

УДК 597.2/.5:575.86:639.31

О ПЛОДОВИТОСТИ ТРИПЛОИДНЫХ ГИБРИДОВ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ (*CARASSIUS GIBELIO*) С КАРПОМ (*CYPRINUS CARPIO* L.)

© 2017 г. Д. А. Балашов*, А. В. Рекубрятский, Л. Н. Дума, Е. В. Иванёха, В. В. Дума

Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства (ВНИИПРХ)
141821, пос. Рыбное, Московская обл.

*E-mail: balashoff@gmail.com

Поступила в редакцию 07.06.2016 г.

Окончательный вариант получен 07.12.2016 г.

Исследована плодовитость возвратных триплоидных гибридов, содержащих один геном серебряного карася и два генома карпа. Самки гибридов серебряного карася и карпа (карасекарпов) плодовиты и продуцируют диплоидные гаметы. Поскольку самцы таких гибридов стерильны, их воспроизводство осуществляется с помощью индуцированного гиногенеза. В возвратных скрещиваниях самок карасекарпов с самцами карпа получают триплоидное потомство. Среди триплоидов, полученных от гибридов F₁, а также гибридов первого гиногенетического поколения не было найдено ни одной плодовой особи. Однако при воспроизводстве диплоидных гибридов при помощи гиногенеза на протяжении шести поколений происходит восстановление плодовитости самок в возвратном потомстве. От возвратных триплоидных самок (дочерей карасекарпов шестого гиногенетического поколения) получено жизнеспособное триплоидное гиногенетическое потомство и тетраплоидное возвратное потомство на карпа. Полученные данные могут служить экспериментальным доказательством гипотезы сетчатого видообразования.

Ключевые слова: серебряный карась *Carassius gibelio*, карп *Cyprinus carpio*, гибриды, плодовитость, триплоиды, тетраплоиды, полиплоидная эволюция

DOI: 10.7868/S0475145017050032

ВВЕДЕНИЕ

Все виды семейств лососевых, осетровых и чукчановых, а также многие виды карповых, вьюновых и сельдевых рыб имеют тетраплоидное происхождение (Васильев, 1985; Васильев, Васильева, 2010). Тетраплоидные виды известны также среди рептилий и амфибий (Боркин, Литвинчук, 2013). Таким образом, возникновение тетраплоидных видов является достаточно распространенным явлением в эволюции низших позвоночных.

Согласно наиболее убедительной в настоящее время гипотезе сетчатого видообразования (или иначе концепции последовательной гибридизации), тетраплоидные бисексуальные виды возникли в результате гибридизации бисексуальных диплоидных видов с триплоидными однополыми формами. Последние, в свою очередь, являются двойными или тройными гибридами. Полиплоидия является следствием нередукции хромосом в гаметах, продуцируемых гибридными диплоидными и триплоидными формами (Астауров, 1969; Боркин, Даревский 1980; Васильев, 1985).

Один из ключевых моментов полиплоидной эволюции, описываемой гипотезой сетчатого видообразования, связан с вопросом о плодовитости триплоидных гибридов. Понятно, что пло-

довитость должна быть достаточно частым, а не исключительным явлением, иначе становление тетраплоидных видов путем последовательной гибридизации в большинстве случаев было бы маловероятным.

Как известно, большинство вновь возникающих триплоидов у растений и животных полностью стерильно. Это относится и к рыбам (см. обзоры: Benfey, 1999; Gomelsky, 2011). С другой стороны, в диплоидно-полиплоидных однополых комплексах рыб нормально плодовитые триплоидные формы являются постоянными и главными членами (Васильев, Васильева, 2010). Однако по сравнению с количеством тетраплоидных видов число таких комплексов невелико. Поэтому их существование лишь доказывает, что плодовитость у триплоидов возможна, но не снимает полностью ограничения, связанного с неясной частотой случаев стерильности/фертильности у вновь возникающих триплоидов и перспективой их дальнейшей полиплоидной эволюции.

К настоящему времени известно несколько искусственно полученных гибридов, у которых самки продуцируют диплоидные яйцеклетки, а в возвратных скрещиваниях возникают триплоиды. Жизнеспособное потомство от триплоидных

Таблица 1. Плодовитость триплоидных возвратных гибридов, полученных от гибридных самок, продуцирующих диплоидные яйцеклетки

