

FEDERAL AGENCY FOR FISHERY

FEDERAL STATE BUDGETARY SCIENTIFIC INSTITUTION  
«RUSSIAN FEDERAL RESEARCH INSTITUTE OF FISHERIES  
AND OCEANOGRAPHY»  
(FSBSI «VNIRO»)

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ»  
(ФГБНУ «ВНИРО»)

**A.G. SELYUKOV, E.V. EFREMOVA,  
G.N. BONDARENKO, E.V. MIKODINA**

**EARLY GAMETOGENESIS  
OF SIBERIA COREGONID FISHES**

Moscow  
VNIRO Publishing  
2018

**А.Г. СЕЛЮКОВ, Е.В. ЕФРЕМОВА,  
Г.Н. БОНДАРЕНКО, Е.В. МИКОДИНА**

**РАННИЙ ГАМЕТОГЕНЕЗ  
СИГОВЫХ РЫБ СИБИРИ**

Москва  
Издательство ВНИРО  
2018

*Рецензенты:*

*В.Д. Богданов*, д-р биол. наук, член-корр. РАН, директор  
Института экологии растений и животных (ИЭРЖ) УрО РАН;  
*Е.Н. Кузнецова*, д-р биол. наук, гл. науч. сотр. ФБГНУ «ВНИРО»

**Селюков А.Г., Ефремова Е.В., Бондаренко Г.Н., Микодина Е.В.**

С 29 Ранний гаметогенез сиговых рыб Сибири. М.: Изд-во ВНИРО. 2018. 118 с.

В монографии приводятся сведения о цитологических и молекулярно-биологических особенностях формирования линии половых клеток у рыб, а также некоторых групп беспозвоночных и позвоночных животных. Излагаются оригинальные данные по цитоморфологическим трансформациям первичных половых (герминативных стволовых) клеток у сиговых рыб бассейна р. Оби в эмбриональный и ранний постэмбриональный периоды; дифференцировке пола и видоспецифическим особенностям начальных этапов формирования их плодовитости. Исследовано влияние токсикантов на процессы раннего гаметогенеза сиговых в эмбриональный период.

Предназначена для ихтиологов, гидробиологов, специалистов в области охраны окружающей среды и рыбного хозяйства, а также преподавателей, студентов и аспирантов вузов и научных организаций.

*Reviewers:*

*V.D. Bogdanov*, Dr. Biol. Sci., Corr. Member of RAS, Director of Institute  
of Plant and Animal Ecology of Russian Academy of Sciences;  
*E.N. Kuznetsova*, Dr. Biol. Sci., Head of Sector of Marine Fishes Ecology

**Selyukov A.G., Efremova E.V., Bondarenko G.N., Mikodina E.V.**

Early gametogenesis of siberia coregonid fishes. M.: VNIRO Publishing. 2018. 118 p.

The monograph contains data of cell and molecular biological peculiarities of formation of germ cells line in fishes and some other groups of invertebrates and vertebrates. There are stated original data about cytomorphological transformations of the primordial germ (germinal stem) cells in the Coregonids in Ob river basin during the embryonic and the early post-embryonic periods; sexual differentiation and species peculiarities of the early stages of their fertility formation. The impact of toxicants to the early gametogenesis processes of the Coregonids during the embryonic period is researched.

It is intended to ichthyologists, hydrobiologists, environmental protection specialists and fish farmers, and to lecturers, students and post-graduate students of educational institutions and scientific organizations.

© Издательство ВНИРО, 2018  
© Селюков А.Г., Ефремова Е.В.,  
Бондаренко Г.Н., Микодина Е.В., 2018  
© VNIRO Publishing, 2018  
© Selyukov A.G., Efremova E.V.,  
Bondarenko G.N., Mikodina E.V., 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	9
Глава 1	
<b>МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>12</b>
Глава 2	
<b>МОРФОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРВИЧНЫХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ СИГОВЫХ РЫБ.....</b>	<b>15</b>
2.1. Формирование линии половых клеток рыб в эмбриональный и ранний постэмбриональный периоды .....	15
2.2. «Прегонадный период» развития у рыб .....	23
2.3. Эмбриональное развитие сиговых рыб в различных экологических условиях .....	25
Глава 3	
<b>ФОРМИРОВАНИЕ ЛИНИИ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИОД ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ СИГОВЫХ РЫБ .....</b>	<b>27</b>
3.1. Цитоморфологические модификации первичных гонцитов.....	27
3.2. Оценка межвидовых отношений сиговых рыб по цитометрическим показателям ППК в эмбриональный период .....	35
Глава 4	
<b>ФОРМИРОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У ЭМБРИОНОВ СИГОВЫХ РЫБ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ .....</b>	<b>45</b>
4.1. Влияние экстремальных температур на эмбриогенез рыб .....	45
4.2. Морфодинамические преобразования ППК в эмбриогенезе тугуна и чира при повышенных температурах .....	47
4.3. Ранний онтогенез рыб в условиях интоксикации среды .....	48
4.4. Формирование линии половых клеток у эмбрионов сига и его гибрида с рипусом в условиях пролонгированной фенольной интоксикации .....	51
4.4.1. Патоморфологические изменения зародышей сига и гибридной формы (сиг×рипус) в условиях фенольной интоксикации .....	52
4.4.2. Цитоморфологические особенности ППК у сига и гибридной формы при фенольной интоксикации .....	54
ГЛАВА 5	
<b>РАННИЙ ГАМЕТОГЕНЕЗ СИГОВЫХ РЫБ В ПОСТЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД .....</b>	<b>60</b>
5.1. Морфологические показатели предличинок сиговых рыб .....	60
5.2. Ранний гаметогенез рыб в постэмбриональный период .....	60
5.3. Состояние фонда половых клеток у сиговых рыб в постэмбриональный период.....	61
5.4. Дифференцировка пола и формирование фонда половых клеток у рыб .....	63
5.5. Дифференцировка пола и формирование фонда половых клеток у молоди сиговых рыб в условиях УЗВ.....	67
5.5.1. Развитие репродуктивной системы у муксуна.....	67
5.5.2. Развитие репродуктивной системы у сига .....	70
5.5.3. Формирование фонда половых клеток у сиговых рыб.....	72
ГЛАВА 6	
<b>РАННИЙ ГАМЕТОГЕНЕЗ РЫБ И НЕКОТОРЫЕ ЕГО ОСОБЕННОСТИ У СИГОВЫХ СИБИРИ .....</b>	<b>74</b>
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	81
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	83
ПРИЛОЖЕНИЯ .....	99

## CONTENTS

PREFACE .....	9
Chapter 1	
<b>MATERIALS AND METHODS</b> .....	12
Chapter 2	
<b>MORPHO-DYNAMIC FEATURES OF PRIMORDIAL GERM CELLS IN EMBRYOGENESIS OF COREGONID FISHES</b> .....	15
2.1. Formation germ cells line of fishes in embryonic and early post- embryonic periods .....	15
2.2. «Pregonads period» of fishes development .....	23
2.3. Embryonic development of Coregonids in different ecological conditions .....	25
Chapter 3	
<b>FORMATION GERM CELLS LINE IN EMBRYONIC DEVELOPMENT PERIOD OF COREGONIDS</b> .....	27
3.1. Cytomorphological modifications of primordial germ cells .....	27
3.2. Evaluation of interspecific relations of Coregonids in cytometric indicators of PGC during embryonic period .....	35
Chapter 4	
<b>FORMATION OF REPRODUCTIVE SYSTEM IN EMBRYOS OF COREGONIDS UNDER EXTREME CONDITIONS</b> .....	45
4.1. The impact of extreme temperature to embryogenesis of fishes .....	45
4.2. Morpho-dynamic transformations of PGC in embryogenesis of tugin and broad whitefish under high temperature .....	47
4.3. Early ontogenesis of fishes under environment intoxication .....	48
4.4. Formation germ cells line in embryos of European whitefish and hybrid of it with European cisco under prolonged phenol intoxication .....	51
4.4.1. Pathological morphological shifts of European whitefish and the hybrid form embryos under phenol intoxication.....	52
4.4.2. Cytomorphological features of PGC of European whitefish and the hybrid form under phenol intoxication .....	54
Chapter 5	
<b>EARLY GAMETOGENESIS OF THE COREGONIDS IN POST-EMBRYONIC PERIOD</b> .....	60
5.1. Morphological indicators of prelarvae of Coregonids .....	60
5.2. Early gametogenesis of fishes in post-embryonic period.....	60
5.3. The state of the Coregonid gametes stock in post-embryonic period .....	61
5.4. Sexual differentiation and formation of the fishes gametes stock .....	63
5.5. Sexual differentiation and formation of the stock of the gametes of Coregonid youngers under the closed water supply conditions .....	67
5.5.1. Development of the reproductive system in muksun .....	67
5.5.2. Development of the reproductive system in European whitefish .....	70
5.5.3. Formation of the Coregonids gametes stock .....	72
Chapter 6	
<b>EARLY GAMETOGENESIS OF FISHES AND SOME ITS PECULARITIES IN THE COREGONIDS OF SIBERIA</b> .....	74
CONCLUSION .....	81
REFERENCES .....	83
APPENDICES .....	99

## Список специальных аббревиатур и сокращений

AtRa	промеютический фактор
БАВ	биологически-активное вещество
ГСИ	гонадосоматический индекс
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
рДНК	рекомбинантная дезоксирибонуклеиновая кислота
МИ	митотический индекс
MNNG	мутаген нитрозогцанидин
ПХБ	полихлорированные бифенилы
ПФОС	перфтороктансульфонат
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ППК	первичные половые клетки
СОД	супероксиддисмутаза
ОВОС	оценка воздействия на окружающую среду
ОАС	общий адаптационный синдром
РК	ретиноевая кислота
РНП	рибонуклеопротеиды
РНК	рибонуклеиновая кислота (тРНК – транспортная, иРНК – информационная, мРНК – матричная РНК)
ЭСК	эмбриональные стволовые клетки
ES	эмбриональные стволовые клетки
EG	эмбриональные половые клетки
ЕС	клетки эмбриональной карциномы
УЗВ	установка замкнутого водоснабжения (водообеспечения)
ФА	флуктуирующая асимметрия
ТПОХ	трипропиловохлорид
ТИЦ	Тобольский инкубационный цех
ЧСС	частота сердечных сокращений
ЭРП	эндоплазматический ретикулум

*Посвящаем подвижникам Ленинградской школы гистофизиологов —  
нашим учителям и коллегам*



## ВВЕДЕНИЕ

---

---

Сиговые рыбы (Coregonidae, Salmoniformes) — уникальные представители ихтиофауны речных систем субарктической и бореальной природно-климатических зон Евразии и Северной Америки. Их филогения, место возникновения, пути расселения и в настоящее время остаются не до конца разрешёнными, имеющиеся мнения и гипотезы — спорными, вызывающие многочисленные дискуссии с изложением нередко противоположных мнений [Пирожников и др., 1975; Решетников, 1975, 1980, 2010, 2013; Шапошникова, 1976; Бодали и др., 1994; Сендек, 2000; Балдина и др., 2008; Боровикова, Махров, 2009; Политов и др., 2010]. Вследствие сложной внутривидовой структуры, высокой морфо-экологической пластичности и активной межвидовой гибридизации таксономический статус некоторых видов сиговых рыб по-прежнему остаётся неясным.

В условиях Обь-Иртышского бассейна основными природными факторами, лимитирующими численность сиговых рыб, являются экстремальные колебания гидрологического режима, промерзание нерестилищ, зимние заморы, усиливающиеся мощным антропогенным давлением — избирательной промысловой нагрузкой и возрастающим загрязнением.

Являясь ценными промысловыми объектами, сиговые рыбы подвергаются значительному перелову, снижающему их численность, что ведет к сокращению доли особей старших возрастных групп и замене ценных длинноциклических видов на малоценные короткоциклические [Решетников, 1979, 1980; Решетников и др., 1982; Шатуновский, Шилова, 1995; Федорова, 1997; Экология рыб..., 2006].

Численность некогда наиболее многочисленных популяций сиговых рыб, населяющих озёрно-речные системы Обь-Иртышского бассейна, за последние десятилетия значительно сократилась, а на промысел таких видов как нельма *Stenodus leucichthys nelma* (Pallas 1773) и муксун *Coregonus muksun* (Pallas, 1814) установлен полный запрет за исключением отлова для целей искусственного воспроизводства и научных исследований.

В ряде участков некоторых водотоков Обь-Иртышского бассейна концентрации токсикантов неорганической и органической природы превышают предельно допустимые в десятки и сотни раз. Продолжается техногенное давление на основной источник пополнения численности этих видов — нерестовые уральские притоки Оби — в связи с работами ОАО «Корпорация развития» по реализации т.н. Северного широтного хода (СШХ). Кроме того, к отложенному мегапроекту «Урал промышленный — Урал Полярный» вновь собираются вернуться [<http://uralpolit.ru/article/hmao/17-02-2016/72734>]. А это будет означать, что строительство железной и автодорог, рабочих поселков для разработки месторождений хромовых, баритовых, железных, медно-молибденовых и медно-цинковых руд в верховьях северных рек, сведение лесов на водосборах станут основным фактором деградации водных экосистем. В их водах будут присутствовать взвеси дражных разработок, угля, тяжелые металлы и другие загрязнители, в т.ч. нефтепродукты и высокотоксичный фенол.

Поскольку в уральских притоках Оби находится большинство нерестилищ сиговых рыб — тугуна *C. tugun*, пеляди *C. peled*, чира *C. nasus*, сига-пыжьяна *Coregonus*

*lavaretus pidschian*, которые попадут в зону хозяйственного освоения, то будут уничтожены или загрязнены настолько, что в условиях трансформированных гидрологического и гидрохимического режимов нормальное протекание эмбриогенеза и развитие молоди станут невозможны.

Крупномасштабным хозяйственным проектам по эксплуатации ресурсов Арктического шельфа и прилегающих вод предшествуют мониторинговые экологические исследования, включая гидробионтов, в т.ч. рыб, которые ложатся в основу оценки воздействия на окружающую среду (ОВОС). Так, например, для промышленной разработки газового месторождения на акватории Обской губы подготовлены научно-методические основы её экологической безопасности [Сочнев и др., 2013], куда вошли фоновые ихтиологические исследования, проводившиеся в Обь-Тазовской губе с 2006 г.

Было показано, что освоение сиговыми рыбами кормовых возможностей данной акватории являются частью их жизненного цикла: нагульно-преднерестовые миграции вверх по р. Обь, использование нерестовых площадей в её уральских притоках, а также адаптация к нересту в пределах Обской губы [Кузнецов и др., 2011]. Однако, несмотря на работу в исследуемый период трёх плавучих буровых установок (СПБУ «Мурманская», СПБУ «Амазон», ПКБ «Обский-1») из планируемых к эксплуатации 42 скважин с развивающейся социальной инфраструктурой, фатальных нарушений воспроизводительной функции сиговых не обнаружено. Состояние здоровья 6 видов сиговых рыб (пыжьян, чир, муксун, пелядь, ряпушка, омуль) в Тазовской и Обской губах после завершения разведочных работ (2009 г.) оценивали фенетическими методами. Так у пеляди, чира и арктического омуля выявлены изменения показателя флуктуирующей асимметрии (ФА), что позволяет уловить начальные, еще визуально не различимые, признаки нарушений, указывающие на дисбаланс процесса морфологической дифференцировки в раннем онтогенезе, не обеспечивший формирование свойственной рыбам билатеральной симметрии тела. Визуально определяемые уродства (фенодевианты или аномалии) гонад, зафиксированные лишь у одной особи (чир) из 308 исследованных сиговых рыб, — являются следствием влияния неблагоприятных экологических условий. Этот показатель, хотя и предстаёт критерием второго эшелона, может свидетельствовать об усилении реакции рыб на антропогенное воздействие, тем более что её результатом является снижение эффективности функционирования наиболее важной и наиболее защищённой системы организма — репродуктивной [Пресняков, Микодина, Макоедов, 2010].

У сиговых рыб репродуктивная система закладывается в раннем онтогенезе. В эмбриональный и ранний постэмбриональный периоды формируется линия половых клеток, закладываются основы репродукционного потенциала, определяется соотношение полов, происходит становление потенциальной плодовитости [Персов, 1966, 1975; Чмилевский, 1971, 2000; Рязанцева, Сакун, 1980; Lebrun et al., 1982; Селюков, 1985, 1989, 2012; Зеленников, 2003; Беляев и др., 2004; Arezo et al., 2007; Gao et al., 2009], в связи с чем в сложившихся условиях ряда водоёмов Обского бассейна дальнейшая их судьба и численность сиговых рыб Оби становятся проблематичными.

Вследствие этого необходима минимизация противоречий между стремлением поддерживать стабильность экономики государства за счёт увеличения добычи и транспортировки минерального сырья, нефти, газоконденсата, сопряжённых с высокими рисками аварийных ситуаций, и необходимостью сохранить репродуктивный потенциал сиговых рыб и в целом — экологический статус Обь-Иртышского бассейна.

Обозначенная перспективы ситуация не позволяет надеяться на успешное самовосстановление запасов сиговых рыб, поэтому одним из вариантов сохранения этих видов может быть создание центров их воспроизводства (питомников) — в

естественном ареале или за его пределами — с последующим зарыблением природных водоёмов. Однако, при реализации такого варианта возникают определённые области риска: неверно выбранные подходы при разведении могут снизить рост, плодовитость, устойчивость рыб к стрессам и болезням, а снижение уровня гетерозиготности понизит сложившийся ритм эмбриогенеза [Андрияшева, 2011]; в условиях возрастающего загрязнения общепринятые подходы представляются малоэффективными, т.к. взятые из природы производители будут отягощены различными патологиями, в т.ч. и в репродуктивной функции, что негативно отразится на потомстве.

В условиях возрастающих антропогенных нагрузок на водные экосистемы наиболее уязвимыми у рыб оказываются именно ранние стадии развития [Данильченко, Строганов, 1975; Данильченко, 1977; Моисеева, 1997; Чмилевский, 1997; Тапкина и др., 1999; Nguyen et al., 1999; Руднева, Залевская, 2004; Bourrachot et al., 2008; Foekeema et al., 2008], когда еще не сформировались механизмы токсикорезистентности. Среди представителей высшего трофического уровня пресноводных экосистем Обь-Иртышского бассейна сиговые рыбы являются наименее устойчивыми к интоксикации. Вследствие чего возникла настоятельная необходимость в установлении возможных рисков и последствий токсикологической нагрузки на ранние стадии развития, формирующуюся репродуктивную систему этих видов и перспективы их существования при постоянной или кратковременной интоксикации. Поэтому в условиях возрастающего антропогенного воздействия необходимы детальные исследования репродуктивной системы этих рыб в раннем онтогенезе, поиск эффективных методов, корректирующих морфофункциональный статус организма в направлении повышения резистентности и плодовитости для эффективного управления процессами развития, созревания и воспроизводства.

В предлагаемой вниманию читателей работе авторы рассматривают ранний гаметогенез сиговых рыб в эмбриональный и постэмбриональный периоды, по цитоморфологическим показателям первичных половых клеток (ППК), исследуют межвидовые различия этих видов в эмбриогенезе, анализируют характер воздействия разных концентраций экотоксикантов на особенности развития и формирование линии половых клеток. Проведены исследования дифференцировки пола и динамика фонда половых клеток в яичниках сеголеток сиговых рыб с разной продолжительностью жизненного цикла в условиях (установок замкнутого водоснабжения) УЗВ.

Считаем своим приятным долгом выразить искреннюю благодарность всем своим коллегам, аспирантам и студентам, в разные годы выполнявшим исследования раннего гаметогенеза сиговых рыб, без посильного участия которых данная работа не смогла бы быть представлена в полном виде: Л.В. Васильеву, О.М. Бондаренко, М.Н. Вторушина, Л.А. Шумана, М.В. Кибалову, Е.В. Михаленко.

# ГЛАВА 1

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

---

---

Сборы и анализ эмбрионов, личинок, мальков и сеголеток сиговых рыб проводились в период с 1983 по 2014 гг. [Селюков, 1989, 2012; Селюков и др., 2000, 2008]. Молодь пеляди ендырского происхождения (оз. Ендырь — в бассейне р. Иртыш) исследована в апреле-сентябре 1983-1985 гг. в ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша» [Селюков, 1985, 1987]. В апреле 1987 г. в Тобольском инкубационном цехе (ТИЦ) зафиксированы на этапе вылупления и исследованы предличинки озёрной и речной пеляди, чира, сига-пыжьяна и муксуна. В декабре-мае 1996-1997 г. и феврале-мае 1998 г. в Аракульском инкубационном цехе (Челябинская обл.) изучали формирование ППК в эмбриогенезе озёрной пеляди [Селюков и др., 2000; Бондаренко, 2003]. Формирование линии половых клеток исследовали в 2000-2001 гг. и в 2004-2005 гг. — у эмбрионов пеляди, муксуна, чира, пыжьяна и тугуна [Селюков и др., 2010а, б]. В постэмбриональный период у предличинок, личинок и мальков этих видов анализировали ППК до их перехода к митозам, т.е. до 30-40 сут [Бондаренко, 2003; Вторушин, 2003].

С ноября 2010 г. по март 2011 г. на базе полигона водных биотехнологий биологического факультета Тюменского университета был поставлен эксперимент по влиянию фенола на эмбриогенез сига и его гибрида с рипусом. В 2008-2011 гг. в бассейнах УЗВ полигона водных биотехнологий ТюмГУ содержали сеголеток тугуна, муксуна и сига, у которых изучали дифференцировку пола и начальные этапы формирования фонда половых клеток [Селюков и др., 2010 в; Ефремова, 2013].

### *Морфометрический метод*

Для морфометрического анализа молодь сиговых рыб на этапе вылупления фиксировали в 2 %-ном растворе формальдегида и измеряли по 16 параметрам (рис. 1):  $L$  (или  $TL$ ) — общая длина тела;  $L1$  — длина тела до конца хорды;  $A$  — антеанальное расстояние;  $H$  — наибольшая высота тела;  $HM$  — наименьшая высота тела;  $CL$  — длина хвостового стебля;  $BS$  — наибольшая толщина тела;  $C$  — длина головы;  $R$  — длина рыла;  $OC$  — горизонтальный диаметр глаза;  $OP$  — заглазничное расстояние;  $OO$  — межглазничное расстояние;  $HC$  — наибольшая высота головы;  $PL$  — длина грудного плавника;  $LVS$  — длина желточного мешка;  $HVS$  — высота желточного мешка. Подсчитывали меланофоры на голове ( $mfc$ ), желточном мешке ( $mfs$ ), спинной ( $mfd$ ) и брюшной ( $mfv$ ) сторонах тела [Селюков и др., 2005; Бондаренко, 2003].

У сеголеток и двухлеток пеляди, тугуна, сеголеток муксуна и сига измеряли общую длину тела, длину тела по Смитту, общую массу тела и массу тела без внутренностей.

### *Гистологический метод*

В качестве основного метода анализа был выбран гистологический как высокоинформативный, чувствительный и фотодокументальный. Наибольшее значение он имеет для диагностики состояний в онтогенезе и при изучении отклонений от нормального развития, позволяет оперативно установить характер и степень выраженности изменений на ранних стадиях развития патологий, а также

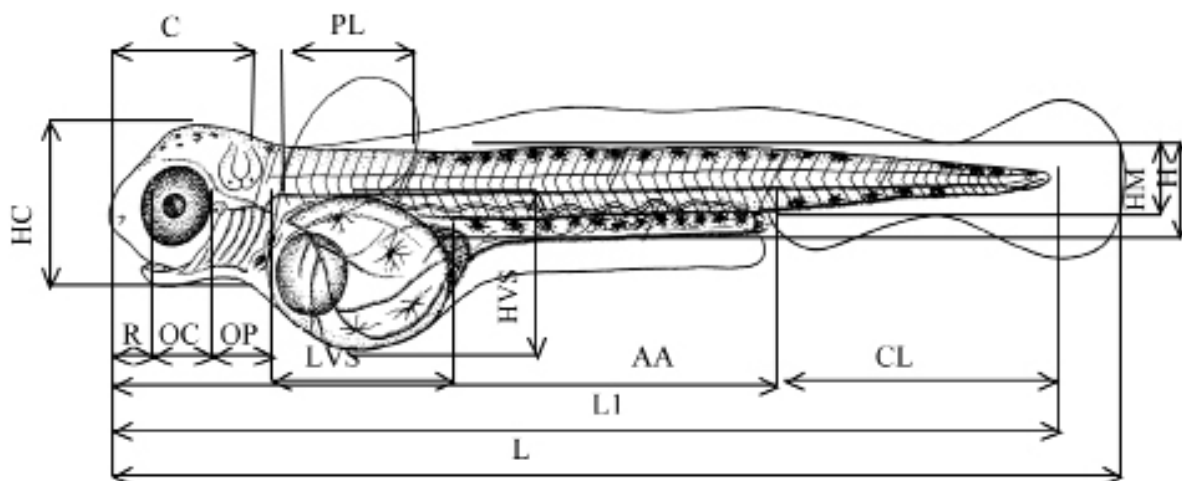


Рис. 1. Схема измерений личинок сиговых рыб

предоставляет детальную информацию для комплексной оценки протекающих в организме процессов.

Зародышей и личинок сиговых рыб фиксировали в смеси Буэна, реже — Карнуа, Бродского и 10 %-ном растворе формальдегида. Гистологический анализ проводили по стандартным методикам [Ромейс, 1953; Лилли, 1969; Микодина и др., 2009]. Препараты анализировали на микроскопе AxioImager A1 («Zeiss») при увеличениях 200×, 400× и 1000× с использованием лицензионного программного обеспечения AxioVision 4.7.1. («Zeiss»). Окрашенные срезы фотографировали видеокамерой AxioCam MRC5 («Zeiss»).

Для пространственной локализации первичных гонцитов, а также ооцитов в начальный период формирования потенциальной плодовитости приготавливали 30-40 мкм срезы фиксированных в 10 %-ном растворе формальдегида зародышей (и гонад молоди) и после окраски акридиновым оранжевым анализировали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 510 META (Zeiss). Флуоресценцию возбуждали аргоновым лазером при длине волны 488 нм и гелий-неоновым лазером — при 543 нм (рис. 2).

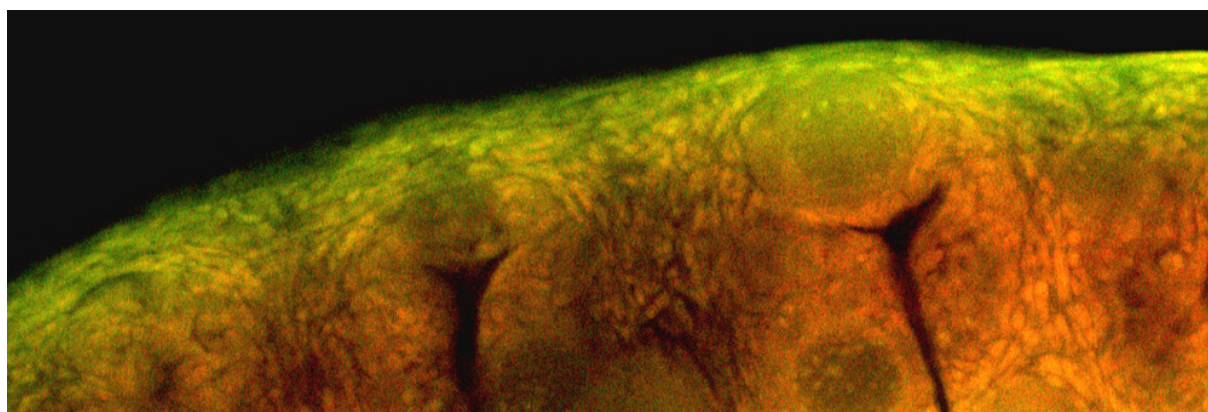


Рис. 2. Участок яичника пеляди в начале формирования фонда половых клеток в лазерном сканирующем микроскопе

#### *Статистический анализ*

По результатам учёта у зародышей сиговых рыб количества первичных гонцитов и их ядрышек, измерений диаметра ППК, их ядер, ядерно-цитоплазматичес-

кого отношения в период эмбрионального развития — пигментации глаз и начала формирования на желточном мешке сети кровеносных сосудов (с учетом  $\tau_0$  — 60 % от продолжительности всего эмбриогенеза) — и на этапе вылупления проводили дискриминантный и кластерный анализы в пакете *STATISTICA* (6.0) [Боровиков, 2003].

Дискриминантный анализ проведен в полном варианте с включением всех переменных [Ивантер, Коросов, 2003; Пузаченко, 2004]. Оценку дистанции расстояний между цитометрическими параметрами ППК, степень их согласованного развития у разных видов сиговых рыб на тех же стадиях эмбриогенеза осуществляли с помощью кластерного анализа. С этой целью в рамках евклидовой метрики использовали двухсвязный парногрупповой метод (*weighted pair group average*) пакета *STATISTICA*, разработанного *StatSoft, Inc.* [Боровиков, 2003]. Методологическим основанием для проведения данного анализа в ихтиологических исследованиях послужила публикация В.Л. Андреева и Ю.С. Решетникова [1977].

## ГЛАВА 2

# МОРФОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРВИЧНЫХ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ СИГОВЫХ РЫБ

---

---

### 2.1. Формирование линии половых клеток рыб в эмбриональный и ранний постэмбриональный периоды

Для всех Metazoa характерны два основных пути формирования линии половых клеток: в случае «преформации» будущие половые клетки развиваются из материала т.н. «зародышевой плазмы», определяемой в зиготе или на ранних стадиях дробления; в ходе «эпигенеза» происходит индукция полипотентных клеток и реализация в них программы линии половых клеток [Extavour, Akam, 2003; Seydoux, Braun, 2006; Кожухарь, 2011a]. При развитии клеток половой линии по пути преформации гонобласт (половой зачаток) формируется blastomeres, в которые при дроблении попала зародышевая плазма, и превращаются в ППК (некоторые черви, низшие ракообразные, насекомые, бесхвостые амфибии). В случае развития линии половых клеток по пути эпигенеза в зиготе и blastomeres половые детерминанты отсутствуют и ППК обособляются на сравнительно более поздних стадиях. Вступление тотипотентных клеток зародыша на путь развития половой линии обеспечивается специфическими сигнальными молекулами, вызывающими необходимое программирование клеток [Кожухарь, 2011a]. По всей видимости, у большинства изученных многоклеточных животных имеют место оба эти процесса, но у разных видов доля их участия в формировании половых клеток различна.

Для полноценного представления о характере формирования линии половых клеток у низших позвоночных, к которым относятся рыбы, очевидно, следует рассмотреть его особенности у разных таксонов животных — от примитивных до высокоорганизованных. Так, у колониальных асцидий (Tunicata, Chordata) стволовые клетки развиваются как в половые, так и в соматические [Stoner et al., 1999]. То же отмечено и у паразитических корнеголовых ракообразных (Rhizocephala, Crustacea) [Исаева, 2008]. В.В. Исаева с соавторами [2009], опираясь на литературные и собственные данные, предполагают у размножающихся бесполом путем животных общую структурную и функциональную организацию стволовых резервных клеток и клеток половой линии.

Ряд исследователей считают, что потенциал тотипотентности поддерживается клетками женской половой линии [Weissman, 2000; Seydoux, Braun, 2006; Dosch, 2015]. Так, например, при исследовании линии половых клеток у мышей было выдвинуто [Zwaka, Thomson, 2005] предположение, что эмбриональные стволовые (ES), эмбриональные половые (EG) и клетки эмбриональной карциномы (EC) представляют семейство связанных плюрипотентных клеточных линий, чьи общие свойства отражают общее происхождение от зародышевых клеток. Основанием этого утверждения может являться то, что по крайней мере некоторые специфические гены, экспрессирующиеся ES клетками, а не примитивными клетками экто-

дермы, необходимы для долгосрочного поддержания плюрипотентного состояния. Другие исследователи [Hogan, 2001; Smith, 2006] клетки половой линии также относят к плюрипотентным.

«ППК появляются еще до полного развития зародышевых листков, не принадлежат ни к одному из них, а являются потомками эмбриональных плюрипотентных клеток, лишь присутствуя в данный момент в составе того или иного зародышевого листка» [Кожухарь, 2011а, стр. 213]. С этой точкой зрения не согласна В.В. Исаева с соавторами [2009]. По их мнению, возможность дифференцировки эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) в женские половые клетки [Hubner et al., 2003; Daley, 2007; Kerkis et al., 2007] свидетельствует о тотипотентности последних «... вне зависимости от широты спектра их соматических производных» [Исаева и др., 2009, стр. 85].

Зародышевая плазма (*germ plasm*). В настоящее время «зародышевая плазма» рассматривается как участок яйцеклетки, содержащий специфические факторы — половые детерминанты, определяющие развитие половых клеток [Eddy, 1975; Айзенштадт, 1984; Yoon et al., 1997; Braat et al., 1999; Reunov et al., 2000; Исаева, Реунов, 2001; Реунов и др., 2004; Miyake et al., 2006; Ахмадиева, 2008; Исаева и др., 2009.]. Они представлены фибриллярно-гранулярным и гранулярным материалом, называемым у различных животных полярными или герминальными гранулами, хроматоидными, перинуклеарными или плотными телами, nuage (облако- *фр.*), интермитохондриальным цементом [Eddy, 1975; Айзенштадт, 1984; Ikenishi, 1998; Saffman, Lasko, 1999; Houston, King, 2000; Исаева, Реунов, 2001; Matova, Cooley, 2001].

На материале оогониальных клеток планарий, иглокожих и рыб впервые получены морфологические доказательства участия митохондрий в происхождении герминальных тел зародышевой плазмы [Reunov et al., 2000; Реунов и др., 2004, 2005; Александрова, 2005]. Полученные исследователями ультраструктурные данные свидетельствуют о преобразовании матрикса митохондрий с кристами внутренней мембраны в специфический гранулярно-фибриллярный материал герминальных гранул морского ежа *Anthocidaris crassipina*, трепанга *Apostichopus japonicus* и камбалы *Pleuronectes asper*. Авторы допускают, что этот процесс является универсальным способом освобождения и транспорта мтРНК и других продуктов митохондриального генома в цитоплазму клеток герминативного пути с последующим включением митохондриальных производных в состав зародышевых детерминантов половой плазмы. Эти работы подтверждают ранее выдвинутую гипотезу [Исаева, Реунов, 2001] об участии митохондрий в происхождении зародышевых детерминантов и присутствии в зародышевой плазме структур митохондриального происхождения, которые совместно с продуктами ядерного генома обеспечивают воспроизведение и функционирование макромолекулярного комплекса детерминантов клеток половой линии, а также стволовых клеток.

Вышеизложенное позволяет считать, что у представителей разных таксонов животного мира выявлен эволюционный консерватизм морфофункциональной организации тотипотентных стволовых клеток [Исаева и др., 2007]. Это также свидетельствует об эволюционном консерватизме и механизмов, поддерживающих структурную организацию и функциональную активность детерминантов зародышевой плазмы в линии эмбриональных стволовых и половых клеток [Исаева, 2008; Исаева и др., 2009].

*Состав зародышевой плазмы.* В составе герминальных гранул зародышевой плазмы у многих животных, в т.ч. рыб — полосатого данио *Danio rerio*, медаки *Oryzias latipes* и др. — найден белковый продукт гена *Vasa* или его гомологов: РНК-хеликазы — один из ключевых детерминантов линии половых клеток [Yoon et al., 1997; Braat et al., 1999; Shinomiya et al., 2000; Tsunekawa et al., 2000; Herpin et al., 2007; Ахмадиева, 2008; Yuan et al., 2014]. Белок *Vasa*, митохондриальная рРНК



и другие продукты митохондриального генома включены в формирование линии половых клеток различных Metazoa — от низших беспозвоночных до высших амниот [Watanabe et al., 1992; Ding, Lipshitz, 1993; Ikenishi, 1998; Saffman, Lasko, 1999; Kloc et al., 2000; Reunov et al., 2000; Houston, King, 2000; Raz, 2000; Matova, Cooley, 2001; Mochizuki et al., 2001; Leatherman, Jongens, 2003; Реунов и др., 2004, 2005; Берекеля и др., 2005; Seydoux, Braun, 2006; Кленов и др., 2007]. Так, у данио рерио по наличию *Vasa* мРНК можно установить, что предшественники линии половых клеток обособлялись от соматических клеток при завершении дробления, и их потомков возможно проследить в течение всего эмбриогенеза [Nagai et al., 2001]. А у золотой рыбки *Carassius auratus* выявлено [Otani et al., 2002] два *Vasa*-сигнала вдоль борозды первого деления дробления.

Поскольку транскрипты генов *Vasa*, *Dead end*, *Nanos1* и др., выявленные у всех исследованных беспозвоночных и позвоночных животных, локализованы в герминальных гранулах клеток половой линии, это свидетельствует о консерватизме клеточных и молекулярных механизмов формирования и поддержания зародышевой плазмы [Исаева, 2008].

Считается, что гранулы зародышевой плазмы, содержащие РНК и РНК-связывающие белки, выполняют функции локализации, защиты и контроля трансляции матричных РНК [Extavour, Akam, 2003; Seydoux, Braun, 2006]. Предполагается, что герминальные гранулы функционируют как молекулярный регуляторный центр, предотвращающий экспрессию генов соматической дифференцировки и поддерживающий «тотипотентность генома» клеток половой линии; продукты специфичных для половой линии генов *Vasa* и *Nanos*, выявленные в половых гранулах, участвуют в положительной обратной связи для регуляции их собственной экспрессии и экспрессии других генов линии половых клеток [Seydoux, Braun, 2006; Extavour, 2007]. Показано, что гомологи гена *Vasa* у животных экспрессируются в половых клетках на протяжении всего развития — от раннего эмбриона и в течение гаметогенеза [Raz, 2000; Mochizuki et al., 2001; Sunanaga et al., 2006; Draper et al., 2007]. Установлено также, что митохондриальная рибосомная 16S РНК локализована в ядрах сперматогониев, сперматоцитов и сперматид млекопитающих [Villegas et al., 2002]. Выявлен транспорт большой и малой субъединиц рРНК из митохондрий в герминальные гранулы [Ding, Lipshitz, 1993]. Предполагается, что существует перенос молекулярных компонентов герминальных гранул в ядро, что обеспечивает поддержание тотипотентности и функционирование молекулярных информационных потоков, связывающих ядро, митохондрии и герминальные гранулы [Isaeva et al., 2005, цит.: Исаева и др., 2009].

Исследователями показано, что у данио рибонуклеопротеиды (РНП) в виде диспергированных молекул передаются в течение оогенеза, а после оплодотворения они мультимеризуются и начинают функционировать в качестве крупных агрегатов в бороздах первого и второго клеточных циклов; количество накопленных зародышевой плазмой РНП после каждого клеточного цикла сокращается вдвое [Епо, Pelegri, 2013].

Цитохимическим маркером первичных половых клеток млекопитающих является высокий уровень активности щелочной фосфатазы [Райцина, 1982; Ginsburg et al., 1990]. Высокая активность этого фермента (участвует в транспорте фосфора через клеточную мембрану и является показателем фосфорно-кальциевого обмена) обнаружена также в ППК птиц и в культивируемых эмбриональных стволовых клетках птиц [Pain et al., 1996] и рыб [Hong et al., 1998]. Щелочная фосфатаза была выявлена также в стволовых клетках беспозвоночных [Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005], что указывает на универсальность и видоспецифичность этого маркера стволовых клеток.

Отличие половых клеток от соматических состоит в тотипотентности половых [Бунур, 1968; Айзенштадт, 1984; Wylie, 1999; Исаева и др., 2009], начало которых

дают бластомеры, попадающие при дроблении в зону зародышевой плазмы, детерминирующей развитие в герминативном направлении [Eddy, 1975; Ijiri, Egami, 1975; Braat et al., 1999; Исаева, Реунов, 2001]. Так, в раннем эмбриогенезе золотой рыбки и данио рерио специфичные для половой линии РНК транскрипты *Vasa*, *Dead end*, *Nanos1* и *Dazl* локализуются в периферическом отделе первой и второй борозд дробления, где они формируют компоненты половой плазмы. Эти компоненты распределены на периферии перекрестных участков, расположение в которых поддерживается в течение ранних стадий дробления [Otani et al., 2002; Theusch et al., 2006]. Восемь *Vasa* сигналов были обнаружены в период от 8-клеточной стадии до стадии 512 клеток. Почти все *Vasa*-положительные клетки были обнаружены в нижней части бластодермы, преимущественно в мезоэнтодермальной области; в течение гастрюляции они перемещаются в направлении спинной стороны эмбриона. При завершении эпиболии *Vasa*-положительные клетки характеризовались широким распределением вдоль оси зародыша. В течение периода сегментации почти все они наблюдались на уровне первого сомита, но некоторые локализовались в области будущего слухового пузырька зародыша [Otani et al., 2002].

У белого бычка *Leucopsarion petersii* (Gobiidae), начиная со стадии 4-6 бластомеров, в детерминации линии половых клеток принимают участие транскрипты гена *Shiro-uo vasa* [Miyake et al., 2006]. Экспрессия гена *Nanos* у медаки маркирует герминативную линию на стадии ранней гастрюлы, а удаление транскриптов этого гена приводит к снижению числа ППК [Kurokawa et al., 2006].

В последние годы интерес исследователей обращается к функции отдельных компонентов зародышевой плазмы. Было установлено [Wiszniak et al., 2011], что у эмбрионов данио член семьи Nu РНК-связывающих белков, NuB, передается по материнской линии и специфически экспрессируется в линии половых клеток во время эмбриогенеза. Рестрикция NuB мРНК в половых клетках зависит от количества элементов последовательности в его 3'UTR (некодирующей части), которые способны вести к деградации мРНК в соматических и стабилизировать ее в половых клетках. Авторами показано, что специфический РНК-связывающий белок половых клеток *Dazl* способен стабилизировать NuB мРНК и транслироваться в половых клетках.

*Морфология первичных гоноцитов у рыб.* Точность сведений о происхождении половых клеток во многом зависит от критериев, которые используют авторы для их выявления. Как правило, многие исследователи распознают первичные гоноциты по характерным цитологическим признакам. Отмечалось [Исаева и др., 2009], что морфофункциональная организация первичных половых и гониальных клеток всех исследованных представителей многоклеточных животных имеет те же черты, что и стволовые резервные клетки: высокое ядерно-цитоплазматическое отношение, крупное ядро с диффузным хроматином и большим ядрышком, базофильная цитоплазма, включающая герминальные гранулы.

У рыб исследование морфологических преобразований ППК проводилось на осетровых, лососёвых, сиговых, карповых и представителях других семейств [Персов, 1959, 1966, 1975; Леманова, 1965; Рязанцева, Сакун, 1980; Hamaguchi, 1982; Захарова, 1984; Селюков, 1985; Timmermans, Taverne, 1989; Белоусов, 1991; Божкова и др., 1993; Чмилевский, Иосифова, 1999; Матишов и др., 2010].

Описание морфологии ППК периода миграции в эмбриогенезе тихоокеанских лососей — кеты *Oncorhynchus keta*, горбуши *O. gorbuscha*, нерки *O. nerka*, кижуча *O. kisutch* и симы *O. masou* — проведено Г.М.Персовым [1966]. У 8 представителей семейства сиговых — чудского сига *Coregonus lavaretus maraenoides*, сига-лудоги *C. lavaretus ludoga*, пыжьяна *C. lavaretus pidschian*, озерной и речной пеляди *C. peled*, байкальского омуля *C. migratorius*, тугуна *C. tugun*, чира *C. nasus* и муксуна *C. muksun*, были проанализированы особенности морфологии, динамики количества и характера распределения ППК, ядерно-цитоплазматическое отношение, число ядрышек

и характер пролиферации этих клеток в эмбриональный и ранний постэмбриональный периоды [Леманова, 1965; Селюков, 1985, 1989; Мостовская, Полякова, 1986; Белоусов, 1991; Захарова, 1997; Селюков и др., 2000, 2008 б, 2010 а, б; Бондаренко, 2003; Беспоместных, 2007]. При установлении внутривидовых различий предличинок сиговых рыб р. *Coregonus* на этапе вылупления [Селюков и др., 1988] в качестве критериев морфофункционального состояния ППК рассматривали размеры клеток и ядер, ядерно-цитоплазматическое отношение, количество и диаметр ядрышек. Видоспецифичность при формировании гонад у сиговых рыб в этот период отчетливо проявлялась в степени варьирования количества первичных гоноцитов в области зачатков гонад, числе ядрышек, объеме цитоплазматических включений и возрастала в ряду: пелядь — сиг-пыжьян — муксун — чир.

Детально исследовано формирование линии половых клеток у таких экспериментальных объектов как данио рерио, медака, вьюн *Misgurnus anguillicaudatus* и других [Hamaguchi, 1982, 1987; Yoon et al., 1997; Braat et al., 1999; Shinomiya et al., 2000; Nagai et al., 2001; Otani et al., 2002; Fujimoto et al., 2006; Herpin et al., 2007; Lewis et al., 2008].

Обобщение характерных признаков ППК [Extavour, 2007] позволило заключить, что первичные гоноциты могут почти всегда отчетливо отличаться от соматических по одному или комбинации следующих четырех критериев: 1) характерная морфология при проходящем свете, включая смещенное в сторону цитоплазмы ядерно-цитоплазматическое отношение, округлые ядра с видимым ядрышком и диффузным хроматином, гранулярные цитоплазматические включения, обычно локализованные в перинуклеарной цитоплазме и связанные с ядерными порами; 2) электронно-плотные цитоплазматические гранулы; 3) высокий уровень активности щелочной фосфатазы; 4) локализация мРНК или белковых продуктов генов, специфичных для зародышевых клеток, особенно продуктов семейства генов *Vasa* и *Nanos*.

**Полиморфная ядерность половых клеток.** В процессе миграции первичных половых клеток к зачаткам гонад их ядра характеризуются различной конфигурацией — от округлой до многолопастной, что позволило ещё Нуссбауму [Нуссбаум, 1902, цит.: Сакун, 1964] их обозначить как полиморфные. Именно такие ядра он связывал с начальными этапами amitotического деления. Другой точки зрения придерживались Бои [Böhi, 1904, цит.: Персов, 1975], Эссенберг [Essenberg, 1923], Мур [Moore, 1937], Персов [1959, 1975], Сакун [1964] и другие исследователи. Они объясняли это явление особым физиологическим состоянием ППК, поскольку многолопастность увеличивает поверхность ядра, что вызывает возрастание ядерно-цитоплазматического обмена.

Перечисленные авторы отмечали определенную последовательность в их появлении: первоначально преобладают ППК с полиморфными ядрами, которые постепенно исчезают, и при переходе к митозам все первичные гоноциты приобретают округлую форму. Округлой формой ППК осетровых и костистых рыб обладают в период миграции и особенно концентрации в области половых зачатков. Однако такая последовательность у разных видов осетровых рыб нередко нарушается, что позволяет сомневаться в предложенном объяснении этого явления [Персов, 1975]. Так, Сакун [1964] у личинок сырты *Vimba vimba* отмечала округлую форму ядер ППК, мигрирующих в область закладки половых желёз; у личинок старшего возраста ядра гоноцитов, завершивших миграцию и концентрирующихся в зачатке гонад, были полиморфны, и при этом отмечались amitozы.

Однако до сих пор не получены окончательные выводы относительно причин полиморфной ядерности ППК, т.к. в разных работах приводится то одна, то другая версия. В исследованиях, проведенных на эмбрионах и ранних личинках сиговых рыб [Селюков и др., 2000, 2008 б; Беспоместных, 2007; Selyukov et al., 2008; Селюков и др., 2010 а, б], нами показано увеличение количества первичных гоноцитов у мук-

суна, тугуна, чира, в меньшей степени — пыжьяна и значительно реже — пеляди. Установлено также возрастание ядерного полиморфизма с одновременным нарастанием многоядерности ППК, сменявшееся увеличением числа первичных гоноцитов округлой формы. Эти процессы обычно завершались к моменту вылупления, а у тугуна и муксуна ППК в составе отдельных групп фиксировались и в постэмбриональный период.

*Клеточная пролиферация. Дискуссионные аспекты.* Ключевыми аспектами биологии развития являются характер и тип пролиферации клеток, причины и направления клеточной дифференцировки в составе различных зачатков зародыша. Еще сравнительно недавно способами размножения клеток считались не прямое (митоз) деление и прямое (амитоз) — с некоторыми его разновидностями [Алов и др., 1969]. Некогда после громких дискуссий и ряда печатных публикаций [Каролинская, 1952; Ревуцкая, 1952] у исследователей сложилось определенное мнение относительно способов завершения митотического цикла: *о б ы ч н ы й м и т о з*, результатом которого является образование двух дочерних клеток, равноценных между собой и идентичных материнской; *э н д о м и т о з* — скрытый митоз, приводящий к полиплоидизации ядер; *а м и т о з* — прямое деление ядер после предшествующей редупликации в них ДНК [Клишов, 1984].

