

Научная статья / Original article

УДК 639.41(265.54)

doi:10.15853/2072-8212.2024.73.63-79

EDN: QQLMFP



ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИПЛОИДНОЙ ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ *CRASSOSTREA GIGAS* (THUNBERG, 1793) МЕТОДОМ ТЕПЛОВОГО ШОКА

Лескова Светлана Евгеньевна^{1,✉}, Синенко Анастасия Вячеславовна², Анисимова Анна Алимовна², Ковалев Николай Николаевич²

¹Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет (Дальрыбвтуз), Владивосток, Россия, svetaleskova@mail.ru

²Институт Мирового океана Дальневосточного федерального университета (ИМО ДВФУ), Владивосток, Россия

Аннотация. Впервые в практике дальневосточной аквакультуры апробирован метод тепловой индукции организменной полиплоидии у тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas*. Через 25 мин после оплодотворения был произведен экспериментальный блок мейоза путем кратковременного (3 мин) воздействия температуры 32 °C. Для оценки эффективности использования данного метода в товарном производстве тихоокеанской устрицы проведены исследования выживаемости, роста и развития контрольных и экспериментальных личинок (группы 2N и 3N соответственно) в заводских условиях, а также изучена двухлетняя динамика роста молоди в бух. Воевода о-ва Русский (зал. Петра Великого, Японское море). Методом проточной цитометрии содержания ДНК в гемоцитах в группе 3N идентифицировали 35% триплоидов, 22,5% тетраплоидов и 40% гетероплоидов. Максимальный весовой прирост устриц в группе 3N (0,34 г/сут) наблюдали на втором году жизни в летний период, максимальную скорость линейного роста (1,55 мм/сут) — в сентябре второго года. В группе 2N соответствующие показатели составили 0,31 г/сут и 1,47 мм/сут. Через 22 месяца 57,9% диплоидов и 80,9% полиплоидов достигли товарных размеров. Общий вес устриц в группе 3N составил $124,6 \pm 2,7$ г, что на 43% больше, чем в группе 2N.

Ключевые слова: тихоокеанская устрица, индуцированная полиплоидия, температурный метод, триплоидность, проточная цитометрия, личиночное развитие, размерный состав, весовой состав, весовой рост, линейный рост

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке ДВФУ (Программа стратегического академического лидерства «Приоритет-2030»: Мировой океан, по инициативной тематике № 23-05-1.06-0016 по теме в рамках реализации проекта «Технологии контроля состояния здоровья и улучшения показателей роста объектов аквакультуры») и предприятия мариккультуры ООО «Дальстам-Марин».

Для цитирования: Лескова С.Е., Синенко А.В., Анисимова А.А., Ковалев Н.Н. Опыт получения полиплоидной тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) методом теплового шока // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2024. № 73. С. 63–79. EDN: QQLMFP. doi:10.15853/2072-8212.2024.73.63-79

EXPERIMENTAL OBTAINING THE POLYPLOID PACIFIC OYSTER *CRASSOSTREA GIGAS* (THUNBERG, 1793) VIA A HEAT SHOCK

Svetlana E. Leskova^{1,✉}, Anastasiya V. Sinenko², Anna A. Anisimova², Nikolay N. Kovalev²

¹Far Eastern State Technical Fisheries University (Dalrybvtuz), Vladivostok, Russia, svetaleskova@mail.ru

²Institute of the World Ocean, Far Eastern Federal University (FEFU), Vladivostok, Russia

Abstract. Method of thermal induction was tested for the first time in the practice of Far Eastern aquaculture to obtain polyploid Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Experimental blocking of meiosis was performed 25 min after fertilisation by brief (3 min) exposure to the temperature of 32 °C. Efficiency of the method was evaluated with assessment of survival, growth and development of control and experimental larvae (groups 2N and 3N, respectively) in conditions of plant. Growth rate of juvenile *Crassostrea gigas* in Voyevoda Bay, Russky Island (Peter the Great Bay, the Sea of Japan) during two years was studied also. The content of DNA in haemocytocytes evaluated using flow cytometry revealed 35% triploids, 22.5% tetraploids and 40% heteroploids in the group 3N. The maximum weight increment in this group (0.34 g/day) was observed in summer at the second year of life, and the maximum linear growth rate (1.55 mm/day) – in September at the second year. The values for the group 2N were 0.31 g/day and 1.47 mm/day respectively. After 22 months, 57.9% of diploid and 80.9% of polyploid oysters reached their commercial size. The total weight of oysters in the group 3N was 124.6 ± 2.7 g, what was 43% more compared to the group 2N.

Keywords: Pacific oyster, induced polyploidy, temperature method, triploidy, flow cytometry, larval development, size composition, weight composition, weight growth, linear growth

Funding. The work was carried out with the financial support of FEFU (Strategic Academic Leadership Program “Priority-2030”: World Ocean, under the initiative theme № 23-05-1.06-0016 under the project “Technologies for health control and improvement of growth indicators of aquaculture objects”) and the mariculture enterprise “Dahlstam-Marin” LLC.

For citation: Leskova S.E., Sinenko A.V., Anisimova A.A., Kovalev N.N. Experimental obtaining the polyploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) via a heat shock // The researches of the aquatic biological resources of Kamchatka and the north-west part of the Pacific Ocean, 2024, vol. 73, pp. 63–79. EDN: QQLMFP. doi:10.15853/2072-8212.2024.73.63-79

В 2020 году в мире было произведено 610,3 тыс. тонн гигантской (тихоокеанской) устрицы *Crassostrea gigas* (ФАО, 2022), что составляет 3,4% от общего объема мировой аквакультуры моллюсков. В практике морских хозяйств заводское получение спата тихоокеанской устрицы распространено достаточно широко. У побережья Южного Приморья интерес к выращиванию молодежи *C. gigas* в контролируемых условиях обозначился в последние годы в связи с увеличением спроса на товарную устрицу и, соответственно, необходимостью получения больших объемов посадочного материала. При этом сбор спата на коллекторы в акватории зал. Петра Великого не позволяет ежегодно обеспечивать стабильно высокие урожаи, так как гидрологические условия не всегда способствуют успешному воспроизводству этого субтропическо-низкобореального вида (Табельская, Гаврилова, 2021).

Технология управления хромосомными наборами путем индукции генеративной полиплоидии показала высокий потенциал для улучшения производства двустворчатых моллюсков в аквакультуре (Rasmussen, Morrissey, 2007). Получение триплоидов — важная и успешная техника выращивания устриц, которая позволяет ускорить рост молодежи до товарных размеров и избежать потери пищевой ценности за счет подавления гаметогенеза (Yang et al., 2018). У триплоидных самцов *C. gigas* сперматогенез останавливается на стадии зиготены, а блок мейоза индуцирует апоптоз половых клеток и ограничивает рост гонадных канальцев (Chen et al., 2024). Таким образом, энергия, используемая диплоидами для развития и функционирования репродуктивной системы, у стерильных триплоидных особей направляется на соматический рост и выживание (Yang et al., 2018). Многолетний опыт выращивания устриц указывает на их высокую смертность от «летней болезни», которая, как полагают, вызвана физиологическим стрессом во время размножения (Helm, 2004) и, соответственно, может быть снижена за счет стерилизации моллюсков. Другая сторона вопроса заключается в снижении потребительских свойств товарной устрицы в преднерестовом,

нерестовом и посленерестовом состоянии (Rasmussen, Morrissey, 2007; Yang et al., 2018). Известно, что у двустворчатых моллюсков в репродуктивном периоде теряется качество и наполняемость мяса (Desrosiers et al., 1993). В частности, вкус тихоокеанской устрицы зависит от гликогена (Nell, 2002). Содержание гликогена в мягких тканях моллюска в весенний период уменьшается в связи с гаметогенезом, так что перед нерестом гонады могут составлять до 50% от общего веса мягких тканей (Yang et al., 2018). Соответственно, накануне и во время нереста устрицы приобретают горьковатый вкус, а после — становятся истощенными и водянистыми; таким образом, технология получения триплоидов тихоокеанской устрицы направлена на сохранение высоких органолептических показателей продукта в течение всего года (Yang et al., 2018).

Индукционный способ получения полиплоидов двустворчатых моллюсков заключается в ингибировании выхода первого или второго полярного тельца на стадии созревания оплодотворенных яиц (Rasmussen, Morrissey, 2007; Yang et al., 2018). В первом случае преимущественно образуются тетраплоиды (Guo et al., 1996; Zhang et al., 2014; Melo et al., 2022), во втором — триплоиды (Scarpa et al., 1994; Guo et al., 1996; Gardner et al., 1996; Melo et al., 2015), хотя реальное соотношение классов плоидности существенно зависит от способа воздействия, вплоть до полной инверсии пропорции 3 и 4 n (Melo et al., 2022). Было показано, что триплоидные личинки в том или ином количестве получают при остановке как первого, так и второго деления мейоза (Yamamoto, Sugawara, 1988; Goulletquer et al., 1996). Чаще всего блок мейоза вызывают химическим (цитохалазин В, 6-диметиламинопурин) или физическим (температурный шок, гидростатическое давление) воздействием в промежутке времени между оплодотворением и отделением целевого полярного тельца. Действие цитохалазина В проверено на устрицах *C. gigas* (Allen, Downing, 1986; Desrosiers et al., 1993; Guo, Allen, 1994; Gardner et al., 1996; Goulletquer et al., 1996; Guo et al., 1996; Hubert et al., 2009; Zhang et al., 2014; Melo et al.,

2015, 2022), *C. virginica* (Stanley et al., 1981), *C. madrasensis* (Mallia et al., 2006) и *Saccostrea glomerata* (Hand et al., 2004), мидиях *Mytilus galloprovincialis* (Scarpa et al., 1994) и *M. edulis* (Desrosiers et al., 1993; Scarpa et al., 1994), гребешке *Placopecten magellanicus* (Desrosiers et al., 1993). Воздействие 6-димитиламинопурина исследовали на *C. gigas* (Desrosiers et al., 1993; Gérard et al., 1994; Hand et al., 2004; Melo et al., 2015, 2022), *M. edulis* (Desrosiers et al., 1993) и *P. magellanicus* (Desrosiers et al., 1993). Физический метод был успешно применен на моллюсках *C. gigas* (Chaiton, Allen, 1985; Quillet, Panelay, 1986; Gosling, Nolan, 1989; Scarpa et al., 1994; Melo et al., 2015, 2022), *Tapes semidecussatus* (Gosling, Nolan, 1989) и *M. galloprovincialis* (Quillet, Panelay, 1986; Scarpa et al., 1994; Gosling, Nolan, 1989). На *M. galloprovincialis* были апробированы и менее распространенные индукторы триплоидии, такие как кофеин, кальций и их комбинация с тепловым шоком (Scarpa et al., 1994).

