



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

- (21), (22) Заявка: 2005139936/13, 21.12.2005
- (24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.12.2005
- (43) Дата публикации заявки: 27.06.2007
- (45) Опубликовано: 20.12.2007 Бюл. № 35
- (56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: MIMS S. Aquaculture of paddlefish in the United States, Aquat. Living Resour., 2001, v.14, p.391-398. OМОТО H. et al. Effects of estradiol-17 β and 17 α -methyltestosterone on gonadal sex differentiation in the F₂ hybrid sturgeon, the bester. Fisheries Sciences, 2002, v.68, no.5, p.1047-1054. RU 2262844 C1, 27.10.2005.

Адрес для переписки:
125284, Москва, 1-й Хорошевский пр., 16,
корп.1, кв.18, В.П. Васильеву

- (72) Автор(ы):
Васильев Виктор Павлович (RU),
Васильева Екатерина Денисовна (RU),
Рекубратский Александр Витальевич (RU),
Павлов Дмитрий Сергеевич (RU)
- (73) Патентообладатель(и):
Васильев Виктор Павлович (RU),
Васильева Екатерина Денисовна (RU),
Рекубратский Александр Витальевич (RU),
Павлов Дмитрий Сергеевич (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ОДНОПОЛО-ЖЕНСКОГО ПОТОМСТВА У ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(57) Реферат:
Изобретение относится к геномной инженерии в области рыбоводства. Способ предусматривает индукцию гиногенетического развития эмбриона путем оплодотворения яйцеклеток генетически инактивированной спермой. При этом индукция применяется к яйцеклеткам самок гибридов филогенетически удаленных видов. Такие самки способны продуцировать нередуцированные

диплоидные яйцеклетки, генетически идентичные матери. Способ позволяет создать клонально размножающиеся линии самок осетровых рыб, (однополо-женское потомство) у рыб с любым механизмом определения пола, в том числе и тогда, когда механизм неизвестен. Также способ дает возможность существенно сократить затраты при формировании маточного стада. Изобретение может быть использовано в рыбоводстве.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2005139936/13, 21.12.2005**

(24) Effective date for property rights: **21.12.2005**

(43) Application published: **27.06.2007**

(45) Date of publication: **20.12.2007 Bull. 35**

Mail address:
**125284, Moskva, 1-j Khoroshevskij pr., 16,
korp.1, kv.18, V.P. Vasil'evu**

(72) Inventor(s):
**Vasil'ev Viktor Pavlovich (RU),
Vasil'eva Ekaterina Denisovna (RU),
Rekubratskij Aleksandr Vital'evich (RU),
Pavlov Dmitrij Sergeevich (RU)**

(73) Proprietor(s):
**Vasil'ev Viktor Pavlovich (RU),
Vasil'eva Ekaterina Denisovna (RU),
Rekubratskij Aleksandr Vital'evich (RU),
Pavlov Dmitrij Sergeevich (RU)**

(54) **METHOD FOR OBTAINING UNISEXUAL FEMALE OFFSPRING IN STURGEON FISH**

(57) Abstract:

FIELD: genomic engineering, pisciculture.

SUBSTANCE: the present innovation deals with induction of embryonic gynogenetic development due to inseminating ovicells with genetically inactivated sperm. Moreover, induction should be applied for ovicells of the females in the hybrids of phylogenetically distant species. Such females are able to produce unreduced diploid ovicells which are genetically identical to

maternal ones. The innovation enables to create clonally reproducing female lines of sturgeon fish, (unisexual female offspring) in fish with different mechanisms of sex detection, the case when the mechanism is unknown, among them. Also, it gives the chance to considerably reduce expenses at forming a spawning school.

EFFECT: higher efficiency.

1 ex

RU 2 3 1 2 4 9 5 C 2

RU 2 3 1 2 4 9 5 C 2

Изобретение относится к геномной инженерии в области рыбоводства и, в частности, направлено на решение проблемы регуляции пола у осетровых рыб, продуцентов ценного пищевого продукта - черной икры.

5 В условиях резкого сокращения естественных популяций осетровых рыб современное осетроводство ориентировано в основном на получение икры и потомства с целью их коммерческой реализации. Позднее созревание осетровые рыб (7-15 лет) и невозможность
10 определить пол вплоть до возраста полового созревания влечет за собой непроизводительные затраты выростных площадей, кормов, энергии и труда, т.к. самцы составляют около 50% стада. В связи с этим весьма актуальным является получение однополо-женского потомства у осетровых рыб, позволяющее решить проблему массового производства осетровой икры.

