

Особенности развития гонад у искусственно выращенной триплоидной и диплоидной беломорской горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum)

В. С. АРТАМОНОВА^{1,2}, М. В. ПОНОМАРЕВА³, В. В. ИГНАТЕНКО⁴, А. А. МАХРОВ^{1,2}

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
119071, Москва, Ленинский просп., 33
E-mail: valar99@mail.ru

² Институт биофизики федерального исследовательского центра
“Красноярский научный центр СО РАН”
660036, Красноярск, Академгородок, 50/50

³ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы

⁴ Выгский рыболоводный завод
186530, Республика Карелия, Беломорский район, пос. Сосновец

Статья поступила 25.11.2017

Принята к печати 25.12.2017

АННОТАЦИЯ

Среди триплоидных особей горбуши выявлены только самцы (полностью созревшие и несозревающие) и интерсексы, в связи с чем рассматриваются возможные механизмы генетического определения пола у горбуши. Обсуждается также возможность использования триплоидов для регуляции численности искусственно созданных популяций горбуши. Сделан вывод о том, что использование триплоидов горбуши в аквакультуре нецелесообразно. В работе также отмечена задержка созревания у некоторых диплоидных самок горбуши при выращивании в садках.

Ключевые слова: задержка созревания, интерсексы, пол, триплоидия, гонады, термошок, горбуша, *Oncorhynchus gorbuscha*.

Возникновение механизма определения пола – одна из основных проблем современной теории эволюции; до сих пор неясно, как образовались хорошо дифференцированные половые хромосомы, характерные для высших позвоночных животных. В связи с этим

внимание исследователей все чаще привлекают механизмы, регулирующие соотношение полов у низших позвоночных, в частности, у рыб.

Современные методы анализа генома не раскрыли полностью механизмов определения

поля у модельных видов низших позвоночных, однако привели исследователей к важному заключению о том, что развитие признаков определенного пола в онтогенезе определяется достижением порогового значения некоего полового фактора [Heule et al., 2014].

В рыбоводной практике для получения однополых рыб давно применяют вещества (обычно синтетические гормоны), которые способны либо подавлять, либо стимулировать экспрессию генов, отвечающих за формирование пола, тем самым переопределяя генотипический пол самцов или самок, хотя непосредственные механизмы воздействия этих веществ, как правило, неизвестны [Pandian, 2012]. В то же время, для вычленения вклада генетической составляющей, экспрессия которой, собственно, и подвергается регулированию, необходим подход, связанный с изменением числа и/или соотношения хромосомных локусов, кодирующих половые факторы.

Лососевые рыбы (Salmonidae) особенно привлекательны как объект экспериментов по реорганизации генома, поскольку это одна из групп организмов, где генетические механизмы определения пола находятся в стадии становления. Возникновение данного семейства сопровождалось тетраплоидиацией, а образование родов и видов – слиянием хромосом [Фролов, 2000; Phillips, Rab, 2001]. В некоторых случаях происходило, по-видимому, одновременное попарное слияние нескольких негомологичных хромосом [Зелинский, Махров, 2002; Makhrov, 2017], в результате чего нарушались механизмы определения пола, и половые хромосомы возникали заново [Phillips, 2013].

Более того, у большинства лососевых, в частности, у горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*), при кариологических исследованиях половые хромосомы обнаружить вообще не удается [Phillips, 2013], хотя известны последовательности ДНК, первоначально найденные только у самцов этого вида [Devlin et al., 2001; Brunelli, Thorgaard, 2004; Phillips et al., 2007]. В то же время, как выяснилось позже, в некоторых популяциях горбуши часто (до 81,5 % у самцов) наблюдаются случаи несоответствия фенотипического пола генотипическому, если признать данные по-

следовательности полоспецифичными [Брыков и др., 2010а, б]. Из сказанного следует, что генетический механизм определения пола у горбуши еще очень несовершенен, и, таким образом, она может служить модельным объектом для изучения формирования этого механизма.

Для того, чтобы пролить свет на генетические механизмы формирования пола, необходимо изменить число и/или соотношение хромосомных локусов, кодирующих половые факторы, и оценить, как влияет подобное изменение на фенотипический пол особей; одним из таких подходов может стать получение триплоидов. В литературе имеются данные об изменении соотношения полов у искусственно полученных триплоидов рыб – у них часто преобладают самцы [Pandian, 2012], но о влиянии триплоидии на соотношение полов именно у горбуши до настоящего времени неизвестно.

Между тем, изучение триплоидов горбуши имеет определенное практическое значение, поскольку такие рыбы теоретически могут быть стерильными [Гомельский, Грунина, 1988; Махров и др., 2014; Thresher et al., 2014], а значит, не погибать в двухлетнем возрасте, подобно диплоидам.

Помимо несовершенства генетического механизма определения пола, горбуша интересна еще и тем, что жизненный цикл представителей этого вида составляет ровно два года. Между двумя линиями горбуши – “четной” и “нечетной” – существует практически полная репродуктивная изоляция, их даже называют иногда видами-двойниками. Горбуша “четной” линии нерестится осенью четного года. Весной следующего (нечетного) года мальки уходят на нагул в море, проводят там лето, зиму и еще одно лето. Осенью четного года это поколение горбуши возвращается в реки на нерест, и после него погибает из-за необратимых физиологических и морфологических перестроек организма, сопровождающих созревание. Горбуша “нечетной” линии имеет аналогичный жизненный цикл, но нерестится по нечетным годам. При этом между линиями существует не только презиготическая, но и определенная постзиготическая репродуктивная изоляция: хотя потомки от искусственного скрещивания гор-

буши двух линий выживают в море и даже фертильны, потомки этих гибридов из моря уже не возвращаются [Gharrett, Smoker, 1991; Gharrett et al., 1999].

Нерестовые реки горбуши расположены в северной части бассейна Тихого океана и прилегающих областях бассейна Северного Ледовитого океана – на Аляске [Babaluk et al., 2000] и в Сибири от Чаунской губы до р. Лена [Черешнев, Кириллов, 2007]. Однако с 1956 г. данную рыбу стали вселять в водоемы Европейского Севера, и в настоящее время она широко распространилась также в бассейнах Белого и Баренцева морей [Зубченко и др., 2004; Dorofeyeva et al., 2004; Hesthagen, Sandlund, 2007; Witkowski, Głowacki, 2010; Веселов и др., 2016].

