

## МНОГООБРАЗИЕ ТИПОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА ЛУЧЕПЕРЫХ РЫБ (ACTINOPTERYGII)

**© И. Г. Кичигин,<sup>1,\*</sup> Д. А. Андреюшкова,<sup>1</sup> М. А. Побединцева,<sup>1,2</sup>  
В. А. Трифонов<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, 630090,

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090;

\* электронный адрес: *kig@mcb.nsc.ru*

Лучеперые рыбы (Actinopterygii) — очень разнообразный и многочисленный класс позвоночных. Помимо многообразия экологических ниш и внешней морфологии представители этого класса сильно различаются по механизмам определения пола. К сожалению, современные знания о механизмах определения пола внутри этого таксона ограничены лишь небольшой группой видов. Но даже из тех немногих опубликованных работ по этой теме очевидно, что эволюция системы определения пола у лучеперых рыб очень пластична: у некоторых близкородственных видов половые системы сильно различаются, имеются таксоны с относительно консервативными системами, одни и те же геномные локусы могут использоваться в роли переключателя пола независимо в разных группах. Такое разнообразие делает лучеперых рыб хорошим модельным таксоном для исследования возникновения и эволюции различных систем определения пола. В настоящем обзоре рассматриваются особенности определения пола лучеперых рыб, которые отличают их от остальных позвоночных. Особое внимание удалено различным генетическим и молекулярным механизмам определения пола, описанным в последнее время в этом таксоне.

Ключевые слова: позвоночные, половые хромосомы, гены-определители пола.

Лучеперые рыбы представляют собой самый многочисленный класс позвоночных и включают в себя более 24 тыс. видов рыб (Nelson 1994), проживающих в разнообразных типах водоемов по всему миру. Эта группа вызывает особый интерес с точки зрения изучения механизмов и эволюции определения пола у позвоночных. Исследование определения пола у немодельных групп организмов (в частности, рыб, амфибий и пресмыкающихся) расширило наше понимание этого процесса за пределы очень консервативных и однообразных систем млекопитающих и птиц. Несмотря на то что подробно было изучено лишь небольшое количество видов рыб, удалось выявить много разнообразных механизмов определения пола, зачастую уникальных на уровне вида. Многие процессы и каскады консервативны даже между рыбами и млекопитающими. Большинство видов рыб хорошо поддается искусственноому разведению, именно на этой группе можно исследовать и тестировать теоретические концепции определения пола, начиная от эволюционных механизмов и заканчивая биохимическими процессами. В изучении половых систем рыб есть и практическая значимость, поскольку рыбы представляют собой важный источник пищи, а многие их виды разводят искусственно в рыбных хозяйствах. Зная особенности биологии размножения рыб, в том числе молекулярные, можно значительно повысить эффективность таких хозяйств.

### Особенности определения пола у лучеперых рыб

Пол лучеперых рыб может определяться как генетически, так и факторами окружающей среды (температура, содержание кислорода, заселенность водоема) (Devlin, Nagahama, 2002). Гетерогаметным может быть как мужской (XX/XY), так и женский (ZZ/ZW) пол, причем даже у близкородственных видов за небольшие промежутки времени (10—15 млн лет) может происходить переход от одной системы к другой (Kikuchi, Hamaguchi, 2013). У многих видов кариологически определить систему половых хромосом невозможно, поскольку у них либо имеющиеся половые хромосомы гомоморфны (Devlin, Nagahama, 2002), либо пол определяется только факторами окружающей среды. В большинстве же случаев вопрос о механизмах определения пола у отдельных видов лучеперых рыб до сих пор не разрешен. Еще меньше известно о генах, которые запускают каскад дифференциации гонад в мужскую или женскую сторону. У млекопитающих и птиц такими половыми детерминантами являются гены *Sry* и *Dmrt1*, у рыб же было обнаружено по меньшей мере пять разных генов, четыре из которых не являются факторами транскрипции и регулируют определение пола совсем иначе (Kikuchi, Hamaguchi, 2013). Стоит отметить, что обнаруженные половые детерминанты, вероятно, представляют собой лишь верхушку айсберга, большинство генов-определителей пола еще не обнаружено. Ско-

рее всего, такая эволюционная пластиность в генах и системах определения пола может играть важную роль в процессах видеообразования (Cioffi et al., 2013; Kikuchi, Hamaguchi, 2013).

Рыбка Данио рерио (*Danio rerio*) является одним из модельных видов молекулярной биологии и генетики. К сожалению, ген-определитель пола у этого вида обнаружить не удается (Anderson et al., 2012). Примечательно, что, несмотря на гомоморфность половых хромосом данио рерио (Pijnacker, Ferwerda, 1995; Daga et al., 1996; Traut, Winking, 2001; Phillips et al., 2006), удалось обнаружить полоспецифичные локусы, что подтверждает роль генетического определения пола у этого вида (Bradley et al., 2011). При этом разнообразные факторы окружающей среды, такие как гипоксия, высокая температура и перенаселенность водоема, оказывают влияние на соотношение полов (Pelegrini, Schulte-Merker, 1999; Uchida et al., 2004; Shang et al., 2006; Abozaid et al., 2011). По-видимому, определение пола у этого вида пластично и может определяться как генетическими факторами, так и факторами окружающей среды (Siegfried, 2010). Интересно, что в недавних работах было показано, что пол у данио рерио, скорее всего, определяется не одним геном, а группой генов (Anderson et al., 2012; Liew et al., 2012).