Гибрид	Способность продуцировать яйцеклетки	Жизнеспособность потомства	Источник
<i>(Carassius gibelio × 2n Cyprinus carpio) × C. gibelio</i>	+	+	Черфас и др., 1989
<i>(Carassius gibelio × 2n Cyprinus carpio) × C. carpio</i>	–	–	Черфас и др., 1989
<i>(Carassius auratus cuvieri × Cyprinus carpio) × C. a. cuvieri</i>	+	+	Zhang et al., 1992
<i>(Carassius auratus cuvieri × Cyprinus carpio) × C. carpio</i>	+	+	Zhang et al., 1992
<i>(Salmo salar × Salmo trutta) × Salmo salar</i>	–	–	Galbreath, Thorgaard, 1995
<i>(Salmo trutta × Salmo salar) × Salmo salar</i>	–	–	Johnson, Wright, 1986
<i>(Salmo salar × Salmo trutta) × Salvelinus fontinalis</i>	–	–	Johnson, Wright, 1986
<i>(Lepomis gibbosus × L. cyanellus) × L. cyanellus</i>	+	–	Dawley et al., 1985
<i>(Lepomis gibbosus × L. cyanellus) × L. gibbosus</i>	+	–	Dawley et al., 1985
<i>(Oryzias latipes sinensis × O. curvinotus) × O. l. sinensis</i>	+	–	Kurita et al., 1995
<i>(Oryzias latipes sinensis × O. curvinotus) × O. curvinotus</i>	+	–	Kurita et al., 1995
<i>2n Carassius auratus cuvieri × (4n Carassius auratus × Cyprinus carpio)</i>	–	–	Liu, 2010
<i>4n Cobitis biwae × 2n Misgurnus anguillicaudatus</i>	+	+	Kusunoki et al., 1994
<i>(Carassius auratus × Cyprinus carpio) × Cyprinus carpio</i>	+	+	Wu et al., 2003

Примечание. Латинские названия видов даны в соответствии с текстами литературных источников.

самок удалось получить только в 5 случаях из 14 (табл. 1). В большинстве случаев триплоидные самки были или сами стерильны, или нежизнеспособным оказывалось их потомство.

Таким образом, новые данные о плодовитости/стерильности триплоидных гибридов могли бы пролить дополнительный свет на степень универсальности гипотезы сетчатого видообразования при возникновении тетраплоидных таксонов.

Во ВНИИ пресноводного рыбного хозяйства (ВНИИПРХ, Московская обл.) с конца 70-х гг. проводятся работы с гибридами серебряного карася (*Carassius gibelio* Bloch., двуполовая форма) с карпом (*Cyprinus carpio* L.). Поскольку самцы карасекарпы полностью стерильны, воспроизводство гибридов осуществляется с помощью метода индуцированного гиногенеза (Черфас, Илясова, 1980; Черфас и др., 1982).

Было показано, что самки карасекарпы F₁, а также их гиногенетические потомки продуцируют диплоидные яйцеклетки (Емельянова, Черфас, 1980; Емельянова, Абраменко, 1982) и что их скрещивание с родительскими видами приводит к образованию триплоидного потомства (Черфас и др., 1981). В процессе созревания гибридные ооциты претерпевают эндомиоз, а затем два последовательных мейотических деления (Емелья-

нова, 1984). Такой характер созревания приводит к возникновению в индивидуальных потомствах гибридных самок клонов, что было доказано с помощью анализа по биохимическим маркерам и трансплантационного теста (Черфас и др., 1989).

Исследование триплоидных возвратных гибридов (F_{бск}, получены от скрещивания гибридных самок с самцами серебряного карася, и F_{бк} – от скрещивания гибридных самок с самцами карпа) показало (Черфас и др., 1989), что они в подавляющем большинстве стерильны, и лишь единичные самки F_{бск} способны продуцировать небольшое количество икры, часть которой также содержит триплоидный набор хромосом (большая часть икры была анеуплоидной).

Гиногенетическое воспроизводство диплоидных гибридных самок на протяжении шести поколений привело к значительному улучшению их плодовитости (Рекубрятский и др., 2012а). Если в первом поколении (F₁) количество фертильных рыб было очень небольшим, то уже в третьем гиногенетическом поколении (G₃) доля плодовитых рыб приблизилась к 100%, причем количество продуцируемой ими икры существенно увеличилось. В ряду последовательных гиногенетических поколений значительно возросла также выживаемость эмбрионов, что связано с постепенным уменьшением доли нежизнеспособных анеуплоидных

Таблица 2. Результаты исследования гонад у триплоидных карасекарпов F₆ в трехлетнем возрасте

Кол-во, шт.	Пол	Масса рыбы, г	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости, %
12	♂♂	1007.7 ± 37.1	48.45 ± 4.9	4.9 ± 0.5
13	♀♀	1168.9 ± 24.4	6.7 ± 2.1	0.56 ± 0.2

гамет. По-видимому, у многих самок шестого гиногенетического поколения (G₆) их количество уже минимально, поскольку средний выход нормальных личинок у них приблизился к 90%.

Уменьшение в ряду гиногенетических поколений доли анеуплоидных гамет наряду с увеличением абсолютной плодовитости указывает на отбор самок с наилучшей способностью к массовой и полной эндоредупликации хромосом в гибридных ооцитах. Мы предположили, что высокая склонность самок шестого гиногенетического поколения к эндоредупликации может положительно сказаться и на репродуктивной способности полученных от них триплоидных гибридов.