Как любой чужеродный вид, горбуша представляет потенциальную угрозу для экосистем рек бассейнов Белого и Баренцева морей [Зубченко и др., 2004], а ее появление в реках Шотландии вызвало настоящую панику. Например, газета “Таймс” 25 сентября 2015 г. опубликовала статью “Природному лососю угрожают захватчики, разведенные в период холодной войны”. С другой стороны, горбуша стала важным промысловым объектом для населения беломорского побережья. Дозированный выпуск с рыбоводных заводов стерильной триплоидной горбуши, срок жизни которой не ограничивается двумя годами, мог бы стать компромиссом между задачей сохранения природных экосистем и необходимостью поддержки жителей Беломорья. Это тем более актуально, что триплоиды некоторых других видов лососевых после начала созревания у диплоидов имеют больший темп роста, чем эти диплоиды [Артамонова, Махров, 2015], однако до настоящего времени данные о развитии гонад и темпе роста триплоидов горбуши недостаточны.

Триплоиды горбуши получены в ряде экспериментов [Utter et al., 1983; Черненко, 1985; Benfey et al., 1989; Joyce et al., 1994; Teplitz et al., 1994], но их никогда не выращивали до взрослого состояния. Такая задача ставилась в исследовании Т. J. Benfey et al. [1989], но и диплоиды, и триплоиды горбуши в этом эксперименте погибли до созревания диплоидов из-за нарушения водоснабжения.

Цель настоящей работы – исследование соотношения полов и состояния гонад три-

плоидов и диплоидов горбуши в период созревания последних. Задачи работы – оценить влияние триплоидизации на развитие гонад у горбуши. В качестве практической, ставилась задача изучить эффективность триплоидизации как метода стерилизации горбуши и оценить возможность использования триплоидов горбуши в аквакультуре.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве производителей в работе использовали особей горбуши, отловленных в р. Кереть (западное побережье Белого моря) в августе 2013 г. (согласно разрешению № 78 2013 031972). 26 августа 2013 г. от 15 самок получена икра, которая оплодотворена спермой шести самцов. От каждой самки взяты пробы икры для определения средней массы икринки.

После оплодотворения проведен термошок, условия которого в разных партиях икры варьировали (время после оплодотворения – 10, 12 и 15 мин, время термошока также – 10, 12 и 15 мин, температура в период термошока – от +28 до +30 °C). Три контрольные партии икры в это время оставались при температуре воды, соответствующей температуре воды в реке (+16 °C).

Икру инкубировали в проточной воде на рамках в течение 36–41 дня (в среднем период инкубации составил 470 градусодней). Температура воды при этом относительно плавно снижалась с +16 до +14 °C в течение первых 27 сут, а затем, в последующие дни, более резко – с +14 до +7,5 °C. Вылупление личинок оказалось растянутым.

Полученную молодь в течение полутора лет, до мая 2015 г., выращивали в бассейнах с пресной водой, а затем перевезли в садковое хозяйство в губе Чупа (западное побережье Белого моря). Во время посадки в морскую воду рыбы имели среднюю массу 36,1 г.

Морские садки имели объем 12 м³, плотность посадки составляла 250 особей на 1 м³. В период выращивания в море рыб кормили вручную *ad libitum* три раза в день фаршем из трехглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus*). Эта мелкая рыба в настоящее время превышает по численности другие виды рыб Белого моря, ее биомасса достигает 1600 т [Иванова et al., 2016].

Выращенную горбушу (55 особей) исследовали 2–5 октября 2015 г. Для всех рыб определяли длину (AC), массу, пол и стадию зрелости гонад [Мурза, Христофоров, 1991]. У всех особей брали также мазки крови для последующего определения максимального диаметра ядер эритроцитов, а также фиксировали гонады в жидкости Буэна для последующего гистологического анализа. У трех зрелых самок определили абсолютную плодовитость и массу икринок. В ходе обработки материала фиксировали наличие или отсутствие аномалий гонад у исследуемых рыб.

Плоидность генома горбуши оценивали путем измерения максимального диаметра ядер эритроцитов в мазках крови, окрашенных азур-эозином [Калашникова, 1981]. Для каждой особи измеряли диаметр 50 или более клеток. Точность этого метода позволяет идентифицировать триплоидных лососевых с вероятностью до 100 % [Benfey et al., 1984].

Препараты для гистологического анализа изготавливали по стандартным методикам [Роскин, 1951; Ромейс, 1953] с использованием полуавтоматического специализированного гистологического оборудования (Meditec, Германия): гистопроцессор TPC-15, заливочная станция TES-99, микротом Meditome M530. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином. Фотографии срезов гонад делали с помощью моторизованного микроскопа Keyence Biorevo BZ-9000 (Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оптимальные условия получения триплоидов горбуши. Во всех случаях выживаемость икры в период от момента оплодотворения до вылупления личинок оказалась больше в контрольных партиях по сравнению с экспериментальными. Для трех контрольных партий доля вылупившихся личинок составила 68, 77 и 87 % от числа икринок, заложенных на инкубацию. На выживаемость икры в эксперименте наибольшее влияние оказывала длительность теплового шока: при удлинении теплового воздействия с 10 до 15 мин этот показатель в разных партиях икры снижался при прочих равных условиях в 2–5 раз. Повышение температу-

ры теплового шока с +28 до +30 °С влияло на выживание икры в меньшей степени, и снижало число выживших эмбрионов не более чем в 1,5 раза (среднем – на 20 %). Удлинение промежутка времени, которое проходило от момента оплодотворения до начала теплового воздействия с 10 до 15 мин, значимого влияния на выживание личинок не оказывало. Наилучшие результаты – 87 % от выживаемости в контроле – получены при начале теплового воздействия спустя 12 мин после оплодотворения, температуре теплового шока +28,5 °С, и его длительности 10 мин.

Определение плоидности генома. На рис. 1 показано распределение максимальных диаметров ядер эритроцитов для самок и самцов, V стадии зрелости гонад, не имеющих отклонений в развитии половой системы, и отдельно для экспериментальных рыб с неразвитыми гонадами (I или II стадия зрелости). Рыб, имеющих третью или четвертую стадию зрелости гонад, для построения базовых распределений не использовали. На основании данных литературы о развитии половой системы у диплоидов и триплоидов лососевых рыб [Гомельский, Грунина, 1988; Benfey et al., 1989; Benfey, 1999] предполагается, что особи первой группы должны быть представлены исключительно или преимущественно диплоидами, а второй – триплоидами.

Действительно, оказалось, что распределения максимального диаметра ядер эритроцитов для обоих групп особей являются нормальными, имеют средние значения 7,04 и 9,37 соответственно и пересекаются незначительно (см. рис. 1).

