

ОБЗОРНЫЕ
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 577.21+574.24:597.553.2

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ЛОСОСЕВЫХ РЫБ РОДА *Oncorhynchus*

© 2022 г. А. Д. Золотаренко¹, М. В. Шитова¹, *

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: shitova-m@rambler.ru

Поступила в редакцию 14.11.2021 г.

После доработки 24.01.2022 г.

Принята к публикации 15.02.2022 г.

Данный обзор посвящен современному состоянию научных исследований лососевых в природных популяциях и в аквакультуре, выполненных при помощи высокопроизводительных методов анализа транскриптома. В нем описаны исследования, посвященные описанию молекулярных основ роста и развития рыб, а также работы, изучающие генетическую изменчивость, лежащую в основе экологических и эволюционных адаптаций рода *Oncorhynchus*. Охарактеризованы системные изменения профилей малых, длинных и кольцевых некодирующих РНК, возникающие в транскриптомах рыб в ответ на различные воздействия. Выявленные сигнальные каскады, играющие ключевые роли в развитии хозяйственно ценных признаков, могут быть использованы в качестве мишеней для селекции рыб в рамках целевых товарных характеристик.

Ключевые слова: транскриптомные исследования, род *Oncorhynchus*, микрочип, RNA-seq.

DOI: 10.31857/S0016675822070165

Высокопроизводительные методы анализа генома появились в молекулярно-генетической практике в середине 1990-х. В сотни раз увеличилась скорость накопления информации о последовательности, структуре и свойствах ДНК, РНК и белков. Использование транскриптомных подходов позволяет характеризовать не экспрессию отдельных генов, а изменения активности сигнальных каскадов в целом, что может быть использовано для определения молекулярных основ наблюдаемых фенотипических проявлений, например устойчивости и механизмов физиологической адаптации к неоптимальным условиям окружающей среды, таким как антропогенное загрязнение, гипоксия, колебания солености и экстремальные температуры. Затем кандидатные локусы могут быть дополнительно исследованы для лучшего понимания процессов микроэволюции, происходящих в популяциях.

На сегодняшний день наиболее распространенными высокопроизводительными методами оценки экспрессии генов являются микрочипы (microarray) и полногеномное секвенирование транскриптома (RNA-seq) [1]. Экспрессионные микрочипы – достаточно недорогой и высокопроизводительный метод анализа, однако он характеризуется низким динамическим диапазоном ($\sim 10^2$), низкой разрешающей способностью и плохой воспроизводимостью. Кроме того, этот метод не подходит для проведения *de novo* анализа

для тех организмов, геном которых еще не секвенирован. Полногеномное секвенирование транскриптома характеризуется достаточно широким динамическим диапазоном ($\sim 10^4$ – 10^5) и воспроизводимостью, возможностью оценки абсолютного уровня экспрессии, кроме того с его помощью можно проводить анализ *de novo* для тех организмов, геном которых еще не секвенирован, аннотировать новые гены, сплайс-варианты и некодирующие транскрипты. К недостаткам данного метода можно отнести высокую стоимость и сложность биоинформатического анализа.

В целом благодаря преимуществам метода полногеномного секвенирования транскриптома и постепенному снижению его стоимости в последние годы увеличивается количество работ, посвященных секвенированию геномов различных видов рыб, имеющих важное аквакультурное значение. Также увеличивается количество транскриптомных исследований, посвященных изучению сигнальных каскадов и поиска молекулярных основ различных биологических и товарных характеристик рыб рода *Oncorhynchus*.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИИ
И ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА ЛОСОСЕЙ

Анализ транскриптома дает возможность понять какие каскады генов задействованы при переходе от одного жизненного этапа к другому,

охарактеризовать молекулярные основы важных жизненных процессов, таких как смолтификация, покатная миграция (миграция из пресной воды в соленую), анадромная миграция (миграция из соленой воды в пресную, на нерест), процесс хоминга (возврат в родные реки). Поиск генов-кандидатов, ответственных за формирование адаптаций на протяжении жизни рыб, дает понимание и представление о границах адаптаций лососевых, о разнообразии адаптивных стратегий, о масштабах генетического разнообразия внутри вида.

Транскриптомные исследования раннего периода жизни и смолтификации

Важный процесс в жизни лососевых – смолтификация – подготовка организма для перехода из пресной воды в соленую. У разных видов лососевых этот процесс наступает в разном возрасте, более того внутри одного вида существует широкий возрастной спектр. У горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*) и кеты (*Oncorhynchus keta*) мальки скатываются в море в тот же год, когда появились на свет. Но у кеты существует сильный возрастной разброс этого процесса – от нескольких месяцев до года малек может жить в пресной воде. У микижи (*Oncorhynchus mykiss*, она же радужная форель) существуют разные формы в пределах одной реки – мигрирующая (проходит стадию смолтификации и мигрирует в море) и резидентная (стадию смолтификации не проходит и постоянно живет в пресной воде). У нерки (*Oncorhynchus nerka*), кижуча (*Oncorhynchus kisutch*), сима (*Oncorhynchus masou*) и чавычи (*Oncorhynchus tshawytscha*) малек до нескольких лет проводит в пресной воде, после чего скатывается в море.

Кульминацией процесса смолтификации является физиологическая адаптация к морской воде. Физиологически это проявляется в повышении продукции гормона роста, гормонов щитовидной железы и кортизола и увеличении длины тела относительно веса, из за чего смолты по сравнению с резидентами становятся более уязвимы [2–8].

У кеты уже на поздней эмбриональной стадии начинает формироваться механизм гипоосморегуляции. У мальков кеты еще до попадания в морскую воду начинает формироваться адаптация к соленой воде, чего не наблюдается у мальков других лососевых. Кета на стадии личинки (с желточным мешком) начинает активировать в жабрах богатые митохондриями клетки и проявляет высокую устойчивость к солености. В работе [9] проводили анализ транскриптома в период акклиматизации к солености: от пресной (0 промилле) до солоноватой (17.5 промилле) и морской воды (35 промилле). При переводе молоди из пресной в солоноватую воду увеличивалось число

экспрессируемых генов, участвующих в связывании ионов железа (в 1.56 раза), в активности калиевых каналов (в 1.12 раза) и в образовании комплекса калиевых каналов (в 1.15 раза) по сравнению с переводом из солоноватой в морскую. Изменение солености от солоноватой к морской увеличивало экспрессию генов, участвующих в адаптивном иммунитете. По-видимому, основные перестройки у кеты происходят в период до перехода в солоноватую воду и к моменту выхода в море процесс смолтификации уже завершен.

От того насколько успешно мальки пройдут уязвимые этапы жизненного цикла зависит их успех выживания и возврат на нерест. В работе [10] показано, что наиболее уязвимым периодом скатывающейся молоди кижуча является ранний морской период – это первая весна после ската и первая осень после ската. В данной работе анализировались изменения в экспрессии генов (микрочип cGRASP 44K) в четырех тканях (головной мозг, жабры, мышцы и печень) молоди кижуча на разных жизненных стадиях. Наибольшие изменения в транскриптоме мозга, жабр и мышц произошли между летним и осенним периодами в океане, возможно вследствие подготовки к миграции в районы кормления. Летняя, осенняя и зимняя молодь демонстрировала повышенный метаболизм, быстрый рост и отложение жира, тогда как весенняя молодь имела противоположные профили экспрессии. У весенних смолтов вскоре после входа в океан профили экспрессии генов отражали ограничения питания или недавнее голодание.

Не менее важным условием успешного выхода в море является способность малька противостоять патогенам пресной воды. В работе [11] было показано, что около 15% мальков гибло после выхода из питомника вследствие вирусных патогенов и повышенного уровня стресса. В данной работе смолтов нерки метили с помощью акустической телеметрии и прижизненно у каждой особи брали образцы ткани жабр в период, когда смолты покидали озеро Чилко (Британская Колумбия, Канада). Сравнивали профили экспрессии генов и анализировали связь между нагрузкой пресноводных патогенов и успешностью миграции в течение первых ~1150 км в северную часть Тихого океана. 15% смолтов не были обнаружены после выпуска и транскриптом их жабр соответствовал иммунному ответу на один или несколько вирусных патогенов. Среди значительно активированных генов у таких рыб были гены *MX* и *STAT1*, которые характерны для интерферонного ответа I типа, возникающего к вирусным возбудителям.

Важными биотическими факторами, влияющими на физиологические процессы молоди лососей, являются годовые ритмы. Например, сезонные изменения, регулирующие рост. Повышение темпе-

ратуры воды увеличивает скорость роста рыб, но удлинение фотопериода может иметь аналогичные последствия даже при постоянной температуре. В работе [12] изучали влияние короткого (зимний период) и длинного (летний период) светового дня на транскриптомные мышцы у быстро и медленно растущей радужной форели. Как оказалось, условия окружающей среды, обеспечивающие повышенные темпы роста, активируют профили экспрессии генов, сходные с наблюдаемыми у быстрорастущих рыб, в то время как сезонные периоды снижения роста по профилям экспрессии генов сходны с наблюдаемыми у медленно растущих рыб.

Молекулярные основы покатной и анадромной миграции

Как было сказано выше, у лососевых существует широкий спектр внутривидового разнообразия форм, что позволяет им адаптироваться к разным и непостоянным условиям обитания. У микижи, к примеру, внутри одной реки могут существовать несколько экологических форм, например мигрирующая и резидентная. В работе Хейла с соавт. [13] изучали транскриптом головного мозга микижи у особей, прошедших процесс смолтификации, и у резидентной микижи из Сашин-Крик, Аляска. Образцы собирали в двух временных точках: непосредственно перед (в возрасте 20 мес.) и во время (в возрасте двух лет) предполагаемого пика смолтификации. Было обнаружено 533 гена, которые дифференциально экспрессировались между смолтами и резидентными особями. Были выявлены гены-кандидаты, предположительно влияющие на выбор типа жизненной стратегии (например, *Pomc*). Было показано, что между мигрирующей и резидентной формами существуют различия в экспрессии генов фототрансдукции, что свидетельствует о различиях в процессах обработки световых сигналов в мозге. Также были выявлены различия между смолтами и резидентами в регуляции аппетита. Обнаружено, что нейропептид Y, участвующий в контроле аппетита, у смолтов был активирован по сравнению с резидентами. А у резидентов наблюдался более высокий уровень липидов. Все эти изменения вероятнее всего связаны с периодом голодания, который проходят смолты непосредственно перед смолтификацией [14–16].

