры	56
2.6.3. Распространение патогенных организмов и их влияние на генетическую структуру природных популяций благородных лососей	57
2.6.4. Методы снижения влияния аквакультуры на генофонд природных популяций лососевых	60
ГЛАВА III. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В АКВАКУЛЬТУРЕ	63
3.1. Достоинства и недостатки современных молекулярно-генетических методов, используемых в аквакультуре	64
3.1.1. Анализ белков	64
3.1.2. Анализ ДНК	69

3.1.2.1. Общие замечания	69
3.1.2.2. Анализ митохондриальной ДНК	71
3.1.2.3. Анализ мини- и микросателлитов	73
3.1.2.4. Анализ длин анонимных последовательностей генома	79
3.1.2.5. Анализ сайтов, содержащих единичные полиморфные нуклеотиды (SNP-анализ)	84
3.2. Использование молекулярно-генетических маркеров в лососеводстве и форелеводстве	87
3.2.1. Выявление генетических различий между видами	87
3.2.1.1. Диагностика видов и межвидовых гибридов благородных лососей	87
3.2.1.2. Поиск генетически-модифицированных организмов (ГМО)	89
3.2.1.3. Диагностика патогенных организмов	90
3.2.2. Выявление различий между внутривидовыми группировками	92
3.2.2.1. Выявление полиплоидов	92
3.2.2.2. Оценка уровня генетического разнообразия	93
3.2.2.3. Идентификация пород и их кроссов	93
3.2.2.4. Дифференциация искусственно выращенных и диких рыб	95
3.2.3. Изучение и контроль генетических процессов в популяциях	95
3.2.3.1. Идентификация отдельных особей и выявление родственных связей между рыбами	95
3.2.3.2. Маркер-специфичная селекция	96
3.2.3.3. Выявление неконтролируемого отбора	98
3.2.3.4. Идентификация генетического пола	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	99
ЛИТЕРАТУРА	101

В.С. Аргамонова
А.А. Махров

**Генетические методы в лососеводстве и форелеводстве:
от традиционной селекции до нанобиотехнологий**

М.: Товарищество научных изданий КМК. 2015. 128 с.
Отпечатано в ООО "Галлея-принт"
Подписано в печать 20.12.2015. Тираж 200 экз.
Объем 16 уч. изд. л.