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения репродуктивных свойств триплоидных гибридов F₆, полученных в возвратном скрещивании самок G₆ с самцами карпа. При изучении большого числа таких же гибридов, но полученных от самок F₁ и G₁, не было найдено ни одной плодовитой особи (Черфас, 1980; Черфас и др., 1989; Cherfas et al., 1994).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена во ВНИИ пресноводного рыбного хозяйства в 2008–2015 гг. Материалом послужили триплоидные возвратные гибриды F₆, полученные от скрещивания диплоидных самок карасекарпов шестого гиногенетического поколения G₆ с самцами карпа.

Для получения от гибридов текущих половых продуктов применяли гипофизарные инъекции, использовались гипофизы леща или карпа в дозе 4 мг/кг. После получения икры ее взвешивали и определяли количество икринок в 1 г.

От гибридных самок F₆ получали два вида потомства: гиногенетическое и возвратное на карпа. Для получения гиногенеза сперму карпа подвергали генетической инактивации с помощью УФ-облучения в дозе 300 Дж/м² по ранее разработанной методике (Илясова, Черфас, 1978).

Инкубацию эмбрионов проводили в аппаратах Вейса или в чашках Петри при температуре 20°C. Во время инкубации определяли процент оплодотворения по числу правильно дробящихся зародышей через сутки после оплодотворения. Также учитывали количество нормальных, активно плавающих личинок путем поштучного подсчета

(при инкубации в чашках Петри) или эталонным методом (при инкубации в аппаратах Вейса).

Выращивание рыб проводили в прудах Экспериментальной базы ВНИИПРХ “Якоть” по общепринятой технологии.

Для определения плоидности рыб подсчитывали число хромосом на метафазных пластинках из клеток почки. После осеннего облова сеголетков массой 25–100 г помещали в аквариумы и содержали при температуре 23°C до начала регулярного питания. Затем рыбам внутримышечно инъецировали 0.5% раствор колхицина в дистиллированной воде в концентрации 1 мл/100 г массы рыбы. Через 6–12 ч рыб забивали и извлекали почку. Для приготовления препаратов использовали ткань головного отдела почки, которую измельчали и помещали в гипотонический раствор 0.075 М KCl на 60 мин. После гипотонии ткань фиксировали в растворе, содержащем этиловый спирт и ледяную уксусную кислоту в соотношении 3 : 1. Зафиксированную ткань наносили на предметные стекла, предварительно смоченные фиксатором, после высушивания на воздухе препараты окрашивали в растворе Гимза в течение 5 мин. Исследование метафазных пластинок проводили под световым микроскопом при увеличении ×1000.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вскрытие триплоидных гибридов F₆ в трехгодовалом возрасте и определение половой принадлежности показало, что самки заметно опережали самцов по массе тела (табл. 2). Гонады самцов были развиты довольно хорошо, соответствуя по внешнему виду семенникам карпа в начале третьей стадии зрелости.

Половые железы самок были развиты чрезвычайно слабо, одна из гонад часто отсутствовала или имела место асимметрия в их развитии. Однако у половины самок в толще гонады, среди жировой и соединительной ткани были разбросаны единичные ооциты прото- и трофоплазматического роста. Последнее обстоятельство заставило нас продолжить выращивание гибридов.

Первая попытка получить половые продукты была предпринята у рыб пятигодовалого возраста в 2011 г. Весной у самцов был хорошо заметен брачный наряд, однако ни от одного из 20 самцов не получили текущую сперму.

Таблица 3. Репродуктивные показатели триплоидных самок гибридов серебряного карася с карпом (F_{3k})

Исследовано самок, шт.	Возраст, лет	Средний вес, кг	Отдали икру		Абс. плодовитость, г			Отн. плодовитость, г/кг	Кол-во икринок в 1 г, шт.
			шт.	%	средн.	min	max		
23	5	1.82	12	52.2	29.9 ± 5.4	1.8	61.2	16.4 ± 2.9	448*
15	6	2.33	5	33.3	38.1 ± 16.0	10.6	99.6	16.3 ± 6.8	498 ± 19
5	7	2.90	3	60	38.3 ± 15.0	14	66	13.5 ± 5.1	508 ± 6

* Определяли по смеси икры всех самок.

Таблица 4. Результаты инкубации и выращивания возвратного и гиногенетического потомства, полученного от триплоидных самок гибридов серебряного карася и карпа (F_{3k})

Год	Потомство	Оплодотворено		Выход нормальных личинок		Выход сеголетков	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%
2011	F ₃ (F _{3k} × κ) возвратное скрещивание на карпа	19353	12.0	0	0.0	—	—
2012	F ₃ (F _{3k} × κ)	9562	15.0	1500	15.7	7	0.5
	G ₁ (F _{3k}), гиногенез	11554	23.2	1000	0.9	80	8.0
2013	F ₃ (F _{3k} × κ)	7906	12.5	3000	37.9	Не выращивали	
2014	F ₃ (F _{3k} × κ)	3361	35.2	400	11.9	24	6.0

Перед получением икры всех самок предварительно просмотрели и назначили гипофизарную инъекцию только тем, от которых можно было ожидать получения хотя бы небольшого количества икры. Таких самок оказалось около половины. Из 23 самок, получивших гипофизарную инъекцию, 12 отдали небольшое количество икры (табл. 3). С икрой самки отдавали большое количество тягучей полостной жидкости. Икра была очень разнородной по размеру, количество икринок в одном грамме примерно в два раза превышало этот показатель у карпа.