Наряду со смолтификацией и покатной миграцией (выход из пресных водоемов в море) одним из важнейших жизненных этапов у лососей являются анадромные миграции (возврат в пресную воду из моря на нерест). Процесс поиска родной реки до сегодняшнего дня остается не до конца изученным. Считается, что в процессе поиска родной реки в разные периоды жизни у рыб задействованы разные органы. В период морской

миграции лососевые предположительно используют магнитные линии земли для “глобальной” ориентации в пространстве и поиска своего региона, а уже на подходах к рекам включаются обонятельные механизмы поиска запаха своей реки. Специфические пахучие факторы родной реки, которые были запечатлены в определенных областях нервной системы молоди лосося во время покатной миграции (выхода из рек в океан), используются взрослыми лососями для распознавания родной реки во время анадромной миграции (возврат на нерест из океана в реки). Существуют указания на то, что обонятельное восприятие пахучих сигналов родной реки одновременно запускает окончательное созревание гонад. В работе [17] была изучена функциональная связь между обонятельным восприятием нерестилища и окончательным половым созреванием. Анализировалась экспрессия обонятельных генов с помощью секвенирования РНК в ткани обонятельных розеток возвращающейся на нерест кеты в двух группах: из (1) прибрежного морского района (залив Ишикари, Ishikari Bay, Япония) и (2) из р. Читоси (Chitose River, Япония), около 75 км вверх по течению. Была детектирована экспрессия 75 известных и 27 неизвестных обонятельных генов лососевых, из которых 13 по-разному экспрессировались между рыбами из первой и второй групп, что свидетельствует о роли этих генов в процессе хоминга. Была выявлена связь между обонятельным восприятием нерестилища и половым созреванием через гонадотропин-рилизинг-гормон лососевых рыб (salmon gonadotropin-releasing hormone – sGnRH). Максимальный уровень sGnRH в мозге и максимальный уровень тестостерона в крови наблюдались у самок и самцов кеты в месте ответвления нерестового притока. Эти результаты подтверждают идею о том, что sGnRH помимо предполагаемой обонятельной роли играет роль в секреции гонадотропина в гипофизе кеты. Это указывает на функциональную связь между обонянием и репродуктивной регуляцией, с sGnRH в качестве прямого эффектора.

У лососей наблюдается разнообразие по возрасту возврата на нерест, и даже в пределах вида существуют несколько экологических форм, различающихся по времени возврата на нерест (ранняя и поздняя, летняя и осенняя, весенняя и летняя и т.д.). В работе [18] геномными методами исследовались эволюционные основы ранней миграции тихоокеанских лососей. Ранний возврат на нерест наблюдается в прибрежных популяциях микижи и чавычи. В этих популяциях рано мигрирующие особи (летние у микижи и весенние у чавычи) используют весенний паводок для того чтобы достичь нерестилищ выше по течению до наступления неблагоприятных условий в нижнем водоразделе, далее держатся в течение нескольких месяцев в глубоких прохладных ямах, достигают половой зрелости, а

затем нерестятся в то же время, что и поздние мигрирующие особи, только что вошедшие в пресную воду. Парные оценки F_{ST} показывают выраженную генетическую дифференциацию между локальностями (местами сбора выборок), но слабую дифференциацию между фенотипами миграции (ранние и поздние) из одной и той же локальности. Показано, что различия между местами нереста вносят больший вклад в генетические структуры популяций микижи и чавычи, чем различия между мигрирующими фенотипами в одной локальности. В данной работе [18] было обнаружено, что как у микижи, так и у чавычи ранняя миграция связана с одним и тем же локусом в области гена *GREBIL*, несмотря на то что с момента расхождения видов прошло от 10 до 15 млн лет [19, 20]. Изменчивость по этому локусу дает основания предположить, что аллели возникли отдельно у каждого вида и впоследствии распространились на отдаленные популяции через случайный положительный отбор. Результаты исследования [18] показывают, что сложная адаптивная изменчивость может зависеть от редких мутационных событий в одном локусе.

У рыб фенотипические вариации многочисленны и считаются отражением эволюционной адаптации к сильно изменчивой среде обитания. В последнее время были предприняты попытки выяснить геномную основу фенотипических признаков в диких популяциях. Изучение геномной изменчивости, лежащей в основе экологической и эволюционной адаптации, может значительно расширить наше понимание фенотипической изменчивости в природе. Например, у чавычи существует большое фенотипическое разнообразие форм, связанных с местными адаптациями. В центре ареала этого вида в Северной Америке обнаруживаются четко выраженные филогенетические линии: прибрежная, внутренняя океаническая и внутренняя ручьевая [21]. Прибрежная линия существует в двух экоформах: весенняя — входит в пресную воду незрелой и осенняя — входит в пресную воду зрелой. Линия внутреннего океанического типа наиболее генетически сходна с прибрежной линией, существует также в двух экоформах: летняя незрелая и осенняя зрелая. Внутренняя ручьевая линия сильно отличается от других — нерестовую миграцию осуществляют летние незрелые особи. Для поиска генетических основ такой вариативности в работе [22] было проведено ассоциативное картирование вариаций жизненного цикла и фенотипических признаков. Было обнаружено более 19 млн SNP (19627832 вариантных сайта во всех проанализированных популяциях). Полногеномный анализ полиморфизма показал, что у этого вида существует широкое фенотипическое разнообразие как внутри, так и между филогенетическими линиями. В работе подтвердилась роль гена-кандидата *GREBIL* в дифференцировании сроков ми-

грации (раннее или позднее прибытие на нерестилище) [18]. Недавние исследования на различных видах тихоокеанских лососей показывают, что *GREBIL* влияет на сроки полового созревания, что определяет время сезонной миграции взрослых особей, возвращающихся на нерест в прибрежных водотоках. В дополнение к *GREBIL* было обнаружено несколько генов на хромосоме 28, связанных со сроками полового созревания, в том числе ген-кандидат *ROCK1* и межгенные SNP. В предыдущих исследованиях *GREBIL* и *ROCK1* были охарактеризованы как рецепторы эстрогенов, участвующих в развитии эмбрионов у рыбок данио (*Danio rerio* [23]).

Существует множество абиотических факторов, которые могут повлиять на физиологию и биохимию рыб в период анадромных миграций и в конечном счете повлиять на успешный нерест лососей. Было показано, что температура воды в реке является стрессовым фактором для лососей в период анадромных миграций. Зачастую пики нерестового хода приходится на период до или после максимального подъема температуры воды в реке. В работе [24] сравнивали профили экспрессии в тканях жабр и печени между океанским и речным периодами миграции нерки, возвращающейся на нерест в р. Фрейзер (Британская Колумбия, Канада). Профили экспрессии показали, что транскриптом в процессе миграции сильно зависит от изменений абиотических и биотических условий на маршрутах миграции. Заметные сдвиги в экспрессии генов, связанные с изменением солености, температуры, воздействия патогенов и растворенного кислорода, указывают на то, что эти переменные окружающей среды наиболее сильно влияют на физиологию во время нерестовых миграций. Примечательно, что изменения транскрипции, связанные с осморегуляцией, в основном происходили заранее, задолго до того, как нерка столкнулась с пресной водой. Объединение методов транскриптомики и телеметрии позволило выявить экспрессионные различия между особями, дошедшими до нерестилища и принявшими участие в нересте (успешные мигранты), и особями, погибшими в период хода по реке (преждевременная смертность). Поиск биомаркеров показал, что оценки экспрессии всего 5–10 генов достаточно для прогнозирования выживаемости с высокой вероятностью. Параметрический анализ выживаемости продемонстрировал, что активность фактора транскрипции *CRSP* в значительной степени предсказывает выживаемость особей, что позволило определить его как потенциальный биомаркер выживаемости особей нерки.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ

Аквакультура – самый быстроразвивающийся агробизнес на сегодняшний день. В частности, форелеводство является высокоинтенсивной отраслью рыбоводства, позволяющей получать большое количество рыбы с единицы площади. Хозяйства по выращиванию и разведению лососей должны удовлетворять растущий потребительский спрос. Дополнительные усилия сосредотачиваются на разработке генетически улучшенных линий и пород для достижения быстрого и эффективного производства рыбы с высоким выходом филе высокого товарного качества. Важное значение в аквакультуре придается улучшению технологических процессов воспроизводства и выращивания лососей, а также снижению затрат на корма и повышению кормового коэффициента. Транскриптомные исследования могут помочь в выявлении молекулярных основ хозяйственно ценных фенотипов, таких как ускоренный рост, потребление и усваивание кормов с пониженным содержанием животного белка, высокое качество филе (насыщенный цвет, содержание жира), икра с высокой степенью оплодотворяемости, мальки с высоким процентом выживаемости.

Филе рыбы – самая питательная и экономически важная часть рыбы. В нем много белка и в зависимости от вида относительно мало жира. Товарный выход филе и качество мяса сильно влияют на потребительский спрос. На товарный выход филе лососевых влияют несколько переменных, таких как вес и конечный возраст вылова, питание, половой статус и генетические факторы. Характеристики качества филе, такие как жирность, цвет и текстура, являются основными определяющими факторами для потребителей. Недавно для улучшения качества мяса радужной форели был введен генетический отбор. Отбор по содержанию жира повлиял на цвет и текстуру филе, также этот подход улучшил коэффициент усвояемости корма и эффективность усвояемости белка у радужной форели.

В работе [25] изучали молекулярные основы красной и белой окраски филе у рыб, выращенных в одних и тех же экспериментальных условиях, для лучшего понимания механизма поглощения астаксантина (Ах) у чавычи. Пилорические придатки, печень и мышцы были выбраны в качестве наиболее вероятных органов, которые участвуют в поглощении, метаболизме и удержании Ах соответственно. Анализ показал, что в мышцах и в печени было относительно мало дифференциально экспрессированных генов (31 и 43 гена соответственно) по сравнению с 1125 генами, по-разному экспрессированными в пилорических придатках у рыб с белым и красным цветом филе. Была выявлена повышенная экспрессия гена *SCARBI* у красной чавычи, в то время как у белой чавычи были более высокие уровни экспрессии генов *NPC1L1*, коллагена альфа-1, а также *BCO2*, что

может указывать на роль последнего в деградации астаксантина у белой чавычи.

Избыточное накопление жира у сельскохозяйственных животных, в том числе у рыбы, существенно влияет на качество мяса и стоимость корма. Повышенное накопление жира является наследственным количественным признаком радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*). В работе [26] было проведено секвенирование транскриптома печени радужной форели с высоким и низким содержанием жира в туше. Всего было идентифицировано 1694 дифференциально экспрессированных транскрипта, включая большое количество генов, участвующих в метаболизме липидов. Было выявлено, что активность процессов метаболизма липидов в печени может обуславливать разницу в содержании жира в тушах. Были выявлены гены-кандидаты, которые могут выступать в качестве маркеров разных уровней накопления жира – *PPAR-α* и *PPAR-β*, которые можно использовать для геномного отбора.

Одной из потребностей аквакультуры является улучшение скорости роста и качества мускулатуры лососевых. До сих пор не было достигнуто большого прогресса в этой области, поскольку на эти признаки влияет совокупность генетических и негенетических факторов, что усложняет геномный отбор. Геномные технологии могут быть полезны для выявления подходящих генетических маркеров для направленной селекции. В серии работ [27, 28] изучались полигенные признаки, являющиеся результатом многофакторных взаимодействий. Были использованы такие показатели роста и качества мышц как (1) масса тела, (2) мышечная масса, (3) содержание жира в мышцах, (4) количество мышечных волокон на единицу площади и (5) цвет филе.