Для изучения системы определения пола у рыб отряда осетрообразных (Acipenseriformes) был проведен ряд экспериментов с воспроизведением процесса гиногенеза — частного случая партеногенеза, при котором спермий проникает в яйцеклетку, но слияния их ядер не происходит, т. е. в развитии потомства участвует только материнский геном. Во всех этих экспериментах было показано, что при размножении материнской особи гиногенезом в потомстве получались особи как женского, так и мужского пола в процентном соотношении примерно 65 : 35 (Mims et al., 1997; Van Eenennaam et al., 1999; Omoto et al., 2005; Flynn et al., 2006). Это говорит о том, что женский пол является гетерогаметным, т. е. осетрообразные имеют систему определения пола ZZ/ZW (Saber, Hallajian, 2013). Несмотря на множество экспериментальных попыток найти какие-либо половые маркеры у осетрообразных, ни один из экспериментов до сих пор не увенчался успехом (McCormick et al., 2008). Одной из причин этого являются сложности, вызванные палеополиплоидным статусом генома осетрообразных (Blacklide, Bidwell 1993; Ludwig et al., 2001).

### Гены, вовлеченные в определение пола рыб

К настоящему времени хорошо исследованы гены-определители пола только млекопитающих и птиц. Продукты генов *Sry* и *Dmrt1* представляют собой факторы транскрипции, которые регулируют определение пола по схожему механизму (Goodfellow, Lovell-Badge, 1993; Smith et al., 2009). У остальных позвоночных о генах подобного рода известно мало. По-видимому, копии гена *Dmrt1* могут независимо приобретать функцию определения пола, как было установлено у некоторых амфибий и рыб (гены *Dmw* и *Dmy* (Ezaz, Graves, 2012)). Недавние исследования показали, что развитие гонад по определенному типу может переключаться не только факторами транскрипции (*Sry*, *Dmrt1*, *Dmy* и *Dmw*), но и факторами роста (*Gsdf* и *Amhy*) и их рецепторами (*Amhr2*), а также генами не из полового каскада (*SdY*).

Гены *Dmy* и *Gsdf*. Пол у японской медаки *Oryzias latipes* определяется системой XX/XY, где Y-хромосома содержит ген-определитель пола — *Dmy*, гомолог гена *Dmrt1* (Matsuda et al., 2002; Nanda et al., 2002). Около 15 млн лет назад фрагмент, содержащий *Dmrt1*, удвоился, и одна из копий была перенесена на другую хромосому предкового вида медаки, тем самым превратив ее в Y-хромосому, а ее гомолог — в X-хромосому (Saber et al., 2004, 2006; Herpin, Schartl, 2009). *Dmrt1* экспрессируется в гонадах на стадии эмбриона у многих видов позвоночных, этот ген не всегда является главным половым детерминантом, но, как было показано, он необходим для дифференциации семенников у млекопитающих, курицы и медаки (Raymond et al., 2000; Smith et al., 2009; Masuyama et al., 2012). Известно, что *Dmy* медаки экспрессируется в соматических клетках, окружающих первичные половые клетки самцов. Экспрессия этого гена является необходимым и достаточным условием для запуска дифференциации семенников из первичных гонад (Matsuda et al., 2002, 2007). Хотя полоспецифичная регуляция морфогенеза и генной экспрессии гонад однозначно контролируется геном *Dmy*, вопрос о связи этих событий и функции гена *Dmy* не изучен подробно. Несмотря на значительное внимание к гену *Dmy*, известно лишь то, что продукт этого гена влияет на его экспрессию, а остальные мишени до сих пор не охарактеризованы (Herpin et al., 2010).

У других представителей рода *Oryzias* смена системы половых хромосом и основной половой детерминанты происходила у близкородственных видов всего за несколько миллионов лет (Kondo et al., 2004; Takehana et al., 2005, 2007a, 2007b; Tanaka et al., 2007). Среди исследованных восьми видов *Dmy* играет роль гена-определителя пола только у *O. latipes* и *O. curvinotus* (Matsuda 2003; Kondo et al., 2004; Takehana et al., 2008). Сравнительный анализ показал, что у шести видов с XX/XY-системой и у двух с ZZ/ZW существует как минимум 7 систем неортологичных половых хромосом. Таким образом, виды рода *Oryzias* являются удобной модельной группой для изучения механизмов, которые привели к резкой смене системы половых хромосом. Японская медака и близкородственные виды *O. luzonensis* и *O. curvinotus* разошлись около 10 млн лет назад (Kondo et al., 2004), при этом *O. curvinotus* сохранил *Dmy* в качестве половой детерминанты, а *O. luzonensis* утратил этот ген (Kondo et al., 2004; Tanaka et al., 2007), и его место, по-видимому, занял ген *Gsdf* (Myosho et al., 2012). Ген *Gsdf* кодирует секреторный белок, принадлежащий к суперсемейству TGF-β (Sawatari et al., 2007). Продукт этого гена был изначально обнаружен как соматический фактор, контролирующий пролиферацию первичных половых клеток и спермогониев у радужной форели (Sawatari et al., 2007). Экспрессия этого гена была обнаружена также в гонадах японской медаки и данио рерио (Shibata et al., 2010; Gautier et al., 2011). По-видимому, *Gsdf* является геном, уникальным для kostистых рыб (Sawatari et al., 2007; Gautier et al., 2011). На данный момент рецепторы для *Gsdf* неизвестны. В отличие от других генов-определителей пола *Gsdf* располагается не на одной, а на обеих половых хромосомах (X и Y) *O. luzonensis* (Myosho et al., 2012). Эксперименты с использованием трансгенеза показали, что присутствие аллеля этого гена с Y-хромосомы (*GsdfY*) достаточно для того, чтобы вызвать смену пола у 94 % XX-самок (Myosho et al., 2012). Примечательно, что эксперименты по трансгенезу показали, что *GsdfY* из *O. luzonensis* приводит к продукции мужского фенотипа у XX-индивидуов

японской медаки при отсутствии *Dmy* (Myosho et al., 2012). Учитывая, что пространственный и временной паттерн экспрессии *Gsdf* в *O. luzonensis* очень похож на паттерн экспрессии *Dmy* японской медаки (Shibata et al., 2010) и то, что паттерны экспрессии генов, лежащих ниже в каскаде дифференциации гонад таких как *Sox9a2*, *Dmrt1* и *Foxl2* у японской медаки и *O. luzonensis*, похожи (Nakamoto et al., 2009), изменения в системе определения пола, произошедшие у *O. luzonensis*, могут быть объяснены следующим образом: ген, лежащий ниже по каскаду (*Gsdf*), стал независим от старого гена-определятеля пола (*Dmy*) и взял на себя функцию контроля в определении пола (Myosho et al., 2012).

