

✓
21702
МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. В. ЛОМОНОСОВА

Биолого-почвенный факультет

На правах рукописи
103

Н. Б. ЧЕРФАС

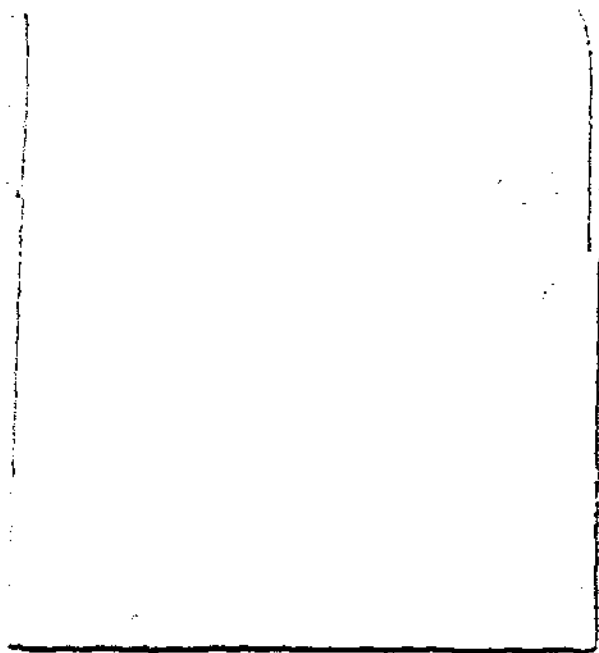
ИССЛЕДОВАНИЕ ОДНОПОЛОЙ
И ДВУПОЛОЙ ФОРМЫ
СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ
(*CARASSIUS AURATUS GIBELIO BLOCH*)
В СВЯЗИ С ЕСТЕСТВЕННЫМ
ГИНОГЕНЕЗОМ У ДАННОГО ВИДА

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ НА СОискАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Научный руководитель —
кандидат биологических наук
К. А. ГОЛОВИНСКАЯ

МОСКВА 1968

Редки-Тузунчунд



МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. В. ЛОМОНОСОВА

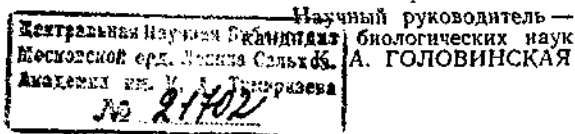
Биолого-почвенный факультет

На правах рукописи
103

Н. Б. ЧЕРФАС

ИССЛЕДОВАНИЕ ОДНОПОЛОЙ
И ДВУПОЛОЙ ФОРМЫ
СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ
(CARASSIUS AURATUS GIBELIO BLOCH)
В СВЯЗИ С ЕСТЕСТВЕННЫМ
ГИНОГЕНЕЗОМ У ДАННОГО ВИДА

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ НА СОискАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК



МОСКВА 1968

Работа выполнена в лаборатории генетики и селекции рыб (зав. канд. биол. наук К. А. Головинская) Всесоюзного научно-исследовательского института прудового рыбного хозяйства (ВНИИПРХ).

Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста; сопровождается 17 таблицами и 40 рисунками. Список цитированной литературы включает 258 наименований работ.

Защита диссертации состоится на Ученом совете биолого-почвенного факультета МГУ. *23 февраля 68г.*

Просьба Ваши отзывы и замечания присылать по адресу: Москва, В-234, Ленинские горы, биолого-почвенный факультет, Ученый совет.

*авторизация разослана
17 января 1968г.*

Технический редактор *Н. С. Мазурова*

Сдано в набор 14/XII 1967 г.

Подписано к печати 29/XII 1967 г.

Л 104808

Формат 84×108^{1/2}/₃₂

Тираж 200 экз.

Бесплатно

Зак. 659

Московская типография № 10 Главлитиздательского
Комитета по печати при Совете Министров СССР.
Шлюзовая наб., 10.

Серебряный карась (*Carassius auratus gibelio* Bloch) относится к числу немногих животных, у которых известен естественный гиногенез. Естественный гиногенез — способ размножения, при котором осеменение необходимо, но ядерный аппарат спермия генетически инактивируется в плазме яйца и не принимает участия в развитии.

Открытие естественного гиногенеза у серебряного карася принадлежит Д. Д. Ромашову (Крушинский, 1946). Первые экспериментальные доказательства естественного гиногенеза у серебряного карася (позднее подтвержденные многими авторами) были получены К. А. Головинской и Д. Д. Ромашовым (Головинская, Ромашов, 1947; Головинская, 1954), работами которых было положено начало специальным исследованиям в области биологии размножения данного вида. Основанием для этих исследований послужили сведения о существовании в пределах СССР однополо-женских популяций серебряного карася (с единичными «исключительными» самцами), а также необычные результаты скрещивания самок серебряного карася с самцами других видов рыб, при которых неизменно получали чисто женское, негибридное потомство — только самок серебряного карася.

Естественный гиногенез был доказан генетически (в серии скрещиваний) и цитологически — наблюдениями за поведением мужского и женского ядер в первый период после осеменения (Головинская, Ромашов, 1947; Головинская, 1954; Lieder, 1955, 1956а, 1959; Бушницэ и др., 1957 и др.). Анализ основных систематических признаков и полового состава потомства, полученного от скрещивания самок серебряного карася из однополой популяции с самцами многих видов рыб показал, что это потомство не наследует свойств отца и состоит только из самок серебряного карася, полностью повторяющих материнскую форму. Такой же результат имеет место

при скрещивании «однополых» самок с самцами своего вида. Нормальное, чисто женское потомство было получено и при осеменении икры «однополых» самок спермой карпа, облученной в высоких дозах рентгеновских лучей, вызывающих генетическую инактивность ядерного аппарата спермия. Цитологический анализ начальных стадий развития «однополого» потомства показал, что головка спермия, проникшего в яйцеклетку, не преобразуется в мужской пронуклеус и не участвует в дальнейшем развитии, идущем за счет редуцированного комплекса женских хромосом, но цитологический механизм, предотвращающий редукцию, выяснен не был. В специальных опытах было установлено, что «однополые» самки серебряного карася к партеногенезу не способны: осеменение является необходимым условием для нормального развития однополрой формы. Проведенные исследования, таким образом, показали, что воспроизводство однополых популяций серебряного карася осуществляется гниогенетически, с участием самцов других видов рыб.