Высокая коммерческая стоимость и токсичность химических агентов ограничивают их применение в получении триплоидных устриц (Melo et al., 2015), в отличие от физических методов, которые не требуют больших финансовых затрат, являются экологичными и все чаще используются для управления хромосомными наборами двустворчатых моллюсков.

Целью настоящего исследования является оценка эффективности метода теплового шока для получения личинок триплоидной устрицы *C. gigas* с последующим выращиванием молоди до товарных размеров в зал. Петра Великого Японского моря (Южное Приморье) в условиях марикультурного хозяйства.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Оплодотворение и блок мейоза. Разновозрастные половозрелые особи *C. gigas* были извлечены из естественного устричника, находящегося в бух. Воевода о-ва Русский (зал. Петра Великого, Японское море). Гаметы получали путем естественного нереста устрицы после температурной стимуляции. Нерест происходил при температуре воды 21 °C и солености 34‰. Устриц нерестили в индивидуальных емкостях, после чего яйца собирали с помощью сита с ячейей 45 мкм и переносили в общий контейнер объемом 200 л для синхронизации оплодотворения. В этой емкости производили искусственное оплодотворение, добавляя к яйцеклеткам мужские половые продукты из расчета 8 : 1 (сперматозоиды : яйцеклетки соответственно). Далее наблюдали за развитием яиц с помощью свето-

вого микроскопа МИКМЕД-5 при увеличении ×10: отмечали количество оплодотворенных яйцеклеток и фиксировали время отделения полярных телец. Спустя 25 мин после добавления сперматозоидов к яйцеклеткам второе полярное тельце визуализировалось в более чем 50% яиц. В этот момент экспериментальную группу яиц (далее — группа 3N) подвергли действию кратковременного (3 мин) теплового шока при контролируемой температуре (32 °C), после чего яйцеклетки были возвращены в воду с температурой 21 °C для дальнейшего развития. В качестве контроля использовали группу оплодотворенных яиц, которые развивались без теплового шока, при постоянной температуре воды 21 °C (далее — группа 2N). Стадии эмбрионального развития в обеих группах отслеживали с помощью светового микроскопа МИКМЕД-5.

Содержание личинок. Полученных личинок из обеих групп содержали в идентичных контролируемых условиях до момента оседания на субстрат.

Во время развития личинок температуру воды постепенно повышали до 23 °C (0,5 °C в сутки). Соленость воды на всем протяжении развития составляла 34‰. Полную замену воды производили 1 раз в 3 дня. Морскую воду для содержания личинок предварительно очищали с помощью фильтров грубой и тонкой очистки и стерилизовали методом проточного облучения ультрафиолетом. В емкости с развивающимися личинками постоянно работала система аэрации.

Рацион экзогенного питания личинок и молоди состоял из нескольких видов микроводорослей: *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema* sp. По мере роста и развития личинок рацион изменяли от 50 тыс. до 500 тыс. кл/мл.

В обеих группах оценивали выживаемость эмбрионов и личинок на каждой стадии развития, их показатели роста и развития (рис. 1А, Б). Для осаднения спата в производственных условиях использовали перфорированные прорезиненные пластины ПВХ диаметром 30 см, применяемые в марикультуре для выращивания молоди беспозвоночных (рис. 1В, Г). После оседания спат подращивали 30 дней в лабораторных условиях и переносили в естественную среду обитания для выращивания.

Выращивание молоди и контроль соматических индексов. В естественных условиях устриц выращивали в пластиковых устричных садках-поши (рис. 1Д, Е) в придонном слое

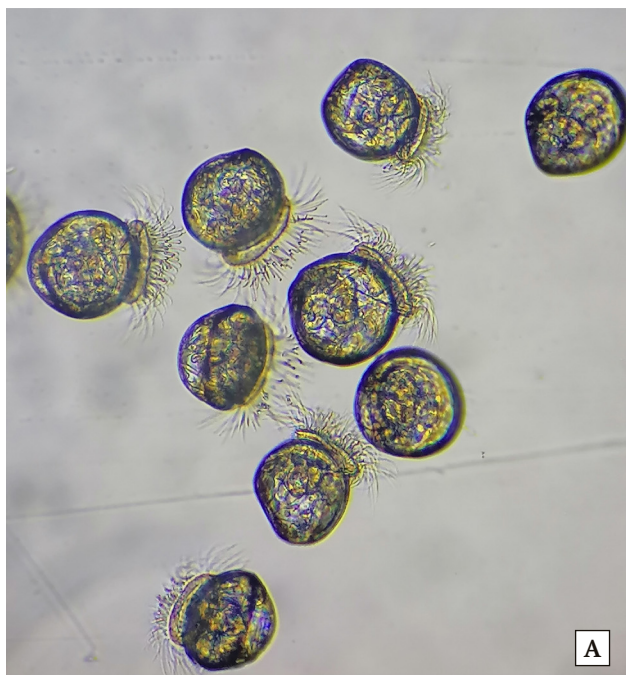


Рис. 1. Личинки *C. gigas* на разных стадиях развития: А — велигер (10 дней), Б — великонхи (23 дня). Выростные устройства для осаждения личинок устриц и их выращивания: В — коллектор из перфорированных пластин для осаждения личинок устрицы; Г — коллектор с молодью устрицы; Д — садки-поши с устрицей; Е — донная этажерка для выращивания устрицы.
Fig. 1. The larvae of the *C. gigas* at different stages of development: А — veliger (10 days), Б — veliconkhes (23 days). Rearing devices for deposition and cultivation of larval oysters: В — collector of perforated plates for deposition; Г — collector with juvenile oysters; Д — poshi cages with oysters; Е — bottom rack for oyster cultivation

воды. Перед измерением раковины моллюсков щеткой очищали от обрастаний, промывали морской водой и обсушивали на фильтровальной бумаге. Для оценки относительного роста особей подвергали биологическому анализу. Массу моллюсков (W , г) определяли с помощью электронных весов с точностью 0,01 г, линейные размеры — штангенциркулем с точностью до 1 мм. За высоту раковины (H , мм) принимали максимальный размер от замка до растущего края (Вялова, 2019). На основе полученных результатов рассчитывали суточную скорость линейного ($\text{мм} \cdot \text{сут}^{-1}$) и весового ($\text{г} \cdot \text{сут}^{-1}$) роста, аллометрическое уравнение соотношения массы и высоты раковины $W = aH^b$, коэффициент детерминации R^2 . Статистическая обработка данных включала определение средних арифметических значений и доверительный интервал при уровне значимости 95%.

По мере выращивания молоди производили контрольные замеры температуры и солености воды. Температуру измеряли погружным термометром для воды ежедневно с 01 апреля по 01 октября, в зимний период — каждые десять дней на глубине 1 м. Соленость измеряли ручным рефрактометром (RHS-10 ATC) один раз в декаду.

Оценка плоидности. Для оценки эффективности использованной методики теплового шока в отношении индукции полиплоидии через 11 месяцев было отобрано 40 особей из группы 3N. Плоидность (n) определяли путем измерения содержания ДНК (c) в клетках гемолимфы на проточном цитофлуориметре CytOFLEX (Beckman Coulter). В качестве внутреннего стандарта использовали эталонный диплоидный образец, предварительно отобранный из 20 проб гемолимфы контрольных устриц (группа 2N) на основании минимального разброса значений содержания ДНК в гемоцитах. Метод проточной цитометрии с диплоидным эталоном ранее был использован для определения плоидности личинок *C. gigas* (Chaiton, Allen, 1985; Melo et al., 2015, 2022), а также соматических клеток взрослых устриц (Zhang et al., 2014; Yang et al., 2022; Chen et al., 2024) и их гамет (Chen et al., 2024). Обычно для оценки плоидности взрослых особей используют дезагрегированные жабры (Zhang et al., 2014; Yang et al., 2022; Chen et al., 2024), хотя гемолимфа, представляющая собой природную клеточную суспензию, идеально подходит для анализа методом проточной цитометрии. Gardner et al.

(1996) показали, что размеры ядер гемоцитов хорошо дифференцируют диплоидных и триплоидных особей *C. gigas*, однако в цитируемой работе был применен метод световой микроскопии без количественной оценки содержания ДНК.

Гемолимфу отбирали из мускула-аддуктора с помощью шприца объемом 1 мл и иглы 22 калибра (0,7 мм в диаметре) в 0,3 М раствор двуназиевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) при соотношении объемов 9 : 1 (гемолимфа : ЭДТА соответственно) для предотвращения агрегации гемоцитов. Материал фиксировали путем ресуспензирования 260 мкл смеси гемолимфы и ЭДТА в 700 мкл 96%-го этилового спирта (конечная концентрация этанола — 70%). Кроме простых проб гемолимфы, готовили смеси экспериментальных образцов с контрольным диплоидным эталоном в соотношении объемов 1 : 1 для более точной идентификации полиплоидов.