В работе [28] исследовали экспрессию микроРНК и генетический полиморфизм в сайтах связывания микроРНК в генах-мишенях, ассоциированных с фенотипическими вариациями роста и качества мышц. У рыб из 22 семейств, показывающих разные фенотипы, анализировали транскриптомы мышц. Было идентифицировано 78 SNP, ассоциированных с различиями в мышечных характеристиках. Большинство связанных с фенотипом SNP присутствовало в сайтах связывания микроРНК в генах, участвующих в энергетическом метаболизме и структуре мышц. Эти данные свидетельствуют о том, что вариации в экспрессии микроРНК и/или вариации последовательности в сайтах связывания микроРНК в генах-мишенях играют важную роль в различиях в фенотипах роста рыб и качества мышц. В работе [27] использовали два биоинформатических алгоритма, GATK и SAMtools для обнаружения кодирующих и функциональных SNP с аллельным дисбалансом для перечисленных выше признаков. Оценка распределения SNP с аллельным дисбалансом показала высокую плотность по всем пяти признакам в нескольких хромосомах, особенно в хромо-

сомах 9, 20 и 28. Большинство генов, содержащих SNP, были отнесены к важным метаболическим путям, связанным с ростом. SNP, идентифицированные в этом исследовании, были включены в новый дизайн SNP-Chip (от Affymetrix) для геномного и генетического анализа радужной форели.

В работе [29] предприняли попытку идентифицировать гены, связанные с генетической изменчивостью роста. Был проведен анализ транскриптома мышц и поиск полиморфизмов в популяции радужной форели с высокими показателями роста. 22 SNP и один митохондриальный гаплотип были ассоциированы с показателями роста. Полиморфизм 48 маркеров был подтвержден на других коммерчески важных аквакультурных линиях. Исследование показало, что даже при низком покрытии RNA-Seq в дивергентных популяциях является быстрым и эффективным методом для идентификации SNP с аллельным дисбалансом между фенотипами. Этот метод подходит для разработки маркеров у немодельных видов, у которых отсутствуют полные и хорошо аннотированные референсные последовательности генома.

Оптимизация условий выращивания для максимального увеличения роста рыбы является одним из важнейших аспектов коммерческой аквакультуры, поскольку на рост рыбы сильно влияют условия окружающей среды и питание [30–32]. В работе [33] оценили влияние плавания умеренной интенсивности на транскриптомы красных и белых типов мышц радужной форели, получавшей богатую углеводами диету. Анализ транскриптомов мышц у отдохнувших или плававших в течение 30 дней рыб выявил значительные изменения в экспрессии 218 генов. Плавание вызывало ряд физиологических изменений: гипертрофию волокон, увеличение поглощения и использования углеводов в качестве топлива, увеличение накопления белка и результирующий эффект экономии белка. Кроме того, плавание увеличивало использование углеводов из пищи не только за счет увеличения экспрессии *GLUT4*, но и за счет активации гликолиза как в белых, так и в красных мышцах форели. Кроме того, увеличивалась аэробная выработка АТФ из глюкозы, особенно в красных мышцах. Таким образом, плавание может применяться в качестве “стимулятора метаболизма”, увеличивающего расход энергии и тем самым стимулирующего темпы роста форели. Кроме того, результаты этой работы впервые подтверждают потенциальные иммуномодулирующие эффекты физических упражнений у рыб.

Быстрое увеличение спроса на рыбную продукцию и объемов выращивания рыб в последние годы привело к росту потребности в кормах. Для интенсификации производства и снижения издержек зачастую большая часть рыбной муки и рыбьего жира в корме заменяется растительными ингредиентами. Однако широкое использование растительных продуктов имеет ряд известных не-

достатков, особенно в отношении различий в составе аминокислот, холестерина и жирных кислот, а также наличия антипитательных веществ, обнаруженных в растительных кормах. В работе [34] оценивалось влияние растительных кормов на мальков (10 г) и на нагуливающую молодь (250–350 г) микижи. Через 13 мес. растительного питания в размерах молоди различий не наблюдалось, а подростые особи отставали по массе (234 против 330–337 г). Процент содержания жира у молоди на растительном питании был выше (13.2 против 9.4–9.9%), а жирнокислотный состав соответствовал составу питания. Анализ транскриптомов кишечника показал, что у молоди на растительном питании наблюдалось снижение активности каскадов белкового катаболизма, метаболизма и траффика углеводов. Чтобы исследовать молекулярные основы адаптивности микижи, были проанализированы транскриптомы трех изогенных линий мальков микижи (R23h, AB1h и A22h), различающихся по реакциям на растительное питание [35]. Через пять недель проанализированные линии имели более низкую массу, чем на полном рационе, а также различались между собой, отражая более или менее успешную адаптацию к растительному питанию. Авторы предположили, что общее для всех линий снижение массы возникало из-за того, что повышенное содержание глутаминовой кислоты в растительном питании приводило к изменениям в двигательной активности и в поведении рыб при кормлении. Анализ транскриптомных данных выявил различия между линиями в экспрессии генов, связанных с аппетитом и сенсорным восприятием пищи, в экспрессии генов, участвующих в метаболизме серосодержащих аминокислот, что могло приводить к наблюдаемым различиям в массе рыб. В дальнейшей работе той же группы авторов [36] попытались более детально охарактеризовать различия между изученными генотипами. Те же изогенные линии радужной форели сравнивали через 5 мес. кормления растительным (V-диета) или морским рационом (M-диета). Были описаны характеристики рыб и проанализированы печеночные транскриптомы. Рыбы R23h и AB1h, которые меньше всего пострадали от V-диеты, показали самый высокий рост. Они были способны поддерживать высокий уровень выработки энергии и синтеза белка на растительном питании, а их транскриптомы отличались активностью каскадов, связанных с метаболизмом липидов и холестерина [37, 38]. По-видимому, лососевые обладают большим разнообразием стратегий, которые могут быть реализованы генотипами для выживания и роста при выращивании на растительном рационе.

В исследовании [39] оценивали потенциальное влияние селенсодержащих добавок Sel-Plex на противовирусную защиту рыб. Микижу подвергали воздействию poly(I:C), синтетического аналога двуспиральной РНК (лиганда *TILR3*), на фоне обогащенного селеном питания и проводили анализ транскриптома печени и пронефроса при помощи

микрочипов. В целом обогащение питания селеном активировало в пронефросе экспрессию генов, связанных с кровотообразованием и иммунитетом. В печени наблюдалась менее интенсивная реакция, и добавки селена приводили лишь к активации липидного обмена. При стимуляции *roly(I:C)* подкормка селеном увеличивала экспрессию основных медиаторов противовирусной защиты, особенно *IFN γ* , и активировала клеточный иммунный ответ.

Качество икры, используемой в разведении, – важный признак в товарном рыбоводстве. От него зависит конечный выход рыбы и затраты рыбного хозяйства. В настоящее время ведутся исследования по созданию биомаркеров для прогнозирования качества икры, используемой в разведении.

В работе [40] идентифицировали miRNA, которые связаны с качеством икры радужной форели, используя икру постовуляторного возраста. Анализировалась икра, полученная от самок на 1-й, 7-й и 14-й день после овуляции с коэффициентами оплодотворения 91.8, 73.4 и менее 50%. Четыре известные (*omy-miR-193b-3p*, *omy-miR-203c-3p*, *omy-miR-499-5p* и *omy-miR-7550-3p*) и две новые miRNA (*omy-miR-nov-95-5p* и *omy-miR-nov-112-5p*) показали более высокую экспрессию в 1-й день по сравнению с 14-м днем после овуляции. Их гены-мишени были связаны со стрессовой реакцией, гибелью клеток, повреждением ДНК, генерацией АТФ, трансдукцией сигнала и регуляцией транскрипции. Дальнейшее изучение этих miRNA может помочь при разработке биомаркеров для прогнозирования качества икры радужной форели.

Материнские мРНК в яйцеклетках имеют короткие поли(А) хвосты после посттранскрипционного процессинга, необходимого для их стабилизации. Транскрипция в ооците на поздней стадии отсутствует, поэтому материнский транскриптом, хранящийся в ооците, обеспечивает почти всю мРНК, необходимую для созревания ооцита, оплодотворения и раннего развития эмбриона. Транскриптом неоплодотворенного яйца может предоставить маркеры для прогнозирования качества яйцеклеток и диагностики проблем при получении эмбрионов, с которыми сталкиваются рыбные хозяйства. В работе [41] проводился анализ транскриптома, сравнивали содержание общей мРНК и мРНК с поли(А) среди неоплодотворенных яйцеклеток разного качества. Секвенирование общей мРНК позволило идентифицировать два дифференциально экспрессируемых транскрипта. Секвенирование мРНК с поли(А) выявило 945 дифференциально экспрессируемых транскриптов между яйцеклетками низкого и высокого качества, 1012 между яйцеклетками низкого и среднего качества и только 2 между яйцами среднего и высокого качества. В яйцеклетках низкого качества было значительно меньше транскриптов митохондриальных генов и самой мтДНК. Многие из выявленных дифференциально экспрессируемых транскриптов между яйцеклетками низкого

и высокого качества были связаны с рибосомными и митохондриальными функциями. Данные результаты показывают, что различия в качестве яйцеклеток могут возникать из-за различий в активности материнских ядерных транскриптов и цитоплазматического полиаденилирования перед овуляцией. Сравнение транскриптомов позволяет предположить, что в яйцеклетках низкого качества нарушены окислительное фосфорилирование и трансляция.

Не менее важный признак в товарном рыбоводстве – качество эмбрионов и скорость эмбрионального развития. У радужной форели и других рыб скорость эмбрионального развития является важной характеристикой, которая тесно связана с выживаемостью и физиологическими показателями в дальнейшей жизни. В работе [42] исследовали экспрессию генов на разных этапах развития у эмбрионов радужной форели с быстрой или медленной скоростью развития. Эмбрионы собирали через 15, 19 и 28 дней после оплодотворения. Всего было идентифицировано 183 локуса со значительными различиями между типами скорости эмбрионального развития. У быстро развивающихся эмбрионов по сравнению с медленно растущими были значительно выше экспрессированы гены, связанные с ростом, клеточным циклом, сокращением мышц и синтезом белка, что может объяснять их быстрый рост и раннее эмбриональное развитие.

ВЛИЯНИЕ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ТРАНСКРИПТОМЫ РЫБ РОДА *Oncorhynchus*

К стрессовым воздействиям в аквакультуре относятся широкий спектр абиотических и биотических факторов: неоптимальная температура, сниженное содержание кислорода, избыточная соленость воды, патогены, межвидовая и внутривидовая конкуренция, хищники. Все эти факторы оказывают различные по интенсивности воздействия: начиная от умеренных изменений на молекулярном уровне и заканчивая повышенной восприимчивостью к болезням, иммуносупрессией, расстройствами поведения и повышением смертности [43]. Транскриптомные подходы позволяют не только идентифицировать гены, дифференциально экспрессированные в ответ на стрессовые воздействия, но и выявить обогащенные генные онтологии, пути и сигнальные каскады. Это позволяет идентифицировать молекулярные основы наблюдаемых изменений и их ключевые регуляторные элементы, а также разработать молекулярные биомаркеры, которые могут быть использованы для мониторинга стрессовых условий.