Изучение индивидуальных распределений показало, что большинство рыб четко разделяются на две группы – с модальным значением максимального диаметра ядер эритроцитов около 7 мкм (диплоиды) и около 9,5 мкм (триплоиды). Однако шесть рыб имели средние значения максимального диаметра ядер эритроцитов, промежуточные между диплоидами и триплоидами, т. е., возможно, являлись диплоидно-триплоидными мозаиками, часть клеток которых содержала два гаплоидных набора хромосом, а часть – три. Косвенным свидетельством в пользу этого предположения может служить то, что распределения для максимальных диаметров

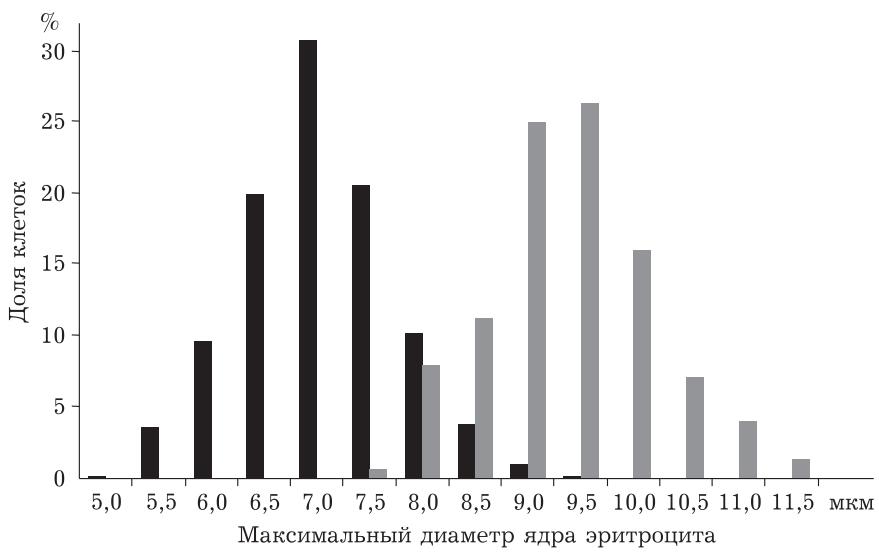


Рис. 1. Распределение эритроцитов в соответствии с максимальным диаметром их ядер для особей горбуши с гонадами V стадии зрелости (диплоиды, черные столбики) и рыб с неразвитыми гонадами (серые столбики, триплоиды)

ядер эритроцитов у двух из этих рыб отклонились от нормального.

Среди рыб, которых не удалось однозначно отнести к диплоидам или триплоидам, оказалось четыре самца. Гонады одного из них имели, согласно гистологическому анализу, стадию зрелости I; длина АС этой рыбы составляла 251 мм, а масса – 140 г. Гистологический анализ гонад двух других самцов показал, что они находились на II стадии зрелости (видны формирующиеся цисты со сперматогониями типа Б), АС составила 211 и 223 мм, масса – 80 и 95 г. У четвертой рыбы

стадия зрелости определена только визуально – III, длина АС этого самца равнялась 240 мм, масса – 140 г.

Пятая рыба, которую не удалось отнести ни к чистым диплоидам, ни к чистым триплоидам, являлась самкой, имеющей V стадию зрелости гонад. Ее длина АС и масса составляли 310 мм и 345 г соответственно. Необычным оказалось то, что у этой рыбы, наряду с икринками обычного размера, присутствовали и аномально крупные ооциты (рис. 2).

Шестая рыба, как показал гистологический анализ, являлась интерсексом. На пре-

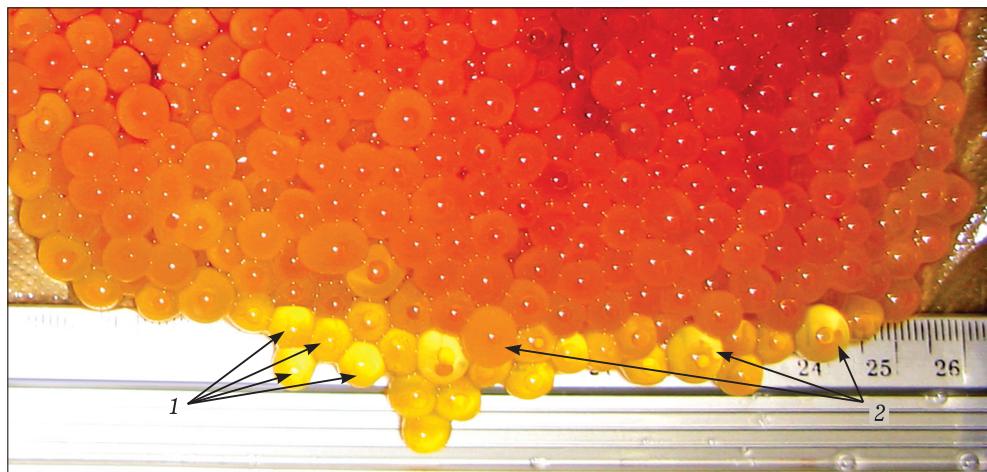


Рис. 2. Икра хромосомного мозаика (или особи с числом хромосом, промежуточным между диплоидным и триплоидным). 1 – ооциты обычного размера, 2 – крупные ооциты.

Таблица 1
Пол, стадия зрелости, длина и масса диплоидных рыб

Пол	Стадия зрелости	<i>N</i> (в скобках – число особей, у которых проведен гистологический анализ)	Средняя длина, АС, мм (в скобках – пределы колебаний)	Средняя масса, г (в скобках – пределы колебаний)
Самки	III	10 (5)	281,7 (258–305)	235,0 (170–285)
	IV	1	276	230
	V	5 (1)	273,4 (258–294)	256,4 (175–340)
Самцы	III	1 (1)	274	210
	V	18 (3)	261,7 (225–287)	191,9 (100–240)

парате видны две группы по пять ооцитов на III ранней стадии зрелости, и резорбирующиеся мелкие ооциты более ранней стадии (II). Кроме того, часть гонады созревала по самцовому типу – в поле зрения находилась группа семенных ампул, заполненных сперматоцитами I и II порядка, что соответствует III ранней стадии. Длина АС этой рыбы 300 мм, масса – 320 г.

Диплоидные рыбы. Данные по половому составу, стадии зрелости гонад, длине и массе изученных рыб приведены в табл. 1.

Самки различались по стадии зрелости гонад. Часть их созрела (гонады самок находились на V стадии), одна из них имела стадию зрелости IV. Абсолютная плодовитость составила 249–566, в среднем 396 икринок. Их масса варьировала в пределах от 0,102 до 0,115, в среднем 0,108 г. Масса икринок у самок-производителей из р. Кереть, от которых происходили исследуемые особи, оказалась больше – от 0,123 до 0,172, в среднем 0,146 г.

