

УДК 575.1

ОДНОПОЛО-МУЖСКОЙ СОСТАВ ГИНОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТОМСТВА СЕВРЮГИ *ACIPENSER STELLATUS* (PISCES, ACIPENSERIDAE)

© 2008 г. О. А. Бадртдинов, К. В. Ковалев, Е. Б. Лебедева, Е. Д. Васильева, А. В. Рекубратский, А. С. Грунина, М. С. Чебанов, В. П. Васильев

Представлено академиком Д.В. Павловым 23.05.2008 г.

Поступило 03.06.2008 г.

Среди позвоночных животных рыбы обладают наиболее лабильными и разнообразными механизмами определения пола. Условно можно выделить три категории таких механизмов. 1. Механизмы, которые обеспечивают определение пола в зависимости от температуры среды. 2. Механизмы, обеспечивающие в норме синхронный или последовательный гермафродитизм. 3. Половые хромосомы, причем у рыб встречаются как XX/XY-, так и ZZ/ZW-системы с преобладанием первой. В настоящее время существует несколько способов выявления механизмов определения пола у рыб: изучение кариотипов, включая синаптемальные комплексы, при этом цитологически дифференцированные половые хромосомы обнаружены только у 10% изученных видов [1, 2]; гормональная инверсия пола с последующими скрещиваниями и анализом соотношения полов в потомствах; получение мейотического гиногенетического потомства и анализ соотношения полов.

Кроме общебиологического значения выяснение механизмов определения пола и половой дифференциации у рыб представляет также и практический интерес. Это связано с тем, что половой диморфизм по скорости роста – обычное явление у рыб. Кроме этого, выращивание некоторых видов, прежде всего осетровых, связано с получением

ем пищевой икры. В связи с этим разработка технологий управления полом, которые основываются на знаниях о механизмах определения пола у рыб, имеет немаловажное значение. В настоящей работе представлены результаты исследования механизмов определения пола у севрюги *A. stellatus* с помощью индуцированного мейотического гиногенеза.

Для получения гиногенетического потомства севрюги использовали смесь икры от трех самок и сперму персидского осетра (*A. persicus*). Инактивацию генетического аппарата спермиев осуществляли с помощью коротковолнового ультрафиолетового излучения (УФ-лампа, 15 Вт, расстояние от лампы до спермы 42 см) с экспозицией 5 мин. Для получения мейотического гиногенеза применяли тепловой шок в двух режимах: 35°C в течение 2 мин и 36°C также в течение 2 мин. В обоих случаях шок начинали через $0.3\tau_0$ после осеменения [3]. Часть гиногенетических зародышей теплового току не подвергали и использовали в качестве гаплоидного контроля (контроль инактивации спермы). Диплоидным контролем служило обычное скрещивание без инактивации спермы. Полученное экспериментальное потомство выращивали на Адыгейском осетровом рыбободном заводе в течение шести месяцев (до возраста, когда пол можно определить визуально по строению гонад). Результаты эксперимента приведены в табл. 1.

Поскольку севрюга и персидский осетр морфологически хорошо различаются, то для контроля индуцированного гиногенеза (т.е. полноты инактивации мужских хромосом) достаточно использовать набор морфологических признаков, диагностирующих эти виды. Сравнительный анализ экспериментального гиногенетического потомства севрюги и сходной по возрасту и/или размерам молоди родительских видов, выращенной в сходных условиях, по разработанной для дифференциации видов системе морфометрических индексов и строению жаберных тычинок [4, 5] убедительно показывает, что экспериментальное потомство не является гибридным (табл. 2, рис. 1). Форма

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова

Российской Академии наук, Москва

Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства,

Рыбное Московское обл.