Тепловой стресс

Экологически и экономически важные виды тихоокеанских лососей могут подвергаться воз-

действию повышенной температуры воды на решающем этапе в онтогенезе — во время их миграции вверх по течению на нерест. Миграция в пути до нереста в теплой воде связана с увеличением случаев преждевременной смертности, особенно для популяций на южной периферии их распространения [44]. Патологический эффект от температурных воздействий является накопительным, увеличиваясь с повышением температуры и продолжительности воздействия. На начальных этапах клеточного стресс-ответа активируется защита макромолекул при помощи белков-шаперонов, перераспределения метаболических ресурсов от гомеостатических функций в сторону стрессовых реакций, обратимой остановки клеточного цикла. В случаях более сильного стресса активируется запрограммированная гибель клеток по пути апоптоза [45].

Микижа относится к холодноводным рыбам, оптимальная температура воды для нее — 15–18°C и ниже. Температуры в диапазоне 18–23°C являются неоптимальными, рыбы начинают испытывать стресс, в их печени наблюдаются патологические изменения, постепенно активируются воспалительные процессы и снижается активность иммунной системы, а при 25–28°C ткани критически повреждаются и наблюдается гибель рыб [43]. Растущие при тепловом стрессе рыбы имеют пониженные длину, массу и скорость роста [46]. Сравнение транскриптома пронефроса микижи при тепловом стрессе (24°C) и в контроле (18°C) показало, что наиболее активированной группой генов при тепловом стрессе являлись гены белков теплового шока, кофакторов и кошаперонов [47], были затронуты каскады фолдинга и деградации белков, посттранскрипционной регуляции сплайсосом, а также иммунные профили рыб. В тканях жабр отмечались сходные изменения профилей экспрессии, а также активация каскадов врожденного иммунитета (системы комплемента и коагуляции), приобретенного иммунитета и метаболизма липидов. Экстремально высокая температура (25°C) приводила к обширным изменениям сигнальных профилей — от каскадов репликации ДНК, процессинга белков в эндоплазматическом ретикулуме и гликолиза до гемолиза, тромбоза и гипертензии [48].

Для горбуши и нерки оптимум температур находится чуть ниже, чем для микижи, 13–14°C, а температуры выше 19°C уже приводят к физиологическому стрессу [49]. В исследовании горбуши и нерки, которых в течение 5–7 дней выдерживали при температуре 19°C, наблюдались активация клеточных стресс-реакций и преждевременная смертность [49]. Среди генов с наиболее измененной экспрессией были *SERPINH1* и гены белков теплового шока *HSP90AB1* и *HSP90AA1*, а наиболее ингибированными были гены *FKBP10* и *CIRBP*. Наибольшее влияние тепловой стресс оказал на каскады окислительно-восстановительного, кальциевого и ионного гомеостаза клеток, а также на

биосинтез, фолдинг и метаболизм белков. В другом исследовании, где нерку держали при температуре 19°C, наблюдались также изменения в экспрессии генов иммунного ответа. Кроме того, у рыб в плазме обнаруживались повышенные уровни лактата и хлоридов, что свидетельствует о нарушении осмотического гомеостаза в результате теплового стресса [50].

Чавыча, как и другие рыбы рода, является холодноводной и имеет оптимальную температуру ниже 18°C. При выдерживании чавычи при температурах 18–21°C запускалась активация клеточных стресс-реакций на повышенную температуру: наблюдалось постепенное повышение экспрессии белков теплового шока *HSP70*, *HSP90*, изменение профилей экспрессии генов с постепенным увеличением количества затронутых каскадов, а продолжение стресса приводило к инактивации белков, осуществляющих нормальные клеточные функции, и заканчивалось клеточным арестом и апоптозом клеток [45]. Исследователи отметили, что транскриптомные изменения являлись тканеспецифичными.

Инфекции

Одним из основных биогенных стрессорных факторов, воздействию которых подвергается рыба как в диких условиях, так и в условиях искусственного воспроизводства, являются инфекционные заболевания, вызываемые простейшими, бактериями, вирусами и другими патогенами. Транскриптомный анализ особей, являющихся носителями тех или иных инфекционных заболеваний, позволяет выявить гены и сигнальные каскады, задействованные в патогенезе инфекции, описать динамику патологии, найти генетические основы предрасположенности к заболеванию. Так, например, восприимчивость сальмонид к эктопаразиту *Lepeophtheirus salmonis* связана с развитием воспалительной реакции в области прикрепления паразитов. Атлантический лосось, или семга (*Salmo salar*), а также кета являются восприимчивыми видами, в то время как горбуша — относительно устойчивый вид. Исследования показали, что устойчивость горбуши развивается постепенно с ростом размеров мальков [51], а молекулярными основами устойчивости являются развитие острой фазы воспаления в области прикрепления паразита, повышенная экспрессия генов, участвующих в воспалении — *MHC class II*, *IL-6*, *CRP*, *MMP13*, *IL-1β* и *COX-2* [52], активация Th17-опосредованной иммунной реакции и системы врожденного иммунитета, чего не наблюдается у кеты и семги. Кроме того, исследователи предположили, что особенности поведения или химические аттракторы также могут играть роль в “привлекательности” рыб для паразитов [53]. Последствиями повышенной инфекционной нагрузки у кеты и семги стали повышенные уровни кортизола, снижение набора веса и сниженный

гематокрит, что могло провоцировать угнетение роста и дальнейшее снижение иммунитета.

Еще один вид паразитических копепод, заражающий лососевых рыб, — *Caligus rogercresseyi*. Сравнительный анализ транскриптомов семги и кижуча показал, что у кижуча, вида более устойчивого к данному патогену, в ответ на заражение развивался Th1-иммунный ответ, сопровождавшийся повышенной экспрессией генов *STAT5*, *IL1R*, *IFN γ* , *CD83*, *T-BET*, *TLR13* и *TLR19*, в то время как у семги наблюдалась повышенная экспрессия *MMP13*, *COX2*, *IL10*, *CCR3*, *TLR22A2* и *TLR21*. Таким образом была показана роль активации Th1 и Толл-подобных рецепторов в развитии устойчивости к *C. rogercresseyi* [54].

Заболевания, вызванные паразитами класса Мухозоа, представляют значительную угрозу для здоровья лососевых рыб как в дикой природе, так и в аквакультуре, поскольку на сегодняшний день отсутствуют эффективные препараты для лечения таких патологий. Однако существуют популяции рыб, устойчивые к патогенам данной группы. Для того, чтобы выяснить основы такой устойчивости, в работе [55] был проведен анализ транскриптома жабр и кишечника микижи на ранних стадиях заражения *Ceratonova shasta*, патогеном, вызывающим кератомикоз. Исследование показало, что при заражении в жабрах обеих популяций был ингибирован интерфероновый сигналинг, что может свидетельствовать о подавлении иммунитета хозяина патогеном на ранней стадии инвазии. Более устойчивая популяция быстро сдерживала распространение инфекции, и на 7-й день после заражения профили экспрессии показывали активацию Т-клеток как в жабрах, так и в кишечнике, в то же время у восприимчивой популяции лишь на 14-й и 21-й день наблюдалась дифференциальная экспрессия генов иммунного ответа, что свидетельствует о замедленной иммунной реакции восприимчивых популяций. Исследователи предположили, что чувствительные популяции рыб, вероятно, не могут распознать патогена, либо не активируют должной иммунной защиты в отличие от более устойчивых популяций. Секвенирование транскриптома кишечника устойчивой популяции рыб показало активацию интерферонового сигналинга, а также клеточной адгезии и миграции. В ответ на инфекцию наблюдались выраженное отвердение тканей кишечника и сильная воспалительная реакция в подслизистых слоях. Был сделан вывод, что устойчивость к кератомикозу зависит от скорости индукции ключевых иммунных факторов и от тканевого ответа, который за счет остро локализованного воспаления ограничивает распространение патогена и повреждение тканей [56].

Длительное время фурункулез в аквакультуре лечили применением антибиотиков, что привело к развитию антибиотикоустойчивой водной микрофлоры. Это подчеркнуло необходимость поиска других подходов, например поиска иммуномо-

дуляторов, стимулирующих развитие устойчивости к заболеванию. β -Глюкан является одним из иммуномодуляторов, для которого была показана эффективность в защите рыб от бактериальных инфекций [57]. Для изучения механизма участия β -глюкана в развитии иммунной защиты у микижи провели полногеномное секвенирование транскриптома рыб, которых в течение 42 дней кормили кормом с 0.2% β -глюкана, а затем заражали *A. salmonicida*. Анализ показал, что у рыб, получавших β -глюкан, были активированы сигнальные каскады иммунного ответа — системы комплемента, Толл-подобных рецепторов, процессинга и презентации антигена, рецепторов Т-клеток, а также каскады активации тромбоцитов и коагуляции. Таким образом исследование выявило молекулярные основы иммуностимулирующего действия β -глюкана [58].

Бактерии рода *Flavobacterium* вызывают бактериальную холодноводную болезнь, или RTSF (rainbow trout fry syndrome). В исследовании [59] оценивали профили экспрессии скелетной мускулатуры микижи при экспериментальном заражении *F. psychrophilum*. Среди 233 генов с повышенной экспрессией большая часть была связана с убиквитин-опосредованным протеолизом и апоптозом. Среди 189 генов с пониженной экспрессией большинство участвовало в процессах сокращения скелетной мускулатуры. Кроме того, наблюдаемое повышение активности каспаз позволило авторам выдвинуть предположение об атрофии скелетной мускулатуры, вызванной *F. psychrophilum*.

Yersinia ruckeri является патогеном, вызывающим у микижи йерсиниоз, септическое заболевание рыб. Анализ транскриптома селезенки рыб через 24 ч после заражения показал, что среди дифференциально экспрессированных генов были гены, ассоциированные с функционированием иммунной системы, такие как *CCR9*, *CXCL11*, *IL-1B*, *CARD9*, *IFN*, *TNF*, *CASP8*, *NF-KB*, *NOD1*, *TLR8A2*, *HSP90* и *MAPK11*. Эти гены участвуют в сигнальных каскадах взаимодействия цитокинов и их рецепторов, Толл-подобном сигналинге, каскадах Rig-I-подобных и NOD-подобных рецепторов, а также в *Mapk*-путях. Исследование дало предварительное представление о молекулярных основах иммунного ответа на заражение *Y. ruckeri* [60].