У остальных самок стадия зрелости при вскрытии определена как III. Гистологический анализ гонад четырех особей показал, что они находились на III поздней стадии, у одной рыбы выявлены разрушающиеся ооциты

III ранней стадии. У некоторых самок созревали только отдельные ооциты.

Что касается диплоидных самцов, то гонады одного из них находились на III стадии зрелости (по результатам гистологического анализа – III ранней); левая гонада этой рыбы оказалась сильно укороченной. У остальных изученных диплоидных самцов была текучая сперма (визуально стадию зрелости определили как V). Отмечена одна диплоидная рыба с семенниками, разделенными на лопасти, и сросшимися у анального отверстия. Гистологический анализ гонад трех самцов данной группы показал, что у одной из рыб они находятся на V стадии зрелости, у другой – на V–VI стадии, а у третьей – на VI стадии. В просветах семенных ампул у всех трех особей наблюдалась многочисленные остаточные сперматозоиды.

Триплоидные рыбы. Часть триплоидных самцов не созревала; визуально стадия зрелости гонад этих рыб определена у одних как I, у других – как II. Гистологический анализ подтвердил оценки, сделанные первоначально (табл. 2). Окраска всех изученных рыб этой группы – серебристая (рис. 3).

Гонады остальных триплоидных самцов по визуальным оценкам имели VI стадию зре-

Таблица 2
Пол, стадия зрелости, длина и масса триплоидных рыб

Пол	Стадия зрелости	<i>N</i> (в скобках – число особей, для которых выполнен гистологический анализ)	Средняя длина, АС, мм (в скобках – пределы колебаний)	Средняя масса, г (в скобках – пределы колебаний)
Самцы	I, II	5 (5)	243,2 (224–265)	137,0 (105–190)
	VI	6 (3)	244,7 (208–277)	148,3 (95–220)
Интерсексы	См. текст	3 (3)	262,7 (227–300)	188,3 (115–305)



Рис. 3. Триплоидный самец горбуши, стадия зрелости II



Рис. 4. Триплоидный самец горбуши, стадия зрелости VI

ти, у одной из рыб они были с перетяжками. Все рыбы данной группы имели явные внешние признаки подготовки к нересту – желтоватую окраску, “крюк” на челюсти (рис. 4).

Самок среди триплоидов не обнаружено. Обе рыбы, определенные при вскрытии как самки с гонадами II стадии зрелости, оказались интерсексами. Гистологический анализ показал, что их гонады выглядят как гонады самцов на III ранней стадии зрелости, но они имеют вкрапления ооцитов, которые также находятся на III ранней стадии. Кроме того, еще один интерсекс выявлен при гистологическом анализе среди рыб, визуально определенных как самцы с гонадами II стадии зрелости (рис. 5).

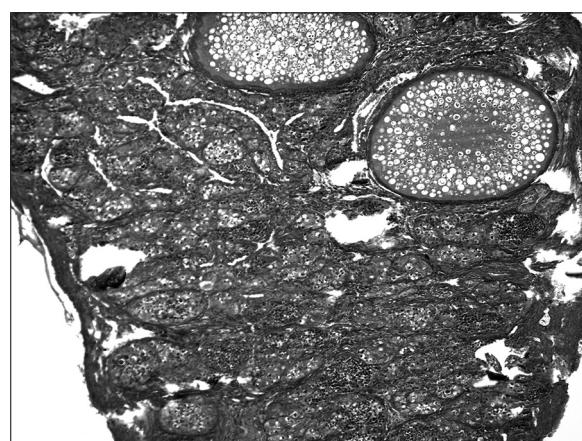


Рис. 5. Гонады триплоидной горбуши – интерсекса

ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности созревания диплоидной горбуши в садках. Следует отметить, что диплоидные рыбы, выращенные в садках, оказываются значительно мельче горбуши, нагуливающейся в море. Самцы “нечетной” линии горбуши, находящие на нерест в р. Кереть, имеют массу 660–2850 (в среднем 1601,0) г и длину (АС) 380–595 (в среднем 493,0) мм. Самки этой группы обладают массой 660–2200 (в среднем 1317,4) г и длиной (АС) 395–550 (в среднем 471,1) мм (В. С. Артамонова, Д. К. Дирин, Д. Л. Лайус, А. А. Махров, З. Н. Юдина, неопубл. данные).

Это можно объяснить тем, что данную партию рыб в течение первых полутора лет выращивали в небольших бассейнах (2×2 м) с пресной водой, в то время как в естественных условиях беломорская горбуша “нечетной” линии уходит на нагул в море уже в первый год жизни, во второй половине мая или в середине июня [Веселов и др., 2016].

В момент исследования, в начале октября 2015 г., гонады некоторых самок-диплоидов, потомков горбуши, происходящей из р. Кереть, находились на III и IV стадиях зрелости, в то время как нерест производителей, находящихся в эту беломорскую реку, к началу октября уже полностью закончился.

Факт задержки созревания самок горбуши при выращивании в садках отмечен и в литературе. Одна самка с явной задержкой развития гонад обнаружена среди двухлеток горбуши в садках, установленных в губе Кислая на Кольском полуострове [Оганесян, Колечкин, 1995]. Позже, в феврале – марте следующего года, среди рыб, которые происходили из той же партии горбуши, не погибли в садках в двухлетнем возрасте и были оставлены на зимовку, выявлены созревшие самки [Анохина, 1999].

Аналогичные данные имеются и для самок горбуши, выращиваемых в бассейнах – их созревание может произойти в более позднее время или даже на следующий год [Персов и др., 1966; Kwain, 1982; Сакун, Персов, 1984; Benfey et al., 1989; личн. сообщ. А. Н. Баланиной и А. Н. Ульянова, Умбский рыболоводный завод].

Неоднократно наблюдали задержку созревания и у самцов горбуши. Так, например,

созревающий самец 2+ пойман в озере, в которое за два года до этого выпускалась молодь этого вида [Бакштанский, 1962].

Созревающие трехлетки горбуши изредка встречаются и в естественных популяциях [Heard, 1991]. В значительном количестве они выявлены в искусственно созданной популяции горбуши оз. Верхнего в Северной Америке [Wagner, Stauffer, 1980; Nicolette, 1984].