Первое и единственное специальное исследование двуполой формы серебряного карася было посвящено анализу свойств самцов (Головинская, 1960). В отличие от генетически неполноценных «исключительных» самцов из однополых популяций, самцы из двуполых популяций отличаются высокой плодовитостью и при скрещивании их с самками других видов рыб дают гибридов.

Основную задачу настоящей работы составлял сравнительный цитогенетический анализ самок однополрой и двуполой формы. Были собраны также общие сведения о выживаемости, темпе роста и о развитии половых желез у обеих форм серебряного карася в первые два года их жизни, т. е. до наступления половой зрелости.

Постановка исследования связана прежде всего с исключительным своеобразием явлений, характеризующих естественный гниогенез. Наши практические задачи первоначально заключались в сравнительной оценке эффективности использования обеих форм серебряного карася в прудовом рыбоводстве. В последние годы эти исследования приобрели специальное значение при разработке методов искусственного гниогенеза у рыб: серебряный карась интересен в этом отношении, как модельный объект, у которого механизмы устранения редукции числа хромосом и инактивации ядра спермия (состав-

ляющие основу естественного и искусственного гиногенеза) полностью отрегулированы.

Приношу глубокую благодарность моему руководителю — канд. биолог. наук *Ксении Алексеевне Головинской*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Опыты проводили на двух экспериментальных базах ВНИИПРХ—Загорском рыбхозе и рыбплемхозе «Якоть» в течение 1960—1965 гг. Материалом для исследования послужили серебряные караси из двуполой популяции рыбхоза «Волма» (БССР), доставленные в 1959—1960 гг. на Загорский рыбхоз. По имеющимся сведениям волминские серебряные караси являются потомками серебряного карася, завезенного в 1948 г. из р. Амур; в связи с акклиматизацией серебряного карася, проводившейся на территории Белоруссии, не исключено смешанное происхождение волминской популяции. Волминские самцы, составляющие в стаде рыбхоза около 30%, были исследованы Головинской (1960). Никакими сведениями о волминских самках мы не располагали, однако, их численное преобладание (наряду с достаточно высоким процентом самцов) позволяло предполагать, что в волминской популяции имеются самки двух форм: однополой и двуполой.

Кроме того, проведены наблюдения над серебряными карасями из строго однополой, гиногенетической популяции рыбплемхоза «Якоть» (Московская обл.), завезенных на рыбплемхоз из р. Амур в 1956 г.

По основным таксономическим признакам серебряный карась обеих популяций представляет собой типичную форму *Carassius auratus gibelio* Bloch.

1. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ САМОК СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ ВОЛМИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Генетический анализ волминских самок проводили по результатам их скрещивания с самцами карпа, вьюна (*Misgurnus fossilis* L.), золотого и серебряного карася, а также по результатам осеменения икры генетически инактивированными спермиями карпа (инактивация достигалась путем облучения спермиев рентгеновскими лучами в дозе 100 кр). Все скрещивания были поставлены путем искусственного осеменения икры

самок серебряного карася, полученной с помощью гипофизарных инъекций. Инкубацию проводили в лабораторных условиях; это дало возможность в полном объеме провести намеченные наблюдения в период эмбриогенеза и в первые дни после вылулнения. Процент оплодотворения определяли через 3—4 часа после осеменения на стадии 32—64 бластомеров. Обычно он был достаточно высоким (80—100); исключения составляли опыты, в которых мы были вынуждены работать с перезревшей икрой, и некоторые скрещивания с вьюном.

Принадлежность самок к двуполой или однополой (гиногенетической) форме устанавливали по результатам инкубации икры и выращивания потомства. Оценку результатов инкубации проводили по проценту вылулнения и соотношению нормальных и уродливых эмбрионов (оба показателя определяли от числа оплодотворенных икринок).

Показателями «двуполости» являлись: 1) гибель эмбрионов, развивающихся из икры, осемененной облученной спермой; 2) появление гибридного потомства при осеменении икры спермой карпа, золотого карася и вьюна (в последнем случае нежизнеспособного); 3) нормальное соотношение полов среди серебряных карасей в потомстве от скрещивания с волжскими самцами серебряного карася.

Показателями гиногенеза являлись: 1) нормальное развитие эмбрионов из икры, осемененной облученной спермой карпа и спермой вьюна; 2) появление в потомствах от всех скрещиваний только самок серебряного карася.

В 1960 и 1961 гг. было индивидуально исследовано 17 волжских самок: среди них три оказались «двуполыми» и 14 — гиногенетическими. В таблице 1 приведены результаты исследования по 7 самкам.

Принадлежность самок №№ 3, 5, 7 (табл. 1) к двуполой форме выявилась уже в период эмбриогенеза: все потомство этих самок, полученное от самцов вьюна и при осеменении облученной спермой карпа, характеризовалось тяжелыми уродствами, в отличие от полностью нормальных эмбрионов, развивающихся в потомствах от таких же скрещиваний, поставленных на икре остальных 14 самок. Небольшой процент уродливых эмбрионов в последнем случае зависел только от качества половых продуктов и условий инкубации.