Для понимания явления, с которым нам пришлось столкнуться в процессе исследования раннего гаметогенеза сиговых рыб, вкратце опишем историю проблемы.

В процессе прямого деления, названного *амитозом*, ядрышко, а затем ядро вытягиваются и перешнуровываются [Flemming, 1882, цит.: Иванова, 1982]. При этом ядро делится на равные или неравные части, а в ряде случаев фрагментируется на несколько мелких и неодинаковых ядер. Деление ядра может сопровождаться или не сопровождаться цитотомией, вследствие чего образуется одна или несколько многоядерных клеток.

На протяжении последних 130 лет отношение к амитозу существенно изменялось. Одно время его считали патологической формой деления, свойственной лишь стареющим клеткам, или относили к более примитивной форме клеточной пролиферации, свойственной эмбриональным клеткам. Наоборот, первичной формой размножения, как в онтогенезе, так и в филогенезе рассматривали митоз, тогда как амитоз появлялся в некоторых специализированных клетках и не приводил к их выключению из специфического функционирования [Кнорре, 1959]. Под амитозом ряд авторов [Кацнельсон, Кнорре, 1962] ранее понимали такую форму клеточного деления, которая не связана с редупликацией хромосом и кратным увеличением количества ДНК в материнском ядре.

З.С. Кацнельсон и А.Г. Кнорре [1962] отмечали, что амитотическое деление не является показателем патологического состояния клетки, т.к. амитотические и митотические изменения одного и того же ядра могут возникать параллельно, а при совмещении этих разнородных процессов один из них прерывается. Однако в отношении половых клеток и ранних бластомеров зародыша утверждалось [Кацнельсон и Кнорре, 1962; Михайлов, 1968], что они всегда делятся митотически; амитотическое деление ядер является следствием патологии, а наблюдавшиеся картины амитозов в яйцеклетках некоторых животных неверно интерпретированы. Это подтверждалось, например, при оценке гаметогенеза сибирского осетра *Acipenser baerii* из естественных условий и при тепловодном разведении [Акимова, 1985], а также при развитии в экстремальных условиях. Так, в изменённых условиях обитания в яичниках сибирского осетра ленской популяции часто встречались амитозы превителлогенных ооцитов. Появление амитозов половых клеток осетровых совпадает по времени с возрастанием частоты встречаемости других нарушений гаметогенеза. Амитозы ооцитов периода цитоплазматического роста отмечались у сибирского осетра из рек Колыма и Енисей [Акимова, Рубан, 1996; Рубан, 1999; Акимова, Рубан, 2009].

Однако другие исследователи склонны рассматривать амитоз в качестве видовой адаптивной реакции, а не как патологию. Выявленные многоядерные ооциты и их амитозы у русского осетра *A. gueldenstaedtii*, белуги *Huso huso* и севрюги *A. stellatus* в Каспийском море, по мнению А.А. Романова с соавторами [1990], являются одним из первых проявлений защитных реакций организма для сохранения вида путем увеличения числа половых клеток в ответ на ухудшение условий обитания.

Такие противоположные утверждения относительно амитотической пролиферации в целом и половых клеток, в частности, в биологической литературе нередки.

И.А. Аловым с соавторами [1969] была предложена классификация амитозов, в соответствии с которой выделены генеративный и реактивный амитозы, а также дегенеративная форма амитоза.

Генеративный амитоз наблюдается при делении специализированных высокополиплоидных клеток, образующихся вследствие эндомитотической редупликации хромосом (после удвоения ДНК ядерная оболочка не исчезает, а образуется полиплоидная клетка). В этом случае амитоз является последней стадией эндомитоза, и часто завершается цитотомией. При таком делении генетическая полноценность образовавшихся ядер различна: в одних случаях (печень, эпидермис) ДНК разделяется между дочерними ядрами более или менее равномерно, тогда как в других образовавшиеся амитотическим путем ядра содержат разное количество ДНК [Бродский, 1966]. Как отмечали И.А. Алов с соавторами [1969], описанная в ряде исследований возможность наступления после амитоза митотического деления относится только к генеративной форме.

Реактивный амитоз наблюдается при различных повреждающих воздействиях и нарушениях обменных процессов, обычно не завершается цитотомией и приводит к образованию многоядерных клеток. Его следует рассматривать как компенсаторную реакцию, приводящую к увеличению поверхности ядерно-цитоплазматического обмена. Так, в патологически измененной мезотелии вслед за амитотическим делением ядер отмечалось образование либо многоядерных клеток (если делится только ядро) и многоклеточных комплексов (если клетка разделяется не полностью), либо увеличение общего числа клеток в случае их полного разделения [Ревуцкая, 1952].

Дегенеративная форма амитоза возникает в стареющих, дегенерирующих клетках, и часто представлена фрагментацией и почкованием ядер. Дегенеративная форма амитоза не связана с синтезом ДНК, и ее появление служит одним из признаков начинающегося апоптоза.

Полученные с применением ряда цитологических методик данные позволили установить регенерацию мезотелия париетальной брюшины взрослых мышей за счет амитотической пролиферации [Иванова 1982, 1984]. По данным цитофотометрии, в 96 % клеток количество ДНК составляло 2С; материнские и дочерние клетки по ряду морфофункциональных показателей не различались, и после серии амитозов вступали в митоз. Отсутствие радиоактивной метки (<sup>3</sup>Н-тимидин) в основной массе двухъядерных клеток, большая площадь амитотически перешнуровывающихся ядер и сумма площадей проекции обоих ядер в двухъядерной клетке свидетельствовали о том, что они возникают из полиплоидных одноядерных клеток [Иванова, 1984]. Исследователь рассматривала появление многоядерных клеток, которые не выключаются из выполнения специфической функции, следствием более экономного способа жизнедеятельности ткани в постэмбриональный период гистогенеза. Отмечалось также [Зыбина, 1980, цит.: Иванова, 1982], что в ядрах трофобласта мыши при полном отсутствии митозов наблюдается накопление ДНК, после чего эти высокополиплоидные ядра плаценты фрагментируются на ряд мелких ядер, нередко содержащих диплоидный набор хромосом. В исследованиях

В.Я. Бродского и И.В. Урываевой [1981] полиплоидные клетки наиболее часто отмечались в местах с высоким уровнем хромосомных повреждений и рассматривались авторами как фактор генетической защиты ткани.

Тем не менее, в настоящее время amitotическая пролиферация в качестве самостоятельного клеточного деления нормальных соматических или половых клеток отрицается. Рассматриваемый ранее в качестве генеративной формы amitоза способ клеточного деления можно считать незавершенным митозом, который сменяется полноценной версией этого типа.

*Пролиферация стволовых (герминативных стволовых) клеток.* Согласно современным представлениям, существенной особенностью биологии стволовых клеток является асимметричное деление [Терских и др., 2007 б, 2009], основная задача которого состоит в сохранении ДНК неповрежденной, т.к. при таком делении одна дочерняя клетка сохраняет свойства стволовой, а другая дифференцируется. Показано, что асимметричное деление в стволовых клетках обеспечивает защиту генома и предохраняет ДНК от ошибок репликации и опухолевой трансформации [Shinin et al., 2006, цит.: Терских и др., 2007 б]. Уникальная асимметрия позволяет стволовой клетке самокопироваться и одновременно производить многочисленные дифференцированные клетки. Асимметрию деления стволовой клетки (напр., нейробластов дрозофилы) определяет группа белков, локализованных в апикальном кортексе [Lin, 2008]. Автором было отмечено, что в основе механизма асимметричного деления стволовой клетки лежит асимметричное свойство centrosом. Материнская и дочерняя centrosомы различаются размерами, молекулярным составом, способностью организовывать локализацию мРНК и других детерминантов. Им был сделан вывод, что уникальные свойства стволовых клеток — это в большей степени результат уникальной комбинации общих клеточных механизмов, а не следствие функционирования каких-то определенных молекул стволовой клетки. Еще одним механизмом асимметричного деления клеток может быть асимметричное расширение мембраны на основе асимметричной локализации миозина и кортикальной коррекции этого процесса [Roubinet, Cabernard, 2014].

Нарушение же асимметричного деления герминативных стволовых клеток и беспорядочное их накопление вызывается мутациями генов *Apc1* и *Apc2*, являющихся супрессорами опухолевого роста [Yamashita et al., 2003, цит.: Терских и др., 2009]. Стволовые клетки функционируют в нишах (тканевые клетки и внеклеточный матрикс), которые создают асимметричное микроокружение и контролируют пролиферацию и дифференциацию стволовых клеток путем интеграции сигналов, поступающих от соседних клеток, организма и из окружающей среды [Терских и др., 2007 а; 2009].

Группа американских исследователей [Tran et al., 2012] в экспериментах со стволовыми клетками зародышевой линии самцов дрозофилы, используя мечение GFP-, RFP-красителями молекул гистонов, выявила механизм сохранения тотипотентности. Было продемонстрировано, что во время предшествующей делению репликации хромосом одна из дочерних хроматид получает старые гистоны, другая – новые. В ходе асимметричного деления в дочернюю стволовую клетку попадают хроматиды со старыми гистонами, а в дифференцирующуюся — с новыми. «Старые» молекулы гистона, как считают авторы, несут на себе эпигенетические метки (рисунок метилирования или ацетилования), определяющие идентичность стволовой клетки. Оставляя эти молекулы, стволовые клетки сохраняют необходимую им эпигенетическую информацию.

Таким образом, эволюционно и онтогенетически родственные тотипотентные эмбриональные, первичные половые и стволовые клетки относятся к популяциям резервных клеток, сохраняющих неограниченный морфогенетический потенциал и способных к реализации полной программы развития [Donovan, 1998; Hogan, 2001; Гривенников, 2008; Solana 2013].

## 2.2. «Прегонадный период» развития у рыб

В отечественной ихтиологической литературе ранний гонадогенез рыб подразделяют на такие периоды, как *п р е г о н а д н ы й* (включает процессы обособления ППК, их миграции и концентрации в половых зачатках), *и н д и ф ф е р е н т н ы й* и *с е к с у а л и з а ц и и* гонад (анатомической и цитологической дифференцировки пола) [Персов, 1975].

У пластиножаберных (Elasmobranchii) первичные половые клетки отмечаются во внезародышевой мезодерме и на границе энтодермы с желтком, тогда как у костных ганоидов (Holostei) — в периферической энтодерме или в вентролатеральном участке кишечной энтодермы [Кауфман, 1990], откуда мигрируют по энтодерме и соматоплевре боковых пластинок в половые зачатки [Allen, 1911, цит.: Персов, 1975]. ППК у хрящевых ганоидов (Chondrostei) мигрируют вдоль спланхнотомов, и у личинок стерляди *A. ruthenus*, белуги, сибирского осетра обской, ленской и байкальской популяций в возрасте от 1–12 ч до 1–3 сут после вылупления большинство из них находится в области зачатка гонад под Вольфовыми протоками [Персов, 1975]. У проходных лососей рр. *Salmo* и *Oncorhynchus* ППК выявляются на разных стадиях эмбриогенеза и мигрируют через область миотомов в спланхнотомы, а отсюда по спланхноплевре в зачатки гонад [Вивьен, 1968; Персов, 1975].

У медаки, фундулюса *Fundulus heteroclitus* и других рыб, у которых ППК характеризуются энтодермальным происхождением [Namaguchi, 1982], их миграционный путь проходит по вентральной стороне зародыша. У карпа *Cyprinus carpio* и огненного барбуса *Barbus conchonioides* они выявляются в области мезодермы [Timmermans, Taverne, 1989]; у кеты *Oncorhynchus keta* и гуппи *Poecilia reticulata* отмечена сходная локализация ППК, которые мигрируют в недифференцированной энтодерме и через миотомы и спланхнотомы попадают в зачатки гонад [Турдаков, 1969, 1972].

С использованием *in situ* гибридизации в эмбриогенезе золотой рыбки на этапе дробления в некоторых бластомерах (будущих ППК) было отмечено появление *Vasa* мРНК, которые во время сегментации мезодермы зародыша располагались вдоль эмбриональной оси, а впоследствии часто (до 18 % эмбрионов) занимали эктопическое положение вокруг формирующегося слухового пузырька [Otani et al., 2002]. У эмбрионов данио рерио с 4-клеточной стадии до 50 % эпиболии уровень экспрессии гена *Gel* быстро снижается, но в дальнейшем его продукты присутствуют только в тех клетках, которые мигрируют в зачатки гонад, т.е. в первичных гоноцитах [Li et al., 2006; Theusch et al., 2006]. С использованием метки GFP было прослежено [Kurokawa et al., 2006] распределение ППК в эмбриогенезе медаки, в результате чего было установлено, что на стадии гастролы эти клетки мигрировали к краевой зоне, откуда перемещались к средней линии, а затем к заднему концу спланхнотомов. Маркерами ППК на ранних стадиях развития и периода миграции является триада генов плюрипотентности *Oct-4*, *Nanog* и *Sox-2*; экспрессия *Oct-4* и *Nanog* сохраняется в предшественниках ППК и после того, как она подавляется в соседних клетках, развивающихся по соматической программе [Yabuta et al., 2006, цит.: Кожухарь, 2011а]. Экспрессия данных генов находится под влиянием транскрипта гена *Dazl*, дефекты которого вызывают нарушения экспрессии генов *Oct-4*, *Sox-2*, *Nanog*, *Stella* и *Mhv*, являющихся маркерами ППК. К числу маркеров ППК на ранних стадиях также относится рецептор *C-kit*, который участвует в определении направления миграции ППК к половым зачаткам, предотвращает их гибель путем апоптоза и контролирует размножение [Кожухарь, 2011 а].

У рыб миграция ППК от начала и до завершения контролируется взаимодействием лиганда соматических клеток *Sdf1* и рецептора ППК *Cxcr4* [Doitsidou et al., 2002; Knaut et al., 2003, 2008], тогда как у млекопитающих (мышь) экспрессия *Sdf1* происходит не по всему пути миграции, а только в клетках эпителия половых

валиков. Поэтому в зону действия *Sdf1* у них попадают ППК только на завершающих этапах миграции, при заселении половых зачатков.

Очевидно, что миграция первичных гоноцитов вызвана гетерохронией обособления самих ППК и формирования полового зачатка. Однако глубинная причина такого явления в эмбриогенезе, по мнению А.М. Оловникова [2013], состоит в обеспечении эволюционно значимого отклика формирующегося организма на воздействие внешней среды — своеобразная преадаптация. Кратко изложим предложенную этим автором концепцию.

Так, в процессе миграции по развивающемуся эмбриону ППК контактируют с зачатками органов и приобретают разную органоспецифичность. Каждый первичный гоноцит получает органоспецифичность того зачатка, с которым впервые вступает в контакт. Поэтому потомки ППК (ооциты или сперматоциты) экспрессируют неидентичные органоспецифичные рецепторы и являются функционально гетерогенными. Благодаря этому, каждый клон половых клеток способен специфически распознавать молекулярные сигналы, которые поступают только от «своего» соматического органа. Такие сигналы генерируются органом тела, если он функционирует в экстремальном режиме, т.е. данный орган претерпевает «упражнение», тренируется. От такого органа сигналы поступают в гонады через ретранслятор, в роли которого выступают группы нейронов, соответствующие т.н. соматотопным картам скелетомоторного и аналогичных ему представительств частей тела в мозге.

Сигналы от «упражняющегося» органа тела в виде комплекса регуляторных РНК и белков поступают через соответствующее представительство мозга в гонаду, где этот органоспецифичный сигнал селективно распознается половыми клетками в соответствии с их органоспецифичностью. Поступив в половые клетки, сигнальный комплекс создает в геноме направленные эпимутации. При этом строго определенный порядок расположения генов на хромосомах и генетическая карта вида диктуется т.н. к р е а т р о н о м (системой, модифицирующей геном половых клеток при создании эволюционно значимых адаптаций), который объединяет сомую и зародышевую линию.

Насколько предложенная схема соответствует действительности, покажут дальнейшие исследования. Мы же не будем опережать события, зная, что этот проницательный автор прославился созданием «теломерной теории старения», впоследствии блестяще подтвержденной экспериментально.

В обзоре работ по дифференцировке пола позвоночных отмечалось, что при заселении зачатка гонад ППК вступают во взаимодействие с клетками стромы и репрограммируются — становятся гоноцитами [Кожухарь, 2011 б]. Гоноциты в этот период претерпевают самое существенное за все время развития клеток половой линии деметилирование (т.е. активизация генов вследствие снятия тимин-ДНК-гликозилазой блокировки их транскрипции метильной группой). При этом прекращается экспрессия маркерных генов ППК, но сохраняется экспрессия ряда генов плюрипотентности (*Oct-4*) и основных генов-маркеров клеток половой линии (*Dazl*, *Vasa*), начинается экспрессия новых маркерных генов (*Stra8*, *Gcna1*, *Sycp3*, *Sycp1* и *Gdf9*). Многие из них вместе с тем являются ключевыми генами для вступления гоноцитов в мейоз (премейотический маркер *Stra8*) или маркерами собственно мейоза (*Sycp3*). Гены *Stra8* и *Sycp3* консервативны: их экспрессия выявлена у многих животных.

Гоноциты в составе эмбриональной гонады развиваются либо в проспериоматогонии, либо в оогонии и затем — в первичные ооциты. Это зависит не от генетического пола самих гоноцитов, а от воздействия на них соматических клеток гонады мужского или женского пола. Так, например, у мыши активность Y-хромосомы проявляется не в гоноцитах, а только в соматических клетках гонады [Kocer et al, 2009, цит.: Кожухарь, 2011б].



На эмбрионах и ранней молоди рыб, у которых половые клетки были представлены ППК или гоноцитами первых порядков, исследовали влияние различных факторов: рентгеновского облучения [Мигаловский, 1971; Персов, 1975; Чмилевский, 1978, 2000; Захарова, 1983 б, 1984]; контрастных температурных режимов [Чмилевский, 1997, 2005; Захарова, 1984, 1990, 1997; Таликина, 1996]; интоксикации ксенобиотиками [Таликина и др., 1999, 2000, 2001 а, б, 2003, 2004; Таликина, Комов, 2003; Ефремова и др., 2011]; сверхслабых импульсных магнитных полей [Селюков и др., 2000а,б; Бондаренко, 2003; Вторушин, 2003; Селюков и др., 2003; Беспоместных, 2007; Селюков и др., 2008а]; а также генетических манипуляций [Мостовская, Полякова, 1986; Богданова, 1991].

Так, например, было установлено, что ППК у радужной форели *Oncorhynchus mykiss* характеризуются наибольшей поражаемостью рентгеновским излучением и высокой чувствительностью к пониженным температурам в раннем постэмбриональном периоде [Захарова, 1984; Захарова, Чмилевский, 1985]. С применением таких же воздействий на 6-суточных личинок мозамбикской тилляпии *Oreochromis mossambicus* — доза облучения 350Р и пониженная температура до 20-22 °С (для тилляпий норма 25-26 °С) — формирование их репродуктивной системы после снятия стрессового воздействия ускорялось, а при созревании повышалась плодовитость [Чмилевский, 1978, 2005].

### **2.3. Эмбриональное развитие сиговых рыб в различных экологических условиях**

Изучение эмбрионального развития сиговых рыб проводили в естественных и искусственных условиях в природном ареале и за его пределами. Эти исследования были выполнены: на муксуне [Юхнева, 1963], пыжьяне [Юхнева, 1967; Богданов, 1987, 2006], чире [Юхнева, 1967; Лебедева, 1976; Богданов, 1983 а, 1987, 2006], пеляди [Кузьмин, 1963; Лебедева, 1974, 1976, 1981, 1985, 1989; Игнатьева, 1979; Богданов, 1987, 1997, 2006 и др.], байкальском омуле [Черняев, 1968, 1981, 1982, 1983], тугуне [Малышев, 1974; Богданов, 1987, 2006], ряпушке [Лебедева, 1981], сиге-лудоге [Лебедева, Завьялова, 1985], баунтовском сиге [Черняев, Пичугин 1999], а также приведены в обзорной работе по естественному воспроизводству сиговых рыб [Решетников, Богданов, 2011].

Большинство сиговых рыб нерестится в осенне-зимний период, при температуре воды 1–3 °С. Весенний нерест (март — апрель) свойственен для сига и ряпушки из Баунтовских озер Забайкалья [Анпилова, 1967; Скрыбин, 1977; Решетников, 1980; Черняев, Пичугин, 1999] и некоторых популяций ряпушек из озёр Швеции и Финляндии [Решетников, 1980]. Известен широкий температурный диапазон нереста у разных видов: от 8–9 °С у тугуна, до 0 °С — у чира, откладывающего икру в шугу, где она проходит развитие в состоянии пагона. Такой характер эмбриогенеза отмечен также у ряпушки, омуля, пеляди и пыжьяна [Решетников, Богданов, 2011]. В замерзшей шуге происходило благополучное развитие чира — от 82 до 95 % живых эмбрионов [Богданов, 2007]. В притоках Северной Сосьвы пелядь нерестится в октябре-ноябре при температуре воды 0,2–0,8 °С [Богданов, 1983], а в некоторых озерах Якутии ее нерест проходит в сентябре при 5–9 °С [Венглинский, 1977]. В естественном ареале муксун нерестится при 1–2 °С [Вотинов, 1963], а на Северо-Западе России (в Ленинградской обл.) самки муксуна готовы к нересту при температуре воды на 2–3 °С выше [Крупкин, 1975].

Продолжительность эмбрионального развития сиговых рыб во многом обусловлена температурным и световым режимами [Юхнева, 1963; Мешков, Лебедева, 1980; Лебедева, 1989; Черняев, 1981, 1982, 1983, 1993, 2007; Головкова, 1986;

Черняев, Пичугин, 1999]. Для пеляди и муксуна в начале эмбриогенеза обычна температура воды около 1 °С, далее она снижается до 0,2–0,4 °С. Для муксуна оптимальными температурами являются 0,2–0,3 °С, максимальной пороговой — +4 °С [Юхнева, 1963; Мешков, Лебедева, 1980]. Эмбрионы пеляди могут нормально развиваться при температуре 0,2–3,0 °С [Кузьмин, 1963]. Для инкубации зародышей пеляди за пределами естественного ареала допустимы и более высокие температуры воды: 1,5–5,0 °С [Лебедева, 1981, 1989]. При низких температурах в пределах оптимума ускоряется рост эмбрионов, а повышение температуры замедляет рост, но ускоряет развитие. У нерестящегося в первых числах апреля баунтовского сига при температуре воды 1,5–2,2 °С эмбриональное развитие уже на этапе дробления проходит в интенсивном темпе и при переходе с этапа на этап темп эмбриогенеза возрастает [Черняев, Пичугин, 1999].

Однако не на всех этапах эмбриогенеза сиговых рыб температурный режим является ведущим фактором. Эмбриональное развитие байкальского омуля и байкальского озёрного сига Ж.А. Черняев разделил на два периода [Черняев, 1982, 1983].

Этапы дробления, бластулы и органогенеза, до пигментации глаз и появления эмбриональной системы кровообращения отнесены к первому периоду, в течение которого температуры более 0,5 °С вызывают замедление темпа развития. Этапы образования эмбриональной системы кровообращения, формирования жаберно-челюстного аппарата и вылупления отнесены исследователем ко второму периоду эмбрионального развития. Если в течение первого периода основным фактором, регулирующим темп развития, является температура, то во второй половине эмбриогенеза главным фактором становится солнечная радиация, а повышение температуры ускоряет развитие [Черняев, 1983, 2007].

Было показано, что выживаемость икры сиговых рыб на нерестилищах, расположенных в уральских притоках Нижней Оби, варьирует от 0 % до 93 % [Богданов, 2007]. Основными факторами, определяющими ее гибель, являются промерзание нерестилищ, локальные заморы и выедание хищниками.

Условия, способствующие выживанию икры, формируются в предгорных участках рек со стабильным грунтовым питанием, заторами шуги, слабой скоростью нарастания льда и низкой численностью хищников. Гибель всей развивающейся икры от промерзания возможна только в маловодных притоках, расположенных в полярных широтах [Решетников, Богданов, 2011].

В природных условиях эмбриональное развитие сиговых продолжается до 200 сут. Однако в целом вылупление предличинок, как правило, совпадает с распалением льда. При искусственном разведении в условиях Северо-Запада России вылупление пеляди происходит на 80 сут при среднесуточной температуре воды 5 °С или на 170 сут — при 0,2 °С. При оптимальных температурах эмбриогенез пеляди продолжается в среднем 150–170 сут [Лебедева, 1989]. Длительность эмбрионального развития муксуна также обусловлена температурой и варьирует в пределах 160–190 сут, тугуна — 206 сут [Богданов, 2006].

Таким образом, на темп и продолжительность эмбриогенеза сиговых рыб различные экологические факторы оказывают значительное влияние, значимость которых изменяется в зависимости от этапа и стадии развития; при этом весь эмбриональный период проходит при околонулевых температурах, а вылупление в естественных условиях разных широт совпадает с распалением льда.

### ГЛАВА 3

## ФОРМИРОВАНИЕ ЛИНИИ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИОД ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ СИГОВЫХ РЫБ

---

---

### 3.1. Цитоморфологические модификации первичных гоноцитов

У эмбрионов сиговых рыб первичные половые клетки в процессе миграции в область половых зачатков претерпевают определенные морфологические преобразования. У разных видов эти особенности ППК в той или иной степени различаются. Рассмотрим ранние этапы гаметогенеза у наиболее известного и многочисленного представителя сиговых рыб Сибири — п е л я д и . Ниже приводим описание последовательных стадий формирования фонда первичных гоноцитов у эмбрионов озерной пеляди, интродуцированной в водоёмы Южного Урала (Челябинская область, Аракульский рыбоводный завод).

Как и у остальных костистых, яйцеклетки сиговых рыб относятся к полилецитальному типу с дискоидальным дроблением. У эмбрионов пеляди борозда первого деления дробления формируется через 20–22 ч после оплодотворения, или по методике учета возраста зародыша (Детлаф, Детлаф, 1960) —  $2t$ , соответствующее продолжительности двух митотических циклов в период синхронных делений дробления [Ротт, 1987]. Через 6 сут после оплодотворения при среднесуточной температуре инкубации в этот период  $+1,2$  °С эмбрионы находились на стадии асинхронных делений дробления.

К 26 сут, на 15 стадии, перед закрытием «желточной пробки», у эмбриона отмечается от 6 до 8 дифференцирующихся сомитов. Эпиболия завершается, нервная пластинка, хорда, мезодермальные тяжи и энтодермальный пласт к этому моменту уже оказываются сформированными. Начинают формироваться зачатки глазных пузырей, однако отделы головного мозга ещё не дифференцированы.

На данной стадии развития у эмбрионов пеляди выявляются первичные гоноциты, которые располагаются среди клеток формирующихся спланхнотомов. Незначительное их количество, в среднем на один эмбрион приходилось 0,4 ППК (табл. 1 Приложения), объясняется трудностью их идентификации в массе недифференцированных клеток мезодермы, с которыми они обладают большим сходством.

На 34 сут эмбрионального развития продолжается формирование глазных бокалов. Нервная пластинка преобразована в нервный тяж, начинается становление отделов головного мозга. Клетки хорды вакуолизованы. Продолжается дифференциация миотомов, а внутри спланхнотомов появляются щелевидные полости. В процессе морфологических трансформаций зародыша несколько возрастает число первичных гоноцитов и изменяется их расположение: большая часть ППК выявляется среди клеток спланхнотомов, но каждый пятый гоноцит уже локализовался на перибласте, вблизи формирующихся нефротомов (табл. 1 Приложения).

На 60 сут эмбриогенеза зародыш охватывает до  $3/4$  желточного мешка, начинается пигментация глазных бокалов, дифференцируется головной мозг. Под хордой в сформированной спинной аорте присутствуют многочисленные гемоцитоблас-

ты — гемопоэтические стволовые клетки. Миграция первичных гоноцитов продолжается. На данной стадии только незначительная часть ППК ещё располагается среди клеток спланхнотомов (8,3 %), тогда как большее их количество концентрируется в области перибласта (75 %), а некоторые отмечаются под Вольфовыми протоками (16,7 %). Количество первичных гоноцитов также несколько возрастает (см. табл. 1 Приложения).

На 85 сут у эмбрионов глаза интенсивно пигментированы и сформирована плавниковая кайма. Продолжается формирование отделов головного мозга, дальнейшее усложнение среднего мозга и мозжечка. Клетки хорды полностью вакуолизованы и ядра в них почти не отмечаются. ППК локализовались отдельными группами в области спланхноплевры (68,7 %), а каждый третий уже достигал половых складок (табл. 1 Приложения). Некоторые первичные гоноциты в этой области полиморфноядерны.

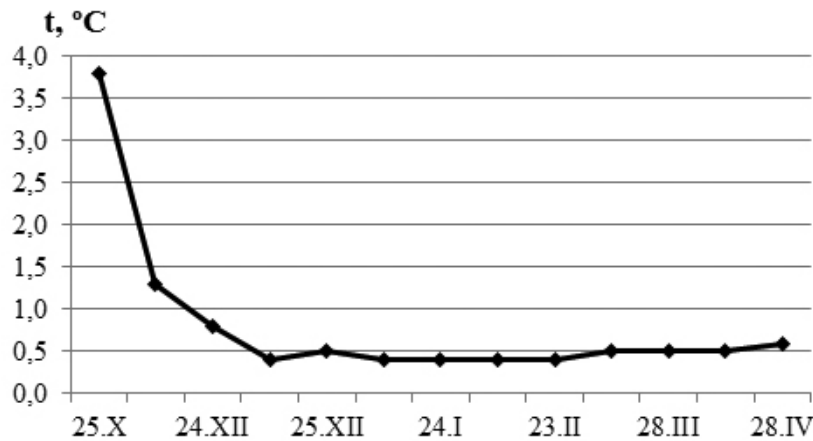
К 118 сут объём желточного мешка у зародышей пеляди сокращается, продолжается пигментация тела, увеличиваются жаберные крышки и развивается челюстной аппарат. В еще большей степени возрастают размеры мозжечка, хорошо развиты отделы сердца. Усложняется морфология желудочно-кишечного тракта: во всех отделах кишечника хорошо развита полость, возрастает складчатость слизистой, формируется печень. Количество ППК увеличивается, но большая часть этих клеток (37,5 %) отмечается под Вольфовыми протоками, в области герминативных валиков локализуется 34,4 % первичных гоноцитов.

Таким образом, если у 26-суточных (16,2 градусо-дней) зародышей пеляди первичные половые клетки обнаруживаются по характерным морфологическим признакам на начальной стадии сомитогенеза среди клеток спланхнотомов, то по мере дальнейшего развития эмбрионов локализация ППК изменяется. Уже в 34 сут часть первичных гоноцитов располагается в области перибласта, а на стадии пигментации глазных бокалов некоторое их количество мигрирует под Вольфовы протоки. В области половых складок первые ППК появляются в 85 сут. В течение эмбриогенеза отмечается постепенное увеличение числа первичных половых клеток, как представляется, не вследствие типичного митотического деления, поскольку картин митозов не было выявлено, а по причине более отчетливого их распознавания среди дифференцирующихся соматических клеток и, вероятно, описанной выше пролиферации по типу полиплоидизирующего митоза.

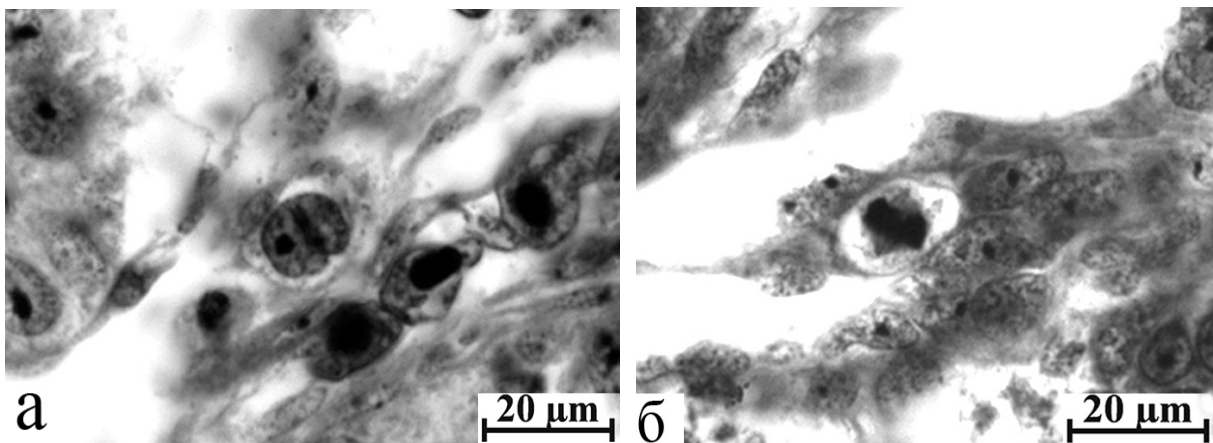
В целом, общее количество ППК у эмбрионов в условиях Аракульского рыбозаводского завода даже на этапе вылупления было незначительным по сравнению с их числом у пеляди в естественном ареале. По-видимому, это обусловлено длительной практикой близкородственных скрещиваний при искусственном разведении, т.к. установлено [Андряшева, Черняева, 1985], что у пеляди уже первого поколения инбридинга существенно снижается онтогенетический гомеостазис, что в нашем исследовании могло привести к угнетению генеративной функции, проявлявшейся в сокращении количества ППК.

В дальнейшем анализ цитоморфологических особенностей первичных гоноцитов у эмбрионов сиговых рыб из естественного ареала проводили на материале, полученном на Абалакском рыбозаводе (г. Тобольск), куда на стадии бластуляции эмбрионы были доставлены с мест сбора икры на севере Тюменской области (р. Северная Сосьва и р. Обь). Термальный режим в инкубационном цехе также соответствовал динамике температуры воды в природных условиях естественного ареала сиговых рыб (рис. 3).

П е л я д ь . Через 72 сут после оплодотворения, к началу пигментации глаз, первичные гоноциты локализовались в зоне половых зачатков. ППК были неровной, лопастевидной формы, отмечались и полиморфноядерные клетки (рис. 4 а); изредка встречались синцитиальные структуры, количество ядрышек варьировало от 1 до 4. Спустя 10 сут размеры клеток и ядер практически не изменялись (табл. 2



**Рис. 3.** Температурный режим в Тобольском инкубационном цехе в осенне-зимний период (по шкале абсцисс – дни и месяцы года)



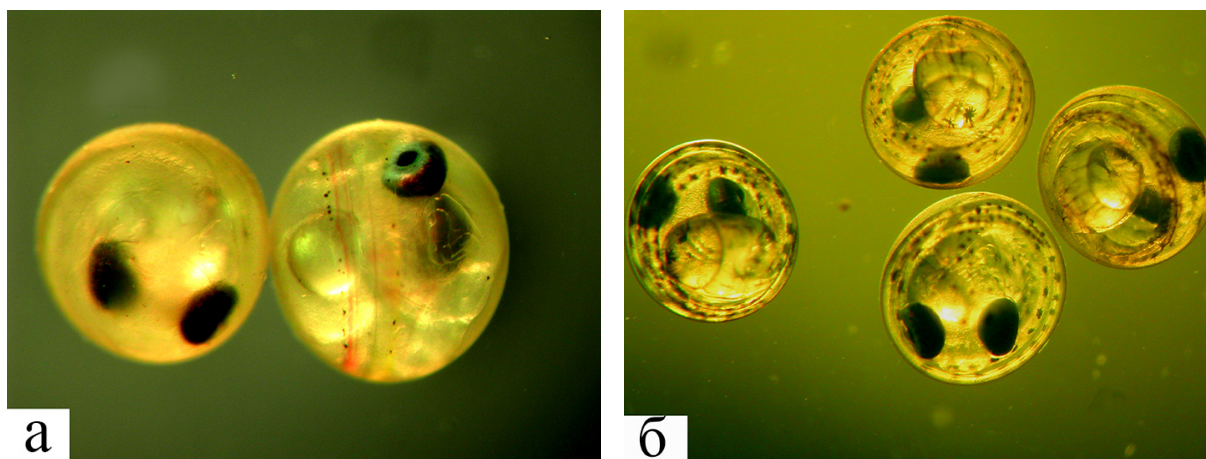
**Рис. 4.** Первичные половые клетки у зародышей пеляди на 72 сут после оплодотворения: а – полиморфноядерная ППК; б – митоз ППК

Приложения), доля гонцитов с полиморфными ядрами возрастала, митозы появлялись редко и синцитии почти не выявлялись (табл. 3 Приложения).

На 97 сут зародышевого развития число ППК увеличивалось, они становились более округлыми и крупными, с 1–3 ядрышками в ядре. Доля первичных гонцитов в составе синцитиев снижалась незначительно, а у половины исследованных эмбрионов отмечали по одному митозу ППК (рис. 4 б). У зародышей в 113 сут (рис. 5 а) количество первичных гонцитов сокращалось, то же было отмечено и для полиморфноядерных клеток, но увеличивалась доля синцитиальных структур. В 128 сут вновь отмечено возрастание числа ППК и снижение доли полиморфноядерных клеток (табл. 3 Приложения).

В половых зачатках встречались синцитиальные образования и единичные митозы. При вылуплении у предличинок несколько сокращалось общее количество первичных гонцитов, но возрастало число полиморфноядерных ППК и синцитиев при полном отсутствии митозов (табл. 3 Приложения). При этом размеры гонцитов значительно увеличивались, что соответственно сопровождалось снижением ядерно-цитоплазматического отношения (табл. 2 Приложения).

Таким образом, у зародышей пеляди с начала пигментации глаз число ППК варьировало, оставаясь почти на одном уровне до вылупления. Соответственно, достигающее 30 % и более число полиморфноядерных клеток к концу эмбриогенеза



**Рис. 5.** Пелядь и пыжьян на завершающих этапах эмбриогенеза:  
 а – эмбрионы пеляди в начале этапа формирования сети кровеносных  
 сосудов желточного мешка; 113 сут Увел.: 14<sup>х</sup>  
 б – эмбрионы пыжьяна на этапе пигментации тела; 141 сут Увел.: 10<sup>х</sup>

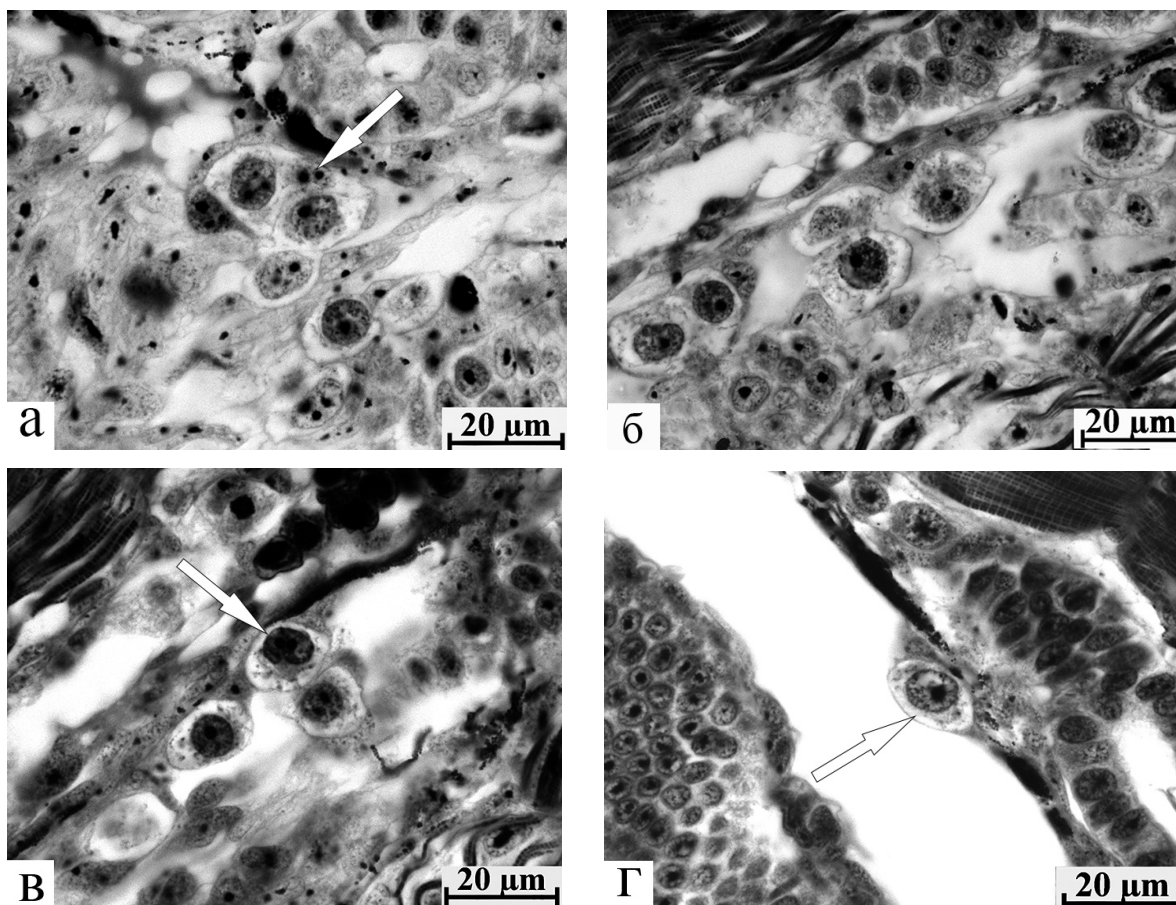
уменьшалось; при этом возрастала доля синцитиев, находившихся в обратном соотношении с числом митозов, несколько сокращалось количество ядрышек.

Резюмируя вышеизложенное, отметим, что при сравнительно невысоком числе первичных гоноцитов у пеляди во вторую половину эмбриогенеза, их цитоморфологические показатели характеризуются слабо выраженными изменениями в динамике количества, полиморфноядерности и числе клеток в составе синцитиальных образований.

Т у г у н. Этот вид отличается наиболее продолжительным периодом эмбрионального развития. Наше исследование было начато в 130 сут после оплодотворения, когда 23,1 % ППК находились в составе синцитиев (табл. 4 Приложения), а в их цитоплазме наблюдались оптически плотные скопления. Митозы ППК на этой стадии не обнаруживались. На 141 сут значительно возросло количество первичных гоноцитов, почти половина которых (42, 2 %) находилась в составе синцитиальных структур (рис. 6 а). Встречались многоядерные, пролиферирующие (рис. 6 б) и полиморфноядерные ППК (рис. 6 в), редкие митозы. К 155 сут количество половых клеток сокращалось, уменьшалось число синцитиев, но возрастала доля одиночных и полиморфноядерных гоноцитов (табл. 4 Приложения), т.е. просматривается обратная зависимость между этими состояниями. Общее количество ППК и первичных гоноцитов в составе синцитиев у эмбрионов тугуна спустя 171 сут после оплодотворения продолжало снижаться (табл. 4 Приложения).

Незадолго до вылупления у зародышей в 186 сут количество первичных гоноцитов сокращалось до наименьшей за анализируемый период величины. Доля одиночных ППК возрастала (табл. 4 Приложения), но почти не встречались полиморфноядерные и двухъядерные клетки. Первичные гоноциты были округлой формы, 1–2 крупных ядрышка располагались в центре ядра (табл. 2 Приложения, рис. 6 г). На этапе вылупления количество ППК достоверно ( $p < 0,001$ ) возрастало и значительно повышалось их число в синцитиях (табл. 4 Приложения), а доля многоядерных клеток была наибольшей за весь учитываемый период; митозы не выявлялись совсем. Возрастают размеры половых клеток, которые к концу эмбриогенеза у отдельных экземпляров достигали 28  $\mu\text{m}$  и одновременно снижалось ядерно-цитоплазматическое отношение (табл. 2 Приложения).

Как можно видеть, в течение рассматриваемого периода динамика количества и цитоморфологических показателей первичных гоноцитов у эмбрионов тугуна проявлялась в большем их числе и варьировании, чем у пеляди, в появлении



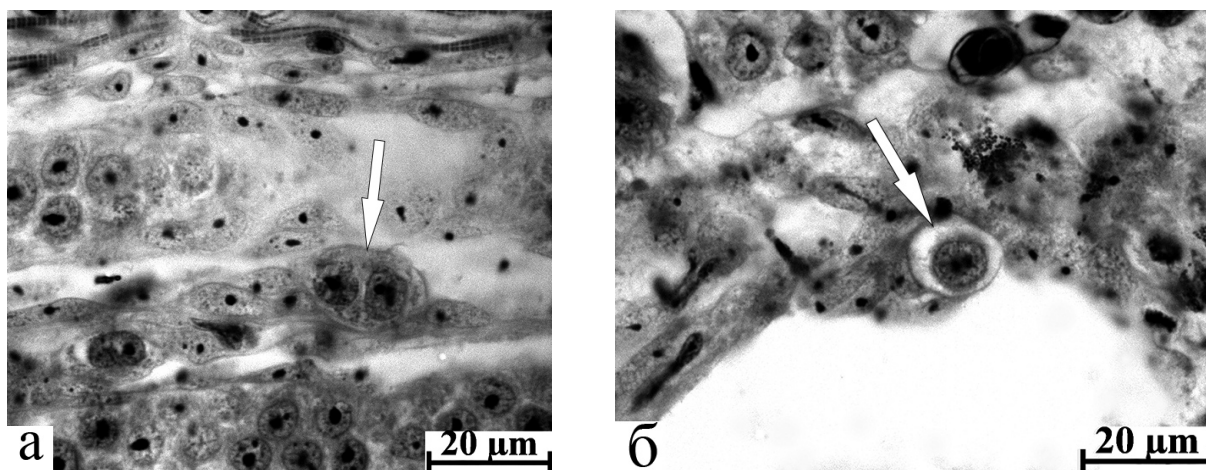
**Рис. 6.** Первичные половые клетки у зародышей тугуна:  
*а* – ППК в составе синцития (стрелка); 141 сут после оплодотворения;  
*б* – многоядерная ППК и фрагментирующийся синцитий ППК; 141 сут;  
*в* – полиморфноядерная ППК (стрелка); 141 сут;  
*г* – одиночнолежащая ППК (стрелка) с одним крупным ядрышком; 186 сут

многочисленных синцитиальных образований. Количество одиночных клеток значительно возросло к концу эмбриогенеза, тогда как доля полиморфноядерных ППК и гоноцитов в составе синцитиев характеризовались обратной зависимостью. На этапе вылупления вновь повышалась доля клеток в синцитиальных комплексах.

Таким образом, у сигов-планктофагов, к которым можно отнести пелядь и тугуна, с начала пигментации глаз до вылупления формирование линии половых клеток существенно различается. Эти различия касаются количественной динамики ППК, их цитоморфологии, межклеточных взаимосвязей и характера пролиферативной активности. У тугуна количество первичных гоноцитов, полиморфноядерных, многоядерных ППК и клеток в составе герминативных синцитиев намного превышает эти показатели у пеляди. Такая особенность гаметогенеза является видоспецифической и, очевидно, отражает форсированный характер в развитии репродуктивной системы у этого короткоциклового вида.

Далее проследим начальные этапы формирования фонда первичных гоноцитов у сигов-бентофагов — пыжьяна, муксуна и чира — и сопоставим с полученными данными у пеляди и тугуна.

**Пыжьян.** У зародышей этого вида в 115 сут после оплодотворения первичные гоноциты локализовались в области половых валиков. Одиночные ППК имели овальную форму с неровными краями; хроматин был распределен по всему объему



**Рис. 7.** Первичные половые клетки у зародышей пыжьяна:  
*а* – двухъядерная ППК (стрелка); 115 сут после оплодотворения;  
*б* – одиночнолежащая ППК с двумя ядрышками (стрелка); 142 сут

ядра, в котором отмечали от 1 до 4 ядрышек (табл. 5 Приложения). Встречались также двухъядерные (рис. 7 а), множество полиморфноядерных ППК и фрагментирующиеся синцитии (табл. 6 Приложения).

К 126 сут общее число полиморфноядерных и в составе синцитиальных образований ППК снижалось, появлялись двухъядерные первичные гоноциты. В 142 сут у зародышей на этапе пигментации тела (рис. 5 б) число ППК незначительно увеличивалось, возрастали размеры клеток и ядер (табл. 6 Приложения). В ядре обычно встречались 2 ядрышка (рис. 7 б), реже — 1 или 3. Сокращалась доля полиморфноядерных клеток, но повышалось их число в составе синцитиев (табл. 6 Приложения). Спустя 158 сут после оплодотворения вновь отмечали снижение количества ППК; их размеры также уменьшались при соответственно возросшем ядерно-цитоплазматическом соотношении. В ядре 2-3 ядрышка, реже 1 или 4. Сокращалось количество полиморфноядерных ППК и их доля в синцитиях (табл. 6 Приложения). Митозы встречались крайне редко.