Всю полученную икру соединили вместе и осеменили спермой карпа. Процент оплодотворения был невысоким (12%, табл. 4), однако часть эмбрионов была способна развиваться до вылупления. Все предличинки оказались уродливыми и погибли вскоре после освобождения от оболочек.

В два следующих нерестовых сезона (2012 и 2013 гг.) абсолютная и относительная плодовитость триплоидных гибридных самок существенно не изменилась, однако их потомство оказалось жизнеспособным (табл. 4).

В 2012 г. от шестигодовых самок F_{3k} получили два потомства – гиногенетическое, осеменив яйцеклетки генетически инактивированной спермой карпа, и возвратное, от скрещивания самок F_{3k} с самцами карпа. Выживаемость эмбрионов и личинок в обоих потомствах оказалась относительно невысокой, но, тем не менее, были выращены сеголетки, что является исчерпывающим доказа-

тельством жизнеспособности потомства триплоидных гибридных самок карасекарпа F_{3k}. Сейчас продолжается выращивание гиногенетического потомства G₁(F_{3k}). После достижения рыбами половой зрелости мы предполагаем также изучить их репродуктивную способность.

В 2013 г. от самок F_{3k} получили только возвратное потомство в скрещивании с самцами карпа. Выживаемость эмбрионов по сравнению с опытом предыдущего года увеличилась в два раза. К сожалению, по техническим причинам выращивание сеголетков организовать не удалось. В 2014 г. получено потомство и выращены сеголетки из возвратного потомства от скрещивания самок F_{3k} с самцами карпа (табл. 4).

Рыб из гиногенетического и возвратного потомства генераций 2012 и 2014 гг. подвергли карриологическому анализу (табл. 5; рисунок). Среди рыб, полученных в 2012 г. в возвратном скрещивании триплоидных самок F_{3k} с самцами карпа, одна особь оказалась точным тетраплоидом (198 хромосом), две – анеуплоидами (162 и 165 хромосом) и две – точными триплоидами (143 и 151 хромосома). У рыб из гиногенетического потомства число хромосом было близким к триплоидному (141–149). Среди рыб генерации 2014 г. найдены две особи с тетраплоидным числом хромосом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе показано, что полученные от карасекарпов шестого гиноге-

Таблица 5. Число хромосом у рыб из гиногенетического ($G_1(F_{bk})$) и возвратного ($Fb(F_{bk} \times k)$) потомств самок триплоидных гибридов F_{bk} , полученных в 2012 и 2014 гг.

Генерация и номер рыбы	Число пластинок	Число хромосом
$Fb(F_{bk} \times k)$		
№ 2 (2012)	5	162 ± 10.7
№ 3 (2012)	9	165 ± 18.7
№ 4 (2012)	10	198 ± 2.5
№ 5 (2012)	8	143 ± 4.6
№ 6 (2012)	1	151
№ 7 (2014)	10	201 ± 5
№ 8 (2014)	7	194 ± 4
$G_1(F_{bk})$		
№ 1 (2012)	5	141 ± 4.5
№ 2 (2012)	4	148 ± 3.7
№ 3 (2012)	4	149 ± 3

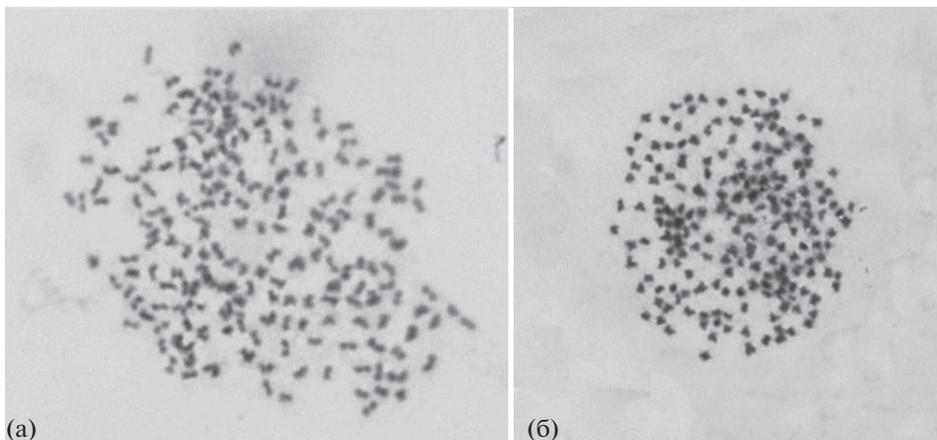
нетического поколения триплоидные самки F_{bk} , содержащие два генома карпа и один геном серебряного карася, частично плодовиты: около 25% рыб после гипофизарной инъекции отдали небольшое количество икры. Овулировавшие яйцеклетки большей частью были анеуплоидными, а выживаемость потомства оказалась низкой. Однако часть яйцеклеток имеет точное триплоидное число хромосом, из таких гамет в возвратном скрещивании образуются тетраплоидные особи.