Таблица 1

Результаты индивидуального анализа самок серебряного карася волминского двулоплого стада

№ самок	Самцы	Количество икринок в опате, шт.	% оплодотворения	% вылупления	Состав эмбрионов при вылуплении, %		Категория самок по результатам инкубации
					уродливые	нормальные	
1	Вьюн	930	88	54	12	88	Однолоп- лая форма
	Серебряный карась	755	91	78	16	84	
2	Вьюн	1489	89	54	14	86	То же
	Золотой карась	353	85	68	5	95	
	Серебряный карась	889	88	69	6	94	
3	Вьюн	779	34	55	100	0	Двулопая форма
	Серебряный карась	616	80	81	6	94	
4	Вьюн	667	99	39	18	82	Одноло- лая форма
	Золотой карась	437	82	34	12	88	
	Серебряный карась	649	70	45	14	86	
5	Вьюн	801	32	35	100	0	Двуло- лая форма
	Золотой карась	790	50	55	36	64	
	Серебряный карась	592	73	59	34	66	
6	Карп (облучение, 100 кр)	385	76	90	13	87	Одноло- лая форма
	нормальная сперма	181	60	88	21	79	
	Серебряный карась	229	61	89	15	85	
7	Вьюн	365	29	97	100	0	Двуло- лая форма
	Карп (облучение, 100 кр)	247	91	62	100	0	
	нормальная сперма	313	81	89	0	100	
	Серебряный карась	280	79	98	0	100	

Потомство от скрещивания «двулопых» самок с вьюном представляло собой гибридов (как мы и ожидали, нежизнеспособных); при осеменении облученной спермой карпа были получены гиногенетические гаплоиды. Характер уродств в обеих группах был в целом одинаков; наиболее типичными нарушениями оказались: искривление тела, вздутые перикарда, недоразвитие глаз. Отсутствие нормальных личинок среди гиногенетического гаплоидного потомства и гибридов от скрещивания с самцами вьюна, указывало на неспособность «двулопых» самок к гиногенезу.

В этих же опытах еще раз подтвердились данные многих авторов о неспособности гиногенетических самок серебряного карася к истинному партеногенезу. Ни

Таблица 2

Итоги анализа самок серебряного карася из двулолого стада
рыбхоза «Волма» (1960 и 1961 гг.)

Самцы	Самки двулолого формы			Самки однололого формы		
	% эмбрионов при вылуления		Состав потомства	% эмбрионов при вылуления		Состав потомства
	уродливые	нормальные		уродливые	нормальные	
Вьюн	100	0	Гибриды, не жизнеспособны	8	92	Серебряные караси, только самки
Карп, сперма облучена в дозе 100 кр	100	0	Гаплоиды, не жизнеспособны	7	93	То же
Серебряный карась	13	87	Серебряные караси, самки и самцы	8	92	„ „
Золотой карась	36	64	Гибриды, самки и самцы	8	92	„ „
Карп, сперма не облучена	0	100	Гибриды, самки и самцы	21	79	„ „

в одном случае не наблюдалось правильного дробления неосеменной икры «однололых» (как и «двулолых») самок; гибель партеногенетического потомства наступала на начальных стадиях эмбрионального развития, вскоре после погружения неосеменной икры в воду.

Идентификация самок по их принадлежности к однололой или двулолой форме, проведенная по показателям инкубации, подтвердилась результатами специального биометрического анализа и учета полового состава выращенных сеголетков и двухлетков. Все потомство гиногенетических самок было представлено только самками серебряного карася; никаких различий между «однололыми» карасями — потомками разных самцов (вьюн, карп, сперма нормальная и облученная, золотой и серебряный карась) обнаружено не было.

Самки двулолого формы при скрещивании с самцами собственного вида дали «двулолых» серебряных карасей (в равном соотношении самок и самцов), а при скрещивании с карпом и золотым карасем — гибридов. Карасекарпы и карасевые гибриды имели промежуточ-

ные по сравнению с родительскими формами признаки; они отличались хорошей выживаемостью при полной стерильности.

Биометрический анализ показал, что две формы серебряного карася — однополая и двуполоая — идентичны по основным таксономическим признакам.

В обобщенном виде итоги генетического анализа волгинских самок приведены в табл. 2.

2. ВЫЖИВАЕМОСТЬ, РОСТ И ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВОГО ЦИКЛА У САМОК ОДНОПОЛОЙ И ДВУПОЛОЙ ФОРМЫ

Выживаемость, особенности роста и полового цикла у самок однополый формы исследованы достаточно подробно (Иванова, 1955; Анисимова, 1959, 1963, 1964; Статова, 1963, 1965 и др.); серебряных карасей двуполой формы до самого последнего времени специально не изучали.

Для сравнительного анализа однополый и двуполой формы было поставлено два опыта выращивания сеголетков и двухлетков обеих форм; серебряные караси в опыте 1 (1961—1962) представляли собой потомство трех «однополых» и трех «двуполых» самок, из числа индивидуально исследованных в опытах 1961 г.; в опыте 2 (1963—1964) «двуполое» потомство было получено от одной, «однополое» — от двух самок из F₁. В первом опыте было посажено на выращивание 715 шт. личинок двуполой формы и 1000 шт. личинок однополый формы; на следующий год было взято в опыт 442 шт. годовиков двуполой формы и 130 шт. годовиков однополый формы. Во втором опыте было посажено на выращивание по 700 личинок каждой формы, 60 годовиков двуполой формы (3000 и 3000) и 30 гипогенетических самок — годовиков, к которым подсадили 30 половозрелых волгинских самцов.

При выращивании не удалось поддержать строго одинаковых условий в прудах с «однополыми» и «двуполыми» карасями, но все же на основании результатов опытов можно с достаточной уверенностью предполагать, что выживаемость и рост в течение первых двух лет жизни у самок серебряного карася обеих форм сходны. Выживаемость сеголетков составляла 70—80%, двухлетков — около 85%. Средние веса сеголетков составляли в разных прудах от 30 до 70 г, на втором году жизни — от 140 до 200 г.

Более точные данные получены при исследовании особенностей полового цикла у самок обеих форм серебряного карася, проведенном на материале этих же опытов. Оценку состояния половых желез у сеголетков и двухлетков в первом опыте и у сеголетков во втором опыте проводили по коэффициенту зрелости и стадии зрелости. У самок — двухлетков во втором опыте были учтены коэффициент зрелости и численность их потомства от нереста, прошедшего в конце лета 1964 г. При определении стадии зрелости яичников пользовались классификацией Мейена (1939) с учетом фаз развития овоцитов в периоде вителлогенеза (Казанский, 1949). Определение стадии зрелости проводили по гистологическим препаратам, изготовленным по стандартной методике.

Общий объем материала в двух опытах был следующим: по коэффициенту зрелости среди самок двуполой формы исследовано 67 сеголетков и 101 двухлеток; среди самок однополой формы соответственно — 30 сеголетков и 35 двухлетков. Гистологически исследованы яичники у 35 сеголетков и 24 двухлетков двуполой формы; по однополой форме проведен анализ гонад у 25 сеголетков и 21 двухлетка.