Незадолго до вылупления, в 172 сут, было отмечено очередное повышение количества ППК; в ядре чаще встречалось 2 ядрышка, реже 1 или 3 (табл. 5 Приложения). Возрастала доля полиморфноядерных ППК при полном отсутствии многоядерных клеток и митозов.

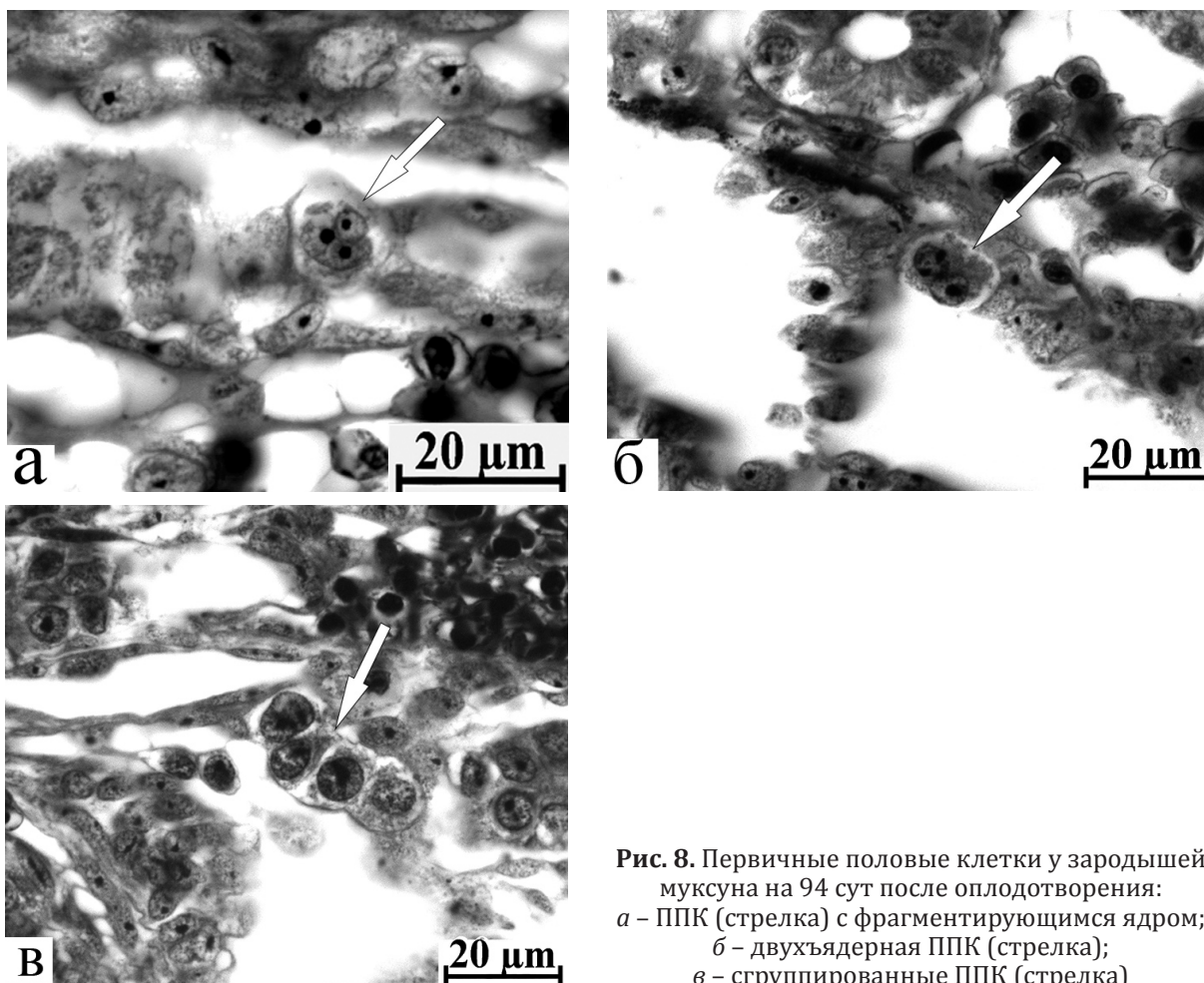
На этапе вылупления (181 сут) появлялись двухъядерные первичные гоноциты, доля ППК в составе синцитиев оставалась прежней. Размеры самих клеток и их ядер возрастали, но при этом ядерно-цитоплазматическое соотношение было смещено в направлении цитоплазмы (табл. 5 Приложения).

Таким образом, у эмбрионов пыжьяна в течение исследуемого периода при сравнительно невысокой варибельности числа первичных гоноцитов полиморфноядерные ППК встречаются постоянно, как и половые клетки в составе герминативных синцитиев, а митозы редки.

Следует заметить, что для зародышей пыжьяна, начиная со стадии пигментации глаз, характерно низкое количество ППК, значительно варьирующие у разных особей соотношение одиночных клеток и синцитиальных образований, а при завершении эмбрионального периода — снижающиеся полиморфноядерность и митотическая активность.

**М у к с у н.** У зародышей муксуна через 96 сут после оплодотворения ППК находились в области половых валиков. Часть половых клеток имела полиморфные ядра, также отмечались многоядерные ППК (рис. 8 а, б) и сгруппированные в синцитиальные комплексы (рис. 8 в). Цитоплазма первичных гоноцитов на данной

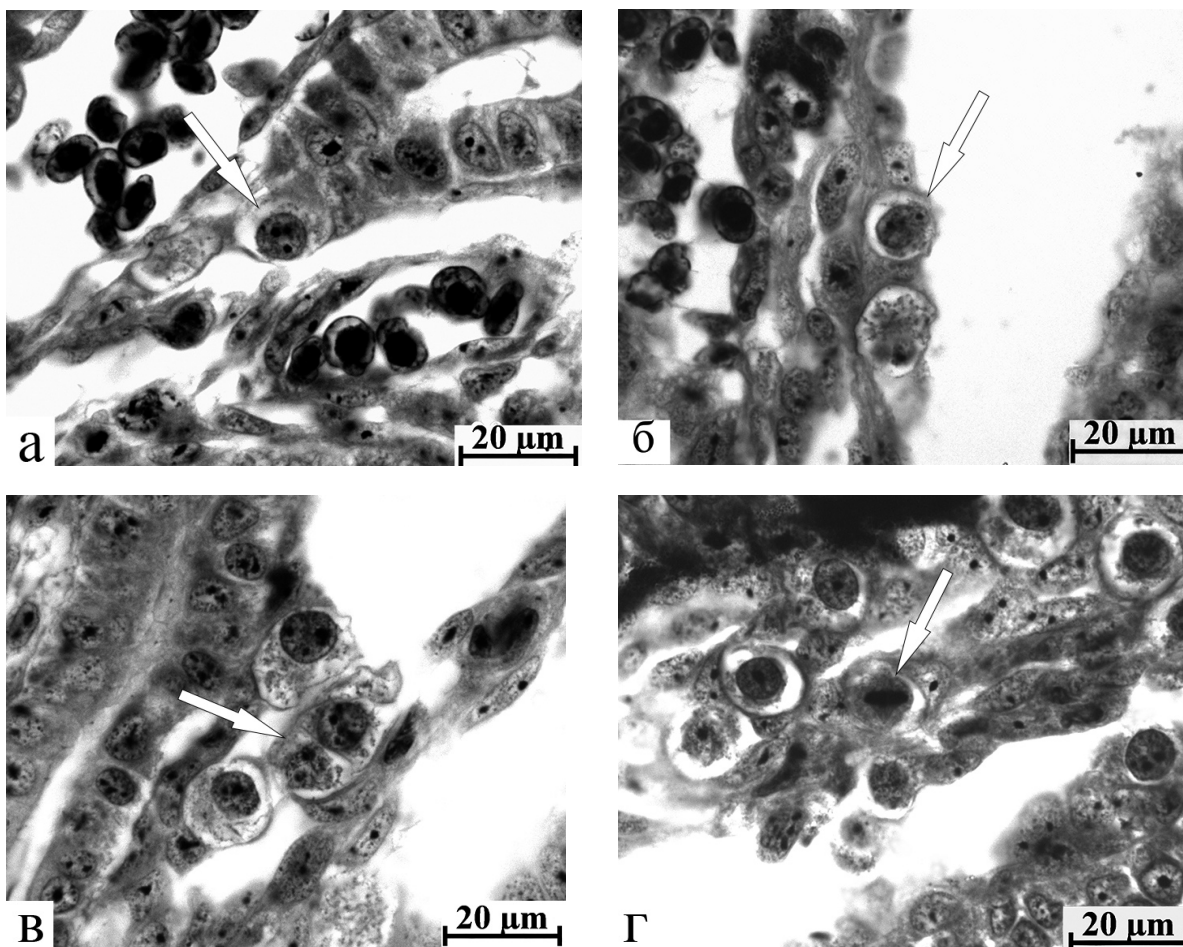




**Рис. 8.** Первичные половые клетки у зародышей муксуна на 94 сут после оплодотворения:  
*а* – ППК (стрелка) с фрагментирующимся ядром;  
*б* – двухъядерная ППК (стрелка);  
*в* – сгруппированные ППК (стрелка)

стадии имела низкую оптическую плотность, а количество ядрышек в их ядрах не превышало 2-3 (табл. № 5 Приложения). Через десять суток количество ППК увеличивалось с одновременным снижением доли клеток с полиморфными ядрами, хотя степень полиморфии ядер возрастала. Уменьшались размеры клеток и отмечались митозы (табл. 5, 7 Приложения). В 120 сут после оплодотворения вновь было отмечено повышение количества и размеров ППК, возрастание размеров ядер и сокращение доли полиморфноядерных клеток. Число половых клеток на 136 сут еще более возрастало, а доля полиморфноядерных ППК продолжало снижаться. Через 151 сут после оплодотворения процесс сокращения количества первичных гонцитов продолжался и одновременно возрастала доля одиночных клеток (табл. 7 Приложения). У предличинок на этапе вылупления установлено максимальное число ППК и значительное их количество в составе синцитиальных образований; возрастало число полиморфноядерных клеток, появлялись митозы. Размеры первичных гонцитов и их ядер к моменту вылупления увеличивались при неизменном ядерно-цитоплазматическом соотношении (табл. 5 Приложения).

Таким образом, у эмбрионов муксуна в процессе миграции в зачатки гонад первичные половые клетки претерпевают морфологические изменения, которые проявляются в периодически изменяющейся полиморфноядерности и сгруппированности в синцитиальные образования; встречающиеся при этом митозы очень редки. Первичные гонциты характеризуются повышенной количественной и морфологической вариабельностью с тенденцией возрастания их числа к этапу вылупления.



**Рис. 9.** Первичные половые клетки у зародышей чира:  
*а* – ППК с тремя ядрышками (стрелка); 102 сут после оплодотворения;  
*б* – полиморфноядерная ППК (стрелка); 102 сут после оплодотворения;  
*в* – распадающийся синцитиальный комплекс (стрелка); 113 сут после оплодотворения;  
*г* – митоз первичной половой клетки (стрелка); 113 сут после оплодотворения

Чир. Первичные гоноциты у эмбрионов чира на 102 сут после оплодотворения находились под Вольфовыми протоками. Их цитоплазма имела низкую оптическую плотность, в больших пузырьревидных ядрах число ядрышек варьировало от 1 до 4 (рис. 9 а). Присутствовали двухъядерные и полиморфноядерные ППК (рис.9 б), а также клетки в составе синцитиальных образований; ни у одного из проанализированных эмбрионов не было выявлено митотически делящейся ППК (табл. 8 Приложения). У зародышей в 113 сут по-прежнему отмечали полиморфноядерные, двухъядерные, фрагментирующиеся (рис. 9 в) и одиночные первичные гоноциты; встречались митозы (рис. 9 г), доля которых повышается к 128 сут при снижении общего числа ППК. Однако уже к 143 сут было отмечено возрастание числа ППК, увеличение доли полиморфноядерных клеток и первичных гоноцитов в составе синцитиев (табл. 8 Приложения); количество ядрышек составляло 1–5, изредка достигая 6 (табл. 5 Приложения). Продолжалось увеличение числа митозов. В 157 сут, на завершающих стадиях эмбрионального периода, снизившееся количество половых клеток совпадает со сходной динамикой полиморфноядерных ППК, снижалось и число гоноцитов в составе синцитиев (табл. 8 Приложения). В 164 сут после оплодотворения начинается вылупление предличинок. В этот период у них несколько возрастало количество ППК, хотя число полиморфноядерных первичных гоноцитов и клеток в составе синцитиальных образований не изменялось, митозы не выявлялись (табл. 8 Приложения). За вто-

рую половину эмбриогенеза значимых изменений в количестве и цитометрических показателях ППК у чира не было установлено (табл. 5 Приложения).

Таким образом, в эмбриогенезе чира при широком разбросе числа первичных гоноцитов (от 1 до 86) отмечается низкое варьирование их среднего значения. К концу эмбрионального периода снижаются число полиморфноядерных ППК и их доля в составе синцитиев, тогда как количество одиночных клеток возрастает.

### 3.2. Оценка межвидовых отношений сиговых рыб по цитометрическим показателям ППК в эмбриональный период

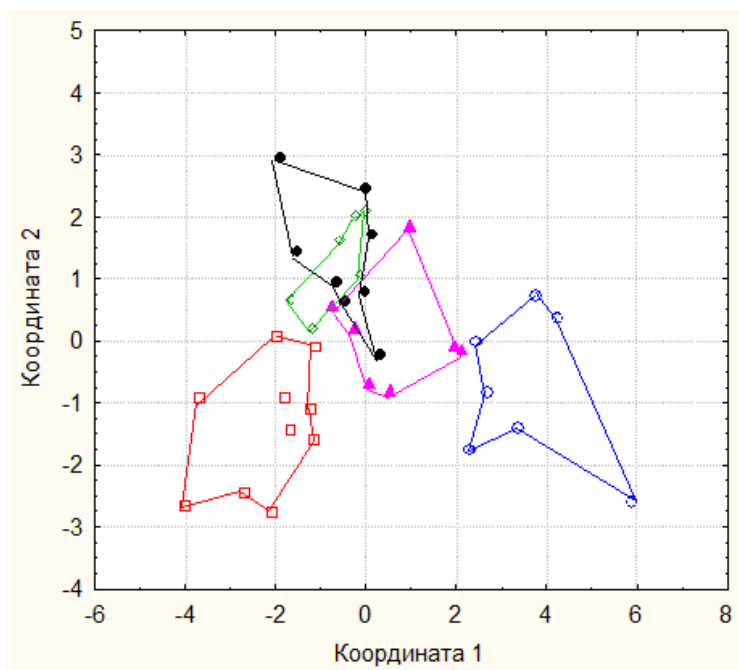
Рассмотрим межвидовые отношения типичных для Обь-Иртышского бассейна сиговых рыб с использованием методов многомерной статистики (дискриминантный и кластерный анализы) основных цитометрических показателей первичных гоноцитов эмбрионов в начальный период формирования репродуктивной системы [Ефремова, 2013].

Рассмотрим результаты дискриминантного анализа, проведенного по 5 цитометрическим показателям с учетом всех переменных (табл. 1).

**Таблица 1.** Общая оценка качества дискриминантного анализа для пяти видов сиговых рыб по 5 цитометрическим показателям. Критерий  $\lambda$  Уилкса: 0,03768; F-критерий: (20,97) = 8,1945;  $p < 0,00001$

При- знак	Критерий					
	$\lambda$ Уилкса	Частная $\lambda$ Уилкса	F-критерий	Уровень значимости (p)	Ценность переменной	Коэффициент детерминации
<i>Dc</i>	0,042407	0,888575	0,90913	0,471679	0,734818	0,265182
<i>Dn</i>	0,091403	0,412257	10,33612	0,000025	0,635694	0,364306
<i>Nnl</i>	0,097050	0,388268	11,42266	0,000011	0,921790	0,078210
<i>Nc</i>	0,069505	0,542142	6,12288	0,001066	0,597663	0,402337
<i>Ncs</i>	0,057402	0,656448	3,79428	0,013373	0,654830	0,345170

Поскольку  $\lambda$  Уилкса принимает значения от 0 (идеальное разделение) до 1 (разделение отсутствует), а частная  $\lambda$  Уилкса связана с единичным вкладом переменной в разделительную силу модели [Боровиков, 2003], ведущее значение в разделении видов имеет количество ядрышек в первичных гоноцитах (*Nnl*). Второе по значению вклада место принадлежит диаметру ядра (*Dn*), третье — числу одиночно лежащих ППК (*Nc*); последующие по значимости в разделении видов показатели: количество ППК в синцитиях (*Ncs*) и диаметр первичных гоноцитов (*Dc*). Анализируя линейный коэффициент детерминации, можно отметить слабую связь между видами в эмбриональный период (табл. 1). Все исследуемые переменные обладают низкой избыточностью, но наименьшей — число ядрышек, что свидетельствует о независимости данного показателя от всех остальных. Можно видеть (рис. 10), что по первой дискриминантной функции (координата 1) все виды подразделяются на 3 группы: в первую входит муксун, который отчетливо обособлен от других видов, во вторую — пыжьян, пелядь и тугун, в третьей находится чир. По второй дискриминантной функции (координата 2) дискриминация между группами выражена слабее. Пыжьян как по первой, так и по второй координатам занимает промежуточное положение, а такие виды как тугун и пелядь слабо различаются по обеим дискриминантным функциям. В данном случае квадрат дистанции Махаланобиса позволяет ранжировать виды по расстоянию между ними в следующем порядке: пелядь → тугун → пыжьян → чир → муксун (табл. 2).



**Рис. 10.** Положение классов эмбрионов сиговых рыб в координатах полного дискриминантного анализа:  
 ◦ *Coregonus muksun* ◻ *Coregonus nasus*  
 ▲ *Coregonus lavaretus pidschian*  
 ◊ *Coregonus peled* • *Coregonus tugun*

**Таблица 2.** Оценка расстояний между классами (виды сиговых рыб) в полном дискриминантном анализе

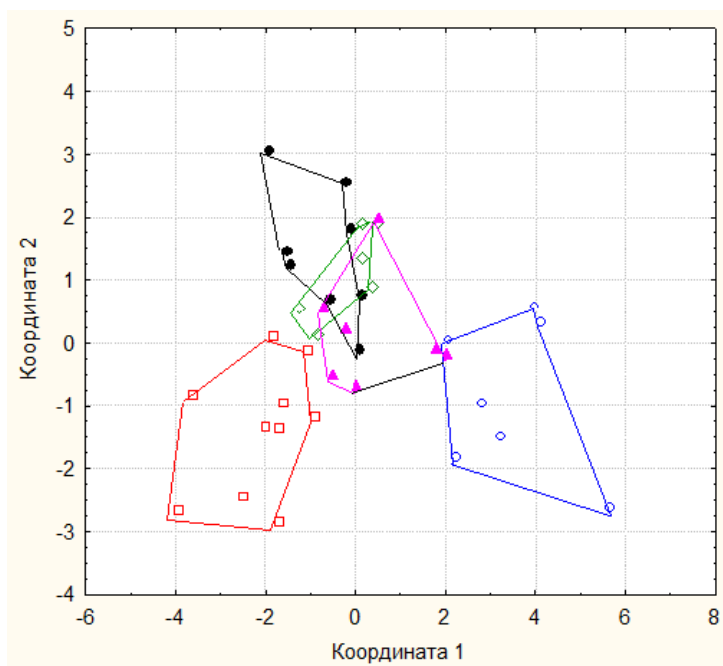
Классы	<i>C. peled</i>	<i>C. muksun</i>	<i>C. l. pidschian</i>	<i>C. tugun</i>	<i>C. nasus</i>
<i>C. peled</i>		13,1	5,3	4,3	7,9
<i>C. muksun</i>	27,4		6,4	14,8	23,8
<i>C. l. pidschian</i>	11,0	12,2		2,3	8,2
<i>C. tugun</i>	8,4	26,0	4,1		8,9
<i>C. nasus</i>	14,0	37,6	12,9	12,8	

**Примечание:** над диагональю значения F-критерия при различении классов, под диагональю — квадрат дистанции Махаланобиса.

Если брать за точку отсчета параметры ППК муксуна, то этот вид наиболее близок к пыжьяну, далее следует тугун, а чир и пелядь отстоят на максимальной дистанции. Расстояние по данным параметрам первичных гоноцитов между тугуном и пыжьяном наименьшее. Если из суммы признаков вычленить количество ППК в синцитиальных комплексах (рис. 11), по которым, как показано ранее, виды существенно разделяются, то в целом взаиморасположение эмбриона каждого вида на диаграмме практически не изменяется. Это свидетельствует о низкой значимости данного показателя в период эмбриогенеза.

Проведенный анализ коэффициента детерминации показал столь же низкий уровень (табл. 3), как и с включением в переменные количества ППК в составе синцитиев; наибольшим весом и в этом варианте отличалось число ядрышек (*Nnl*), распределение видов также не изменяется: пелядь→тугун→пыжьян→чир→муксун (табл. 4).

Для выяснения степени значимости для разделения видов такого параметра как количество ядрышек в первичных гоноцитах, данный показатель был выведен из суммы признаков, после чего наиболее весомым параметром стал размер ядра ППК (табл. 5). В результате муксун оказался еще более обособленным от остальных сиговых (рис. 12), тогда как бентофаг чир «объединился» с планктофагом-тугуном, поменявшись местами с планктофагом-пелядью.



**Рис. 11.** Положение классов эмбрионов сиговых рыб в координатах полного дискриминантного анализа (без учета синцитиев):  
 ○ *Coregonus muksun* □ *Coregonus nasus* ▲ *Coregonus lavaretus pidschian*  
 ◇ *Coregonus peled* • *Coregonus tugun*

**Таблица 3.** Общая оценка качества дискриминантного анализа для пяти видов сиговых рыб по 4 цитометрическим показателям.  
 Критерий  $\lambda$  Уилкса: 0,05740; F-критерий: (16,92) = 8,9302;  $p < 0,00001$

Признак	Критерий					
	$\lambda$ Уилкса	Частная $\lambda$ Уилкса	F-критерий	Уровень значимости (p)	Ценность переменной	Коэффициент детерминации
<i>Dc</i>	0,064470	0,890366	0,92350	0,463313	0,736642	0,263358
<i>Dn</i>	0,126036	0,455441	8,96755	0,000069	0,709394	0,290606
<i>Nnl</i>	0,147985	0,387891	11,83534	0,000007	0,932989	0,067011
<i>Nc</i>	0,079257	0,724250	2,85554	0,040642	0,883533	0,116467

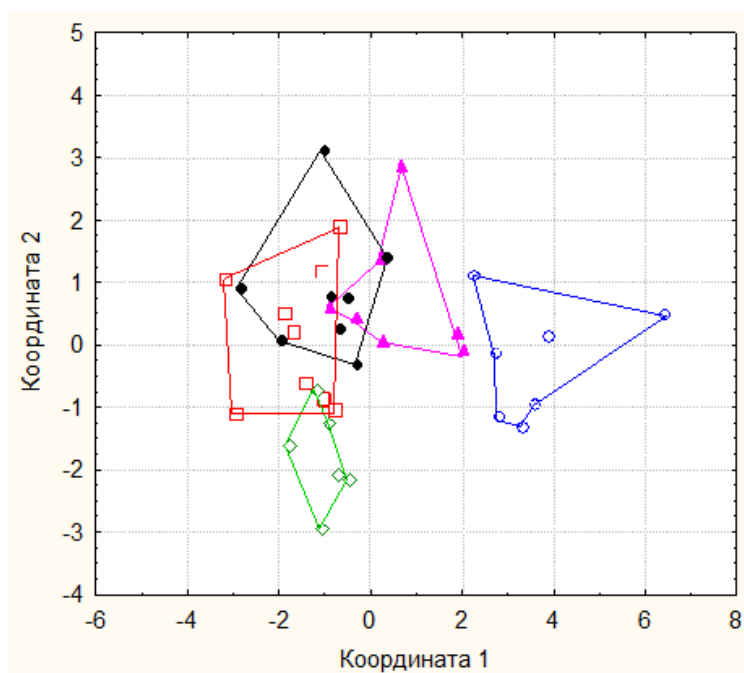
**Таблица 4.** Оценка расстояний между классами (эмбрионы сиговых рыб) в полном дискриминантном анализе

Классы	<i>C. peled</i>	<i>C. muksun</i>	<i>C. l. pidschian</i>	<i>C. tugun</i>	<i>C. nasus</i>
<i>C. peled</i>	-	12,9	2,6	2,6	9,4
<i>C. muksun</i>	20,8	-	8,3	18,9	29,0
<i>C. l. pidschian</i>	4,2	12,2	-	2,8	8,7
<i>C. tugun</i>	3,9	25,8	3,8	-	10,5
<i>C. nasus</i>	12,8	35,4	10,6	11,7	-

Для выяснения степени значимости для разделения видов такого параметра как количество ядрышек в первичных гоноцитах, данный показатель был выведен из суммы признаков, после чего наиболее весомым параметром стал размер ядра ППК (табл. 5). В результате муксун оказался еще более обособленным от остальных сиговых (рис. 12), тогда как бентофаг чир «объединился» с планктофагом-тугуном, поменявшись местами с планктофагом-пелядью.

**Таблица 5.** Общая оценка качества дискриминантного анализа по цитометрическим показателям ППК (с исключением ядрышек) у эмбрионов сиговых рыб.  
Критерий  $\lambda$  Уилкса: 0,09705 approx.  $F(16,92) = 6,6089$ ;  $p < 0,00001$

Признак	Критерий					
	$\lambda$ Уилкса	Частная $\lambda$ Уилкса	F-критерий	Уровень значимости (p)	Ценность переменной	Коэффициент детерминации
<i>Dc</i>	0,108169	0,897208	0,85926	0,499521	0,744574	0,255427
<i>Dn</i>	0,239982	0,404406	11,04572	0,000013	0,635708	0,364292
<i>Nc</i>	0,172305	0,563247	5,81565	0,001376	0,632347	0,367653
<i>Ncs</i>	0,147985	0,655810	3,93623	0,011002	0,662785	0,337215



**Рис. 12.** Положение классов эмбрионов сиговых рыб в координатах полного дискриминантного

Использование квадрата дистанции Махаланобиса для ранжирования видов по расстоянию между ними (табл. 6) продемонстрировало неприемлемость с точки зрения современных представлений о филогении сиговых рыб [Решетников, 2010] полученной диспозиции (чир→тугун→пыжьян→пелядь→муksун).

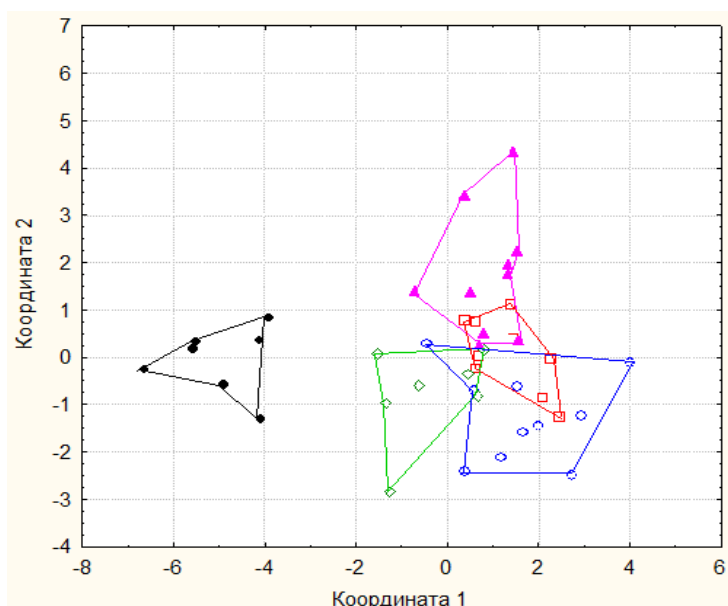
**Таблица 6.** Оценка расстояний между классами (видами сиговых рыб) в полном дискриминантном анализе

Классы	<i>C. peled</i>	<i>C. muksun</i>	<i>C. l. pidschian</i>	<i>C. tugun</i>	<i>C. nasus</i>
<i>C. peled</i>	-	16,8	6,6	5,5	3,1
<i>C. muksun</i>	27,1	-	8,3	18,7	25,1
<i>C. l. pidschian</i>	10,7	12,2	-	2,5	5,1
<i>C. tugun</i>	8,3	25,4	3,4	-	1,2
<i>C. nasus</i>	4,3	30,7	6,3	1,3	-

Приведённые результаты отчетливо показали необходимость учета при оценке межвидовых отношений по репродуктивным показателям такого параметра как количество ядрышек в первичных половых клетках.

Таким образом, можно считать, что именно *число ядрышек* первичных гоноцитов является наиболее значимым признаком для выявления межвидовых различий сиговых рыб в эмбриональный период. Принятая ранее рабочая гипотеза относительно важности при видовой характеристике *количества ППК в составе синцитиев*, достаточно отчетливо выделяющих первичные гоноциты некоторых видов и как-будто разделяющие их, не может иметь существенного значения и, очевиднее всего, отражают уровень активности специфической пролиферации, свойственной этим клеткам у всех эмбрионов.

*Дискриминантный анализ* с использованием цитометрических показателей ППК (рис. 13), проведенный на этапе *в ы л у п л е н и я*, продемонстрировал отчетливое разделение тугуна и остальных видов.



**Рис. 13.** Положение классов предличинок сиговых рыб на этапе вылупления в координатах полного дискриминантного анализа

Пелядь, муксун, чир и пыжьян на данном этапе концентрируются вблизи центра, изменяя при этом свое местоположение, по сравнению с периодом эмбриогенеза, что отражает изменение степени развития цитометрических параметров их ППК (табл. 2, 5 Приложения). Можно видеть, что предличинки пыжьяна по первой дискриминантой функции (координата 1) занимают в группе центральное положение, как и в эмбриональный период, тогда как по второй (координата 2) в центре локализуется чир. Различия между видами снижаются, и наибольший вклад в их разделение вносит диаметр ядра, за которым следует диаметр клетки, тогда как количество ядрышек смещено на третье место (табл. 7). На данном этапе раннего онтогенеза расстояние между отдельными видами и их ранжирование существенно отличается от эмбрионального периода.

**Таблица 7.** Общая оценка качества дискриминантного анализа по цитометрическим показателям ППК у сиговых рыб на этапе вылупления.  
Критерий  $\lambda$  Уилкса: 0,02653 approx. F (20,113) = 11,299; p < 0,00001

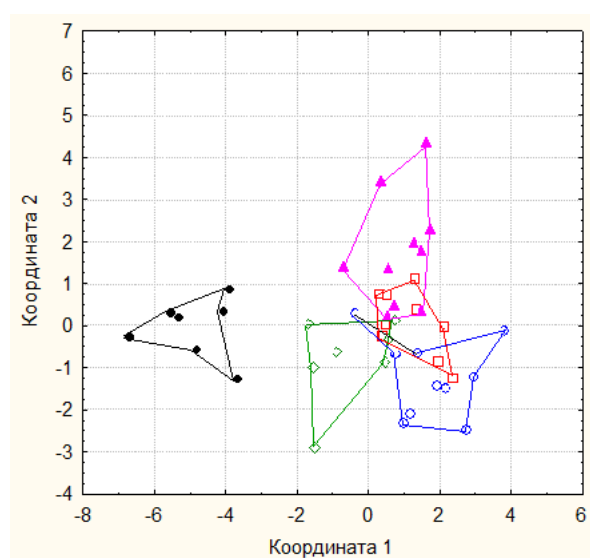
Признак	Критерий					
	$\lambda$ Уилкса	Частная $\lambda$ Уилкса	F-критерий	Уровень значимости (p)	Ценность переменной	Коэффициент детерминации
<i>Dc</i>	0,053854	0,492572	8,756357	0,000057	0,334707	0,665293
<i>Dn</i>	0,054196	0,489465	8,865903	0,000051	0,315474	0,684526
<i>Nnl</i>	0,047268	0,561202	6,646059	0,000460	0,903002	0,096998
<i>Nc</i>	0,034314	0,773077	2,495021	0,061125	0,672084	0,327916
<i>Ncs</i>	0,035710	0,742848	2,942445	0,034309	0,763542	0,236458

Квадрат дистанции Махаланобиса позволяет распределять виды по расстоянию друг от друга: чир→муксун→пыжьян→пелядь→тугун (табл. 8). Но если оценивать межвидовые связи, взяв за точку отсчета показатели ППК пеляди, то между этим видом и тугуном оказываются сиги бентофаги, что сомнительно в отношении их таксономического положения.

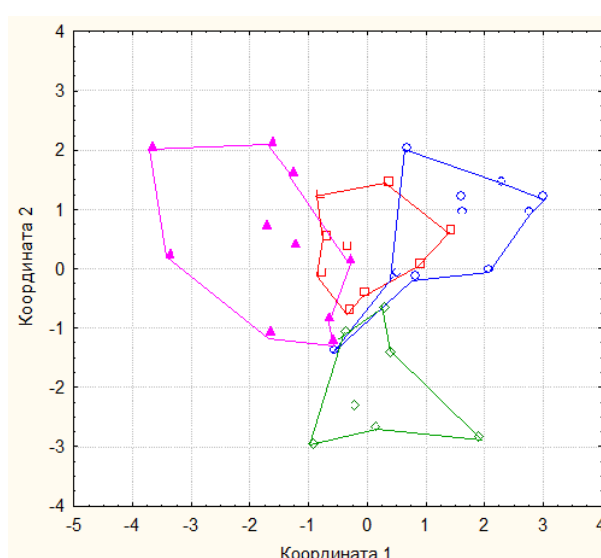
Проведенный дискриминантный анализ с выводом из состава переменных признака «число клеток в синцитиях», как можно видеть (рис. 14), и на этапе вылупления совершенно не изменил диспозиции.

**Таблица 8.** Оценка расстояний между классами в полном дискриминантном анализе у сиговых рыб на этапе вылупления

Классы	<i>C. peled</i>	<i>C. muksun</i>	<i>C. l. pidschian</i>	<i>C. tugun</i>	<i>C. nasus</i>
<i>C. peled</i>		6,4	7,4	15,1	5,5
<i>C. muksun</i>	9,9		9,1	33,5	4,8
<i>C. l. pidschian</i>	11,5	11,3		27,9	5,3
<i>C. tugun</i>	28,2	52,1	43,4		28,9
<i>C. nasus</i>	9,0	6,3	7,0	47,1	



**Рис. 14.** Положение классов сиговых рыб на этапе вылупления в координатах полного дискриминантного анализа (без учета синцитиев)

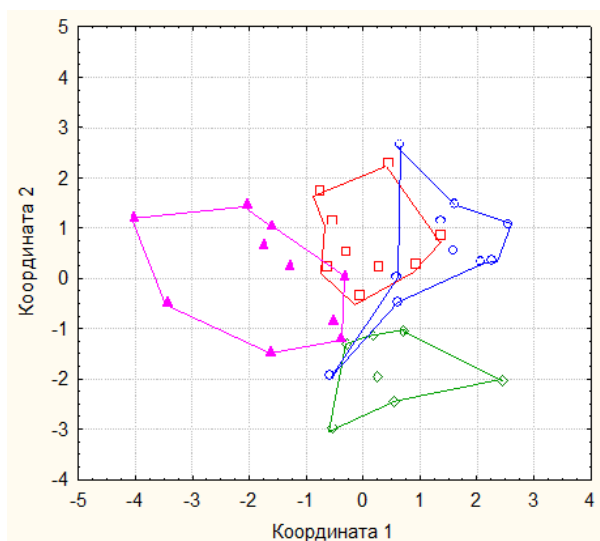


**Рис. 15.** Положение классов сиговых рыб на этапе вылупления в координатах полного дискриминантного анализа (исключая тугуна)

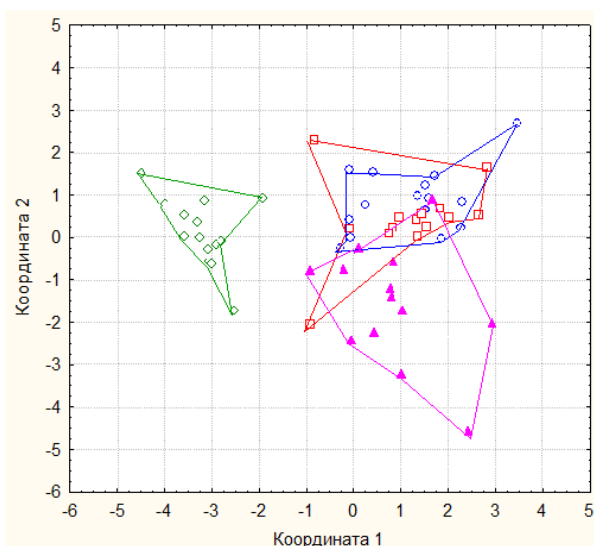
Однако после исключения тугуна, оставшиеся виды перераспределились: чир остается в центре как по 1, так и по 2 координатам, пелядь смещается к периферии, а пыжьян отличается широким разбросом вариантов (рис. 15). Исключение из анализа также числа синцитиев (рис. 16) не изменило расположения видов, что и в данном случае подтверждает отсутствие значимости этого показателя при оценке их таксономического положения.

Сопоставление полученного соотношения с результатами дискриминантного анализа (по данным 1987 г. с разницей в 4–5 поколений) показало значительное отделение с минимальным внутригрупповым разбросом сига-планктофага — пеляди, занявшего на диаграмме место тугуна, от муксуна, чира и пыжьяна (рис. 17), что может свидетельствовать об отчетливых внутривидовых различиях по цитометрическим параметрам ППК сиговых рыб.





**Рис. 16.** Положение классов сиговых рыб при вылуплении в координатах полного дискриминантного анализа (без учета тугуна и синцитиев)



**Рис. 17.** Положение классов сиговых рыб при вылуплении в координатах полного дискриминантного анализа (1987 г.)

Как и прежде, наибольший вклад в разделение видов вносит количество ядерышек ( $Nnl$ ), второе по значению место принадлежит диаметру клетки ( $Dc$ ), третье занимает диаметр ядра ( $Dn$ ) (табл. 9). Согласно квадрату дистанции Махаланобиса, пелядь отстоит от «ближайшего соседа» (пыжьяна, чира и муксуна) почти на равное расстояние (20,3–21,3), что кратно превышает расстояние между видами сигов бентофагов (0,8–6,6) (табл. 10).

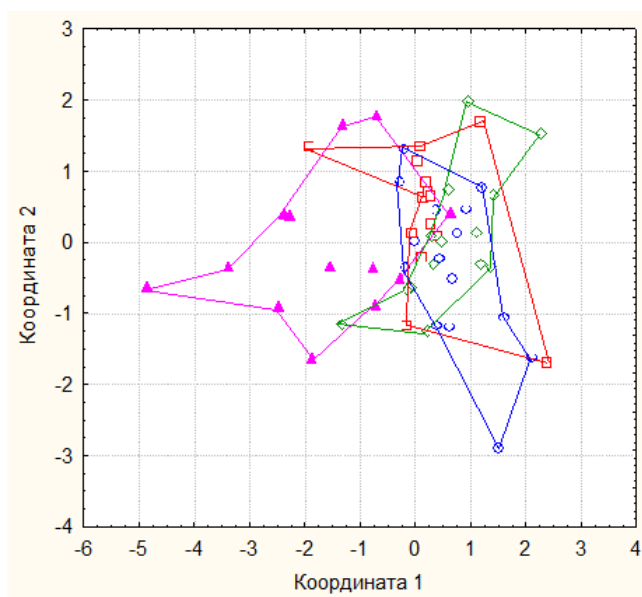
**Таблица 9.** Общая оценка качества дискриминантного анализа по цитометрическим показателям ППК у сиговых рыб на этапе вылупления (1987г.). Критерий  $\lambda$  Уилкса: 0,10583 approx.  $F(12,129) = 14,477$ ;  $p < 0,0000$

Признак	Критерий					
	$\lambda$ Уилкса	Частная $\lambda$ Уилкса	F-критерий	Уровень значимости (p)	Ценность переменной	Коэффициент детерминации
$Dc$	0,216315	0,489231	17,05241	0,000000	0,608215	0,391785
$Dn$	0,127668	0,828927	3,37085	0,025731	0,675072	0,324929
$Nnl$	0,465587	0,227300	55,52470	0,000000	0,897911	0,102089
$Nc$	0,117593	0,899954	1,81575	0,156581	0,915908	0,084092

**Таблица 10.** Оценка расстояний между видами в полном дискриминантном анализе сиговых рыб на этапе вылупления (1987г.)

Классы	<i>C. peled</i>	<i>C. muksun</i>	<i>C. l. pidschian</i>	<i>C. nasus</i>
<i>C. peled</i>		33,8	30,2	31,1
<i>C. muksun</i>	21,3		9,9	1,3
<i>C. l. pidschian</i>	20,5	6,6		6,7
<i>C. nasus</i>	20,3	0,8	4,6	

Исключение в этот период раннего онтогенеза из состава цитометрических показателей числа ядрышек в ППК продемонстрировало полное смешение видов (рис. 18), что лишь подтверждает важность этого параметра. Приведенные же табличные данные свидетельствуют о низких значениях оставшихся показателей для межвидовой дифференциации (табл. 11). При установлении соотношения между видами также можно видеть (табл. 12) неприемлемое, с позиций современной классификации [Решетников, 2010, 2013], межвидовое соотношение: наименьшее расстояние между пелядью и муксуном (0,3), пелядью и чиром (0,4), и наибольшее — между бентофагами пыжьяном и чиром (4,2), пыжьяном и муксуном (6,0).



**Рис. 18.** Положение классов сиговых рыб при вылуплении в координатах полного дискриминантного анализа (без учета ядрышек, 1987г.)

**Таблица 11.** Общая оценка качества дискриминантного анализа для четырех видов сиговых рыб по 3 цитометрическим показателям. Критерий  $\lambda$  Уилкса: 0,46559; F-критерий: (9,12) = 4,9958;  $p < 0,0000$

Признак	Критерий					
	$\lambda$ Уилкса	Частная $\lambda$ Уилкса	F-критерий	Уровень значимости (p)	Ценность переменной	Коэффициент детерминации
<i>Dc</i>	0,898093	0,518417	15,48250	0,000000	0,644819	0,355181
<i>Dn</i>	0,565685	0,823050	3,58323	0,020050	0,679093	0,320907
<i>Nc</i>	0,519951	0,895444	1,94608	0,134160	0,936226	0,063774

Таким образом, проведенный дискриминантный анализ позволил отчетливо разделить сиговых рыб *r.Coregonus* в эмбриональный период и выделить три параметра ППК, в значительной степени отражающих различия этих видов не только в период эмбриогенеза, но и на этапе вылупления: количество ядрышек, диаметр ядер и диаметр клеток. При этом наиболее значимым признаком в их разделении является число ядрышек.

Здесь можно задаться вопросом, почему именно количество ядрышек ППК является наиболее значимым показателем при оценке межвидовых отношений в эмбриогенезе исследуемых видов. Более подробно на этом остановимся далее, при оценке ядрышка в реакции на интоксикацию. Здесь отметим, что ядрышки являются фенотипическим выражением активности ядрышкообразующих локусов хромосом; показано [Архипчук и др., 1993], что суммарный показатель ядрышковой активности характеризуется высокой степенью наследуемости. Количественные

**Таблица 12.** Оценка расстояний между видами в полном дискриминантном анализе у сиговых рыб на этапе вылупления (1987 г.)

Классы	<i>C. peled</i>	<i>C. muksun</i>	<i>C. l. pidschian</i>	<i>C. nasus</i>
<i>C. peled</i>		0,6	11,4	0,9
<i>C. muksun</i>	0,3		12,5	1,8
<i>C. l. pidschian</i>	5,7	6,0		8,4
<i>C. nasus</i>	0,4	0,8	4,2	

характеристики ядрышек отражают их роль в транскрипции рибосомных генов (рДНК), созревании первичных транскриптов 47–45S пре-рРНК и сборке прерибосомных частиц. Ядрышки являются одним из важнейших актов генной экспрессии в процессе становления герминативной стволовой клетки — ППК. Об этом же свидетельствуют многочисленные исследования [Чмилевский, 1971; Каменева, 1991; Чмилевский, Каменева, 2001 а и др.].

Полученные с применением дискриминантного анализа данные о соотношении видов сиговых рыб на двух ответственных этапах раннего онтогенеза — пигментации глаз и начала формирования желточной сети кровеносных сосудов в эмбриогенезе и вылупления — позволяют считать, что эмбриональный период для видовой дифференциации по цитометрическим параметрам ППК достаточно информативен.

Для установления степени связи параметров ППК у эмбрионов изученных видов был проведен *кластерный анализ* [Ефремова, 2013]. Автором показано, что у эмбрионов *муксуна* на стадии пигментации глаз связь между числом синцитиев, размерами ядер и клеток слабая и недостоверная, а между числом клеток и ядрышек — отсутствует. Напротив, у *чира* отмечена высокая корреляция (0,72) числа клеток в синцитиях и количества одиночных ППК, и средняя (0,65) — между размерами первичных гоноцитов и их ядер. У *пыжьяна* выявлена наибольшая корреляция между числом одиночных ППК и числом клеток в синцитиальных образованиях (0,82), а между числом ядрышек и диаметром ППК — слабая. У планктофага *пеляди* установлена тесная связь (0,85) между размерами ППК и ядер, средняя — между числом клеток и ядрышек (0,66), тогда как между этими параметрами и числом синцитиев корреляция очень слабая и отрицательная. Отметим, что у этого вида количество синцитиев — наименьшее среди всех сиговых. Зато у тугуна, число синцитиев столь же велико, как у *муксуна*, характер связи между исследуемыми признаками также напоминает их связь у данного вида.

Корреляция между морфологическими показателями у сиговых рыб на этапе вылупления низкая [Селюков и др., 2005; Беспоместных, 2007], реже — средняя; и только связь абсолютной длины тела с антеанальным расстоянием у всех видов сильная, а у тугуна и *муксуна* высокая корреляция отмечена и по числу меланофоров: *mfv-mfs* (тугун), *mfc-mfd* и *mfv-mfs* (*муксун*). Проведенный нами кластерный анализ связи цитометрических параметров ППК у предличинок сиговых рыб на этапе вылупления, по аналогии с периодом эмбриогенеза, выявил ряд особенностей.

У предличинки *муксуна* размеры первичных гоноцитов и диаметр ядер были высоко скоррелированы между собой ( $r > 0,9$ ). Связь по остальным параметрам была слабой или отсутствовала, а число ядрышек находилось в слабой обратной связи с остальными показателями ( $r < -0,12$ ). У *чира* корреляция признаков проявлялась в тесной связи размеров клеток и ядер ( $r > 0,9$ ), с которыми также высоко коррелировало число ядрышек (0,7). При этом связь между числом одиночных клеток и клеток в составе синцитиев также была высокой (0,8), но с остальными параметрами находилась в столь же тесной, но обратной зависимости ( $-0,77$ ). У *пыжьяна* наиболее тесная связь отмечена между числом одиночных ППК и половых клеток

в составе синцитиев (0,83), тогда как между остальными параметрами первичных гоноцитов она была слабой или отрицательной.

У предличинок *пеляди* установлена высокая связь размеров первичных гоноцитов и их ядер (0,88), также высокая корреляция (0,72) отмечена между числом ядрышек и количеством одиночных клеток. Однако число ППК в синцитиальных образованиях находилось в слабой обратной связи с остальными параметрами (- 0,17). Сходным образом размеры первичных гоноцитов и их ядер у *тугуна* высокоррелированы (0,98), но корреляция с числом ядрышек слабая (0,48).

Таким образом, на этапе вылупления у разных видов сиговых рыб связь цитометрических показателей первичных гоноцитов изменяется от очень слабой до тесной прямой и обратной. При этом параметры могут группироваться в кластеры — размеры клеток, ядер, число ядрышек, а также число одиночных и объединенных в синцитии ППК — и отличаться высокой связью (чир). В пределах вида связи между параметрами могут варьировать от высоких положительных до слабых и отрицательных (пыжьян, отчасти пелядь и муксун).

Прежде, чем перейти к следующему периоду онтогенеза — постэмбриональному развитию, — проследим реакцию формирующейся репродуктивной системы в эмбриональный период сиговых рыб на некоторые факторы природного и антропогенного происхождения — температуру и загрязнение.

## ГЛАВА 4

# ФОРМИРОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У ЭМБРИОНОВ СИГОВЫХ РЫБ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

---

---

### 4.1. Влияние экстремальных температур на эмбриогенез рыб

Температура — один из важнейших факторов окружающей среды, оказывает существенное влияние на продолжительность развития и выживаемость эмбрионов и личинок рыб. При этом неоднократно подчёркивалась неодинаковая зависимость темпа развития от температуры на разных этапах раннего онтогенеза.