Простые и смешанные клеточные суспензии дважды отмывали от фиксатора 0,02 М фосфатно-буферным солевым раствором (ФБС) путем центрифугирования при 1000 g, окрашивали 0,00001%-м раствором 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI) в течение 15 мин и анализировали на проточном цитофлуориметре при возбуждении фиолетовым лазером (длина волны 405 нм). Оценку плоидности гемоцитов проводили после стандартной процедуры исключения клеточных агрегатов и дебриса на гистограмме DAPI-A vs DAPI-H (A — площадь под сигналом, H — высота сигнала) (рис. 2А): одиночные клетки гейтировали и распределяли по содержанию ДНК (DAPI-A) (рис. 2Б, В). Статистическая обработка данных включала определение модального значения плоидности в каждом образце и процентного соотношения особей разной плоидности по выборке.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка плоидности. Анализ индивидуальных распределений гемоцитов по содержанию ДНК у 40 устриц из группы 3N показал гетерогенность выборки по модальному значению плоидности. Только одна особь (2,5% от общего объема выборки) не показала отличий от диплоидного эталона (рис. 3А, Б). В гемолимфе остальных особей при смешивании с диплоидным эталоном на гистограммах выявлялись дополнительные пики, соответствующие другим классам плоидности, в том числе $3n$ (рис. 3В).

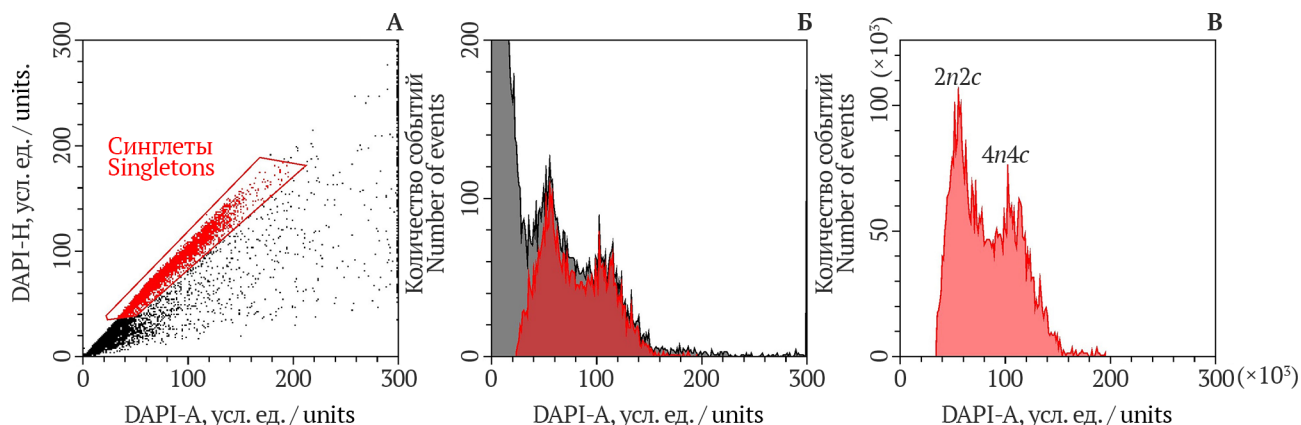


Рис. 2. Определение плоидности (n) взрослых особей *C. gigas* на основании измерения содержания ядерной ДНК (c) в гемоцитах методом проточной цитометрии с диплоидным эталоном. А — выделение области одиночных клеток (синглетов) по соотношению площади (А) и высоты (Н) сигнала DAPI; Б — визуализация синглетов на гистограмме распределения всех событий по площади сигнала DAPI; В — анализ распределения синглетов по площади сигнала DAPI, соответствующей содержанию ДНК (c)

Fig. 2. Ploidy identification (n) for the *C. gigas* adult specimens based on evaluation of nuclear DNA content (c) in hemocytes by flow cytometry with a diploid reference. А — identification of the area of single cells (singletons) by the ratio of area (А) and height (Н) of the DAPI signal; Б — visualization of singletons on a histogram of the distribution of all events by the area of the DAPI signal; В — analysis of the distribution of singletons by the area of the DAPI signal corresponding to the DNA content (c)

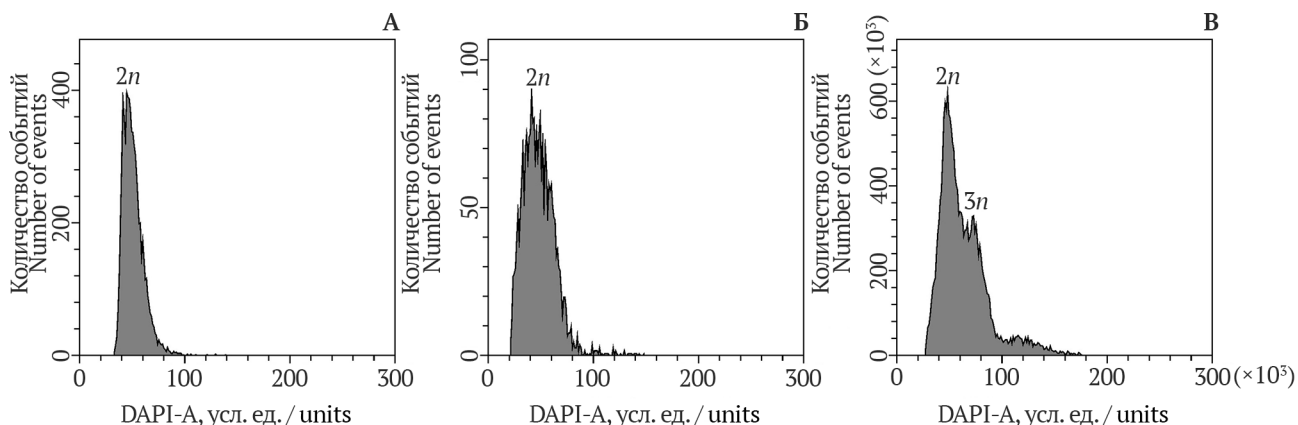


Рис. 3. Картина распределения гемоцитов по содержанию ДНК у диплоида и триплоида *C. gigas* при смешивании образца с диплоидным эталоном. А — гемоциты «идеальной» устрицы из группы 2N (диплоидный эталон); Б — смесь гемоцитов диплоидной устрицы из группы 3N с диплоидным эталоном; В — смесь гемоцитов триплоидной устрицы из группы 3N с диплоидным эталоном

Fig. 3. The view of the hemocyte distribution by DNA content in diploid and triploid *C. gigas* when mixing the sample with a diploid reference. А — hemocytes of "ideal" oyster from the group 2N (diploid reference); Б — mixture of hemocytes of diploid oyster from the group 3N with diploid reference; В — mixture of hemocytes of triploid oyster from the group 3N with diploid reference

Доля триплоидов (рис. 4, А) в исследованной выборке составила 35%; остальные особи разделились на две группы: 22,5% — тетраплоиды (рис. 4, Б), и 40% — гетероплоидные мозаики, в гемолимфе которых присутствовали клетки разных классов плоидности, включая анеуплоидные (рис. 4, В–Е). У последних на гистограммах распределения гемоцитов по содержанию ДНК мажорные пики соответствовали уровням плоидности 3, 4 и 5 n .

Согласно данным Melo et al. (2015), температурный метод дает меньший выход триплоидных личинок в сравнении с химическим методом, однако реальное количество сформировавшихся триплоидов зависит от многих фак-

торов. На эффективность индукции триплоидии и выживаемость личинок влияют: качество гамет, синхронизм между развитием яиц и временем индукции, продолжительность воздействия и его интенсивность, температура процессов и условия выращивания личинок (Melo et al., 2015). Оптимальный режим тепловой обработки подбирают экспериментально. Так, в работах Ямамото и соавторов (Yamamoto, Sugawara, 1988; Yamamoto et al., 1990) 97,4% триплоидных личинок *M. edulis* было получено при температуре 32 °C с началом воздействия через 20 мин после оплодотворения и длительностью воздействия 10 мин. При таких же условиях в эксперименте Gosling и Nolan (1989) выход три-

плоидных личинок *T. semidecussatus* составил всего 55%. Yang и Guo (2006) получили от 86,3% до 98,5% триплоидных личинок *Mulinia lateralis* при 10-минутном воздействии температуры 35 °C через 8–11 минут после оплодотворения, а 20-минутная экспозиция при прочих равных приводила к появлению пентаплоидов. В реальных условиях оплодотворение яйцеклеток у двустворчатых моллюсков происходит асинхронно, поэтому время отделения полярных телец может в значительной степени варьировать (Gérard et al., 1994). По некоторым данным, у *C. gigas* первое полярное тельце высвобождается через 25 мин после оплодотворения, второе — через 40 мин (Desrosiers et al., 1993). В другой работе появление первых полярных телец наблюдали через 10–30 мин, а вторых — через 20–45 мин после оплодотворения (Gerard et al., 1994). Внутри этих временных промежутков обнаруживаются точки, когда воздействие максимально эффективно: Melo et al. (2015) получили более высокий процент триплоидов *C. gigas* (56,49%) при остановке мейоза 6-димитиламинопуринном спустя 32 мин после оплодотворения, по сравнению с аналогичным воздействием спустя 26 и 35 мин (время экспози-

ции составляло 15 мин). В то же время, Yamamoto et al. (1990) удалось достичь 83% триплоидных личинок *C. gigas* методом теплового шока через 45 мин после оплодотворения (при температуре 37 °C с продолжительностью воздействия 15 мин). Учитывая разброс эмпирических данных, при планировании экспериментальной индукции триплоидии можно ориентироваться на время, при котором 50% оплодотворенных яиц действительно выделяют второе полярное тельце (Melo et al., 2015); аналогично, для индукции тетраплоидии маркером является появление первого полярного телеца (Melo et al., 2022). В нашей работе температурный блок мейоза был предпринят через 25 минут после оплодотворения, когда более чем в 50% оплодотворенных яиц визуализировалось второе полярное тельце, что совпадает с наблюдениями Desrosiers et al. (1993). Остальные яйцеклетки на момент индукции либо еще находились в первом делении мейоза, либо уже подвергались дроблению. Этим можно объяснить довольно высокий процент тетраплоидии и гетероплоидии, полученный нами в группе 3N. Нестабильность хромосомного набора в гемоцитах 40% устриц может быть следствием ин-