В обоих опытах уровень развития гонад у самок — сеголетков однополой и двуполой формы оказался одинаковым: яичники находились в стадии зрелости 2—3, овоциты старшей генерации — в фазе однослойного фолликула и начальных фазах трофоплазматического роста. По значениям коэффициента зрелости самки однополой формы отставали: средние по коэффициенту зрелости у самок двуполой формы составляли 0,20—0,27%, у самок однополой формы — 0,05—0,09%.

На втором году жизни четко проявилось отставание самок однополой формы. Гистологический анализ гонад (опыт 1) показал, что половые железы у большинства «однополых» двухлетков находились в третьей — четвертой стадии зрелости; к этому же времени большая часть «двуполых» двухлетков достигла половой зрелости: в яичниках «двуполых» самок встречались резобирующиеся невыметанные икринки и пустые фолликулы, а также овоциты следующих порций на различных фазах трофоплазматического роста.

Численность потомства самок двуполой формы (опыт 2) достигала по данным осеннего облова до

15 тыс. шт. сеголетков пяти--шести размерных категорий; от самок однополой формы было получено всего около 500 шт. сеголетков, более крупных и однородных по размерам. Очевидно, что среди «двуполоых» самок нерест был массовым, в то время как среди самок однополой формы в нересте участвовали единичные особи, достигшие половой зрелости.

Соответственно и характер распределения «однополоых» и «двуполоых» двухлетков по индивидуальным значениям коэффициента зрелости оказался существенно различным. Высокий коэффициент зрелости, характерный для половозрелых или близких к половой зрелости рыб (4—10%, у «двуполоых» до 14%), имело 70—75% самок двуполой формы и только 7—25% самок однополой формы. В модальный класс у двуполой формы входили особи со средним коэффициентом зрелости 5% (опыт 1) и 9% (опыт 2), а у однополой формы (по указанным опытам) со средним коэффициентом зрелости 3% и 1%.

У самок волминской популяции (и главным образом у самок однополой формы) обнаружены нарушения в развитии половых желез. Они выражались в частичной редукции яичников, в наиболее тяжелых случаях наблюдалось сильнейшее недоразвитие обеих долей железы. Особи с резким недоразвитием гонад (большой частью стерильные) составляли среди «однополоых» двухлетков в первом опыте 26%, во втором — 15%. Число дефектных самок среди «двуполоых» двухлетков оказалось высоким только во втором опыте (18%); в первом опыте они составляли 5% и в единичном числе были отмечены и при вскрытиях, проведенных в последующие годы.

В значительно меньшей степени описанные нарушения в развитии гонад свойственны самкам однополой формы из рыбплемхоза «Якоть».

3. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОДНОПОЛОЙ И ДВУПОЛОЙ ФОРМЫ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ

Цитологический анализ однополой и двуполой формы серебряного карася включал определение числа хромосом (степени плоидности), анализ мейоза у самок и исследование процесса оплодотворения. Цитологические наблюдения были проведены на серебряных карасях из F₁, полученных в скрещиваниях 1961 г., и дополнены материалом из следующих поколений.

Соматическое число хромосом было подсчитано на метафазных пластинках эмбриональных митозов. Степень

плоидности определяли также косвенными методами: по числу ядрышек в ядрах эпителиальных клеток плавниковой каймы однодневных личинок и по цитометрическим показателям, включающим площадь ядер эпителиальных клеток личинок, площадь эритроцитов и их ядер у взрослых особей. Возможность использования этих показателей для определения степени плоидности (благодаря зависимости между ними и числом хромосом) хорошо известна по литературным данным (Ротт, Бетина, 1964; Ротт, 1965; Fankhauser, Humphrey, 1943; Gallien, 1962; Macgregor, Uzzell, 1964; и др.).

У каждой формы серебряного карася было просмотрено до 30 метафазных пластинок (на материале, полученном от трех «однополых» и трех «двуполых» самок). Наиболее точный анализ числа хромосом был проведен на 10 лучших метафазных пластинках (из каждой 30); полученные результаты подтвердились данными остальных ориентировочных подсчетов. Площадь ядер эпителиальных клеток и число ядрышек в них определены по 16 личинкам из потомства однополой и двуполой формы. Исследование эритроцитов проводили на мазках крови, полученной от трех самок однополой формы и трех производителей двуполой формы (двух самок и одного самца). Число хромосом устанавливали на временных давленных препаратах (стадия средней бластулы), изготовленных по стандартной ацето-карминовой методике; этой же техникой пользовались при изготовлении тотальных препаратов плавниковой каймы однодневных личинок. Мазки крови окрашивали по Романовскому — Гимза.

Число хромосом у двуполой формы в разных клетках колебалось от 90 до 96, у однополой формы — от 135 до 146; в среднем оно составляло в первом случае 94 (как и у «двуполого» японского серебряного карася по данным Макино; Макино, 1939), во втором случае — 141; это соответствует диплоидному и триплоидному наборам относительно основного числа — 47. Таким образом, гнотогенетические волминские самки являются триплоидами. Обнаруженная изменчивость числа хромосом в эмбриональных клетках может быть следствием многих причин, в том числе и ошибок, допущенных при подсчете хромосом.

По числу ядрышек и по цитометрическим определениям между двумя формами карасей установлены статистически достоверные различия, полностью подтвердившие

триплоидию у однополой формы; отношения исследуемых показателей $\left(\frac{\text{однополая форма}}{\text{двуполая форма}}\right)$ составляли по числу ядрышек 1,69, по площади ядер эпителиальных клеток — 1,65, эритроцитов и их ядер соответственно — 1,39 и 1,42.

Определение среднего числа ядрышек у самок из однополой популяции серебряного карася рыбилемхоза «Якоть» показало, что и эти караси — триплоиды.

Исследование мейоза у самок однополой и двуполой формы. Приступая к исследованию, мы не располагали точными данными об особенностях процесса созревания у самок однополой формы серебряного карася. Проведенные до сих пор работы были ограничены цитологическим анализом самых последних стадий мейоза (Головинская, 1954; Lieder, 1959; и др.). Не имелось никаких сведений и о двуполой форме данного вида.

