

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ  
ИНСТИТУТ ГИДРОБИОЛОГИИ

На правах рукописи

МАКАРОВА Татьяна Александровна

УДК 597.554.3-13

ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ КЛЕТОК В ОНТОГЕНЕЗЕ  
КАРПОВЫХ РЫБ

03.00.18 - гидробиология

03.00.10 - иктиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Киев - 1993

26.107  
Работа выполнена в Институте гидробиологии АН Украины,  
г. Киев

Научные руководители: академик АН Украины  
В. Д. Романенко;  
кандидат биологических наук  
В. В. Архипчук.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
профессор Г. Д. Бердышев;  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник  
Ю. Д. Коновалов

Ведущая организация - Институт биологии южных морей  
им. А. О. Ковалевского АН Украины,  
г. Севастополь

Защита состоится "30" марта 1993 г. в \_\_\_\_\_ часов  
на заседании специализированного совета Д 016.19.01 по защите  
диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических  
наук при Институте гидробиологии АН Украины (252210, г. Киев,  
пр. Героев Сталинграда, 12, Институт гидробиологии АНУ)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке  
Института гидробиологии АН Украины

Автореферат разослан "\_\_\_" \_\_\_\_\_ 1993 г.

Ученый секретарь  
специализированного совета  
доктор биологических наук

А. А. Протасов

ЛНБ України ім. В. Стефаника



00825886 (.)

ЛНБ ім. В. Стефаника  
АН України

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Индустриальные масштабы хозяйственного разведения различных видов рыб требуют решения многих задач ихтиологии, связанных не только с вопросами воспроизводства и совершенствования технологии ведения аквакультуры, но и с проблемами изучения закономерностей и особенностей жизнедеятельности организма рыб. На современном этапе развития ихтиологии важную роль приобретают генетические методы, позволяющие объяснить глубинные процессы, происходящие в организме рыб, понять их механизмы. Одним из перспективных направлений являются цитогенетические исследования.

В отечественной и зарубежной литературе освещены вопросы, связанные с изучением структурных элементов генетического аппарата рыб, особенностями кариотипов и их эволюцией, значением и ролью разных типов хромосомных, генных и геномных мутаций, проблемами селекции рыб и другие (Викторовский, 1978; Никольский, 1980; Васильев, 1985; Кирпичников, 1987; Gold et al., 1978; Ojima, 1982). Однако для решения многих практических задач, таких как разработка теста, позволяющего определять оптимальную готовность самок к нересту, выяснение причин возникновения разнокачественности у рыб, выработка новых селекционных признаков для отбора производителей, целесообразно применение функциональных, а не структурных характеристик генома.

Одной из наиболее перспективных для изучения и эффективного использования может быть ядрышкообразующая функция клетки. Фенотипическим проявлением активности ядрышкообразующих локусов хромосом являются ядрышки. Известно, что количественные характеристики ядрышек отражают как число функционирующих рибосомных генов (Босток, Самнер, 1981), так и интенсивность синтеза РНК и белка в клетке и

ее общее метаболическое состояние (Ченцов, 1978; Челидзе, 1985). Все вышесказанное дает основание считать применение ядрышковых показателей перспективным методом оценки общего физиологического состояния организма.

До последнего времени изучение ядрышек у рыб ограничивалось только определением их количества в клетке и соответствия ядрышек числу ядрышкообразующих районов хромосом (Бирштейн, 1987; Gold, Amsel, 1986). Более детальные исследования (динамика количественных характеристик ядрышек в онтогенезе, тканеспецифичность ядрышкообразующей функции и ее особенности у разнокачественных особей, изменения ядрышковых показателей в нерестовый период и другие) у данного класса холоднокровных позвоночных вообще и в семействе карповых, в частности, не проводились.

Данная работа является частью комплексных исследований отдела экологической физиологии водных животных Института гидробиологии АН Украины по изучению физиологических основ культивирования гидробионтов в регулируемых системах.

Цель работы. Диссертационная работа посвящена изучению закономерностей ядрышкообразующей функции у карповых рыб на разных этапах онтогенеза, ее особенностей у разных видов рыб, динамики функционирования генов рРНК при изменениях физиологического состояния организма.

В работе были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать взаимосвязь между интенсивностью белкового синтеза и ядрышковой активностью в клетках рыб. Показать возможность использования ядрышковых характеристик для оценки физиологического состояния организма.

2. Изучить особенности ядрышкообразующей функции в разных

тканях и органах рыб.

3. Выявить закономерности функционирования генов рРНК у карповых рыб на разных этапах онтогенеза (эмбриогенез, ювенильный период, половозрелое состояние).

4. Изучить особенности функционирования генома у разнокачественного потомства карповых рыб.

5. Определить зависимость роста и массонакопления у рыб разного возраста от ядрышковой активности в их клетках.

6. Изучить ритмичность функциональной активности рибосомных генов у производителей карповых рыб в течение года.

7. Изучить изменения количественных характеристик ядрышек на протяжении нерестового цикла.

8. Определить степень наследственной изменчивости ядрышковых характеристик у карповых рыб.

Научная новизна результатов исследований. Результаты, полученные при выполнении диссертационной работы имеют важное практическое и теоретическое значение.

1. Впервые проведены исследования закономерностей функционирования рибосомных генов у рыб в эмбриогенезе, в течение ювенильного периода и в половозрелом состоянии.

2. Показана тканеспецифичность ядрышкообразующей функции.

3. Установлена ритмичность ядрышковых показателей у рыб.

4. Впервые изучены изменения ядрышковой активности в клетках рыб в течение нерестового цикла.

5. Выявлены особенности ядрышкообразующей функции у разнокачественного потомства карповых рыб.

6. Выяснен характер взаимосвязи ядрышковых показателей и размерных характеристик рыб разного возраста.