Ichthyophthirius multifiliis поражает жабры, плавники и кожу различных пресноводных рыб. Для анализа иммунного ответа в коже было проведено экспериментальное заражение микижи данным патогеном [61]. Анализ транскриптома показал, что инфекция *I. multifiliis* вызывала активацию как врожденного, так и адаптивного иммунитета, например путей хемокинового сигналинга, активации тромбоцитов, Толл-подобного сигналинга, NOD-подобного сигналинга, трансэндотелиальной миграции лейкоцитов. Наблюдалась повышенная экспрессия *TLR8* и различных хемокинов (*CCL4*, *CCL19*, *CCL28*, *CXCL8*, *CXCL11*, *CXCL13*,

CXCL14), что подчеркивает их роль в распознавании данного патогена и развитии воспалительной реакции. Анализ микробного разнообразия кожи показал, что в микробиоме наблюдалось снижение разнообразия комменциальной микрофлоры (в первую очередь протеобактерий) и увеличение представленности оппортунистической флоры (флавобактерий) [62].

Транскриптомный анализ ответа рыб на различные инфекции показал, что несмотря на общие каскады воспаления, активирующиеся при заражении, различные инфекции характеризуются специфичными паттернами изменений транскриптома, что во многих случаях позволяет выявить ключевые элементы патогенеза.

Токсичность

Загрязнение воды является одним из основных антропогенных факторов нагрузки на пресноводные экосистемы, что ставит под угрозу их стабильность и устойчивость и приводит к сокращению численности видов. Промышленные, бытовые и сельскохозяйственные сточные воды являются наиболее значимыми источниками загрязнения водных экосистем. Для оценки токсического воздействия на различные системы и органы рыб широко применяются транскриптомные исследования, позволяющие идентифицировать группы генов и сигнальных каскадов, являющихся мишенями токсического воздействия.

В работах [63–65] проводилась оценка токсичности различных концентраций бифентрина, пиретроидного инсектицида, применяемого на возделываемых культурах – картофеле, плодовых, овощных, зерновых, хлопчатнике, сое и других. Бифентрин часто обнаруживается в бассейнах рек, протекающих по сельхозугодьям, и его концентрации в верхних слоях воды зачастую превышают пороговые уровни хронической токсичности для различных видов беспозвоночных и рыб. Одна из основных мишеней его токсичности – нервная ткань. Исследования показали, что в мозге чавычи и микижи бифентрин может влиять на жизнеспособность нейронов, вызывая воспаление, избыточное производство активных форм кислорода, апоптоз и некроз клеток. Помимо этого он влияет и на передачу сигналов, вероятно через изменения сигнальных каскадов, опосредуемых жирными кислотами.

Другой группой токсических агентов являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), широко распространенные загрязняющие вещества, попадающие в водную среду из атмосферных осадков, муниципальных и промышленных стоков, выходов и разливов нефти. ПАУ оказывают сильное эмбриотоксическое воздействие на рыб, вызывают окислительный стресс и повреждение ДНК, нарушение функций щитовидной железы и эндокринной системы. Некоторые ПАУ способны воздействовать с арил-гидрокарбо-

новым рецептором и проявлять диоксиноподобную токсичность, например ретен, пирен и фенантрен, которые проявляют кардиотоксический эффект. Для исследования механизма кардиотоксичности оценивали изменения транскриптома сердечной мышцы у микижи [66, 67]. При обработке мальков на ранних стадиях развития не появлялось практически никаких значимых пороков развития и задержек роста, однако наблюдались изменения в экспрессии ключевых сигнальных каскадов, связанных с развитием и функционированием сердца. Ретен в первую очередь влиял на ионные каналы в клетках, гомеостаз кальция и сокращение сердечной мышцы. Пирен и в меньшей степени фенантрен влияли на дыхательную цепь переноса электронов, метаболизм кислорода и железа.

Бисфенол А (БФА) широко используется в производстве пластмасс и эпоксидных смол и является часто встречающимся загрязнителем водной среды. БФА вызывает нарушения развития, метаболизма и репродукции у рыб, а накопление БФА в икре влияет на рост и устойчивость к стрессовым воздействиям у появляющихся мальков. Анализ показал, что при выведении мальков из икры, содержащей БФА, у двух поколений потомков наблюдались снижение массы тела, измененная динамика роста, нарушения метаболизма белков и жиров [68].

Гормоны

Помимо токсических агентов, попадающих в пресноводные экосистемы, патологическое воздействие на их обитателей могут оказывать гормоны и гормоноподобные вещества, попадающие в воду с сельскохозяйственных угодий (например, вымываемые из вносимого навоза). Так, эстрон (E1), природный эстроген, обнаруженный в сточных и поверхностных водах, вызывает у рыб нарушения функционирования эндокринной системы. Для оценки наблюдаемого патологического эффекта в исследовании [69] проводили обработку мальков микижи эстрогеном в концентрации 0.1 нМ в течение семи дней и затем анализировали изменения транскриптома рыб. Было показано, что уже через четыре дня воздействия наблюдались изменения в сигнальных каскадах иммунного ответа, апоптоза, свертываемости крови, метаболических каскадах и в функционировании эндокринной системы. Значительно изменялась экспрессия генов, обеспечивающих вителлогенез, что свидетельствует о влиянии ксеноэстрогенов на половую функцию рыб.

В исследовании [70] оценивали влияние этилэстрадиола (EE2) на гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось. Было показано, что в ответ на EE2 наиболее значимыми изменениями экспрессии характеризовались гены лютеинизирующего и фолликул-стимулирующего гормона, а также гены синтеза гонадотропина. Кроме ожидаемых изменений эндокринного профиля, наблюдались

изменения циркадных ритмов, кальциевого сигналинга, PPAR-опосредованного сигналинга и нетринового сигналинга. Анализ показал потенциальные взаимодействия между генами, участвующими в регуляции циркадных ритмов и гонадолиберина, что позволило авторам выдвинуть предположение о влиянии ЕЕ2 на регуляцию циклов репродукции рыб.

Плотность посадки

Избыточная плотность посадки может оказывать стрессовое влияние на рыб, нарушая их гомеостаз и влияя на иммунокомпетентность. Для того чтобы охарактеризовать гомеостатические реакции кишечника на избыточную плотность посадки и оценить потенциальное благотворное влияние функциональной диеты на рыб, было проведено транскриптомное исследование влияния выращивания при субоптимальной плотности на нейро-иммунную и эндокринную системы микижи [71]. Через месяц содержания при избыточной плотности посадки наблюдались снижение экспрессии 67% генов, связанных с поддержанием гомеостаза, а также пониженная экспрессия генов апоптотического сигналинга (*FADD*, *FAS*, *BCL-2*, *BAX*) и каспаз (*CASP8*, *CASP3*) (Fold change < -7). В группе рыб, питание которых было обогащено пробиотиками, лишь менее 1% этих генов характеризовались пониженной экспрессией, т.е. функциональная диета компенсировала негативный эффект от избыточной плотности посадки.

Для оценки кумулятивного влияния плотности посадки и повышенной температуры на микижу было проведено исследование [43], в котором рыб держали при температуре 27°C либо при плотности посадки 100 кг/м³ и температуре 27°C. Именно такие условия стрессовых воздействий были выбраны потому, что данная температура наблюдалась в последние годы в летние месяцы в Балтийском море, где занимаются разведением микижи, а такая плотность посадки является верхней границей в рекомендациях Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН. Анализ транскриптома селезенки показал, что в ответ на содержание при повышенной температуре 831 ген изменил свою экспрессию, а при совокупности повышенной температуры и плотности посадки дифференциально экспрессированы были 1343 гена. Наиболее подверженными воздействию повышенной температуры оказались сигнальные каскады ответа на стресс и каскады иммунного ответа. Близкая картина наблюдалась и при совокупном воздействии температуры и плотности посадки. Кроме того, совокупное воздействие влияло на процессы репликации ДНК и пути экспрессии генов.

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И ИХ УЧАСТИЯ В ОТВЕТЕ НА СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Особенности технологии полногеномного секвенирования транскриптома сделали исследование различных некодирующих РНК гораздо более доступным, чем ранее. До применения высокопроизводительного секвенирования микроРНК в основном анализировали путем клонирования и секвенирования по Сэнгеру, что делало анализ довольно трудоемким, при этом их число сильно недооценивали, предсказывая существование около 100 микроРНК на геном [72]. Аналогичным образом дело обстояло и с другими некодирующими РНК: до начала 2000-х было охарактеризовано всего несколько длинных некодирующих РНК (днкРНК), например *H19* и *XIST* у человека. Однако развитие геномных технологий привело к тому, что для многих видов был идентифицирован и описан широкий спектр регуляторных РНК, как малых (микроРНК, малые ядерные мяРНК, малые ядрышковые мяРНК, взаимодействующие с piwi-белком пиРНК), так и длинных (днкРНК и длинные межгенные некодирующие дмнкРНК) и кольцевых (кРНК) [73]. Не стал исключением род *Oncorhynchus*: исследователи активно изучают разнообразие и функции различных некодирующих РНК из транскриптомов рыб этого рода.

МикроРНК

МикроРНК – это однонитевые молекулы РНК в среднем 22 пн длиной, которые регулируют экспрессию генов-мишеней путем подавления трансляции и/или разрезания транскриптов-мишеней. У животных пост-транскрипционная регуляция, осуществляемая микроРНК, в большинстве случаев происходит при ее неполной комплементарности мРНК мишени в области 3'UTR, что приводит к привлечению комплекса RISC и последующему подавлению экспрессии гена-мишени [74].

Для того, чтобы охарактеризовать разнообразие микроРНК микижи, исследователи проанализировали 38 различных образцов, относившихся к 16 органам и тканям [72]. В результате в геноме микижи были идентифицированы 2946 локусов, кодирующих микроРНК, из которых 445 были известны ранее и относились к 111 эволюционно консервативным семействам. Затем проводили анализ дифференциальной экспрессии между тканями, показавший, что большинство микроРНК экспрессировались тканеспецифично, хотя три микроРНК – *miR-21*, *miR-146*, *miR-143* были представлены во всех тканях. *miR-21* участвовала в регуляции пролиферации и онкогенеза, *miR-146* была задействована в сигнальных каскадах воспаления, а *miR-143* участвовала в морфогенезе сердца и также была ассоциирована с различными видами опухолей. Помимо эволю-

ционно консервативных были выявлены микроРНК, впервые предсказанные у микижи и ранее не идентифицированные у других видов. Исследование стало отправной точкой для дальнейшего анализа функциональных ролей идентифицированных микроРНК.