Известны два подхода, с помощью которых можно регулировать пол у рыб: гормональная регуляция и генетическая регуляция (Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 1987, 520 с.). Первый подход заключается в изменении полового состава
15 в потомстве рыб с помощью воздействия на них половыми гормонами. Второй подход включает манипуляции с геномами рыб, в том числе метод индуцированного гиногенеза.

Известен способ получения однополо-женского потомства у осетровых рыб путем гормональной регуляции пола (Omoto H, Maebayashi M., Mitsuhashi E., Yoshitomi K., Adachi Sh., Yamauchi K. Effects of estradiol-17 β and 17 α -methyltestosterone on gonadal sex
20 differentiation in the F₂ hybrid sturgeon, the bester // Fisheries Sciences. 2002. Vol.68. No 5. P.1047-1054). Способ заключается в том, что в определенный период развития на рыб воздействуют женскими половыми гормонами - эстрогенами. Такое воздействие приводит к феминизации самцов, т.е. развитию у них вместо семенников женских половых желез - яичников. В известном способе молоди бестера (гибриды между белугой, *Huso huso* и стерлядью, *Acipenser ruthenus*) скармливали корм, содержащий женский половой
25 гормон эстрадиол. В результате было получено потомство, которое на 95% состояло из самок. Недостатками способа являются: невозможность получения инверсии пола у всех особей; угнетение репродуктивной функции у генотипических самок и возникновение самцов интерсексов (гермафродитов) под воздействием гормонов; кроме того, воздействию необходимо подвергать каждое новое поколение рыб. В связи с этим более перспективным представляется направление генетической регуляции пола.

Наиболее близким аналогом заявленного изобретения является способ получения однополо-женского потомства американского веслоноса, *Polyodon spatula*, относящегося к
35 семейству Веслоносы, отряду Осетрообразные (Mims S. Aquaculture of paddlefish in the United States // Aquat. Living Resour. 2001. Vol 14. P.391-398).

Известный способ включает в себя три этапа: индукцию гиногенетического развития эмбрионов путем оплодотворения яйцеклеток генетически инактивированной спермой, гормональную инверсию пола полученных гиногенетических самок и скрещивание самцов-инверсантов с обычными самками для получения однополо-женского потомства.

40 Индукцию гиногенетического развития эмбрионов у веслоноса проводили с помощью активации яйцеклеток УФ-облученной гетерологичной спермой с последующей диплоидизацией эмбрионов тепловым шоком, который способствовал возвращению второго направительного тельца. Затем гиногенетическим особям в возрасте 20 недель были имплантированы полунепроницаемые капсулы, содержащие метилтестостерон. Все
45 гиногенетические особи, не подвергавшиеся гормональному воздействию, оказались самками. Около 90% генотипических самок были инвертированы в самцов. В настоящее время выращивается потомство от скрещивания самцов-инверсантов с обычными самками. Есть все основания полагать, что это потомство будет состоять только из самок.

50 Данный метод получения однополо-женского потомства может быть реализован только у видов рыб с женской гомогаметностью (в генотипе самки имеются две одинаковые половые хромосомы - XX) и мужской гетерогаметностью (в генотипе самцов имеются две разные половые хромосомы - X и Y).

Механизм получения однополо-женского потомства известным способом заключается в

следующем.

Индукцированный гиногенез - это метод, при котором получают потомство, развитие которого осуществляется только за счет хромосомного набора яйцеклетки. Для исключения из развития мужского набора хромосом сперматозоиды подвергают генетической
5 инактивации с помощью ионизирующего или ультрафиолетового облучения. Облученные сперматозоиды лишь активируют яйцеклетки к развитию, но их хромосомные наборы в развитии гиногенетических зародышей не участвуют.