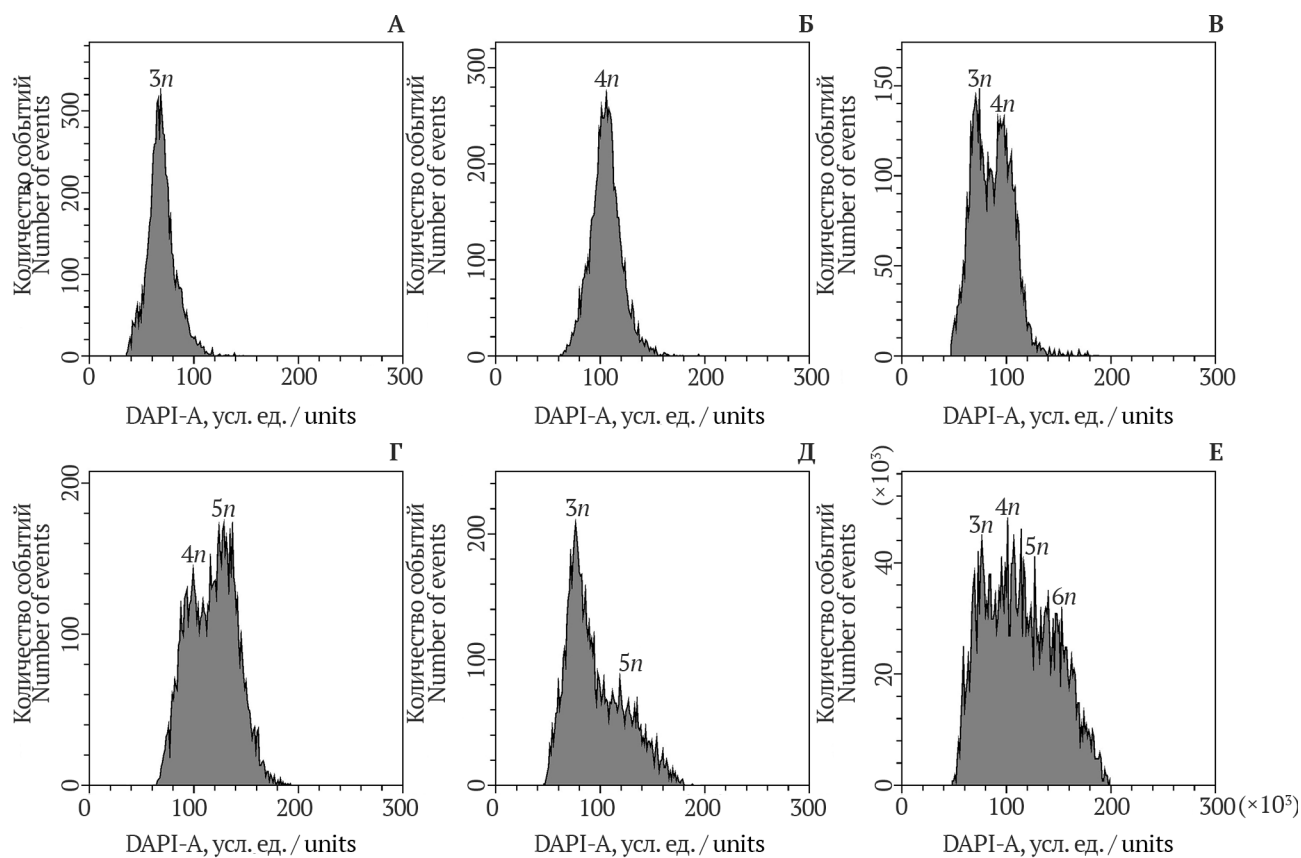


Рис. 4. Индивидуальные распределения гемоцитов по содержанию ДНК у *C. gigas* из группы 3N без смешивания образцов с диплоидным эталоном. А — триплоид; Б — тетраплоид; Б–Е — гетероплоидные мозаики
Fig. 4. Individual distributions of hemocytes by DNA content in the *C. gigas* from the group 3N without mixing samples with diploid reference. А – triploid; Б – tetraploid; Б–Е – heteroploid mosaics

дуцированного теплового шока (хотя мы не можем исключить постэмбриональную ненправленную поли- и анеуплоидию гемоцитов, т. к. отмечали подобную картину в некоторых образцах из группы 2N). Известно, что тепловая обработка яиц, как и обработка химическими агентами, влияют на веретено деления (Melo et al., 2015), т. е. теоретически может помешать правильному расхождению хромосом при дроблении яиц, которые на момент воздействия уже завершили мейоз. Возможны и другие объяснения феномена дестабилизации кариотипа в отдельных клетках при индуцированной полиплоидии. Так, при производстве тетраплоидных устриц *C. gigas* из триплоидных яиц путем воздействия цитохалазина В на первое деление мейоза, гетероплоидные мозаики образовывались в 45% случаев (Zhang et al., 2014). Авторы относят такой эффект на счет патологического поведения хромосом в митозе у тетраплоидов, с последующей элиминацией части генетического материала из соматических клеток. Жизнеспособные гетеро- и анеуплоиды редко встречаются среди позвоночных животных, тогда как на выживаемость устриц соматическая анеуплоидия существенно не влияет и может закрепляться в форме кариотипического мозаицизма (Zhang et al., 2014).

Динамика роста и развития личинок. Время развития личинок в группах 2N и 3N существенно не различалось. Контрольные диплоидные устрицы до оседания развивались за 25 дней, устрицы с индуцированной полиплоидией — за

27 дней (табл. 1), что соответствует данным, полученным другими авторами (Пиркова и др., 2020). Размерный состав в двух группах личинок также не показал статистически значимых различий. В группе 2N размер личинок варьировал от $47,52 \pm 1,0$ мкм во время эмбрионального развития до $470,5 \pm 5,7$ мкм у осевшей молодки; в группе 3N — от $50,5 \pm 0,7$ мкм до $463,15 \pm 7,6$ мкм соответственно. Однако выживаемость полиплоидных личинок была выше на всех стадиях развития (табл. 1). Критической точкой развития была выделена стадия велигера (D-личинка), на которой выживаемость была наименьшей, составив 45% и 55,2% в группах 2N и 3N соответственно. Общая выживаемость от велигера до педивелигера составила 43,2% у полиплоидов и 17,9% у диплоидов.

Уровни выживаемости на разных стадиях развития отражают не только гибель личинок по естественным причинам, но и снижение их количества во время сортировок по размерам и отбраковки тугорослых особей, особенно на поздних стадиях. В среднем выживаемость тихоокеанской устрицы на отрезке от оплодотворенной яйцеклетки до D-велигера составляет 60%, от D-велигера до педивелигера — 30% (Калинина, Табельская, 2023). Для устричных хозяйств выживаемость от оплодотворенной яйцеклетки до D-велигера в пределах 30–85% считается нормальной, от D-велигера до педивелигера значение этого показателя может варьировать от 15–30 до 50–70% (Пиркова и др., 2020; Helm, 2004).

Таблица 1. Показатели развития экспериментальных (3N) и контрольных (2N) личинок тихоокеанской устрицы *C. gigas*
Table 1. Development indices of experimental (3N) and control (2N) larvae of the Pacific oyster *C. gigas*

	Стадия развития Stage of development	День развития, сут. Day of development	Ср. размер, мкм Mean size, μm	Мин. размер, мкм Min size, μm	Макс. размер, мкм Max size, μm	Выживаемость, % Survival, %
Группа 3N / Group 3N	Эмбриональное развитие Embryonic development	1	$50,5 \pm 0,7$	40,5	54	100
	Велигер (D-личинка) Veliger (D-larvae)	2–9	$85,32 \pm 1,4$	54	108	55,2
	Великонхи Velikhonki	10–24	$212,6 \pm 5,6$	121,5	282	92
	Педивелигер Pediveliger	25–27	$332,3 \pm 2,3$	297,5	357,5	85
	Осевшая молодь Spat	28	$463,15 \pm 7,6$	391,5	591,5	43,2
Группа 2N / Group 2N	Эмбриональное развитие Embryonic development	1	$47,52 \pm 1,0$	40,5	54	75
	Велигер (D-личинка) Veliger (D-larvae)	2–8	$89,4 \pm 2,1$	54	121,5	45
	Великонхи Velikhonki	9–21	$189,6 \pm 5,3$	108	282	51
	Педивелигер Pediveliger	22–25	$328,8 \pm 2,5$	283,5	354	78
	Осевшая молодь Spat	26	$470,5 \pm 5,7$	360	560	17,9

Динамика роста молоди. Молодь тихоокеанской устрицы из аквариальных условий была высажена в море на коллекторах в возрасте 2 месяца (28 августа) со средней высотой раковины $0,8 \pm 0,02$ мм. За первый месяц (сентябрь) линейные размеры особей увеличились в 4 раза: прирост раковины в среднем составил по высоте 46,5 мм (рис. 4). В возрасте 3 месяца параметры устриц из группы 3N были следующими: W — $(6,77 \pm 0,27)$ г; Н — $(47,3 \pm 0,8)$ мм ($n = 216$); у контрольной диплоидной устрицы (группа 2N) эти же параметры составили: W — $(5,9 \pm 0,3)$ г; Н — $(45 \pm 0,9)$ мм ($n = 200$).

В осенне-зимние месяцы линейный рост устриц из группы 3N практически остановился. К 11 месяцам (май следующего года) высота раковины увеличилась до $49,46 \pm 0,48$ мм, прирост за 8 месяцев холодного периода составил 2,2 мм. Заметный рост раковины наблюдали в летний период. За 3 месяца (июнь–август) средняя высота раковины достигла $77,6 \pm 0,68$ мм, прирост составил 28,1 мм. К следующей весне в возрасте 22 месяца средняя высота раковины в группе 3N достигла $93,9 \pm 0,74$ мм, прирост за холодный период времени составил 16,3 мм. Линейный рост полиплоидных моллюсков был неравномерным, замедляясь в холодный период (с октября по май) и увеличиваясь в летне-осенний период (июнь–сентябрь). Линейный

рост диплоидной устрицы был немного ниже и более равномерный (рис. 5).