7. Доказана наследуемость ядрышковых характеристик.

Практическая значимость исследований заключается в возможности применения ядрышкового теста для оценки различных метаболических процессов в организме рыб, например, для определения готовности самок к нересту. Ядрышковые характеристики, в связи с высокой степенью их наследуемости, могут быть успешно применены для селекционного отбора. Наши исследования дают основание считать ядрышковые показатели ценным селекционным признаком.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на:

1. Всесоюзной конференции молодых ученых и специалистов "Оценка состояния, охрана и рациональное использование биологических ресурсов водных экосистем в условиях антропогенного воздействия" (Ростов-на-Дону, 1990).

2. У Всесоюзной конференции по раннему онтогенезу рыб (Астрахань, 1991).

3. Научно-методической экологической конференции "Методы исследования и использования гидросистем" (Рига, 1991).

4. 6 Съезде Украинского общества генетиков и селекционеров им. Н.И.Вавилова (Полтава, 1992).

По теме диссертации опубликовано 11 работ.

Объем и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, методики исследований, 6 глав с описанием результатов собственных исследований и их обсуждением, заключения и выводов, 9 таблиц, 24 рисунков и библиографического указателя, включающего 128 отечественных и 47 иностранных литературных источников. Работа изложена на 133 страницах машинописи.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились в 1988-1992 годах на базе аква-комплекса Института гидробиологии АН Украины (ИГБ АН У), Запорожского нерестово-выростного хозяйства (НВХ) и рыбного хозяйства Пултовской РМС (Винницкая область).

Объектами исследований являлись несколько видов карповых рыб: вуалехвост (*Carassius auratus auratus*), серебряный карась (*Carassius auratus gibelio* Bloch.), карп (*Cyprinus carpio* L.), белая (Нуропthalmichthys molitrix Val.) и пестрая толстолобы (*Aristichthys nobilis* Rich.), белая амур (*Stenopharyngodon idella* Val.).

В зависимости от решаемой задачи материалом для исследования служили: развивающаяся икра карповых рыб на разных стадиях эмбриогенеза, генеративные и соматические ткани половозрелых самок белого толстолоба и трехмесячных мальков карпа, ткани плавниковой каймы разнокачественного потомства белого амура и производителей карпа, серебряного карася и вуалехвостов разных возрастных групп и при различных физиологических состояниях. Использование для цитогенетических исследований тканей хвостового плавника позволяло изучать динамику ядрышковой активности на одной и той же особи в течение продолжительного времени без существенных стрессовых воздействий и повреждения ее жизненных и репродуктивных функций.

Во всех опытах получение половых продуктов и инкубация икры проводились в соответствии с общепринятой биотехникой разведения карповых рыб (Мартышев, 1973; Козлов, Абрамович, 1980). Условия содержания рыбы в течение экспериментов были оптимальными для изучаемых видов. Стадии эмбриогенеза определялись по С.Г.Сонну (1963) и Е.Н.Смирновой (1978).

Удельный вес наследственной изменчивости вычислялся по коэф-

фициентам регрессии и корреляции между количественными характеристиками ядрышек у самок и их потомства (Кирпичников, 1987).

Показатели функциональной активности генов рРНК в разных тканях и органах изучались с помощью методики окрашивания раствором азотнокислого серебра функционально активных структур рибосомной ДНК.

Для проведения цитогенетического анализа пробы тканей рыб фиксировались в двух сменах свежеприготовленной и охлажденной смеси этилового спирта и уксусной кислоты (3:1) по 30 минут каждая в объеме, в 50-100 раз превышающем объем фиксируемого материала.

Для анализа из каждой пробы брали по 10-15 икринок или кусочек ткани. Механическая мацерация продолжалась 5-10 минут, химическая в 45%-ном растворе уксусной кислоты - 40-60 минут. Воздушносухие препараты окрашивали 50%-ным раствором  $\text{AgNO}_3$  в термостате при 58-60 град. в течение 5-6 минут до получения коричневой окраски (Howell, Black, 1980; Dev, Tantravahi, 1982), докрашивали 2%-ным раствором Гимза ("Merck", Darmstadt, ФРГ) в фосфатном буфере (рН=6,8) в течение 1 минуты.

Число ядрышек подсчитывали в каждой пробе у 500-700 клеток с применением окуляров  $\times 16$ , объектива  $\times 100$  микроскопа "Amplival" (ГДР) и измеряли диаметр ядрышек окуляр-микрометром МОВ- $\times 1-15$  у 100 клеток при том же увеличении объектива.

При проведении опытов для сравнения уровня ядрышковой активности и содержания общего белка в тканях белок определяли методом нанесения гомогената на хроматографическую бумагу с последующим окрашиванием амидошварцем (Bramhall et al., 1969).

Статистическую обработку результатов исследования и построение графиков производили на персональном компьютере "Amstrad" с

использованием соответствующих прикладных программ.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения закономерностей ядрышкообразующей функции у карповых рыб на разных этапах онтогенеза использовались количественные характеристики ядрышек - их число в клетке и диаметр, которые определяют суммарный показатель ядрышковой активности - размер ядрышек на клетку.

Полученные нами результаты исследования свидетельствуют о возможности использования ядрышковых характеристик для оценки общего физиологического состояния организма. Опыты с половозрелыми самками серебряного карася, находившимися на разных стадиях готовности к нересту и отличавшимися степенью зрелости гонад, показали взаимосвязь уровня ядрышковой активности в клетках с содержанием общего белка в тканях яичника и плавника. У всей группы из 28 самок в четырех проведенных экспериментах коэффициент ранговой корреляции между этими величинами составлял  $+0,55$  ( $P < 0,01$ ) в яичнике и  $+0,43$  ( $P < 0,02$ ) в тканях плавника. Ядрышковые характеристики взаимосвязаны также с целым рядом биохимических показателей, оценивающих важнейшие метаболические процессы в организме рыб. Совместно с рядом авторов был проведен сравнительный анализ ядрышковой активности в клетках плавника и яичника производителя карпа, серебряного карася и основных показателей белкового, липидного, энергетического обменов в печени, сыворотке крови, икре и мышцах, который показал, что ядрышковый критерий, основанный на определении числа и размера ядрышек в клетке, объективно отражает процессы, происходящие в организме рыб на биохимическом уровне.