Научно-исследовательский зоологический музей

Московского государственного университета

им. М.В. Ломоносова, Москва

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова

Российской Академии наук, Москва

Южный филиал Федерального селекционно-

генетического центра рыбоводства, Краснодар

Таблица 1. Результаты экспериментов

Вид скрещивания	Температура шока, °С	Начальное число эмбрионов	Число выживших экз. на разных стадиях развития				Пол
			гастроула	нейрула	выклев	возраст 6 мес.	
Севрюга × (персидский осетр), опыт	36	1113	1037	963	578	Н.в.	Все самцы
Севрюга × (персидский осетр), опыт	35	1171	1093	1007	603	75	
Севрюга × (персидский осетр), гаплоидный контроль	–	309	309	289	0	0	
Севрюга × персидский осетр, диплоидный контроль	–	295	295	271	233	Н. в.	

Примечание. Скобки в графе “Вид скрещивания” указывают на облучение спермы. Прочерк в графе “Температура шока” означает, что эмбрионы не подвергались температурному шоку. Н. в. – не выращивали.

жаберных тычинок экспериментального потомства полностью идентична таковой обычной севрюги: тонкие, относительно удлиненные, палочковидные (рис. 1а), совершенно не похожие на короткие, широкие, уплощенные в боковой плоскости жаберные тычинки персидского осетра (рис. 1б). По всем морфометрическим индексам потомство, полученное в результате индукции гиногенеза, достоверно не отличается от особей севрюги из контроля и не обнаруживает какого-либо “сдвига” в сторону значений, характерных для персидского осетра (табл. 2).

До возраста шесть месяцев удалось вырастить 75 экз. гиногенетических рыб. Их вскрытие и анализ гонад показали, что все особи являются самцами, тогда как контрольное потомство севрюги было представлено как самками, так и самцами. Этот результат оказался весьма неожиданным. Действительно, если бы севрюга характеризовалась мужской гетерогаметностью (XY) и соответственно женской гомогаметностью (XX), то при мейотическом гиногенезе в потомстве должны быть все самки. При женской гетерогаметности (ZW) и мужской гомогаметности (ZZ) в потомстве должны быть самки и самцы. Их соотношение зависит от частоты кроссинговера между половыми хромосомами (чем больше частота кроссинговера, тем больше доля самок) и жизнеспособности “суперсамок” (WW). Что касается последнего, то во всех известных случаях мейотического гиногенеза у видов рыб с женской гетерогаметностью в потомстве были как самцы, так и самки (см. [2]). Это позволяет полагать, что суперсамки или по меньшей мере часть из них являются жизнеспособными. Здесь можно отметить, что у рыб в отличие от млекопитающих половые хромосомы обычно морфологически неотличимы или весьма сходны, и пол определяется одним или небольшим числом генов [1, 6]. По-видимому, жиз-

неспособность суперсамок обусловлена слабой дифференциацией половых хромосом.

Первые данные о механизмах определения пола у осетрообразных были получены для веслоноса (*Polyodon spathula*, *Polyodontidae*): в мейотическом гиногенетическом потомстве присутствовали только самки, что свидетельствовало о мужской гетерогаметности этого вида [7]. Однако изучение механизмов определения пола у представителей сем. *Acipenseridae* выявило иную картину. В гиногенетическом потомстве четырех самок белого осетра (*A. transmontanus*) соотношение самцов и самок было близким к следующим цифрам: 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 и 1 : 4 [8]. По мнению авторов, эти результаты свидетельствуют о женской гетерогаметности, а большая доля самок в большинстве потомств обусловлена кроссинговером половых хромосом и жизнеспособностью суперсамок. Сходные результаты получены и на тупорылом осетре (*A. brevirostrum*) [9]: в гиногенетическом потомстве одной самки 35% особей были самцами и 65% – самками. Данные по соот-

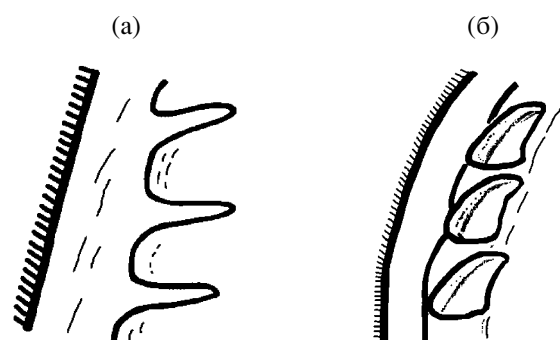


Рис. 1. Форма жаберных тычинок у экспериментального гиногенетического потомства севрюги (а) и одновозрастной молодежи персидского осетра (б).