К особенностям созревания диплоидных самок горбуши в садках следует отнести и то, что средняя масса икринки у созревших рыб примерно на 25 % меньше, чем у производителей, от которых они получены. Кроме того, абсолютная плодовитость горбуши, выращенной в садках (в среднем 396 икринок), оказалась существенно меньше, чем горбуши родительского поколения: рабочая плодовитость самок-производителей колебалась в пределах от 450 до 800 икринок, а абсолютная плодовитость рыбы, пойманной вблизи устья р. Кереть, по данным работы [Зеленников, Кузнецова, 2003], составляет от 1230 до 2283 икринок, в среднем 1833 шт.

Отметим, что свойственные небольшим самкам горбуши особенности – задержка созревания, пониженная плодовитость и мелкая икра типичны и для небольших производителей лососевых рыб других видов, в частности, для атлантического лосося [Махров и др., 2013].

Половой состав и созревание триплоидов. Среди триплоидов горбуши выявлены только самцы и интерсексы. В работе [Benfey et al., 1989] упоминаются триплоидные самки горбуши, но гистологическое исследование гонад этих рыб не проводили, поэтому не исключено, что они также являлись интерсексами. Это тем более вероятно, что исследование, проведенное на другом виде лососевых, радужной форели (*Parasalmo mykiss*), показало, что с возрастом в гонадах большинства триплоидных самок появляются обширные участки, где происходит сперматогенез [Carrasco et al., 1998], хотя природа этого явления пока неясна. Преимущественно или исключительно самцами представлены также триплоидные гибриды, которых получали при скрещивании некоторых форм рыб [Lamatsch et al., 2010; Pandian, 2012] и амфибий [Межжерин и др., 2010; Pruvost et al., 2015]. Это явление также пока не нашло своего объяснения.

В эксперименте триплоидные самцы горбуши представлены либо особями, гонады которых не развивались (I или II стадия зрелости), либо рыбами, которые по внешним признакам практически не отличались от диплоидных самцов. Последнее согласуется с данными работы [Benfey et al., 1989], в которой отмечено, что триплоидные самцы горбуши созревают, и у них развивается так называемый “брачный наряд”.

Однако, несмотря на внешнее сходство с диплоидами, триплоидные самцы горбуши продуцируют, по-видимому, неполноценную сперму и потому не способны оставить потомство; во всяком случае, это справедливо для лососевых рыб других видов [Артамонова, Махров, 2015]. В то же время триплоидные самцы атлантического лосося (*Salmo salar*) и симы (*Oncorhynchus masou*) способны участвовать в нересте [Kitamura et al., 1991; Fjelldal et al., 2014], а это означает, что самцы-триплоиды горбуши с развитыми гонадами, судя по всему, могут при необходимости использоваться для подавления размножения горбуши. Вопрос о возможности последующего развития гонад у тех самцов, которые в нашем эксперименте не созревали, остается открытым, как остается неизвестным и то, какого возраста и размера могут достигать подобные рыбы.

Тем не менее, как показывает наш эксперимент, триплоиды горбуши нецелесообразны для аквакультуры, поскольку они представлены только самцами и интерсексами, и при этом большая часть самцов в период нереста диплоидов претерпевает физиологическую и морфологическую перестройку, после которой рыбы становятся нежизнеспособными. Выращивание других триплоидных лососевых, в частности, радужной форели, выгодно, когда стоит задача получения крупной товарной рыбы [Артамонова, Махров, 2015].

Интерсексы и механизмы определения пола у горбуши. Среди триплоидов обнаружено три интерсекса, один выявлен среди рыб, которых не удалось уверенно отнести ни к диплоидам, ни к триплоидам (возможно, это диплоидно-триплоидный мозаик или особь с числом хромосом, промежуточным между диплоидным и триплоидным).

Среди производителей горбуши, идущих на нерест в реки бассейна Тихого океана, интерсексы не описаны [Иванова, 1956; Иевлева, 1968; Дроздов и др., 1981; Смирнов и др., 2011]. При этом известно, что у всех личинок данного вида первоначально формируются яичники, и только в возрасте 30–123 дней после вылупления из икры у самцов происходит передифференцировка яичников в семенники [Персов, 1965].

Однако единичные ооциты отмечены в семенниках двух самцов горбуши, выращиваемых в садках на Белом море в ходе эксперимента, проводимого ПИНРО [Оганесян, 1979]. Подобные интерсексы обнаружены также среди диких производителей горбуши в р. Рында на Кольском полуострове [Карачун, 1982].

С другой стороны, в популяциях горбуши не раз выявляли триплоидов, а также диплоидно-триплоидных мозаиков [Utter et al., 1983; Черненко, 1991; Miller et al., 1994], поэтому не исключено, что описанные в литературе интерсексы горбуши диплоидами не являлись.

Достаточно регулярное появление интерсексов у горбуши за пределами ее естественного ареала и при выращивании в искусственных условиях теоретически можно было бы объяснить влиянием неких факторов среды на экспрессию полоспецифичных генов горбуши. Однако то, что такие особи достаточно массово появились среди триплоидных рыб при полном отсутствии среди них самок, говорит скорее об особенностях механизма определения пола у данного вида.

Наблюдавшееся в проведенном эксперименте соотношение полов у триплоидов возможно только в том случае, если пол горбуши определяется мультикопийными генами, кодирующими факторы, которые способствуют превращению особи в самца. При этом подобные гены должны присутствовать не только в Y-хромосоме горбуши, но также и в ее X-хромосоме, хотя и в меньшем количестве [Махров и др., 2018]. При этих условиях экспрессия полоспецифичных генов трех X-хромосом может приводить к такой концентрации их продуктов, которой окажется достаточно для частичного или полного переопределения пола триплоида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди триплоидов горбуши выявлены только самцы и интерсексы. Это позволило выдвинуть гипотезу о механизмах определения пола у данного вида лососевых, согласно которой гены, кодирующие факторы, способствующие превращению особи в самца, имеются не только в Y-, но и в X-хромосоме, хотя и в меньшем количестве. Показано, что использование триплоидных самцов и интерсексов в аквакультуре нецелесообразно, но для окончательной оценки перспектив практического использования триплоидов горбуши необходимо получить самок-триплоидов путем гормонального переопределения пола рыб и исследовать их биологические и репродуктивные характеристики. Такой эксперимент будет способствовать также дальнейшему раскрытию механизмов определения пола у горбуши.

Авторы признательны В. Е. Гилеппу, А. Г. Лайдинену и А. Д. Позину за помочь в организации эксперимента, и Е. Д. Павлову за помочь в проведении гистологического анализа. Выполнение работы поддержано грантом Российского научного фонда (№ 16-14-10001).