В качестве универсальной меры времени развития в ходе эмбриогенеза была предложена [Детлаф, Детлаф, 1960] продолжительность наименьшего митотического цикла в период синхронных делений дробления зародыша —  $\tau$ . А отношение времени наступления какого-либо этапа развития  $\tau$  к  $\tau^0$  — «числом  $\tau$ ». Однако использование данного критерия для определения сопоставимых стадий развития животных возможно только в зоне оптимальных температур [Детлаф, 2001]. В зоне оптимальных для эмбрионального развития сиговых температур, близких к нулю [Черняев, 1990; Богданов, 1997], значение  $\tau$  у пеляди составляет около 720 мин, у сига — 450 мин, чира — 700 мин. При температуре +6 °C у пеляди  $\tau = 250$  мин, у чира при +5 °C — 300 мин. Таким образом, продолжительность одного митотического цикла в период синхронных делений дробления у пеляди сокращается в 2,9 раза, а у чира — в 2,3 раза.

По данным О.А. Лебедевой [1980], у пеляди и чира верхние температурные пределы развития не превышают 6 и 5 °C соответственно. При этих температурах продолжительность эмбриогенеза составляет у пеляди — 62–90 сут, а у чира — 62–81 сут. По сравнению с природными и заводскими условиями, соответственно, 150–170 и 159–171 сут — у пеляди; 180–200 и 154–171 сут — у чира. Следовательно, при повышенных температурах продолжительность эмбриогенеза у пеляди сокращается в среднем в 2,2 раза, у чира — в 2,5.

По широте изменчивости морфологических и экологических параметров сиговые занимают особое место среди лососевидных рыб. Хорошо изучены температурные условия эмбрионального развития байкальского омуля *Coregonus migratorius*. Хотя этот вид считается эвритермной формой, оптимальные температурные границы его инкубации весьма узки (+0,1...+1 °C), особенно на ранних стадиях эмбриогенеза: от дробления до формирования кровеносной системы [Черняев, 1982]. Повышенные субоптимальные температуры вызывают более раннее вылупление мелких предличинок. Повышенные сублетальные температуры приводят к появлению большого числа уродливых эмбрионов с такими дефектами, как искривление туловища и хвоста, полное или частичное отсутствие глаз, недоразвитие верхней челюсти — мопсовидность. Такие эмбрионы нежизнеспособны и в дальнейшем погибают [Жукинский, 1986]. При повышенных для первого периода эмбриогенеза температурах (3 °C) из-за высокой термочувствительности зародышей на этапах гастрюляции, эпиболии и замыкания «бластопора» гибель достигает 75 %, по сравнению с 25 % при 0,5 °C. При условии быстрого замораживания выжи-

ваемость эмбрионов приближается к 100 %, т.к. в перивителлиновом пространстве остается достаточное количество не кристаллизовавшейся воды, содержащей аминокислоты и полисахариды. Эти естественные криопротекторы препятствуют соприкосновению оболочки икринки с зародышем [Жукинский, 1986].

У эмбрионов сиговых рыб были установлены разнообразие диапазонов температур адаптации, степень их эвритермности и стенотермности [Лебедева, 1979]. Наиболее эвритермны эмбрионы сибирской ряпушки *Coregonus sardinella* — границы оптимальных и субоптимальных температур +1,5...+7 °С; чудского сига *Coregonus lavaretus maraenoides* (+1,5...+6 °С) и пеляди (+1,5...+5 °С); более стенотермны формы сига *Coregonus lavaretus* — сиг-лудога *Coregonus lavaretus ludoga* (+1,5...+4,5 °С) и волховский сиг *Coregonus lavaretus baeri* (+1,2...+4 °С). Строго стенотермны муксун (+0,5...+2 °С) и чир (+0,5...+1,7 °С). Наибольшие гибель и вариабельность признаков и свойств эмбрионов у этих сиговых происходят в результате воздействия чрезмерно низких и высоких температур на таких чувствительных этапах и стадиях развития, — как оплодотворение, дробление, гастрюляция и органогенез, образование хвостовой почки и вылупление. Слабопигментированная икра сигов неустойчива при воздействии высоких температур. У сиговых рыб возможно нормальное развитие эмбрионов при повышенном, в сравнении с естественным, температурном режиме, в случае имитации сезонного хода температур, снижающихся на этапе бластулы и стадиях обрастания желточного мешка [Черняев, 1990].

Однако повышение температуры на этапах дробления, гастрюляции и органогенеза вызывает замедление развития и только на последующих этапах (от начала развития эмбриональной системы кровообращения до вылупления) повышение температуры его ускоряет [Черняев, 1968; Мешков, Лебедева, 1979].

Исследованиями показано [Черняев, 1982], что после пигментации глаз, развития эмбриональной системы кровообращения и образования меланофоров на теле эмбриона, светопоглощающая способность икры достигает 80 %. Таким образом, эмбриональное развитие сиговых рыб делится на два подпериода. Первый включает дробление, гастрюляцию, органогенез и характеризуется замедлением темпа развития при повышении температуры, а на пониженные температуры реагирует ускорением развития. Эмбриогенез сиговых во второй подпериод, с этапа образования эмбриональной системы кровообращения до вылупления, характеризуется ускорением развития при повышении температуры воды и замедлением — в случае понижения температуры воды. В этот подпериод на нерестилищах наблюдаются довольно низкие температуры, и главным регулирующим фактором темпа развития является световая энергия.

Количественное выражение («доза») фактора, соответствующее потребностям организма и обеспечивающее наиболее благоприятные условия для его существования, рассматривают как оптимальное; на шкале количественных изменений фактора пределы такого его выражения составляют *зону оптимума*. Адаптация к любому фактору связана с затратой энергии. В зоне оптимума адаптивные механизмы не востребованы в необходимой мере, и энергия расходуется только на фундаментальные жизненные процессы.

Таким образом, сиговые рыбы, несмотря на выраженную стенотермность, обладают адаптационными резервами, обеспечивающими им в крайне неблагоприятных условиях — низкие/повышенные температуры, напряжённый кислородный режим, отсутствие освещённости — нормальное развитие в течение всего эмбрионального периода. Повышенные температуры *зоны пессимума* в этот период могут вызывать отклонения в развитии. Наиболее стенотермными видами являются муксун и чир, тогда как тугун и пелядь более эвритермны.

Влияние абиотических факторов приводит к определенным изменениям цитофизиологических параметров первичных гоноцитов. Повышение температуры до уровня верхнего предела оптимальной, стимулирует размножение ППК и гониев [Лаврова, Чмилевский, 1987; Чмилевский, 1998]. Эти половые клетки у ряда

видов чувствительны также и к понижению температуры, которое ведет их к гибели или задержке деления.

Наблюдаемое при экстремальных температурах первоначальное замедление роста и развития гонад сменяется их ускорением после снятия воздействия. При понижении температуры у рыб, в гонадах которых содержались преимущественно ППК, настолько активно происходило компенсаторное развитие, что превышался уровень гонадогенеза контрольных рыб и возрастала их плодовитость [Чмилевский, Лаврова, 1990].

Полученные результаты могли быть вызваны как низкой компетенцией первичных гоноцитов к поражающим факторам, так и активизацией формирования системы гормональной регуляции на более поздних этапах эмбриогенеза, нивелирующих последствия произведенного воздействия.

ППК и гонии первых порядков имеют близкую цитоморфологическую организацию и сходным образом реагируют на воздействие пониженной/повышенной температуры. Важнейшей их особенностью является способность к митотическим делениям. Учитывая сказанное, целесообразно выделять «период митотического размножения половых клеток», который у представителей многих рыб наблюдается в раннем онтогенезе [Чмилевский, 2005].

Влияние значительных перепадов температур на различные стадии раннего гаметогенеза могут существенно изменить темп и характер последующего развития половых клеток.

Таким образом, экстремальные температуры могут привести к замедлению развития. Однако воздействие на особей, в гонадах которых присутствуют ППК, может вызвать компенсаторное увеличение темпа гонадо- и гаметогенеза.

#### **4.2. Морфодинамические преобразования ППК в эмбриогенезе тугуна и чира при повышенных температурах**

Для оценки реакции формирующейся линии половых клеток на повышенные температуры инкубации сиговых рыб, нами были выбраны по одному представителю из подрода *Leucichthys* (сиги с конечным ртом) и подрода *Coregonus sensu stricto* (сиги с нижним ртом), максимально дистанцированных один от другого: тугуна и чира. По совокупности целого ряда морфо-экологических характеристик эти виды являются своеобразными антиподами. Эмбриогенез короткоциклового тугуна в естественных условиях начинается во второй половине сентября при сравнительно высоких для сиговых рыб температурах воды (+4...+6 °С), тогда как размножение длиннотельного чира обычно проходит в ноябре, в ледовом крошеве («шуга») при +0,2...+0,5 °С, а его эмбрионы нередко развиваются в состоянии «пагона» — замороженными в лед [Богданов, 1997]. В связи с видовыми особенностями ранних стадий эмбриогенеза у представителей одного рода был проанализирован характер формирования репродуктивной системы, ее пластичность в контрастных экологических условиях, выявлялись характерные различия.

Нами показано, что в процессе формирования линии половых клеток у эмбрионов обоих видов количество первичных гоноцитов постоянно варьировало, встречались синцитиальные комплексы. Снижение числа полиморфноядерных ППК коррелировало с возрастанием синцитиев и числа клеток в них, и наоборот. У зародышей тугуна, в отличие от более стенотермного чира, наблюдалось увеличение диаметра первичных половых клеток и их ядер, свидетельствующее о продолжавшемся росте; возрастало и ядерно-цитоплазматическое отношение.

Важным этапом в эмбриональном развитии костистых рыб является пигментация глаз. К этому моменту завершается формирование туловищной мускулатуры,

образование системы желточного кровообращения, сформированы основные отделы головного мозга. Зародыши становятся менее чувствительными к механическому воздействию, но быстро погибают при нехватке кислорода [Черняев, 1990].

Именно с этого момента в наших экспериментах эмбрионы чира и тугуна были переведены в условия повышенных температур: + 4...+4,5 °С.

Вплоть до вылупления у тугуна при данном температурном режиме накопление первичных гоноцитов происходило в замедленном темпе, но увеличивался диаметр клеток и их ядер, а ядерно-цитоплазматическое отношение у них было несколько выше, чем у особей из природных условий. Вылупление опытной партии тугуна произошло на месяц раньше обычного. В это время количество ППК у предличинок было ниже, чем в условиях естественного температурного режима, но синцитиальных комплексов — больше (табл. 9 Приложения).

Развитие опытной партии чира с начала пигментации глаз до этапа вылупления приводило к снижению количества первичных половых клеток (табл. 10 Приложения). Повышенные температуры вели также к увеличению числа синцитиев, но резко снизившихся к моменту вылупления, которое произошло почти на два месяца раньше контроля (19 февраля). При этом цитометрические показатели ППК не отличались от контрольной партии.

Проведенное сравнение формирования линии половых клеток в эмбриогенезе тугуна и чира при нормальных для этих видов и субпороговых температурах инкубации позволило заключить, что у эвритермного тугуна повышенные температуры снижают общее число ППК и темп его пополнения, но почти вдвое, чем в контроле повышают количество синцитиев. У эмбрионов стенотермного чира количество ППК к моменту вылупления сокращалось, но превышало их число в контроле. У подопытных зародышей было значительно больше синцитиальных образований, число которых к моменту вылупления резко снижалось. Все это, несомненно, является отражением видовой специфики в ходе органогенеза.

#### 4.3. Ранний онтогенез рыб в условиях интоксикации среды

В водной токсикологии понятие «чувствительность» обычно рассматривают в качестве обратного — «устойчивости». Чувствительными считаются организмы, погибающие при относительно более низких концентрациях вещества. Организмы, выживающие при более высоких концентрациях этого же соединения, относятся к более устойчивым (резистентным).

Следует отметить также, что экотоксикологические исследования в основном проводятся на взрослых гидробионтах. Однако наиболее чувствительными компонентами ихтиоценозов к действию неблагоприятных факторов являются ранние стадии онтогенеза — эмбрионы, личинки и мальки. Это вызвано не полностью сформированными защитными и детоксикационными механизмами к воздействию экстремальных факторов [Данильченко, 1977; McIntosh et al., 2010]. Известно, что зародыши разных видов рыб характеризуются различной степенью чувствительности к различным токсикантам и в зависимости от природы вещества и его концентрации развиваются лишь до определенных стадий эмбриогенеза: начало образования бластодиска, бластула, завершение эпиболии и т.д. [Nguyen et al., 1999; Bourrachot et al., 2008; Foekema et al., 2008]. В ряде случаев патологии могут проявиться только у личинок или ко времени их перехода к мальковому этапу [Данильченко, Строганов, 1975; Таликина и др., 1999].

В экспериментах по воздействию оловоорганических соединений, салициланилидов и др. токсикантов на эмбрионов и ранних предличинок окуня *Perca fluviatilis*, ерша *Acerina cernua*, вьюна *Misgurnus fossilis*, русского осетра *Acipenser*



*gueldenstaedtii*, севрюги *A. stellatus* и шипа *A. nudiventris* [Данильченко, 1977] было установлено, что чем раньше эмбрион начинает испытывать действие токсиканта, тем глубже происходящие с ним изменения. Икра рыб наиболее чувствительна в момент оплодотворения и во время дробления. Высокая чувствительность в этот период объясняется ранней биохимической дифференцировкой, проходящей еще до возникновения видимых морфологических различий. Однако детерминированные структуры менее подвержены действию внешних факторов, поэтому в ходе дальнейшего эмбриогенеза чувствительность уменьшается. Она вновь резко возрастает к моменту вылупления предличинок. Так, у вьюна икра в момент оплодотворения и в начале развития в 100–500 раз более устойчива к действию токсикантов, чем предличинки и личинки. В еще более высокой степени снижается устойчивость осетровых рыб; резистентность их икры в  $10^4$  раз больше, чем у личинок, а по отношению к растворам трипропилоловохлорид (ТПОХ) — в  $10^6$  раз [Данильченко, 1977].

В экспериментах с эмбрионами кижуча и предличинками кижуча и кеты [Петухов, Сторожук, 1980] было установлено ингибирующее действие ртути при концентрации 1 мкг/л на содержание микроэлементов в их организме. Токсическое действие тяжелых металлов (Hg, Pb, Cd) обусловлено высокой степенью сродства к SH-группам в белковых молекулах, где они блокируют образование дисульфидных связей. Кроме того, высокотоксичные тяжелые металлы вытесняют из металлосодержащих ферментов простетическую группу, в результате чего фермент теряет свою активность.

В эксперименте с эмбрионами вьюна [Костров, Шеханова, 1981] установлено снижение уровня общего обмена под влиянием хлорида ртути и сочетанном действии хлорида ртути и  $^{32}\text{P}$ , начиная со стадии поздней гаструлы до вылупления.

В цикле работ М.Г. Таликиной с соавторами [1999, 2000, 2001а, б, 2003] на плотве было исследовано состояние репродуктивной и других систем у сеголеток, подвергшихся воздействию различных токсикантов на стадии икры, в период эмбриогенеза или после вылупления, а также после интоксикации спермы. Так, пребывание эмбрионов плотвы в растворах хлорофоса (0,0001, 0,001 и 0,01 мг/л) и фенола (15 и 30 мг/л) от осеменения до завершения эмбриогенеза показало, что наиболее губительны для зародышевого периода высокие концентрации фенола [Таликина и др., 1999]. Дальнейшие исследования 4-месячных сеголеток выявили отдаленные последствия интоксикации в период эмбриогенеза в виде снижения линейно-взвешового роста и гистопатологических изменений гонад. Аналогичные результаты были получены в экспериментах с карпом и окунем [Таликина, Комов, 2003].

Поскольку эмбрионы в зародышевых оболочках обладают относительно высокой устойчивостью к токсикантам, было предпринято исследование характера и степени поражения органов у зародышей плотвы хлорофосом, фенолом и бытовыми стоками с высоким содержанием аммиака и азотистых соединений при завершении эмбриогенеза и у предличинок [Таликина и др., 2000]. Авторы отмечали, что дозозависимый кумулятивный эффект этих токсикантов в конце эмбрионального развития сильнее проявляется в последующие периоды. Он наиболее значителен при фенольной интоксикации 20 и 15 мг/л (выживаемость около 20 %), в меньшей степени при воздействии 0,01 мг/л хлорофоса (выживаемость более 40 %). При воздействии на предличинок установлен пролонгированный эффект в виде поражения структуры семенников почти у половины сеголеток, а у трети самок отклонения проявлялись в виде замедления развития яичников.

В серии экспериментов с эмбрионами и личинками плотвы [Таликина и др., 2001а] было установлено, что при действии на них хлорофоса и фенола в семенниках сеголеток выявлялись различные нарушения митозов: диминуция хромосом в цитоплазму и рассеивание в метафазе, отставание хромосом при расхождении к полюсам, хромосомные мосты в поздней анафазе и ранней телофазе; реже обнаруживались многополюсные митозы и трехгрупповые метафазы.

Авторы особенно подчеркивали, что у рыб, по сравнению с теплокровными позвоночными, полного восстановления цитогенетической нормы в аберрантных клетках не происходит. При действии токсикантов на предличинок впоследствии, уже у сеголеток в возрасте 4 мес, установлены такие нарушения гаметогенеза, как анатомические признаки интерсексуальности, разрастание соединительнотканых элементов, появление в яичниках двухъядерных превителлогенных ооцитов. Общее число самок с гистопатологией гонад после токсических воздействий на икру, предличинок и личинок составляло соответственно 25, 28 и 18 %.

Нарушения сперматогенеза проявлялись в разрастании стромы гонады, появлении сперматогониев с двумя и более ядрами; в некоторых семенниках присутствовали дегенерирующие превителлогенные ооциты. Общее число самцов с цитоморфологическими отклонениями гонад после токсических воздействий на икру, предличинок и личинок составляло соответственно 22, 21 и 14 %. Подчеркивалось, что наибольший повреждающий эффект на ранние этапы формирования гонад у сеголеток плотвы обоего пола отмечен при действии сточной воды и фенола на только что вылупившихся предличинок.

Установить характер нарушений в развитии сеголеток плотвы после обработки токсикантами зрелых спермиев в период оплодотворения, составляло цель последующих исследований [Таликина и др., 2001б]. Было показано, что повреждающее воздействие после кратковременной обработки спермы сублетальными дозами мутагена нитрозогуанидин (MNNG) и органических ядов (хлорофос, фенол и ароклор 1254) начинало проявляться при переходе личинок к внешнему питанию и усиливалось в ходе дальнейшего развития в клетках генеративной и соматической тканей. Отдаленные последствия этого влияния на зрелые спермии, наиболее отчетливо выразившиеся в увеличении цитогенетических аномалий в сперматогониях и эритроцитах периферической крови, могут отражать определенный уровень дестабилизации генома молодежи плотвы.

В ходе проведенной кратковременной обработки спермы плотвы у 4-месячного потомства пониженный уровень стабильности гонадогенеза отмечен у 64,6 % особей; наиболее существенное отставание в росте и развитии выявлено в вариантах обработки спермиев меньшими концентрациями мутагена MNNG и хлорофоса [Таликина и др., 2003]. Эти отклонения проявлялись в повышенном уровне хромосомных аберраций в делящихся сперматогониях и в эритроцитах периферической крови, гистопатологии гепатоцитов, торможении гаметогенеза, повышенной асимметрии гонад и в угнетении линейно-весового роста.

Данные, сходные с приведенными результатами, были получены при изучении влияния сырой нефти на эмбрионы и молодь атлантической сельди *Clupea harengus* [McIntosh et al., 2010]. Авторы установили отрицательную корреляцию между возрастом эмбрионов и токсичностью диспергированной в воде сырой нефти при 144- часовой экспозиции. Наибольшей чувствительностью отличались эмбрионы сразу после оплодотворения. При воздействии нефти на предличинок сразу после выхода из икры у них развивались некрозы, а действие токсиканта на гаметы вело к резкому снижению оплодотворяемости икры.

В последние годы воздействие токсикантов часто исследуется на биохимическом и генетическом уровнях.

Модифицирующее действие загрязнения на белковый состав может быть следствием как генетических вариаций, так и постсинтетических модификаций белков, обусловленных их комплексообразованием с ксенобиотиками и метаболитами. Значительная гетерогенность белков суммарных экстрактов личинок из загрязнённых акваторий связана, как предполагается, с большей вариабельностью фракционного состава, что также может быть следствием влияния избыточных концентраций токсикантов [Руднева, Залевская, 2004].

Для выявления механизма реакции на воздействие токсикантов И.И. Руднева с соавторами [2003] провела исследования с личинками атерины *Atherina hepsetus*

в среде с полихлорированными бифенилами (ПХБ). Авторами показано, что наиболее чувствительным биомаркером интоксикации (0,1 нг/л) является уровень теплопродукции; при возрастании концентрации токсиканта снижаются электрофоретическая подвижность и фракционный состав белков, а при повышении концентрации ПХБ в воде до 50 нг/л активизируются ферменты антиоксидантной системы — каталаза и глутатионредуктаза. Было также отмечено, что снижение теплопродукции у эмбрионов бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* и задержка вылупления личинок происходит при концентрации ПХБ 1 нг/л.

В ходе экспериментов [Руднева и др., 2000; Чесалина и др., 2000] по влиянию мазута и соляра на активность ферментов, перекисное окисление липидов, энергетический обмен молоди черноморской кефали *Liza saliens* было показано, что ответные реакции на действие токсикантов зависят от этапа развития, типа токсиканта, его концентрации и времени воздействия. Установлено, что наиболее выраженная реакция среди антиоксидантных ферментов характерна для супероксиддисмутазы (СОД). А у личинок атерины активность антиоксидантных ферментов коррелирует с уровнем антропогенной нагрузки [Руднева, Залевская, 2004].

Исследование хронического воздействия перфтороктансульфоната (ПФОС) на эмбрионы данио рерио [Shi, Zhou, 2010] показало, что данный ксенобиотик в концентрации 1 мг/л стимулировал продукцию активных форм кислорода и повышение активности ферментов антиоксидантной защиты — супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы. ПФОС индуцировал апоптоз эмбриональных клеток, а активатор генов ядерного фактора Nrf2 сульфорафон препятствовал продукции активных форм кислорода. Как следствие, сопряженный с Nrf2 сигнальный каскад играет защитную роль при индукции у эмбрионов рыб окислительного стресса, вызываемого ПФОС.

Актуальны также исследования влияния важнейших промышленных токсикантов — кадмия и фенола, на тонкие механизмы развития половых клеток морских ежей. Было показано, что содержание токсикантов, даже намного ниже ПДК, оказывает комплексное повреждающее воздействие на ультраструктуру половых клеток морских ежей. В исследованиях обнаружено разрушение половых детерминантов в сперматогониях и «стерилизация» половых клеток, признаки дисфункции вспомогательных клеток при общем снижении репродуктивной способности организма [Au et al., 2001, 2003; Реунов и др., 2005]. Как установлено в экспериментах с эмбрионами трансгенных линий медаки *Oryzias latipes* [Aizawa et al., 2007], гамма излучение снижает у них количество ППК, но не оказывает влияния на вылупление. Повышенная радиочувствительность первичных гоноцитов эмбрионов проявляется на 32–33 стадиях, во время возрастания их пролиферативной активности; ППК будущих самок менее устойчивы по сравнению с ППК самцов.

Таким образом, рыбы наиболее чувствительны к воздействию ксенобиотиков в эмбриональный и ранний личиночный периоды развития, по причине слабой сформированности механизмов детоксикации. При этом их реакции на интоксикацию видоспецифичны, а степень поражения зависит от природы токсиканта, продолжительности экспозиции и стадии онтогенеза. Отмечен пролонгированный характер интоксикации, в наибольшей степени проявляющийся в различных цитогенетических нарушениях, интерсексуальности, дегенерации репродуктивной системы.

#### **4.4. Формирование линии половых клеток у эмбрионов сига и его гибрида с рипусом в условиях пролонгированной фенольной интоксикации**

Наши исследования базировались на следующих двух направлениях работ. Это эксперименты М.Г. Таликиной с соавторами [2001 б, 2003], в ходе которых было

показано, что наиболее заметные и сходные по направленности нарушения в развитии у сеголеток плотвы отмечались при воздействии на сперму родителей низких доз мутагена MNNG и хлорофоса. А также исследования формирования линии половых клеток у гибрида пелядь × чир, проведенные в постэмбриональный период [Богданова, 1991].

Предпринято изучение начальных этапов гаметогенеза сига и его гибрида с рипусом в эмбриональный период как в нормальных условиях, так и при пролонгированном воздействии одним из наиболее распространенных токсикантов антропогенного и природного происхождения — фенолом.

Зародышей через месяц после оплодотворения икры перевели в растворы фенола (0,01 мг/л и 0,02 мг/л), где они выдерживались в течение месяца, после чего экспериментальные партии вновь были переведены в чистую, хорошо аэрируемую воду. Характеризовали внешний вид эмбрионов и цитоморфологические особенности формирующихся половых желёз.

#### **4.4.1. Патоморфологические изменения зародышей сига и гибридной формы (сиг × рипус) в условиях фенольной интоксикации**

Патоморфология зародышей сига и гибридной формы исследована нами в динамике, начиная с возраста 61 сут после оплодотворения (после месячного пребывания опытных партий в растворах фенола).

*Сиг.* Контрольные эмбрионы характеризовались высокой подвижностью; у них наблюдалась активная пульсация сердца, кровь бледно-розового цвета; начинали формироваться грудные плавники; отмечали интенсивную пигментацию глаз. Зародышам 1 варианта (0,01 мг/л) также были свойственны движения, у них присутствовали зачатки грудных плавников; сердце пульсировало, но кровь оставалась бесцветной и лишь в единичных случаях — бледно-розовой; пигментация глаз менее интенсивная, чем у контрольных эмбрионов. Движений зародышей во 2 варианте (0,02 мг/л) не наблюдалось. Пульсация сердца была отмечена в единичных случаях; пигментация глаз была слабой или отсутствовала; выявлялись зачатки плавников, но в хвостовом отделе отмечали искривление позвоночника. По сравнению с контролем, все подопытные эмбрионы имели небольшие размеры, их органы были слабо развиты.

В таком состоянии находились экспериментальные объекты перед переводом в чистую среду, хотя их смертность в обоих вариантах в этот период была незначительной, а возрастала к концу эксперимента (рис. 19).

*Гибридная форма.* Отмечали активные движения контрольных особей, ритмичную пульсацию сердца, кровь бледно-розового цвета; отчетливо просматривались зачатки грудных плавников; глаза интенсивно пигментированы. У эмбрионов 1 опытной партии после месячной экспозиции в растворе фенола также фиксировались их движения, но у части особей зачатки грудных плавников отсутствовали; просматривалась пульсация сердца, однако у разных особей его размеры сильно варьировали; в крови отсутствовал гемоглобин; менее интенсивно, чем в контроле, пигментированы глаза. У неподвижных зародышей во 2 партии пульсации сердца не наблюдалось, а глаза были слабо пигментированы либо пигмент отсутствовал совсем. В этом варианте эмбрионы гибридной формы были небольших размеров со слабо развитыми органами — как и у ранее описанных подопытных зародышей сига.

94 сут (месяц спустя после перевода подопытных зародышей в чистую воду)

*Сиг.* У контрольных зародышей тело и частично желточный мешок пигментировались, а у некоторых особей наблюдалась пигментация головы; грудные плавники имели крупные размеры. Кровеносная система характеризовалась высокой

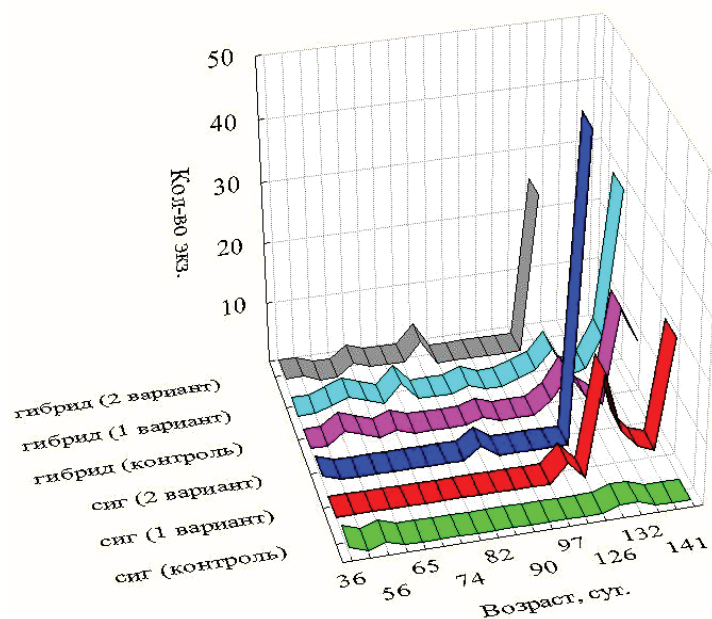


Рис. 19. Динамика смертности зародышей сига и гибрида в эксперименте

степенью сформированности: в дифференцированном на отделы сердце отчетливо просматривались массы эритроцитов. Опытные партии после месячного пребывания в чистой воде отличались от контроля и также различались между собой, однако эти различия несущественны: в *1 варианте* пигментация головы только начиналась, а во *2* она отсутствовала, мелкие размеры и искривления хвостового отдела оставались.

*Гибридная форма.* Туловищный и хвостовой отделы и частично желточный мешок зародышей *контрольной* партии были пигментированы, пигментацию головы не наблюдали; была сформирована плавниковая кайма; грудные плавники значительно увеличены. Кровеносная система уже хорошо сформирована, сердце активно пульсировало. У зародышей *1 опытной* партии, как и в контроле, тело и частично желточный мешок пигментированы, пигментация головы отсутствовала, а во *2 варианте* отмечали слабую пигментацию тела.

128 сут (спустя два месяца после перевода в чистую воду)

*Сиг.* Активность *контрольных* эмбрионов возрастала; тело и голова были пигментированы; начинала дифференцироваться плавниковая кайма; жаберная крышка не закрывала 2–3 последние жаберные дужки; была хорошо развита кровеносная система и сосудистая система желточного мешка.

У интоксигированных зародышей обеих партий даже после двухмесячного пребывания в чистой среде функциональные характеристики продолжали снижаться. В *1 варианте* эмбрионы почти не двигались; тело было слабо пигментировано, на голове пигмент отсутствовал; плавниковая кайма не дифференцировалась; кровь слабо окрашена. Жаберная крышка еще не сформировалась; у части особей боковые участки головы были подвержены водянке. У эмбрионов во *2 варианте* к отмеченным отклонениям в развитии добавлялись полная неподвижность, отсутствие гемоглобина в эритроцитах и нарушение пигментации глаз.

*Гибридная форма.* *Контрольные* зародыши активно двигали грудными плавниками, тело и голова были пигментированы; жаберная крышка не закрывала 2–3 последние жаберные дужки; у них была хорошо развита кровеносная система и сосудистая сеть желточного мешка. В это время, спустя 2 мес после перевода в чистую воду после экспозиции в растворах фенола, зародыши в *1 варианте* почти не шевелились; тело было слабо пигментировано, а голова бесцветна; развитие жа-

берной крышки было сходно с контролем; плавниковая кайма не дифференцирована; кровь розоватого цвета. Эмбрионы во *2 варианте* оставались неподвижны; тело слабо пигментировано, а меланиновый пигмент в глазах разрушался; жаберная крышка была не развита; плавниковая кайма не дифференцирована; кровь бесцветна.

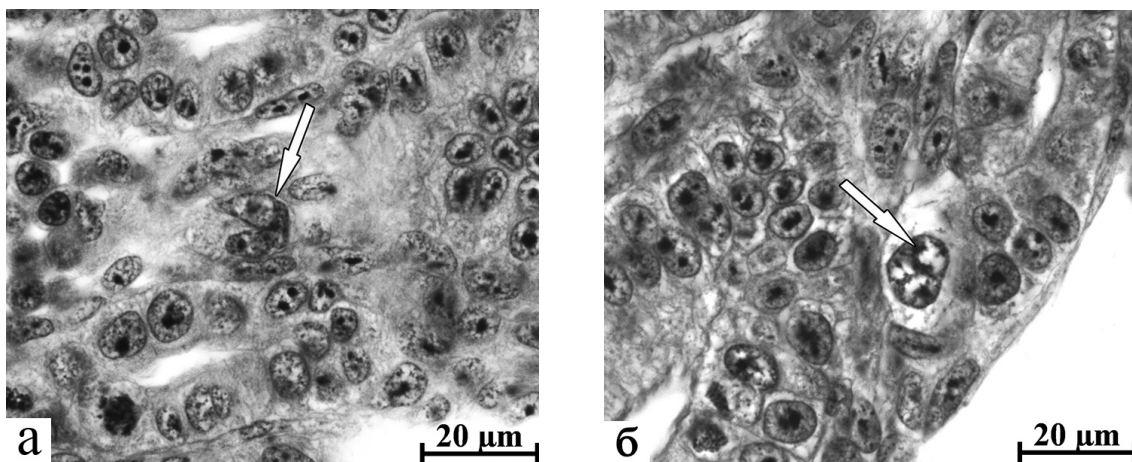
Подводя итоги описанию внешнего вида зародышей сига и гибридной формы, находившихся в условиях фенольной интоксикации, встречающейся и в естественных условиях, отметим сходную реакцию на действие разных концентраций этого токсиканта. Даже после двухмесячного пребывания в чистой, хорошо аэрированной воде, состояние зародышей продолжало ухудшаться, и к *128 сут* после оплодотворения большая их часть погибла. При этом можно отметить некоторую видоспецифичность в отношении развития ряда органов: в отличие от сига, угнетающее пролонгированное действие токсиканта у гибрида оказалось наиболее отчетливым на поздних стадиях эмбриогенеза.

#### 4.4.2. Цитоморфологические особенности ППК у сига и гибридной формы при фенольной интоксикации

Токсические воздействия на ранних стадиях зародышевого развития сопровождаются патологическими изменениями половых желез у сеголеток, ведущими к их стерильности или уродствам потомства [Таликина и др., 1999, 2001 а]. При анализе контрольных и экспериментальных партий эмбрионов сига и гибридной формы были установлены различия в количестве и цитоморфологических состояниях первичных гоноцитов [Ефремова и др., 2011б].

*61 сутки.*

*Сиг.* Контрольная партия характеризовалась значительной вариабельностью количества ППК и их размеров (табл. 11 Приложения). Отмечали высокую долю полиморфноядерных клеток, встречались синцитии (рис. 20 а).



**Рис. 20.** Первичные половые клетки у зародышей сига в контроле и эксперименте на 61 сут после оплодотворения

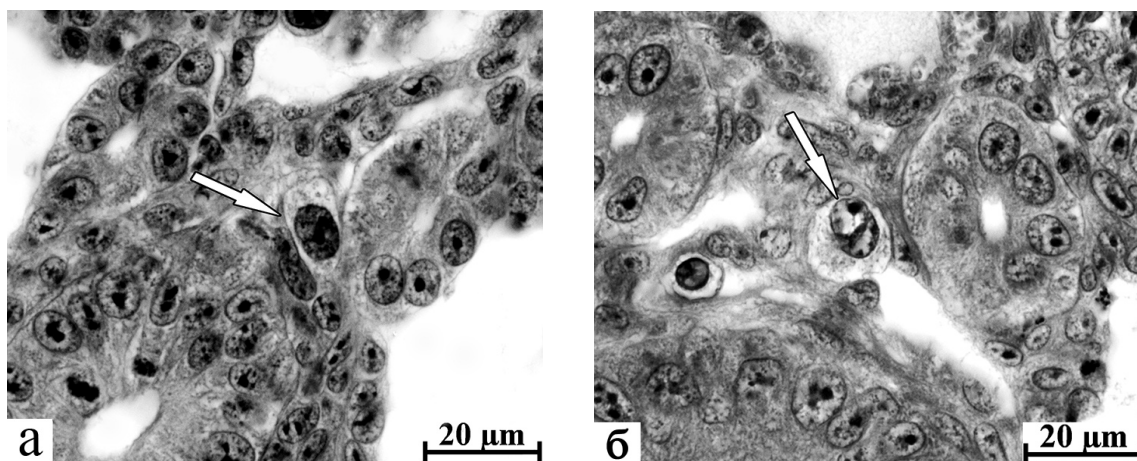
*а* — двухклеточный синцитий ППК (стрелка) у контрольной особи сига;  
*б* — сегрегация ядрышек в ППК зародышей сига из *2 варианта* (стрелка)

В единичных случаях выявляли многоядерные ППК. Количество ядрышек в среднем 2, реже достигало 4-х.

У эмбрионов в *1 варианте* количество первичных гоноцитов снижалось почти вдвое по сравнению с контрольной партией, а размеры значительно варьировали. Соотношение числа первичных гоноцитов с округлыми и полиморфными ядрами оставалось на прежнем уровне, а доля синцитиальных комплексов резко сокращалась

(табл. 11 Приложения). Количество ядрышек варьировало от 1 до 3. Во 2 варианте количество ППК несколько выше, чем в первом. Отмечали клетки с патоморфологическими изменениями ядрышек (рис. 20 б), выразившиеся в увеличении их размеров и фрагментации. Такие изменения ядрышек чаще наблюдали в полиморфноядерных ППК (табл. 11 Приложения). Многоядерные клетки и синцитиальные образования выявлялись редко. Количество ядрышек варьировало от 1 до 5, в среднем 2–3.

*Гибридная форма.* В контрольной партии количество ППК значительно варьировало. Доля клеток с округлым ядром достаточно высока (рис. 21 а). Доля полиморфноядерных клеток и синцитиальных комплексов также высока. Количество ядрышек варьировало от 1 до 5, в среднем 2–3 (табл. 11 Приложения).



**Рис. 21.** Первичные половые клетки у зародышей гибрида в контроле и эксперименте на 61 сут после оплодотворения:

а – ППК (стрелка) во время миграции в область зачатка гонад у контрольной особи гибрида;  
б – патоморфологические изменения ядрышек в полиморфноядерной ППК гибрида из 1 варианта (стрелка)

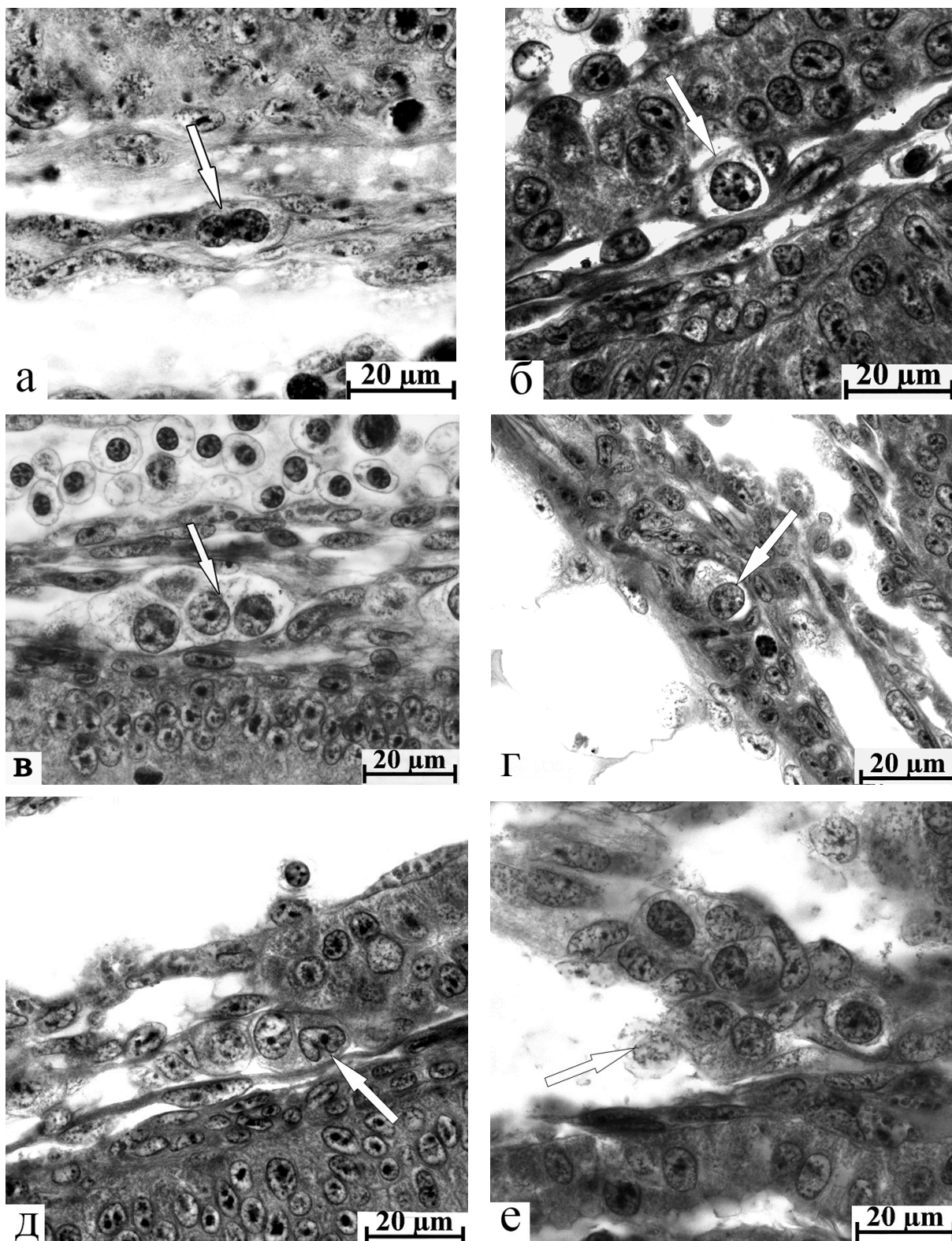
У эмбрионов 1 варианта количество ППК несколько возросло, но вариабельность их числа сохранялась. Размеры увеличивались незначительно. Соотношение клеток разных состояний обычно не различалось с контролем. Многоядерная клетка была выявлена лишь у одного зародыша. Патоморфологические изменения ядрышек встречались и в клетках с округлым ядром, и в полиморфноядерных ППК (рис. 21 б). Число ППК во 2 варианте снижалось. Доля клеток с округлым ядром также сокращалась при одновременном возрастании доли полиморфноядерных ППК (табл. 11 Приложения). Однако отклонений в структуре ядрышек нами не было отмечено.

*94 суток.*

*Сиг.* У зародышей контрольной партии количество ППК сильно варьировало, а полиморфноядерные гоноциты, многоядерные (рис. 22 а) и синцитиальные образования встречались редко; они были выявлены лишь у одной особи с большим числом клеток. Размеры ППК малы, в ядрах отмечены 2–4 ядрышка (рис. 22 б; табл. 12 Приложения).

В течение месяца после перевода зародышей 1 варианта из раствора фенола в чистую воду количество первичных гоноцитов у них увеличивалось и отличалось высокой количественной и размерной вариабельностью, выявлялись полиморфноядерные ППК с 1–2 ядрышками и группы синцитиев (рис. 22 в). Количество ядрышек совпадало с их числом в первичных гоноцитах контрольных особей; при этом обнаруживались клетки с морфологическими изменениями ядрышкового аппарата.

Во 2 варианте среднее количество первичных гоноцитов и их размеры изменялись в незначительной степени, а синцитии были отмечены почти у всех особей.



**Рис. 22.** Первичные гонциты у зародышей сига в контроле и эксперименте на 94 сут после оплодотворения:  
*а* — двухъядерная ППК (стрелка) у контрольной особи;  
*б* — ППК во время миграции (стрелка) в область зачатка гонад у контрольной особи;  
*в* — в герминативном синцитии видны крупные ППК (стрелка) в 1 варианте;  
*г* — сегрегация ядрышек в ППК зародышей из 2 варианта (стрелка);  
*д, е* — в герминативных синцитиях появляются полиморфноядерные ППК; часть синцитиев распадается, а гонциты подвергаются деструкции (стрелка)



Число ядрышек несколько снижалось (табл. 12 Приложения), а в ядрах отдельных, одиночно лежащих ППК увеличивалось (рис. 22 г), что было вызвано фрагментацией ядрышкового аппарата. Синцитиальные образования включали и полиморфноядерные клетки (рис. 22 д), а у отдельных особей происходило распадение герминативных синцитиев и деструкция составляющих их ППК с превращением в клеточный детрит (рис. 22 е).

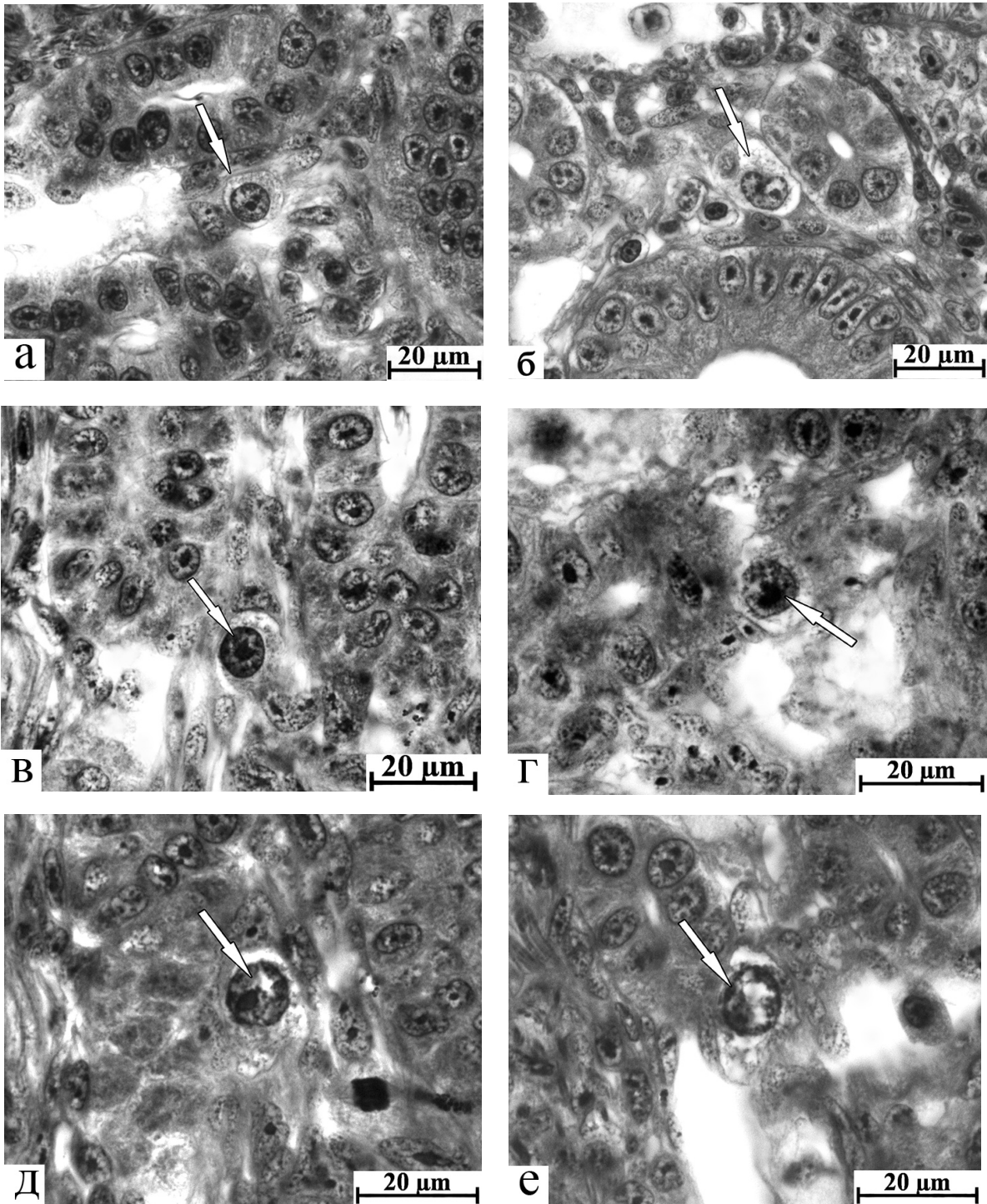
*Гибридная форма.* У контрольных эмбрионов число первичных половых клеток значительно варьировало (табл. 12 Приложения). При этом большинство ППК имело округлые ядра с 1–2 центрально расположенными ядрышками (рис. 23 а). Полиморфноядерные гоноциты выявлялись у отдельных особей, присутствовали синцитиальные образования.