Гены *Amhy* и *Amhr2*. Со временем обнаружения гена *Dmy* у японской медаки не удавалось найти новые половые детерминанты у рыб, и только недавно такой ген был идентифицирован. У патагонской атерины *Odontesthes hatcheri* была описана половая система XX/XY (Strüssmann et al., 1997), а температура созревания зародыша влияет на пол особи только при экстремальных значениях; у близкого же вида *O. bonariensis* пол определяется только в зависимости от температуры созревания зародыша (Strüssmann et al., 1996). Дуплицированная копия гена антиミュллерова гормона (*Amh*), обнаруженная у самцов патагонской атерины и названная *Amhy*, является основным кандидатом на роль гена-определятеля пола у этого вида (Hattori et al., 2012). *Amh* — секреторный белок, принадлежащий к суперсемейству TGF-β, необходимый для развития и поддержания репродуктивных органов млекопитающих (Mishina et al., 1996; Drummond, 2005; Fan et al., 2011), у которых он также отвечает за регрессию мюллера канала у самцов (Mishina et al., 1996). Хотя у костистых рыб мюллера канала нет, белок гена *Amh* вовлечен в регуляцию пролиферации зародышевых клеток у японской медаки (Shiraishi et al., 2008) и в сперматогенез у японского угря (Miura et al., 2002). Экспрессия *Amhy* у самцов патагонской атерины начинается до появления первых признаков морфологической дифференциации гонад, в то время как экспрессии аутосомного *Amh* на этой стадии в гонадах самцов и самок не обнаружено (Hattori et al., 2012). Выключение *Amhy* с помощью морфолиновых олигонуклеотидов приводило к смене пола самца на самку в 22 % случаев (11 из 50 XY-зародышей) (Hattori et al., 2012). Суммарно эти результаты подтверждают, что *Amhy*, скорее всего, является геном, запускающим формирование семенников у патагонской атерины.

Бурый фугу *Takifugu rubripes* — крупная морская рыба, обладающая очень маленьким геномом (~400 млн пар оснований), который был секвенирован еще в 2002 г. (Aparicio et al., 2002). С тех пор было выпущено несколько сборок генома этого вида (Kai et al., 2011). Эти сборки были использованы в качестве референсного генома для определения генов и других функциональных элементов геномов позвоночных (Woolfe et al., 2004) и для изучения эволюции геномов (Christoffels et al., 2004; Kai et al., 2011). У этой рыбы описана система определения пола XX/XY (Kikuchi et al., 2007). У фугу в гене рецептора второго типа антиミュллера гормона (*Amhr2*) был обнаружен полиморфизм по миссенс-мутации, ассоциированный с фенотипическим полом: в естественной популяции, состоящей из 58 самок и 47 самцов, все самцы были гетерозиготны по этой замене (G/C), а все самки гомозиготны (C) (Kamiya et al., 2012). Никакой другой полиморфизм не был настолько связан с фенотипическим полом,

к тому же тот же самый феномен был обнаружен у двух близкородственных видов фугу. Таким образом, миссенс-полиморфизм в гене *Amhr2*, по-видимому, ответствен за определение пола у фугу. *Amhr2* кодирует рецептор для продукта *Amh*, который, как упоминалось выше, является геном-определятелем пола у *O. hatcheri* (Hattori et al., 2012). *Amhr2* относится ко второму типу рецепторов для белков суперсемейства TGF-β и содержит один трансмембранный и один киназный домен (Imbeaud et al., 1995). Полоопределяющий полиморфизм у фугу находится внутри киназного домена *Amhr2* (His384Asp), который ответствен за фосфорилирование (Kamiya et al., 2012). В подтверждение полоопределяющей роли этого гена гомозиготная мутация в киназном домене *Amhr2* (Tyr390Cys) приводит к смене пола приблизительно у 50 % XY-самцов японской медаки (Morinaga et al., 2007).

Стоит отметить, что в случае *O. luzonensis*, *O. hatcheri* и *T. rubripes* определение пола регулируют не транскриptionные факторы (как, например, *Sry* у млекопитающих), а факторы роста или их рецепторы. Три вышеописанных гена — *Gsdf*, *Amhy* и *Amhr2* — являются частью TGF-β сигнального каскада. У млекопитающих было показано, что этот каскад играет значительную роль как в развитии яичников (Drummond, 2005), так и в функционировании семенников (Fan et al., 2011). По-видимому, у остальных позвоночных этот каскад может иметь более определяющую роль в развитии гонад (Smith, Sinclair, 2004). Возможные пути влияния этого каскада на определение пола и приводящие к формированию семенников включают в себя следующие процессы: 1) снижение количества зародышевых клеток, что приводит к развитию семенников, по крайней мере в случае медаки (Saito, Tanaka, 2009); 2) ингибирование ароматазы, которая оказывает большое влияние на развитие яичников (Vigier et al., 1989; di Clemente et al., 1992; Kim et al., 1992; Devlin, Nagahama, 2002; Yamamoto et al., 2002; Smith, Sinclair, 2004); 3) подавление стероидогенеза в целом (Skaar et al., 2011).