Гиногенетические зародыши имеют гаплоидный набор хромосом - редуцированное в процессе мейоза количество аутосом и одну X хромосому. Гаплоиды у рыб не могут
10 нормально развиваться и погибают в ходе эмбриогенеза или вскоре после вылупления предличинок. Диплоидизацию гиногенетических гаплоидов проводят с помощью подавления второго деления мейоза, подвергая ранних зародышей температурному шоку, который вызывает объединение гаплоидных хромосомных наборов яйцеклетки и второго направительного тельца. При этом восстанавливается диплоидный набор аутосом и
15 половых хромосом. Поскольку при женской гомогаметности половые хромосомы одинаковые, все гиногенетические диплоидные особи имеют одинаковый набор половых хромосом - XX. Таким образом, у видов рыб с женской гомогаметностью диплоидное гиногенетическое потомство представлено только самками (XX). Однако при
20 диплоидизации за счет объединения двух дочерних наборов хромосом почти все гены гиногенетических особей переходят в гомозиготное состояние, что проявляется в значительном снижении жизнеспособности и плодовитости гиногенетических рыб (инбредная депрессия). Многие самки оказываются полностью стерильными, а фертильные продуцируют небольшое количество икры. Для икряного рыбоводства гиногенетические самки непригодны. Поэтому гиногенетическое потомство, состоящее из самок, используют
25 для превращения их в самцов, подвергая воздействию мужских половых гормонов, андрогенов. При этом происходит маскулинизация самок - у них вместо яичников развиваются семенники. Отличие таких самцов-инверсантов XX от обычных самцов XY состоит в том, что все продуцируемые ими сперматозоиды имеют только половую хромосому X. Самцов-инверсантов XX используют для скрещивания с обычными самками
30 XX и получают потомство, представленное только самками. Однополо-женское потомство, полученное в этом случае, имеет уже нормальный уровень гетерозиготности и, следовательно, нормальную жизнеспособность и плодовитость.

К недостаткам данного метода следует отнести его трудоемкость и необходимость применять к зародышам и рыбам множество воздействий (температурный шок,
35 гормональная обработка).

Существенное ограничение на данный метод накладывает то обстоятельство, что он применим только к видам рыб, имеющим женскую гомогаметность. Между тем пол у многих видов рыб определяется другим механизмом. Самки таких видов имеют не одинаковые, а
40 разные половые хромосомы (W и Z), а самцы - наоборот, одинаковые (ZZ). Женская гетерогаметность WZ приводит к тому, что диплоидное гиногенетическое потомство состоит из рыб с разными половыми генотипами: WZ - самки, ZZ - самцы и WW. Пол рыб с генотипом WW пока достоверно неизвестен. Разнородность полового состава гиногенетического потомства не позволяет использовать его для получения однополо-женского потомства известным способом.

Американский веслонос, имеющий женскую гомогаметность, принадлежит к семейству Polyodontidae, а все остальные осетровые рыбы - продуценты черной икры (белуга, севрюга, осетры) - к семейству Acipenseridae. Показано, что один из представителей семейства Acipenseridae, белый осетр (*Acipenser transmontanus*), имеет женскую гетерогаметность (Van Eenennaam A.L., Van Eenennaam J.P., Medrano J.F., Doroshov S.I.
50 Evidence of female hetero-gametic genetic sex determination in white sturgeon // J. Hered. 1999b. V.90. P.231-233). Механизм определения пола у остальных видов осетровых рыб пока не изучен.

Технический результат предлагаемого изобретения заключается в создании клонально

размножающихся линий самок осетровых рыб, что позволяет получать однополо-женское потомство у рыб с любым механизмом определения пола, в том числе и тогда, когда механизм неизвестен, и дает возможность существенно сократить затраты при формировании маточного стада.

5 Указанный технический результат достигается тем, что в способе получения однополо-женского потомства у осетровых рыб, включающем индукцию гиногенетического развития эмбрионов путем оплодотворения яйцеклеток генетически инактивированной спермой, особенность заключается в том, что индукция гиногенетического развития применяется к
10 яйцеклеткам самок гибридов филогенетически удаленных видов, способных продуцировать нередуцированные диплоидные яйцеклетки, генетически идентичные матери.

Явление нередукции яйцеклеток известно у многих видов (естественных форм) рыб (Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М.: Наука, 1985, 301 с.). Все эти формы имеют гибридное происхождение. Размножаются такие формы с помощью естественного гиногенеза, т.е. в их яйцеклетках имеется возникший в ходе эволюции специальный
15 цитоплазматический механизм, который исключает мужской набор хромосом из развития. Диплоидность яйцеклеток обуславливает нормальное развитие гиногенетических особей.

Диплоидность яйцеклеток у естественных гибридов и их гиногенетических потомков обусловлена особой трансформацией мейоза, которая заключается в том, что еще до начала первого мейотического деления в хромосомах протекает дополнительная
20 репликация ДНК (эндоредупликация), в результате чего число хромосом удваивается. В связи с этим в первом делении мейоза конъюгация и рекомбинация протекают не между гомологичными, а генетически идентичными сестринскими хромосомами. Кроме диплоидности генетическим следствием такой трансформации мейоза является то, что все созревшие яйцеклетки изогенны и тождественны генотипу матери. Этим они отличаются от
25 обычных рыб, мейотическая рекомбинация у которых приводит к генетическому разнообразию (изменчивости) продуцируемых яйцеклеток. Явление нередукции яйцеклеток возникает не у всяких гибридов, а только в случае определенной (не слишком большой и не слишком малой) филогенетической удаленности видов, составляющих гибридную комбинацию.