Плодовитость триплоидных самок карасекарпов F_{bk} обнаружена впервые. Ранее, при исследовании нескольких сотен аналогичных гибридов плодовитых рыб найти не удалось, из чего был сделан вывод об их полной стерильности (Черфас, 1980; Черфас и др., 1989; Cherfas et al., 1994).

Различие результатов, очевидно, связано с тем, что в настоящей работе триплоидное потомство получали от диплоидных гибридных самок, прошедших семь поколений воспроизводства (F_1, \dots, G_6), в том числе шесть поколений гиногенеза.

Показано, что в раннем мейозе в ооцитах карасекарпов имеет место эндоредупликация хромосом, которая приводит к сохранению диплоидного набора в овулировавших яйцеклетках (Емельянова, 1994). В F_1 и G_1 отмечена большая изменчивость самок по соотношению в их икре анеуплоидных и диплоидных яйцеклеток (Емельянова, Абраменко, 1982; Черфас и др., 1989). От поколения к поколению у самок диплоидных гибридов улучшалась репродуктивная способность, в том числе уменьшалась доля анеуплоидных гамет и увеличивалось количество полноценных диплоидных яйцеклеток (Cherfas et al., 1994; Рекубратский и др., 2012а). Можно предположить, что в ряду поколений среди диплоидных самок происходит отбор, направленный на улучшение способности к эндоредупликации, которая становится более правильной и полной во все большей доле ооцитов. Таким образом, триплоидное потомство, изученное нами в настоящей работе, было получено от самок с лучшей способностью к эндоредупликации, чем ранее.

Включение механизма эндоредупликации в гибридных ооцитах вызывается отсутствием гомологов при попытке синапсиса. В диплоидном гибридном ооците гомологов нет совсем, и эндоредупликация включается достаточно часто. Об этом свидетельствуют известные диплоидно-триплоидные однополюе комплексы у рыб (см. обзор: Васильев, 1985) и случаи нередукции гамет при искусственной гибридизации видов, находящихся в определенной степени родства (см. литературу в табл. 1).



Тетраплоидные метафазные пластинки хромосом рыб из возвратного потомства самок триплоидных гибридов серебряного карася и карпа F_{bk} . а – генерация 2012 г., 200 хромосом; б – генерация 2014 г., 198 хромосом.

В триплоидном гибридном ооците ситуация для включения эндоредупликации менее благоприятна. Два генома из трех у такого гибрида принадлежит одному виду, т.е. две трети хромосом имеют своих гомологов и могли бы нормально конъюгировать. В этом случае включение эндоредупликации должно быть затруднено. Собственно, эта ситуация близка к той, которая имеет место при возникновении автотриплоидов, которые почти всегда полностью стерильны из-за того, что нормальному прохождению мейоза препятствует непарный геном (Benfey, 1989; Gomelsky, 2011).

Действительно, большинство триплоидных гибридов, полученных от плодовых гибридных самок, продуцирующих диплоидные яйцеклетки, оказались стерильными (см. табл. 1). Следует отметить, что во всех случаях стерильности, описанных в литературе и приведенных в табл. 1, триплоиды были получены от гибридных самок F_1 , т.е. от таких, у которых становление механизма эндоредупликации только началось. Вполне возможно, что, если бы воспроизводство этих гибридов было продолжено на протяжении нескольких поколений, их триплоидное потомство тоже оказалось бы плодовитым.

Когда механизм эндоредупликации в диплоидных гибридных ооцитах уже хорошо “отлажен” (как у наших карасекарпов G_6), эндоредупликация, по-видимому, имеет больше шансов включиться и в триплоидных ооцитах, обеспечивая триплоидным самкам плодовитость. Если в эндоредупликацию включился только один непарный геном (*сегментная эндоредупликация*), яйцеклетки будут диплоидными; если редуцированы все хромосомы всех трех геномов — триплоидными. Вероятно, возможны и промежуточные варианты эндоредупликации, в этом случае будут образовываться анеуплоидные яйцеклетки.

Нельзя полностью исключить и другое объяснение возникновения плодовитости гибридов F_{bc} , которое, однако, кажется нам менее вероятным. Достаточно длительная генетическая изоляция диплоидных гибридов, которая имела место вследствие гиногенетического воспроизводства, могла привести к некоторой обособленности их генотипов. При возникновении триплоидов гомологичность хромосом из двух карповых геномов (существовавшего автономно в составе гибридного генотипа и привнесенного спермием при возвратном скрещивании) может уменьшиться до степени, способствующей лучшей эндоредупликации.