### SdY — ген, не связанный с половым каскадом

Радужная форель *Oncorhynchus mykiss* — вид лососевых, характерный для некоторых рек Азии и Северной Америки (Davidson et al., 2009). Пол у этих рыб определяется строго генетически системой XX/XY, с одним полоопределяющим локусом (Davidson et al., 2009). В исследованиях экспрессии генов в дифференцирующихся семенниках радужной форели был обнаружен ген, специфичный только для самцов, — *SdY*, экспрессирующийся только в соматических клетках, окружающих зародышевые клетки (Yano et al., 2012). Этот ген кодирует уникальный белок, который имеет гомологию с C-доменом регуляторного фактора интерферона 9 (Irf9). Irf9 — регуляторный фактор транскрипции, который является посредником в регуляции транскрипции интерферона типа I у млекопитающих (Takaoka, Yanai 2006), причем его гомолог присутствует в нескольких сборках геномов рыб (Yano et al., 2012). Ген *SdY*, по-видимому, является специфичным для лососевых, так как его гомолог у других костистых рыб не был обнаружен в геномных базах данных (Yano et al., 2012). Микроинъекции кДНК гена *SdY* с его промоторным регионом в икру радужной форели приводили к развитию у части XX-мальков семенни-

ков (Yano et al., 2012). Направленная инактивация этого гена приводила к развитию яичников у XY-мальков. Судя по этим результатам, можно смело утверждать, что *SdY* является геном, запускающим развитие семенников у растущей форели.

Основываясь на том факте, что интерфероны подавляют стероидогенез в культурах клеток Лейдига млекопитающих (Diemer et al., 2003), можно предположить, что интерфероновый сигнальный путь влияет на развитие гонад через ингибирование стероидогенеза (Yano et al., 2012), однако вовлеченность интерферонового каскада в развитие семенников позвоночных пока недостаточно изучена (Yano et al., 2012). К тому же *SdY*, очевидно, появился в результате дивергенции белка *Irf9* (47 % идентичности), поэтому *SdY* мог приобрести совершенно новую функцию и потерять функциональность первоначального *Irf9* (Yano et al., 2012). Пример *SdY* демонстрирует, что взять на себя функцию контроля определения пола может не только ген из полового каскада, но и совершенно новый ген, не связанный напрямую с полом.

### Пластичность эволюции половых хромосом рыб

Пластичность половых хромосом лучеперых, вероятно, обусловлена необходимостью поддержания их слабодифференцированного состояния. Генетическое определение пола является более надежным способом поддержания постоянного соотношения числа самок и самцов в популяции, чем определение пола под воздействием факторов окружающей среды. Однако при сильном изменении условий обитания это соотношение все же будет нарушено, из-за чего возникнет потребность в новых механизмах определения пола, способных вернуть популяцию в прежнее состояние. Так могут распространиться и закрепиться новые аллели, тем или иным образом влияющие на пол особи. Это также может быть одной из причин быстрой эволюции систем определения пола рыб (Volff et al., 2007; Kikuchi, Hamaguchi, 2013).

У лучеперых рыб встречаются как простые системы половых хромосом, состоящие из двух элементов (XX/XY и ZZ/ZW), так и сложные, состоящие из множества элементов и произошедшие в результате транслокаций аутосом на половые хромосомы. Обычно половые хромосомы простых систем морфологически между собой различаются слабо (Oliveira et al., 2007), хотя зачастую на одной из хромосом появляются гетерохроматиновые блоки (Salvadori et al., 2008; da Silva et al., 2014). В настоящее время одним из немногих исключений являются представители семейств Synodontidae и Aulopidae (отряд Aulopiformes), имеющие высокодифференцированные половые хромосомы (ZZ/ZW), по возрасту сопоставимые с полевыми хромосомами птиц (Ota et al., 2003). У многих кариотипированных видов рыб половых хромосом обнаружено не было (Morescalchi et al., 2006; Szczepanski et al., 2010; Alves et al., 2014), однако это не исключает возможности наличия в кариотипе гомоморфных половых хромосом, особенно если генетическое определение пола показано у родственных групп.

Стоит отметить, что из-за хладнокровности рыб механизмы определения пола и дифференциации гонад сильно подвержены воздействию условий окружающей среды, что может приводить к несоответствию физиоло-

гического пола особи ее генетическому полу (Phillips 2013). В такой ситуации значительные различия между половыми хромосомами (в частности, высокая степень деградации одной из хромосом у гетерогаметного пола) могут привести к нарушениям, связанным с неправильной дозой генов. Поэтому слабодифференцированные половые хромосомы являются более выгодными при естественном отборе. Однако поскольку со временем дифференциация половых хромосом будет неизбежно происходить за счет торможения рекомбинации и накопления мутаций, то необходимы эволюционные механизмы, позволяющие предотвратить или замедлить ее.

По-видимому, существует два возможных варианта таких механизмов: возникновение на аутосоме нового локуса, определяющего пол, либо перемещение (транслокация или транспозиция) уже имеющегося локуса на аутосому (Kikuchi, Hamaguchi, 2013; Phillips 2013). Оба эти способа приводят к одному из двух конечных результатов. 1. Функция половых хромосом полностью переходит к новой паре, где один из гомологов несет определяющий пол локус, переместившийся на него недавно либо возникший *de novo*. В таком случае особи с менее дифференцированными половыми хромосомами имеют преимущество при отборе, а старые половые хромосомы становятся аутосомами, причем гомолог с большей степенью деградации в итоге элиминируется (Kikuchi, Hamaguchi, 2013). 2. Другим вариантом может быть частичное или полное объединение имеющейся половой хромосомы с аутосомой в результате транслокации большого участка. Это приводит к появлению так называемых множественных половых хромосом, что также временно предотвращает деградацию (Cardoso et al., 2015). Несмотря на то что о половых хромосомах рыб известно больше, чем о генах-определителях пола, все равно требуется дальнейшее изучение кариотипов лучеперых с помощью современных цитогенетических методов с привлечением большего количества видов из различных семейств.