Таблица 2. Некоторые морфологические характеристики гиногенетических особей севрюги и молоди обычной севрюги *A. stellatus* и персидского осетра *A. persicus* (над чертой – пределы варьирования, под чертой – $M \pm m$)

Параметр	<i>A. stellatus</i> гиногенетические ($n = 21$)	<i>A. stellatus</i> , контроль ($n = 10$)	<i>A. stellatus</i> , молодь ($n = 14$)	<i>A. persicus</i> 6-месячные ($n = 3$)	<i>A. persicus</i> годовалые ($n = 5$)
<i>TL</i> , мм	$\frac{224+ - 368+}{303+}$	$\frac{183-276}{208.3}$	$\frac{335-448}{404.1}$	$\frac{170-188}{178.3}$	$\frac{232.5-306.0}{253.1}$
<i>Mr/D</i>	$\frac{58.2-70.5}{64.2 \pm 0.79}$	$\frac{59.7-70.5}{65.7 \pm 1.16}$	$\frac{63.3-74.0}{68.9 \pm 0.82}$	$\frac{55.9-59.5}{58.2}$	$\frac{55.4-62.5}{57.9}$
<i>Mr/Ri</i>	$\frac{84.1-100.4}{91.1 \pm 1.03}$	$\frac{83.3-97.4}{90.1 \pm 1.35}$	$\frac{85.0-94.1}{89.8 \pm 0.75}$	$\frac{86.2-97.4}{92.0}$	$\frac{72.5-97.7}{85.9}$
<i>Fds/Ri</i>	$\frac{70.2-102.6}{84.2 \pm 2.01}$	$\frac{81.5-98.5}{87.4 \pm 1.78}$	$\frac{61.3-88.8}{68.2 \pm 1.95}$	$\frac{104.3-109.7}{106.9}$	$\frac{90.9-112.1}{103.5}$
<i>Pds/Ri</i>	$\frac{49.3-64.2}{56.4 \pm 1.11}$	$\frac{53.4-64.1}{58.7 \pm 1.15}$	$\frac{43.2-67.9}{49.4 \pm 1.61}$	$\frac{75.3-76.8}{73.8}$	$\frac{68.9-78.3}{74.4}$
<i>W/Ri</i>	$\frac{39.5-54.8}{48.4 \pm 0.99}$	$\frac{45.1-54.8}{49.6 \pm 0.99}$	$\frac{41.3-48.5}{44.3 \pm 0.54}$	$\frac{69.2-74.6}{71.6}$	$\frac{62.0-77.1}{70.8}$
<i>B/Ri</i>	$\frac{49.0-55.9}{52.4 \pm 0.41}$	$\frac{47.0-53.1}{50.0 \pm 0.58}$	$\frac{49.7-57.2}{53.4 \pm 0.56}$	$\frac{27.2-35.4}{30.8}$	$\frac{28.4-32.5}{30.6}$
<i>ao/c</i>	$\frac{50.9-58.3}{54.8 \pm 0.45}$	$\frac{52.4-56.2}{54.5 \pm 0.44}$	$\frac{52.6-59.3}{56.4 \pm 0.46}$	$\frac{41.1-47.5}{44.4}$	$\frac{40.5-43.2}{41.6}$
<i>B/c</i>	$\frac{31.8-37.6}{34.8 \pm 0.37}$	$\frac{31.4-36.8}{34.4 \pm 0.53}$	$\frac{32.8-40.5}{36.9 \pm 0.48}$	$\frac{18.5-21.9}{19.7}$	$\frac{17.3-18.8}{18.3}$