Икра рыб содержит материнские мРНК и белки, необходимые для раннего эмбрионального развития после оплодотворения. На примере *Danio rerio* было показано, что микроРНК регулируют циркуляцию материнских мРНК и поддерживают раннее эмбриональное развитие [75]. В исследовании микроРНК икры микижи было идентифицировано 266 известных и предсказано 230 предположительно новых микроРНК [76]. Наиболее предсказанными оказались микроРНК *let-7* и *miR-21*; кроме того, в икре оказались широко представлены *miR-24*, *miR-202*, *miR-148*, *miR-30*, *miR-10*, *miR-146*, *miR-25* и *miR-143*. Для выявленных микроРНК провели поиск мРНК мишеней при помощи приложений miRanda и PITA. Затем оценили представленность предполагаемых транскриптов-мишеней микроРНК, важных для созревания икры и овуляции у микижи, в икре, мышце и печени. Анализ не выявил достоверных различий в уровнях экспрессии, однако большинство мишеней характеризовались сниженной экспрессией в икре, что может косвенно свидетельствовать о регуляторной активности микроРНК в икре.

Профили экспрессии микроРНК могут служить маркерами различных состояний и патологий. Для того, чтобы выявить возможное участие микроРНК в развитии индуцированной диетой гипергликемии, сравнили печеночный транскриптом микижи трех групп: первую группу рыб кормили высокоуглеводной пищей, вызывая у них гипергликемию, вторую кормили безуглеводной пищей, а третью группу держали натощак (“голодная” группа) [77]. По сравнению с “голодной” группой в группе гипергликемических рыб наблюдалась дифференциальная экспрессия микроРНК в печени. Для некоторых из дифференциально экспрессированных микроРНК, например *miRNA-27b-3p* и *miRNA-200a-3p*, известно их участие в процессах метаболизма глюкозы и развития гипергликемии у других рыб и млекопитающих, что позволило предположить существование эволюционно консервативной регуляции этих процессов. Были предсказаны мРНК мишени дифференциально экспрессированных микроРНК, и проведен анализ генных онтологий, который показал, что мишени микроРНК участвовали в процессах промежуточного обмена углеводов, метаболизма липидов и инсулинового сигналинга. Таким образом, были выявлены специфические микроРНК печени, которые регулируют метаболизм глюкозы у микижи.

МикроРНК могут участвовать в ответе на различные стрессовые воздействия. Так, в исследовании [78] охарактеризовали микроРНК, участвующие в ответе микижи на тепловой стресс. Организм может адаптироваться к тепловому стрессу, ис-

пользуя различные уровни регуляции — на уровне транскрипции и пост-транскрипционно, например через малые РНК [79]. В работе были проанализированы транскриптомы пронефроса двух групп рыб: первых держали при нормальной температуре (18°C), а вторых — при повышенной (24°C). В результате анализа транскриптома было идентифицировано 392 консервативных микроРНК, относившихся к 114 семействам, и выявлено 455 новых микроРНК, для которых были предсказаны мРНК мишени. Всего было выявлено 393 пары микроРНК–мРНК, участвовавших в ответе на тепловой стресс, и 80 обогащенных путей сигнальной трансдукции в базе KEGG.

При заражении рыб микроРНК также могут играть функциональные роли, участвуя в развитии защитного ответа. Для того, чтобы оценить изменения профилей микроРНК в ответ на заражение *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, были проанализированы образцы печени микижи [80]. Всего в результате секвенирования в экспериментальной и контрольной группах были идентифицированы 381 консервативные микроРНК и 926 предположительно новых микроРНК, из них 11 консервативных и 16 новых были дифференциально экспрессированы в результате заражения *A. salmonicida*. Анализ генных онтологий и обогащенный сигнальных каскадов базы KEGG показал, что мишени 11 консервативных микроРНК участвовали в сигнальных каскадах иммунного ответа и путях сигнальных молекул и взаимодействий.

Длинные некодирующие РНК

Длинные некодирующие РНК (днкРНК) являются большим классом некодирующих РНК длиной от 200 пн до 100 тпн, которые могут взаимодействовать как с ДНК, так и с РНК и с белками, что обуславливает широкий спектр их активности. В зависимости от транскрипции днкРНК может активироваться или подавляться экспрессия соседних генов; днкРНК могут опосредовать межхромосомные взаимодействия и образования ядерных структур; направлять или удалять транскрипционные факторы и хроматин-модифицирующие комплексы; функционировать как губки для микроРНК и конкурировать с ними за связывание с мишенями; регулировать пост-транскрипционный распад мРНК; регулировать клеточную локализацию РНК-связывающих или ДНК-связывающих белков [81].

Длинные межгенные некодирующие РНК — это днкРНК, транскрибируемые с межгенных областей генома. Они могут иметь такую же функциональную активность, как и другие днкРНК. В исследовании [82] был охарактеризован транскриптом днкРНК широкого спектра тканей микижи — мозга, жировой ткани, жабр, пронефроса, кишечника, почки, печени, семеника, красных и белых мышц, кожи, селезенки, желудка, яйцеклетки и шишковидной железы. Были

идентифицированы 9674 дмнкРНК микижи, по своим характеристикам имевшие много общего с дмнкРНК различных видов млекопитающих: они короче и меньше по числу экзонов и уровню экспрессии, чем белок-кодирующие гены; демонстрируют тканеспецифичные паттерны экспрессии и, как правило, коэкспрессируются вместе с соседними генами. Анализ сетей коэкспрессии показал, что многие дмнкРНК связаны с иммунным ответом, дифференцировкой мышц и развитием нервной системы. В результате исследования был сделан вывод о том, что совместная активность некодирующих и белок-кодирующих РНК обеспечивает уникальность характеристик и функциональность различных типов тканей.

Кижуч характеризуется природной устойчивостью к ряду патогенов сальмонид. Первым шагом в изучении возможной роли некодирующих РНК в этой устойчивости стало описание транскриптома малых и длинных некодирующих РНК иммунных органов кижуча – печени, селезенки и пронефроса [74]. Всего выявлены 4975 днкРНК, около 80% из которых были внегенными, и 2064 из выявленных днкРНК не имели ортологов у других сальмонид. Кроме того, в анализе были идентифицированы 146 консервативных и 20 новых микроРНК. Были идентифицированы предполагаемые мишени днкРНК и микроРНК. Для мишеней днкРНК наиболее обогащенными были каскады эндоцитоза, онкогенеза, регуляции актинового цитоскелета, *PI3K-Akt* сигналинга и пути инфицирования HTLV. Для мишеней микроРНК – каскады взаимодействия цитокинов и их рецепторов и каскады эндоцитоза. Таким образом, были охарактеризованы профили некодирующих РНК иммунных органов кижуча.

Длинные некодирующие РНК также могут участвовать и в ответе на тепловой стресс. В исследовании микижи, которую содержали при нормальной температуре (18°C) либо при тепловом стрессе (24°C) [83], были выявлены 5916 днкРНК, 927 из них были новыми, а 428 – дифференциально экспрессированными в ответ на тепловой стресс. Анализ показал, что 2261 днкРНК участвовали в цис-регуляции, их гены-мишени участвовали в каскадах клеточного метаболизма, ответа на воздействия и модификации клеточных белков и обогащали сигнальные каскады *MAPK*, *PI3K-AKT*, *NOD*-подобного рецептора и эстрогенового сигналинга. 3483 днкРНК участвовали в транс-регуляции, их гены-мишени также обогащали пути регуляции аутофагии и эндоцитоза. Таким образом, анализ обогащений показал, что днкРНК регулируют экспрессию различных групп генов, участвующих в адаптации микижи к тепловому стрессу.

Другим стрессовым воздействием, которое изменяет профили экспрессии как кодирующих, так и некодирующих РНК, является повышенная плотность посадки рыб. В исследовании [84] микижу выращивали в течение месяца при повы-

шенной плотности посадки (40 кг/м³) и затем оценивали профили кодирующих и некодирующих транскриптов в тканях кишечника, поскольку этот орган содержит сложное сообщество микроорганизмов и играет активную роль в функционировании иммунной системы и поддержании гомеостаза. Исследование показало, что повышенная плотность посадки в целом подавляла экспрессию генов: у рыб из группы высокой плотности посадки в кишечнике экспрессировалось всего 64.3% от всех идентифицированных транскриптов, в то время как при низкой посадке детектировались 93.7% от всех транскриптов. Высокая плотность посадки подавляла активность каскадов метаболизма и иммунитета, а также снижала целостность и стабильность эпителиального слоя. Исследователи сделали вывод, что между кодирующими и некодирующими РНК кишечника наблюдается тонкое динамическое равновесие, изменяющееся при стрессовых воздействиях, например при повышенной плотности посадки.

Кольцевые РНК

Кольцевые РНК (кРНК) представляют собой ковалентно замкнутые эндогенные некодирующие РНК, которые участвуют во многих клеточных процессах и обладают высокой стабильностью [14]. кРНК могут функционировать как “губки” для микроРНК и тем самым снижать уровень микроРНК-опосредованного сайленсинга генов, либо конкурировать с мРНК за связывание с микроРНК, образуя “сети конкурентной регуляции”. Другой механизм их действия – образование рибонуклеопротеиновых комплексов, например с факторами транскрипции и с РНК-связывающими белками, и модификация их сродства к мишеням или локализации. На сегодняшний день они изучены недостаточно подробно, однако учитывая их стабильность, высокую представленность в клетке и разнообразие профилей экспрессии вполне вероятно, что они играют важные роли в различных биологических процессах и регуляторных путях. В работе [79] провели анализ изменений транскриптома микижи, возникающих в ответ на тепловой стресс (24°C). Были выявлены 324 дифференциально экспрессированных кРНК, 105 микроРНК и 1885 мРНК. Была построена сеть конкурентной регуляции ответа на тепловой стресс, которая включала в себя 301 пару кРНК–микроРНК и 51 пару микроРНК–мРНК, и корреляционный анализ выявил пары микроРНК–мРНК с отрицательной корреляцией. Тепловой стресс активировал экспрессию генов, участвовавших в метаболизме и ответе на стресс, каскады процессинга белков в ЭПС, эстрогеновый и *Hif-1*-опосредованный сигналинг.

Подытоживая данный раздел, можно отметить, что разнообразие некодирующих РНК очень велико, и высокопроизводительные транскриптомные

методы анализа значительно ускорили и упростили их изучение. Вероятно, в ближайшее время будут более подробно и полно охарактеризованы сети взаимодействий нкРНК, мРНК и белков, которые участвуют в ответе на стресс, а также в регуляции роста и развития рыб рода *Oncorhynchus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре проанализированы работы по изучению динамики транскриптома рыб рода *Oncorhynchus* на разных этапах жизненного цикла и его изменений в ответ на различные воздействия окружающей среды. Целью обзора состояла в анализе современного состояния исследований транскриптома лососевых. Расширение применения данного метода в аквакультурных исследованиях открыло возможности для генетического анализа индивидуальной особи на разных жизненных этапах. Большое количество работ в настоящее время посвящено исследованию транскриптомного ответа на внешние воздействия, такие как тепловой стресс, инфекции, лекарства, вредные вещества, гормоны. Исследования некодирующих РНК показали, что данная группа транскриптов участвует в функционировании сетей сигнальной трансдукции наряду с кодирующими генами и белками, и дальнейший анализ сетей коэкспрессии и конкурентной регуляции позволит более подробно охарактеризовать взаимное влияние кодирующих и некодирующих транскриптов.