### Заключение

Лучеперые рыбы — очень удобный модельный таксон для изучения эволюции и функционирования механизмов определения пола. К сожалению, подавляющее большинство видов этого класса еще не изучено генетическими методами. В настоящее время все большее значение приобретают методы секвенирования нового поколения и новые молекулярные подходы, такие как RADSeq (Anderson et al., 2012; Gamble et al., 2015). Идентификация генов-кандидатов на роль определителя пола возможна с помощью биоинформационных методов, а подтверждение их функции требует молекулярных доказательств. С вовлечением все новых видов в проекты по секвенированию геномов в ближайшем будущем появится дополнительная материальная база для углубления наших знаний о молекулярных механизмах разнообразных процессов позвоночных, в том числе и о механизмах определения пола.

Авторы выражают признательность Н. В. Воробьевой за ценные советы и комментарии при обсуждении работы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российской научного фонда (проект 14-14-00275).

## Список литературы

- Abozaid H., Wessels S., Hörtgen-Schwarz G. 2011. Effect of rearing temperatures during embryonic development on the phenotypic sex in Zebrafish (*Danio rerio*). *Sex. Develop.* 5 : 259—265.
- Alves M. A., Monteiro-Junior J. E., Oliveira C. M., Silveira R. M., Costa I. R., Maggioni R. 2014. Chromosomes of Gymnotorhax funebris and the karyotypical differentiation within Gymnotorhax (Anguilliformes: Muraenidae). *Genet. Mol. Res. GMR.* 13 : 1127—1132.
- Anderson J. L., Rodríguez Mari A., Braasch I., Amores A., Hohenlohe P., Batzel P., Postlethwait J. H. 2012. Multiple sex-associated regions and a putative sex chromosome in Zebrafish revealed by RAD mapping and population genomics. *PLoS ONE.* 7 : e40701.
- Aparicio S., Chapman J., Stupka E. et al. 2002. Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of Fugu rubripes. *Science.* 297 : 1301—1310.
- Blackledge K. H., Bidwell C. A. 1993. Three ploidy levels indicated by genome quantification in Acipenseriformes of North America. *J. Hered.* 84 : 427—430.
- Bradley K. M., Breyer J. P., Melville D. B., Broman K. W., Knapik E. W., Smith J. R. 2011. An SNP-based linkage map for Zebrafish reveals sex determination loci. *G3 Genes Genomes Genet.* 1 : 3—9.
- Cardoso A. L., Pieczarka J. C., Nagamachi C. Y., Cardoso A. L., Pieczarka J. C., Nagamachi C. Y. 2015. X1X1X2X2/X1X2Y sex chromosome systems in the neotropical Gymnotiformes electric fish of the genus Brachyhypopomus. *Genet. Mol. Biol.* 38 : 213—219.
- Christoffels A., Koh E. G. L., Chia J., Brenner S., Aparicio S., Venkatesh B. 2004. Fugu genome analysis provides evidence for a whole-genome duplication early during the evolution of ray-finned fishes. *Mol. Biol. Evol.* 21 : 1146—1151.
- Cioffi M. B., Liehr T., Trifonov V., Molina W. F., Bertollo L. A. C. 2013. Independent sex chromosome evolution in lower vertebrates: a molecular cytogenetic overview in the Erythrinidae fish family. *Cytogenet. Genome Res.* 141 : 186—194.
- Clemente N. di, Ghaffari S., Pepinsky R. B., Pieau C., Josso N., Cate R. L., Vigier B. 1992. A quantitative and interspecific test for biological activity of anti-mullerian hormone: the fetal ovary aromatase assay. *Development.* 114 : 721—727.
- Daga R. R., Thode G., Amores A. 1996. Chromosome complement, C-banding, Ag-NOR and replication banding in the zebrafish *Danio rerio*. *Chromosome Res.* 4 : 29—32.
- Davidson W. S., Huang T.-K., Fujiki K., Schalburg K. R., von Koop B. F. 2009. The sex determining loci and sex chromosomes in the family Salmonidae. *Sex. Develop.* 3 : 78—87.
- Devlin R. H., Nagahama Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture.* 208 : 191—364.
- Diemer T., Hales D. B., Weidner W. 2003. Immune-endocrine interactions and Leydig cell function: the role of cytokines. *Andrologia.* 35 : 55—63.
- Drummond A. E. 2005. TGF $\beta$  signalling in the development of ovarian function. *Cell Tissue Res.* 322 : 107—115.
- Ezaz T., Graves J. A. M. 2012. Foreword: sex and sex chromosomes — new clues from nonmodel species. *Chromosome Res.* 20 : 1—5.
- Fan Y.-S., Hu Y.-J., Yang W.-X. 2011. TGF- $\beta$  superfamily: how does it regulate testis development. *Mol. Biol. Rep.* 39 : 4727—4741.
- Flynn S. R., Matsuoka M., Reith M., Martin-Robichaud D. J., Benfey T. J. 2006. Gynogenesis and sex determination in shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesuerre. *Aquaculture.* 253 : 721—727.