Активность функционирования генов рибосомной РНК дифференци-

рована в разных органах и тканях одного организма. Тканеспецифичность ядрышкообразующей функции изучалась на примере трехмесячных мальков карпа и производителей белого амура (рис. 1). При этом обнаружены четкие видовые различия как по числу, так и по размеру ядрышек. Например, у карпа наблюдаются клетки только с одним-двумя ядрышками, тогда как у белого толстолоба есть трех-пятиядрышковые клетки.

У всех мальков карпа самые мелкие ядрышки (12,5-15,4 условных единиц) обнаружены в клетках эпителия жабр, а самые крупные - в мышечной ткани (21,3-27,2 у.е.); клетки чешуи занимают промежуточное положение (16,5-17,8 у.е.) (рис. 1). У взрослых особей белого толстолоба наибольшая ядрышковая активность (и по количеству и по размеру) отмечена в клетках яичника (средний размер ядрышек на клетку варьирует от 26,3 до 29,1 у.е.), наименьшая - также в жаберном эпителии (14,5-20,1 у.е.). Следует отметить значительные отличия по ядрышковым характеристикам между эмбрионами и тканями взрослых рыб. Степень геномной активности у зародышей существенно выше (в основном, за счет большего числа ядрышек), чем у взрослых рыб, и дифференцирована на разных стадиях эмбрионального развития.

Сравнение исследованных рыб между собой указывает, помимо видовых, на четкие индивидуальные различия по ядрышковым показателям. Отдельные экземпляры характеризуются определенным уровнем ядрышковой активности, значения которой варьируют в ограниченных пределах. Это требует изучения динамики ядрышковых характеристик у каждой отдельной особи. В то же время скоординированность всех обменных процессов в организме, по-видимому, приводит к взаимосвязанному изменению ядрышковой активности в клетках разных органов и тканей. Исследования показали, что ядрышковая активность в плавни-

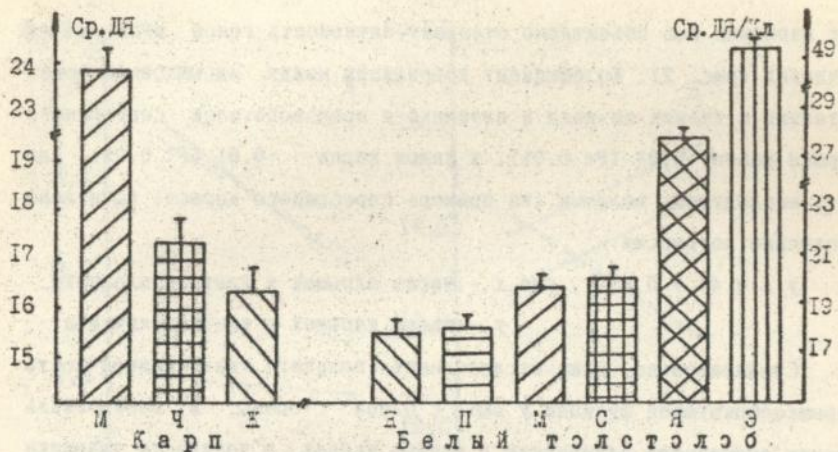


Рис. 1. Особенности ядрышкообразующей функции в разных органах и тканях карпа и белого толстолоба.  
 Условные обозначения: Ср. ДЯ- ср. диаметр ядрышка, Ср. ДЯ/Кл- ср. размер ядрышек на клетку, М-мышцы, Ч-чешуя, Ж-жабры, П-плавник, С-селезенка, Я-яичник, Э-эмбриональ.ткани.

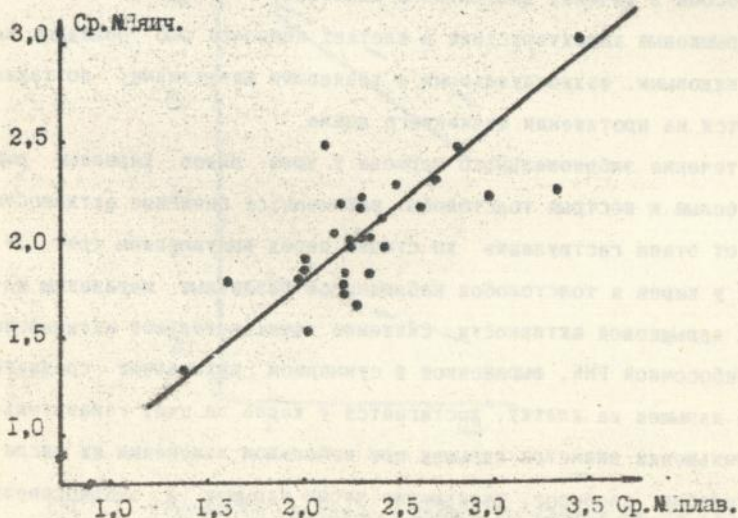


Рис. 2. Взаимосвязь среднего числа ядрышек в клетках плавника (Ср. М.плав.) и яичника (Ср. М.Яич.) у серебряного карася.