Максимальный набор массы у устриц из группы 3N наблюдали на втором году жизни (рис. 6). Резкий набор массы был зафиксирован в летний сезон (июнь–август): с $12,4 \pm 0,3$ г до $43,2 \pm 0,6$ г, прирост составил 30,9 г. Далее, по мере роста устрицы в холодный период, ее масса к 22 месяцам увеличилась до $79,1 \pm 1,4$ г, прирост составил 35,8 г. За весь период выращивания (18 месяцев) вес полиплоидов увеличился в 11,8 раз. Отдельные особи из группы 3N в этом возрасте достигли массы более 155 г (5,5%) и размера 150 мм. Весовой рост диплоидов был достоверно ниже: к 22 месяцам средний вес устриц из группы 2N составил $70,3 \pm 0,98$ г.

Среди факторов, влияющих на рост моллюсков, выделяют абиотические, или экологические (качество воды, глубина и скорость течения, мутность и тип взвеси), и биотические, или физиологические (обеспеченность фитопланктоном, плотность поселения, пол, возраст, стадия зрелости) (Вялова, 2019). Максимальную скорость линейного роста молоди тихоокеанской устрицы наблюдали в сентябре: 1,55 мм/сут в группе 3N и 1,47 мм/сут в группе 2N. Согласно литературным данным (Холодов и др., 2017), в Черном море в этот период максимальный прирост у *C. gigas* составляет до

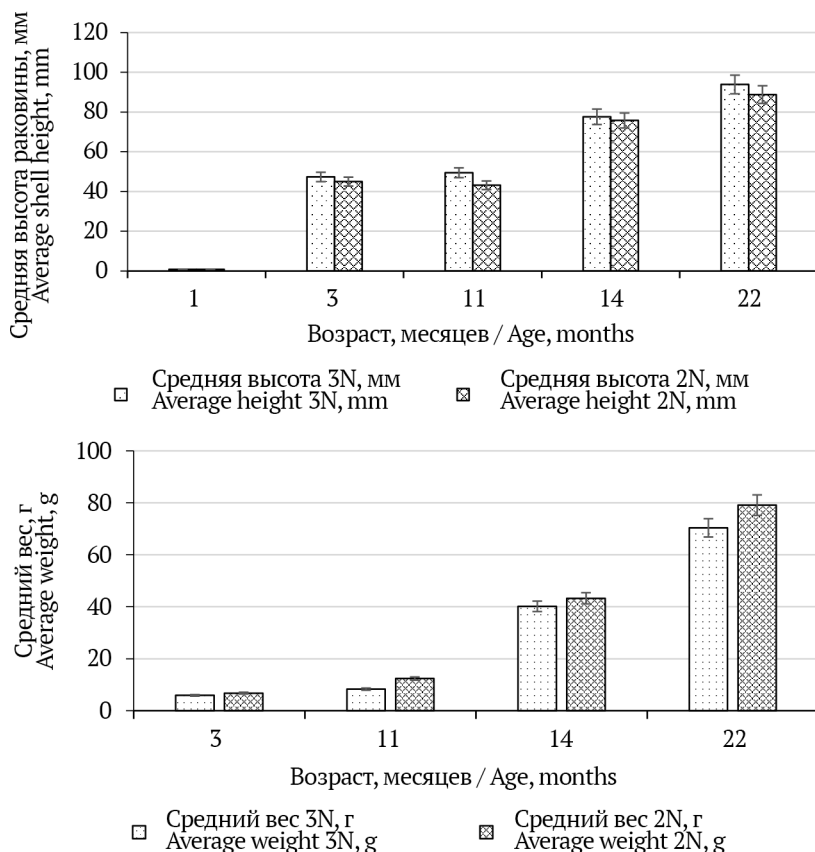


Рис. 5. Линейный рост *C. gigas* в бух. Воевода
Fig. 5. The linear growth of the *C. gigas* in Voevoda Bay

Рис. 6. Весовой рост *C. gigas* в бух. Воевода
Fig. 6. The weight growth of the *C. gigas* in Voevoda Bay

1,2 мм/сут. По нашим данным, в бух. Воевода зал. Петра Великого Японского моря сезонный прирост раковины колебался в пределах 0,009–0,07 мм/сут в холодное время года и 0,31 мм/сут в теплый период. Масса устриц увеличивалась в среднем на 0,02–0,34 г/сут. Максимальный прирост наблюдали на втором году жизни в летний период, он составил 0,34 г/сут.

Оптимальная температура воды для роста тихоокеанской устрицы находится в пределах 15–22 °С. По данным Вяловой (2019), в условиях лимана Донузлав (Черное море, Крым) триплоидные *S. gigas* продолжали расти и в осенне-зимний период при температуре ниже 10–11 °С. Известно, что в благоприятных трофических условиях скорость роста у двустворчатых моллюсков может быть существенной даже при низких температурах. Так, у молоди триплоидов *Crassostrea ariakensis* темпы роста были высокими в зимний период, когда температура воды составляла $7,66 \pm 0,02$ °С (Harding, 2007). Скорость роста молодых (20–30 мм длиной) баренцевоморских мидий (подвесная культура) в прибрежных водах Кольского залива при температуре 1,5–3,0 °С составляла около 0,5 мм в месяц (Гудимов, 1998).

По данным Барабанщикова и др. (2021), с середины декабря до начала апреля, в период ледостава, температура придонных вод в бух. Воевода близка к температуре замерзания, соленость воды достигает значения 34,2‰. Выше 8 °С температура в придонном слое поднимается в начале июня и опускается к середине ноября. По нашим данным, в бух. Воевода с конца декабря до начала апреля температура

воды близка к температуре замерзания. Выше 8 °С температура поднимается в конце мая и опускается к середине ноября (рис. 7).

Пространственное распределение солености и ее колебания в этой акватории в большой мере зависят от испарения и осадков, процессов перемешивания, образования и таяния льда, а также водообмена с Амурским заливом (рис. 8).

Весной на поверхности отмечаются минимальные значения солености от 32–33‰ до 33,5–34‰. Летом поверхностный слой подвергается наибольшему распреснению: в начале лета соленость не превышает 32,5‰, увеличиваясь в открытых районах до 33,5‰, а к концу лета значения понижаются до 32‰. Осенью соленость постепенно повышается, увеличиваясь в ноябре до 33,9‰. У дна соленость воды более высокая и изменяется в пределах 34,3–35,2‰. Известно, что рост устриц замедляется, когда температура воды понижается до 8–10 °С, после чего наступает период зимней спячки (Инструкция, 2011).

Наши наблюдения за ростом контрольных и экспериментальных устриц, скоррелированные с изменением температурного режима в бух. Воевода, свидетельствуют о достаточно коротком промежутке времени, подходящего для активного роста устриц, который совпадает со временем их половой активности. Считается, что триплоидные моллюски обладают лучшими вкусовыми качествами, чем диплоиды, особенно во время репродуктивного сезона, поскольку не участвуют в процессах размножения и содержат большее количество гли-

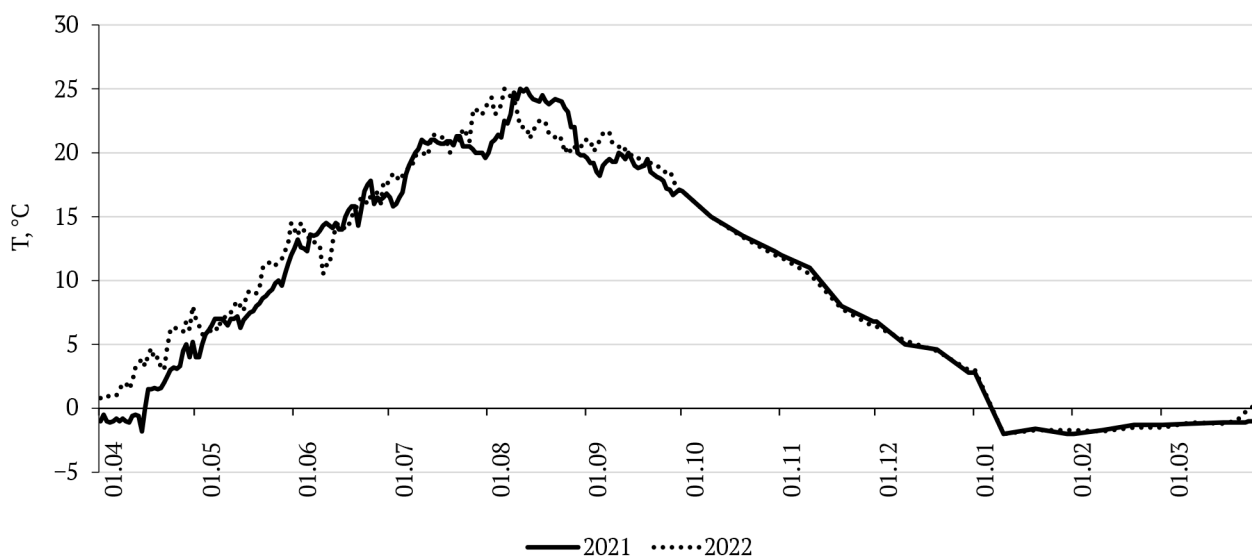


Рис. 7. Временная изменчивость температуры воды в бух. Воевода в 2021, 2022 г.
Fig. 7. Temporal variations of water temperature in Voevoda Bay in 2021 and 2022

когена (Вялова, 2019). Некоторыми исследованиями подтверждается предположение о том, что триплоиды могут иметь более короткий период созревания и достигать рыночного размера быстрее, чем диплоиды (Вялова, 2019).