- Gamble T., Coryell J., Ezaz T., Lynch J., Scantlebury D. P., Zarkower D. 2015. Restriction site-associated DNA sequencing (RAD-seq) reveals an extraordinary number of transitions among gecko sex-determining systems. *Mol. Biol. Evol.* 00 : 000—000.
- Gautier A., Le Gac F., Lareyre J.-J. 2011. The *gsdf* gene locus harbors evolutionary conserved and clustered genes preferentially expressed in fish previtellogenetic oocytes. *Gene.* 472 : 7—17.
- Goodfellow P. N., Lovell-Badge R. 1993. SRY and sex determination in Mammals. *Annu. Rev. Genet.* 27 : 71—92.
- Hattori R. S., Murai Y., Oura M., Masuda S., Majhi S. K., Sakamoto T., Fernandino J. I., Somoza G. M., Yokota M., Strussmann C. A. 2012. A Y-linked anti-Müllerian hormone duplication takes over a critical role in sex determination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109 : 2955—2959.
- Herpin A., Braasch I., Kraeussling M., Schmidt C., Thoma E. C., Nakamura S., Tanaka M., Schartl M. 2010. Transcriptional rewiring of the sex determining *dmrt1* gene duplicate by transposable elements. *PLoS Genet.* 6 : e1000844.
- Herpin A., Schartl M. 2009. Molecular mechanisms of sex determination and evolution of the Y-chromosome: insights from the medakafish (*Oryzias latipes*). *Mol. Cell. Endocrinol.* 306 : 51—58.
- Imbeaud S., Faure E., Lamarre I., Mattéi M. G., di Clemente N., Tizard R., Carre-Eusebe D., Belville C., Tragethon L., Tonkin C., Nelson J., McAuliffe M., Bidart J. M., Lababidi A., Josso N., Cate R. L., Picard J. Y. 1995. Insensitivity to anti-Müllerian hormone due to a mutation in the human anti-Müllerian hormone receptor. *Nat. Genet.* 11 : 382—388.
- Kai W., Kikuchi K., Tohari S., Chew A. K., Tay A., Fujiwara A., Hosoya S., Suetake H., Naruse K., Brenner S., Suzuki Y., Venkatesh B. 2011. Integration of the genetic map and genome assembly of Fugu facilitates insights into distinct features of genome evolution in teleosts and Mammals. *general. Biol. Evol.* 3 : 424—442.
- Kamiya T., Kai W., Tasumi S., Oka A., Matsunaga T., Mizuno N., Fujita M., Suetake H., Suzuki S., Hosoya S., Tohari S., Brenner S., Miyadai T., Venkatesh B., Suzuki Y., Kikuchi K. 2012. A trans-species missense SNP in Amhr2 is associated with sex determination in the Tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* (Fugu). *PLoS Genet.* 8 : e1002798.
- Kikuchi K., Hamaguchi S. 2013. Novel sex-determining genes in fish and sex chromosome evolution. *Develop. Dyn.* 242 : 339—353.
- Kikuchi K., Kai W., Hosokawa A., Mizuno N., Suetake H., Asahina K., Suzuki Y. 2007. The sex-determining locus in the Tiger pufferfish, *Takifugu rubripes*. *Genetics.* 175 : 2039—2042.
- Kim J. H., Seibel M. M., MacLaughlin D. T., Donahoe P. K., Ransil B. J., Hametz P. A., Richards C. J. 1992. The inhibitory effects of mullerian-inhibiting substance on epidermal growth factor induced proliferation and progesterone production of human granulosa-luteal cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75 : 911—917.
- Kondo M., Hornung U., Nanda I., Imai S., Sasaki T., Shimizu A., Asakawa S., Hori H., Schmid M., Shimizu N., Schartl M. 2006. Genomic organization of the sex-determining and adjacent regions of the sex chromosomes of medaka. *Genome Res.* 16 : 815—826.
- Kondo M., Nanda I., Hornung U., Schmid M., Schartl M. 2004. Evolutionary origin of the Medaka Y chromosome. *Curr. Biol.* 14 : 1664—1669.
- Liew W. C., Bartfai R., Lim Z., Sreenivasan R., Siegfried K. R., Orban L. 2012. Polygenic sex determination system in Zebrafish. *PLoS ONE.* 7 : e34397.
- Ludwig A., Belfiore N. M., Pitra C., Svirsky V., Jennecken I. 2001. *Genome Duplication Events and Functional Reduction of Ploidy Levels in Sturgeon (Acipenser, Huso and Scaphirhynchus)*. *Genetics.* 158 : 1203—1215.
- Masuyama H., Yamada M., Kamei Y., Fujiwara-Ishikawa T., Todo T., Nagahama Y., Matsuoka M. 2012. *Dmrt1* mutation causes a male-to-female sex reversal after the sex determination by *Dmy* in the medaka. *Chromosome Res. Int. J. Mol. Supramol. Evol. Asp. Chromosome Biol.* 20 : 163—176.
- Matsuda M. 2003. Sex determination in fish: lessons from the sex-determining gene of the teleost medaka, *Oryzias latipes*. *Develop. Growth Differ.* 45 : 397—403.
- Matsuda M., Nagahama Y., Shinomiya A., Sato T., Matsuoka C., Kobayashi T., Morrey C. E., Shibata N., Asakawa S., Shimizu N., Hori H., Hamaguchi S., Sakaizumi M. 2002. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature.* 417 : 559—563.