Исследование мейоза у волгинских самок обеих форм проведено со стадий, соответствующих поздней профазе первого мейотического деления (т. е. на овоцитах, прошедших период роста), и до завершения мейоза в первые минуты после осеменения. Изложенные в данном разделе работы результаты получены при исследовании 11 «двуполых» и 15 гиногенетических самок; просмотрено по двуполой форме — 190 препаратов, по однополой — 125. Методика изготовления препаратов (серийных срезов отдельных икришек) здесь и в следующем разделе работы стандартная.

Цитологическим анализом установлено, что у самок двуполой формы серебряного карася в процессе созревания осуществляется обычный мейоз. В период созревания (до овуляции) были прослежены последовательные фазы первого и начала второго деления мейоза. В ядре, расположенном в зоне анимального полюса яйцеклетки, а позднее, по мере уменьшения объема ядра и постепенного исчезновения его, как самостоятельной морфологической структуры, в цитоплазме, можно наблюдать гаплоидное число бивалентных хромосом в стадии диплонемы-диакinesis. Отчетливо видно, что каждый бивалент состоит из двух гомологичных хромосом, сохраняющих контакт через терминальные хиазмы. Примерно за 4—5 часов до овуляции наступает стадия прометафазы первого деления мейоза: ядерная оболочка разрушается, в зоне расположения хромосом возникает лучистость, намечаются очертания будущего веретена. Для

первой мейотической метафазы характерен гораздо больший разброс хромосом по веретену, чем это наблюдается в метафазе 2. Хорошо видны ориентация гомологов каждой пары к противоположным полюсам и терминальные хиазмы. Первое мейотическое деление завершается незадолго до овуляции выделением первого направительного тельца. Вытекающая в момент овуляции икра, как и у всех других исследованных видов рыб, находится в метафазе 2 и содержит гаплоидный набор хромосом.

У самок однополый формы волминского серебряного караса стадии диплолемы и диакинеза обнаружены не были. Цитологический анализ показал, что в конце профазы I все хромосомы представлены унивалентами. Следующая стадия, которую удалось наблюдать вскоре после разрушения оболочки ядра, характеризовалась сильнейшей спирализацией унивалентных хромосом и появлением в области их расположения мощной лучистости, образующей подобие многополюсной фигуры. Число хромосом на этих (и более поздних) стадиях значительно превышало диплоидное (точный подсчет хромосом в этот период провести не удалось). Позднее в зоне концентрации унивалентов происходит постепенное формирование трехполюсного веретена. Митотические центры полностью сформированного трехполюсного веретена расположены по вершинам равностороннего треугольника; хромосомы, не образуя единой метафазной пластинки, равномерно (по примерному подсчету) распределяются между тремя полюсами. В дальнейшем, по мере сближения двух полюсов трехполюсного веретена, наблюдается преобразование его в биполярное. Унивалентные хромосомы распределяются между двумя полюсами либо поровну, либо в соотношении 1:2, образуя, в последнем случае, гаплоидную и диплоидную группы. Это состояние можно охарактеризовать, как анафазу первого мейотического деления. Первое мейотическое деление является abortивным и не приводит к редукции: непосредственно после анафазы I все унивалентные хромосомы объединяются в единую триплоидную пластинку второго (а фактически первого) деления мейоза. Триплоидность была подтверждена подсчетом числа хромосом в экваториальной пластинке метафазы 2: оно составляло в двух случаях 152 и 143 (отклонения от триплоидного числа возможны за счет анафазного расхождения сестринских хромосом). Именно на этой стадии находится яйцеклетка

в момент овуляции. Веретено метафазы 2 у самок однополой формы имеет бoльшие размеры и более округлую форму, чем у самок двуполой формы. Отношение ширины веретена в области экваториальной пластинки к расстоянию между полюсами составляет в среднем 1,13 у однополой формы и 0,56 — у двуполой. Размеры и форма веретена в метафазе 2 могут быть одним из цитологических признаков, указывающих на принадлежность самок серебряного караса к той или иной форме.

При просмотре многих препаратов неоплодотворенной икры «однополой» самок в единственном случае было обнаружено первое направительное тельце с линкотическими хромосомами.

Таким образом, у самок однополой формы в поздней профазе первого мейотического деления не наблюдается конъюгации гомологов. В последующем периоде созревания, завершающемся овуляцией, можно выделить следующие основные стадии:

1) концентрация унивалентов на ограниченном участке цитоплазмы анимального полюса и образование многополюсной фигуры в зоне расположения хромосом. Эта стадия наблюдается сразу же после разрушения оболочки ядра и соответствует прометафазе 1;

2) формирование трехполюсного веретена и распределение хромосом на три группы у его полюсов;

3) преобразование трехполюсного веретена в биполярное, завершающееся наступлением стадии анафазы 1;

4) объединение всех унивалентов в триплоидную метафазную пластинку второго деления мейоза.

Из гиногенетической популяции рыбплемхоза «Якоть» были исследованы три самки (просмотрено 32 препарата). На всех исследованных стадиях обнаружено большое сходство с самками однополой формы волгинской популяции: в поздней профазе 1 отсутствует конъюгация гомологов; на стадии прометафазы 1 наблюдается сильная спирализация хромосом и образование многополюсной фигуры; овулировавшая яйцеклетка содержит триплоидный набор хромосом.

Процессы оплодотворения и подготовки к первому делению дробления. Как указывалось выше, поведение мужских и женских хромосом в период после осеменения у однополой формы исследовано достаточно подробно (Головинская, 1954; Статова, 1963; Бушницэ и др., 1957;

и др.). Картины инактивации мужского ядерного аппарата, установленные в этих исследованиях, послужили цитологическим доказательством естественного гиногенеза у серебряного карася. Анализ двуполой формы в данной работе производится впервые. Исследовано потомство, полученное от двух «однополых» и двух «двуполых» самок; соответственно просмотрено 71 и 110 препаратов.

У двуполой формы при исследовании основного материала не было обнаружено каких-либо особенностей, отличающих ее от других видов рыб. В первые минуты после осеменения наблюдается завершение второго деления мейоза и выделение второго направительного тельца; в дальнейшем прослежено формирование мужского и женского пронуклеусов, их сближение и образование метафазной пластинки первого деления дробления.