Примечание. Обозначения промеров, использованных для получения индексов (%): *Mr* – длина участка дермокрания, занимаемого комплексом костей rostralia-medialia; *D* – длина dermoscranium от конца рострума до заднего края dermosupraoccipitale; *Ri* – расстояние от вершины рострума до заднего угла infraorbitale accessorium; *Fds* – расстояние от переднего конца frontale до заднего края dermosupraoccipitale; *Pds* – расстояние от переднего конца parietale до заднего края dermosupraoccipitale; *W* – ширина дермокрания на уровне заднего угла infraorbitale accessorium; *B* – расстояние от переднего конца рострума до основания внутренней пары усиков; *ao* – длина рыла; *c* – длина головы; *TL* – общая длина тела рыбы; *n* – число особей. Плюс при числах для *A. stellatus* означает, что реальная длина тела превышает указанные числовые значения из-за обрезки концов хвостового плавника для генетического анализа.

ношению полов в триплоидном (60.0–73.3% самок) и гиногенетическом (70.0–80.0% самок) потомстве бестера (гибрид белуга × стерлядь, *Huso huso* × *A. ruthenus*) рассматриваются как свидетельство в пользу женской гетерогаметности этого гибрида [10].

Таким образом, полученные нами данные по севрюге существенно отличаются от таковых по другим осетровым, а именно, отсутствием в гиногенетическом потомстве самок. В настоящее время для объяснения этих результатов можно сделать ряд предположений. 1. Севрюга обладает женской гетерогаметностью. При этом в результате мейотического гиногенеза образуются только два класса эмбрионов: ZZ (самцы) и WW (самки); эмбрионы ZW (самки) не возникают по причине отсутствия кроссинговера половых хромосом. Это может быть связано с близостью полоопределяющих локусов и центромер в половых хромосомах или с

какими-либо другими причинами. В свою очередь конструкция WW является летальной, в результате чего в гиногенетическом потомстве остаются только самцы. 2. Севрюга характеризуется женской гетерогаметностью с системой половых хромосом Z0, при этом, как и в первом случае, кроссинговер половых хромосом отсутствует. 3. Система определения пола у севрюги более сложная и связана с балансом половых хромосом и аутосом. Нельзя также исключить, что у севрюги и, возможно, других видов осетровых имеет место одновременно и женская, и мужская гетерогаметность. Известные к настоящему времени данные не противоречат этому предположению.

Работа частично финансировалась грантами РФФИ (06–04–48416, 06–04–49637, 07–04–00219, 08–04–12202-офи), Программой фундаментальных исследований РАН “Биологические ресурсы России: Фундаментальные основы рационального ис-

пользования биоресурсов” (№ III.4) и Программой Президиума РАН “Биоразнообразие и динамика генофондов” (подпрограмма “Биоразнообразие” № 6.1.8 и подпрограмма “Динамика генофондов”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Васильев В.П.* Эволюционная кариология рыб. М.: Наука, 1985. 300 с.
2. *Devlin R.H., Nagahama Y.* // *Aquaculture*. 2002. V. 208. P. 191–364.
3. *Рекубратский А.В., Грунина А.С., Барминцев В.А. и др.* // *Онтогенез*. 2003. Т. 32. № 2. С. 121–131.
4. *Vasil'eva E.D.* // *J. Appl. Ichthyol.* 1999. V. 15. № 4/5. P. 32–34.
5. *Vasil'eva E.D.* // *J. Ichthyol.* 2004. V. 44. Suppl. 1. P. 63–72.
6. *Кирпичников В.С.* Генетические основы селекции рыб. Л.: Наука, 1979. 391 с.
7. *Mims S.D., Shelton W.L., Linhart O., Wang C.* // *J. World Aquac. Soc.* 1997. V. 28. P. 334–343.
8. *Van Eenennaam A.L., Van Eenennaam J.P., Medrano J.F., Doroshov S.I.* // *J. Heredity*. 1999. V. 90. P. 231–233.
9. *Flynn S.R., Matsuoka M., Reith M. et al.* // *Aquaculture*. 2006. V. 253. P. 721–727.
10. *Omoto N., Maebayashi M., Adachi Sh. et al.* // *Aquaculture*. 2005. V. 245. P. 39–47.