- Matsuda M., Shinomiya A., Kinoshita M., Suzuki A., Kobayashi T., Paul-Prasanth B., Lau E., Hamaguchi S., Sakaizumi M., Nagahama Y. 2007. DMY gene induces male development in genetically female (XX) medaka fish. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 104 : 3865—3870.
- McCormick C. R., Bos D. H., DeWoody J. A. 2008. Multiple molecular approaches yield no evidence for sex-determining genes in lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*). J. Appl. Ichthyol. 24 : 643—645.
- Mims S. D., Shelton W. L., Linhart O., Wang C. 1997. Induced meiotic gynogenesis of paddlefish *Polyodon spathula*. J. World Aquac. Soc. 28 : 334—343.
- Mishina Y., Rey R., Finegold M. J., Matzuk M. M., Josso N., Cate R. L., Behringer R. R. 1996. Genetic analysis of the Müllerian-inhibiting substance signal transduction pathway in mammalian sexual differentiation. Genes Develop. 10 : 2577—2587.
- Miura T., Miura C., Konda Y., Yamauchi K. 2002. Spermatogenesis-preventing substance in Japanese eel. Development. 129 : 2689—2697.
- Morescalchi M. A., Liguori I., Rocco L., Stingo V. 2006. Karyotypic characterization and genomic organization of the 5S rDNA in *Erpetoichthys calabaricus* (Osteichthyes, Polypteridae). Genetica. 131 : 209—216.
- Morinaga C., Saito D., Nakamura S., Sasaki T., Asakawa S., Shimizu N., Mitani H., Furutani-Seiki M., Tanaka M., Kondoh H. 2007. The hotei mutation of medaka in the anti-Müllerian hormone receptor causes the dysregulation of germ cell and sexual development. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 104 : 9691—9696.
- Myosho T., Otake H., Masuyama H., Matsuda M., Kuroki Y., Fujiyama A., Naruse K., Hamaguchi S., Sakaizumi M. 2012. Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis*. Genetics. 191 : 163—170.
- Nakamoto M., Muramatsu S., Yoshida S., Matsuda M., Nagahama Y., Shibata N. 2009. Gonadal sex differentiation and expression of Sox9a2, Dmrt1, and Foxl2 in *Oryzias luzonensis*. Genesis. 47 : 289—299.
- Nanda I., Kondo M., Hornung U., Asakawa S., Winkler C., Shimizu A., Shan Z., Haaf T., Shimizu N., Shima A., Schmid M., Schartl M. 2002. A duplicated copy of DMRT1 in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 99 : 11 778—11 783.
- Nelson J. S. 1994. Fishes of the world. New York: Wiley. 624 p.
- Oliveira R. R., de, Feldberg E., dos Anjos M. B., Zuanon J. 2007. Occurrence of multiple sexual chromosomes (XX/XY1Y2 and Z1Z1Z2Z2/Z1Z2W1W2) in catfishes of the genus *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from the Amazon basin. Genetica. 134 : 243—249.
- Omoto N., Maebayashi M., Adachi S., Arai K., Yamauchi K. 2005. Sex ratios of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso huso* female  $\times$  *Acipenser ruthenus* male). Aquaculture. 245 : 39—47.
- Ota K., Tateno Y., Gojobori T. 2003. Highly differentiated and conserved sex chromosome in fish species (*Aulopus japonicus*: Teleostei, Aulopidae). Gene. 317 : 187—193.
- Pelegrí F., Schulte-Merker S. 1999. A gynogenesis-based screen for maternal-effect genes in the zebrafish, *Danio rerio*. Methods Cell Biol. 60 : 1—20.
- Phillips R. B. 2013. Evolution of the sex chromosomes in Salmonid fishes. Cytogenet. Genome Res. 141 : 177—185.
- Phillips R. B., Amores A., Morasch M. R., Wilson C., Postlethwait J. H. 2006. Assignment of zebrafish genetic linkage groups to chromosomes. Cytogenet. Genome Res. 114 : 155—162.
- Pijnacker L. P., Ferwerda M. A. 1995. Zebrafish chromosome banding. Genome 38 : 1052—1055.
- Raymond C. S., Murphy M. W., O'Sullivan M. G., Bardwell V. J., Zarkower D. 2000. Dmrt1, a gene related to worm and fly sexual regulators, is required for mammalian testis differentiation. Genes Develop. 14 : 2587—2595.
- Saber M. H., Hallajian A. 2013. Study of sex determination system in ship sturgeon, *Acipenser nudipectoralis* using meiotic gynogenesis. Aquac. Int. 22 : 273—279.
- Saito D., Tanaka M. 2009. Comparative aspects of gonadal sex differentiation in medaka: a conserved role of developing oocytes in sexual canalization. Sex. Develop. Genet. Mol. Biol. Evol. Endocrinol. Embryol. Pathol. Sex Determ. Differ. 3 : 99—107.
- Salvadori S., Coluccia E., Cannas R., Cau A., Deiana A. M. 2008. A ZZ-ZW sex chromosome system in the finless eel *Dalophis imberbis* (Anguilliformes, Ophichthidae). Genetica. 135 : 283—288.
- Watatari E., Shikina S., Takeuchi T., Yoshizaki G. 2007. A novel transforming growth factor- $\beta$  superfamily member expressed in gonadal somatic cells enhances primordial germ cell and spermatogonial proliferation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Develop. Biol. 301 : 266—275.
- Szepanski T. S., Noleto R. B., Cestari M. M., Artoni R. F. 2010. A comparative study of two marine catfish (Siluriformes, Ariidae): cytogenetic tools for determining cytotaxonomy and karyotype evolution. Micron. 41 : 193—197.
- Shang E. H. H., Wu R. S. S., Yu R. M. K. 2006. Hypoxia affects sex differentiation and development, leading to a male-dominated population in Zebrafish (*Danio rerio*). Environ. Sci. Technol. 40 : 3118—3122.
- Shibata Y., Paul-Prasanth B., Suzuki A., Usami T., Nakamoto M., Matsuda M., Nagahama Y. 2010. Expression of gonadal soma derived factor (GSDF) is spatially and temporally correlated with early testicular differentiation in medaka. Gene Expr. Patterns. 10 : 283—289.
- Shiraishi E., Yoshinaga N., Miura T., Yokoi H., Wakamatsu Y., Abe S.-I., Kitano T. 2008. Müllerian inhibiting substance is required for germ cell proliferation during early gonadal differentiation in medaka (*Oryzias latipes*). Endocrinology. 149 : 1813—1819.
- Siegfried K. R. 2010. In search of determinants: gene expression during gonadal sex differentiation. J. Fish Biol. 76 : 1879—1902.
- Silva M., da, Ribeiro E. D., Matoso D. A., Sousa L. M., Hrbek T., Py-Daniel L. R., Feldberg E. 2014. Chromosomal polymorphism in two species of Hypancistrus (Siluriformes: Loricariidae): an integrative approach for understanding their biodiversity. Genetica. 142 : 127—139.
- Skaar K. S., Nobrega R. H., Magaraki A., Olsen L. C., Schulz R. W., Male R. 2011. Proteolytically activated, recombinant anti-mullerian hormone inhibits androgen secretion, proliferation, and differentiation of spermatogonia in adult zebrafish testis organ cultures. Endocrinology. 152 : 3527—3540.
- Smith C. A., Roeszler K. N., Ohnesorg T., Cummins D. M., Farlie P. G., Doran T. J., Sinclair A. H. 2009. The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken. Nature. 461 : 267—271.
- Smith C. A., Sinclair A. H. 2004. Sex determination: insights from the chicken. BioEssays. 26 : 120—132.
- Strüssmann C. A., Akaba T., Iijima K., Yamaguchi K., Yoshizaki G., Takashima F. 1997. Spontaneous hybridization in the laboratory and genetic markers for the identification of hybrids between two atherinid species, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) and *Patagonina heteroptera* (Eigenmann, 1909). Aquac. Res. 28 : 291—300.
- Strüssmann C. A., Cota J. C. C., Phonlor G., Higuchi H., Takashima F. 1996. Temperature effects on sex differentiation of two South American atherinids, *Odontesthes argentinensis* and *Patagonina heteroptera*. Environ. Biol. Fishes. 47 : 143—154.
- Takaoka A., Yanai H. 2006. Interferon signalling network in innate defence. Cell. Microbiol. 8 : 907—922.
- Takehana Y., Demiyah D., Naruse K., Hamaguchi S., Sakaizumi M. 2007a. Evolution of different Y chromosomes in two medaka species, *Oryzias dancena* and *O. latipes*. Genetics. 175 : 1335—1340.
- Takehana Y., Hamaguchi S., Sakaizumi M. 2008. Different origins of ZZ/ZW sex chromosomes in closely related medaka fishes, *Oryzias javanicus* and *O. hubbsi*. Chromosome Res. 16 : 801—811.
- Takehana Y., Naruse K., Hamaguchi S., Sakaizumi M. 2007b. Evolution of ZZ/ZW and XX/XY sex-determination systems in the