ЛИТЕРАТУРА

- Анохина В. С. Использование в марккультуре производителей горбуши из рек Кольского полуострова // Рыбхоз. исследования Мирового океана: тр. Междунар. науч. конф. 27–29 сентября 1999 г. Владивосток, 1999. Т. 2. С. 96–98.
- Артамонова В. С., Махров А. А. Генетические методы в лососеводстве и форелеводстве: от традиционной селекции до нанобиотехнологий. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2015. 128 с.
- Бакштанский Э. Л. Горбуша в озере // Науч.-техн. бюл. ПИНРО. 1962. № 4. С. 46–47.
- Брыков Вл. А., Кухлевский А. Д., Подлесных А. В. Неполное соответствие морфо-биологических признаков и молекулярных маркеров пола у тихоокеанских лососей. I. Анализ несоответствия у пяти видов рода *Oncorhynchus* // Генетика. 2010а. Т. 46, № 7. С. 974–980.
- Брыков Вл. А., Кухлевский А. Д., Подлесных А. В. Неполное соответствие морфо-биологических признаков и молекулярных маркеров пола в популяциях тихоокеанских лососей. II. Популяционная и временная вариабельность феномена // Там же. 2010б. Т. 46, № 11. С. 1533–1543.
- Веселов А. Е., Павлов Д. С., Барышев И. А., Ефремов Д. А., Потуткин А. Г., Ручьев М. А. Полиморфизм покатной молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в реке Индера (Кольский полуостров) // Вопр. ихтиологии. 2016. Т. 56, № 5. С. 571–576.
- Гомельский Б. И., Грунина А. С. Искусственная полипloidия у рыб и возможности ее использования в рыбоводстве // Рыбное хозяйство. Обзорная информация. Сер. Рыбохозяйственное использование внутренних водоемов. 1988. Вып. 1. 54 с.
- Дроздов А. Л., Колотухина Н. К., Максимович А. А. Особенности гистологического строения семенников и ultraструктура сперматозоидов горбуши // Биология моря. 1981. Вып. 1. С. 49–53.
- Зелеников О. В., Кузнецова Н. В. К вопросу о плодовитости горбуши, интродуцированной в бассейне Белого моря // IV науч. сессия Мор. биол. станции СПбГУ. 6 февраля 2003 г.: тез. докл. СПб., 2003. С. 28–29.
- Зелинский Ю. П., Махров А. А. Гомологические ряды по числу хромосом и перестройки генома в филогенезе лососевидных рыб (Salmonoidei) // Генетика. 2002. Т. 38, № 10. С. 1317–1323 [Zelinsky Yu. P., Makhrov A. A. Homological series by chromosome number and the genome rearrangements in the phylogeny of Salmonoidei // Rus. Journ. Genetics. 2002. Vol. 38. P. 1115–1120].
- Зубченко А. В., Беселов А. Е., Калюжин С. М. Горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*): проблемы акклиматизации на Европейском Севере России. Петрозаводск; Мурманск: “Фолиум”, 2004. 82 с.
- Иванова С. А. Гистологическое исследование гонад горбуши и летней кеты // Вопр. ихтиологии. 1956. Вып. 6. С. 96–99.
- Иевлева М. Я. Состояние гонад горбуши на морском этапе нерестовой миграции // Изв. ТИНРО. 1968. Т. 64. С. 53–72.
- Калашникова З. М. Исследование морфологического состава крови рыб // Исследования размножения и развития рыб (метод. пособие). М.: Наука, 1981. С. 110–124.
- Карачун М. И. Сперматогенез горбуши в период нерестового хода в реках Кольского полуострова // Морфо-физиологические аспекты изучения рыб и беспозвоночных Баренцева моря. Апатиты, 1982. С. 7–10.
- Махров А. А., Артамонова В. С., Колмакова О. В., Пономарева М. В. Модель определения пола горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) (Salmonidae, Osteichthyes) под действием многокопийных генов, локализованных в половых хромосомах // ДАН. 2018. Т. 478, № 3.
- Махров А. А., Карабанов Д. П., Кодухова Ю. В. Генетические методы борьбы с чужеродными видами // Рос. журн. биол. инвазий. 2014. № 2. С. 110–126 [Makhrov A. A., Karabanov D. P., Koduhova Yu. V. Genetic methods for the control of alien species // Rus. Journ. Biol. Invasions. 2014. Vol. 5, N 3. P. 194–202].
- Махров А. А., Пономарева М. В., Хаймина О. В., Гилепп В. Е., Ефимова О. В., Нечаева Т. А., Василенкова Т. И. Нарушение развития гонад карликовых самок и пониженная выживаемость их потомства как причины редкости жилых популяций атлантического лосося (*Salmo salar* L.) // Онтогенез. 2013. Т. 44, № 6. С. 423–433 [Makhrov A. A., Ponomareva M. V., Khaimina O. V., Gilepp V. E., Efimova O. V., Nechaeva T. A., Vasilenkova T. I. Abnormal development of gonads of dwarf females and low survival of their offspring as the cause of rarity of resident populations