У эмбрионов в 1 варианте при сходном с контролем числе и варьировании количества ППК несколько возрастало число синцитиев и полиморфноядерных гоноцитов (рис. 23 б). В остальном существенных различий с контрольной партией не было установлено (табл. 12 Приложения). Во 2 варианте количество ППК сокращалось, отмечали меньшее число синцитиальных образований, присутствовали клетки с отклонениями в структуре ядрышек. Нередко наблюдалась последовательность перехода ядрышек от обычного состояния к многолопастной конфигурации (рис. 23 в, г) с последующим пикнозом (рис. 23 д) и начальными фазами дезинтеграции (рис. 23 е), что отражает специфический ответ ядрышка на экстремальные воздействия [Зацепина, 2009]. Соответственно изменялось соотношение ППК разных состояний (табл. 12 Приложения).

Подводя итоги выявленной реакции формирующейся репродуктивной системы эмбрионов сига и его гибрида на воздействие разных доз фенола, выделим некоторые важные моменты. В первую очередь отметим прямую связь увеличения числа, размеров и темпа формирования первичных половых клеток у зародышей сига с концентрацией токсиканта. Можно заметить, что после месячной экспозиции сначала в среде с фенолом, а затем в чистой воде интоксикация не оказывала существенного влияния на формирование линии половых клеток. Дальнейшее же развитие зародышей при тех же концентрациях истощает ресурсы организма и ведет к поражению их репродуктивной системы, как это отчетливо показано у части особей.

В обеих опытных партиях сига и гибрида просматривалось изменение соотношения разных состояний первичных гоноцитов, видоспецифичность которых проявлялась при хроническом воздействии фенола. У зародышей сига в растворе фенола 0,02 мг/л в некоторых синцитиальных образованиях были отмечены дегенерирующие ППК, а сами синцитии распадались на отдельные клетки. У гибрида отклонения проявлялись в некотором снижении цитометрических показателей половых клеток, что было отчетливо заметно по состоянию ядрышкового аппарата.

Рассмотрим реакцию ядрышка — самой крупной структуры ядра — на интоксикацию в контексте его биологической роли. Генам ядрышкового организатора отводится ведущее место в формировании рибосом. В ряде исследований показано, что нарушения рибосомальных генов приводят к нарушениям в гонадогенезе. Поскольку ядрышко является сенсором многих стрессовых воздействий на клетки, его разрушение или повреждение приводит к стабилизации основного регуляторного белка апоптоза (p53), вызывающего гибель клеток [Зацепина, 2009]. Автор отмечала, что частичное или полное ингибирование транскрипции рДНК приводит к уменьшению размеров ядрышка и сегрегации его основных структурных компонентов, включая фибриллярные центры — «депо» неактивных рибосомных генов и РНК-полимеразы I, плотного фибриллярного компонента (зона созревания пре-рРНК) и гранулярного компартмента, служащего местом формирования рибосомных частиц. А ингибирование киназ, фосфорилирующих основные ядрышковые белки (B23/нуклеофозмин, нуклеолин, UBF и др.), сопровожда-



**Рис. 23.** ППК и состояние ядрышек у зародышей гибридной формы контрольной и опытных партий на 94 сут после оплодотворения:  
*a* — первичная половая клетка (стрелка) контрольной особи во время миграции в область половых гребней;  
*б* — полиморфноядерная ППК (стрелка) под Вольфовым протоком зародыша из 1 варианта;  
*в, г* — многолопастные ядрышки (стрелки) в ядрах ППК зародышей из 2 варианта;  
*д, е* — пикноз и дезинтеграция ядрышек (стрелки), конденсированный хроматин распределен по периферии ядра

ется характерным «разворачиванием» ядрышек и происходит преимущественно в клетках, находящихся в состоянии репликации ДНК. В результате этих воздействий наблюдается гибель клеток путем апоптоза.

Изучая экспрессию рибосомального белка RpL10A у данио, исследователи [Маккаран et al., 2014] установили его роль в регуляции развития половых желез рыб. Так, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, измеряя интенсивность экспрессии белка в тканях гонад после инкубации с экстрактом гипофиза форели и различных половых стероидов было показано, что 11-кетостерон (100 нг/мл) эффективно повышает экспрессию RpL10A в тестикулярной ткани, в то время как 17 $\beta$ -эстрадиол его экспрессию в ткани яичников снижает.

Исследовалось также влияние токсикантов на ранний гаметогенез сиговых и других видов рыб. Нами показано [Беспоместных, 2007], что при воздействии фенола (0,05 мг/л) на личинок сиговых рыб количество ППК у них изменялось в широком диапазоне; если у пеляди их число снижалось, то у пыжьяна, муксуна и чира фенол достоверного влияния на этот показатель не оказывал. Выявленный нами эффект стимуляции формирования ППК у зародышей сига при фенольной интоксикации согласуется с вышеупомянутыми данными, полученными на плотве [Таликина и др., 1999].

Эти результаты, как и наш эксперимент, отчетливо продемонстрировали классическую триаду общего адаптационного синдрома (ОАС) Г. Селье [1960].

Нарушения ядрышкового аппарата ППК у сига и гибридной формы и деструктивные изменения самих клеток, выявленные нами на уровне светового микроскопа, при более тонких методах исследования могут быть обнаружены значительно раньше и при меньших концентрациях токсикантов. Так, под влиянием кадмия и фенола установлены нарушения ультраструктуры ППК в эмбриональный период морских ежей [Реунов и др., 2005]. Исследователями показано, что содержание токсикантов, даже намного ниже ПДК (для фенола — 0,001 мг/л, для кадмия — 0,005 мг/л), оказывает комплексное повреждающее воздействие на ультраструктуру их половых клеток. Этими и другими авторами было установлено разрушение половых детерминантов в сперматогониях и «стерилизация» половых клеток, а также признаки дисфункции вспомогательных клеток при общем снижении репродуктивной способности организма [Реунов и др., 2005; Au et al., 2001; 2003].

Таким образом, хроническое влияние фенола на зародышевое развитие рыб и беспозвоночных гидробионтов оказывает угнетающее воздействие на морфогенез, а кратковременная пролиферативная активность первичных гоноцитов на последующих этапах онтогенеза сопровождается нарушением их структуры и подавлением репродуктивной системы.

Показанное позволяет резюмировать, что у зародышей сиговых рыб, попавших в условия даже незначительного повышения содержания фенола в воде нерестилищ и более-менее продолжительное время находящихся в этих условиях, даже при последующем продолжительном освежении воды восстановления пораженных функциональных систем не произойдет. Если даже эмбриогенез завершится вылуплением и молодь попадет в благоприятные условия нагула, отклонения в репродуктивной системе рано или поздно приведут к ее дегенерации, что показано и в опытах даже с более токсикорезистентными видами — карповыми [Таликина и др., 1999, 2001a].

## ГЛАВА 5 РАННИЙ ГАМЕТОГЕНЕЗ СИГОВЫХ РЫБ В ПОСТЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

---

---

### 5.1. Морфологические показатели предличинок сиговых рыб

На этапе вылупления у предличинок сиговых рыб хорошо развиты грудные плавники, органы зрения, челюстно-жаберный аппарат, тогда как кровеносные сосуды на желточном мешке не выражены. Характерной особенностью личинок сиговых является отсутствие меланофоров на боках тела и их концентрация на голове, спине и брюшке [Кузьмин, 1963; Богданов, 1983б, 1998]. Длина тела предличинок речной пеляди составляет 6,8–10,0 мм, масса — от 2,8 до 3,5 мг. Ее пигментация не выражена — количество меланофоров наименьшее среди остальных сиговых. У пыжьяна длина тела варьирует от 8,3 до 11,3 мм, масса — 4,9–6,5 мг, хорошо развита меланофоровая пигментация, наиболее интенсивная в области желточного мешка, кишечной трубки и на хвостовом стебле. Самыми крупными среди сиговых рыб на этапе вылупления являются предличинки чира — 10,5–14,0 мм и 8,3–9,7 мг. У этого вида и наибольшее число меланофоров [Богданов, 1983б, 1998; Лебедева, 1989; Селюков и др., 2005].

Сиговые рыбы при вылуплении характеризуются различными запасами трофических веществ. У речной пеляди желток составляет от 2,6 от массы тела в начале до 1,9 % в конце периода вылупления; у чира — 13,9 и 8,7 %; у муксуна — от 7,8 до 4,6%. Речная пелядь при 0,7–0,8 °С расходует желток за 10–18 сут, муксун — за 24–30. При 4,0 °С расходование желтка у речной пеляди завершается за 7–10 сут, у муксуна — за 13–17 [Сергиенко, 1995]. Температура влияет не только на интенсивность утилизации желтка, но и на активность потребления корма при переходе на активное питание. В заводских условиях личинки пеляди начинают активно питаться при температуре воды 8 °С, муксуна — выше 4–5 °С [Сергиенко, Кугаевская, 1990].

На этапе вылупления выявляются накопившиеся в эмбриогенезе аномалии, вызванные как воздействием неблагоприятных экологических факторов — предельными значениями температур, рН,  $CO_2$ , загрязнением водоемов и др., — так и хромосомными нарушениями [Кайданова, 1986].

У предличинок сиговых рыб морфологические признаки варьируют по срокам вылупления и в разные годы [Богданов, 1983б, 1997, 2006; Селюков и др., 2005]. Диапазон варьирования морфологических и физиологических показателей у личинок волховского, чудского, севанского сигов, сига-лудоги и пеляди весьма широк [Лебедева, Завьялова, 1985]. Так, коэффициент вариации длины личинок составляет 6–25,5 %. Изменчивость их физиологических параметров обнаруживается в двигательных реакциях, частоте сердечных сокращений (ЧСС), дыхательных движениях и др.

### 5.2. Ранний гаметогенез рыб в постэмбриональный период

Считается, что первичные гоноциты на протяжении почти всего эмбрионального развития митотически неактивны и лишь после завершения миграции и концентрации ППК в половых складках они вступают в митотический цикл

[Saffman, Lasko, 1999; Extavour, 2007]. Сроки достижения ППК зачатка гонад и переход к делению у разных рыб различны. Митозам первичных гоноцитов предшествуют увеличение объемов их ядер и цитоплазмы, приобретение ими округлой формы и увеличение размера ядрышка. Так, первые митозы ППК у зародышей горбуши выявлены в 9–15 сут после оплодотворения, у радужной форели они вступают в митотический цикл через 12–17 сут после вылупления [Захарова, 1984]. Показано, что в постэмбриональный период у личинок мозамбикской тиляпии *Oreochromis mossambicus* меченых <sup>3</sup>H-тимидином в 6-суточном возрасте были только ядра соматических клеток зачатка гонады, а меченые ядра ППК появлялись, начиная с возраста 7 сут [Чмилевский, Иосифова, 1999].

У озёрной пеляди на этапе вылупления первичные гоноциты размером  $26,7 \pm 2,4$  мкм встречаются в области зачатка гонад на уровне с 7 по 40 туловищных миомеров при наибольшей концентрации (78,1 % ППК) на уровне 13–26 миомеров [Селюков, 1985]. Через месяц у личинок этого вида при среднем числе ППК  $28 \pm 2,4$  их максимальное количество (81,8 %) находится на уровне 13–24 миомеров; отмечаются митозы ППК и появляются гонии I порядка. При завершении деления основной массы первичных гоноцитов гониальные клетки распределяются от 11 до 38 миомера, варьируя от 19 до 169 клеток, а наибольшее их число (81,5 %) оказывается на уровне 13–22 туловищных миомеров.

При исследовании соотношения соматического и генеративного развития у предличинок пеляди и муксуна выявлены [Бондаренко, 2003] слабая связь количества и цитометрических параметров ППК с морфометрическими показателями предличинок пеляди: меньшее их число у молоди бóльших размеров. У молоди муксуна, напротив, проявляется повышенная скоррелированность морфологических показателей с числом и цитометрическими параметрами первичных гоноцитов, в особенности перед их переходом к митозам. Полученные результаты позволяют констатировать явление относительной независимости процессов генеративного и соматического развития на ранних этапах постэмбрионального онтогенеза у сиговых рыб, когда ППК только заселяют формирующиеся гонады и еще не приступили к митозам.

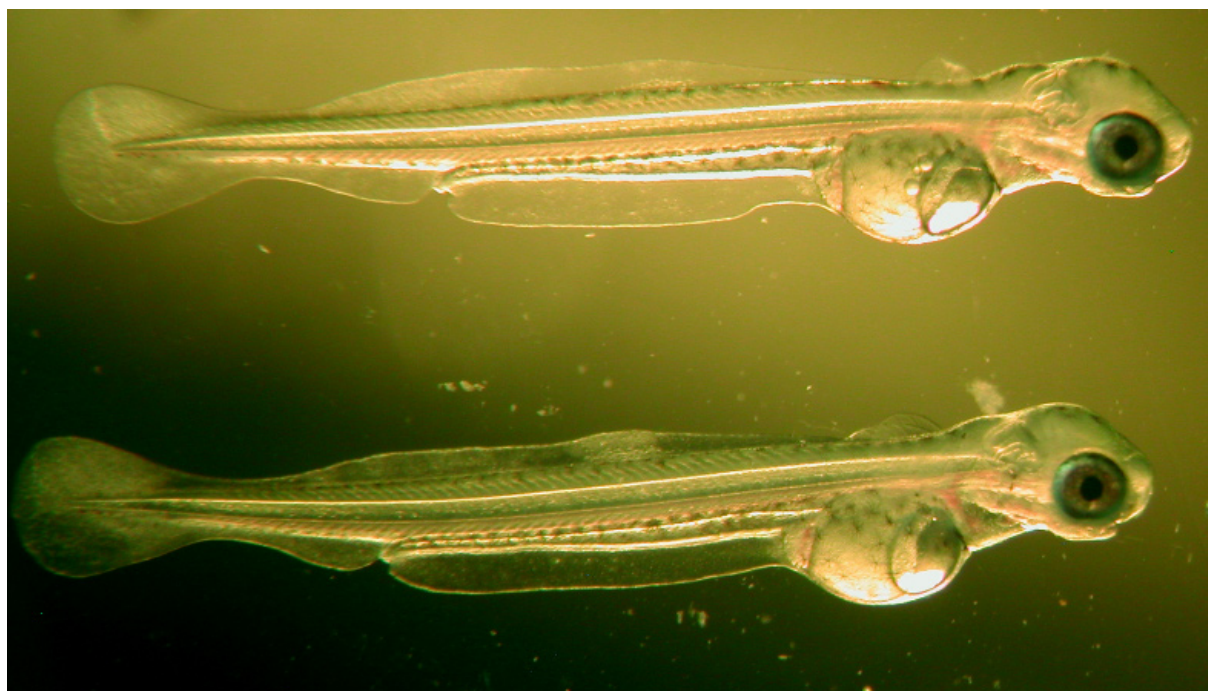
### **5.3. Состояние фонда половых клеток у сиговых рыб в постэмбриональный период**

Формирование генеративной системы у молоди сиговых рыб изучали с момента их вылупления до месячного возраста и перехода ППК к митотическим делениям — начала накопления резервного фонда гониальных клеток.

При вылуплении предличинки исследуемых видов по совокупности морфометрических параметров существенно различались (табл. 13 Приложения), что ранее было продемонстрировано в работах В.Д. Богданова [1983 б, 1998].

В это время у разных видов сиговых в различные годы наблюдений количество первичных гоноцитов характеризовалось высокой вариабельностью. Всех сиговых по убыванию числа ППК можно расположить следующим образом: муксун — тугун — пыжьян — чир — пелядь (табл. 14 Приложения). В то же время наибольшим варьированием ППК отличались муксун и пыжьян, наименьшим — пелядь. Наиболее высокие размерные характеристики клетки и ядра, а также диапазон их варьирования наблюдали у тугуна; им уступали предличинки чира, а у пеляди и муксуна средние показатели почти не различались. Ядерно-цитоплазматическое отношение и его варьирование были наименьшими у муксуна, тогда как у остальных исследованных видов оно имеет близкие значения (табл. 2, 5 Приложения).

*Муксун*. В постэмбриональном онтогенезе у муксуна (рис. 24) установлено большее число ППК, чем у остальных сиговых рыб. Их динамика имела сходный характер — несколько снижаясь к 22 сут, но далее возрастала (табл. 14 Приложения), при этом ни одного митоза не было выявлено. До 30-суточного возраста отмечались двухядерные клетки, а на этапе вылупления и в возрасте 40 сут — еще и полиморфноядерные. В течение всего постэмбриогенеза в формирующихся гонадах наблюдались первичные гоноциты в составе синцитиев, доля которых нарастала, появлялись и более многочисленные группы клеток.



**Рис. 24.** Предличинки муксуна при вылуплении

*Тугун*. У вылупившихся предличинок тугуна, эмбриогенез которых проходил при естественном температурном режиме, количество первичных гоноцитов составляло 36,9%. Количество ППК в синцитиях у отдельных особей достигало 66,5 % (табл. 14 Приложения). К возрасту 9 сут количество одиночно лежащих клеток у личинок снижалось, но их число в составе синцитиев возрастало. Эта же динамика сохранялась у молоди в возрасте 17 сут. Так, у 17-суточных личинок более чем вдвое увеличивалось количество первичных гоноцитов в синцитиях при возросшем числе ППК. У мальков в 28-суточном возрасте количество половых клеток многократно возрастало, что обусловлено их высокой пролиферативной активностью — отдельно лежащие гоноциты встречались редко, большинство клеток было представлено гониями первого и последующих порядков, отмечались митозы, формировался фонд гониальных клеток.

*Пыжьян*. Количество первичных гоноцитов у предличинок этого вида оставалось неизменным и даже несколько снижалось (табл. 14 Приложения), первые митозы были отмечены только в возрасте 40 сут. Несмотря на то, что число ППК у данного вида было меньше, чем у муксуна и, в особенности — у тугуна, у него также регистрировались двухядерные клетки и синцитиальные структуры, динамика которых носила волнообразный характер. Полученные данные подтверждают накопление фонда ППК у пыжьяна, но не за счет их миграции в формирующиеся гонады, поскольку она завершилась еще перед вылуплением, а вследствие пролиферации.

*Чира*. В отличие от остальных видов, для чира свойственна иная динамика количества первичных гоноцитов. С момента вылупления в течение трех недель возрастало число ППК с 31,6 до 50, что совпадало с увеличением доли полиморфноядерных клеток (обычно предшествующих пролиферативной активности), а также увеличивалось число ППК в синцитиях (табл. 14 Приложения). В дальнейшем их количество сокращалось, и в возрасте 40 сут было даже меньше (28,2), чем у только что вылупившихся предличинок. Появление полиморфноядерных и двухядерных ППК и митозов, что можно рассматривать в качестве условия возрастания количества гоноцитов, не изменило общей тенденции сокращения их числа. Факт высокой вариабельности количества гоноцитов в постэмбриональный период можно объяснить разным соотношением будущих самок и самцов, когда у первых количество ППК всегда превышает их число у самцов.

*Пелядь*. У речной пеляди в постэмбриональный период происходило устойчивое возрастание количества ППК (табл. 14 Приложения). Если на этапе вылупления еще встречались полиморфноядерные клетки, то в последующем они не выявлялись. Редко в постэмбриональном онтогенезе встречались двухядерные ППК, появление которых носило волнообразный характер и рассматривалось нами в качестве начальных этапов пролиферации, однако типичных митозов не было отмечено. Меньше, чем у тугуна и чира было синцитиев первичных гоноцитов, и их доля к 40-суточному возрасту постепенно увеличивалась; однако гониальных клеток не отмечалось.

Таким образом, среди исследованных сиговых рыб именно у тугуна наиболее быстро протекает гонадогенез, скопления гониев наблюдались уже в возрасте 30 сут, а многоядерность ППК была установлена с момента вылупления. У других видов в это время отмечались только первые митозы: у чира и пыжьяна, по нашим данным, в 40 сут, у пеляди и муксуна их вообще не обнаруживали, но известно, что первые митозы у пеляди выявляются в 30 сут [Селюков, 1985], у пыжьяна — в 45 сут [Кошелева, Мигаловский, 1988].

#### **5.4. Дифференцировка пола и формирование фонда половых клеток у рыб**

Половые железы у рыб формируются, как правило, в постэмбриональный период при дифференциации гонотомов и заполнении герминативных валиков первичными гоноцитами, соединительно-тканными элементами и соматическими клетками, преобразующимися в специализированные клетки стромы. Эпителий половых валиков трансформируется в т.н. герминативный [Персов, 1975]. Увеличение размеров гонады сопровождается её дифференцировкой в направлении яичника или семенника. В ходе гонадогенеза половые железы самок и самцов проходят анатомическую дифференцировку, а определению пола предшествуют процессы цитологической дифференциации. В процессе анатомической дифференцировки отмечается специфическое изменение самой гонады, цитологической — характерное преобразование половых клеток (гаметогенез). Так, у лососевидных рыб *анатомическая* дифференцировка гонад в направлении яичников проявляется в утолщении краниального отдела и локализации половых клеток в вентролатеральном участке, вблизи инвагинаций, образующих яйценосные пластинки [Персов, 1962, 1966, 1975; Lebrun et al., 1982; Захарова, 1983 а, 1984, 1997; Селюков, 1985, 1989 и др.; Strüssmann, Nakamura, 2002]. Если в головном отделе гонады не утолщены, половых клеток немного, и они разбросаны по всему объему железы, а в дорзальной области присутствует кровеносный сосуд — формируется семенник [Персов, 1962; Статова, Томнатик, 1970].

Количество гоноцитов в гонаде также свидетельствует о направлении ее дифференциации и отмечено у медаки, тиляпии *Tilapia zillii*, сельди *Clupea pallasii marisalbi*, окуня, форели, трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* и др. [Sato, Egami, 1972; Yoshikawa, Oguri, 1978; Зеленков, 1982; Lebrun et al., 1982; Lewis et al., 2008; Tanaka et al., 2008]. Установлено, что увеличение числа первичных гоноцитов направляет дифференцировку гонад в сторону яичников, что продемонстрировано на примере трёхиглой колюшки [Lewis et al., 2008]. Показано также, что в раннем онтогенезе медаки в клетках индифферентных гонад экспрессируются специфичные для самца гены, и если ППК не заселяют гонаду, то независимо от половых хромосом (XX или XY), уровень андрогенов увеличивается, а эстрогена — снижается, приводя к формированию семенника или реверсии пола от самок к самцам [Kurokawa et al., 2007]. Также у медаки была выявлена мутация гена *hotei*, детерминирующая избыточное количество ППК, которые при заполнении половых зачатков определяют дифференцировку гонад по типу яичников, тогда как соматические клетки половой железы вызывают ее развитие по мужскому типу [Tanaka et al., 2008]. При исследовании морфологии половых клеток в раннем онтогенезе медаки было установлено, что различия между будущими самцами и самками проявляются на этапе вылупления и обусловлены числом половых клеток [Saito et al., 2007].

У многих рыб, в т.ч. лососевидных, дифференцировка яичников проходит раньше, чем семенников [Персов, 1966, 1975; Takashima et al., 1980; Захарова, 1984, 1997; Nakamura, 1984; Селюков, 1985, 1989; Koya et al., 2003; Meijide et al., 2005; Arezo et al., 2007; Grandi et al., 2008; Gao et al., 2009]. Так, при использовании методики GFP (помеченные герминативные — зародышевые — клетки медаки *in vivo*) и при анализе мутанта этого вида с недостающими зародышевыми клетками (*zenzai*) было установлено, что пролиферация и дифференцировка этих клеток вызвана половой регуляцией [Saito et al., 2007].

Внешне о цитологической дифференцировке гонад судят по появлению в них половых клеток с ядрами начала синаптных преобразований хромосом — стадии зиготены.

Начало анатомической или цитологической дифференцировки половых желез обусловлено рядом факторов, при которых важнейшими, в пределах вида, являются температурный режим и условия нагула [Takashima et al., 1980; Yaron et al., 1980; Захарова, 1984, 1997; Захарова, Чмилевский, 1984, 1985; Селюков, Чмилевский, 1986; Селюков, 1989; Чмилевский, 1997, 1998, 2000]. Как правило, цитологическая дифференцировка гонад следует за анатомической [Персов, 1962; Анпилова, 1967; Статова, Томнатик, 1970], однако у лососей *p. Oncorhynchus* цитологическая опережает анатомическую [Персов, 1966]. В оптимальных условиях нагула сроки наступления той и другой могут совпадать. Так, в опытах с молодьёю пеляди было показано, что при благоприятных температурных и кормовых условиях анатомическая и цитологическая дифференцировка гонад проходят одновременно, а при неблагоприятных — цитологическая отстает от анатомической [Селюков, 1985, 1989]. У байкальского омуля при 13–14 °С анатомическая дифференцировка гонад в направлении яичников начиналась в возрасте 3 мес и предшествовала цитологической, а при 16–17 °С оба процесса проходили синхронно [Захарова, 1997]. Формирование семенников у этого вида наступало не ранее 6-месячного возраста, и цитологическая дифференцировка отставала от анатомической.

Таким образом, в ходе гонадогенеза половые железы будущих самок и самцов проходят анатомическую дифференцировку, а определению пола предшествуют процессы цитологической дифференциации. При этом дифференцировка гонад по типу яичников осуществляется раньше, чем в направлении семенников. По характеристике первичных гоноцитов и их межклеточным взаимосвязям возможно различать половую принадлежность эмбрионов. Сроки анатомической и цитологичес-



кой дифференцировки гонад зависят от температурного режима и темпа развития молоди, что вызывает их синхронное или разновременное прохождение.

При цитологической дифференцировке половой железы на латеральной поверхности формирующихся яичников появляются гнёзда половых клеток ранней профазы мейоза. Цитоморфологические и функциональные характеристики ооцитов данного состояния ранее описывались: у сига-лудогы [Лапицкий, 1949], тихоокеанских лососей [Персов, 1966], пеляди [Кузьмин, 1967; Селюков, 1985], ерша *Gymnocephalus cernuus* [Чмилевский, 1970, 1971], стерляди [Чмилевский, Райкова, 1976], радужной форели *Oncorhynchus mykiss* [Lebrun et al., 1982; Захарова, 1984], карповых рыб [Макеева, Емельянова, 1989], байкальского омуля [Захарова, 1997], мозамбикской тилляпии [Чмилевский, Каменева, 2000], белого байкальского хариуса [Захарова, Зайцева, 2009] и др.

В ооцитах стадии лептотены рыб встречается одно, реже два первичных ядрышка, контактирующих с хромосомами. В ооцитах стадии зиготены, по которым в первую очередь определяется цитологическая дифференцировка в направлении яичников, хромосомы перемещаются к противоположному от ядрышка полюсу и конъюгируют. На стадии пахитены происходит распределение бивалентов по всему объёму ядра, а в районе ядрышка, на противоположном полюсе, увеличивается количество экстрахромосомной ДНК (рДНК) — гетерохроматин. В хромосомах и ядрышке ооцитов ранней профазы мейоза одновременно происходят процессы синтеза ДНК, РНК и белка, наблюдается постепенная активизация синтеза ДНК в околядрышковом хроматине и ооцитах стадии пахитены [Чмилевский, Каменева, 2000]. Ранняя профаза мейоза завершается стадией диплотены.

После перехода в стадию диплотены ооциты начинают расти, они накапливают структурно-информационные ресурсы, которые поступают в цитоплазму из ядра (иРНК, рРНК и др.) и формируются в самом цитоплазматическом матриксе — элементы комплекса Гольджи, ЭПР, митохондрии и т.д. Происходит цитоплазматический рост ооцитов, или превителлогенез [Чмилевский, Каменева, 2001 а]. У сеголеток и годовиков большинства самок рыб превителлогенные ооциты являются старшей генерацией половых клеток. Проходящие в течение этого периода биосинтетические процессы обеспечивают нормальное прохождение последующего периода — вителлогенеза, т.к. синтезирующиеся 4S тРНК и 5S рРНК активно используются в интенсивном синтезе белков в этот период [Mazabraud et al., 1975, цит.: Чмилевский, Каменева, 2001 б]. В ядрах превителлогенных ооцитов также синтезируется иРНК, обеспечивающая синтез белков-рецепторов вителлогенина [Parazzolo et al., 1999]. Превителлогенные ооциты до полового созревания формируют потенциальную плодовитость, которая корректируется условиями нагула; при вступлении в превителлогенез ооцитов ранней профазы мейоза она возрастает. В цитоплазме превителлогенных ооцитов мозамбикской тилляпии отмечены капли нейтральных липидов и полирибосомы, которых не отмечается в ооцитах на стадии пахитены [Чмилевский, Каменева, 2001б].

При изучении формирования фонда половых клеток у пеляди, выращиваемой за пределами естественного ареала, было отмечено [Селюков и др., 2000 а; Вторушин, 2003], что у большинства однолетних самок он формируется в конце летнего периода. Большая часть этого фонда представлена превителлогенными ооцитами, наибольшие размеры которых достигают 85–90 мкм, а доля оогоний составляет 29–30 %. К началу зимнего периода формирование ооцитов ранней профазы мейоза и стадии ранней диплотены у сеголеток завершается — старшая генерация половых клеток представлена превителлогенными ооцитами средней размерной группы. То же явление замедления пополнения фонда половых клеток при снижении температуры воды ниже оптимальных для роста установлено у пеляди в естественном ареале (р. Сыня — уральский приток Оби) и местах акклиматизации в оз. Гусиное (Ленинградская обл.) [Феклов, 1997], у молоди радужной

форели в условиях эксперимента [Захарова, 1984] и у рипуса *Coregonus albula*, выращиваемого в садках [Гоголева, 1983].

Сезонность в формировании фонда половых клеток и цитоморфологических особенностях превителлогенных ооцитов проявляется у всех рыб. У сибирской стерляди в яичниках II стадии зрелости обнаруживаются превителлогенные ооциты I, II, III и IV размерных групп [Кондратьев, 1977]. Для ооцитов I группы (диаметр до 30–75 мкм) характерно скопление интенсивно воспринимающего гематоксилин материала в околядерной области цитоплазмы. В ооцитах II группы (диаметр 75–110 мкм) участки такой цитоплазмы сконцентрированы вокруг ядра с образованием околядерного кольца. Зона интенсивной окраски вокруг ядра в ооцитах III группы (диаметр 110–130 мкм) расширена, а в ооцитах IV группы (диаметр 130–400 мкм) она принимает сетчатый вид. Цитохимическими методами установлено, что описанные образования в «зимних» превителлогенных ооцитах I–IV размерных групп у сибирской стерляди, как и у лососёвых [Персов, 1966] и корюшек *Osmerus eperlanus* [Кузнецов, 1975; Гарлов и др., 2014], представлены скоплениями цитоплазматического РНК-содержащего материала. Описанный тип структурной организации цитоплазмы ооцитов периода превителлогенеза обнаруживается с сентября по май. В период летнего нагула, с мая по сентябрь, в превителлогенных ооцитах зимние структуры исчезают, и цитоплазма таких ооцитов равномерно воспринимает красители [Кондратьев, 1977]. Такие же зоны интенсивной окраски, ранее описанные у карпа [Гербильский, 1939], связывались автором с сезонными особенностями. Сезонное проявление этих образований, обусловленное температурными условиями, отмечено у пеляди [Селюков, 1989], песчаной широколобки *Cottocomephorus kessleri* оз. Байкал [Зубина, 1996] и др. В ооцитах карповых рыб они состоят, главным образом, из скоплений мембранных цитоплазматических органелл (митохондрий, эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и комплекса Гольджи), отчасти вызваны действием кислых фиксаторов на цитоплазму [Емельянова, 1994]. Подробное описание и объяснение этих участков с оценкой целесообразности их использования в целях систематизации морфофункционального состояния превителлогенных ооцитов приведено в работе А.П. Макеевой и Н.Г. Емельяновой [1989].

Темп гаметогенеза у разных видов рыб различается. Он также различен в пределах одного рода [Персов, 1966, 1975; Зеленников, 2003] и даже вида [Кузнецов, 1975; 1986]. Так, у разных форм европейской корюшки превителлогенез продолжается три месяца у быстросозревающего снетка и около двух лет — у медленно созревающей корюшки [Кузнецов, 1975]. На темп роста и гаметогенеза существенное влияние оказывает температурный и кормовой режимы. Так, выращивание сибирского осетра на теплых водах водоёма-охладителя Конаковской ГРЭС ведет к сокращению периода полового созревания самок в 1,5–2 раза, при больших размерах и массе тела, а средняя плодовитость возрастает в 2 раза. У самок в возрасте 1+...2+ яичники соответствуют II жировой стадии зрелости, а большая часть половых клеток представлена превителлогенными ооцитами [Акимова, 1988, 1992].

У с а м ц о в разных видов сперматогониальный фонд формируется длительное время. Так, у озерной пеляди за пределами естественного ареала к концу летнего периода в семенниках накапливаются мелкие, функционально активные многоядерные сперматогонии (Б-типа), тогда как количество покоящихся сперматогониев (А-типа) незначительно. Однако к началу зимовки процесс сперматогенеза резко снижается и большинство половых клеток представлено крупными покоящимися сперматогониями [Вторушин, 2003]. У годовиков пеляди за пределами ареала (Ленинградская обл.) в апреле — мае основная масса половых клеток представлена покоящимися сперматогониями. В течение летнего периода проходит волна сперматогенеза, и к осени в возрасте 1+ рыбы созревают [Селюков, 1989].

Таким образом, формирование фонда половых клеток у рыб видоспецифично, что проявляется в разном темпе гаметогенеза не только у различных видов в

пределах рода, но и у разных внутривидовых группировок или даже популяций. Последнее во многом обусловлено температурным и кормовым режимами. Замедление темпа гаметогенеза или его ускорение, как правило, приходится на гониальный период, период дифференцировки пола и превителлогенез у самок или сперматогенез — у самцов.

## **5.5. Дифференцировка пола и формирование фонда половых клеток у молоди сиговых рыб в условиях УЗВ**

### **5.5.1. Развитие репродуктивной системы у муксуна**

Проведено исследование дифференцировки пола у муксуна и сига, а также формирование фонда половых клеток у этих видов в сравнении с короткоцикловым тугоном в условиях установки замкнутого цикла (УЗВ) с соблюдением типичных для сиговых рыб сезонных температур воды [Ефремова и др., 2011 а; Ефремова, 2013].

Постоянно изменяющиеся экологические условия нерестовых водоёмов Обь-Иртышского бассейна — температурный и паводковый режимы, кормовые ресурсы — вызывают повышенную изменчивость молоди и темп постэмбрионального онтогенеза. В последние несколько лет отмечается устойчивое снижение численности наиболее ценных видов р. Обь, среди которых муксун занимает лидирующее положение [Матковский, 2006, 2010]. Мероприятия по воспроизводству этого ценного вида в настоящее время недостаточны, что в немалой степени объясняется слабой изученностью формирования репродуктивной системы.

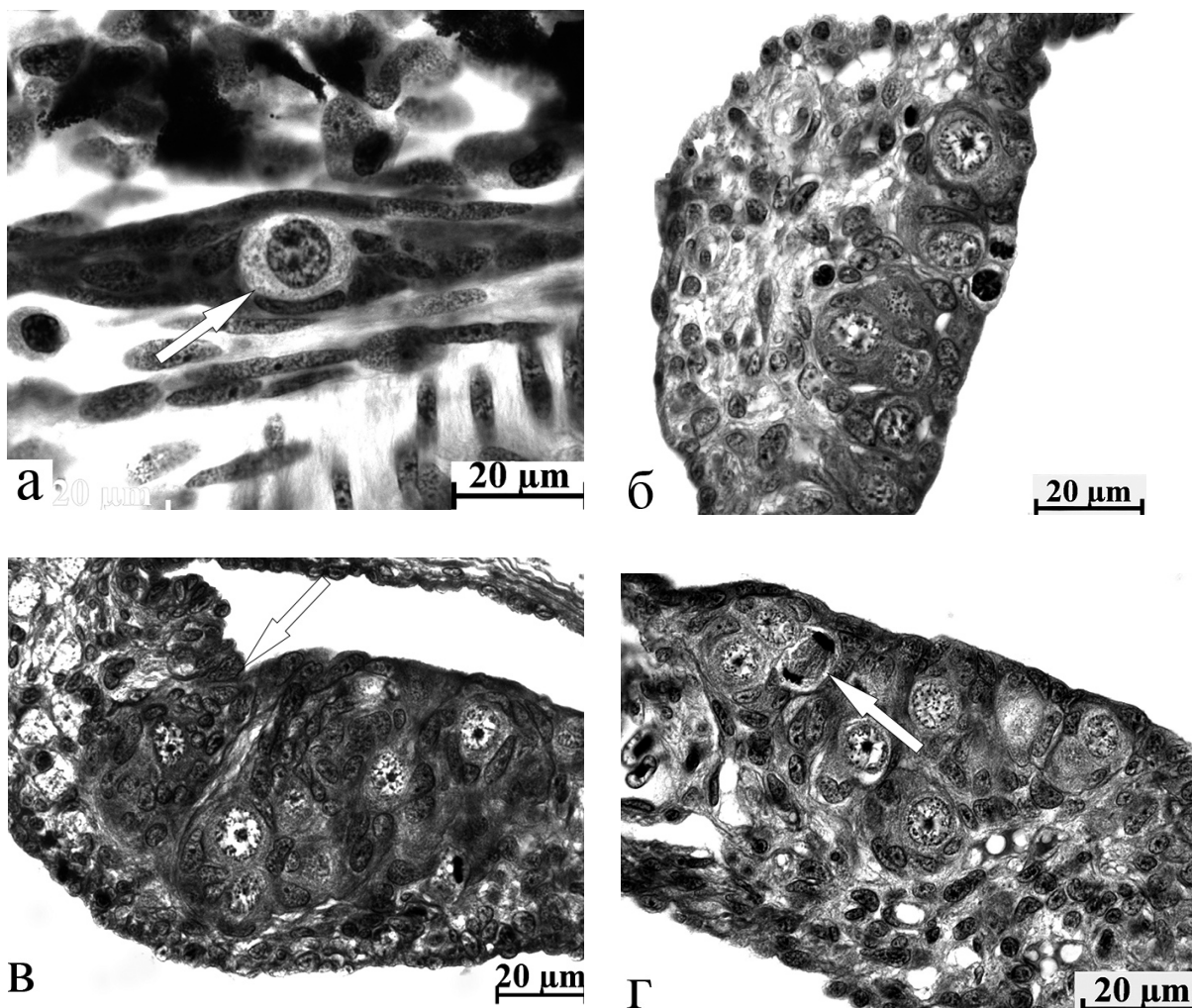
*Дифференцировка гонад.* В возрасте 31 сут у молоди в формирующихся гонадах отмечаются первичные гоноциты (рис. 25 а), и уже в 69 сут половые железы были хорошо сформированы (табл. 15 Приложения). У отдельных особей появляются первые признаки их сексуализации: на латеральной поверхности происходит инвагинация, а гонии локализуются под герминативным эпителием (рис. 25 б), что свидетельствует о начале анатомической дифференцировки по типу яичников. Пролиферирующие гониальные клетки имеют небольшие размеры, редко встречаются ППК. Митотический индекс (МИ) составляет 1,3 %. У остальных мальков половые валики едва просматриваются.

Спустя почти 2 недели, у мальков 81-суточного возраста размеры гонад возрастают. Процесс анатомической дифференцировки продолжается; у половины особей вблизи инвагинации (рис. 25 в) располагаются группы гониев. Увеличивается число гониальных митозов (рис. 25 г) — МИ достигает 2,1 %, отчего размеры клеток уменьшаются (табл. 16 Приложения).

В возрасте 96 сут у сеголеток муксуна все половые клетки представлены гониями. Вследствие увеличения размеров гонад и низкой митотической активности гониальные клетки все реже появляются в плоскости среза, их размеры уменьшаются (табл. 15, 16 Приложения).

У 116-суточных сеголеток впервые отмечаются признаки цитологической дифференцировки гонад в направлении яичников, площадь которых к этому времени значительно возрастает (табл. 15 Приложения). В ооцитах проходят мейотические преобразования (рис. 26 а). Среди оогоний отмечается незначительное количество (0,6 %) полиморфноядерных клеток.

Значительных изменений в структуре гонад у рыб в возрасте 153 сут не установлено притом, что возрастает количество ооцитов стадии пахитены и ранней диплотены (табл. 15, 16 Приложения; рис. 26 б), а доля полиморфноядерных оогоний повышается до 12,5 %. У отдельных сеголеток на фронтальных срезах мел-

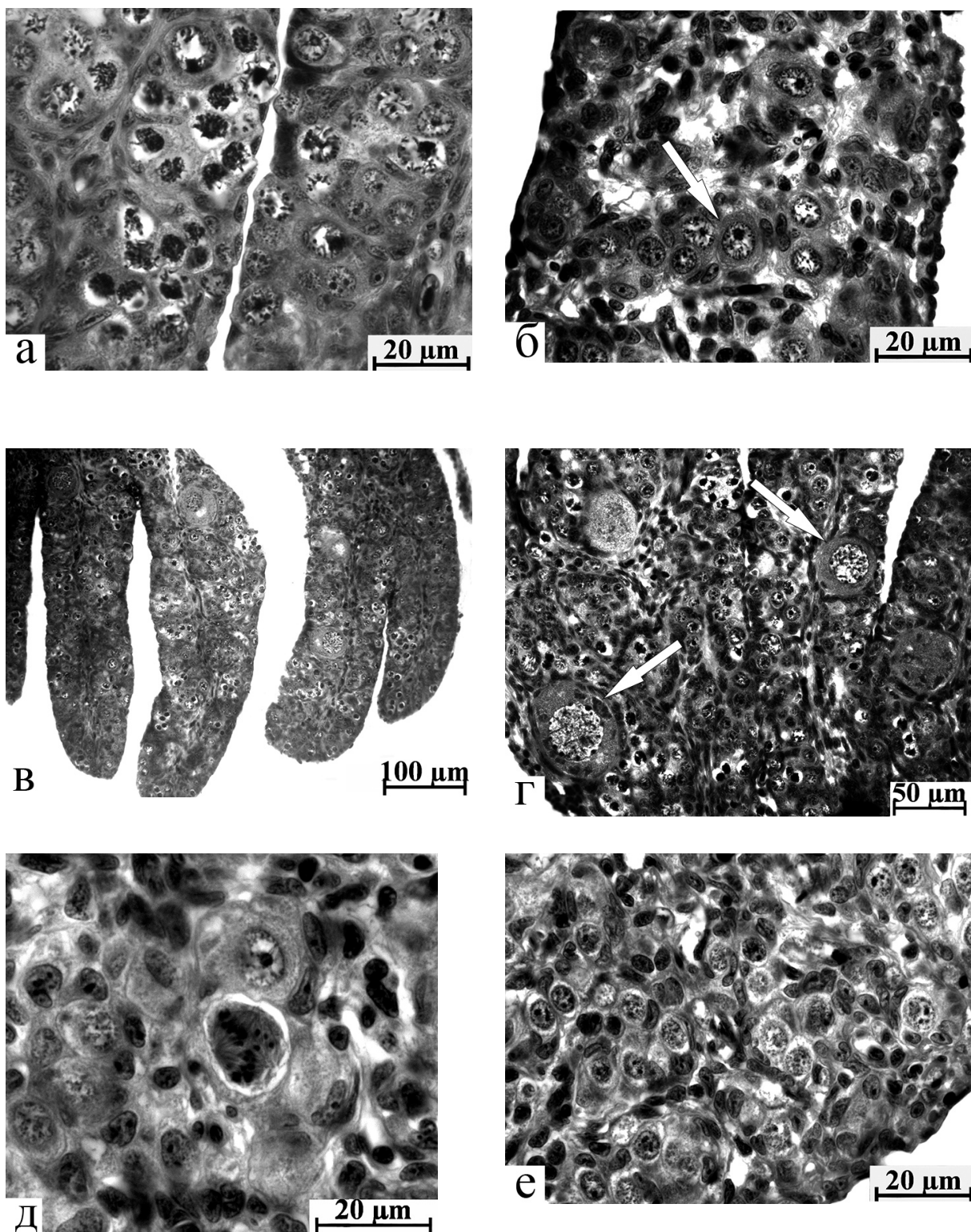


**Рис. 25.** Формирование гонад в раннем онтогенезе мускуна:  
 а — первичный гоноцит в половом зачатке; возраст 31 сут;  
 б — гонии I и следующих порядков у поверхности гонады; 69 сут;  
 в — начало анатомической дифференцировки гонады по типу яичников, гонии вблизи инвагинации (стрелка) герминативного эпителия; 81 сут;  
 г — митоз гониальной клетки перед дифференцировкой гонады; 81 сут

ких гонад кровеносный сосуд находится в дорзальной части, а редкие гониальные клетки характеризуются мозаичным распределением по всей площади среза, что позволяет считать такое состояние началом анатомической дифференцировки половой железы по типу семенников.

У сеголеток в возрасте 212 сут дифференцировка яичников все еще продолжается. Яйценосные пластинки сформированы лишь у отдельных особей (рис. 26 в), и в них появляются редкие группы превителлогенных ооцитов (табл. 16 Приложения; рис. 26 г). Среди исследованных сеголеток визуально отчетливо выделить будущих самцов оказывается невозможно, настолько слабо развиты их половые железы.

К 283-суточному возрасту в яичниках мускуна продолжает формироваться фонд половых клеток всех генераций. Размеры превителлогенных ооцитов возрастают, и в их цитоплазме наблюдаются «зоны интенсивной окраски», являющиеся местом концентрации низкомолекулярных тРНК и рРНК. У самцов в формирующихся семенниках отмечаются «аномальные» митозы (рис. 26 д). Дифференцирующиеся по типу семенников гонады к 8–9-месячному возрасту по-прежнему имеют небольшие размеры, а одиночные сперматогонии распределяются по всему объёму половой железы (рис. 26 е).



**Рис. 26.** Дифференцировка пола и формирование фонда половых клеток у мускуна:  
*а* — цитологическая дифференцировка по типу яичников;  
 ооциты стадий зиготены и пахитены; 115 сут;  
*б* — в яичниках присутствуют ооциты стадии пахитены (стрелка); 153 сут;  
*в* — участок яичника с яйценосными пластинками; 212 сут;  
*г* — превителлогенные ооциты — старшая генерация половых клеток; там же;  
*д* — в семеннике встречаются трехполюсные митозы гониев; 283 сут;  
*е* — гонии распределяются по всему объему семенника; там же

Таким образом, формирование гонад, дифференцировка пола и становление фонда половых клеток на первом году в жизненном цикле муксуна даже в благоприятных условиях содержания проходят в замедленном темпе, что позволяет считать позднее половое созревание отражением видовой специфичности.

### 5.5.2. Развитие репродуктивной системы у сига

*Индифферентный период развития гонад.* В возрасте 36 сут все половые клетки молоди сига представлены ППК достаточно крупных размеров (средний диаметр  $17,9 \pm 0,5$  мкм) с округлым ядром (диаметром  $10,5 \pm 0,4$ ) и находятся в зачатке гонады. Среднее количество клеток у одной особи составляет  $17,0 \pm 4,7$ . Полиморфно-ядерные клетки не отмечаются. Синцитиальные образования представлены двоядыми клетками и встречаются сравнительно редко (5,1 %). Митозы ППК также редки (2,6 %).

*Дифференцировка пола.* У мальков сига в возрасте 69 сут гонады уже сформированы, половые клетки представлены гониями. Отмечается более высокий митотический индекс по сравнению с МИ у муксуна в этом же возрасте (табл. 13; рис. 27 а). Дифференцировка гонад у сига проходит в возрасте 80–90 сут и продолжается дольше. Еще в возрасте 141 сут у сеголеток отмечаются признаки цитологической дифференцировки гонад по типу яичников: присутствуют оогонии и ооциты ранней профазы мейоза — ооциты стадий зиготены и пахитены (табл. 17 Приложения). В этом возрасте у более развитых особей в яичниках уже встречаются превителлогенные ооциты (рис. 27 б).