30 Изогенность яйцеклеток, их тождественность материнскому генотипу и наличие у них механизма инактивации хромосомного набора спермия (естественный гиногенез) приводит к тому, что все особи, развивающиеся из таких яйцеклеток, представляют собой своеобразный клон, воспроизводящий генотип матери, т.е. имеет место клональное наследование. Поэтому этот клон состоит только из самок и является, таким образом,
35 однополо-женским. Половой состав потомства в этом случае не зависит от женской гомо- или гетерогаметности.

Предварительными исследованиями установлено, что некоторые искусственные гибриды филогенетически удаленных видов осетровых рыб также способны к аналогичной трансформации мейоза, при котором гибридные самки с большей или меньшей частотой
40 продуцируют нередуцированные диплоидные яйцеклетки, генетически идентичные матери. Поэтому в заявляемом способе получения однополо-женского потомства у осетровых рыб индукция гиногенетического развития применяется к яйцеклеткам самок гибридов филогенетически удаленных видов. При осеменении таких яйцеклеток генетически инактивированной (облученной) спермой полученное потомство представляет собой
45 тождественный матери клон, а следовательно, все рыбы в потомстве являются самками.

Таким образом, заявляемый способ позволяет получить клонально размножающиеся линии самок осетровых рыб независимо от механизма определения пола. Это дает возможность формирования маточного стада, состоящего из одних самок, с целью дальнейшего массового получения осетровой икры. При этом отпадает необходимость
50 идентификации пола, применения к зародышам и рыбам таких воздействий, как температурный шок, гормональная обработка, и сокращаются затраты на выращивание самцов. Получение именно клонально размножающихся линий самок имеет еще и то преимущество, что при клонировании первого поколения гибридов все последующие

поколения генетически идентичны первому, сохраняя его рыбохозяйственные показатели, тогда как обычно гибриды осетровых наиболее продуктивны в первом поколении, а в последующих поколениях их продуктивность снижается. Кроме того, при использовании предлагаемого способа решается проблема биобезопасности, т.к. в случае попадания клональных гибридных самок в естественные водоемы и их скрещиваний с близкими чистыми видами потомство окажется триплоидным и поэтому стерильным.

Таким образом, совокупность отличительных признаков обеспечивает достижение указанного технического результата.

В результате проведения анализа уровня техники не обнаружены аналоги, характеризующиеся признаками, тождественными всем существенным признакам заявленного изобретения. Следовательно, заявленное изобретение соответствует условию «новизна».

Новая совокупность признаков обеспечивает достижение нового технического результата и не вытекает для специалиста явным образом из известного уровня техники, поскольку никогда ранее у осетровых рыб и в целом у позвоночных животных не было искусственно получено однополо-женское потомство путем клонирования самок с неизвестным механизмом определения пола. Таким образом, заявленное изобретение соответствует условию «изобретательский уровень».

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения с получением указанного технического результата.

Способ осуществляют следующим образом.

Получают гибриды осетровых рыб филогенетически отдаленных видов, самки которых способны продуцировать диплоидные нередуцированные яйцеклетки. При этом выбирают таких гибридных самок, икра которых крупнее, чем обычная (диплоидные яйцеклетки крупнее гаплоидных), или же состоит из смеси крупных (диплоидных) и мелких (гаплоидных) яйцеклеток. Облучают спермии одного из родительских видов или самца гибрида ионизирующей или УФ-радиацией в дозе, вызывающей полную генетическую инактивацию всех спермиев. Осеменяют яйцеклетки гибридов облученной спермой. При этом происходит индукция гиногенетического развития эмбрионов. Применения температурного шока для диплоидизации гиногенетических гаплоидных зародышей не требуется, так как яйцеклетки, в которых произошла премейотическая эндоредупликация хромосом, уже диплоидны. Подавляющее большинство гиногенетических эмбрионов, развивающихся из редуцированных яйцеклеток, останутся гаплоидами и погибнут. Таким образом, по выходу жизнеспособных гиногенетических личинок можно судить о частоте эндоредупликации у данной гибридной комбинации и у данной гибридной самки.