Как видно из результатов кариологического анализа, среди сеголетков были особи трех категорий: триплоиды, анеуплоиды (гипертриплоиды) и тетраплоиды.

Обнаружение рыб с точным тетраплоидным числом хромосом указывает на то, что некоторая

часть яйцеклеток, продуцируемых гибридами F_{bc} , является триплоидной.

Триплоидные особи в возвратном потомстве самок F_{bc} могли возникнуть двумя путями: 1) из диплоидных яйцеклеток при нормальном оплодотворении или 2) из триплоидных яйцеклеток при спонтанной инактивации мужских хромосом (спонтанный гиногенез).

От триплоидов из возвратных скрещиваний гибридных самок F_1 *Carassius auratus cuvieri* × *Cyprinus carpio* с самцами родительских видов были получены яйцеклетки, содержащие или триплоидный, или гипердиплоидный (около $2.5n$) набор хромосом (Zhang et al., 1992).

Триплоидные гибриды F_{bc} , содержащие два генома серебряного карася, полученные от самок F_1 и G_1 , как уже упоминалось, сразу оказались плодовитыми (Черфас и др., 1989). В их потомстве от скрещивания с самцами карпа очень небольшая часть рыб оказалась тетраплоидной (200 хромосом), а большая — анеуплоидной (110–190 хромосом) (Cherfas et al., 1994).

Спонтанный гиногенез — вещь вполне обычная у рыб, особенно легко хромосомы спермия исключаются в нередуцированных яйцеклетках (Гомельский и др., 1988; Гомельский, Рекубратский, 1990).

Таким образом, результаты настоящего исследования показывают, что ограничение, накладываемое стерильностью триплоидных гибридов на гипотезу последовательной гибридизации (см. Введение), не является достаточно серьезным.

Во-первых, в дополнение к указанным в табл. 1 нами описан случай плодовитости триплоидных гибридов, которые раньше считались стерильными. Это значит, что счет в табл. 1 должен поменяться с 9 : 5 на 8 : 6 (соотношение случаев стерильности : фертильности).

Во-вторых, жизнеспособные личинки были получены нами лишь от повторно нерестующих самок F_{bc} . В других работах такие повторные опыты, как правило, не предпринимались.

Наконец, в-третьих, мы доказали плодовитость гибридов F_{bc} тогда, когда уже был сделан обоснованный вывод об их стерильности. Воспроизводство диплоидных гибридов на протяжении нескольких поколений привело к улучшению плодовитости не только у них, но и у триплоидов. Такая же ситуация вполне может иметь место и у других триплоидных гибридов, пока также считающихся стерильными.

Плодовитость триплоидов первого поколения невысока, однако есть все основания полагать, что при воспроизводстве в ряду поколений она будет значительно улучшена, как это показано для диплоидных гибридов, а также для триплоидов F_{bc} (Cherfas et al., 1994; Рекубратский и др.,

2012a). При улучшении плодовитости триплоидов увеличивается вероятность возникновения и становления бисексуальных тетраплоидных форм. Плодовитые тетраплоидные самки и самцы уже получены от триплоидных самок F₃ск (Cherfas et al., 1994; Рекубрятский и др., 2012б).

Триплоидные гибридные самцы F₃ск, исследованные в настоящей работе, как и ожидалось, оказались полностью стерильными, несмотря на то, что в нерестовом сезоне у них появлялся выраженный брачный наряд. Стерильными были также гибридные самцы и во всех других известных нам работах (см. литературу в табл. 1). Во всех, кроме одного случая: у диплоидных гибридов золотой рыбки *Carassius auratus cuvieri* и карпа плодовитыми оказались не только самки, но и самцы. Гибриды F₂ продуцировали нередуцированные гаметы (яйцеклетки и спермии) и стали родоначальниками стабильно воспроизводящейся тетраплоидной бисексуальной линии (Liu et al., 2000, 2001; Sun et al., 2003; Liu, 2010).

Стерильность самцов обусловлена блокированием мейоза в сперматоцитах первого порядка (Черфас и др., 1989). Сперматоциты, однако, накапливаются в семенниках в большом количестве, что обуславливает разрастание гонад и приводит к довольно высоким значениям коэффициента зрелости (см. табл. 2).

Из данных табл. 2 хорошо видно, что в трехгодовалом возрасте самки существенно превосходили самцов по весу тела. По-видимому, это связано с большими энергетическими тратами самцов на гамето- и гонадогенез (ср. коэффициенты зрелости самок и самцов в табл. 2). Следовательно, в аквакультуре выгоднее использовать одноположенское потомство карасекарпов, а не двуполое. Такое потомство можно получать по известным методам регуляции пола у карповых рыб (Gomelsky, 2011).