- of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) // Rus. Journ. Developmental Biol. 2013. Vol. 44. P. 326–335].
- Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю., Ростовская О. В., Шабанов Д. А., Соболенко Л. Ю. Плоидность и генетическая структура гибридных популяций водных лягушек *Pelophylax esculentus* (L., 1758) complex (Amphibia, Ranidae) Украины // Цитология и генетика. 2010. № 4. С. 23–28.
- Мурза И. Г., Христофоров О. Л. Определение степени зрелости гонад и прогнозирование возраста достижения половой зрелости у атлантического лосося и кумжи (метод. указания). Л.: ГосНИОРХ; Физиол. НИИ ЛГУ, 1991. 102 с.
- Оганесян С. А. Развитие половых желез у горбуши в условиях садкового выращивания // Экологическая физиология и биохимия рыб: тез. докл. IV Всесоюзн. конф. (Астрахань, сентябрь 1979 г.). Астрахань, 1979. Т. 2. С. 147–148.
- Оганесян С. А., Колечкин Ю. В. Характеристика последних фаз гаметогенеза у горбуши, содержащейся в морских садках // Проблемы товарного выращивания лососевых рыб России: сб. докл. Всерос. совещ. 1–4 августа 1995 г. г. Мурманск. Мурманск, 1995. С. 88–90.
- Персов Г. М. Передифференцировка гонад у горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum) как норма разви-тия // Науч. докл. высш. шк. Биол. науки. 1965. № 1. С. 26–30.
- Персов Г. М., Сакун О. Ф., Кудряшева Е. Н., Романенко А. С., Зaborщиков А. П., Чистова М. Н. Развитие половых желез у горбуши при исключении морского периода жизни // Мат-лы сессии Ученого совета ПИНРО по результатам исследований в 1964 г. Мурманск, 1966. Вып. 6. С. 196–202.
- Роскин Г. И. Микроскопическая техника. М.: Сов. наука, 1951. 478 с.
- Ромей Б. Микроскопическая техника. М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1953. 719 с.
- Сакун О. Ф., Персов Г. М. Созревание самок горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*) при полном исключении морского периода жизни в лабораторных условиях // Биология проходных рыб Дальнего Востока. Владивосток, 1984. С. 53–56.
- Смирнов Б. П., Микодина Е. В., Пьянкова С. В., Ганжа Е. В., Павлов Е. Д., Точилина Т. Г. Морфология гонад и структура половых клеток половозрелых самцов горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) разного возраста и размера // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. 2011. Вып. 5. С. 494–500.
- Фролов С. В. Изменчивость и эволюция кариотипов лососевых рыб. Владивосток: Дальнаука, 2000. 229 с.
- Черешнев И. А., Кириллов А. Ф. Рыбообразные и рыбы морских и пресных вод бассейнов морей Лаптевых и Восточно-Сибирского // Вестн. СНВЦ ДВО РАН. 2007. № 2. С. 95–106.
- Черненко Е. В. Индуциция триплоидии у тихоокеанских лососей (Salmonidae) // Вопр. ихтиологии. 1985. Т. 25, вып. 4. С. 561–567.
- Черненко Е. В. Кариологические аномалии у эмбрионов горбуши // Биология моря. 1991. № 1. С. 46–52.
- Babaluk J. A., Reist J. D., Johnson J. D., Johnson L. First records of Sockeye (*Oncorhynchus nerka*) and Pink Salmon (*O. gorbuscha*) from Banks Island and other records of Pacific Salmon in Northwest Territories, Canada // Arctic. 2000. Vol. 53, N 2. P. 161–164.
- Benfey T. J. The physiology and behaviour of triploid fishes // Rev. Fish. Sci. 1999. Vol. 7. P. 39–67.
- Benfey T. J., Dye H. M., Solar I. I., Donaldson E. M. The growth and reproductive endocrinology of adult triploid Pacific salmonids // Fish Physiol. Biochem. 1989. Vol. 6, N 2. P. 113–120.
- Benfey T. J., Sutterlin A. M., Thompson R. J. Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids // Can. Journ. Fish. Aquat. Sci. 1984. Vol. 41. P. 980–984.
- Brunelli J. P., Thorgaard G. H. A new Y-chromosome-specific marker for Pacific salmon // Trans. Am. Fish. Soc. 2004. Vol. 133. P. 1247–1253.
- Carrasco L. A. P., Doroshov S., Penman D. J., Bromage N. Long-term, quantitative analysis of gametogenesis in autotriploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // J. Reprod. Fertil. 1998. Vol. 113. P. 197–210.
- Devlin R. H., Biagi C. A., Smailus D. E. Genetic mapping of Y-chromosomal DNA markers in Pacific salmon // Genetica. 2001. Vol. 111. P. 43–58.
- Dorofeyeva Ye. A., Alekseyev A. P., Zelennikov O. V., Ivanova T. S. Acclimatization of Far Eastern pink salmon in the White Sea: Results and perspectives // Proc. Zool. Institute RAS. 2004. Vol. 300. P. 53–62.
- Fjelldal P. G., Wennevik V., Fleming I. A., Hansen T., Glover K. A. Triploid (sterile) farmed Atlantic salmon males attempt to spawn with wild females // Aquacult. Environ. Interact. 2014. Vol. 5. P. 155–162.
- Gharrett A. J., Smoker W. W. Two generations of hybrids between even-and odd-year pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*): A test for outbreeding depression? // Can. Journ. Fish. Aquat. Sci. 1991. Vol. 48, N 9. P. 1744–1749.
- Gharrett A. J., Smoker W. W., Reisenbichler R. R., Taylor S. G. Outbreeding depression in hybrids between odd and even-broodyear pink salmon // Aquaculture. 1999. Vol. 173, N 1–4. P. 117–129.
- Heard W. R. Life history of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Pacific salmon life histories / ed. C. Groot, L. Margolis. Vancouver: UBC Press, 1991. P. 119–230.
- Hesthagen T., Sandlund O. T. Non-native freshwater fishes in Norway: History, consequences and perspectives // J. Fish Biol. 2007. Vol. 71, suppl. D. P. 173–183.
- Heule C., Salzburger W., Böhne A. Genetics of sexual development: An evolutionary playground for fish // Genetics. 2014. Vol. 196. P. 579–591.
- Ivanova T. S., Ivanov M. V., Golovin P. V., Polyakova N. V., Lajus D. L. The White sea threespine stickleback population: Spawning habitats, mortality, and abundance // Evolutionary Ecol. Res. 2016. Vol. 17. P. 301–315.
- Joyce J. E., Heintz W., Smoker W. W., Gharrett A. J. Survival to fry and seawater tolerance of diploid and triploid hybrids between chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), chum (*O. keta*), and pink salmon (*O. gorbuscha*) // Can. Journ. Fish. Aquat. Sci. 1994. Vol. 51, suppl. 1. P. 25–30.
- Kitamura S., Ogata H., Onozato H. Triploid male masu salmon *Oncorhynchus masou* shows normal courtship behavior // Nippon Suisan Gakkaishi. 1991. Vol. 57. P. 2157.
- Kwain W.-H. Spawning behavior and early life history of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in the Great Lakes // Can. Journ. Fish. Aquat. Sci. 1982. Vol. 39. P. 1353–1360.