Товарной считается устрица правильной формы, с хорошо выраженной глубокой нижней створкой, имеющая определенную массу. Соотношение линейных размеров и биомассы двустворчатых моллюсков описывается аллометрическим уравнением. Форма устрицы определяется высотой и длиной раковины и зависит от среды обитания, субстрата, плотности в естественных поселениях или в устричных садках на морских фермах и т. д. Увеличение высоты и длины раковины устриц происходит непропорционально. Как правило, в длину она растет гораздо медленнее, чем в высоту

(Вялова, 2019). Статистический анализ размерно-весового соотношения у исследованных в настоящей работе тихоокеанских устриц показал, что взаимосвязь высоты раковины с массой моллюска четко описывается степенным уравнением $W = aL^b$ с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,79$ и $R^2 = 0,83$ для групп 3N и 2N соответственно (рис. 9). При принятой степени достоверности крайние величины показателя степени b находятся в пределах 2,691–3,357 (Алимов, 1981). Полученные значения этого показателя в нашем исследовании составили 2,7565 для полиплоидов и 2,7546 для диплоидов.

Минимальный товарный размер тихоокеанских устриц варьирует от 8 до 25 см (в среднем 12–15 см), а масса — от 50 до 300 г (100–200 г в среднем). Выход мяса от одной товарной



Рис. 8. Временная изменчивость солености воды в бух. Воевода в 2021, 2022 г.
Fig. 8. Temporal variations of water salinity in Voevoda Bay in 2021 and 2022

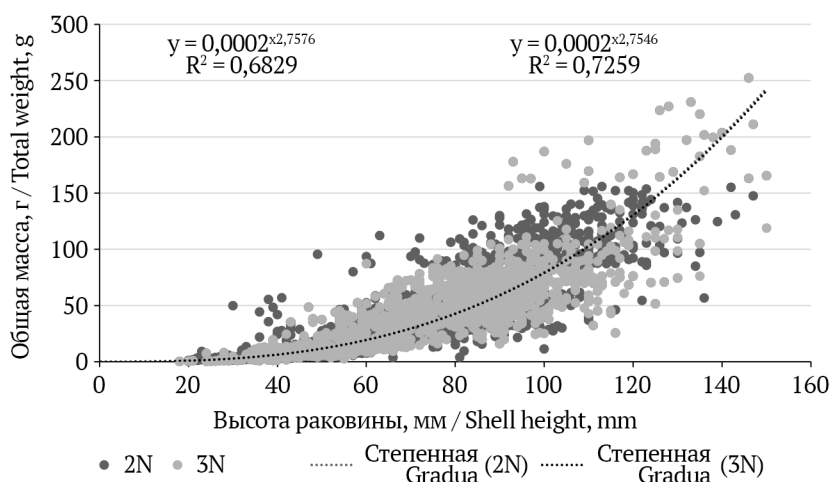


Рис. 9. Соотношение между массой и высотой раковины у диплоидов и полиплоидов *C. gigas*
Fig. 9. The ratio between the oyster weight and shell height in diploid and triploid *C. gigas*

устрицы составляет от 10 до 22%, в среднем 15–18%, что соответствует весу мяса от 8 до 50 г, в среднем 20–30 г (Жигин и др., 2023).

Проведенным исследованием установлено, что в условиях бух. Воевода первые моллюски коммерческого размера были получены уже в сентябре второго года выращивания (14 месяцев): их доля составила 10,7% в группе 2N и 11,3% в группе 3N (рис. 10). На протяжении последующих месяцев, несмотря на снижение температуры морской воды, доля товарных особей увеличивалась в обеих группах или более значительно в группе 3N. К 22 месяцу куль-

тивирования (май) 57,9% контрольных диплоидов достигли товарных размеров. Для устриц из группы 3N этот показатель составил 80,9% (рис. 11).

Анализ морфологических показателей товарной устрицы показал, что за 24 месяца культивирования общий вес устриц из группы 3N в среднем составлял 124,6 г, что на 43% больше, чем в контрольной группе диплоидов (табл. 2).

Несмотря на незначительные различия размеров раковины, средняя масса мягких тканей у полиплоидов была на 82,9% больше, чем у диплоидов. Выход мягких тканей после разделки

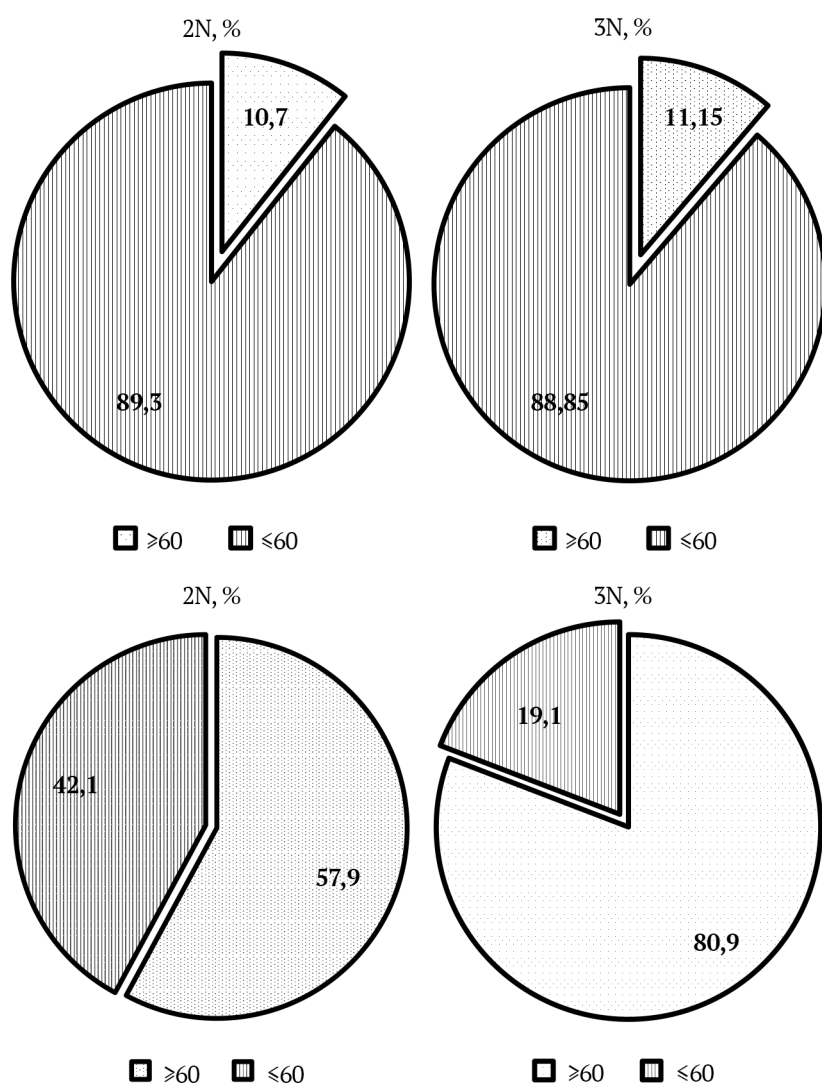


Рис. 10. Доля особей товарного размера среди диплоидов и полиплоидов *C. gigas* в возрасте 14 месяцев (сентябрь)
Fig. 10. The percent of commercial size individuals among 14 months old (in September) diploid and polyploid *C. gigas*

Рис. 11. Доля особей товарного размера среди диплоидов и полиплоидов *C. gigas* в возрасте 22 месяца (май)
Fig. 11. The percent of commercial size individuals among 22 months old (in May) diploid and polyploid *C. gigas*

Таблица 2. Морфологические показатели диплоидной и полиплоидной товарной тихоокеанской устрицы *C. gigas* в возрасте 24 месяца (август)
Table 2. Morphological indices of 24 months old (August) diploid and polyploid commercial Pacific oysters *C. gigas*

Показатели / Indices	2N	3N
Средний вес общий, г Mean weight, g	60,6 – 177,9 86,9 ± 3,1	91,9 – 189,5 124,6 ± 2,7
Средняя высота раковины, мм Mean shell height, mm	90 – 139 107 ± 1,2	95 – 144 115,5 ± 1,6
Средний ММТ, г Mean body meat weight, g	7,3 – 21,4 11,7 ± 0,4	13,5 – 38,5 21,4 ± 0,5
Выход ММТ, % от общего веса Final body meat weight, % in total weight	13,5	17,0

устриц из группы 3N был на 3,5% больше, чем у контрольных моллюсков, не подвергавшихся воздействию теплового шока на стадии оплодотворенного яйца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Индукция организменной триплоидии — распространенная генетическая манипуляция с оплодотворенными яйцеклетками двустворчатых моллюсков, позволяющая получить стерильное стадо и тем самым избежать нежелательных эффектов, вызванных половым созреванием, таких как снижение скорости соматического роста, повышение заболеваемости и ухудшение вкуса съедобных частей в репродуктивный период. Известный факт, что триплоиды тихоокеанской устрицы растут быстрее и достигают больших размеров, чем обычные диплоидные особи, указывает на необходимость разработки и внедрения безопасных методов биотехнологии в практику марикультурных хозяйств. Проведенное нами исследование обозначило перспективу применения кратковременного температурного воздействия на оплодотворенные яйцеклетки для получения триплоидной тихоокеанской устрицы в коммерческих целях. Трехминутная инкубация яиц при температуре 32 °C спустя 25 минут после искусственного оплодотворения привела к образованию 35% триплоидов. Несмотря на попутный выход нецелевых тетра- и гетероплоидов (22,5 и 40% соответственно), в группе моллюсков с индуцированной полиплоидией были отмечены высокая выживаемость особей на личиночных стадиях и опережающий рост молоди в течение двух лет (в условиях бух. Воевода о-ва Русский зал. Петра Великого), что позволило быстрее вырастить устрицу товарного размера с увеличенным весом мягких тканей на 43% относительно диплоидного контроля. Таким образом, наиболее экологичный способ триплоидизации моллюсков путем температурного воздействия является эффективным методом культивирования тихоокеанской устрицы, а дальнейшие исследования по его оптимизации представляют важный практический интерес для региональной аквакультуры.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

Алимов А.Ф. 1981. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. Тр. Зоол. ин-та АН СССР. Т. 96. Л.: Наука. 248 с.
 Барабанчиков Ю.А., Тищенко П.Я., Семкин П.Ю., Звалинский В.И., Михайлик Т.А., Тищенко П.П.

2021. Особенности временной изменчивости содержания кислорода в зарослях *Zostera marina* Linnaeus, 1753 в бухте Воевода (Амурский залив, Японское море) // Морской биологич. журнал. Т. 6, № 1. С. 3–16.