ках карповых рыб объективно отражает активность генов рРНК в их яичниках (рис. 2). Коэффициент корреляции между ядрышковыми показателями в тканях яичника и плавника у производителей серебряного карася равен +0,84 ( $P < 0,01$ ), у самок карпа - +0,61 ( $P < 0,05$ ). Для двух исследуемых величин (на примере серебряного карася) вычислено уравнение регрессии:

$$y = 0,47 + 0,64x$$

где  $x$  - число ядрышек в клетках плавника,  
 $y$  - число ядрышек в клетках яичника.

Следовательно, наши исследования показали тканеспецифичность ядрышкообразующей функции у рыб, с одной стороны, и взаимосвязь уровня ядрышковой активности в разных тканях, в частности плавника и яичника, с другой. Это позволяет оценивать геномную активность рыб по тканям плавника без повреждения жизненных и репродуктивных функций организма и проследивать ее динамику на примере одной и той же особи в течение длительного времени.

Ядрышковые характеристики в клетках карповых рыб обладают не только видовыми, индивидуальными и тканевыми различиями, но также изменяются на протяжении жизненного цикла.

В течение эмбрионального периода у трех видов карповых рыб (карп, белый и пестрый толстолобы) наблюдается снижение активности генома от этапа гастрюляции до стадии перед вылуплением (рис. 3). Однако, у карпа и толстолобов наблюдаются различные механизмы изменения ядрышковой активности. Снижение функциональной активности генов рибосомной РНК, выраженной в суммарном показателе среднего размера ядрышек на клетку, достигается у карпа за счет значительного уменьшения диаметра ядрышек при небольшом изменении их числа. У толстолобов, наоборот, уменьшение числа ядрышек в эмбриогенезе было настолько существенным, что при наблюдаемом увеличении диа-

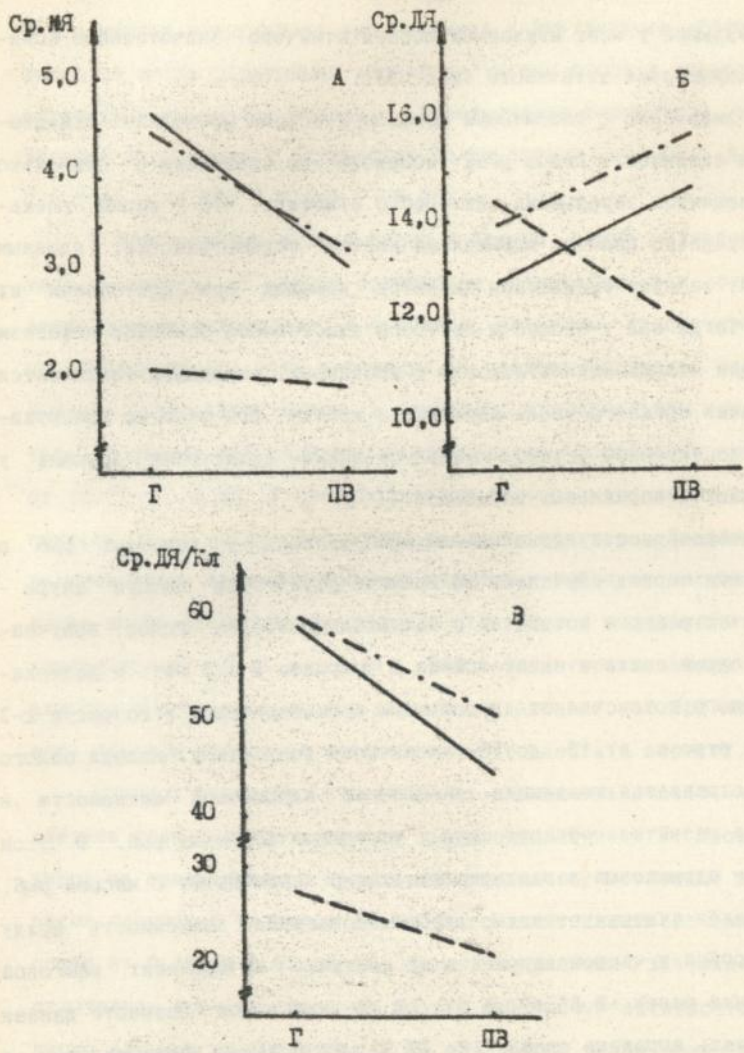


Рис. 3. Изменение ср.числа ядрышек на клетку Ср.НЯ (А), ср.диаметра ядрышка Ср.ДЯ (Б) и ср.размера ядрышек на клетку Ср.ДЯ/Кл (В) в эмбриогенезе карповых рыб.  
Условные обозначения: Г, ПВ - стадии эмбриогенеза: гастрюляция и перед вылуплением; — — — — — карп, ————— белый толстолоб, - - - - - пестрый толстолоб.

метра ядрышек у всех изучаемых особей отмечено значительное понижение ядрышковой активности (рис. 3).

У эмбрионов с различными морфологическими аномалиями функциональная активность генов рРНК понижена по сравнению с нормально развивающимися зародышами. Интересно отметить, что у карпа уменьшение среднего размера ядрышек на клетку осуществляется, главным образом, за счет уменьшения диаметра ядрышек при постоянном их числе. Тогда как у белого и пестрого толстолобов основной механизм изменения ядрышковой активности у уродливых зародышей заключается в снижении среднего числа ядрышек на клетку, при этом не обнаруживается достоверной разницы между средними диаметрами ядрышек у аномальных и нормальных эмбрионов.