Исследование выполнено на средства гранта Российского научного фонда (проект РНФ № 19-16-00101, руководитель – Л.А. Животовский).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rao M.S., Van Vleet T.R., Ciurlionis R. et al. Comparison of RNA-seq and microarray gene expression platforms for the toxicogenomic evaluation of liver from short-term rat toxicity studies // *Front Genet.* 2019. V. 9. 636. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00636>
2. Thorpe J.E., Metcalfe N.B. Is smolting a positive or a negative developmental decision? // *Aquaculture.* 1998. V. 168. P. 95–103.
3. Hoar W.S. Smolt transformation – evolution, behavior, and physiology // *J. Fish. Res. Can.* 1976. V. 33. P. 1233–1252.
4. Dickhoff W.W., Beckman B.R., Larsen D.A. et al. The role of growth in endocrine regulation of salmon smoltification // *Fish Physiol. Biochem.* 1997. V. 17. P. 231–236. <https://doi.org/10.1023/A:1007710308765>
5. Dodson J.J., Aubin-Horth N., Theriault V., Paez D.J. The evolutionary ecology of alternative migratory tactics in salmonid fishes // *Biol. Reviews.* 2013. V. 88. P. 602–625. <https://doi.org/10.1111/brv.12019>
6. Folmar L.C., Dickhoff W.W. The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids – a review of selected literature // *Aquaculture.* 1980. V. 21. P. 1–37. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(80\)90123-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(80)90123-4)
7. Stefansson S.O., Bjornsson B.T., Ebbesson L.O.E., McCormick S.D. Smoltification // *Fish Larval Physiology.* Enfield NH: Science Publ., 2008. P. 639–681.
8. McCormick S.D. Smolt physiology and endocrinology // *Euryhaline Fishes.* Oxford, 2013. P. 199–251. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396951-4.00005-0>
9. Lee S.Y., Lee H.J., Kim Y.K. Comparative transcriptome profiling of selected osmotic regulatory proteins in the gill during seawater acclimation of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fry // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. I. 1. 1987. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58915-6>
10. Houde L.A.S., Schulze A.D., Kaukinen K.H. et al. Transcriptional shifts during juvenile Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) life stage changes in freshwater and early marine environments // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2019. V. 29. P. 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2018.10.002>
11. Jeffries K.M., Hinch S.G., Gale M.K. et al. Immune response genes and pathogen presence predict migration survival in wild salmon smolts // *Mol. Ecol.* 2014. V. 23. I. 23. P. 5803–5815. <https://doi.org/10.1111/mec.12980>
12. Danzmann R.G., Kocmarek A.L., Norman J.D. et al. Transcriptome profiling in fast versus slow-growing rainbow trout across seasonal gradients // *BMC Genomics.* 2016. V. 17. 60. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2363-5>
13. Hale M.C., McKinney G.J., Thrower F.P., Nichols K.M. RNA-seq reveals differential gene expression in the brains of juvenile resident and migratory smolt rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2016. V. 20. P. 136–150. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2016.07.006>
14. Pankhurst N.W., Ludke S.L., King H.R., Peter R.E. The relationship between acute stress, food intake, endocrine status and life history stage in juvenile farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* // *Aquaculture.* 2008. V. 275. P. 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.01.001>
15. McCormick S.D., Hansen L.P., Quinn T.P., Saunders R.L. Movement, migration, and smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* 1998. V. 55. P. 77–92. <https://doi.org/10.1139/d98-011>
16. Jørgensen E.H., Martinsen M., Strom V. et al. Long-term fasting in the anadromous Arctic charr is associated with downregulation of metabolic enzyme activity and upregulation of leptin A1 and SOCS expression in the liver // *J. Exp. Biol.* 2013. V. 216. P. 3222–3230. <https://doi.org/10.1242/jeb.088344>
17. Palstra A.P., Fukaya K., Chiba H. et al. The olfactory transcriptome and progression of sexual maturation in homing chum salmon *Oncorhynchus keta* // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 9. e0137404. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137404>
18. Prince D.J., O'Rourke S.M., Thompson T.Q. et al. The evolutionary basis of premature migration in Pacific salmon highlights the utility of genomics for informing

- conservation // *Sci. Adv.* 2017. V. 3. e1603198. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1603198>
19. *Crête-Lafrenière A., Weir L.K., Bernatchez L.* Framing the Salmonidae family phylogenetic portrait: A more complete picture from increased taxon sampling // *PLoS One*. 2012. V. 7. e46662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046662>
 20. *Zhivotovsky L.A.* Genetic history of salmonid fishes of the genus *Oncorhynchus* // *Rus. J. Genet.* 2015. V. 51. № 5. P. 491–505.
 21. *Hecht B.C., Matala A.P., Hess J.E., Narum S.R.* Environmental adaptation in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) throughout their North American range // *Mol. Ecol.* 2015. V. 24. P. 5573–5595. <https://doi.org/10.1111/mec.13409>
 22. *Narum S.R., Genova A.Di., Micheletti S.J., Maass A.* Genomic variation underlying complex life-history traits revealed by genome sequencing in Chinook salmon // *Proc. Biol. Sci.* 2018. 285(1883). 20180935. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0935>
 23. *Mi H., Huang X., Muruganujan A. et al.* PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and reactome pathways, and data analysis tool enhancements // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 45. D183–D189. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1138>
 24. *Evans T.G., Hammill E., Kaukinen K. et al.* Transcriptomics of environmental acclimatization and survival in wild adult Pacific sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) during spawning migration // *Mol. Ecol.* 2011. V. 20. I. 21. P. 4472–4489. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05276.x>
 25. *Madaro A., Torrisen O., Whatmore P. et al.* Red and White Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): Differences in the transcriptome profile of muscle, liver, and pylorus // *Mar. Biotechnol. (N.Y.)*. 2020. V. 22. I. 4. P. 581–593. <https://doi.org/10.1007/s10126-020-09980-5>
 26. *Hu G., Gu W., Sun P. et al.* Transcriptome analyses reveal lipid metabolic process in liver related to the difference of carcass fat content in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Int. J. Genomics*. 2016. 7281585. <https://doi.org/10.1155/2016/7281585>
 27. *Al-Tobasei R., Ali A., Leeds T.D. et al.* Identification of SNPs associated with muscle yield and quality traits using allelic-imbalance analyses of pooled RNA-Seq samples in rainbow trout // *BMC Genomics*. 2017. V. 18. I. 1. P. 582. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3992-z>
 28. *Paneru B.D., Tobasei R.A., Kenney B. et al.* RNA-Seq reveals microRNA expression signature and genetic polymorphism associated with growth and muscle quality traits in rainbow trout // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. I. 1. 9078. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09515-4>
 29. *Salem M., Vallejo R.L., Leeds T.D. et al.* RNA-seq identifies SNP markers for growth traits in rainbow trout // *PLoS One*. 2012. V. 7. I. 5. e36264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036264>
 30. *Haard N.F.* Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish // *Food Res.* 1992. I. 25. P. 289–307. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(92\)90126-P](https://doi.org/10.1016/0963-9969(92)90126-P)
 31. *Lie Ø.* Flesh quality – the role of nutrition // *Aquaculture*. 2001. V. 32. P. 341–348. <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00026.x>
 32. *Palstra A.P., Planas J.V.* Fish under exercise // *Fish Physiol. Biochem.* 2011. V. 37. P. 259–272. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9505-0>
 33. *Magnoni L.J., Crespo D., Ibarz A. et al.* Effects of sustained swimming on the red and white muscle transcriptome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a carbohydrate-rich diet // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2013. V. 166. I. 3. P. 510–521. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.08.005>
 34. *Lazzarotto V., Médale F., Larroquet L., Corraze G.* Long-term dietary replacement of fishmeal and fish oil in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on growth, whole body fatty acids and intestinal and hepatic gene expression // *PLoS One*. 2018. V. 13. I. 1. e0190730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190730>
 35. *Callet T., Dupont-Nivet M., Cluzeaud M. et al.* Detection of new pathways involved in the acceptance and the utilisation of a plant-based diet in isogenic lines of rainbow trout fry // *PLoS One*. 2018. V. 13. I. 7. e0201462. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201462>
 36. *Callet T., Dupont-Nivet M., Danion M. et al.* Why do some rainbow trout genotypes grow better with a complete plant-based diet? Transcriptomic and physiological analyses on three isogenic lines // *Front Physiol.* 2021. V. 12. 732321. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.732321>
 37. *Le Boucher R., Dupont-Nivet M., Vandeputte M. et al.* Selection for adaptation to dietary shifts: towards sustainable breeding of carnivorous fish // *PLoS One*. 2012. V. 7. e44898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044898>
 38. *Callet T., Médale F., Larroquet L. et al.* Successful selection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on their ability to grow with a diet completely devoid of fishmeal and fish oil, and correlated changes in nutritional traits // *PLoS One*. 2017. V. 12. e0186705. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186705>
 39. *Pacitti D., Lawan M.M., Feldmann J. et al.* Impact of selenium supplementation on fish antiviral responses: A whole transcriptomic analysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed supranutritional levels of Sel-Plex® // *BMC Genomics*. 2016. V. 17. 116. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2418-7>
 40. *Ma H., Weber G.M., Hostuttler M.A. et al.* MicroRNA expression profiles from eggs of different qualities associated with post-ovulatory ageing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *BMC Genomics*. 2015. V. 16. I. 1. 201. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1400-0>
 41. *Ma H., Martin K., Dixon 2nd D. et al.* Transcriptome analysis of egg viability in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *BMC Genomics*. 2019. V. 20. I. 1. 319. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5690-5>
 42. *Xu P., McIntyre L.M., Scardina J. et al.* Transcriptome profiling of embryonic development rate in rainbow trout advanced backcross introgression lines // *Mar. Biotechnol. (N.Y.)*. 2011. V. 13. I. 2. P. 215–231. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9283-1>
 43. *Rebl A., Korytář T., Borchel A. et al.* The synergistic interaction of thermal stress coupled with overstocking strongly modulates the transcriptomic activity and immune capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. e14913. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71852-8>
 44. *Jeffries K.M., Hinch S.G., Sierocinski T. et al.* Transcriptomic responses to high water temperature in two species of Pacific salmon // *Evol. Appl.* 2014. V. 7. № 2.