Нарушения в процессе оплодотворения обнаружены у одной из двух исследованных «двуполых» самок; на стадии сближения пронуклеусов в четырех случаях (при просмотре 68 препаратов) яйцеклетки содержали по три пронуклеуса. Образование третьего пронуклеуса может быть результатом возвращения в плазму яйца второго направительного тельца, или одного из дочерних ядер, продуктов его деления. Приведенные факты указывают на возможность спонтанной триплоидизации в потомстве «двуполых» самок.

У однополой формы волжского серебряного карася процесс инактивации ядра спермия полностью сходен с описанным ранее для однополой формы данного вида из других популяций (Головинская, 1954; Бушницэ и др., 1957; и др.). Второе мейотическое деление, завершающееся после осеменения, является эквационным. Не подтвердились данные Лидера (1959) о редукции числа хромосом в этом делении у самок однополой формы. Точно установлено, что отделяющееся в первые минуты после осеменения направительное тельце является единственным в процессе созревания, как это и предполагали Головинская (1954) и Бушницэ (1957).

Таким образом, у самок двуполой формы серебряного карася процессы созревания и оплодотворения подчиняются общим закономерностям, известным для других рыб. У самок однополой (триплондной) формы процесс созревания изменен: отсутствуют конъюгация гомологов и редукция числа хромосом, составляющие генетическую

сущность мейотического процесса. Мейоз у гиногенетических самок включает два деления: первое (абортивное), не связанное с редукцией, и второе — эквационное, равнозначное митозу.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном разделе работы проводится обсуждение результатов исследования на основе сопоставления их с литературными данными по гиногенезу, партеногенезу и полиплоидии среди животных. Обсуждение включает две части.

1. ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА СОЗРЕВАНИЯ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ТРИПЛОИДИИ У СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ

Проведенный цитологический анализ показал, что однополая форма серебряного карася волминской популяции триплоидна и процесс созревания у нее протекает по типу амейотического партеногенеза.

Амейотический партеногенез (обычно полиплоидный) характеризуется выпадением редукционного деления и сложных хромосомных преобразований (конъюгация, обмен в гомологичных локусах) в профазе I. Довольно часто на стадии метафазы I имеет место абортивная редукция (как и у волминской однополой формы); описаны случаи временной конъюгации в профазе I, но в типичном случае амейотического партеногенеза наблюдается процесс соматизации мейоза и замены его одним (или двумя) митотическим делением (например, одно митотическое деление у всех партеногенетических полиплоидных жуков-долгоносиков (Суомалайнен, 1956; Suomalainen, 1940a, б).

Благодаря указанным особенностям при амейотическом партеногенезе потомство каждой самки является генотипически однородным клоном. Очевидно, что потомство каждой гиногенетической самки серебряного карася также представляет собой клон. Реальное существование клонов было показано у гиногенетически размножающейся рыбки *Mollienisia formosa* из сем. Cyprinodontidae (Kallman, 1962a, б).

Триплоидия у самок однополой формы серебряного карася является первым точно установленным случаем полиплоидии среди рыб. В то же время триплоидия

у гипогенетических самок данного вида дает новый пример известной связи между партеногенезом (гиногенезом) и полиплоидией среди животных. Необходимо подчеркнуть, что у однополой формы серебряного карася обнаружена именно триплоидность, которая по сравнению с другими степенями полиплоидии особенно часто встречается у партеногенетических и гиногенетических животных; это указывает на селекционные преимущества данного уровня плоидности при естественном гиногенезе и партеногенезе (Баранов, Астауров, 1956; Астауров, 1965).

Результаты цитоморфологического анализа однополой и двуполой формы серебряного карася не позволяют сделать окончательного вывода о природе триплоидии у однополой формы данного вида.

В пользу гибридного происхождения гиногенетических самок серебряного карася свидетельствуют некоторые особенности поведения хромосом в мейозе, образующих в анафазе первого деления диплоидную и гаплоидную группы. Сходные факты наблюдались Суомалайнемом (1940а) у партеногенетических жуков-долгоносиков и были истолкованы этим автором, как доказательство аллополиплоидии в данном семействе.

С другой стороны, возможна и автотриплоидия у однополой формы серебряного карася. Это предположение основано на материале наблюдений за начальными стадиями развития «двуполого» потомства, где были установлены достаточно частые случаи спонтанной триплоидии.

Дальнейшие исследования природы триплоидии у серебряного карася должны включать анализ естественных популяций этого вида — однополых, а также смешанных с нарушенным соотношением полов (типа волминской). Данные Лидера (1955), например, позволяют предполагать диплоидный гиногенез в некоторых западно-европейских популяциях серебряного карася; подтверждение этих данных было бы хорошим доказательством в пользу аллополиплоидии у триплоидов серебряного карася. Для проверки второго возможного пути происхождения триплоидии (негибридного) желательно исследование самок двуполой формы на их способность давать нередуцированные яйцеклетки, а также постановка специальных исследований по экспериментальной автотриплоидии у серебряного карася. Особо важным представляется

исследование сперматогенеза у генетически неполноценных самцов из однополых популяций. В ряде работ, проведенных на других объектах, было установлено, что, в отличие от партеногенетических самок, у таких самцов (также полиплоидных) сохраняется конъюгация хромосом в мейозе, приводящая к образованию унивалентов и мультивалентных групп (чем и объясняется стерильность этих самцов). Таким образом, анализ особенностей поведения хромосом в мейозе у самцов, спорадически возникающих в гиногенетических популяциях серебряного караса, может привести к вполне определенным выводам о природе триплоидии у данного вида, подобно тому, как это было успешно выполнено Джейкобом (Jacob, 1956—1958б) на полиплоидных партеногенетических моллюсках.

В заключении первой части обсуждения отмечается, что у серебряного караса, как и у многих других животных, полиплоидия не связана с увеличением размеров тела и приводит к некоторому замедлению в развитии.