Закономерности ядрышкообразующей функции у карповых рыб в ювенильный период изучались на примере двух групп белого амура - разнокачественного потомства с одинаковым набором генов, полученных от одной самки и одного самца в возрасте 1-1,5 лет и разнокачественного потомства от другой пары производителей в возрасте 2-3 лет. На отрезке от 12- до 16-тисесячного возраста у молоди белого амура сохраняется тенденция уменьшения ядрышковой активности в процессе развития, обнаруженная у зародышей карповых рыб. В этом возрасте ядрышковые характеристики тесно коррелируют с массой рыб. У годовиков существует прямо пропорциональная зависимость между весом особей и числом ядрышек в их клетках: коэффициент ранговой корреляции равен  $+0,65$  ( $P < 0,01$ ). В 16-тисесячном возрасте данная взаимосвязь выражена слабее ( $R = +0,32$ ,  $P < 0,1$ ). Следовательно, в начале онтогенеза разнокачественность потомства обусловлена уровнем функционирования генома, которое целиком направлено на обеспечение интенсивного соматического роста. По мере развития генерати-

вного обмена в организме рыб, начиная с двухлетнего возраста, взаимосвязь между размерными характеристиками особи и ядрышковыми показателями ее клеток исчезает. Коэффициенты корреляции между указанными величинами у двухлетних белых амуров -  $-0,05$ ; в возрасте 2,5 года -  $+0,02$ ; 3-х лет -  $-0,23$ .

У половозрелых особей карпа и белого амура изменения массы тела не зависят от уровня ядрышковой активности, т.к. функционирование генома направлено, в основном, на нужды генеративного обмена. Наблюдавшиеся нами в течение 16 месяцев колебания размеров ядрышек у самок карпа имеют, в основном, отрицательную связь с весом тела. У разных рыб величины коэффициентов корреляции различаются от  $+0,04$  до  $-0,69$ . У производителей белого амура обсуждаемая зависимость также носит слабоотрицательный характер. Коэффициент корреляции между средними числами ядрышек у рыб и их массой на протяжении всего эксперимента равен  $-0,31$  (хотя у отдельных особей он изменяется от  $+0,53$  до  $-0,81$ ). Такой характер взаимосвязи, по-видимому, объясняется низкой ядрышковой активностью при максимальном весе самок в период их оптимальной готовности к нересту.

Следует отметить, что динамика ядрышковых показателей на протяжении года у карпа и белого амура различна. У производителей амура за анализируемый период происходили существенные колебания в числе ядрышек с разницей наибольших и наименьших значения у каждой особи от 0,41 до 0,83. Кроме этого, отдельные экземпляры заметно отличались друг от друга по уровню ядрышковой активности - среднее число ядрышек варьирует от 2,09 до 3,03. В то же время у карпа показатели ядрышковой активности хотя и изменяются на протяжении года, но средние значения количества и размера ядрышек за весь период исследований на редкость схожи. Например, число ядрышек на

клетку у отдельных особей колеблется в узких пределах (1,44-1,52), также как и диаметр (15,2 - 15,8 у.е.).

Для производителей карповых рыб характерна ритмичность ядрышкообразующей функции на протяжении года. Наиболее часто в клетках карпа наблюдаются ежемесячные чередования роста и снижения ядрышковой активности. Нередки случаи малой изменчивости ядрышковых параметров, а также увеличения или уменьшения размеров ядрышек в течение двух месяцев. Однонаправленные изменения количественных характеристик ядрышек на протяжении более длительных временных отрезков отмечаются крайне редко. Необходимо отметить, что схожие по направленности и продолжительности колебания размера ядрышек на клетку в течение года характерны для самок, отнерестившихся в одно и то же время. Такая синхронность объясняется схожим физиологическим состоянием организмов этих рыб. В то же время индивидуальность эндогенных биологических ритмов (которые, по-видимому, обуславливают ритмичность всех процессов жизнедеятельности даже в условиях постоянства внешней среды) приводит к значительным различиям в динамике ядрышкообразующей функции у особей, отличающихся по физиологическому состоянию.

Сходные закономерности выявлены при изменении ядрышковых характеристик белого амура. Наиболее часто наблюдаются одно- и двухмесячные смены увеличения и понижения ядрышковой активности или такие же по продолжительности периоды ее стабильности.

Опыты, проведенные для выявления более частых, например, еженедельных или ежедневных, колебаний активности рибосомных генов, показали наличие у производителей карпа и белого амура суточной ритмичности ядрышкообразующей функции. У всех изученных особей отмечено снижение ядрышковой активности в вечернее время по сравне-

нию с утренним.

После неоднократного отбора проб на одном и том же хвостовом плавнике через несколько дней отмечалась активация ядрышкообразующей функции. Дальнейшие эксперименты позволили связать этот факт с появлением регенерационных процессов. Повышение ядрышковой активности обнаруживается как в травмированной, так и неповрежденной частях плавника в течение первой-второй недели опытов, после чего к концу четвертой недели она вновь возвращается на исходный уровень, тем самым не нарушая наблюдаемые нами картины ежемесячных колебаний.

При изучении динамики ядрышковой активности в нерестовый период пробы отбирались по единой схеме у всех самок на следующих стадиях нерестового цикла:

- 1) перед нерестом ("покой");
- 2) стимуляция к нересту (после подсадки самцов - для вуалехвостов или после предварительной гипофизарной инъекции - для остальных видов рыб);
- 3) во время икрометания;
- 4) после нереста.

У самок, не отдавших икру, ядрышковые показатели анализировались в те же дни, что и у отнерестившихся особей.