- P. 286–300.
<https://doi.org/10.1111/eva.12119>
45. Bowen L., von Biela V.R., McCormick S.D. et al. Transcriptomic response to elevated water temperatures in adult migrating Yukon River Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // *Conserv. Physiol.* 2020. V. 8. № 1. coaa084.
<https://doi.org/10.1093/conphys/coaa084>
 46. Defo M.A., Gendron A.D., Head J. et al. Cumulative effects of cadmium and natural stressors (temperature and parasite infection) on molecular and biochemical responses of juvenile rainbow trout // *Aquat Toxicol.* 2019. V. 217. 105347.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105347>
 47. Huang J., Li Y., Liu Z. et al. Transcriptomic responses to heat stress in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* head kidney // *Fish Shellfish Immunol.* 2018. V. 82. P. 32–40.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.08.002>
 48. Rebl A., Verleih M., Köbis J.M. et al. Transcriptome profiling of gill tissue in regionally bred and globally farmed rainbow trout strains reveals different strategies for coping with thermal stress // *Mar. Biotechnol.* (N.Y.). 2013. V. 15. № 4. P. 445–460.
<https://doi.org/10.1007/s10126-013-9501-8>
 49. Roh H., Kim A., Kim N. et al. Multi-omics analysis provides novel insight into immuno-physiological pathways and development of thermal resistance in rainbow trout exposed to acute thermal stress // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 23. 9198.
<https://doi.org/10.3390/ijms21239198>
 50. Jeffries K.M., Hinch S.G., Sierocinski T. et al. Consequences of high temperatures and premature mortality on the transcriptome and blood physiology of wild adult sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) // *Ecol. Evol.* 2012. V. 2. № 7. P. 1747–1764.
<https://doi.org/10.1002/ece3.274>
 51. Sutherland B.J., Jantzen S.G., Sanderson D.S. et al. Differentiating size-dependent responses of juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) to sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*) infections // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2011. V. 6. № 2. P. 213–223.
<https://doi.org/10.1016/j.cbd.2011.04.001>
 52. Braden L.M., Barker D.E., Koop B.F., Jones S.R. Comparative defense-associated responses in salmon skin elicited by the ectoparasite *Lepeophtheirus salmonis* // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2012. V. 7. № 2. P. 100–109.
<https://doi.org/10.1016/j.cbd.2011.12.002v>
 53. Sutherland B.J., Koczka K.W., Yasuike M. et al. Comparative transcriptomics of Atlantic *Salmo salar*, chum *Oncorhynchus keta* and pink salmon *O. gorbuscha* during infections with salmon lice *Lepeophtheirus salmonis* // *BMC Genomics.* 2014. V. 15. № 1. 200.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-200>
 54. Valenzuela-Muñoz V., Boltaña S., Gallardo-Escárate C. Comparative immunity of *Salmo salar* and *Oncorhynchus kisutch* during infestation with the sea louse *Caligus rogercresseyi*: An enrichment transcriptome analysis // *Fish Shellfish Immunol.* 2016. V. 59. P. 276–287.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.10.046>
 55. Barrett D.E., Bartholomew J.L. A tale of two fish: Comparative transcriptomics of resistant and susceptible steelhead following exposure to *Ceratonova shasta* highlights differences in parasite recognition // *PLoS One.* 2021. V. 16. № 2. e0234837.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234837>
 56. Barrett D.E., Estensoro I., Sitjà-Bobadilla A., Bartholomew J.L. Intestinal transcriptomic and histologic profiling reveals tissue repair mechanisms underlying resistance to the parasite *Ceratonova shasta* // *Pathogens.* 2021. V. 10. № 9. 1179.
<https://doi.org/10.3390/pathogens10091179>
 57. Rebl A., Korytář T., Köbis J.M. et al. Transcriptome profiling reveals insight into distinct immune responses to *Aeromonas salmonicida* in gill of two rainbow trout strains // *Mar. Biotechnol.* (N.Y.). 2014. V. 16. № 3. P. 333–348.
<https://doi.org/10.1007/s10126-013-9552-x>
 58. Ji L., Sun G., Li X., Liu Y. Comparative transcriptome analysis reveals the mechanism of β -glucan in protecting rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from *Aeromonas salmonicida* infection // *Fish Shellfish Immunol.* 2020. V. 98. P. 87–99.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.022>
 59. Rivas-Aravena A., Fuentes-Valenzuela M., Escobar-Aguirre S. et al. Transcriptomic response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skeletal muscle to *Flavobacterium psychrophilum* // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2019. V. 31. 100596.
<https://doi.org/10.1016/j.cbd.2019.100596>
 60. Wang D., Sun S., Li S. et al. Transcriptome profiling of immune response to *Yersinia ruckeri* in spleen of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *BMC Genomics.* 2021. V. 22. № 1. 292.
<https://doi.org/10.1186/s12864-021-07611-4>
 61. Syahputra K., Kania P.W., Al-Jubury A. et al. Transcriptomic analysis of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gills infected by *Ichthyophthirius multifiliis* // *Fish Shellfish Immunol.* 2019. V. 86. P. 486–496.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.075>
 62. Zhang X., Ding L., Yu Y. et al. The change of teleost skin commensal microbiota is associated with skin mucosal transcriptomic responses during parasitic infection by *Ichthyophthirius multifiliis* // *Front Immunol.* 2018. V. 9. 2972.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02972>
 63. Magnuson J.T., Cryder Z., Andrzejczyk N.E. et al. Metabolomic profiles in the brains of juvenile steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) following bifenthrin treatment // *Environ Sci. Technol.* 2020. V. 54. № 19. P. 12245–12253.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04847>
 64. Magnuson J.T., Giroux M., Cryder Z. et al. The use of non-targeted metabolomics to assess the toxicity of bifenthrin to juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // *Aquat Toxicol.* 2020. V. 224. 105518.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105518>
 65. Magnuson J.T., Huff Hartz K.E., Fulton C.A. et al. Transcriptomic and histopathological effects of bifenthrin to the brain of juvenile rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Toxics.* 2021. V. 9. № 3. 48.
<https://doi.org/10.3390/toxics9030048>
 66. Vehniäinen E.R., Bremer K., Scott J.A. et al. Retene causes multifunctional transcriptomic changes in the heart of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2016. V. 41. P. 95–102.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.11.015>
 67. Rigaud C., Eriksson A., Krasnov A. et al. Retene, pyrene and phenanthrene cause distinct molecular-level changes in the cardiac tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae, part 1 – Transcriptomics //

- Sci. Total Environ. 2020. V. 745. 141031.
https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141031
68. *Sadoul B., Birceanu O., Aluru N. et al.* Bisphenol A in eggs causes development-specific liver molecular reprogramming in two generations of rainbow trout // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. 14131.
https://doi.org/10.1038/s41598-017-13301-7
69. *Osachoff H.L., Brown L.L.Y., Tirrul L. et al.* Time course of hepatic gene expression and plasma vitellogenin protein concentrations in estrone-exposed juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2016. V. 19. P. 112–119.
https://doi.org/10.1016/j.cbd.2016.02.002
70. *Harding L.B., Schultz I.R., Goetz G.W. et al.* High-throughput sequencing and pathway analysis reveal alteration of the pituitary transcriptome by 17 α -ethynyl-estradiol (EE2) in female coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* // *Aquat Toxicol.* 2013. V. 142–143. P. 146–163.
https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.020
71. *Détrée C., Gonçalves A.T.* Transcriptome mining of apoptotic mechanisms in response to density and functional diets in *Oncorhynchus mykiss* and role in homeostatic regulation // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2019. V. 31. 100595.
https://doi.org/10.1016/j.cbd.2019.100595
72. *Juanchich A., Bardou P., Rué O. et al.* Characterization of an extensive rainbow trout miRNA transcriptome by next generation sequencing // *BMC Genomics.* 2016. V. 17. № 164.
https://doi.org/10.1186/s12864-016-2505-9
73. *Jarroux J., Morillon A., Pinskaya M.* History, discovery, and classification of lncRNAs // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. V. 1008. P. 1–46.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_1
74. *Leiva F., Rojas-Herrera M., Reyes D. et al.* Identification and characterization of miRNAs and lncRNAs of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in normal immune organs // *Genomics.* 2020. V. 112. № 1. P. 45–54.
https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.07.015
75. *Giraldez A.J., Mishima Y., Rihel J. et al.* Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs // *Science.* 2006. V. 312. № 5770. P. 75–79.
https://doi.org/10.1126/science.1122689
76. *Ma H., Hostuttler M., Wei H. et al.* Characterization of the rainbow trout egg microRNA transcriptome // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 6. e39649.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039649
77. *Kostyniuk D.J., Marandel L., Jubouri M. et al.* Profiling the rainbow trout hepatic miRNAome under diet-induced hyperglycemia // *Physiol. Genomics.* 2019. V. 51. № 9. P. 411–431.
https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00032.2019
78. *Ma F., Liu Z., Huang J. et al.* High-throughput sequencing reveals microRNAs in response to heat stress in the head kidney of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Funct. Integr. Genomics.* 2019. V. 19. № 5. P. 775–786.
https://doi.org/10.1007/s10142-019-00682-3
79. *Quan J., Kang Y., Luo Z. et al.* Integrated analysis of the responses of a circRNA-miRNA-mRNA ceRNA network to heat stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver // *BMC Genomics.* 2021. V. 22. № 1. P. 48.
https://doi.org/10.1186/s12864-020-07335-x
80. *Cao Y., Wang D., Li S. et al.* A transcriptome analysis focusing on splenic immune-related microRNAs of rainbow trout upon *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* infection // *Fish Shellfish Immunol.* 2019. V. 91. P. 350–357.
https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.048
81. *Marchese F.P., Raimondi I., Huarte M.* The multidimensional mechanisms of long noncoding RNA function // *Genome Biol.* 2017. V. 18. № 206.
https://doi.org/10.1186/s13059-017-1348-2
82. *Wang J., Fu L., Koganti P.P. et al.* Identification and functional prediction of large intergenic noncoding RNAs (lincRNAs) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Mar. Biotechnol. (N.Y.).* 2016. V. 18. № 2. P. 271–282.
https://doi.org/10.1007/s10126-016-9689-5
83. *Quan J., Kang Y., Luo Z. et al.* Identification and characterization of long noncoding RNAs provide insight into the regulation of gene expression in response to heat stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2020. V. 36. P. 100707.
https://doi.org/10.1016/j.cbd.2020.100707
84. *Gonçalves A.T., Núñez-Acuña G., Détrée C., Gallardo-Escárate C.* Coding/non-coding cross-talk in intestinal epithelium transcriptome gives insights on how fish respond to stocking density // *Comp. Biochem. Physiol. Part D: Genomics and Proteomics.* 2019. V. 29. P. 14–23.
https://doi.org/10.1016/j.cbd.2018.10.005

Transcriptome Studies of Salmonid Fish of the Genus *Oncorhynchus*

A. D. Zolotareno^a and M. V. Shitova^{a, *}

^a Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: shitova-m@rambler.ru

This review covers the current state of high-throughput transcriptome analysis in aquaculture. It describes the research on the molecular basis of growth and development of fish, as well as the genetic variability underlying the ecological and evolutionary adaptations of the genus *Oncorhynchus*. Systemic alterations in the profiles of small, long and circular non-coding RNAs that occur in fish transcriptomes in response to various stimuli are characterized. The identified signal transduction pathways playing key roles in the development of economically valuable traits can be used as targets for fish breeding within the target commodity characteristics.

Keywords: transcriptome studies, genus *Oncorhynchus*, microarrays, RNA-seq.