Вялова О.Ю. 2019. Рост и сроки получения товарной триплоидной устрицы в лимане Донузлав (Черное море, Крым) // Морской биологич. журнал. Т. 4, № 1. С. 24–32.

Гудимов А.В. 1998. Мидия *Mytilus edulis* L. / Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей. Апатиты: Кольский науч. центр РАН. С. 529–576.

Жигин А.В., Юдин Н.К., Кленьшин С.А., Кожаева Д.К. 2023. Содержание тихоокеанских устриц и их линейно-массовые характеристики // Вестник АПК Верхневолжья (Биологич. ресурсы). № 1 (61). С. 32–41.

Инструкция по технологии культивирования тихоокеанской устрицы. 2011. Сост.: А.В. Кучерявенко, А.П. Жук. Владивосток: ТИНРО-Центр. 27 с.

Калинина М.В., Табельская А.С. 2023. Получение личинок тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* заводским способом в Южном Приморье / Актуальные проблемы освоения водных биологических ресурсов Российской Федерации: Матер. Всерос. конф. ученых и специалистов (Мурманск, 27–28 октября 2022 г.). С. 207–211.

Пиркова А.В., Ладыгина Л.В., Холодов В.И. 2020. Биологические и биотехнические аспекты организации и функционирования устричного питомника на Черном море. Севастополь: ФИЦ ИнБЮМ, 120 с. doi:10.21072/978-5-6044865-3-5

Табельская А.С., Гаврилова Г.С. 2021. Рост и выживаемость заводской молоди тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) в заливе Петра Великого // Изв. ТИНРО. Т. 201, № 3. С. 712–722.

ФАО. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры – 2022: На пути к «голубой» трансформации. № 2022. 266 с.

Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. 2017. Выращивание мидий и устриц в Черном море. Воронеж: Издат-Принт. 508 с.

Allen Jr. S.K., Downing S.L. 1986. Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings // J. of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 102, № 2–3. P. 197–208.

Chaiton J.A., Allen Jr S.K. 1985. Early detection of triploidy in the larvae of Pacific oysters, *Crassostrea*

- gigas*, by flow cytometry // *Aquaculture*. Vol. 48, № 1. P. 35–43.
- Chen C., Yu H., Li Q., Kong L., Liu S., Xu C. 2024. Examination of the effects of impaired spermatogenesis on sterility in triploid oysters (*Crassostrea gigas*), and implications for commercial aquaculture // *Aquaculture*. Vol. 587. P. 740–787.
- Desrosiers R., Gérard A., Peignon J.-M., Naciri Y., Dufresne L., Morasse J., Ledu C., Phelipot P., Guerrier P., Dubé F. 1993. A novel method to produce triploids in bivalve molluscs by the use of 6-dimethylaminopurine // *J. of Experimental Marine Biology and Ecology*. Vol. 170 (1). P. 29–43.
- Gardner C., Maguire G.B., Kent G.N. 1996. Studies on triploid oysters in Australia. VII. Assessment of two methods for determining triploidy in oysters: adductor muscle diameter and nuclear size // *J. of Shellfish Research*. Vol. 15, № 3. P. 609–615.
- Gérard A., Naciri Y., Peignon J.-M., Ledu C., Phelipot P. 1994. Optimization of triploid induction by the use of 6-DMAP for the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) // *Aquaculture and Fisheries Management*. Vol. 25. P. 709–719.
- Gosling E.M., Nolan A. 1989. Triploidy induction by thermal shock in the Manila Clam, *Tapes semidecussatus* // *Aquaculture*. Vol. 78 (3–4). P. 223–228.
- Goulletquer P., Joly J.P., Gerard A., Le Gagneur E., Moriceau J., Peignon J.M., Phelipot P. 1996. Performance of triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) reared in high carrying capacity ecosystem: survival, growth and proximate biochemical composition // *Haliotis*. Vol. 25. P. 1–12.
- Guo X., Allen Jr. S.K. 1994. Reproductive potencial and genetcs of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg) // *The Biological Bulletin*. Vol. 187 (3). P. 309–318.
- Guo X., Debrosse G., Allen S. 1996. All triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids // *Aquaculture*. Vol. 142 (3–4). P. 149–161.
- Hand R.E., Nell J.A., Thompson P.A. 2004. Studies on triploid oysters in Australia XIII. Performance of diploid and triploid Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850), progeny from a third generation breeding line // *Aquaculture*. Vol. 233 (1–4). P. 93–107.
- Harding J.M. 2007. Comparison of growth rates between diploid DEBY eastern oysters (*Crassostrea virginica*, Gmelin 1791), triploid eastern oysters, and triploid Suminoe oysters (*C. ariakensis*, Fugita 1913) // *J. of Shellfish Research*. Vol. 26 (4). P. 961–972.
- Helm M.M. 2004. Hatchery culture of bivalves / M.M. Helm, N. Bourne, A. Lovatelli (comp./ed.) // A practical manual: FAO Fisheries Technical Paper. Rome, FAO. № 471. 177 p.
- Hubert S., Cognard E., Hedgecock D. 2009. Centromere mapping in triploid families of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) // *Aquaculture*. Vol. 288 (3–4). P. 172–183.
- Mallia V.J., Thomas P.C., Muthiah P. 2006. Induced triploidy in the edible oyster, *Crassostrea madrasensis* by temperature shock // *J. of the Marine Biological Association of India*. Vol. 48 (2). P. 249–252.
- Melo E.M.C., Gomes C.H.A.d.M., Silva F.C.d., Sühnel S., Melo C.M.R.d. 2015. Chemical and physical methods of triploidy induction in *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) // *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*. Vol. 41 (4). P. 889–898.
- Melo E.M.C., Sühnel S., Silva F.C.D., Melo C.M.R. 2022. Induction to tetraploidy in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) // *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. Vol. 44, № 1. P. e55337.
- Nell J.A. 2002. Farming triploid oysters // *Aquaculture*. Vol. 210 (1–4). P. 69–88.
- Quillet E., Panelay P.J. 1986. Triploidy induction by thermal shocks in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas* // *Aquaculture*. Vol. 57 (1–4). P. 271–279.
- Rasmussen S.R., Morrissey M.T. 2007. Biotechnology in Aquaculture: transgenics and polyploidy // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 6 (1). P. 2–16.
- Scarpa J., Toro J.E., Wada K.T. 1994. Direct comparison of six methods to induce triploidy in bivalves // *Aquaculture*. Vol. 119 (2–3). P. 119–133.
- Stanley J.G., Allen J.S.K., Hidu H. 1981. Polyploidy induced in the American oyster, *Crassostrea virginica*, with cytochalasin B // *Aquaculture*. Vol. 23 (1–4). P. 1–10.
- Yamamoto S., Sugawara Y. 1988. Induced triploidy in the mussel, *Mytilus edulis*, by temperature shock // *Aquaculture*. Vol. 72 (1–2). P. 21–29.
- Yamamoto S., Sugawara Y., Nomura T. 1990. Chemical and thermal control of triploid production in Pacific oysters and mussels, with regard to controlling meiotic maturation // *Advances in Invertebrate Reproduction*. Vol. 5. P. 455–460.
- Yang H., Guo X. 2006. Polyploid induction by heat shock-induced meiosis and mitosis inhibition in the dwarf surfclam, *Mulinia lateralis* Say // *Aquaculture*. Vol. 252, № 2–4. P. 171–182.
- Yang H., Simon N., Sturmer L. 2018. Production and performance of triploid oysters for aquaculture // *EDIS* 2018. № 4. P. 1–9.
- Yang Q., Yu H., Li Q. 2022. Disruption of cell division prevents gametogenesis in triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) // *Aquaculture*. Vol. 560. № 738477.

Zhang Z., Wang X., Zhang Q., Allen S. 2014. Cytogenetic mechanism for the aneuploidy and mosaicism found in tetraploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) // J. of Ocean University of China. Vol. 13, № 1. P. 125–131.