- closely related medaka species, *Oryzias hubbsi* and *O. dancena*. Chromosoma. 116 : 463—470.
- Takehana Y., Naruse K., Sakaizumi M.* 2005. Molecular phylogeny of the medaka fishes genus *Oryzias* (Beloniformes: Adrianichthyidae) based on nuclear and mitochondrial DNA sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 36 : 417—428.
- Tanaka K., Takehana Y., Naruse K., Hamaguchi S., Sakaizumi M.* 2007. Evidence for different origins of sex chromosomes in closely related *Oryzias* fishes: substitution of the master sex-determining gene. Genetics. 177 : 2075—2081.
- Traut W., Winking H.* 2001. Meiotic chromosomes and stages of sex chromosome evolution in fish: zebrafish, platyfish and guppy. Chromosome Res. 9 : 659—672.
- Uchida D., Yamashita M., Kitano T., Iguchi T.* 2004. An aromatase inhibitor or high water temperature induce oocyte apoptosis and depletion of P450 aromatase activity in the gonads of genetic female zebrafish during sex-reversal. Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 137 : 11—20.
- Van Eenennaam A. V., Van Eenennaam J. V., Medrano J. F., Doroshov S. I.* 1999. Brief communication. Evidence of female heterogametic genetic sex determination in white sturgeon. J. Hered. 90 : 231—233.
- Vigier B., Forest M. G., Eychenne B., Bezahl J., Garrigou O., Robel P., Joso N.* 1989. Anti-Mullerian hormone produces endocrine sex reversal of fetal ovaries. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 86 : 3684—3688.
- Völff J.-N., Nanda I., Schmid M., Schartl M.* 2007. Governing sex determination in fish: regulatory putsches and ephemeral dictators. Sex. Develop. 1 : 85—99.
- Woolfe A., Goodson M., Goode D. K., Snell P., McEwen G. K., Vavouri T., Smith S. F., North P., Callaway H., Kelly K., Walter K., Abnizova I., Gilks W., Edwards Y. J. K., Cooke J. E., Elgar G.* 2004. Highly conserved non-coding sequences are associated with vertebrate development. PLoS Biol. 3.
- Yamamoto N., Christenson L. K., McAllister J. M., Strauss J. F.* 2002. Growth differentiation factor-9 inhibits 3'5'-adenosine monophosphate-stimulated steroidogenesis in human granulosa and Theca cells. J. Clin. Endocrinol. Metab. 87 : 2849—2856.
- Yano A., Guyomard R., Nicol B., Jouanno E., Quillet E., Klopp C., Cabau C., Bouchez O., Fostier A., Guiguen Y.* 2012. An immune-related gene evolved into the master sex-determining gene in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. Curr. Biol. 22 : 1423—1428.

Поступила 1 XII 2015

#### DIVERSITY OF SEX DETERMINING MECHANISMS IN RAY-FINNED FISHES (ACTINOPTERYGII)

*I. G. Kichigin,<sup>1,\*</sup> D. A. Andreyushkova,<sup>1</sup> M. A. Pobedintseva,<sup>1,2</sup> V. A. Trifonov<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, 630090,

and <sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090;

\* e-mail: kig@mcb.nsc.ru

Ray-finned fishes (Actinopterygii) is a very diverse and numerous clade of vertebrates. Besides the diversity of ecological niches and morphology, species of this clade have substantial differences in mechanisms of sex determination. Unfortunately, our modern knowledge about sex determining mechanisms is limited to a small number of species. Even from the modest number of published works on this topic it is obvious that evolution of sex determining system in ray-finned fishes is very plastic: in some closely related species sex systems can be significantly different, there are taxa with quite conservative systems, and the same genomic loci may play sex determination role independently in various groups. Such diversity allows considering ray-finned fishes to be used as a convenient model taxon for researching emergence and development of different sex determining systems.

**Key words:** vertebrates, sex chromosomes, sex-determining genes.