- Lamatsch D. K., Stöck M., Fuchs R., Döbler M., Wacker R., Parzefall J., Schlupp I., Schartl M. Morphology, testes development and behaviour of unusual triploid males in microchromosome-carrying clones of *Poecilia formosa* // J. Fish Biology. 2010. Vol. 77. P. 1459–1487.
- Makhrov A. A. A narrowing of the phenotypic diversity range after large rearrangements of the karyotype in Salmonidae: The relationship between saltational genome rearrangements and gradual adaptive evolution // Genes. 2017. Vol. 8. P. 297.
- Miller G. D., Seeb J. E., Bue B. G., Sharr S. Saltwater exposure at fertilization induces ploidy alterations, including mosaicism, in salmonids // Can. Journ. Fish. Aquat. Sci. 1994. Vol. 51, suppl. 1. P. 42–49.
- Nicolette J. P. A 3-year-old pink salmon in an odd-year run in Lake Superior // North Am. Journ. Fish. Management. 1984. Vol. 4. P. 130–132.
- Pandian T. J. Sex Determination in Fish. Boca Raton: CRC Press, 2012. 282 p.
- Phillips R. B. Evolution of the sex chromosomes in salmonid fishes // Cytogenet. Genome Res. 2013. Vol. 141. P. 177–185.
- Phillips R. B., DeKoning J., Morasch M. R., Park L. K., Devlin R. H. Identification of the sex chromosome pair in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Ibid. 2007. Vol. 116. P. 298–304.
- Phillips R., Rab P. Chromosome evolution in Salmonidae (Pisces): An update // Biol. Rev. 2001. Vol. 76. P. 1–25.
- Pruvost N. B. M., Mikuliček P., Choleva L., Reyer H.-U. Contrasting reproductive strategies of triploid hybrid males in vertebrate mating systems // J. Evol. Biol. 2015. Vol. 28. P. 189–204.
- Teplitz R. L., Joyce J. E., Doroshov S. I., Min B. H. A preliminary ploidy analysis of diploid and triploid salmonids // Can. Journ. Fish. Aquat. Sci. 1994. Vol. 51, suppl. 1. P. 38–41.
- Thresher R., Hayes K., Bax N. J., Teem J., Benfey T. J., Gould F. Genetic control of invasive fish: Technological options and its role in integrated pest management // Biol. Invasions. 2014. Vol. 16. P. 1201–1216.
- Utter F. M., Johnson O. W., Thorgaard G. H., Rabinovich P. S. Measurement and potential applications of induced triploidy in Pacific salmon // Aquaculture. 1983. Vol. 35. P. 125–135.
- Wagner W. C., Stauffer T. M. Three-year-old Pink Salmon in Lake Superior Tributaries // Transact. Am. Fish. Soc. 1980. Vol. 109, N 4. P. 458–460.
- Witkowski A., Głowiński P. A record of Pink Salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Actinopterygii, Salmoniformes, Salmonidae), in the Revelva river, Hornsund area (SW Spitsbergen) // Acta Ichthyol. et Piscatoria. 2010. Vol. 40, N 1. P. 87–89.

Gonadal Development of Diploid and Triploid Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) from the White Sea

V. S. ARTAMONOVA^{1,2}, M. V. PONOMAREVA³, V. V. IGNATENKO⁴, A. A. MAKHROV^{1,2}

¹ Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS
119071, Moscow, Leninsky ave., 33
E-mail: valar99@mail.ru

² Institute of Biophysics of Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of SB RAS”
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/50

³ Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology
119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1-12

⁴ Vyigskiy Fish Hatchery
186530, Karelia, Belomorsky region, Sosnovetz

Delayed maturation was observed in some diploid females reared in farming cages. Only males (fully mature and failing to mature) and intersexes were found among triploids. In this connection possible mechanisms of genetic sex determination in pink salmon as well as the possibility of using triploids for regulation of sizes of artificial pink salmon populations are discussed. A conclusion that use of triploids of pink salmon in aquaculture is inefficient has been made.

Key words: maturation, intersexes, sex, triploid, gonads, pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*.

Игорь Юрьевич Коропачинский (к 90-летию со дня рождения)

16 марта 2018 г. исполнилось 90 лет со дня рождения старейшего сотрудника Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, Заслуженного ветерана Сибирского отделения РАН, академика РАН **Игоря Юрьевича Коропачинского**.

Академик Коропачинский – известный в стране и за рубежом ученый, специалист в области дендрологии и экологии, внесший значительный вклад в изучение растительного мира Сибири и Дальнего Востока России. Он является автором и соавтором более 150 научных публикаций, в том числе 30 монографий.

Основным направлением научных исследований И. Ю. Коропачинского является изучение географии и изменчивости видов арборифлоры Сибири, особенно в связи с их естественной гибридизацией. Им впервые выявлены и изучены обширные районы гибридизации основных лесообразующих пород. Эти работы имеют как теоретическое, так и практическое значение для разработки порайонной системы организации лесного хозяйства. И. Ю. Коропачинским развивается популяционный подход в изучении внутривидовой изменчивости древесных растений. Значительное место в его научной деятельности занимает сравнительное изучение роста и развития древесных растений различных ботанико-географических областей в культуре.

И. Ю. Коропачинский трудится в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН более 48 лет, с 1983 по 2000 г. занимал должность директора Института, в настоящее время – советник РАН.

Возглавляя работу коллектива сотрудников лаборатории дендрологии, он большое внимание уделял работам, связанным с изучением экологии, адаптации и устойчивости растений, проблемам сохранения биоразнообразия, вопросам систематики отдельных таксонов. Под его руководством и при непосредственном участии исследован целый ряд родов и видов древесных растений на обширных территориях Сибири и Дальнего Востока. Созданные под руководством И. Ю. Коропачинского интродукционные коллекции древесных растений в городах Красноярске и

Новосибирске являются национальным достоянием и будут многие годы служить базой для проведения научных экспериментов, источником видов и форм для широкого внедрения в садово-парковое строительство, озеленение, защитное лесоразведение.

И. Ю. Коропачинский создал научную школу ботаников-дендрологов. Среди его учеников – 15 кандидатов и три доктора наук. Многие его ученики работают в Российской академии наук и различных вузах Сибири.

Научную работу Игорь Юрьевич успешно сочетает с научно-организационной деятельностью. Как член учёного совета ЦСБС СО РАН он участвует в разработке научных программ и проектов, а также многие годы является членом специализированного совета по защите докторских диссертаций при ЦСБС СО РАН, с 1983 по 2013 г. занимал пост председателя этого совета.

По инициативе и при непосредственном участии И. Ю. Коропачинского был создан “Сибирский экологический журнал”, где он много лет являлся главным редактором, подняв это научное издание на высокий международный уровень – журнал реферируется в авторитетной библиографической базе Web of Science. Академик Коропачинский входит в состав редакционных коллегий журналов “Растительный мир Азиатской России” и “Сибирский лесной журнал”.

И. Ю. Коропачинский – член Международного совета ботанических садов по охране растений (BGCI) и Совета ботанических садов Сибири и Дальнего Востока, который он возглавлял более 20 лет.

За выдающиеся заслуги и многолетний труд на благо России награжден орденом “Знак Почета” (1986), медалями “За доблестный труд в Великой Отечественной войне 1941–1945 гг.” (1946), “За доблестный труд. В ознаменование 100-летия со дня рождения В. И. Ленина” (1979), “Ветеран труда” (1985), Золотой медалью ВДНХ (1985), Почетными грамотами РАН и СО РАН, почетными знаками СО РАН “Серебряная Сигма” и “Золотая Сигма”.

Редколлегия