В первом эксперименте с вуалехвостами, готовыми к нересту по внешним признакам, часть особей отметали икру (группа А), остальные - нет (группа В) (рис. 4). Анализ показал, что готовые и неготовые к икрометанию самки существенно различались по числу ядрышек в клетках непосредственно перед проведением эксперимента. Особи из группы А имели низкое среднее число ядрышек в клетке (показатели колебались около отметки 2,2). В группе В исследуемая величина бы-

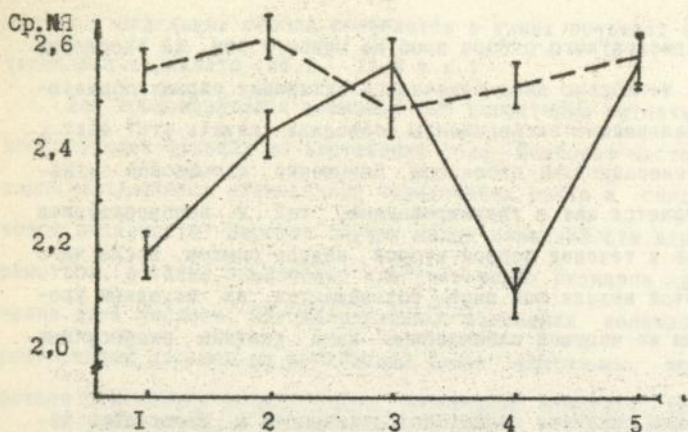


Рис. 4. Изменение ср. числа ядрышек в клетках вуалехвостов Ср.НЯ на разных стадиях нерестового периода. Условные обозначения: 1-5 - стадии нерестового периода: перед нерестом, стимуляция к нересту, во время икрометания, через 3 и 14 суток после нереста: — - отнерестившаяся группа самок, - - группа самок, не отдавшая икру.

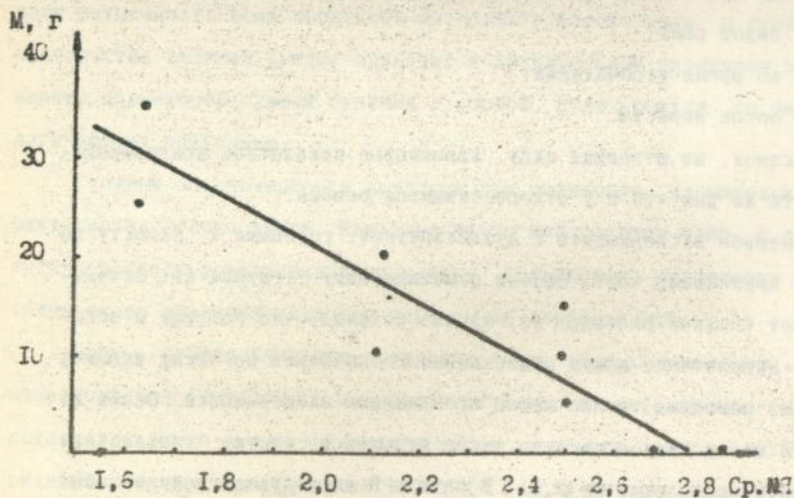


Рис. 5. Зависимость массы (М) выметанной икры от среднего числа ядрышек (Ср.НЯ), наблюдавшегося в клетках серебряного карася перед нерестом.

ла значительно выше (около 2,6) и оставалась на том же высоком уровне на всех последующих этапах исследования. У рыб из группы А, начиная со стадии "покоя", количество ядрышек в клетке постепенно увеличивалось, достигая максимума в момент икротетания. Через несколько суток анализируемый показатель существенно уменьшился, примерно до уровня, отмеченного перед нерестом, и через две недели вновь повысился. На заключительном этапе эксперимента обе группы самок имели приблизительно одинаковое высокое среднее число ядрышек на клетку (рис. 4).

У серебряного карася обнаружена четкая зависимость между средним числом ядрышек, фиксируемом перед нерестом в клетках производителей, и массой отданной ими икры (рис. 5). Самки, у которых среднее количество ядрышек в клетках было 2,8 и выше, не выметали икру. У других особей с уменьшением показателя ядрышковой активности возрастала масса отданной икры. Коэффициенты ранговой корреляции между этими параметрами в трех проведенных экспериментах равнялись -  $-0,78, P < 0,01$ ;  $-0,90, P < 0,01$ ;  $-0,48, P < 0,01$ .

Описанные выше результаты получили подтверждение в опытах с карпом, нерестившимся в производственных условиях. Анализ количества ядрышек в клетках карпа выявил незначительную изменчивость этого показателя: у всех особей на исследованных стадиях он колебался в узких пределах 1,4-1,6. В то же время существенно варьировал размер ядрышек. Крупные ядрышки наблюдались у карпа в состоянии "покоя" (рис. 6). Нерест самок стимулировался выгреванием в прудах-"теплицах" (в течение 5 суток - группа А и 13 суток - группа В) и гипофизарными инъекциями. У производителей из группы А незначительно изменившийся после выгревания размер ядрышек существенно уменьшался вследствие гипофизарной инъекции. У особей из

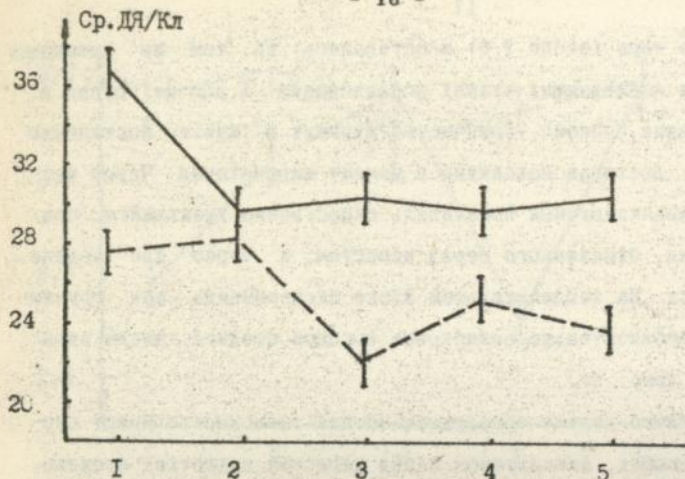


Рис. 6. Изменение среднего размера ядрышек (Ср. ДЯ/Кл) в клетках карпа на разных стадиях нерестового периода.  
Условные обозначения: 1-5 - стадии нерестового периода: "покоя", после выгревания, после гипофизарной инъекции, во время икротетания, после нереста; — — — — группа самок выгревалась 5 суток, ————— - 13 суток.