**Таблица 13.** Сравнительная характеристика состояния половых желез мальков муксуна и сига (возраст 69 сут)

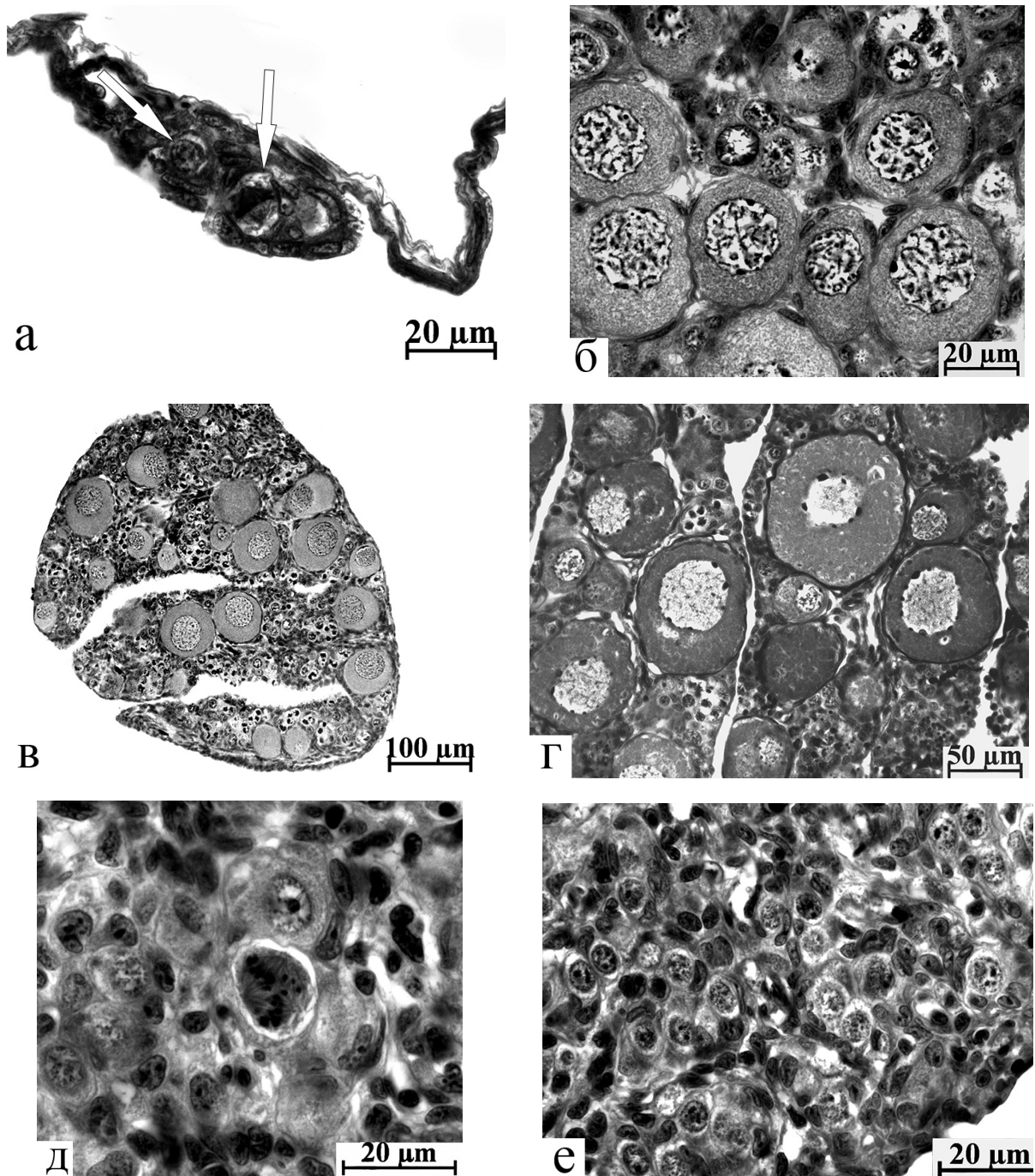
Показатели	Муксун	Сиг
Длина по Смитту, мм*	$50,0 \pm 1,6$ 43–58	$24,3 \pm 1,1$ 20–30
Масса тела, г	$1,1 \pm 0,1$ 0,6–1,9	$0,19 \pm 1,9$ 0,09–0,34
Площадь гонады на фронтальном срезе, мм <sup>2**</sup>	$0,005 \pm 0,001$ 0,004–0,008	$0,001 \pm 0,0002$ 0,0008–0,001
Гонии	$2,0 \pm 0,2$ 0–8	$1,3 \pm 0,2$ 0–4
Митотический индекс (%)	$1,3 \pm 0,9$ 0–4,9	$3,5 \pm 1,7$ 0–5,4

**Примечание:** \* Размерно-весовые показатели муксуна – 10 экз., сига – 9 экз;

\*\* Генеративные показатели муксуна – 5 экз., сига – 3 экз.

Значительных изменений в структуре половых желез у рыб в возрасте 179 сут не установлено, лишь увеличиваются размеры гонад и превителлогенных ооцитов (табл. 17 Приложения). В несколько раз возрастает митотический индекс. Процентное соотношение клеток разных состояний варьирует незначительно (табл. 18 Приложения).

В возрасте 212 сут размеры гонад продолжают увеличиваться, как и размеры превителлогенных ооцитов (табл. 17 Приложения). У наиболее крупных ооцитов начинают появляться зоны интенсивной окраски, свидетельствующие о начале концентрации прорибосомных структур в их цитоплазме. У некоторых особей отмечаются хорошо сформированные яйценозные пластинки с превителлогенными ооцитами (рис. 27 в, г).



**Рис. 27.** Формирование фонда половых клеток у сига:  
*а* — оогония и митоз оогонии (стрелки); 69 сут;  
*б* — превителлогенные ооциты в яичнике сига в возрасте 141 сут;  
*в* — участок яичника с яйценосными пластинками; 212 сут;  
*г* — превителлогенные ооциты в яичнике сига; 212 сут;  
*д* — семенник сига; 212 сут;  
*е* — сперматогонии распределяются по всему объему семенника; 212 сут

Дифференцирующиеся в направлении семенников гонады имеют мелкие размеры, а одиночные функционально активные (Б-типа) сперматогонии распределяются по всему объёму половой железы (рис. 27 д, е).

Таким образом, уже в возрасте 212 сут у сига гонады отчетливо дифференцируются в направлении яичников и семенников. При сходных с муксуном оптимальных условиях содержания темп гаметогенеза у сига выше. В этом возрасте у муксуна

превителлогенные ооциты еще только начинали появляться, а гонады, развивающиеся в направлении семенников, вообще невозможно идентифицировать.

### 5.5.3. Формирование фонда половых клеток у сиговых рыб

При сравнении формирующихся яичников у длиннопериодического муксуна и среднециклового сига с оогенезом исследованного ранее короткоциклового тугуна в сходном возрасте и при аналогичных условиях содержания, можно отчетливо видеть более продвинутый уровень развития репродуктивной системы последнего. Старшей генерацией половых клеток в его яичниках являются ооциты фазы вакуолизации цитоплазмы, а у одной особи яйцеклетки находятся в фазе накопления мелкозернистого желтка (рис. 28 а, б). Размеры ооцитов составляют  $247,9 \pm 25,1$  мкм, что почти пятикратно превосходит средние размеры редко встречающихся ооцитов в яичниках муксуна и более чем втрое — у пыжьяна. В одинаковом возрасте в среднем на одном срезе яичников тугуна число вителлогенных ооцитов составляет  $16,2 \pm 1,5$ , доля которых в составе гонады достигает 9,6 %, многократно превышая долю сравнительно мелких превителлогенных ооцитов у сигов бентофагов (табл. 14). В условиях водоёмов естественного ареала тугун, как правило, достигает половой зрелости в 1+, отличаясь от остальных сиговых рыб быстрым темпом полового созревания [Решетников, 1980; Богданов и др., 2006]. При этом его размерно-весовые показатели значительно ниже тех, которых они достигают в благоприятных условиях содержания в аквакультуре: по массе — на 75,2 %, по длине — на 38,4 % [Богданов и др., 2006]. Как можно видеть, в условиях зарегулированного режима содержания тугуна в бассейнах УЗВ достаточно полноценно реализуются его соматический и генеративный потенциалы.

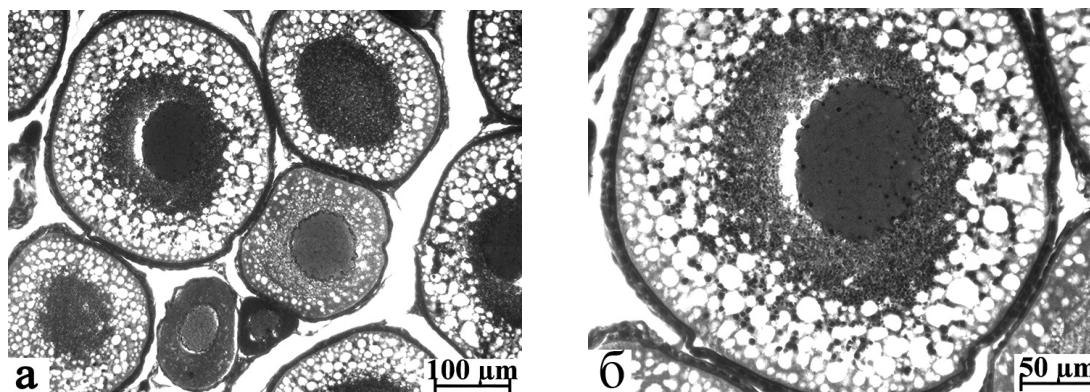


Рис. 28. Формирование фонда половых клеток у тугуна (212 см):

- а — в яичнике тугуна между вителлогенными ооцитами встречаются одиночные ооциты периода превителлогенеза;  
б — то же крупным планом; вителлогенный ооцит в фазе накопления мелкозернистого желтка

Как показывают исследования, процессы дифференцировки пола и формирования фонда половых клеток у исследуемых сиговых рыб видоспецифичны. Наиболее высоким темпом генеративного развития характеризуется короткоциклового тугун. У длиннопериодического муксуна даже в благоприятных условиях температурного, кормового и гидрохимического режимов, при высоких размерно-весовых показателях, дифференцировка пола отличается большой продолжительностью, а темп накопления фонда половых клеток низкий. Среднециклового сига по темпу роста и уровню развития репродуктивной системы занимает промежуточное положение.



**Таблица 14.** Соотношение половых клеток в яичниках сеголетов сиговых рыб с разным темпом гаметогенеза (возраст 212 сут)

Показатели		Муксун	Сиг	Тугун
Параметры рыб*	Длина по Смитту, мм	$146,8 \pm 5,9$ 123–185	$123,3 \pm 3,9$ 103–141	$111,6 \pm 1,8$ 86–125
	Масса тела, г	$35,9 \pm 5,8$ 14, –80,6	$17,3 \pm 1,9$ 9–28,2	$14,1 \pm 0,8$ 5,7–20,9
Генеративные показатели**	Площадь гонады на фронтальном срезе, мм <sup>2</sup>	$0,24 \pm 0,12$ 0,04–0,8	$0,80 \pm 0,14$ 0,35–1,08	$2,21 \pm 0,35$ 1,39–3,38
	Оогонии***	$12,3 \pm 1,5$ (0–87) (53,6 %)	$1,1 \pm 0,3$ (0 – 10) (27,7 %)	$3,1 \pm 0,7$ (0–11) (32,4 %)
	Зиготена	$2,5 \pm 0,7$ (0–38) (11,7 %)	$2,1 \pm 0,4$ (0–18) (40,4 %)	$0,7 \pm 0,3$ (0–6) (6,1 %)
	Пахитена	$9,4 \pm 1,3$ (0–96) (33,3 %)	$2,2 \pm 0,4$ (0–13) (27,4 %)	$0,4 \pm 0,2$ (0–5) (2,0 %)
	Ранняя диплотена	$0,4 \pm 0,1$ (0–4) (1,2 %)	$0,1 \pm 0,04$ (0–2) (1,8 %)	$5,4 \pm 0,8$ (0–19) (25,9 %)
	Превителлогенные	$0,2 \pm 0,1$ (0–3) (0,2 %)	$1,4 \pm 0,1$ (0–5) (2,7 %)	$12,8 \pm 1,6$ (2–31) (24,0 %)
	Вакуолизации	–	–	$16,2 \pm 1,5$ (0–31) (9,6 %)
	Диаметр ОСГ****, мкм	$51,9 \pm 0,4$ 51,5–52,2	$88,8 \pm 5,9$ 78,3–110,2	$247,9 \pm 25,1$ 196,5–318,9
	Диаметр ядер ОСГ, мкм	$32,0 \pm 0,8$ 24,9–37,8	$47,0 \pm 0,9$ 26,6–68,2	$93,5 \pm 2,6$ 86,6–99,9

**Примечание:** \* Количество экземпляров муксуна – 10, сига – 10, тугуна – 13;

\*\* Изучено на 6 особях муксуна, 5 – сига, 5 – тугуна;

\*\*\* Приводится число клеток на фронтальном срезе яичника и их доля (%) в гонаде;

\*\*\*\* Ооцитов старшей генерации (ОСГ).

При описании морфо-функциональных преобразований половых клеток у эмбрионов сиговых рыб в нормальных и экстремальных условиях, гонадо- и гаметогенез молоди, был установлен ряд фактов, игнорирование которых не представляется возможным. Рассмотрим их, по-возможности, с разных точек зрения.

## ГЛАВА 6

### РАННИЙ ГАМЕТОГЕНЕЗ РЫБ И НЕКОТОРЫЕ ЕГО ОСОБЕННОСТИ У СИГОВЫХ СИБИРИ

---

---

Объектами настоящего исследования являются представители р. *Coregonus*, относящиеся к разным морфо-экологическим группам: сиги-планктофаги (пелядь, тугун), сиги-бентофаги (пыжьян, чир) и планктобентофаг-муксун. Этот род в семействе сиговых рыб эволюционно является самым молодым [Решетников, 1980, 2010] и подразделяется на сигов с верхним и конечным ртом (подрод *Leucichthys*) и сигов с нижним ртом (подрод *Coregonus sensu stricto*), хотя некоторые авторы [Пирожников и др., 1975] относили сигов с верхним и нижним ртом к разным родам.

Ю.С. Решетников отмечает [2010], что морфологическая и экологическая дивергенция рода обусловлены широким проникновением предков современных видов в озёра и низинные биотопы в плио-плейстоценовое время. Центром возникновения *Coregonus sensu stricto* является Восточная Сибирь, откуда он расселялся в водоемы Западной Сибири, Европы и Северной Америки. «Центр возникновения и центр первоначального расселения *Leucichthys* также находится в Сибири, но этот подрод имеет два центра видообразования: один — в Сибири, где возник целый ряд эндемичных видов (тугун, пелядь, уссурийский сиг, байкальский омуль) и другой в Северной Америке (здесь же и новый центр расселения американских ряпушек)» [Решетников, 2010, с. 81].

С использованием морфо-экологических критериев [Пирожников и др., 1975; Андреев, Решетников, 1977; Решетников, 1980] и построением на их основе филогенетической эволюции, можно предположить, что внутривидовая и межвидовая в пределах рода дивергенция могла осуществляться в группах: сиги с *нижним ртом* — сиги с *верхним и конечным ртом*. Так, в рамках одного полиморфного вида *Coregonus lavaretus* имеются многочисленные мало-, средне- и многотычинковые формы, занимающие разные экологические ниши даже в одном водоёме, но характеризующиеся нижним или полунижним ртом.

Отметим, что имеется прямо противоположная точка зрения, согласно которой с использованием только лишь морфо-экологического подхода разрешить спорные вопросы внутривидовой дифференциации, реконструировать филогению сиговых практически невозможно [Балдина и др., 2008; Балдина, 2010; Политов и др., 2010].

Это утверждение авторов базируется на результатах анализа мтДНК и изоферментных локусов сиговых рыб при сопоставлении их с видовыми морфологическими признаками. По полученным ими данным, муксун и «пыжьяновидные сиги» водоёмов Сибири имеют общую пыжьяновидную предковую форму. Более того, выявленные молекулярные признаки свидетельствуют о возможности гибридогенного происхождения муксуна от пыжьяноподобного предка с участием видов комплекса ряпушек и пеляди, а имеющиеся молекулярные данные м о н о ф и л е т и ч е с к о е происхождение муксуна бассейнов сибирских рек не подтверждают [Балдина и др., 2008; Балдина, 2010]. Как указывают авторы, эти данные опровергают разделение рода *Coregonus* на подроды, но свидетельствуют о наличии нескольких эволюционных линий: ряпушек и пеляди; европейского сига, пыжьяна и

муксуна; чира; сиговых Байкала; настоящих омулей и др.; притом, что положение рта является лишь побочным следствием специфической адаптации, вызванной особенностями питания [Политов и др., 2010].

Проблеме соответствия морфологических и молекулярно-генетических данных в зоологической систематике и филогенетических реконструкциях в последнее время уделяется значительное внимание. Так, В.Ю. Ковалева и соавторы [2012] отмечают, что наблюдаемые между видами молекулярно-генетические различия обусловлены накоплением преимущественно нейтральных мутаций, а морфологические несовпадения вызваны адаптациями под действием естественного отбора. Авторами [Ковалева и др., 2012] на 12 видах грызунов (сем. Muridae и др.), как модельных объектах, было показано, что древо, построенное на матрице морфометрических расстояний, плохо соответствует не только древу, построенному на матрице молекулярно-генетических расстояний, но и современной зоологической систематике. Предложенный ими «метод объединения дистанций» к анализу данных разных типов позволяет сформировать объединённую матрицу, тем самым обозначив путь решения проблемы соответствия между морфологическими и молекулярно-генетическими классификациями в систематике.

Не отрицая результатов генетических реконструкций эволюционных линий сиговых рыб [Политов и др., 2010], обратим внимание на исследование генетического полиморфизма популяций этих видов [Андрияшева, 2011], в ходе которого установлена их агрегация в несколько дискретных генетических групп. Причем величина генетического расстояния между муксуном и сигом ( $D_N = 0,010$ ) оказалась типичной для географически разобщённых популяций в пределах одного вида. При этом М.А. Андрияшева полагает, что полученные оценки генетической дифференциации, основанные преимущественно на суммарных величинах индексов сходства или различия, не могут являться достаточным основанием для оценки их генеалогических отношений. Для подобного утверждения необходимо обращаться к распространению в популяциях отдельных качественных признаков, которые строго генетически детерминированы, и иллюстрируются следующим примером. Во многих популяциях сига с высокой частотой обнаруживается аллель *IDDH\**f**, который не встречается у муксуна, симпатрически обитающего с сигом на всём пространстве от Оби до Колымы. Это предполагает мощный репродуктивный барьер между ними, величина которого «...сопоставима с силой изолирующих механизмов, ограждающих целостность генофондов других сиговых рыб от взаимного «размывания» при спонтанной гибридизации» [Андрияшева, 2011, с. 424]. Доля природных гибридов между сигом и муксуном не превышает соответствующую величину между другими сиговыми и косвенно подтверждает, на взгляд автора, эволюционное обособление сига и муксуна, что, впрочем, пока не установлено современными методами генетического анализа.

Однако отметим, что дискуссия ведётся на материале, полученном на взрослых, морфофункционально зрелых особях. Очевидно, что для получения полноценной картины межвидовых связей сиговых рыб следует обратиться и к ранним этапам развития — эмбриональному и раннему постэмбриональному, судьбоносным в ходе закладки и формирования органов и систем органов. При сопоставлении развития отдельных видов в пределах рода становится возможным установление внутри- или межвидовых различий в ответ на экологические условия, ведущие к появлению особей с отклонениями, выявить их видовую специфичность.

Так, при изучении развития линии половых клеток у эмбрионов сиговых рыб, начиная с эмбрионального периода и формирования репродуктивной системы до дифференцировки пола и гаметогенеза у сеголеток, нами был выявлен ряд морфологических особенностей половых клеток, которые отражают проявление как видовой, так и внутривидовой специфичности.

Как было ранее отмечено, цитоморфологические показатели первичных гоноцитов у исследованных эмбрионов сиговых рыб почти не различаются, хотя некоторые количественные характеристики и особенности пролиферативной активности позволяли считать такие проявления следствием видовой специфичности. Несмотря на то, что наличие синцитиальных комплексов ППК, их количество, число ядрышек, размеры ядер и клеток у эмбрионов и предличинок разных видов существенно различаются, диапазон варьирования этих признаков достаточно велик, что свидетельствует о низкой таксономической ценности учитываемых параметров.

Проведенный по 5 цитометрическим показателям ППК дискриминантный анализ показал, что в эмбриогенезе на этапе пигментации глаз (когда формируются отделы головного мозга, образуется система кровообращения желточного мешка и возрастает чувствительность к снижению кислорода) именно число ядрышек является наиболее значимым признаком для фиксации межвидовых различий. Такой показатель как число синцитиальных образований или количество ППК в них не может иметь существенного значения. Ранее предполагаемое [Селюков и др., 2008 б, 2010] соотношение одиночных ППК и первичных гоноцитов в составе синцитиальных структур как отражение уровня их пролиферативной активности, обусловленное видовой спецификой, скорее всего, вызвано половой специфичностью [Saito et al., 2007; Lewis et al., 2008; Tanaka et al., 2008]. В ходе проведенного анализа таксономическая ценность данного показателя не подтвердилась. Выше отмечалось, что в эмбриональный период выявляются отчётливые различия между отдельными видами и по цитометрическим параметрам ППК возможно провести разделение эмбрионов сигов-планктофагов и пыжьяна, с одной стороны, и чира и муксуна — с другой.

Напротив, при вылуплении наибольший вклад в разделение видов вносит диаметр ядра, за которым следует диаметр клетки, а количество ядрышек отстывает на третье место. В этот период у разных видов отмечается различная степень готовности к переходу ППК к митозу, чему предшествует увеличение объёмов их ядра и цитоплазмы. Тем не менее, проведённый на этапе вылупления дискриминантный анализ по цитометрическим показателям первичных гоноцитов — важнейшим для видовой характеристики линии клеток, — позволил отчетливо разделить изучаемых нами представителей р.*Coregonus* на две группировки, которые вполне соответствуют п/р *Leucichthys* и п/р *Coregonus sensu stricto*.

Отмеченные нами у эмбрионов сиговых рыб надклеточные структуры синцитии ППК, в работах на эмбрионах и молоди лососевидных рыб ранее не описывали [Персов, 1962, 1966, 1975; Захарова, 1984]. У рыб других таксонов на представленных микрофотографиях первичных половых клеток эмбрионов — обыкновенного окуня *Perea fluviatilis* [Межнин, 1978], бычка кругляка *Neogobius melanostomus* [Моисеева, 1983], полученных от естественного нереста, достаточно отчетливо идентифицируются синцитиальные комплексы ППК, аналогичные описанным нами группам пролиферирующих ППК у сиговых рыб. Однако авторы их даже не отмечали.

Лишь в последнее десятилетие исследователи обратили внимание на синцитиальные структуры ППК. Выдвинуты первые гипотезы их происхождения и причины проявления. Так, у медаки в формирующихся гонадах самцов половые клетки окружены тонким слоем соматических клеток и отделены одна от другой [Saito et al., 2007], в то время как в гонадах самок зародышевые клетки морфологически классифицируются на два типа: I тип — большие, обособленные зародышевые клетки; II тип — кластеры мелких, плотно упакованных зародышевых клеток (цисты зародышевой линии), окруженные соматическими клетками. В этих кластерах зародышевые клетки связаны межклеточными мостами без вклинивания между ними соматических клеток. Межклеточные мосты, соединяющие соседние

ППК, подтверждают, что эти группы представляют синцитиальные цисты зародышевых клеток.

Клетки I типа развиваются только по мужскому пути, но оба типа пролиферации могут наблюдаться в будущем яйчнике. Поставленный эксперимент с мутантной линией гена *zenzai* позволил этим авторам предположить, что клетки I типа исходно относятся к линии герминативных стволовых (зародышевых) клеток и вовлечены в их самовозобновление; II тип обеспечивает формирование цист и гаметогенез. Исследователи заключают, что женские зародышевые клетки дифференцируются намного раньше, чем мужские, что было известно для лососевидных рыб и ранее [Персов, 1975].

То, что ППК в составе синцитиальных комплексов пролиферируют, было также показано в работах на медаке [Saito et al., 2007], а среди млекопитающих — у эмбрионов и молоди мыши *Mus musculus* [Epifano, Dean, 2002].

При изучении процесса миграции ППК в половые зачатки у зародышей мыши было установлено, что в первых партиях мигрирующих ППК к закладкам гонад они перемещаются обособленно друг от друга [Gomperts et al., 1994]. В следующих группах первичных гоноцитов клетки также независимо одна от другой мигрируют из области задней кишки к дорсальной брыжейке, но вблизи половых валиков начинают при посредстве отростков формировать сеть, которая собирает ППК в группы. Аналогичное явление отмечают у данио [Saito et al., 2011]. Иной путь формирования синцитиев у мыши в постнатальный период, но сопоставимый с описанным японскими авторами на медаке [Saito et al., 2007], был представлен другими исследователями [Epifano, Dean, 2002]: появившись в формирующихся яйчниках на 5–6 неделе после оплодотворения, гоноциты достигают максимальной численности к 20 неделе. При этом отмечается образование синцития — плотного конгломерата клеток вследствие незавершенной пролиферации, т.е. синцитий представляет собой одну многоядерную клетку с объединенными органеллами. Синцитий играет важную роль в будущей судьбе формирующихся ооцитов. Таким образом, подтверждается преимущественно полоспецифичный характер синцитиев ППК. Здесь также отметим, что у наиболее длинноциклового среди сиговых *Coregonus* — муксуна и самого короткоциклового вида — тугуна, от 20 до 42 % ППК находятся в составе синцитиальных скоплений. По-видимому, у тугуна — это способ быстрого формирования фонда половых клеток для перехода к созреванию, а у муксуна — формирование максимальной плодовитости в течение длительного срока.

В нашем исследовании цитоморфологических характеристик ППК в составе синцитиев постоянно фиксировали их полиморфноядерность, двух- и многоядерность с последующим разделением на отдельные ППК. Полиморфноядерность ППК в различные периоды эмбриогенеза отмечалась и другими авторами [Сакун 1964; Персов, 1975; Межнин, 1978; Моисеева, 1983]. Как можно видеть на представленных нами иллюстрациях, у эмбрионов тугуна, чира, муксуна, пыжьяна между отдельными ядрами начинают образовываться перетяжки, что свидетельствует о начале формирования многоклеточных структур.

Частота появления синцитиев ППК в процессе миграции половых клеток в зачатки гонад, как предполагалось, могла быть вызвана либо действием токсикантов, либо влиянием температурного фактора [Селюков и др., 2008 б] или следствием процесса незавершенной пролиферации [Селюков и др., 2010, Селюков, 2012], когда в выборке преимущественно оказывались будущие самки.

Эксперимент с использованием наиболее часто применяемого в токсикологии раствора фенола на эмбрионы сига и его гибрида с рипусом имел целью выявить влияние интоксикации на цитоморфологические показатели ППК сиговых рыб. Проведенные исследования позволили получить новые данные по особенностям видоспецифической реакции на интоксикацию, как на уровне целого организма, так и формирующейся линии половых клеток [Ефремова и др., 2011 б; Ефремова, 2013].

В нашем эксперименте выбор относительно устойчивых состояний (этап органогенеза и стадия пигментации глаз) был вызван необходимостью выявления степени поражения зародыша и цитоморфологических отклонений ППК применяемыми концентрациями фенола как модели для эмбриогенеза сиговых рыб в условиях естественных водоёмов, подвергающихся относительно продолжительной интоксикации, но с последующим периодическим очищением воды.

Было показано, что и при околонулевых температурах, когда для эктотермных организмов токсичный эффект должен быть понижен, метаболизм в зародышевый период оказывается достаточным для продолжающегося угнетения развития даже после их перевода в чистую среду, и в дальнейшем сопровождается уродствами и гибелью.

Установленные различия в токсикорезистентности показали разную реакцию эмбрионов сига и его гибрида с рипусом. Так, у сига возрастала доля синцитиев, и у некоторых отмечался их распад, тогда как у гибрида дезинтеграция ядрышек ППК с последующим их исчезновением начиналась сегрегацией ядрышковых компонентов — гранулярно-фибриллярного и фибриллярного центра, что ведет к прекращению синтеза рибосомных РНК.

В постэмбриональный период завершаются процессы миграции и концентрации ППК в зачатках гонад, попав в которые они уже именуется гоноцитами. Эти процессы, протекающие у молоди сиговых рыб от 10–12 сут, у тугуна до 30–40 сут, у остальных, практически не приводят к митозам гоноцитов. При этом их число варьирует в широких пределах, что может быть обусловлено либо присутствием в выборках особей разного пола, либо продолжающейся фрагментацией синцитиальных комплексов на отдельные гоноциты [Селюков, 2010].

После перехода к митозам у молоди сиговых накапливается гониальный фонд, наиболее быстро формирующийся у быстросозревающего тугуна, что отмечается как в норме, так и в эксперименте [Селюков и др., 2003; Беспоместных, 2007], и в зависимости от темпа гонадо- и гаметогенеза у того или иного вида, с разной степенью интенсивности проходит дифференцировка пола. Так, при исследовании дифференцировки пола радужной форели методами молекулярной генетики было установлено, что половые различия определяются на 32 сут после оплодотворения по экспрессии генов *cyp19a1* и *fst* у самок и *sox9a1* — у самцов [Vizziano et al., 2007]. В дальнейшем, после достижения возраста 35 сут, т.е. у предличинок, дифференцировка пола обусловлена экспрессией генов *foxl2a*, *foxl2b*, *hsd3b1* и *inha* у самок и *sox9a2*, *dmrt1*, *cyp11b2.1*, *amh* — у самцов. У самок ген *cyp19a1* локализован в соматических клетках на вентральной стороне гонад, а гены *sox9a2* и *amh* — в соматических клетках ниши, окружающих гоноциты; у самцов гены *cyp11b2.1*, *cyp17a1* и *cyp11a1* экспрессируются только через 46 сут после оплодотворения в разбросанных по всему объёму гонад клетках стромы будущего семенника. Такой же характер расположения гоноцитов мы отмечали при цитологической дифференцировке пола у муксуна и сига: в области инвагинации на вентролатеральной поверхности будущих яичников или диффузно рассеянных по всему объёму гонады, развивающейся в семенник. Этот тип распределения половых клеток в формирующихся яичниках и семенниках демонстрировали все исследователи раннего гаметогенеза рыб [Персов, 1966; Статова, Томнатик, 1970; Зеленков 1982, 1990; Захарова 1984; Селюков, 1985; Ахундов, Федоров, 1990; Meijide et al., 2005].

В обзоре работ по дифференцировке пола у млекопитающих отмечалось, что в процессах пролиферации и дифференцировки половых клеток эмбриональной гонады наряду с факторами роста важную роль играют некоторые активные метаболиты [Кожухарь, 2011 б]. Так, *ретиноевая кислота* (РК), активный природный метаболит витамина А, влияет на рост и дифференцировку различных клеток, в т.ч. половых. Она синтезируется в первичной почке (мезонефрос) и увеличивает число ППК, вступивших в миграцию, активируя их митозы. Это БАВ является ключевым

индуктором мейоза не только у млекопитающих, но и у птиц, и амфибий [Smith et al., 2008, Wallacides et al., 2009, цит.: Кожухарь, 2011 б]. В качестве фактора, предотвращающего начало мейоза в гонадах эмбрионального семенника, выступает фермент *Syp26b1*, разрушающий РК. Экспрессия гена *Syp26b1* в норме отмечается в индифферентных эмбриональных гонадах XX и XY, но затем в будущем яичнике она почти прекращается, а в семеннике усиливается, что вызывает ингибирование начала мейоза [Bowles et al., 2006, Koubova et al., 2006, цит.: Кожухарь, 2011б]. Транскрипты *Nanos2* и *Pum2* связываются с мРНК, влияющей на дифференцировку половых клеток и ингибируют мейоз, а РК и ее аналог — промейотический фактор AtRA, подавляют *Nanos2* как в эмбриональных, так и в постнатальных половых клетках, выступая в роли активаторов мейоза [Barríos et al., 2010, цит.: Кожухарь, 2011б].

Таким образом, в регулировании вступления половых клеток на женский или мужской путь развития прослеживается аналогия с процессом определения пола гонад. Исходный тип развития половой железы — женский. Для вступления на путь дифференциации по мужскому типу необходимы активация гена *Sry* и последующий каскад взаимодействий. При цитологической дифференцировке пола на развитие половых клеток по женскому пути (вступление в раннюю профазу мейоза) влияет основной мейозиндуцирующий фактор — РК. Для вступления на мужской путь развития начинается воздействие ряда факторов, подавляющих РК: ее разрушение ферментом *Syp26b1*, воздействие *Nanos2* и т.д.

У разных видов сиговых рыб нами отмечен различный темп гонадо- и гамето-генеза, что проявляется уже на ранних этапах постэмбрионального онтогенеза. Наиболее быстрый гаметогенез установлен у тугуна, наиболее медленный — у муксуна. Характеризуя низкий темп дифференцировки гонад и накопления фонда половых клеток у муксуна, вновь обратимся к возможному происхождению этого вида.

Муксун является монотипичным длинноцикловым представителем сиговых рыб. Если в р. Обь самки муксуна ранее созревали в 6–7 лет [Москаленко, 1958], в реках Якутии — от 9+...11+ до 13+...14+ [Москаленко, 1958; Дормидонтов, 1974], то в условиях современного загрязнения Оби их половое созревание задерживается до 8+...11+ и более [Исаков, Селюков, 2010]. Установленная зависимость продолжительности оогониального периода и периода протоплазматического роста от температурного режима, влияющего на сроки полового созревания [Кузьмин, 1975], как это показано [Ефремова и др., 2011а], требует уточнения. Мы отмечали, что при благоприятных температурных, кислородных и кормовых условиях содержания у особей обоих полов гониальная пролиферация понижена, а дифференцировка пола и начало формирования превителлогенных ооцитов растягивается на несколько месяцев. В сравнении с аналогичными процессами у молоди пеляди [Селюков, 1985], тугуна [Селюков и др., 2010], и у муксуна при сходных размерно-весовых параметрах уровень развития гонад несоизмеримо ниже. Темп их гонадогенеза совпадает с темпом развития половых желез в эксперименте с байкальским омулем [Захарова, 1997], однако температуры воды при содержании омуля в летний период были намного ниже (10,7–17,1 °С), чем при выращивании муксуна (20–22 °С), что дополнительно подчеркивает слабое развитие репродуктивной системы последнего.

Низкий темп гонадогенеза и, соответственно, медленное половое созревание муксуна, очевидно, предполагает столь же длительный период накопления фонда половых клеток до перехода к половой зрелости. Эта тенденция сохраняется в дальнейшем, когда посленерестовая репарация репродуктивной системы у самок продолжается в течение двух- и трёхлетнего цикла [Селюков, 2007, 2012; Исаков, Селюков, 2010]. Только в благоприятных условиях за пределами естественного ареала длительность овариального цикла не превышает двух лет [Кузьмин, 1975].

Возможно, что столь медленное развитие репродуктивной системы муксуна согласуется с ранее изложенными представлениями о его гибридном происхождении [Балдина и др., 2008; Политов и др., 2010]. Известно, что лососевидные рыбы, к

которым относятся и сиговые, являются тетраплоидами [Васильев, 1985; Андрияшева, 2011] и отличаются высоким темпом гаметогенеза [Персов, 1975]; среди неотипичных сиговых таковым является тугун [Селюков и др., 2010].

У моноциклических тихоокеанских лососей наиболее интенсивный темп гаметогенеза свойственен горбуше [Персов, 1975] и фонд превителлогенных ооцитов этого вида («унитарный фонд») формируется у молоди массой 180–350 мг к моменту пократной миграции в конце мая — июне [Зеленников, 2003]. При этом оогонии и ранние мейоциты встречаются единично. Этим же автором показано, что у кеты, созревающей на 2–3 года позднее горбуши, формирование фонда превителлогенных ооцитов более длительно и завершается в морской период жизни при массе молоди 2–3 г. У нерки *O. nerka* формирование унитарного фонда превителлогенных ооцитов, характерного для тихоокеанских лососей, длится намного дольше, чем у горбуши *O. gorbuscha* и кеты. Среди тихоокеанских лососей наиболее продолжительное формирование старшей генерации ооцитов, из которой в дальнейшем сформируется унитарный фонд яйцеклеток, отмечается у молоди кижуча *O. kigutch*. Все половые клетки, появившиеся в результате митотических делений оогоний уже после формирования фонда превителлогенных ооцитов, подвергаются резорбции. Таким образом, у самок разных видов рода *Oncorhynchus* продолжительность периода размножения оогоний и вступления их в раннюю профазу мейоза после формирования старшей генерации половых клеток существенно различается. У молоди горбуши дальнейшее размножение оогоний сразу блокируется, у молоди кеты и симы это происходит несколько позднее, еще позднее — у нерки, а в яичниках у кижуча фонд оогоний и мейоцитов сохраняется дольше всего, в течение года после формирования клеток старшей генерации [Зеленников, 2003].

Однако видоспецифические особенности темпа гонадо- и гаметогенеза рыб существенно корректируются факторами окружающей среды, в первую очередь, температурой и условиями нагула (кормовой режим и химизм воды). Так, у молоди волжской стерляди этап закладки гонад продолжается при температуре воды 22 °С в течение одного месяца, а при 15 °С длится около трех месяцев, завершаясь при одинаковом количестве градусо-дней — 1350 [Ахундов и др., 1992]. Дифференцировка пола у самок обской стерляди начинается в возрасте более года, появление ооцитов стадии диплотены, а затем — превителлогенных осуществляется в еще более позднем возрасте [Персов, 1975]. Следовательно, задержка развития гонад у осетровых рыб может происходить не только на II стадии зрелости, но и в индифферентный период. Возможность длительной задержки развития половых желез рассматривается [Персов, 1969, 1975] как одна из видовых адаптаций, характеризующих пластичность воспроизводительной системы.

При анализе состояния фонда половых клеток в семенниках неполовозрелых самцов сиговых рыб в Обской губе в течение зимнего периода было установлено, что у сибирской ряпушки в этот период годового цикла протекает интенсивный сперматогенез [Исаков, Селюков, 2010]. В стенках семенных ампул присутствуют цисты с половыми клетками на разных стадиях развития. Основную массу составляют цисты со сперматогониями Б-типа, в меньшем количестве — со сперматоцитами I и II порядков, изредка отмечаются цисты со сперматидами, т.е. период волны сперматогенеза у самцов этого вида продолжается в течение всей зимовки. В отличие от ряпушки, сперматогенез у чира в зимний период замедляется, половые клетки представлены сперматогониями А- и Б-типов, а период «волны сперматогенеза» приходится только на летнее время. У муксуна и пеляди сперматогонимальный фонд формируется в зимний период, а волна сперматогенеза проходит в начале летнего нагула [Исаков, Селюков, 2010].



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

---

---

Полученные нами данные о характере и темпе развития линии половых клеток в эмбриогенезе, гамето- и гонадогенезе у молоди и сеголеток сиговых рыб в пределах рода *Coregonus* свидетельствуют об определенных различиях в развитии их репродуктивной системы, отчетливо проявляющихся как в сходных благоприятных условиях, так и в экстремальных, демонстрирующих высокий уровень её экологической пластичности.

Проведенные исследования показали, что в раннем онтогенезе у эмбрионов и личинок пяти видов сиговых рыб при формировании линии половых клеток основные межвидовые различия проявлялись в цитоморфологических показателях первичных гоноцитов. В период эмбрионального развития, с начала пигментации глаз до вылупления, основные различия заключаются в количественной динамике ППК, частоте встречаемости полиморфноядерных, двух- и многоядерных первичных гоноцитов, ППК в составе синцитиев: у муксуна и тугуна они отмечаются наиболее часто, реже у пыжьяна и чира, менее разнообразны половые клетки у пеляди. Наличие таких структур свидетельствует о высокой пролиферативной активности ППК в этот период онтогенеза.

По совокупности цитометрических параметров ППК в раннем онтогенезе с использованием дискриминантного анализа оказалось возможным подтвердить разделение сиговых рыб, по меньшей мере, на две группировки: тугун — пелядь и муксун — пыжьян — чир. Согласно полученным данным, именно ядрышки первичных гоноцитов являются ведущим критерием в разделении видов, что обусловлено их генезисом, значимостью в цитодифференцировке и функциональными характеристиками. Доказательства получены при изучении динамики состояния ядрышек при содержании эмбрионов в экстремальных условиях. Установлено, что, снижая жизнеспособность зародышей сиговых рыб, фенольная интоксикация подавляет развитие репродуктивной функции, что в первую очередь проявляется в нарушении морфологии ядрышкового аппарата. Под действием токсиканта снижаются другие репродуктивные показатели, накапливаются аномалии, сохраняющиеся после перевода зародышей в благоприятные условия и длительного содержания в них, причем восстановления репродуктивной функции не происходит.

В постэмбриональный период у молоди и сеголеток разноциклового вида сиговых рыб — тугуна, сига и муксуна, при их содержании в благоприятных условиях гидрологического, гидрохимического и кислородного режимов и при кормлении *quantum satis* отчетливо просматриваются особенности прохождения дифференцировки пола, формирования гонад и становления фонда половых клеток на первом году жизни. Однако, темп гонадо- и гаметогенеза, в целом отражая специфику жизненного цикла этих рыб, в промышленных условиях содержания протекает интенсивнее, чем в естественных.

Резюмируя результаты проведенных исследований, акцентируем внимание на ниже изложенных положениях.

Морфологические и цитометрические различия первичных гоноцитов в эмбриогенезе разных видов сиговых рыб обусловлены видовыми особенностями —

наибольший диапазон морфофункционального состояния ППК у тугуна, наименьший — у пеляди.

При оценке межвидовых различий эмбрионов сиговых рыб по цитометрическим параметрам ППК их значимость снижается в следующем порядке: число ядрышек, диаметр ядра, диаметр клетки, число синцитиальных образований, число ППК; на этапе вылупления число ядрышек не всегда занимает лидирующее положение.

На этапе вылупления тугун и пелядь по совокупности цитометрических параметров ППК отчетливо дискриминируются от остальных видов, что может подтверждать таксономическую подразделённость сиговых рыб рода *Coregonus* на цитоморфологическом уровне.

Влияние токсикантов (раствор фенола) на эмбрионов сига и его гибрида с рипусом дозозависимо и характеризуется пролонгированным эффектом даже после их перевода в чистую воду; наибольшие патоморфологические изменения проявляются в нарушении пигментации тела и крови, искривлении позвоночника, задержке развития; дегенерация ППК начинается с деструкции ядрышек, которая в наибольшей степени выражена у гибридной формы.

Уровень развития гонад и темп оогенеза у сеголеток сиговых рыб с разной продолжительностью жизненного цикла при содержании в благоприятных условиях нагула существенно возрастает в направлении длинноциклового муксун → среднециклового сига → короткоциклового тугуна, характеризуя специфику гонадо- и гаметогенеза этих видов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

---

---

1. Айзенштадт Т.Б. Цитология оогенеза. — М.: Наука, 1984. — 247 с.
2. Акимова Н.В. Гаметогенез и половая цикличность сибирского осетра в естественных и экспериментальных условиях // В кн.: Особенности репродуктивных циклов у рыб в водоёмах разных широт. — М.: Наука, 1985. — С. 111–122.
3. Акимова Н.В. Нарушения в развитии половых клеток у сибирского осетра при тепловодном выращивании // Тез. докл. IV Всес. конфер. по раннему онтогенезу рыб. — М., 1988. — С. 4–6.
4. Акимова Н.В. Энергетический обмен и репродукция сибирского осетра // Мат-лы VIII научн. конфер. по экологич. физиол. и биохимии рыб. — Петрозаводск, 1992. — С. 6–7.
5. Акимова Н.В., Рубан Г.И. Систематизация нарушений воспроизводства осетровых (*Acipenseridae*) при антропогенном воздействии // Вопр. ихтиологии. — 1996. — Т. 36. — № 1. — С. 65–80.
6. Акимова Н.В., Рубан Г.И. Аномалии в развитии и функционировании воспроизводительной системы сибирского осетра *Acipenser baerii* Brandt (*Acipenseridae*) реки Енисей // Изв. РАН. Сер. биол. — 2009. — № 5. — С. 627–631.
7. Александрова Я.Н. Роль митохондрий в биогенезе зародышевых детерминантов. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Владивосток, 2005. — 23с.
8. Алов И.А., Брауде А.И., Аспиз М.Е. Основы функциональной морфологии клетки. — М.: Медицина, 1969. — 402 с.
9. Андреев В.Л., Решетников Ю.С. Исследование внутривидовой и морфологической изменчивости сига *Coregonus lavaretus* (L.) методами многомерного статистического анализа // Вопр. ихтиологии, 1977. — Т. 17. Вып. 5. — С. 862–878.
10. Андрияшева М.А. Генетические аспекты разведения сиговых рыб. — СПб.: ГосНИОРХ, 2011. — 639 с.
11. Андрияшева М.А., Черняева Е.В. Последствия инбридинга у пеляди // Сб. научн. трудов ГосНИОРХ, 1985. — Вып. 228. — С. 23–33.
12. Анпилова В.И. Биология и разведение баунтовского сига // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. — Л.: ГосНИОРХ, 1967. — Т. 63. — С. 74–124.
13. Архипчук В.В., Романенко В.Д., Макарова Т.А. Закономерности изменения ядрышкообразующей функции в онтогенезе карповых рыб // Успехи современной биологии. — 1993. — Т. 113. — Вып. 5. — С. 626–636.
14. Ахмадиева А.В. Морфофункциональное исследование стволовых клеток беспозвоночных животных с репродуктивной стратегией, включающей бесполое размножение. Автореф. ... канд. биол. наук. Владивосток: Институт биологии моря ДВО РАН. — 2008. — 23 с.
15. Ахундов М.М., Федоров К.Е. Ранний гамето- и гонадогенез осетровых рыб. О критериях сравнительной оценки развития половых желез молоди на примере русского осетра *Acipenser gueldenstaedti* // Вопр. ихтиологии. — 1990. — Т. 30. Вып. 56. — С. 963–973.

16. Ахундов М.М., Касимов Р.Ю., Федоров К.Е., Ахундова Г.Г. Экологическая пластичность процессов закладки и сексуализации гонад у молоди осетровых рыб // Мат-лы VIII научн. конфер. по экологич. физиол. и биохимии рыб. — Петрозаводск, 1992. — С. 14–15.
17. Балдина С.Н. Внутривидовая генетическая дифференциация и филогеография сигов (р. *Coregonus*) Сибири. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — М.: Институт Общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 2010. — 23 с.
18. Балдина С.Н., Гордон Н.Ю., Политов Д.В. Генетическая дифференциация муксуна *Coregonus muksun* (Pallas) и родственных видов сиговых рыб (Coregonidae, Salmoniformes) Сибири по мтДНК // Генетика, 2008. — Т. 44. — № 7. — С. 896–905.
19. Белоусов И.Ю. Оогенез и особенности созревания яйцеклеток чира *Coregonus nasus* (Pallas) в естественном ареале и в условиях аквакультуры за его пределами. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — Л., 1991. — 17 с.
20. Беляев В.А., Федоров К.Е., Сакун О.Ф. Оогенез и особенности функции половых желез у рыб эпинерестического комплекса течения Куроисио. — СПб.: СПб ГУ, 2004. — 124 с.
21. Берекеля Л.А., Пономарев М.Б., Микрюков А.А. и др. Молекулярные механизмы детерминации клеток зародышевого пути // Молекулярная биология, 2005. — Т. 39. — № 4. — С. 664–677.
22. Беспоместных Г.Н. Формирование систем органов у сиговых рыб (genus *Coregonus*) под влиянием природных и антропогенных факторов разной интенсивности. Дисс. ... канд. биол. наук. — Тюмень: ТюмГУ, 2007. — 177 с.
23. Богданов В.Д. Эмбриональное развитие обского чира в естественных условиях // Морфология, структура популяций и проблемы рац. исп. лососевидных рыб. — Л., 1983а. — С. 16–17.
24. Богданов В.Д. Видовые особенности личинок некоторых сиговых (Coregonidae) рыб на этапе вылупления // Вопр. ихтиологии, 1983 б. — Т. 23. — Вып. 3. — С. 449–459.
25. Богданов В.Д. Изучение динамики численности и распределения личинок сиговых рыб реки Северной Сосьвы. — Свердловск: ИЭРиЖ УрО АН СССР, 1987. — 59 с.
26. Богданов В.Д. Экология молоди и воспроизводство сиговых рыб нижней Оби. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. — М., 1997. — 38 с.
27. Богданов В.Д. Морфологические особенности развития и определитель личинок сиговых рыб р. Обь. — Екатеринбург: ИЭРиЖ УрО РАН, 1998. — 53 с.
28. Богданов В.Д. Эмбриональное развитие сиговых рыб на естественных нерестилищах в уральских притоках нижней Оби // Научн. вестник. Экология растений и животных севера Западной Сибири, 2006. — Вып. 6 (2) (43). — С. 3–17.
29. Богданов В.Д., Богданова Е.Н., Госькова О.А. и др. Рыбы бассейна Нижней Оби // Экология рыб Обь-Иртышского бассейна. — М.: Т-во научных изданий КМК, 2006. — С. 252–325.
30. Богданов В.Д. Выживание икры сиговых рыб на нерестилищах в уральских притоках нижней Оби // Научн. вестн. Ямало-Ненецк. авт. окр., 2007. — Вып. 2 (46). — С. 42–49.
31. Богданова В.А. Гаметогенез у гиногенетических и гибридных форм сиговых рыб. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — СПб.: СПбГУ, 1991. — 17 с.
32. Бодали Р.А., Вуоринен Д.А., Решетников Ю.С., Рист Д.Д. Генетические связи пяти видов сиговых рыб Сибири // Вопр. ихтиологии, 1994. — Т. 34. — № 2. — С. 195–203.
33. Божкова В.П., Карпова Е.Г., Цыганкова Н. В. Происхождение первичных половых клеток у вьюна // Онтогенез, 1993. — Т. 24. — №5. — С. 405–408.
34. Бондаренко О.М. Формирование генеративной системы и ее модификация экологическими факторами в раннем онтогенезе сиговых и осетровых рыб. Дисс. ... канд. биол. наук. — Тюмень: ТюмГУ, 2003. — 189 с.