В работе рассматриваются также возможные причины аномалий в развитии половых желез, обнаруженных у волминских самок, а также у однополой формы серебряного караса из других популяций (Головинская, 1954; Анисимова, 1959; Горюнова, 1965а и др.) и, судя по имеющимся литературным данным, не известным в такой степени у остальных видов рыб. В то же время разнообразные нарушения в развитии воспроизводительной системы описаны у полиплоидных самок некоторых животных, где они являются следствием нарушенного полового баланса в полиплоидной зиготе. На основании этих фактов нами высказывается предположение о возможности подобной связи и у однополой триплоидной формы волминского серебряного караса. Среди «однополых» самок из популяции рыбплемхоза «Якоть» особи с дефектными яичниками почти не встречались, что свидетельствует о клональной изменчивости популяций серебряного караса по состоянию гонад.

Менее ясны причины появления самок с недоразвитыми яичниками у двуполой формы волминской популяции. Как указывалось выше, число таких «двуполых» двухлетков было высоким только среди карасей, выращенных во втором опыте, где все они являлись потомками одной самки. Существовало, что именно среди этих же карасей, при анализе начальных стадий их эмбрио-

нального развития, были обнаружены случаи спонтанной триплоидии. Эти факты позволяют допустить возможность наследственной обусловленности нарушений в развитии гонад у самок двуполой формы во втором опыте.

2. ЕСТЕСТВЕННЫЙ ГИНОГЕНЕЗ СРЕДИ ЖИВОТНЫХ, ЕГО РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, ОСНОВНЫЕ ЧЕРТЫ И ЭВОЛЮЦИОННОЕ ЗНАЧЕНИЕ

В этом разделе работы рассмотрены описанные в литературе случаи естественного гиногенеза среди животных и обобщены результаты исследований этого явления, включая данные по естественному гиногенезу у серебряного карася.

Впервые естественный гиногенез был обнаружен и изучен у нескольких видов свободноживущих нематод из р. *Rhabditis* (Hertwig, 1920; Belar, 1923, 1924). Позднее данный способ размножения был установлен у некоторых олигохет (Christensen, O'Connor, 1958; Christensen, 1960), планарий (Benazzi, 1961), бабочек-мешечниц (Narbel-Hofstetter, 1955, 1963), жуков-притворяшек ((Moore и др., 1956; и др.); среди позвоночных, кроме серебряного карася, естественный гиногенез известен у живородящей рыбки *Mollienia formosa* из сем. *Cyprinodontidae* (Hubbs C., Hubbs L., 1932; Meyer, 1938; и др.) и у саламандр — представителей комплекса *Ambystoma jeffersonianum* (Uzzell, 1963, 1964; Macgregor, Uzzell, 1964).

Описаны случаи гибридного гиногенеза при отдаленных скрещиваниях, в основе которого лежит несовместимость плазмы и хромосом материнского и отцовского видов. Единичные нормальные гиногенетические особи, возникающие в этих скрещиваниях, являются, очевидно, результатом элиминации мужских хромосом и диплоидизации женского хромосомного набора. Явление гибридного гиногенеза (у рыб оно наблюдалось в опытах С. Г. Крыжановского и Н. И. Николюкина) показывает, что в естественных условиях массовая гибридизация способствует выявлению особей, отличающихся наследственной склонностью к гиногенетическому развитию.

Происхождение гиногенетических форм в большинстве случаев точно не выяснено. У саламандр и у *M. formosa* гиногенез, по видимому, связан с гибридизацией; не исключено гибридное происхождение и гиногенетических самок серебряного карася.

Исследования показали, что гиногенетические самки всегда дают чисто женское потомство. Единичные самцы, возникающие в гиногенетических популяциях, неполноценны, их генетическая природа не установлена.

Во всех случаях естественного гиногенеза исключение ядра спермия, проникающего в яйцо при оплодотворении, было доказано генетически и цитологически (или одним из методов); при исследовании самок *M. formosa* был применен иммунологический анализ.

Специальных исследований роли спермия, как и механизмов инактивации его ядерного аппарата, не проводилось. Высказывалось предположение о том, что роль спермия сводится к внесению centrosомы, обеспечивающей правильность прохождения первых делений дробления (Белар, 1924; Головинская, Ромашов, 1947 и др.). К. А. Головинская (1954) отмечает, что влияние спермия при гиногенезе может выражаться в форме «физиологического гетерозиса». Не ясна биологическая функция спермия при естественном гиногенезе у энхитренд, особенность которого состоит в том, что головка спермия не проникает в яйцо, а только активирует его при соприкосновении с оболочкой.

Как и при партеногенезе, большинство случаев естественного гиногенеза сочетается с полиплоидией, преимущественно с триплоидией. Процессы созревания яйцеклеток у гиногенетических самок обнаруживают большое разнообразие; во многих случаях исходное число хромосом сохраняется при прохождении двух делений созревания, за счет эндомитотического удвоения хромосомного набора в раннем овогенезе.

Обзор имеющихся данных по естественному гиногенезу у животных свидетельствует об исключительной редкости этого способа размножения по сравнению с партеногенезом, к которому он близок. Возникает основной вопрос — об эволюционном значении естественного гиногенеза. Результаты ряда исследований показывают, что в тех случаях, когда гиногенетические формы зависят в своем размножении от самцов двуполой формы собственного или наиболее близкого вида, переход к гиногенезу не связан с усилением эффективности размножения — основным преимуществом партеногенетических форм. Такое положение наблюдается, например, у гиногенетических энхитренд и жуков; сходная ситуация обнаружена у саламандр, у которых, к тому же, имеет

место избирательное спаривание самцов с самками двуполой формы.

Все эти наблюдения позволяют думать, что в некоторых случаях гиногенез представляет собой случайное явление, как и предполагает Вудруфф (Woodroffe, 1957) для гиногенетических жуков, либо является переходным состоянием на пути к партеногенезу. Последнее положение было высказано еще Браше (Brachet, 1917) после открытия гиногенеза у нематод и позднее Нарбель—Хофстеттер (Narbel—Hofstetter, 1955, 1963) на основании исследования ею гиногенетических бабочек-мешечниц.