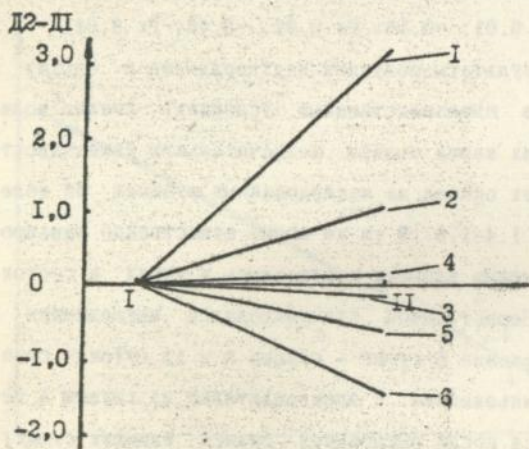


Рис. 7. Изменение среднего диаметра ядрышек в клетках карпа во время нереста в зависимости от возраста самок.  
Условные обозначения: Д1 и Д2 - средний диаметр ядрышек после гипофизарной инъекции (I) и во время икротетания (II); 1-6-кривые для самок весом - 3,0-4,0кг, 4,0-5,0кг, 5,0-6,0кг, 6,0-7,0кг, 7,0-8,0кг, и более 8,0кг соответственно.

группы В более длительное выдерживание в теплой воде приводило к значительному снижению ядрышковой активности, а последующее инъецирование на нее уже не влияло (рис. 6). Наблюдавшийся низкий уровень активности генов рРНК непосредственно перед икротетанием был характерен для отнерестившихся самок карпа и в других экспериментах, различавшихся условиями проведения.

Во время икротетания в клетках карпа по сравнению с предыдущим этапом (стимуляция к нересту) возможны и рост, и снижение, и сохранение размеров ядрышек. Наши исследования показали, что это связано с неоднородностью производителей - их вес варьировал от 3,0 до 9,5 кг. Сравнительный анализ выявил, что у "молодых" самок размер ядрышек в момент нереста возрастает, у "средневозрастных" он остается приблизительно на одном и том же уровне, а у "старых" самок - понижается. Разница между диаметрами ядрышек во время и перед икротетанием тем больше, чем меньше масса рыб (рис. 7).

Таким образом, изменения ядрышкообразующей функции в нерестовый период отражают физиологические изменения, которые происходят в организме рыб. Подготовка к воспроизводству сопровождается у рыб повышенной функциональной активностью генов рРНК, что способствует росту и созреванию икры. Вероятно, такой высокий уровень ядрышковой активности поддерживается на всем протяжении созревания яйцеклеток в полости самок - от вымета предыдущей порции икры до готовности производителя к следующему нересту. Замедление всех биосинтетических процессов перед икротетанием обуславливает минимальный уровень активности генома у оптимально готовых к нересту самок. Снижение активности функционирования генома до преднерестовых значений наблюдается у карповых рыб в течение одних-двух суток после вымета икры, что определяется критическим состоянием организма в

этот период.

Оценка состояния производителей по ядрышковому критерию может служить тестом при их отборе для искусственного воспроизводства.

Как уже отмечалось, суммарный показатель ядрышковой активности в клетке, средний размер ядрышек на клетку, определяется числом ядрышек и их диаметром. При этом для каждого вида рыб характерен свой механизм ее регуляции. У вуалехвостов, белого амура и толстолобов, имеющих клетки с несколькими ядрышками, данный механизм связан с изменением количества ядрышек. У карпа, у которого на протяжении всего жизненного цикла наблюдаются клетки с одним-двумя ядрышками, механизм регуляции ядрышковой активности реализуется посредством колебания их диаметра.

Такой закономерный характер изменения ядрышкообразующей функции у карповых рыб на протяжении всего онтогенеза ставит вопрос о наследственности ее морфологических показателей (число и размер ядрышек).

Наши исследования показали, что суммарный показатель ядрышковой активности у всех изученных видов рыб обладают высокой степенью наследуемости. Данная величина вычислялась по коэффициентам корреляции и регрессии у самок и их потомства (табл. 1). Ядрышковые характеристики самок определялись на разных стадиях нерестового цикла (при этом коэффициент наследуемости не претерпевал существенных изменений), а у потомства - в период эмбриогенеза на стадии гастрюляции. Следует отметить, что у отдельных видов хорошо наследуются те параметры ядрышковой активности, которые играют главную роль в ее регуляции (табл. 1). Все описанные выше исследования дают основание рассматривать количественные характеристики ядрышек как ценный селекционный признак.

Таблица 1.

Средние значения наследуемости количественных характеристик ядрышек у карповых рыб.

Вид	Стадия исследования самок	Регрессия "самка-потомство"			Корреляция "самка-потомство"		
		N	Д Я	Д Я/Кл	N	Д Я	Д Я/Кл
Карп	Перед нерестом	0,31	0,51	0,52	0,64	0,67	0,64
	После инъекции	0,02	0,98	0,83	0,01	0,90	0,73
	Икрометание	0,06	0,92	0,79	0,14	0,84	0,76
	После нереста	0,38	0,58	0,43	0,41	0,78	0,53
Карась	Перед нерестом	0,81	0,77	0,76	0,48	0,74	0,78
	После инъекции	0,88	0,84	0,90	0,67	0,86	0,81
	Икрометание	0,90	0,66	0,92	0,84	0,92	0,93
	После нереста	0,63	0,67	0,93	0,45	0,93	0,89
Белая толстолоб	Икрометание	0,77	0,28	0,71	0,78	0,31	0,87

Примечание: N - число ядрышек, Д Я - диаметр ядрышка, Д Я/Кл - размер ядрышек на клетку.