35. Боровиков В.П. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. — СПб.: Питер, 2003. — 344 с.
36. Боровикова Е.А., Махров А.А. Систематическое положение и происхождение сигов (*Coregonus*, *Coregonidae*, *Osteichthyes*) Европы. Генетический подход // Успехи соврем. — Биологии, 2009. — Т. 129. — № 1. С. 58–66.
37. Бродский В.Я. Трофика клетки. — М.: Наука, 1966. — 356 с.
38. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. — М.: Наука, 1981. — 260 с.
39. Бунур Л. Линия половых клеток у бесхвостых амфибий // Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных. — Л.: Медицина, 1968. — С. 186–211.
40. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. — М.: Наука, 1985. — 301 с.
41. Венглинский Д.Л. Экологические черты адаптации сиговых к условиям существования в водоемах Субарктики // Эколого-физиологические адаптации животных и человека к условиям Севера. — Якутск: Якутск. фил. СО АН СССР, 1977. — С. 96–121.
42. Вивьен Ж. Происхождение половых клеток у рыб // Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных. — Л.: Медицина, 1968. — С. 255–273.
43. Вотинин Н.П. Муксун как объект искусственного разведения и акклиматизации // Тр. Обь-Тазовск. отд. ВНИОРХ. — Нов. сер., 1963. — Т. 3. — С. 115–137.
44. Вторушин М.Н. Экологическая пластичность морфо- и гаметогенеза рыб под влиянием антропогенных факторов различной природы. Дисс. ... канд. биол. наук. — Тюмень: ТюмГУ, 2003. — 217 с.
45. Гарлов П.Е., Федоров К.Е., Кузнецов Ю.К. Искусственное воспроизводство рыб. Управление размножением: Учебное пособие. — СПб.: Изд-во «Лань», 2014. — 256 с.
46. Гербилъский Н.Л. Возрастные и сезонные изменения в овоцитах зеркального карпа // Архив анат., гистол. и эмбриол., 1939. — Т. 21. — № 2. — С. 241–276.
47. Гоголева Т.Е. Период раннего гаметогенеза у рипуса при выращивании в садках // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. — Л.: ГосНИОРХ, 1983. — № 195. — С. 134–140.
48. Головова Г.А. Эмбриональное развитие сига-пыжьяна *Coregonus lavaretus pidschian* (Gmel.) в условиях ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша» // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. — Л.: ГосНИОРХ, 1986. — Вып. 247. — С. 44–54.
49. Гривенников И.А. Эмбриональные стволовые клетки и проблема направленной дифференцировки // Успехи биол. химии, 2008. — Т. 48. — С. 181–220.
50. Данильченко О.П. Чувствительность эмбрионов рыб к действию токсических веществ // Вопр. ихтиологии, 1977. — Т. 17. — Вып. 3. — С. 518–527.
51. Данильченко О.П., Строганов Н.С. Оценка токсичности веществ, спускаемых в водоемы, для раннего онтогенеза рыб // Вопр. ихтиологии, 1975. — Т. 15. — Вып. 2. — С. 346–355.
52. Детлаф Т.А. Температурно-временные закономерности развития пойкилотермных животных. — М.: Наука, 2001. — 211 с.
53. Детлаф Т.А., Детлаф А.А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии // Докл. АН СССР, 1960. — Т. 134. — С. 199–202.
54. Дормидонтов А.С. Особенности гаметогенеза сигов в северных водоемах Якутии // Зоол. исслед. Сибири и Дальнего Востока. — Владивосток, 1974. — С. 169–173.
55. Емельянова Н.Г. Ультроструктура превителлогенных ооцитов форели *Oncorhynchus mykiss* // Вопр. ихтиологии, 1994. — Т. 34. — № 3. — С. 420–423.
56. Ефремова Е.В., Селюков А.Г., Шуман Л.А. Особенности дифференцировки пола и формирование половых клеток в раннем онтогенезе муксуна *Coregonus muksun* (Pallas) // Вестник ТюмГУ. — Тюмень, 2011а. — Медико-биологические науки. № 6. — С. 46–55.

57. Ефремова Е.В., Моисеенко Т.И., Селюков А.Г., Гоголева С.Ю. Морфофункциональные нарушения у эмбрионов сиговых рыб в условиях фенольной интоксикации // Тюмень, 2011 б. — Вестник ТюмГУ. — №12. — С. 38–46.
58. Ефремова Е.В. Ранний гаметогенез сиговых рыб р. *Coregonus* в условиях искусственного содержания. Дисс. ... канд. биол.наук. — М.: ВНИРО, 2013. — 178 с.
59. Жукинский В.Н. Влияние абиотических факторов на разнокачественность и жизнеспособность рыб в раннем онтогенезе. — М.: Агропромиздат, 1986. — 248 с.
60. Захарова Н.И. Дифференцировка пола у радужной форели при выращивании в системе с рециркуляцией воды // Морфология, структура популяций и проблемы рационального использования лососевидных рыб. — Л.: Наука, 1983 а. — С. 70-71.
61. Захарова Н.И. Развитие половых желез радужной форели *Salmo gairdneri* Rich. (Salmonidae) в пострadiационный период. 1. Облучение личинок в возрасте 24 сут после вылупления // Вопр. ихтиологии, 1983 б. — Т. 23. — Вып. 6. — С. 951–959.
62. Захарова Н.И. Морфофункциональные закономерности раннего гаметогенеза радужной форели (*Salmo gairdneri* Rich.) при различном температурном режиме и рентгеновском облучении. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — Л., 1984. — 17 с.
63. Захарова Н.И. Дифференцировка пола байкальского омуля при различных температурных режимах выращивания // Тез. докл. IV Всес. совещ. по биол. и биотехн. развед. сиговых рыб. — Л., 1990. — С. 47–48.
64. Захарова Н.И. Дифференцировка пола у байкальского омуля при различных температурных режимах выращивания // Труды Биол. НИИ СПбГУ, 1997. — Вып. 44. — С. 65–73.
65. Захарова Н.И., Зайцева А.Н. Развитие половых желез в раннем онтогенезе белого байкальского хариуса // Известия ИрГУ. Сер. «Биология. Экология», 2009. — Т. 2. — № 1. — С. 66–69.
66. Захарова Н.И., Чмилевский Д.А. Влияние пониженной температуры на развитие гонад радужной форели (*Salmo gairdneri*). Воздействие на рыб в возрасте 13 сут после вылупления // Изв. ГосНИОРХ, 1984. — Вып. 203. — С. 40–47.
67. Захарова Н.И., Чмилевский Д.А. Влияние пониженной температуры на развитие гонад радужной форели (*Salmo gairdneri*). Воздействие на рыб в возрасте 5,5 мес после вылупления // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ, 1985. — Вып. 229. — С. 95–104.
68. Зацепина О.В. Современные представления о свойствах и функциях ядрышка: ядрышко как мишень стрессовых воздействий на клетки // Цитология, 2009. — Т. 49. — № 9. — С. 748–749.
69. Зеленков В.М. Развитие половых желез и становление индивидуальной плодовитости у беломорской сельди *Clupea harengus marisalbi* Berg и обыкновенного окуня *Perca fluviatilis* L.: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — М.: МГУ, 1982. — 24 с.
70. Зеленков В.М. Ранний гаметогенез и дифференцировка пола у беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* // Вопр. ихтиологии, 1990. — Т. 30. — № 6. — С. 957–962.
71. Зеленников О.В. Сравнительный анализ состояния яичников у молоди тихоокеанских лососей в связи с проблемой становления моноциклии // Вопр. ихтиологии, 2003. — Т. 43. — № 4. — С. 490–498.
72. Зубина Л.В. Особенности оогенеза у экологически различных видов байкальских коттоидных рыб (Cottoidei) // Вопр. ихтиологии, 1996. — Т. 36. — № 5. — С. 638–646.
73. Иванова В.Ф. Дискуссионные аспекты проблемы амитоза // Арх. анат., гистол. и эмбриол., 1982. — Т. LXXXIII. — № 18. — С. 81–87.
74. Иванова В.Ф. Многоядерные клетки (образование, строение, биологическое значение) // Арх. анат., гистол. и эмбриол., 1984. — Т. LXXXVII. — № 12. — С. 80–86.

75. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию: Учебное пособие. — Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. — 304 с.
76. Игнатъева Г.М. Ранний эмбриогенез рыб и амфибий. — М.: Наука, 1979. — 175 с.
77. Исаева В.В. Исследования по биологии развития в Институте биологии моря ДВО РАН // Онтогенез, 2008. — Т. 39. — № 5. — С. 390–398.
78. Исаева В.В., Шукалюк А.И., Кизилова Е.А. Выявление стволовых клеток в колониальном интерне корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis* и *Sacculina polygenea* на паразитической стадии жизненного цикла // Цитология, 2003. — Т. 45. — № 8. — С. 758–763.
79. Исаева В.В., Шукалюк А.И., Ахмадиева А.В. Стволовые клетки беспозвоночных животных с репродуктивной стратегией, включающей бесполое размножение // Биология моря, 2007. — Т. 33. — № 1. — С. 3–10.
80. Исаева В.В., Ахмадиева А.В., Александрова Я.Н., Шукалюк А.И. Морфофункциональная организация стволовых резервных клеток, обеспечивающих бесполое и половое размножение беспозвоночных животных // Онтогенез, 2009. — Т. 40. — № 2. — С. 83–96.
81. Исаева В.В., Реунов А.А. Половая плазма и детерминация линии половых клеток: роль митохондрий // Биология моря, 2001. — Т. 27. — № 4. — С. 231–237.
82. Исаков П.В., Селюков А.Г. Сиговые рыбы в экосистеме Обской губы. — Тюмень: ТюмГУ, 2010. — 184 с.
83. Каменева Т.О. Изучение транскрипционной активности ядрышек ооцитов стерляди методами автордиографии и серебрения // Цитология, 1991. — Т. 33. — № 8. — С. 3–9.
84. Каролинская Х.М. Амитотическое деление и его место в размножении клеток // Успехи соврем. биол., 1952. — Т. XXXIII. — Вып. 2(5). — С. 287–304.
85. Кауфман З.С. Эмбриология рыб. — М.: Наука, 1990. — 271 с.
86. Кацнельсон З.С., Кнорре А.Г. Проблема амитоза и пути ее разработки // Бюллетень МОИП, 1962. — Вып. 6. — С. 143–144.
87. Кленов М.С., Столяренко А.Д., Рязанский С.С. и др. Роль коротких РНК в регуляции экспрессии генов и мобильных элементов в герминативных клетках // Онтогенез, 2007. — Т. 38. — № 3. — С. 213–227.
88. Клишов А.Л. Гистогенез и регенерация тканей. — Л.: Медицина, 1984. — 232 с.
89. Кнорре А.Г. Взаимоотношение митоза и амитоза в индивидуальном и историческом развитии организмов // Цитология, 1959. — Т. 5. — Вып. 1. — С. 494–509.
90. Ковалева В.Ю., Абрамов С.А., Дупал Т.А., Ефимов В.М., Литвинов Ю.Н. Анализ соответствия и комбинирование молекулярно-генетических и морфологических данных в зоологической систематике // Изв. РАН. — Сер. биол., 2012. — № 4. — С. 404–414.
91. Кожухарь В.Г. Первичные половые клетки млекопитающих и человека. Происхождение, идентификация, миграция // Цитология, 2011а. — Т. 53. — № 3. — С. 211–220.
92. Кожухарь В.Г. Судьба гоноцитов млекопитающих: оогенез или сперматогенез // Цитология, 2011 б. — Т. 53. — № 10. — С. 778–787.
93. Кондратьев А.К. Функциональная морфология ооцитов периода превителлогенеза у сибирской стерляди (*Acipenser ruthenus marsiglii* Brandt) в разные периоды ее годового цикла // Вопр. ихтиологии, 1977. — Т. 17. — Вып. 5. — С. 912–921.
94. Костров Б.Л., Шеханова И.А. Влияние хлорида ртути и фосфора-32 на дыхание эмбрионов вьюна *Misgurnus fossilis* (L.) // Вопр. ихтиологии. — 1981. — Т. 21. — Вып. 3. — С. 568–570.
95. Кошелева В.В., Мигаловский И.П. Развитие воспроизводительной и кроветворной систем у сига-пыжьяна на ранних стадиях онтогенеза // Тез. докл. «IV Всес. конф. по раннему онтогенезу рыб». — Мурманск, 1988. — Ч. I. — С. 154–156.

96. Крупкин В.З. Биология и биотехника разведения муксуна *Coregonus muksun* (Pallas) в водоемах северо-запада. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л.: ГосНИОРХ, 1975. — 21 с.
97. Кузнецов В.В., Кузнецова Е.Н., Ключарева Н.Г. и др. Экология размножения сиговых рыб Coregonidae в Обской губе Карского моря. — М.: Изд-во ВНИРО, 2011. — 136 с.
98. Кузнецов Ю.К. О морфологии ооцитов протоплазматического роста у рыб различным темпом полового созревания на примере представителей вида *Osmerus eperlanus* (L.) // Экологическая пластичность половых циклов и размножения рыб. — Л.: Ленингр. ун-т, 1975. — С. 50–65.
99. Кузнецов Ю.К. Исследование функции яичников в связи с явлением карликовости у рыб и круглоротых на примере представителей родов *Osmerus* Lacerepe и *Lampetra* Gray. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л.: ЛГУ, 1986. — 22 с.
100. Кузьмин А.Н. Эмбриональное развитие пеляди // Тр. Обь-Тазовск. отд. ГосНИОРХ. Нов. сер. — Тюмень, 1963. — Т. 3. — С. 148–164.
101. Кузьмин А.Н. Некоторые закономерности развития воспроизводительной системы и периодизация гаметогенеза у сиговых (ихтиофауны СССР, включая Сибирь) // Изв. ГосНИОРХ, 1975. — Т. 104. — С. 17–27.
102. Лаврова Т.В., Чмилевский Д.А. Влияние повышенной температуры на оогенез теляпии *Oreochromis mossambicus* (Peters) // Изв. ГосНИОРХ, 1987. — Вып. 259. — С. 134–143.
103. Лапицкий И.И. Оогенез и годичный цикл яичников у сига-лудоги *Coregonus lavaretus ludoga* Pol. // Тр. лаб. основ рыбоводства. — Л., 1949. — Т. 2. С. 37–64.
104. Лебедева О.А. Эколого-морфологические особенности развития сиговых рыб. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1974. — 28 с.
105. Лебедева О.А. Сравнительная характеристика раннего онтогенеза сиговых рыб // Природа и хозяйственное использование озёр Северо-Запада Русской равнины. — Л.: ЛПТИ, 1976. — С. 30–57.
106. Лебедева О.А. Экологическая толерантность сиговых рыб на ранних этапах развития // Тез. докл. II Всес. совещ. по биологии и биотехнике развед. сиговых рыб. — Петрозаводск, 1981. — С. 13–16.
107. Лебедева О.А. Развитие икры и личинок пеляди // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ, 1985. — Т. 236. — С. 74–85.
108. Лебедева О.А. Развитие икры и личинок // Пелядь. Систематика, морфология, экология, продуктивность. — М.: Наука, 1989. — С. 211–228.
109. Лебедева О.А., Завьялова М.Н. Морфофизиологические изменения в эмбриогенезе сиговых рыб при заводском воспроизводстве // Тез. докл. III Всес. совещ. по биол. и биотехн. развед. сиговых рыб. — Тюмень, 1985. — С. 8–11.
110. Леманова Н.А. Исследование диагностических признаков, биологии и гаметогенеза реципрокных гибридов рипуса *Coregonus albula* infrsp. *ladogensis* и сига-лудоги *Coregonus lavaretus ludoga*. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л., 1965. — 20 с.
111. Лилли Р.Д. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. — М.: Мир, 1969. — 645 с.
112. Макеева А.П., Емельянова Н.Г. Периодизация оогенеза у карповых рыб // Вопр. ихтиологии, 1989. — Т. 29. — Вып. 6. — С. 931–943.
113. Малышев В.И. Эмбриональное развитие тугуна // Изв. ГосНИОРХ, 1974. — Т. 92. — С. 98–101.
114. Матишов Г.Г., Журавлева Н.Г., Оттесен О., Кириллова Е.Е. Локализация первичных половых клеток личинок трески Баренцева моря // Докл. РАН, 2010. — Т. 430. — № 6. — С. 841–843.
115. Матковский А.К. Основные закономерности динамики численности муксуна *Coregonus muksun* р. Обь и их использование для управления его запасом // Вопр. рыболовства, 2006. — Т. 7. — № 3(27). — С. 505–521.



116. Матковский А.К. Деградационные процессы в популяции муксуна реки Обь и необходимые меры по восстановлению его численности // Мат-лы 7 Межд. научно-производств. совещ. по биологии и биотехн. развед. сиговых рыб. — Тюмень: Госрыбцентр, 2010. — С. 176–181.

117. Межнин Ф.И. Развитие половых желез в раннем онтогенезе обыкновенного окуня *Perca fluviatilis* L. // Вопр. ихтиологии, 1978. — Т. 18. — Вып. 1(108). — С. 84–100.

118. Мешков М.М., Лебедева О.А. Разнокачественность раннего онтогенеза лососевидных рыб // Лососевидные рыбы. — Л.: Наука, 1980. — С. 30–40.

119. Мигаловский И.П. Развитие икры в ранний период гаметогенеза у зародышей и личинок севрюги в условиях радиоактивного загрязнения воды // Тр. ПИНРО, 1971. — Вып. 29. — С. 32–44.

120. Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А. и др. Гистология для ихтиологов: Опыт и советы. — М.: ВНИРО, 2009. — 112 с.

121. Михайлов В.П. Амитоз, эндомиоз // Введение в цитологию. — Л.: Медицина, 1968. — С. 163–171.

122. Моисеева Е.Б. Развитие половых желез бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas) (Gobiidae) в эмбриональный период // Вопр. ихтиологии, 1983. — Т. 23. — № 5. — С. 786–795.

123. Моисеева Е.Б., Федоров С.И., Парфенова Н.А. О нарушениях строения половых желез у самок осетровых (Acipenseridae) Азовского моря // Вопр. ихтиологии, 1997. — Т. 37. — № 5. — С. 660–666.

124. Москаленко Б.К. Биологические основы эксплуатации и воспроизводства сиговых рыб Обского бассейна // Тр. Обь-Тазовск. отд. ВНИОРХ. — Нов.серия, 1958. — Т. I. — 251 с.

125. Мостовская В.А., Полякова Л.А. Первичные половые клетки у личинок пеляди гиногенетического происхождения // Генетич. методы селекции (ред. М.А. Андрияшева). — Л., 1986. — С. 16–20.

126. Оловников А.М. Для чего мигрируют по эмбриону первичные половые клетки и какое это имеет значение для биологической эволюции? // Биохимия, 2013. — Т. 7. — Вып. 10. — С. 1514 — 1526.

127. Персов Г.М. Возраст и рост организма и состояние гонад у стерляди в период до дифференцировки пола // Биол. основы рыбн. хоз-ва. — Томск: Изд-во Томского ун-та, 1959. — С. 56–63.

128. Персов Г.М. Процесс анатомической и цитологической дифференцировки пола у лососевых рыб рода *Salmo* // Учен. зап. ЛГУ. — Сер. биол. наук, 1962. — Вып. 48. — № 311. — С. 74–92.

129. Персов Г.М. Ранний период гаметогенеза у проходных лососей // Тр. ММБИ, 1966. — Вып. 12(16). — С. 7–44.

130. Персов Г.М. Дифференцировка пола у рыб. — Л.: ЛГУ, 1975. — 148 с.

131. Пирожников П.Л., Дрягин П.А., Покровский В.В. О таксономическом ранге и филогении сиговых (Coregonidae, Pisces) // Изв. ГосНИОРХ, 1975. — Т. 104. — С. 5–17.

132. Петухов С.А., Сторожук Н.Г. О токсическом действии ртути на личинок кеты *Oncorhynchus keta* (Walb.) и кижуча *O. kisutch* (Walb.) // Вопр. ихтиологии, 1980. — Т. 20. — Вып. 6 (125). — С. 927–930.

133. Политов Д.В., Балдина С.Н., Гордон Н.Ю. Филогенетика и филогеография сиговых — сравнение морфологического и генетического подходов // Мат-лы 7-го Межд. науч.-произв. совещания по биологии, биотехн. развед. и сост. запасов сиговых рыб. — Тюмень: ФГУП Госрыбцентр, 2010. — С. 37–41.

134. Пресняков А.В., Микодина Е.В., Макоедов А.Н. Опыт оценки здоровья сиговых рыб Тазовской и Обской губ двумя фенетическими методами // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Мат-лы Седьмого межд.

науч.-производ. совещания (Тюмень, 16-18 февраля 2010 года). — Тюмень: Госрыбцентр, 2010. — С. 140–144.

135. Пузаченко Ю.Г. Математические методы в экологических и географических исследованиях. — М.: ИЦ «Академия», 2004. — 416 с.

136. Райцина С.С. Происхождение и развитие половых клеток // Современные проблемы сперматогенеза. — М.: Наука, 1982. — С. 5–24.

137. Ревуцкая П.С. О чередовании amitotic и mitotic процессов // Журн. общ. биол., 1952. — Т. 13. — № 1. — С. 28–49.

138. Реунов А.А., Незнанова С.Ю., Александрова Я.Н., Исаева В.В. Ультраструктурное исследование взаимодействия герминативных гранул и митохондрий у *Apostichopus japonicus* (Echinodermata: Holothuroidea) и *Pleuronectes asper* (Teleostei: Pleuronectidae) // Биология моря, 2004. — Т. 30. — № 3. — С. 244–246.

139. Реунов А.А., Юрченко О.В., Александрова Я.Н., Исаева В.В. Аутолиз субстанции зародышевой плазмы в сперматогониях морского ежа при воздействии кадмия // Докл. РАН, 2005. — Т. 401. — № 2. — С. 282–285.

140. Решетников Ю.С. О систематическом положении сиговых рыб // Зоол. журн., 1975. — Т. 54. — Вып. 11. — С. 1656–1671.

141. Решетников Ю.С. Экология и систематика сиговых рыб. — М.: Наука, 1980. — 301 с.

142. Решетников Ю.С. О центрах возникновения и центрах расселения в связи с распределением числа видов по ареалу на примере сиговых рыб // Актуальные пробл. соврем. ихтиологии (к 100-летию Г.В.Никольского). — М.: Т-во научн. изд. КМК, 2010. — С. 62–87.

143. Решетников Ю.С. Сиговые рыбы в свете современной систематики // Матлы 8-го Межд. науч.-произв. совещ. по биологии, биотехнике развед. и сост. запасов сиговых рыб. — Тюмень: ФГУП Госрыбцентр, 2013. — С. 182–187.

144. Решетников Ю.С., Попова В.А., Стерлигова О.П. и др. Изменение структуры рыбного населения эвтрофируемого водоема. — М.: Наука, 1982. — 248 с.

145. Решетников Ю.С., Богданов В.Д. Особенности воспроизводства сиговых рыб // Вопр. ихтиологии, 2011. — Т. 51. — № 4. — С. 502–525.

146. Романов А.А., Шевелева Н.Н., Алтуфьев Ю.В. Нарушение гонадо- и гаметогенеза осетровых Каспийского моря // Физиол.-биохимич. статус волго-каспийских осетровых в норме и при расслоении мышечной ткани (кумулятивный политоксикоз). — Рыбинск: Ин-т биологии внутр. вод АН СССР, 1990. — С. 92–100.

147. Ромейс Б. Микроскопическая техника. — М.:Иностр. литература, 1953. — 718 с.

148. Ротт Н.Н. Клеточные циклы в раннем эмбриогенезе животных. — М.: Наука, 1987. — 207 с.

149. Рубан Г.И. Сибирский осетр *Acipenser baerii* Brandt (структура вида и экология). — М.: ГЕОС, 1999. — 236 с.

150. Руднева И.И., Чесалина Т.Л., Кузьминова Н.К. Ответные реакции черноморской кефали на загрязнение мазутом // Экология, 2000. — № 4. — С. 304–306.

151. Руднева И.И., Залевская И.Н., Шайда В.Г. Действие полихлорированных бифенилов на личинок атерины *Atherina hepsetus* // Вопр. ихтиологии, 2003. — Т. 43. — № 2. — С. 272–276.

152. Руднева И.И., Залевская И.Н. Личинки атерины (*Atherina hepsetus* L.) как биоиндикаторы загрязнения прибрежных акваторий Черного моря // Экология, 2004. — № 2. — С. 107–112.

153. Рязанцева М.В., Сакун О.Ф. Половые клетки и развитие гонад карпа *Cyprinus carpio* L. в раннем онтогенезе // Вопр. ихтиологии, 1980. — Т. 20. — Вып. 3. — С. 524–33.

154. Сакун О.Ф. Амитоз половых клеток у рыб и условия его возникновения // Проблемы соврем. эмбриол. — М.: МГУ, 1964. — С. 295–297.

155. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. — М.: Медгиз, 1960. — 253 с.
156. Селюков А.Г. Ранний гаметогенез пеляди *Coregonus peled* (Gmelin) // Вестник Ленингр. ун-та. — Биология, 1985. — № 17. — С. 26–32.
157. Селюков А.Г. Оогенез и овариальные циклы озерной пеляди *Coregonus peled* (Gmelin) в естественном ареале и в условиях Ленинградской области. Дисс. ... канд. биол. наук. — Л.: ЛГУ, 1987. — 237 с.
158. Селюков А.Г. Гаметогенез и половые циклы // Пелядь: Систематика, морфология, экология, продуктивность (ред. Ю.С. Решетников). — М.: Наука, 1989. — С. 167–188.
159. Селюков А.Г. Морфофункциональный статус рыб Обь-Иртышского бассейна в современных условиях. — Тюмень: ТюмГУ. — 2007. — 184 с.
160. Селюков А.Г. Морфофункциональные изменения рыб бассейна Средней и Нижней Оби в условиях возрастающего антропогенного влияния // Вопр. ихтиологии. — 2012. — Т. 52. — № 5. — С. 581–600.
161. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н., Селюкова Г.П. Экологическая пластичность морфологических признаков в раннем онтогенезе сиговых рыб (Coregonidae) Обь-Иртышского бассейна // Вестник ТюмГУ. — 2005. — № 5. — С. 163–173.
162. Селюков А.Г., Бондаренко О.М., Вторушин М.Н., Беспоместных Г.Н. Коррекция сверхслабыми магнитными полями генеративной функции у сигов-планктофагов в постэмбриональном онтогенезе // Вестник ТюмГУ. — 2003. — № 2. — С. 53–61.
163. Селюков А.Г., Елькин В.П., Вторушин М.Н., Бондаренко О.М. Использование технологий нового поколения для повышения морфобиологического статуса пеляди за пределами естественного ареала // Вестник ТюмГУ. — 2000а. — № 3. — С. 183–193.
164. Селюков А.Г., Вторушин М.Н., Бондаренко О.М. Морфофункциональные трансформации в раннем онтогенезе иртышской стерляди под влиянием слабых магнитных полей // Вестник ТюмГУ. — 2000 б. — № 3. — С. 193–205.
165. Селюков А.Г., Ефремова Е.В., Беспоместных Г.Н. Проблема пролиферации первичных гоноцитов в эмбриогенезе (на примере сиговых рыб) // Тр. Межд. Форума по проблемам науки, техники и образования. — М., 2008 б. — Т. 3. — С. 58–60.
166. Селюков А.Г., Ефремова Е.В., Беспоместных Г.Н., Симонова А.В. Проллиферативная активность герминативных стволовых клеток в эмбриогенезе сиговых рыб // Мат-лы 7 межд. научно-производств. совещ. по биологии и биотехн. разведения сиговых рыб. — Тюмень: Госрыбцентр, 2010 а. — С. 144–149.
167. Селюков А.Г., Ефремова Е.В., Бондаренко Г.Н. Цитоморфологические преобразования первичных половых клеток в эмбриогенезе муксуна *Coregonus muksun* (Pallas) // Вестник ТюмГУ. — Медико-биологические науки. Науки о земле. Химия, 2010 б. — № 3. — С. 45–51.
168. Селюков А.Г., Шуман Л.А., Ефремова Е.В., Беспоместных Г.Н. Применение УЗВ для формирования маточного стада сиговых рыб (на примере тугуна) // Мат-лы 7 межд. научно-производств. совещ. по биологии и биотехн. разведения сиговых рыб. — Тюмень: Госрыбцентр, 2010 в. — С. 250–254.
169. Селюков А.Г., Солодилов А.И., Елькин В.П. Слабые взаимодействия и регомеостаз живых систем (прикладной аспект). — Тюмень: ТюмГУ, 2008 а. — 192 с.
170. Селюков А.Г., Степанов А.М., Васильева Л.В. Состояние воспроизводительной системы сиговых рыб на этапе вылупления // Тез. докл. IV Всесоюзн. конф. по раннему онтогенезу рыб. — М., 1988. — С. 88–89.
171. Селюков А.Г., Чмилевский Д.А. Динамика распределения первичных половых клеток и особенности дифференцировки пола у пеляди // Тез. докл. VII Всесоюзн. совещ. эмбриологов. — Л., 1986. — С. 29.
172. Сендек Д.С. Филогенетический анализ сиговых рыб сем. Coregonidae методом белкового электрофореза. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — С.Пб.: ГосНИОРХ, 2000. — 22 с.

173. Сергиенко Л.Л. Биологические основы совершенствования заводского воспроизводства сиговых рыб. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — С. Пб.: ГосНИОРХ, 1995. — 19 с.

174. Сергиенко Л.Л., Кугаевская Л.В. Нижний температурный порог начала питания личинок сиговых рыб // Тез. докл. IV Всес. совещ. по биол. и биотехнике развед. сиговых рыб. — Л., 1990. — С. 67–68.

175. Скрябин А.Г. Рыбы Баунтовских озер Забайкалья. — Новосибирск: Наука, 1977. — 232 с.

176. Сочнев О.Я., Сочнева И.О., Хистяев А.А. Экологическая безопасность и мониторинг поисково-оценочных работ на газ в Обской и Тазовской губах // Газовая промышленность. — 2013. — № 2 (686). — С. 78–81.

177. Статова М.П., Томнатик Е.Н. Процесс анатомической и цитологической дифференцировки пола у пеляди // Изв. АН Молд. ССР. Сер. биологич. и химич. наук, 1970. — № 1. — С. 36–39.

178. Таликина М.Г. О влиянии экстремальных температур на размерно-весовые показатели и ранний гаметогенез плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии, 1996. — Т. 36. — № 4. — С. 502–506.

179. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Касьянов А.Н., Папченкова Г.А. Влияние токсических веществ в период эмбриогенеза на выживаемость, линейно-весовые показатели и формирование гонад сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии. — 1999. — Т. 39. — № 3. — С. 401–409.

180. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В., Касьянов А.Н., Папченкова Г.А. Анализ изменчивости морфологических показателей раннего гаметогенеза и мутагенного эффекта у молоди плотвы *Rutilus rutilus* после воздействия токсикантов на свободные эмбрионы // Вопр. ихтиологии. — 2000. — Т. 40. — № 6. — С. 816–825.

181. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. Аберрантные митозы и гистопатология гонад у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* после токсических воздействий в эмбриональный и личиночный периоды развития // Вопр. ихтиологии, 2001а. Т. 41. — № 2. — С. 232–238.

182. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. Реакция развивающейся молоди плотвы *Rutilus rutilus* и цитогенетические аномалии в зародышевых, половых и соматических клетках после обработки токсикантами зрелых спермиев // Вопр. ихтиологии, 2001б. — Т. 41. — № 6. — С. 835–841.

183. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. Отдаленные генотоксические ответы у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* после воздействий органических ядов на спермии родителей // Вопр. ихтиологии, 2003. — Т. 43. — № 3. — С. 411–417.

184. Таликина М.Г., Комов В.Т. Реакция молоди карпа *Cyprinus carpio* и окуня *Perca fluviatilis* на длительное воздействие ртути // Вопр. ихтиологии, 2003. — Т. 43. — № 1. — С. 127.

185. Таликина М.Г., Комов В.Т., Чеботарева Ю.В., Гремячих В.А. Комплексная оценка длительного воздействия ртути на молодь плотвы *Rutilus rutilus* в экспериментальных условиях // Вопр. ихтиологии, 2004. — Т. 44. — № 6. — С. 847–852.

186. Терских В.В., Васильев А.В., Воротеляк Е.А. Ниши стволовых клеток // Изв. РАН. Сер. биологич., 2007а. — № 3. — С. 261–272.

187. Терских В.В., Васильев А.В., Воротеляк Е.А. Поляризация и асимметричное деление стволовых клеток // Цитология, 2007б. — Т. 49. — № 11. — С. 933–938.

188. Терских В.В., Васильев А.В., Воротеляк Е.А. Асимметричное деление клеток и неопластический рост // Изв. РАН. Сер. биологич., 2009. — № 4. — С. 389–394.

189. Турдаков А.Ф. Происхождение и миграция первичных половых клеток у рыб // Изв. АН Кирг. ССР, 1969. — № 4. — С. 61–67.

190. Турдаков А.Ф. Воспроизводительная система самцов рыб. Фрунзе: Илим, 1972. — 280 с.

191. Федорова Г.В. Перестройка рыбного населения Ладожского озера под воздействием загрязнения и антропогенного эвтрофирования // *Вопр. ихтиологии*, 1997. – Т. 37. – № 2. – С. 272–275.
192. Феклов Ю.А. Эколого-гистофизиологический анализ оогенеза пеляди // *Труды Биол. НИИ СПбГУ*, 1997. – Вып. 44. – С. 39–48.
193. Черняев Ж.А. Эмбриональное развитие байкальского омуля. – М.: Наука, 1968. – 91 с.
194. Черняев Ж.А. Особенности воздействия температурного и светового факторов на эмбриональное развитие сиговых рыб Байкала // *Тез. докл. II Всес. совещ. по биол. и биотехнике развед. сиговых рыб.* – Петрозаводск, 1981. – С. 22–25.
195. Черняев Ж.А. Воспроизводство байкальского омуля. – М.: Легкая и пищ. пром-ть, 1982. – 127 с.
196. Черняев Ж.А. Эколого-физиологические особенности эмбриогенеза байкальского омуля и байкальского озерного сига // *Морфология, структура популяций и проблемы рац. исп. лососевидных рыб.* – Л., 1983. – С. 237–239.
197. Черняев Ж.А. Эколого-физиологические особенности размножения и развития сиговых рыб. Автореф. дис. ...докт. биол. наук. – М.:ВНИРО, 1990. – 46 с.
198. Черняев Ж.А. Воздействие светового фактора на эмбриональное развитие сиговых рыб // *Изв. РАН. – Сер. биол.*, 1993. – С. 64–73.
199. Черняев Ж.А. Факторы и возможные механизмы, вызывающие изменения темпов эмбрионального развития костистых рыб (на примере сиговых *Coregonidae*) // *Вопр. ихтиологии*, 2007. – Т. 47. – № 4. – С. 475–485.
200. Черняев Ж.А., Пичугин М.Ю. Особенности раннего онтогенеза весеннерестующего баунтовского сига *Coregonus lavaretus baunti* // *Вопр. ихтиологии*, 1999. Т. 39. № 1. С. 78–88.
201. Чесалина Т.Л., Руднева И.И., Кузьмина Н.К. Токсическое действие соляра на молодь черноморской кефали-остроноса *Liza saliens* // *Вопр. ихтиологии*, 2000. Т. 40. № 4. С. 304–306.
202. Чмилевский Д.А. Синтез ДНК в раннем оогенезе ерша // *Цитология*, 1970. – Т. 12. № 5. С. 676–678.
203. Чмилевский Д.А. Синтез РНК и развитие ядрышкового аппарата в оогенезе ерша // *Цитология.* – 1971. – Т. 13. – № 10. – С. 1233–1242.
204. Чмилевский Д.А. Влияние лучей Рентгена на оогенез тилляпии (*Tilapia mossambica* Peters). I. Облучение личинок в возрасте 6 сут // *Радиация и проблемы размножения и роста рыб.* – Л.: ЛГУ, 1978. – С. 21–37.
205. Чмилевский Д.А. Влияние экстремальных воздействий на оогенез рыб (итоги и перспективы исследований) // *Труды Биол. НИИ СПбГУ «Проблемы надежности функционирования воспроизводительной системы у рыб».* – Л.: БиНИИ, 1997. – Вып. 44. – С. 49–64.
206. Чмилевский Д.А. Влияние повышенной температуры на оогенез мозамбикской тилляпии при ее воздействии на его различные периоды и фазы // *Вопр. ихтиологии*, 1998. – Т. 38. – № 5. – С. 676–683.
207. Чмилевский Д.А. Оогенез рыб в норме и при экстремальных воздействиях. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – СПб: СПбГУ, 2000. – 31 с.
208. Чмилевский Д.А. Репродуктивные показатели мозамбикской тилляпии *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) при экстремальных воздействиях и их использование для прогнозирования воспроизводительных способностей популяций рыб // *Вопр. ихтиологии*, 2005. – Т. 45. – № 2. – С. 260–271.
209. Чмилевский Д.А., Иосифова Т.Е. Морфология и динамика числа половых клеток в раннем онтогенезе мозамбикской тилляпии // *Цитология*, 1999. – Т. 41. – №2. – С. 135–139.
210. Чмилевский Д. А., Каменева Т. О. Оогенез мозамбикской тилляпии. I. Оогонии и ооциты ранней профазы мейоза // *Цитология*, 2000. – Т. 42. – № 9. – С. 896–902.

211. Чмилевский Д. А., Каменева Т. О. Оогенез мозамбикской тилапии. II. Синтез РНК и развитие ядрышкового аппарата // Цитология, 2001а. – Т. 43. – № 2. – С. 114–121.
212. Чмилевский Д. А., Каменева Т. О. Оогенез мозамбикской тилапии. III. Морфология цитоплазмы ооцитов периода превителлогенеза // Цитология, 2001б. – Т. 43. – № 10. – С. 926–933.
213. Чмилевский Д.А., Лаврова Т.В. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus* (Peters) // Вопр. ихтиологии, 1990. – Т. 30. – Вып. 1. – С. 76–84.
214. Чмилевский Д.А., Райкова Е.В. Включение  $H^3$ -тимидина в ооциты ранней профазы мейоза стерляди // Цитология, 1976. – Т. 18. – № 6. – С. 689–692.
215. Шапошникова Г.Х. История расселения сигов рода *Coregonus* // Зоогеография и систематика рыб. – Л.: ЗИН АН СССР, 1976. – С. 54–67.
216. Шатуновский М.И., Шилова С.А. Некоторые подходы к проблеме «техногенные катастрофы и биологические системы» // Успехи соврем. биологии, 1995. – Т. 115. – Вып. 5. – С. 517–525.
217. Экология рыб Обь-Иртышского бассейна /Под ред. Павлова Д.С., Мочка А.Д. – М.: Т-во научн. изданий КМК, 2006. – 596 с.
218. Юхнева В.С. Эмбриональное развитие муксуна // Тр. Обь-Тазовск. отдел. ВНИОРХ. Нов. сер., 1963. – Т. III. – С. 138–147.
219. Юхнева В.С. Наблюдения за нерестом и развитием икры сиговых рыб на р. Сыня // Озерн. и пруд. х-во в Сибири и на Урале. – Тюмень, 1967. – С. 190–199.
220. Aizawa K., Yori K., Kaminaga C. et al. Responses of embryonic germ cells of the radiation-sensitive medaka mutant to  $\gamma$ -irradiation // J. Radiat. Res., 2007. – V. 48. – P. 121–128.
221. Arezo M.J., Alessandro S.D., Papa N. et al. Sex differentiation pattern in the annual fish *Austrolebias charrua* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) // Tissue and Cell, 2007. – V. 39. – P. 89–98.
222. Au D.W.T., Reunov A.A., Wu R.S.S. Reproductive impairment of sea urchin upon chronic exposure to cadmium II. Effect on sperm development // Environ. Pollution, 2001. – V. 111. – P. 12–20.
223. Au D.W.T., Yurchenko O.V., Reunov A.A. Sublethal effect of phenol on spermatogenesis in sea urchins (*Anthocidaris crassipina*) // Environ. Res., 2003. – V. 93. – P. 92–98.
224. Bourrachot S., Simon O., Gilbin R. The effect of waterborne uranium on the hatching success, development and survival of early life stage of Zebrafish (*Danio rerio*) // Aquatic Toxicology, 2008. – V. 90. – P. 29–36.
225. Braat A.K, Zandbergen T., van de Water S. et al. Characterization of zebrafish primordial germ cells: morphology and early distribution of *vasa* RNA // Devel. Dynamic, 1999. – V. 216. – P. 153–167.
226. Daley G.Q. Gametes from embryonic stem cells: a cup half empty or half full? // Science, 2007. – V. 316. – P. 409–410.
227. Ding D., Lipshitz H.D. Localized RNAs and their functions // BioEssays, 1993. – V. 15. – P. 651–658.
228. Doitsidou M., Reichman-Fried M., Stebler J., et al. Guidance of primordial germ cell migration by the chemokine SDF-1 // Cell, 2002. – V. 111. – P. 647–659.
229. Donovan P.J. The germ cell — the mother of all stem cells // Int. J. Devel. Biol., 1998. – V. 42. – P. 1043–1050.
230. Dosch R. Next generation mothers: maternal control of germline development in zebrafish // Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, January/February 2015. – V. 50. – No. – 1. P. 54–68.
231. Draper B.W., McCallum C.M., Moens C. B. *nanos1* is required to maintain oocyte production in adult zebrafish // Devel. Biol., 2007. – V. 305 (2). – P. 589–598.

232. Eddy E.M. «Germ plasm» and the differentiation of the germ cell line // Intern. Rev. Cytol., 1975. – V. 43. – P. 333–362.
233. Eno C., Pelegri F. Gradual recruitment and selective clearing generate germ plasm aggregates in the zebrafish embryo // BioArchitecture, 2013. – V 3. – № 4. – P. 125–132.
234. Epifano O., Dean J. Genetic control of early folliculogenesis in mice // Trends in Endocrinology and Metabolism, 2002. – V.13. – P. 169–73.
235. Essenberg J.M. Sex differentiation in the viviparous Teleost *Xiphophorus helleri* Heckel // Biol. Bull. Marine Biol. Lab., 1923. – V. 45. – P. 46–97.
236. Extavour C.G.M. Evolution of the bilaterian germ line: lineage origin and modulation of specification mechanisms // Int. and Compar. Biol., 2007. – P. 1–16.
237. Extavour C.G.M., Akam M. Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation // Development, 2003. – V. 130. – P. 5869–5884.
238. Foekema E.M., Deerenberg C. M., Murk A.J. Prolonged ELS test with the marine flatfish sole (*Solea solea*) shows delayed toxic effects of previous exposure to PCD 126 // Aquatic Toxicology, 2008. – V. 90. – P. 197–203.
239. Fujimoto T., Kataoka T., Sakao S. et al. Developmental stages and germ cell lineage of the loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) // Zool. Sci., 2006. – V. 23. – P. 977–989.
240. Gao Z., Wang H., Rapp D. et al. Gonadal sex differentiation in the bluegill sunfish *Lepomis macrochirus* and its relation to fish size and age // Aquaculture, 2009. – V. 294. – P. 138–146.
241. Ginsburg V., Snow M. H., McLaren A. Primordial germ cells in the mouse embryo during gastrulation // Development, 1990. – V. 110. – P. 521–528.
242. Gomperts M., Garsia-Castro M., Wylie C., Heasman J. Interactions between primordial germ cells play a role in their migration in mouse embryos // Development, 1994. – V. 120. – P. 135–141.
243. Grandi G., Cicca M. Histological and ultrastructural investigation of early gonad development and sex differentiation in adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*, Acipenseriformes, Chondrostei) // J. Morphology, 2008. – V. 269. – P. 1238–1262.
244. Hamaguchi S. A light and electron-microscopic study on the migration of primordial germ cells in the teleost, *Oryzias latipes* // Cell Tiss. Res., 1982. – V. 227. – P. 139–151.
245. Hamaguchi S. The structure of the germinal dense bodies (nuages) during differentiation of the male germ line of the teleost, *Oryzias latipes* // Cell Tissue Res., 1987. – V. 248. – P. 375–380.
246. Herpin A., Rohr S., Riedel D. et al. Specification of primordial germ cells in medaka (*Oryzias latipes*) // BMC Develop. Biol., 2007. – V. 7. – N 3. P. 1–10. (<http://www.biomedcentral.com/1471-213X/7/3>).
247. Hogan B. Primordial germ cells as stem cells // Stem cell biology / Eds. Marshak D.R. et al. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2001. – P. 189–204.
248. Houston D.W., King M.L. Germ plasm and molecular determinants of germ cell fate // Curr. Top. Devel. Biol., 2000. – V. 50. – P. 155–181.
249. Hubner K., Fuhrman G., Christenson L. et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells // Science, 2003. – V. 300. – P. 1251–1256.
250. Ikenishi K. Germ plasm in *Caenorabditis elegans*, *Drosophila* and *Xenopus* // Devel. Growth and Differ., 1998. – V. 40. – №1 – P. 1–10.
251. Ijiri K.I., Egami N. Mitotic activity of germ cells during normal development of *Xenopus laevis* tadpoles // J. Embryol. Exp. Morphol., 1975. – V. 34. – № 3. – P. 687–694.
252. Kerkis A. Fonseca S.A.S., Serafim R.C. et al. In vitro differentiation of male mouse embryonic stem cells into both presumptive stem cells and oocytes // Cloning Stem Cells, 2007. – V. 9. – № 4. – P. 535–548.
253. Kloc M., Bilinski S., Chan A.P., Etkin L.D. Mitochondrial ribosomal RNA in the germinal granules in *Xenopus* embryos revisited // Differentiation, 2000. – V. 67. – P. 80–83.

254. Knaut H., Werz C, Geisler R. A zebrafish homologue of the chemokine receptor *Cxcr4* is a germ-cell guidance receptor // *Nature*, 2003. – V. 421. – P. 279–282.
255. Knaut H., Schier A.F. Clearing the path for germ cells // *Cell*, 2008. – V. 132. – P. 337–339.
256. Koya Y., Fujita A., Niki F. et al. Sex differentiation and pubertal development of gonads in the viviparous mosquitofish, *Gambusia affinis* // *Zool. Sci.*, 2003. – V.20. – P. 1231–1242.
257. Kurokawa H., Aoki Y., Nakamura S. et al. Time-lapse analysis reveals different modes of primordial germ cell migration in the medaka *Oryzias latipes* // *Develop. Growth Differ.*, 2006. – V. 48. – P. 209–221.
258. Kurokawa H., Saito D., Nakamura S. et al. Germ cells are essential for sexual dimorphism in the medaka gonad // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2007. – V. 104. – № 43. – P. 16958–16963.
259. Leatherman J.L., Jongens T.A. Transcriptional silencing and translational control: key features of early germline development // *BioEssays*, 2003. – V. 25. – P. 326–335.
260. Lebrun C., Billard R., Jalabert B. Changes in the number of germ cells in the gonade of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during the first 10 post-hatching weeks // *Reprod. Nutr. Devel.*, 1982. – V. 22. – № 2. – P. 405–412.
261. Lewis Z.R., McClellan M.C., Postlethwait J.H. et al. Female-specific increase in primordial germ cells marks sex differentiation in threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) // *J. Morphol.*, 2008. – V. 269. – № 8. – P. 909–921.
262. Li W., Deng F., Wang H. et al. Germ cell-less expression in zebrafish embryos // *Develop., Growth and Differ.*, 2006. – V. 48. – № 25. – P. 333–338.
263. Lin H., Cell biology of stem cells: an enigma of asymmetry and self-renewal // *J. Cell Biol.*, 2008. – V. 180. – No. 2. – P. 257–260.
264. Makkapan W., Yoshizaki G., Tashiro M., Chotigeat W. Expression profile of ribosomal protein L10a throughout gonadal development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Fish Physiol. and Biochem.*, 2014, DOI 10.1007/s10695-013-9906-3.
265. Matova N., Cooley L. Comparative aspects of animal oogenesis // *Devel. Biol.*, 2001. – V. 16. – P. 1–30.
266. McIntosh S., King T., Wu D., Honson P.V. Toxicity of dispersed weathered crude oil to early life stages of Atlantic herring (*Clupea harengus*) // *Environ. Toxicol. and Chem.*, 2010. – V. 29. – № 5. – P. 1160–1167.
267. Meijide F.J., Lo Nosro F.L., Guerrero G.A. Gonadal development and sex differentiation in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes): A light- and electron- microscopic study // *J. Morphol.*, 2005. – V. 264. – P. 191–210.
268. Miyake A., Saito T., Kashiwagi T. et al. Cloning and pattern of expression of the *shiro-uo vasa* gene during embryogenesis and its roles in PGC development // *Int. J. Devel. Biol.*, 2006. – V. 50. – № 7. – P. 619–625.
269. Mochizuki K., Nishimiya-Fujisawa C., Fujisawa T. Universal occurrence of the vasa-related genes among metazoans and their germline expression in *Hydra* // *Devel. Genes Evol.*, 2001. V. 211. P. 299–308.
270. Moore G.A. The germ cells of the trout (*Salmo irideus* Gibbons) // *Tr. Amer. Micr. Soc.*, 1937. – V. 56. – № 1. – P. 105–112.
271. Nagai T., Yamaha E., Arai K. Histological differentiation of primordial germ cells in zebrafish // *Zool. Sci.*, 2001. – V. 18. – P. 215–223.
272. Nakamura M. Effects of estradiol-17 $\beta$  on gonadal sex differentiation in two species of salmonids, the masu salmon, *Oncorhynchus masou*, and the chum salmon, *O. keta* // *Aquaculture*, 1984. – V. 43. – N 1-3. – P. 83–90.
273. Nguyen L.T.H., Janssen C.R., Volckaert F.A.M. Susceptibility of embryonic and larval African catfish (*Clarias gariepinus*) to toxicant. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1999. – V. 62. – P. 230–237.