Более ясны преимущества гиногенеза у рыб, для которых типично наличие очень широкого спектра видов, обеспечивающих воспроизводство гиногенетических форм; это было показано в сериях экспериментальных скрещиваний на гиногенетических самках серебряного карася и *M. formosa*. Вместе с тем, имеется много литературных данных, указывающих на большие потери в численности у серебряного карася в естественных водоемах, в результате различий в экологии нереста гиногенетических самок серебряного карася и обитающих совместно с ними других видов рыб.

В работе обсуждается вопрос о возможности перехода самок однополой формы серебряного карася к обычному размножению.

При многолетнем разведении серебряного карася в прудовых хозяйствах и при систематических исследованиях некоторых водохранилищ никогда не наблюдалось случаев превращения однополых популяций серебряного карася в двуполые, что указывает на устойчивость однополой формы. Результаты цитологического анализа, свидетельствующие о глубоких изменениях в процессе созревания у гиногенетических самок серебряного карася, также позволяют утверждать невозможность перехода однополой формы к размножению путем амфимиксиса. В то же время необходима специальная проверка литературных данных, указывающих на существование некоторой связи между условиями обитания и соотношением полов в естественных популяциях серебряного карася и послуживших основанием для предположения о регуляции полового состава под непосредственным воздействием условий обитания (Макеева, Никольский, 1965).

ВЫВОДЫ

1. При исследовании самок серебряного карася из популяции рыбхоза «Волма» установлено существование двух форм этого вида: однополой (триплондной), представленной только самками, и двуполой (диплондной), включающей особей обоих полов.

Однополоая и двуполоая формы серебряного карася полностью сходны по всем исследованным морфологическим признакам. Идентификация самок по их принадлежности к той или другой форме возможна только на основе цитогенетического анализа (наиболее простой способ — по размерам эритроцитов).

2. Самки однополой формы при размножении с самцами серебряного карася и других видов рыб закономерно дают в потомстве только самок серебряного карася, полностью повторяющих материнскую форму; такой же результат имеет место и при осеменении икры гиногенетических самок облученной спермой карпа (100 кр.).

Подтверждена неспособность самок однополой формы к партеногенезу. Гибель партеногенетического потомства наступает на ранних стадиях его эмбрионального развития.

3. Самки двуполой формы не способны к гиногенезу: при размножении с собственными самцами дают в потомстве в одинаковых соотношениях самок и самцов серебряного карася, а при размножении с «чужими» самцами — гибридное потомство. Осеменение икры самок двуполой формы спермой, облученной в высоких дозах рентгеновских лучей, приводит к появлению уродливых гаплоидов, погибающих в период вылупления.

4. У самок однополой формы среднее число хромосом в половых и соматических клетках составляет 141; таким образом, они являются триплондами. Процесс созревания резко изменен; он включает два деления: первое — abortивное и не связанное с редукцией, второе — эквационное, равнозначное митозу. Зрелая овулировавшая яйцеклетка находится в метафазе 2 и содержит исходное триплондное число хромосом. В процессах оолотообразования и подготовки к первому делению дробления у «однополых» самок волминской популяции и из рыбплемхоза «Якоть» наблюдаются картины элиминации мужского ядра, описанные ранее рядом авторов для однополой формы серебряного карася из других популяций.

5. У двуполой формы серебряного карася диплондное

число хромосом составляет 94. Процессы созревания и оплодотворения подчиняются общим закономерностям, известным у других животных, в том числе и у рыб.

6. По цитологическим особенностям процесса созревания естественный гиногенез у серебряного карася принадлежит к амеиотическому типу. Потомство каждой гиногенетической самки представляет собой клон, генетически тождественный материнской форме.

Сравнение гиногенеза у серебряного карася с другими случаями естественного гиногенеза и партеногенеза показывает, что по своей цитологической характеристике (триплоидный апомиксис) данный случай не обнаруживает какой-либо специфики.

7. Между однополый и двуполой формой серебряного карася волгинской популяции не обнаружено различий в отношении выживаемости и темпа роста в течение первых двух лет жизни; самки двуполой формы отличаются более ранним наступлением половой зрелости.

Благодаря позднему половому созреванию и отсутствию собственных самцов однополая форма более выгодна при разведении серебряного карася в прудовых хозяйствах: указанные свойства позволяют регулировать размножение «однополых» самок в соответствии с требованиями производства.

8. У гиногенетических самок серебряного карася отмечены следующие особенности, связанные с переходом на триплоидный уровень: а) пропорциональное увеличение размеров клеток и их ядер в различных тканях при сохранении общих размеров тела на уровне, свойственном диплоидной форме; б) замедление полового созревания; в) аномалии в развитии яичников, вызванные, по видимому, нарушением полового баланса в триплоидной зиготе.

9. Возможны два пути происхождения триплоидного гиногенеза у серебряного карася: алло- и автополиплоидный. Для дальнейшего исследования природы триплоидии у данного вида представляют интерес популяционные исследования, постановка работ по экспериментальной полиплоидии у серебряного карася и цитологический анализ сперматогенеза у «исключительных» самцов, возникающих в потомстве гиногенетических самок.

10. У рыб воспроизводство гиногенетических форм обеспечивается их способностью к размножению с самцами большого числа других видов. Это позволяет пред-

полагать, что у рыб гиногенез способствует повышению общей численности вида и, следовательно, может иметь самостоятельное отборное значение.

Содержание диссертации опубликовано в следующих статьях:

1. Развитие гонад у самок однополых и двуполой формы серебряного карася. Тр. ВНИИПРХ, т. 13, 1965.

2. Однополые и двуполые формы серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch). В соавторстве с К. А. Головинской и Д. Д. Ромашовым. Вопросы ихтиологии, т. 5, 4 (37), 1965.

3. Анализ мейоза у однополых и двуполой форм серебряного карася. Тр. ВНИИПРХ, т. 14, 1966.

4. Естественная триплоидия у самок однополых форм серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch) Генетика, № 5, 1966.

5. Основные итоги цитогенетического анализа однополых и двуполой формы серебряного карася. Тезисы докл. на Научном совещании по вопросам генетики, селекции и гибридизации рыб. Ленинград, 1967.

Основные результаты работы были доложены на Научном совещании по вопросам генетики, селекции и гибридизации рыб. Ленинград, 1967.

Бесплатно