## ВЫВОДЫ

1. Активность функционирования рибосомных генов закономерно изменяется в онтогенезе карповых рыб и обусловлена физиологическим состоянием их организма.

2. Выявлена положительная взаимосвязь между уровнем ядрышковой активности и содержанием белка в тканях рыб. Ядрышковый критерий объективно отражает основные метаболические процессы, происходящие в организме.

3. Изменения ядрышкообразующей функции обладают определенной видоспецифичностью. У карпа основной механизм регуляции ядрышковой активности связан с вариацией размера ядрышек, у растительноядных рыб и вуалехвостов - числа ядрышек на клетку.

4. У карповых рыб обнаружена тканевая специфичность ядрышкообразующей функции, а также взаимосвязь ее показателей в разных органах и тканях.

5. В ходе эмбриогенеза от этапа гастрюляции до стадии перед вылуплением у карповых рыб наблюдается уменьшение показателей ядрышковой активности.

6. У зародышей рыб с врожденными морфологическими нарушениями функциональная активность генов рибосомной РНК понижена по сравнению с нормально развивающимися эмбрионами.

7. Разнокачественность особей белого амура в возрасте 1-1,5 лет связана с уровнем активности генома: существует прямая зависимость между числом ядрышек в клетке и размерами особей.

8. На стадии полового созревания и активации генеративного обмена зависимость между уровнем ядрышковой активности и массой рыб нивелируется.

9. У производителей карповых рыб в период созревания половых

продуктов (от вымета икры и до готовности к следующему икреметанию) наблюдается высокий уровень ядрышковой активности, что связано с усилением генеративных процессов. Непосредственно перед нерестом наступает заметное снижение функционирования генома.

10. Для половозрелых особей характерна ритмичность ядрышковых показателей в течение года и суток.

11. Суммарный показатель ядрышковой активности у карповых рыб - размер ядрышек на клетку - имеет высокую степень наследуемости и может учитываться при селекционной работе.

Список опубликованных работ по теме диссертации:

1. Архипчук В.В., Жукинский В.Н., Макарова Т.А. Особенности ядрышкообразующей функции в эмбриогенезе карповых рыб // Докл. АН УССР, сер. Биология. - 1989. - №9. - С.55-57.

2. Макарова Т.А. Особенности функционирования генома клетки у аномальных эмбрионов некоторых карповых рыб // Оценка состояния, охрана и рациональное использование биологических ресурсов водных экосистем в условиях антропогенного воздействия: Тез. докл. Всесоюз. конф. молодых ученых и специалистов, Ростов-на-Дону, 27-29 марта 1990 г. - Ростов-на-Дону, 1990. - С.

3. Архипчук В.В., Романенко В.Д., Макарова Т.А. Тканеспецифичность ядрышкообразующей функции у рыб // Докл. АН УССР, сер. Биология. - 1990. - №5. - С.54-56.

4. Романенко В.Д., Архипчук В.В., Кипнис Л.С., Крот Ю.Г., Макарова Т.А. Изменение числа и размера ядрышек у карповых рыб в нерестовый период // Докл. АН СССР. - 1991. - 319, №4. - С.996-998.

5. Макарова Т.А., Архипчук В.В., Кипнис Л.С., Драчук Л.Н. Особенности функционирования генома карповых рыб в раннем онтоге-

незе // V Всесоюз. конф. по раннему онтогенезу рыб: Тез. докл., Астрахань, 1-3 октября 1991. - М., 1991. - С.104.

6. Архипчук В.В., Кипнис Л.С., Макарова Т.А., Драчук Л.Н. Высокочувствительный метод оценки функциональной изменчивости геномов гидробионтов под воздействием экологических факторов // Методы исслед. и использ. гидрозкосистем: Тез. докл. науч.-метод. экологич. конф., Рига, 1-4 октября 1991 г. - Рига: ЛУ, 1991. - С.6.

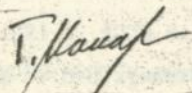
7. Патент 4939205/13 СССР, МКИ С12 Н 15/01. Способ определения пороговых величин воздействий антропогенных факторов на клетки организмов / В.Д. Романенко, В.В. Архипчук, Л.С. Кипнис, Ю. Г. Крот, Т.А. Макарова, А.И. Драган, М.В. Архипчук, Л.Н. Драчук // Открытия. Изобретения. - 1992. - С.

8. Архипчук В.В., Кипнис Л.С., Крот Ю.Г., Макарова Т.А., Драчук Л.Н. Цитогенетический метод определения готовности самок рыб к нересту // VI съезд Укр. об-ва генетиков и селекционеров: Тез. докл., Полтава, 3-6 марта 1992 г. - Ч.1. - Киев, 1992. - С.142-143.

9. Романенко В.Д., Архипчук В.В., Соломатина В.Д., Малиновская М.В., Макарова Т.А. Использование морфологических характеристик ядрышек для оценки метаболических процессов в организме рыб // Докл. АН. - 1992. - 326, N3. - С.562-565.

10. Архипчук В.В., Макарова Т.А. Ритмичность ядрышковой активности в клетках карповых рыб // Гидробиол. журн. - 1992. - 28, N6. - С.81-85.

11. Архипчук В.В., Макарова Т.А. Наследуемость количественных характеристик ядрышек у карповых рыб // Гидробиол. журн. - 1993. (в печати).



---

Подписано к печати 22.01.93. Формат 60x84 1/16. Бумага тип. Офсетная печать. Усл.печ.л. 1,4. Тир. 120 экз. Зак. 302в.

---

ППП корпорации УкрНТИ, 252171, Киев-171, ул. Горького, 180.



AB 26.781