REFERENCES

- Alimov A.F. Functional ecology of freshwater bivalve mussels. *Proceedings of the Zoological Institute*, 1981, vol. 96. L.: Nauka, 248 p.
- Barabanshchikov Yu.A., Tishchenko P.Ya., Semkin P.Yu., Zvalinsky V.I., Mikhailik T.A., Tishchenko P.P. Peculiarities of temporal variability of dissolved oxygen content in eelgrass *Zostera marina* Linnaeus, 1753 meadows in the Voevoda Bay (the Amur Bay, the Sea of Japan). *Marine Biological Journal*, 2021, vol. 6, no. 1, pp. 3–16. (In Russ.) EDN: WVNOOG. doi:10.21072/mbj.2021.06.1.01
- Vyalova O.Yu. Growth and terms of obtaining marketable triploid oysters in Donuzlav liman (Black Sea, Crimea). *Marine Biological Journal*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 24–32. (In Russ.) EDN: NZVTQB. doi:10.21072/mbj.2019.04.1.03
- Gudimov A.V. *Midiya Mytilus edulis* L. *Promyslovyye i perspektivnyye dlya ispol'zovaniya vodorosli i bespozvonochnyye Barentseva i Belogo morey* [Commercial and promising algae and invertebrates of the Barents and White Seas]. Apatity: Kola scientific center of the Russian Academy of Sciences, 1998, pp. 529–576.
- Zhigin A.V., Yudin N.K., Klenshin S.A., Kozhaeva D.K. Keeping of pacific oysters and their linear-mass characteristics. *Agroindustrial Complex of Upper Volga Region Herald*, 2023, pp. 32–41. (In Russ.) EDN: XMWXOQ. doi:10.35694/YARCX.2023.61.1.004
- Kalinina M.V., Tabelskaya A.S. Obtaining larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* by the factory method in Southern Primorye. *Current problems of development of aquatic biological resources of the Russian Federation*. Materials of the All-Russian conference of scientists and specialists, Murmansk, 2023, pp. 207–211. EDN: RBAJHD.
- Instruktsiya po tekhnologii kultivirovaniya tikhookeanskoy ustritsy*. Comp.: Kucheryavenko A.V., Zhuk A.P. [Instructions for the technology of cultivation of the Pacific oyster]. Vladivostok: TINRO-Center, 2011, 27 p.
- Pirkova A.V., Ladygina L.V., Kholodov V.I. *Biologicheskiye i biotekhnicheskiye aspekty organizatsii i funktsionirovaniya ustrichnogo pitomnika na Chernom more* [Biological and biotechnical aspects of organization and functioning of the Oyster Hatchery in the Black Sea]. Sevastopol: IBSS-RAS, 2020, 120 p.
- The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome, Italy, 266 p.
- Tabelskaya A.S., Gavrilova G.S. Growth and survival of the hatchery juveniles of pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in Peter the Great Bay. *Izvestiya TINRO*, 2021, vol. 201 (3), pp. 712–722. (In Russ.) EDN: HKMCFJ. doi:10.26428/1606-9919-2021-201-712-722
- Kholodov V.I., Pirkova A.V., Ladygina L.V. *Vyrashchivaniye midiy i ustrits na Chernom more* [Cultivation of Mussels and Oysters in the Black Sea]. Voronezh: OOO “IZDAT-PRINT”, 2017, 508 p. EDN: SBSNNG.
- Allen Jr S.K., Downing S.L. Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1986, vol. 102, № 2–3, pp. 197–208.
- Chaiton J.A., Allen Jr S.K. Early detection of triploidy in the larvae of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, by flow cytometry. *Aquaculture*, 1985, vol. 48, no. 1, pp. 35–43.
- Chen C., Yu H., Li Q., Kong L., Liu S., Xu C. Examination of the effects of impaired spermatogenesis on sterility in triploid oysters (*Crassostrea gigas*), and implications for commercial aquaculture. *Aquaculture*, 2024, vol. 587, № 740787, pp. 740–787.
- Desrosiers R., Gérard A., Peignon J.-M., Naciri Y., Dufresne L., Morasse J., Ledu C., Phelipot P., Guerrier P., Dubé F. A novel method to produce triploids in bivalve molluscs by the use of 6-dimethylaminopurine. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1993, vol. 170 (1), pp. 29–43.
- Gardner C., Maguire G.B., Kent G.N. Studies on triploid oysters in Australia. VII. Assessment of two methods for determining triploidy in oysters: adductor muscle diameter and nuclear size. *Journal of Shellfish Research*, 1966, vol. 15, № 3, pp. 609–615.
- Gérard A., Naciri Y., Peignon J.-M., Ledu C., Phelipot P. Optimization of triploid induction by the use 6-DMAP for the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture and Fisheries Management*, 1994, vol. 25, pp. 709–719.
- Gosling E.M., Nolan A. Triploidy induction by thermal shock in the Manila Clam, *Tapes semidecussatus*. *Aquaculture*, 1989, vol. 78 (3–4), pp. 223–228.
- Gouletquer P., Joly J.P., Gerard A., Le Gagneur E., Moriceau J., Peignon J.-M., Phelipot P. Performance of triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) reared in high carrying capacity ecosystem: survival, growth and proximate biochemical composition. *Haliotis*, 1996, vol. 25, pp. 1–12.
- Guo X., Allen Jr S.K. Reproductive potencial and genetcs of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *The Biological Bulletin*, 1994, vol. 187 (3), pp. 309–318.

- Guo X., Debrosse G., Allen S. All triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture*, 1996, vol. 142 (3–4), pp. 149–161.
- Hand R.E., Nell J.A., Thompson P.A. Studies on triploid oysters in Australia XIII. Performance of diploid and triploid Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850), progeny from a third generation breeding line. *Aquaculture*, 2004, vol. 233 (1–4), pp. 93–107.
- Harding J.M. Comparison of growth rates between diploid DEBY eastern oysters (*Crassostrea virginica*, Gmelin 1791), triploid eastern oysters, and triploid Suminoe oysters (*C. ariakensis*, Fugita 1913). *Journal of Shellfish Research*, 2007, vol. 26 (4), pp. 961–972.
- Helm M.M. Hatchery culture of bivalves / M.M. Helm, N. Bourne, A. Lovatelli (comp./ed.). *A practical manual*: FAO Fisheries Technical Paper. Rome, FAO, 2004, no. 471, 177 p.
- Hubert S., Cognard E., Hedgecock D. Centromere mapping in triploid families of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, 2009, vol. 28 (3–4), pp. 172–183.
- Mallia V.J., Thomas P.C., Muthiah P. Induced triploidy in the edible oyster, *Crassostrea madrasensis* by temperature shock. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 2006, vol. 48 (2), pp. 249–252.
- Melo E.M.C., Gomes C.H.A.d.M., Silva F.C.d., Sühnel S., Melo C.M.R.d. Chemical and physical methods of triploidy induction in *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 2015, vol. 41 (4), pp. 889–898.
- Melo E.M.C., Sühnel S., Silva F.C.D., Melo C.M.R. 2022. Induction to tetraploidy in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 2022, vol. 44, p. e55337.
- Nell J.A. Farming triploid oysters. *Aquaculture*, 2002, vol. 210 (1–4), pp. 69–88.
- Rasmussen S.R., Morrissey M.T. Biotechnology in Aquaculture: transgenics and polyploidy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2007, vol. 6 (1), pp. 2–16.
- Quillet E., Panelay P.J. Triploidy induction by thermal shocks in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 1986, vol. 57 (1–4), pp. 271–279.
- Stanley J.G., Allen J.S.K., Hidu H. Polyploidy induced in the American oyster, *Crassostrea virginica*, with cytochalasin B. *Aquaculture*, 1981, vol. 23 (1–4), pp. 1–10.
- Scarpa J., Toro J.E., Wada K.T. Direct comparison of six methods to induce triploidy in bivalves. *Aquaculture*, 1994, vol. 119 (2–3), pp. 119–133.
- Yamamoto S., Sugawara Y. Induced triploidy in the mussel, *Mytilus edulis*, by temperature shock. *Aquaculture*, 1988, vol. 72 (1–2), pp. 21–29.
- Yamamoto S., Sugawara Y., Nomura T. Chemical and thermal control of triploid production in Pacific oysters and mussels, with regard to controlling meiotic maturation. *Advances in Invertebrate Reproduction*, 1990, vol. 5, pp. 455–460.
- Yang H., Guo X. Polyploid induction by heat shock-induced meiosis and mitosis inhibition in the dwarf surfclam, *Mulinia lateralis* Say. *Aquaculture*, 2006, vol. 252 (2–4), pp. 171–182.
- Yang H., Simon N., Sturmer L. Production and performance of triploid oysters for aquaculture. *EDIS* 2018, № 4, pp. 1–9.
- Yang Q., Yu H., Li Q. Disruption of cell division prevents gametogenesis in triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 2022, vol. 560, no. 738477.
- Zhang Z., Wang X., Zhang Q., Allen S. Cytogenetic mechanism for the aneuploidy and mosaicism found in tetraploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Journal of Ocean University of China*, 2014, vol. 13, № 1, pp. 125–131.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ / COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

Авторы заявляют, что данный обзор не содержит собственных экспериментальных данных, полученных с использованием животных или с участием людей. Библиографические ссылки на все использованные в обзоре данные оформлены в соответствии с ГОСТом. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

The authors declare that this review does not contain their own experimental data obtained using animals or involving humans. Bibliographic references to all data used in the review are formatted in accordance with GOST (the Russian State Standard). The authors declare that they have no conflict of interest.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ AUTHOR CONTRIBUTION

Концепция работы: С.Е. Лескова, Н.Н. Ковалев. Выполнение экспериментальных работ: С.Е. Лескова. Сбор и обработка данных: С.Е. Лескова, А.В. Синенко, А.А. Анисимова. Анализ и интерпретация данных: С.Е. Лескова, А.В. Синенко, А.А. Анисимова.

Concept of the work by S.E. Leskova and N.N. Kovalev. Experiments were carried out by S.E. Leskova, data collection and processing – by S.E. Leskova, A.V. Sinenko and A.A. Anisimova. Analysis and interpretation of the data was performed by S.E. Leskova, A.V. Sinenko and A.A. Anisimova.

Информация об авторах

С.Е. Лескова — канд. биол. наук, доцент
кафедры водных биоресурсов и аквакультуры
Дальневосточного государственного
технического рыбохозяйственного
университета (Дальрыбвтуз).

ORCID: 0000-0001-7058-3449

А.В. Синенко — ассистент кафедры клеточной
биологии и генетики ИМО ДВФУ,
sinenko.avia@dvfu.ru.

ORCID: 0000-0003-2214-2969

А.А. Анисимова — канд. биол. наук, доцент
кафедры клеточной биологии и генетики
ИМО ДВФУ, *anisan77@mail.ru*.

ORCID: 0000-0002-0063-3137

Н.Н. Ковалев — доктор биол. наук, профессор
кафедры биохимии и биотехнологии ИМО
ДВФУ, *kovalevnn61@yandex.ru*.

ORCID: 0000-0001-7100-7208

Information about the authors

Svetlana E. Leskova – Ph. D. (Biology),
Assistant Professor of the Department of Water
Bioresources and Aquaculture (Dalrybvtuz).

ORCID: 0000-0001-7058-3449

Anastasiya V. Sinenko – Assistant of the
Department of Cell Biology and Genetics
(FEFU, Institute of the World Ocean).

ORCID: 0000-0003-2214-2969

Anna A. Anisimova – Ph.D. (Biology),
Assistant Professor of the Department
of Cell Biology and Genetics
(FEFU, Institute of the World Ocean).

ORCID: 0000-0002-0063-3137

Nikolay N. Kovalev – Doctor of Biology,
Professor of the Department of Biochemistry
and Biotechnology

(FEFU, Institute of the World Ocean).

ORCID: 0000-0001-7100-7208

Статья поступила в редакцию / Received:
19.04.2024

Одобрена после рецензирования / Revised:
22.04.2024

Статья принята к публикации / Accepted:
02.05.2024