Частичная плодовитость триплоидных карасекарпов не должна служить серьезной причиной, препятствующей использованию их в качестве объектов пастбищной аквакультуры, в том числе для зарыбления естественных водоемов. И в настоящей работе (табл. 4), и ранее (Гомельский и др., 1988) показано, что тетраплоидные карасекарпы по сравнению с триплоидами и диплоидами обладают весьма низкой выживаемостью и медленным ростом. По-видимому, это связано с тем, что серебряный карась и карп уже являются тетраплоидными по происхождению видами (Васильев, 1985). Таким образом, плоидность тетраплоидных карасекарпов превышает уровень, оптимальный для нормальной жизнедеятельности (Гомельский и др., 1988). Низкая жизнеспособность была обнаружена и у тетраплоидов радужной форели (Chourrou et al., 1986), также тетраплоидного по происхождению вида (Васильев,

1985). Даже если триплоидные карасекарпы, будучи выпущены в естественный водоем, смогут нереститься с самцами родительских видов, их тетраплоидное потомство будет иметь слишком мало шансов на выживание в конкурентных условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Астауров Б.Л.* Экспериментальная полиплоидия и гипотеза непрямого (опосредованного партеногенезом) происхождения естественной полиплоидии у бисексуальных животных // Генетика. 1969. Т. 5. № 7. С. 129–148.
- Боркин Л.Я., Даревский И.С.* Сетчатое (гибридогенное) видообразование у позвоночных // Журн. общ. биологии. 1980. Т. 41. № 4. С. 485–506.
- Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н.* Гибридизация, видообразование и систематика животных // Современные проблемы биологической систематики. Под ред. Алимova А.Ф. Степаньянц С.Д. Санкт-Петербург: Изд-во Зоологического института РАН. 2013. С. 83–139.
- Васильев В.П.* Эволюционная кариология рыб. М.: Наука, 1985. 300 с.
- Васильев В.П., Васильева Е.Д.* Сетчатое видообразование и полиплоидная эволюция у рыб // Актуальные проблемы современной ихтиологии (к 100-летию Г.В. Никольского). М.: Т-во научных изданий КМК, 2010. С. 148–177.
- Гомельский Б.И., Рекубрятский А.В.* О возможности спонтанного андро- и гиногенеза у рыб // Вопр. ихтиологии. 1990. Т. 30. № 4. С. 698–700.
- Гомельский Б.И., Емельянова О.В., Рекубрятский А.В.* Получение и некоторые биологические особенности амфидиплоидных гибридов серебряного карася с карпом // Докл. АН СССР. 1988. Т. 301. № 5. С. 1210–1213.
- Емельянова О.В.* Цитологическое исследование процессов созревания и оплодотворения у гибридов серебряного карася с карпом // Цитология. 1984. Т. 26. № 12. С. 1427–1433.
- Емельянова О.В., Черфас Н.Б.* Результаты цитологического анализа неоплодотворенной икры самок карасекарпов F₁ полученных от скрещивания ♀ серебряный карась × ♂ карп // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. М.: Изд-во, 1980. Т. 28. С. 106–115.
- Емельянова О.В., Абраменко М.И.* Размеры и плоидность икры у самок первого поколения гибридов серебряного карася с карпом // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. М.: Изд-во, 1982. Т. 33. С. 169–184.
- Илясова В.А., Черфас Н.Б.* Использование ультрафиолетового облучения при индуцированном гиногенезе у карпа // Генетика и селекция рыб. М.: ВНИИПРХ. 1978. Вып. 20. С. 174.
- Рекубрятский А.В., Иванеха Е.В., Балашов Д.А. и др.* Триплоидные гибриды серебряного карася с карпом – новый объект аквакультуры // Вопр. рыболовства. 2012а. Т. 13. № 3(51). С. 626–642.
- Рекубрятский А.В., Поддубная А.В., Катасонов В.Я. и др.* Основные итоги исследований лаборатории генетики и селекции рыб ВНИИПРХ за 80 лет ее существования // Вопр. рыболовства. 2012б. Т. 13. № 3(51). С. 503–521.