Диплоидные жизнеспособные гиногенетические личинки могут возникнуть двумя путями: за счет спонтанного подавления второго деления мейоза или за счет диплоидности яйцеклеток, обусловленной эндоредупликацией ДНК. Доказано, что частота появления личинок за счет спонтанного подавления второго деления мейоза у осетровых рыб очень мала и составляет около 0.1% (Рекубратский А.В., Грунина А.С., Барминцев В.А., Голованова Т.С., Чудинов О.С., Абрамова А.Б., Панченко Н.С., Купченко С.А. Мейотический гиногенез у севрюги, русского осетра и стерляди // Онтогенез. 2003. Т.32. №2. С.121-131). Эти личинки не будут изогенными и могут отличаться от самки по индивидуальным генетическим характеристикам. Они могут развиваться как в самок, так и самцов. Личинки, возникшие за счет диплоидности яйцеклеток, обусловленной эндоредупликацией ДНК, представляют собой клон, генетически тождественный матери. Из них могут развиваться только самки.

Выращивание и гиногенетическое воспроизводство гибридных самок, способных с большой частотой продуцировать диплоидные яйцеклетки, позволяет сформировать маточное стадо, от которого можно будет в промышленных масштабах получать однополо-женское потомство осетровых рыб.

Пример осуществления способа.

Способ осуществлен на гибридах между белугой и стерлядью (гибрид бестер). Бестеры

получены уже довольно давно и используются в аквакультуре. Выбор именно этого гибрида осетровых рыб сделан, исходя из данных о фертильности, плодовитости и размерах яйцеклеток бестеров, которые позволили предположить, что часть яйцеклеток, продуцируемых самками бестера, является диплоидной, т.е. их хромосомный набор сформировался в результате премейотической эндоредупликации хромосом.

От 15 самок бестера, 5 самок стерляди и 2 самок белуги получили икру. Сперму получили от 5 самцов бестера и смешали ее. Из икры, полученной от каждой самки, отобрали равные порции, которые использовали в эксперименте для постановки скрещиваний. У всех самцов и самок после получения гамет были взяты и зафиксированы в 96% этаноле фрагменты плавника для проведения последующего молекулярно-генетического анализа. Часть спермы облучили коротковолновым УФ-светом в течение 7 мин. Предварительными исследованиями установлено, что такая процедура вызывает полную генетическую инактивацию спермиев, однако спермии после облучения сохраняют подвижность и способны активировать яйцеклетки к гиногенетическому развитию.

С использованием икры каждой из самок были поставлены следующие скрещивания:

- (1) самка бестера × самец бестера, осеменение нормальной спермой (контроль);
- (2) самка бестера × самец бестера, осеменение облученной спермой;
- (3) самка стерляди × самец бестера, нормальная сперма (контроль);
- (4) самка стерляди × самец бестера, осеменение облученной спермой;
- (5) самка стерляди × самец бестера, осеменение облученной спермой, тепловой шок;
- (6) самка белуги × самец бестера, осеменение нормальной спермой (контроль);
- (7) самка белуги × самец бестера, осеменение облученной спермой.
- (8) самка белуги × самец бестера, осеменения облученной спермой, тепловой шок.

Эмбрионов инкубировали в чашках Петри при температуре 20°C. Через 5-10 мин после осеменения эмбрионов из скрещиваний 5 и 8 подвергали тепловому шоку при температуре 37°C продолжительностью 2,5 мин. Тепловой шок в этот момент развития подавляет у эмбрионов второе деление мейоза, обеспечивая тем самым восстановление диплоидности. Инкубация продолжалась 7 дней. Вылупление предличинок продолжалось 2 дня. Переход личинок к активному питанию происходил через 6-9 дней после вылупления.

В скрещиваниях получены следующие результаты.

Во всех скрещиваниях контрольных вариантов (1, 3, 6) получены нормальные предличинки (выход от числа оплодотворенной икры от 65 до 85%), большая часть которых (75-90%) и дальше развивалась нормально и приступила к активному питанию.

Почти все эмбрионы от скрещиваний, в которых икру стерляди и белуги осеменяли облученной спермой (варианты 4 и 7), развивались ненормально, они имели четкие признаки гаплоидного синдрома (искривление осевого скелета, оводнение перикарда, нитевидное сердце). Все эмбрионы из скрещивания 7 погибли до вылупления. Большая часть эмбрионов из варианта 4 также погибла до вылупления. Всего среди вылупившихся предличинок (0-2% в разных скрещиваниях) найдены только 4 морфологически нормальных экземпляра (0.005%). Все уродливые предличинки погибли в течение нескольких дней после вылупления, еще до перехода на активное питание. Две из четырех нормальных личинок приступили к активному питанию. Они могли возникнуть за счет спонтанного подавления второго деления мейоза в оплодотворенных яйцеклетках, что привело к восстановлению диплоидного статуса гиногенетических эмбрионов.

В вариантах 5 и 8, в которых для диплоидизации гиногенетических гаплоидов стерляди и белуги с помощью подавления второго деления мейоза применяли тепловой шок, были получены нормальные диплоидные личинки (10-15%).

В скрещиваниях варианта 2, в которых облученной спермой осеменили икру бестера, отмечено большое количество нормально развивающихся эмбрионов. Выход морфологически нормальных предличинок в разных скрещиваниях (икра разных самок) составил от 3 до 25%. Большая часть из них (65-85%) приступила к активному питанию.

Опытных (173 шт., вариант 2) и контрольных (50 шт., вариант 1) бестеров выращивали

в аквариумах. Кроме того, выращивали по 30 шт. диплоидных гиногенетических особей стерляди (вариант 5) и белуги (вариант 8). В возрасте 2 месяцев у всех рыб были взяты фрагменты плавников для прижизненного молекулярно-генетического анализа. Выделение ДНК из плавников молоди и их родителей проводили стандартным методом. Исследовали RAPD-спектры тотальной ДНК и полиморфизм микросателлитных последовательностей (4 локуса).

Анализ показал, что ДНК контрольных рыб (вариант 1) содержала аллели микросателлитных локусов, имевшихся как у матерей, так и отцов, а их RAPD-спектры представляли собой комбинацию полос, характерных для обоих родителей. Таким образом, в данном варианте наблюдалась картина, которая имеет место при обычном скрещивании.

Частота гомозигот по микросателлитным локусам среди гиногенетических особей стерляди и белуги (варианты 5 и 8) была значительно выше, чем в контроле. Гиногенетические особи различались между собой, а также отличались от матерей как по наборам микросателлитных аллелей, так и по RAPD-спектрам. Генетические различия в гиногенетическом потомстве чистых видов вызваны расхождением в разные половые клетки гомологичных хромосом и рекомбинацией хромосом в процессе мейоза.

В опытном варианте (2) большая часть особей (80-90%) идентична по исследованным показателям и не отличается от своих матерей, т.е. они могут быть идентифицированы как материнские клоны. Эта ситуация могла возникнуть только в том случае, если часть яйцеклеток самок бестера была диплоидной вследствие эндоредупликации ДНК в раннем мейозе. Все такие рыбы могут быть только самками. Выявленные генетические различия у небольшой части опытных рыб могут быть вызваны изменениями при эндоредупликации ДНК, а также мутациями. Самки бестера, у которых наблюдался наибольший выход гиногенетических диплоидных предличинок, были отобраны для дальнейшего воспроизводства с целью формирования маточного стада, от которого можно будет в промышленных масштабах получать однополо-женское потомство осетровых рыб.

Таким образом, заявляемый способ позволяет получить клонально размножающиеся линии самок осетровых рыб (однополо-женское потомство) независимо от механизма определения пола и тем самым сократить материальные затраты при формировании маточного стада. Аналогичным способом однополо-женское потомство может быть получено не только у бестера, но и у гибридов между другими видами осетровых рыб при условии, что эти гибриды способны продуцировать нередуцированные гаметы, генетически идентичные материнскому генотипу.

Изложенные выше сведения свидетельствуют о том, что способ получения однополо-женского потомства осетровых рыб по заявленному изобретению относится к геномной инженерии в области рыбоводства и, в частности, направлен на решение проблемы регуляции пола у осетровых рыб. Для заявленного способа в том виде, как он охарактеризован в изложенной формуле изобретения, подтверждена возможность его осуществления с помощью описанных в заявке средств и методов. Следовательно, заявленное изобретение соответствует условию "промышленная применимость".

Формула изобретения

Способ получения однополо-женского потомства у осетровых рыб, включающий индукцию гиногенетического развития эмбрионов путем оплодотворения яйцеклеток генетически инактивированной спермой, отличающийся тем, что индукция гиногенетического развития применяется к яйцеклеткам самок гибридов филогенетически удаленных видов, способных продуцировать нередуцированные диплоидные яйцеклетки, генетически идентичные матери.