- Черфас Н.Б., Илясова В.А. Индуцированный гиногенез у гибридов серебряного караса с карпом // Генетика. 1980. Т. 16. № 7. С. 1260–1269.
- Черфас Н.Б., Гомельский Б.И., Емельянова О.В. и др. Триплоидия у возвратных гибридов серебряного караса с карпом // Генетика. 1981. Т. 17. С. 1136–1138.
- Черфас Н.Б., Катасонов В.Я., Илясова В.А. Способ выведения гибридных форм рыб при однополо-мужской стерильности // АС № 686591. Оpubл. Бюлл. изобр. 1982. № 24. С. 305.
- Черфас Н.Б., Емельянова О.В., Рекубретский А.В. и др. Исследование гибридов серебряного караса с карпом (опыт применения генетических методов в работах с отдаленными гибридами) // Генетика в аквакультуре / Под ред. Кирпичникова В.С.Л.: Наука. 1989. Ч. 2. С. 137–152.
- Benfey T.J. The physiology and behavior of triploid fishes // Reviews in Fisheries Science. 1999. V. 7. P. 39–67.
- Cherfas N.B., Gomelsky B.I., Emelyanova O.V. et al. Induced diploid gynogenesis and polyploidy in crucian carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) × common carp *Cyprinus carpio* L. hybrids // Aquaculture Research. 1994. V. 25. № 9. P. 943–954.
- Chourrout D., Chevassus B., Krieg F., Happe A. et al. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females — potential of tetraploid fish // Theoretical and Applied Genetics. 1986. V. 72. № 2. P. 193–206.
- Dawley R.M., Graham J.H., Schultz R.J. Triploid progeny of pumpkinseed × green sunfish hybrids // J. Heredity. 1985. V. 76. № 4. P. 251–257.
- Galbreath P.F., Thorgaard G.H. Sexual maturation and fertility of diploid and triploid Atlantic salmon × brown trout hybrids // Aquaculture. 1995. V. 137. № 1. P. 299–311.
- Gomelsky B. Fish genetics: Theory and Practice. VDM Publishing, 2011. 190 p.
- Johnson K.R., Wright J.E. Female brown trout × Atlantic salmon hybrids gynogens and triploids when backcrossed to male Atlantic salmon // Aquaculture. 1986. V. 57. № 1. P. 345–358.
- Kurita J., Oshiro T., Takashima F., Sakaizumi M. Cytogenetic studies on diploid and triploid oogenesis in interspecific hybrid fish between *Oryzias latipes* and *O. curvinotus* // J. Exp. Zool. 1995. V. 273. № 3. P. 234–241.
- Kusunoki T., Arai K., Suzuki R. Viability and karyotypes of interracial and intergeneric hybrids in loach species // Fish. Sci. 1994. V. 60. P. 415–422.
- Liu S.J. Distant hybridization leads to different ploidy fishes // Science China Life Sciences. 2010. V. 53. № 4. P. 416–425.
- Liu S.J., Hu F., Zhou G.J., Zhang X.J. et al. Gonadal structure of triploid crucian carp produced by crossing allo-tetraploid hybrids of *Carassius auratus red var.* (female) *Cyprinus carpio* (male) with Japanese crucian carp (*Carassius auratus cuvieri* T. et S.) // Acta Hydrobiol. Sin. 2000. V. 24. P. 301–306 (in Chinese with English abstract).
- Liu S.J., Liu Y., Zhou G.J., Zhang X.J. et al. The formation of tetraploid stocks of red crucian carp common carp hybrids as an effect of interspecific hybridization // Aquaculture. 2001. V. 192. P. 171–186.
- Sun Y.D., Liu S.J., Zhang C., Li J.Z., Huang et al. The chromosome number and gonadal structure of F₉–F₁₁ allo-tetraploid crucian carp // Acta Genet. Sin. 2003. V. 30. P. 414–418. (in Chinese with English abstract).
- Wu Q., Ye Y., Dong X. Two unisexual artificial polyploid clones constructed by genome addition of common carp (*Cyprinus carpio*) and crucian carp (*Carassius auratus*) // Science in China Series C: Life Sciences. 2003. V. 46. № 6. P. 595–604.
- Zhang F., Oshiro T., Takashima F. Fertility of triploid backcross progeny, (Gengoroubuna *Carassius auratus cuvieri* ♀ × carp *Cyprinus carpio* ♂) F₁ ♀ × carp or gengoroubuna ♂ // Japanese Journal of Ichthyology. 1992. V. 39. № 3. P. 229–233.

Fecundity of Triploid Hybrids of Goldfish (*Carassius gibelio*) with Carp (*Cyprinus carpio* L.)

D. A. Balashov*, A. V. Recoubratsky, L. N. Duma, E. V. Ivanekha, and V. V. Duma

Russian Federal Research Institute of Freshwater Fisheries (VNIIPRKh), Rybnoe, Moscow oblast, 141821 Russia

*e-mail: balashoff@gmail.com

Received June 7, 2016; in final form, December 7, 2016

Fecundity of backcross triploid hybrids containing one genome of goldfish and two genomes of carp is investigated. The females of hybrids of goldfish and carp (goldfish × carp) are prolific and produce diploid gametes. Since males of such hybrids are sterile, their reproduction is realized by means of induced gynogenesis. Triploid progeny is obtained by backcrossing female goldfish × carp with carp males. Among triploids obtained from hybrids F₁ and among hybrids of the first gynogenetic generation, there were no prolific specimens. However, in reproduction of diploid hybrids by means of gynogenesis during six generations, the female fecundity in the backcross progeny is restored. From backcross triploid females (daughters of goldfish × carp of the sixth gynogenetic generation), a viable triploid gynogenetic progeny and a tetraploid backcross (by carp) progeny are obtained. The obtained data may be considered as the experimental proof of the hypothesis of netted speciation.

Keywords: goldfish *Carassius gibelio*, carp *Cyprinus carpio*, hybrids, fecundity, triploids, tetraploids, polyploid evolution