274. Otani S., Maegawa S., Inoue K. The germ cell lineage identified by *vas*-mRNA during the embryogenesis in goldfish // *Zool. Sci.*, 2002. – V. 19. – P. 519–526.
275. Parazzolo L, Coward K., Davail B. et al. Expression and localization of messenger ribonucleic acid for the vitellogenin receptor in ovarian follicles throughout oogenesis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // *Biol. Reprod.*, 1999. – V. 60. – P. 1057–1068.
276. Raz E. The function and regulation of vasa-like genes in germ cell development // *Genome Biol.*, 2000. – V. 3. – P. 1017.1–1017.6.
277. Reunov A.A., Isaeva V.V., Au D.W.T., Wu R.S.S. Nuage constituents arising from mitochondria: is it possible? // *Devel., Growth and Differ.*, 2000. – V. 42. – P. 139–143.
278. Roubinet C., Cabernard C. Control of asymmetric cell division // *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2014. – V. 31. – P. 84–91.
279. Saffman E, Lasko P. Germline development in vertebrates and invertebrates // *Cell Mol. Life Sci.*, 1999. – V. 55. – P. 1141–1163.
280. Saito D., Morinaga C., Aoki Y. et al. Proliferation of germ cells during gonadal sex differentiation in medaka: insights from germ cell-depleted mutant *zenzai* // *Develop. Biol.*, 2007. – V. 310. – P. 280–290.
281. Saito T, Goto-Kazeto R., Kawakami Y., et al., The mechanism for primordial germ-cell migration if conserved between Japanese eel and zebrafish // *PLoS ONE*, 2011. – V. 6 (9). – 8 p.
282. Satoh N, Egami N. Sex differentiation of germ cells in the teleost, *Oryzias latipes*, during normal embryonic development // *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1972. – V. 28. – № 2. – P. 385–395.
283. Selyukov A.G., Efremova E.V., Bespomestnykh G.N. Primordial germ cells proliferation in coregonid embryos // *Abstr. X Intern. Symposium on Biology and Manager of Coregonid Fishes.* – Canada, Winnipeg. – 2008. – P. 58.
284. Seydoux G., Braun R.E. Pathway to totipotency: lessons from germ cells // *Cell*, 2006. – V. 127. – P. 891–904.
285. Shi X., Zhou B. The role of Nrf2 and MAPK pathways in PFOS-induced oxidative stress in zebrafish embryos // *Toxicol. Sci.*, 2010. – V. 115. – №2. – P. 391–400.
286. Shinomiya A., Tanaka M., Kobayashi T. et al. The vasa-like gene, *olvas*, identifies the migration path of primordial germ cells during embryonic body formation stage in the medaka, *Oryzias latipes* // *Devel., Growth and Differ.*, 2000. – V. 42. – P. 317–326.
287. Shukalyuk A., Isaeva V., Kizilova E., Baiborodin S. Stem cells in reproductive strategy of colonial rhizocephalan crustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Invertebrate Reprod. Devel.*, 2005. – V. 48. – P. 41–53.
288. Smith A. A glossary for stem-cell biology // *Insight Nature*, 2006. – V. 441. – P. 1060.
289. Solana J. Closing the Circle of Germline and Stem Cells: the Primordial Stem Cell Hypothesis // *Evodevo*, 2013. – V. 4(1). – P. 2. doi: 10.1186/2041-9139-4-2.
290. Stoner D.S., Rinkevich B., Weissman I.L. Heritable germ and somatic cell lineage competitions in chimeric colonial protochordates // *Ibid.* 1999. – V. 96. – P. 9148–9153.
291. Strüssmann C., Nakamura M. Morphology, endocrinology and environmental modulation of sex differentiation in teleost fish // *Fish Physiol. and Biochem.*, 2002. – V. 26. – P. 13–29.
292. Sunanaga T, Saito Y, Kawamura K. Postembryonic epigenesis of Vasa-positive germ cells from aggregated hemoblasts in the colonial ascidian, *Botryllus primigenus* // *Devel., Growth and Differ.*, 2006. – V. 48. – P. 87–100.
293. Takashima F, Patino R., Nomura H. Histological studies on the sex differentiation in rainbow trout // *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1980. – V.46. – № 1. – P. 1317–1322.
294. Tanaka M., Saito D., Moringa Ch. et al. Cross talk between germ cells and gonadal somatic cells is critical for sex differentiation of the gonads in the teleost fish, medaka (*Oryzias latipes*) // *Devel., Growth and Differ.*, 2008. – V. 50. – № 4. – P. 273–278.
295. Theusch E.V., Brown K.J., Pelegri F. Separate pathways of RNA recruitment lead to the compartmentalization of the zebrafish germ plasm // *Devel. Biol.*, 2006. – V. 292. – P. 129–141.

296. Timmermans L.P.M., Taverne N. Segregation of primordial germ cells: their numbers and fate during early development of *Barbus conchonus* (Cyprinidae, Teleostei) as indicated by 3H-thymidine incorporation // J. Morphol., 1989. – V. 202. – P. 225–237.
297. Tran V., Lim C., Xie J., Chen X. Asymmetric division of drosophila male germline stem cell shows asymmetric histone distribution // Science, 2012. – V. 338. – P. 679–682.
298. Tsunekawa N., Naito M., Sakai Y. et al. Isolation of chicken vasa homolog gene and tracing the origin of primordial germ cells // Development, 2000. – V. 127. – P. 2741–2750.
299. Villegas J., Araya P., Bustos-Obregon E., Bursio L.O. Localization of the 16S mitochondrial rRNA in the nucleus of mammalian spermatogenic cells // Mol. Hum. Reprod., 2002. – V. 8. – P. 977–983.
300. Vizziano D., Randuineau G., Baron D. et al. Characterization of early molecular sex differentiation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Devel. Dyn., 2007. – V. 236. – № 8. – P. 2198–2206.
301. Watanabe M., Itoh K., Abe K. et al. Immuno-localization of DEAD family proteins in germ cell line cells of *Xenopus* embryos // Devel., Growth and Differ., 1992. – V. 34. – P. 223–231.
302. Weissman I.L. Stem cells: units of development, units of regeneration and units in evolution // Cell, 2000. – V. 100. – P. 157–168.
303. Wiszniak S.E., Dredge B.K., Jensen K.B. HuB (elavl2) mRNA is restricted to the germ cells by post-transcriptional mechanisms including stabilisation of the message by DAZL // PLoS One, 2011. – V. 6. P. 20773. Published online 2011 Jun 13.
304. Wylie C.C. Germ cells // Cell, 1999. – V. 96. – P. 165–174.
305. Yaron L., Cocos N., Salzer H. Effect of temperature and fotoperiod on ovarian recrudescence in the cyprinid fish *Mirogrex terra-sanctae* // J.Fish Biol., 1980. – N 4. – P. 371–382.
306. Yoon C., Kawakami K., Hopkins N. Zebrafish vasa homologue RNA is localized to the cleavage planes of 2- and 4-cell-stage embryos and is expressed in the primordial germ cells // Development, 1997. – V. 124. – P. 3157–3165.
307. Yoshikawa H., Oguri M. Sex differentiation in a cichlid, *Tilapia zillii* // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 1978. – V. 44. – № 4. – P. 313–318.
308. Yuan Y., Li M. Hong Y. Light and electron microscopic analyses of Vasa expression in adult germ cells of the fish medaka // Gene, 2014. V. 545(1). P. 15–22.
309. Zwaka T.P., Thomson J.A. A germ cell origin of embryonic stem cells? // Development. – 2005. – V. 132. – P. 227–233.
310. <http://uralpolit.ru/article/hmao/17-02-2016/72734>

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

---

---

**Таблица 1.** Динамика распределения первичных половых клеток в эмбриогенезе пеляди [Селюков, 2010]

Стадии развития	Возраст после оплодотворения, сут	Распределение ППК по регионам среднестатистического зародыша, %										$\bar{X} \pm S_x$		
		спланхнотом		перибласт		спланхноплеура		под Вольфовыми протоками		половые гребни				
		всего	п/я*	всего	п/я	всего	п/я	всего	п/я	всего	п/я			
15 стадия	26	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4±0,2
16 стадия	34	80	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0±0,6
19 стадия	60	8,3	-	75	-	-	-	16,7	-	-	-	-	-	2,4±0,5
24 стадия	85	-	-	-	-	68,7	-	-	-	31,3	20	-	-	3,2±0,5
27 стадия	118	-	-	-	-	28,1	-	37,5	8,3	34,4	-	-	-	6,4±0,6

**Примечание:** число исследованных особей во всех вариантах — 5–7 экз., \*п/я – полиморфноядерные ППК.

**Таблица 2.** Цитометрические показатели ППК у эмбрионов пеляди и тугуна

Возраст после оплодотворения, сут	Число изученных ППК	Число одиночных ППК	$D_{\text{ппк}}, \text{мкм}$ $\frac{\bar{X} \pm S_{\bar{X}}}{\text{min-max}}$	$d_{\text{ядра}}, \text{мкм}$ $\frac{X \pm S_{\bar{X}}}{\text{min-max}}$	Число ядрышек $\frac{X \pm S_{\bar{X}}}{\text{min-max}}$	$\frac{V_{\text{я}}}{V_{\text{кл}} - V_{\text{я}}} \times 100$ (%)
Пелядь						
72	115	$\frac{16,9 \pm 3,4}{7-36}$	$\frac{13,9 \pm 0,2}{9,1-19,2}$	$\frac{8,6 \pm 0,1}{5,5-11,0}$	$\frac{1,8 \pm 0,06}{1-4}$	$\frac{35,0 \pm 1,5}{13,2-97,5}$
83	86	$\frac{16,8 \pm 2,7}{10-28}$	$\frac{13,3 \pm 0,2}{10,9-18,8}$	$\frac{8,3 \pm 0,1}{6,6-10,5}$	$\frac{1,8 \pm 0,07}{1-3}$	$\frac{36,5 \pm 1,6}{14,4-94,2}$
97	173	$\frac{38,0 \pm 4,1}{26-53}$	$\frac{14,7 \pm 0,1}{0,9-20,9}$	$\frac{8,8 \pm 0,1}{7-11,3}$	$\frac{1,7 \pm 0,04}{1-3}$	$\frac{30,1 \pm 1,0}{7,3-87,9}$
113	146	$\frac{26,9 \pm 3,8}{17-51}$	$\frac{13,8 \pm 0,1}{10,8-18}$	$\frac{8,5 \pm 0,1}{6,8-9,9}$	$\frac{1,7 \pm 0,05}{1-4}$	$\frac{33,7 \pm 1,1}{15,7-97,8}$
128	84	$\frac{29,4 \pm 5,1}{14-46}$	$\frac{13,0 \pm 0,2}{9,7-16,8}$	$\frac{8,5 \pm 0,1}{7,1-10,9}$	$\frac{1,4 \pm 0,06}{1-3}$	$\frac{42,7 \pm 1,7}{20,9-99,2}$
137 (вылупление)	97	$\frac{30,0 \pm 3,2}{23-47}$	$\frac{16,5 \pm 0,2}{11,3-23,1}$	$\frac{9,8 \pm 0,1}{8,0-11,7}$	$\frac{1,4 \pm 0,05}{1-3}$	$\frac{28,8 \pm 1,1}{9,2-83,3}$
Тугун						
130	133	$\frac{20,1 \pm 2,1}{7-28}$	$\frac{15,6 \pm 0,2}{11,5-20,7}$	$\frac{8,9 \pm 0,1}{7,6-10,7}$	$\frac{1,8 \pm 0,05}{1-4}$	$\frac{26,4 \pm 1,1}{7,2-79,2}$
141	315	$\frac{30,4 \pm 3,9}{7-42}$	$\frac{15,2 \pm 0,1}{10-20,3}$	$\frac{8,6 \pm 0,04}{7,0-11,5}$	$\frac{2,1 \pm 0,04}{1-4}$	$\frac{25,0 \pm 0,6}{9,6-96,4}$
155	170	$\frac{33,8 \pm 5,4}{26-55}$	$\frac{15,3 \pm 0,2}{10,2-22,5}$	$\frac{9,2 \pm 0,1}{7,4-11,2}$	$\frac{1,8 \pm 0,05}{1-4}$	$\frac{30,5 \pm 1,0}{9,8-92,5}$
171	225	$\frac{32,2 \pm 6,6}{10-67}$	$\frac{16,5 \pm 0,2}{11,2-24,7}$	$\frac{9,4 \pm 0,1}{6,7-12,0}$	$\frac{1,8 \pm 0,05}{1-4}$	$\frac{25,7 \pm 0,8}{7,5-87,1}$
186	127	$\frac{23,5 \pm 3,1}{15-36}$	$\frac{17,5 \pm 0,2}{12,3-23,2}$	$\frac{9,9 \pm 0,1}{7,1-12,3}$	$\frac{1,3 \pm 0,04}{1-2}$	$\frac{24,4 \pm 1,0}{10,3-70,7}$
206 (вылупление)	89	$\frac{24,6 \pm 1,8}{15-29}$	$\frac{21,0 \pm 0,3}{14,6-28,7}$	$\frac{11,9 \pm 0,1}{7,9-14,8}$	$\frac{1,7 \pm 0,06}{1-4}$	$\frac{24,6 \pm 1,2}{8,9-75,0}$

**Примечание:** число особей каждого вида и возраста — 7–10 экз.

Таблица 3. Состав ППК у эмбрионов речной пеляди

Возраст после оплодотворения, сут	$\frac{t^*}{\%}^{**}$	Общее число клеток	Число ППК $\frac{X \pm S}{n \text{ или } \bar{x}}$	Одиночные ППК			Многоядерные ППК, %			Синцитиальные комплексы, %	
				с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более	
72	$\frac{130}{49}$	175	$\frac{25,0 \pm 5,3}{13-54}$	$\frac{69,2 \pm 5,4}{53,9-92,9}$	$\frac{23,2 \pm 5,5}{4,6-46,2}$	0,3	0	0	$\frac{3,7 \pm 2,1}{0-13,8}$	$\frac{3,6}{0-13,6}$	
83	$\frac{149}{56}$	156	$\frac{26,0 \pm 3,7}{18-40}$	$\frac{63,4 \pm 3,6}{50,0-73,7}$	$\frac{32,8 \pm 2,2}{26,3-40}$	0,5	0	0	3,3	0	
97	$\frac{186}{70}$	272	$\frac{45,3 \pm 4,5}{29-56}$	$\frac{83,9 \pm 2,8}{76,8-94,6}$	$\frac{11,8 \pm 2,2}{5,4-18,9}$	$\frac{1,1}{0-4,7}$	0,4	0	0,7	$\frac{2,1}{0-7,0}$	
113	$\frac{217}{82}$	243	$\frac{30,4 \pm 4,6}{18-59}$	$\frac{89,7 \pm 2,1}{76,3-94,4}$	$\frac{5,3 \pm 1,9}{0-15,8}$	$\frac{1,6 \pm 1,0}{0-7,9}$	0	0	$\frac{3,4 \pm 1,7}{0-10,2}$	0	
128	$\frac{246}{93}$	197	$\frac{32,8 \pm 4,7}{15-54}$	$\frac{89,2 \pm 4,5}{73,7-100}$	$\frac{3,4 \pm 1,2}{0-6,9}$	0,6	$\frac{2,1}{0-10,5}$	0	$\frac{3,6}{0-10,5}$	1,1	
137 (вылупление)	$\frac{265}{100}$	293	$\frac{30,0 \pm 3,2}{23-47}$	$\frac{84,1 \pm 2,4}{50-100}$	$\frac{8,2 \pm 2,4}{0-20,8}$	0	$\frac{0,3}{0-2,1}$	0	$\frac{6,0 \pm 2,8}{0-20,8}$	$\frac{1,6 \pm 1,0}{0-6,3}$	

**Примечание:** число исследованных эмбрионов и предличинок каждого возраста — 7-8 экз., \* $t_n$  — продолжительность развития с момента оплодотворения, приведенное в  $t_{**}/\%$  — то же в % от продолжительности эмбриогенеза.

**Таблица 4.** Состав ППК у эмбрионов тугуна

Возраст после оплодотворения, сут	$t, \%$	Общее число ППК	Число ППК $\bar{X} \pm S_{\text{мп-пк}}$	Одиночные ППК			Многоядерные ППК, %			Синцитиальные комплексы, %	
				с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более	
130	$\frac{270}{65}$	239	$\frac{29,9 \pm 2,2}{21-37}$	$\frac{66,8 \pm 5,7}{33,3-83,3}$	$\frac{8,0 \pm 2,4}{0-16,2}$	0	$\frac{2,1 \pm 0,7}{0-4,8}$	0	$\frac{17,6 \pm 4,5}{5,6-47,6}$	$\frac{5,5 \pm 2,2}{0-14,3}$	
141	$\frac{291}{70}$	440	$\frac{65,3 \pm 10,2}{25-110}$	$\frac{49,3 \pm 6,0}{27,3-76,7}$	$\frac{6,1 \pm 2,2}{0-20}$	$\frac{0,8 \pm 0,4}{0-3,3}$	$\frac{1,4 \pm 0,6}{0-4}$	0	$\frac{20,8 \pm 3,7}{0-32}$	$\frac{21,6 \pm 4,5}{0-42,7}$	
155	$\frac{317}{76}$	249	$\frac{49,8 \pm 10,7}{35-91}$	$\frac{71,5 \pm 6,8}{52-88,6}$	$\frac{11,1 \pm 3,1}{2,8-19,8}$	0,4	$\frac{1,2 \pm 0,6}{0-2,8}$	0	$\frac{13,5 \pm 4,9}{5,4-32}$	$\frac{2,3}{0-8,1}$	
171	$\frac{343}{82}$	343	$\frac{38,1 \pm 7,3}{15-81}$	$\frac{82,6 \pm 4,0}{61,5-95,5}$	$\frac{6,4 \pm 3,3}{0-26,9}$	0	$\frac{1,6 \pm 0,7}{0-4,9}$	0,4	$\frac{9,0 \pm 2,0}{0-21,1}$	0	
186	$\frac{375}{90}$	163	$\frac{27,2 \pm 3,6}{17-42}$	$\frac{87,3 \pm 4,6}{73,1-100}$	$\frac{0,4 \pm 0,39}{0-2,4}$	0	$\frac{1,0}{0-3,9}$	0	$\frac{9,6 \pm 3,6}{0-23,1}$	1,7	
206 (вылупление)	$\frac{417}{100}$	258	$\frac{36,9 \pm 4,0}{22-54}$	$\frac{68,9 \pm 4,8}{50-82,1}$	$\frac{0,6}{0-4,5}$	0	$\frac{3,2 \pm 0,8}{0-6,1}$	$\frac{0,3}{0-1,9}$	$\frac{14,4 \pm 3,9}{0-29,3}$	$\frac{12,6 \pm 4,3}{0-27,8}$	

**Примечание:** число исследованных эмбрионов и предличинок каждого возраста — 7-8 экз.

**Таблица 5.** Цитометрические показатели ППК у эмбрионов сигов-бентофагов

Вид	Возраст после оплодотворения, сут	Число изученных ППК	Число одиночных ППК	$D_{\text{ППК}}$ мкм	$d_{\text{ядра}}$ мкм	Число ядрышек	$\frac{V_{\text{я}}}{V_{\text{кл}} - V_{\text{я}}} \times 100$ (%)
Пыжьян	115	122	$25,7 \pm 3,2$ 13-35	$14,2 \pm 0,2$ 10,4-18,6	$8,6 \pm 0,1$ 6,8-11	$2,0 \pm 0,05$ 1-4	$31,2 \pm 1,1$ 12,4-86,5
	126	91	$21,7 \pm 3,5$ 14-36	$14,3 \pm 0,2$ 11-19,4	$8,8 \pm 0,1$ 7,7-10,7	$2,1 \pm 0,08$ 1-4	$33,0 \pm 1,4$ 8-79,7
	142	101	$22,6 \pm 2,4$ 15-35	$15,9 \pm 0,2$ 11,6-22,5	$9,2 \pm 0,1$ 7,6-11,5	$2,0 \pm 0,06$ 1-3	$26,1 \pm 1,0$ 6,9-64,5
	158	113	$20,8 \pm 4,4$ 10-41	$14,4 \pm 0,2$ 10,3-17,9	$8,9 \pm 0,1$ 6,8-11	$1,9 \pm 0,07$ 1-4	$35,6 \pm 1,4$ 12,4-95,3
	172	117	$28,2 \pm 3,3$ 14-37	$14,5 \pm 0,2$ 9,3-26,6	$8,7 \pm 0,1$ 5,2-11,9	$2,1 \pm 0,07$ 1-4	$33,5 \pm 1,6$ 5,9-97,5
	181*	84	$25,8 \pm 4,9$ 9-48	$16,8 \pm 0,2$ 13,4-21,3	$9,3 \pm 0,0$ 7,7-11	$2,3 \pm 0,09$ 1-3	$22,0 \pm 0,8$ 10,2-49,7
Муксун	95	151	$30,9 \pm 4,1$ 19-49	$13,5 \pm 0,2$ 8,5-19,4	$7,9 \pm 0,1$ 5,4-10,2	$1,9 \pm 0,05$ 1-4	$29,6 \pm 1,3$ 7,4-95,6
	106	196	$38,9 \pm 4,3$ 27-57	$12,9 \pm 0,1$ 7,6-18,4	$7,9 \pm 0,1$ 5,3-14,1	$2,0 \pm 0,06$ 1-4	$32,9 \pm 1,1$ 6,6-98,5
	120	250	$44,2 \pm 6,7$ 24-72	$13,8 \pm 0,1$ 8,2-18,8	$8,4 \pm 0,04$ 6,4-10,2	$1,9 \pm 0,04$ 1-4	$31,5 \pm 0,8$ 9,9-94
	136	240	$44,3 \pm 10,7$ 11-93	$13,7 \pm 0,2$ 9,7-18,4	$8,4 \pm 0,04$ 6,4-9,4	$2,1 \pm 0,05$ 1-5	$27,9 \pm 0,6$ 11,9-68,3
	151	282	$44,5 \pm 5,9$ 26-73	$14,4 \pm 0,1$ 10,7-19,2	$8,6 \pm 0,03$ 7,3-10,1	$2,1 \pm 0,05$ 1-5	$29,3 \pm 0,6$ 9-68,7
	160*	167	$49,6 \pm 5,4$ 24-71	$15,2 \pm 0,1$ 11,4-18,8	$9,1 \pm 0,1$ 7,2-11,0	$1,9 \pm 0,05$ 1-4	$29,0 \pm 0,7$ 12,1-66,2
Чир	102	198	$29,4 \pm 3,7$ 13-48	$15,8 \pm 0,1$ 11,4-20,2	$9,2 \pm 0,1$ 7,7-12,6	$2,9 \pm 0,08$ 1-8	$26,1 \pm 0,7$ 10,5-71,5
	113	247	$31,5 \pm 6,3$ 6-68	$15,9 \pm 0,2$ 10,7-26	$9,0 \pm 0,04$ 7,5-11,7	$2,5 \pm 0,05$ 1-5	$26,5 \pm 1,0$ 4,7-73,1
	128	244	$25,0 \pm 4,8$ 0-57	$15,6 \pm 0,1$ 11,2-22,9	$8,8 \pm 0,1$ 6,3-13,3	$2,2 \pm 0,06$ 1-5	$24,6 \pm 0,7$ 7,7-68,8
	143	185	$24,2 \pm 6,2$ 2-55	$16,2 \pm 0,1$ 12,2-22,6	$8,8 \pm 0,1$ 7,3-11,7	$2,6 \pm 0,07$ 1-6	$20,1 \pm 0,6$ 6,3-68,3
	157	236	$26 \pm 7,4$ 1-71	$15,9 \pm 0,1$ 11,4-21,5	$9,1 \pm 0,1$ 6,9-16,1	$2,2 \pm 0,06$ 1-5	$32,7 \pm 6,7$ 8,14-93,1
	164*	110	$27,8 \pm 4,8$ 10-48	$16,4 \pm 0,2$ 12,8-23,7	$9,8 \pm 0,1$ 8,0-14,4	$2,5 \pm 0,08$ 1-5	$29,0 \pm 1,1$ 12,5-71,0

**Примечание:** число особей каждого вида и возраста — 7-10 экз., \* — этап вылупления.



Таблица 6. Состав ППК у эмбрионов пыжьяна

Возраст после оплодотворения, сут	$\bar{x}$ %	Общее число ППК	Число ППК $\bar{X} + \sum_{i=1}^n \frac{S_i}{n}$	Одиночные ППК			Многоядерные ППК, %		Синцитиальные комплексы, %	
				с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более
115	$\frac{242}{66}$	234	$\frac{33,4 \pm 5,1}{13-52}$	$\frac{52,5 \pm 6,1}{21,2-73,7}$	$\frac{26,7 \pm 6,0}{0-48,5}$	$\frac{1,5 \pm 1,1}{0-7,7}$	$\frac{0,7 \pm 0,5}{0-2,5}$	0	$\frac{14,9 \pm 4,5}{0-30,8}$	$\frac{3,7 \pm 1,8}{0-11,5}$
126	$\frac{263}{72}$	186	$\frac{26,6 \pm 5,0}{14-52}$	$\frac{68,7 \pm 2,9}{57,1-80,0}$	$\frac{15,5 \pm 3,7}{0-28,6}$	$\frac{0,3 \pm 0,3}{0-1,9}$	$\frac{1,8 \pm 0,9}{0-5,6}$	0	$\frac{9,6 \pm 3,1}{0-22,2}$	$\frac{4,1 \pm 2,7}{0-14,8}$
142	$\frac{289}{79}$	206	$\frac{29,4 \pm 4,8}{15-49}$	$\frac{72,8 \pm 7,3}{37,5-95,8}$	$\frac{8,4 \pm 2,5}{0-20}$	$\frac{0,9 \pm 0,6}{0-3,9}$	$\frac{1,2 \pm 0,8}{0-4,4}$	0	$\frac{10,3 \pm 3,6}{0-26,1}$	$\frac{6,4 \pm 4,8}{0-33,3}$
158	$\frac{315}{87}$	196	$\frac{24,5 \pm 5,0}{10-51}$	$\frac{80,1 \pm 4,7}{58,8-100}$	$\frac{4,5 \pm 2,0}{0-13,3}$	$\frac{0,9 \pm 0,6}{0-5}$	$\frac{1,0 \pm 0,8}{0-5,9}$	0	$\frac{9,7 \pm 3,2}{0-23,5}$	$\frac{3,8 \pm 2,5}{0-16,7}$
172	$\frac{347}{95}$	198	$\frac{33,0 \pm 4,5}{14-42}$	$\frac{79,8 \pm 2,6}{72,2-88,5}$	$\frac{8,2 \pm 1,8}{2,5-14,3}$	0	0	0	$\frac{10,7 \pm 2,6}{0-16,7}$	$\frac{1,3 \pm 1,6}{0-7,5}$
181 (вылупление)	$\frac{364}{100}$	296	$\frac{32,9 \pm 6,4}{10-63}$	$\frac{79,6 \pm 3,8}{56,3-100}$	$\frac{6,4 \pm 2,3}{0-18,8}$	0	$\frac{1,2 \pm 0,6}{0-4,8}$	$\frac{0,2}{0-1,6}$	$\frac{11,3 \pm 3,0}{0-25}$	$\frac{1,3 \pm 0,9}{0-6,5}$

Примечание: число исследованных эмбрионов и предличинок каждого возраста — 7–8 экз.

Таблица 7. Состав ППК у эмбрионов обского муксуна

Возраст после оплодотворения, сут	$\bar{x}$ %	Общее число ППК	Число ППК $\bar{X} + \sum_{i=1}^n \frac{X_i}{n}$	Одиночные ППК			Многоядерные ППК, %			Синцитиальные комплексы, %	
				с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более	
95	$\frac{194}{61}$	287	$\frac{41,0 \pm 7,1}{21-69}$	$\frac{49,6 \pm 5,6}{27,5-71,4}$	$\frac{28,6 \pm 4,3}{18,5-47,6}$	$\frac{1,0}{0-7,4}$	$\frac{1,9 \pm 0,9}{0-6,5}$	$\frac{0,9}{0-3,1}$	$\frac{13,0 \pm 2,8}{0-19,4}$	$\frac{5,0 \pm 2,9}{0-20,3}$	
106	$\frac{215}{67}$	313	$\frac{44,7 \pm 4,8}{29-68}$	$\frac{52,3 \pm 3,5}{40,5-66,7}$	$\frac{33,5 \pm 4,4}{19-46,9}$	$\frac{1,4 \pm 0,7}{0-4,8}$	$\frac{1,4 \pm 0,8}{0-5,4}$	0	$\frac{9,9 \pm 3,2}{4,1-28,6}$	$\frac{1,5}{0-10,3}$	
120	$\frac{242}{76}$	360	$\frac{51,4 \pm 7,9}{28-83}$	$\frac{73,6 \pm 3,4}{59,6-83,3}$	$\frac{12,5 \pm 4,6}{0-34}$	0	$\frac{0,3}{0-2,1}$	0	$\frac{9,3 \pm 1,9}{4,3-16,2}$	$\frac{4,3 \pm 1,6}{0-10}$	
136	$\frac{273}{86}$	392	$\frac{56,1 \pm 14,4}{11-114}$	$\frac{75,6 \pm 5,2}{60,8-96,9}$	$\frac{8,6 \pm 2,4}{0-19,2}$	$\frac{0,6}{0-3,8}$	$\frac{0,2}{0-1,5}$	0	$\frac{8,9 \pm 3,5}{0-22,7}$	$\frac{6,1 \pm 3,2}{0-23,1}$	
151	$\frac{302}{95}$	391	$\frac{48,9 \pm 7,8}{26-93}$	$\frac{92,6 \pm 3,4}{76,1-100}$	$\frac{0,5}{0-2,2}$	$\frac{0,5}{0-2,2}$	0	0	$\frac{3,7 \pm 2,2}{0-17,2}$	$\frac{2,7 \pm 1,6}{0-13,0}$	
160 (вылупление)	$\frac{319}{100}$	682	$\frac{68,2 \pm 7,7}{28-102}$	$\frac{73,3 \pm 3,4}{53,6-86,3}$	$\frac{3,5 \pm 1,4}{0-14,3}$	$\frac{0,6 \pm 0,3}{0-2,7}$	$\frac{0,4 \pm 0,2}{0-1,4}$	0	$\frac{16,6 \pm 2,9}{0-27,3}$	$\frac{5,6 \pm 1,7}{0-14,3}$	

Примечание: число исследованных эмбрионов и предличиннок каждого возраста — 7-8 экз.

Таблица 8. Состав ППК у эмбрионов чира

Возраст после оплодотворения, сут	$\tau$ , %	Общее число ППК	Число ППК $\bar{X} \pm \sum_{\min-\max}$	Одиночные ППК			Многоядерные ППК, %			Синцитиальные комплексы, %		
				с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более		
102	$\frac{184}{62}$	309	$\frac{34,3 \pm 3,9}{15-57}$	$\frac{67,5 \pm 6,0}{34,4-86,1}$	$\frac{18,0 \pm 3,6}{0-34,4}$	0	$\frac{0,6}{0-3,1}$	0	$\frac{8,8 \pm 1,6}{0-16}$	$\frac{5,1 \pm 3,5}{0-31,3}$		
113	$\frac{203}{69}$	381	$\frac{38,1 \pm 8,5}{6-86}$	$\frac{73,4 \pm 5,5}{53,3-100}$	$\frac{14,5 \pm 4,4}{0-40,7}$	$\frac{0,9 \pm 0,5}{0-3,5}$	$\frac{0,6 \pm 0,3}{0-2,6}$	0	$\frac{7,7 \pm 2,5}{0-21,5}$	$\frac{2,9 \pm 1,6}{0-15,4}$		
128	$\frac{230}{78}$	346	$\frac{28,8 \pm 5,0}{5-59}$	$\frac{91,5 \pm 2,3}{77,4-100}$	$\frac{2,5 \pm 1,2}{0-12,5}$	$\frac{1,4 \pm 1,1}{0-12,9}$	0	$\frac{3,8 \pm 1,2}{0-9,8}$	0,8			
143	$\frac{257}{87}$	282	$\frac{31,3 \pm 8,5}{3-77}$	$\frac{79,1 \pm 3,8}{66,7-100}$	$\frac{10,6 \pm 4,2}{0-33,3}$	$\frac{2,3}{0-14,3}$	0	$\frac{6,1 \pm 2,9}{0-23,1}$	$\frac{1,9}{0-9,1}$			
157	$\frac{283}{96}$	344	$\frac{28,7 \pm 8,2}{1-81}$	$\frac{91,8 \pm 2,4}{77,5-100}$	$\frac{3,4 \pm 1,5}{0-13,0}$	0,3	0	$\frac{3,5 \pm 1,6}{0-15}$	$\frac{1,0}{0-7,5}$			
164 (вылупление)	$\frac{295}{100}$	284	$\frac{31,6 \pm 6,0}{11-63}$	$\frac{90,3 \pm 3,1}{76,2-100}$	$\frac{5,5 \pm 2,2}{0-20}$	0	0	$\frac{4,2 \pm 2,2}{0-15,9}$	0			

Примечание: число исследованных эмбрионов и предличинок каждого возраста — 7-8 экз. я

**Таблица 9.** Соотношение ППК у эмбрионов тугуна при инкубации в условиях нормальных (контроль) и повышенных температур (опыт)

Возраст после оплодотворения, сутки	Вариант	Число ППК $\bar{X} \pm \sum \frac{\bar{x}}{n}$	Одиночные ППК			Многоядерные ППК, %			Синцитиальные комплексы, %	
			с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более	
127-130	Контроль	$\frac{29,9 \pm 2,2}{21-37}$	$\frac{66,8}{33,3-83,3}$	$\frac{8,0}{0-16,2}$	0	$\frac{2,1}{0-4,8}$	0	$\frac{17,6}{5,6-47,6}$	$\frac{5,5}{0-14,3}$	
	Опыт	$\frac{15,0 \pm 4,5}{4-37}$	$\frac{80,7}{60-100}$	0	0	$\frac{3,6}{0-25}$	0	0	$\frac{15,7}{0-40}$	
141	Контроль	$\frac{65,3 \pm 10,2}{25-110}$	$\frac{49,3}{27,3-76,7}$	$\frac{6,1}{0-20}$	$\frac{0,8}{0-3,3}$	$\frac{1,4}{0-4}$	0	$\frac{20,8}{0-32}$	$\frac{21,6}{0-42,7}$	
	Опыт	$\frac{21,3 \pm 3,7}{4-33}$	$\frac{82,3}{64,3-100}$	$\frac{1,0}{0-3,9}$	0	0	0	$\frac{16,7}{0-35,7}$	0	
этап вылупления										
206	Контроль	$\frac{36,9 \pm 4,0}{22-54}$	$\frac{68,9}{50-82,1}$	$\frac{0,6}{0-4,5}$	0	$\frac{3,2}{0-6,1}$	0,3	$\frac{14,4}{0-29,3}$	$\frac{12,6}{0-27,8}$	
155	Опыт	$\frac{26,6 \pm 3,4}{18-39}$	$\frac{40,9}{24-51,9}$	0	$\frac{1,1}{0-5,6}$	0	0	$\frac{40,6}{22,2-50}$	$\frac{17,4}{0-32}$	

**Примечание:** число исследованных эмбрионов и предличинок каждого возраста – 7-8 экз.

**Таблица 10.** Соотношение ППК у эмбрионов чира на стадии пигментации глаз и при вылулении в условиях нормальных (контроль) и повышенных (опыт) температур

Возраст после оплодотворения, сут	Вариант	Число ППК $\bar{X} \pm S_{\text{тип-маж}}$	Одиночные ППК			Многоядерные ППК, %			Синцитиальные комплексы, %	
			с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более	
стадия пигментации глаз										
102-106	Контроль	$\frac{34,3 \pm 3,9}{15-57}$	$\frac{67,5}{34,4-86,1}$	$\frac{18,0}{0-34,4}$	0	$\frac{0,6}{0-3,1}$	0	$\frac{8,8}{0-16}$	$\frac{5,1}{0-31,3}$	
	Опыт	$\frac{61,2 \pm 9,4}{37-91}$	$\frac{71,0}{55-91,1}$	$\frac{0,5}{0-2,7}$	0	$\frac{0,4}{0-2,4}$	0	$\frac{23,9}{8,9-32,9}$	$\frac{4,2}{0-9,9}$	
этап вылуления										
164	Контроль	$\frac{31,6 \pm 6,0}{11-63}$	$\frac{90,3}{76,2-100}$	$\frac{5,5}{0-20}$	0	0	0	$\frac{4,2}{0-15,9}$	0	
113	Опыт	$\frac{51,3 \pm 4,7}{35-69}$	$\frac{89,1}{71-100}$	$\frac{0,3}{0-1,9}$	0	0	8,3 0-20,3	$\frac{2,3}{0-8,7}$	0	

**Примечание:** число исследованных эмбрионов и предличинок во всех вариантах – 6-7 экз.

**Таблица 11.** Цитометрия ППК у эмбрионов сига и его гибрида с рипусом в эксперименте с фенолом (возраст 61 сут после оплодотворения)

Вид	Вариант	Число экз.	Общее кол-во ППК	Число ППК в 1 эмбрионе	ППК с округлым ядром, %	Полиморфно-ядерные ППК, %	Многоядерные ППК, %	Митозы, %	Синцитиальные комплексы, %
	контроль	9	193	$21,4 \pm 3,2$ 5-38	$59,6 \pm 7,3$ 10,3-90,5 $1,7 \pm 1,2^*$ 0-10,5	$30,4 \pm 6,5$ 6,7-69,9 $4,6 \pm 3,0^{**}$ 0-21,4	$2,5 \pm 2,2$ 0-20	0	$7,5 \pm 3,9$ 0-33,3
	вариант 1	6	76	$12,7 \pm 3,5$ 4-26	$69,1 \pm 8,3$ 40-100	$29,0 \pm 7,9$ 0-60	0	0	$1,9 \pm 1,9$ 0-11,1
	вариант 2	5	85	$17 \pm 10,9$ 1-60	$66,3 \pm 9,7$ 40-100 $6,4 \pm 3,9^*$ 0-16,7	$27,8 \pm 10,3$ 0-60 10** 0-50	$2,2$ 0-11,1	0	$3,7$ 0-18,3
Гибрид	контроль	6	117	$19,5 \pm 6,4$ 1-46	$73,1 \pm 9,6$ 47,6-100 $2,5 \pm 1,7^*$ 0-10	$16,3 \pm 8,1$ 0-52,4	0	0	$10,5 \pm 6,8$ 0-35,3
	вариант 1	5	110	$22 \pm 9,0$ 7-57	$69,4 \pm 10,6$ 50-100 $6,3 \pm 3,9^*$ 0-17,2	$19,9 \pm 7,4$ 0-43,8 $5^{**}$ 0-25	$1$ 0-5	0	$9,6 \pm 6,0$ 0-28,1
	вариант 2	7	95	$13,6 \pm 2,8$ 1-24	$62,6 \pm 9,9$ 28,6-100	$27,5 \pm 9,8$ 0-71,4	0	0	$9,9 \pm 5,4$ 0-37,5

**Примечание:** \* доля (%) числа ППК с морфологическими изменениями ядрышек от числа ППК с округлым ядром, \*\* доля (%) числа ППК с морфологическими изменениями ядрышек от числа полиморфноядерных ППК.

**Таблица 12.** Цитометрия ППК у эмбрионов сига и его гибрида с рипусом в эксперименте с фенолом (возраст 94 сут после оплодотворения)

Вид	Вариант	Кол-во экз.	Общее кол-во ППК	Число ППК в 1 эмбрионе	ППК с округлым ядром, %	Полиморфно-ядерные ППК, %	Многоядерные ППК, %	Митозы, %	Синцитиальные комплексы, %
Сиг	контроль	5	109	$21,8 \pm 6,5$ 8-46	$72,1 \pm 8,0$ 39,3-100	$14,3 \pm 9,5$ 0-46,4	$1,3$ 0-6,3	0	$12,3 \pm 4,1$ 0-23,5
	вариант 1	4	208	$52,0 \pm 18,5$ 28-107	$66,3 \pm 13,4$ 39,3-100 $1,7^*$ 0-6,9	$22,1 \pm 9,5$ 0-46,4 $2,8^{**}$ 0-11,1	0	$0,6$ 0-2,6	$11,0 \pm 7,1$ 0-29,9
	вариант 2	6	307	$51,2 \pm 4,7$ 34-67	$58,4 \pm 8,5$ 39,7-94,1 $3,0 \pm 2,4^*$ 0-14,8	$13,6 \pm 5,3$ 1,7-35,5	0	0	$30,0 \pm 8,7$ 0-58,6
Гибрид	контроль	5	109	$21,8 \pm 8,1$ 3-48	$90,6 \pm 8,6$ 56,3-100 $0,6^*$ 0-3,2	$3,1 \pm 2,4$ 0-12,5	0	$0,5$ 0-2,1	$5,8$ 0-29,1
	вариант 1	4	70	$23,0 \pm 7,0$ 16-30	$70,0 \pm 15,6$ 42,9-100	$8,2 \pm 6,3$ 0-26,7	0	0	$21,8 \pm 13,7$ 0-57,1
	вариант 2	4	51	$12,8 \pm 5,6$ 3-28	$83,3 \pm 9,4$ 57,1-100 $5,7^*$ 0-23,1	$7,7 \pm 3,4$ 0-16,7	0	0	$9,0$ 0-35,7

**Примечание:** обозначения как в табл. 11.

Таблица 13. Морфометрические показатели предличников сиговых рыб на этапе вылупления

Показатель	Вид									
	Муксун (n = 40)		Чир (n = 40)		Пыжьян (n = 45)		Пелядь (n = 55)		Тугун (n = 45)	
	$\bar{X} \pm S_x$ min-max	CV,%	$\bar{X} \pm S_x$ min-max	CV,%	$\bar{X} \pm S_x$ min-max	CV,%	$\bar{X} \pm S_x$ min-max	CV,%	$\bar{X} \pm S_x$ min-max	CV,%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
пластические признаки, мм										
L	11,5±0,1 10,4-12,5	3,2	12,5±0,1 11,4-13,7	3,8	10,3±0,2 9,0-11,7	4,8	9,3±0,04 8,7-9,9	3,0	9,0±0,1 8,2-9,8	3,3
L1	10,9±0,1 9,9-12,0	3,3	11,8±0,1 10,7-13,0	3,9	9,7±0,2 8,4-11,2	4,6	8,8±0,04 8,3-9,4	3,2	8,5±0,1 7,8-9,3	3,5
AA	7,5±0,03 7,0-7,8	2,7	8,3±0,1 7,1-9,0	5,0	6,5±0,1 5,8-7,0	3,9	5,7±0,1 5,3-6,1	3,2	5,6±0,1 5,1-6,2	3,70
H	1,0±0,01 0,9-1,2	5,9	1,1±0,02 1,0-1,8	11,5	0,9±0,02 0,8-1,1	6,1	0,8±0,02 0,7-0,9	5,4	0,8±0,02 0,7-0,9	6,2
HM	0,4±0,01 0,37-0,5	8,0	0,5±0,01 0,4-0,6	10,7	0,4±0,01 0,32-0,42	8,2	0,4±0,01 0,3-0,4	8,6	0,4±0,01 0,3-0,5	9,6
CL	3,5±0,02 3,2-3,8	4,2	3,6±0,02 3,2-3,8	4,4	3,3±0,08 2,3-3,5	6,6	3,1±0,1 2,5-3,5	5,5	3,0±0,1 2,6-3,3	5,4
C	1,9±0,01 1,7-2,0	3,6	2,1±0,02 1,9-2,4	5,3	1,9±0,04 1,7-2,3	5,8	1,6±0,03 1,2-1,7	6,4	1,5±0,03 1,4-1,7	4,6
R	0,3±0,01 0,2-0,4	21,0	0,3±0,01 0,2-0,5	24,8	0,2±0,02 0,1-0,3	22,9	0,2±0,02 0,1-0,3	22,8	0,2±0,02 0,1-0,3	30,3



Продолжение табл. 13

1	2	3	4	5	8	9	8	9	10	11
<i>OC</i>	$\frac{0,8 \pm 0,01}{0,7-0,9}$	5,3	$\frac{0,9 \pm 0,01}{0,8-1,0}$	6,4	$\frac{0,8 \pm 0,02}{0,6-0,9}$	7,1	$\frac{0,6 \pm 0,01}{0,5-0,7}$	5,7	$\frac{0,7 \pm 0,02}{0,6-0,8}$	5,8
<i>OP</i>	$\frac{0,9 \pm 0,01}{0,7-1,1}$	8,3	$\frac{1,0 \pm 0,01}{0,8-1,3}$	9,2	$\frac{0,1 \pm 0,03}{0,7-1,2}$	9,4	$\frac{0,8 \pm 0,03}{0,6-1,0}$	9,5	$\frac{0,7 \pm 0,02}{0,6-0,8}$	6,7
<i>HC</i>	$\frac{1,5 \pm 0,01}{1,4-1,6}$	3,5	$\frac{1,7 \pm 0,02}{1,4-2,0}$	6,0	$\frac{1,4 \pm 0,02}{1,3-1,5}$	3,4	$\frac{1,2 \pm 0,02}{1,1-1,3}$	5,0	$\frac{1,2 \pm 0,02}{1,1-1,3}$	4,6
<i>HVS</i>	$\frac{1,2 \pm 0,02}{1,0-1,6}$	11,8	$\frac{1,1 \pm 0,02}{0,9-1,4}$	10,3	$\frac{1,1 \pm 0,03}{0,9-1,3}$	7,9	$\frac{0,9 \pm 0,01}{0,7-1,1}$	11,0	$\frac{0,9 \pm 0,03}{0,7-1,2}$	10,1
<i>LVS</i>	$\frac{1,9 \pm 0,03}{1,0-2,1}$	9,6	$\frac{1,9 \pm 0,04}{1,2-2,8}$	13,7	$\frac{1,7 \pm 0,04}{1,4-1,9}$	6,4	$\frac{1,4 \pm 0,02}{1,1-1,7}$	9,1	$\frac{1,5 \pm 0,05}{1,2-1,8}$	8,1
<i>OO</i>	$\frac{1,0 \pm 0,01}{0,8-1,2}$	7,7	$\frac{1,0 \pm 0,02}{0,8-1,4}$	10,8	$\frac{1,0 \pm 0,03}{0,8-1,1}$	7,3	$\frac{0,8 \pm 0,01}{0,6-1,0}$	10,3	$\frac{0,8 \pm 0,03}{0,6-0,9}$	8,6
<i>BS</i>	$\frac{0,7 \pm 0,01}{0,5-0,8}$	9,0	$\frac{0,7 \pm 0,02}{0,5-0,9}$	13,6	$\frac{0,5 \pm 0,02}{0,4-0,6}$	8,2	$\frac{0,5 \pm 0,01}{0,4-0,6}$	10,2	$\frac{0,5 \pm 0,02}{0,4-0,6}$	10,7
<i>PL</i>	$\frac{1,5 \pm 0,02}{1,3-1,7}$	7,6	$\frac{1,6 \pm 0,02}{1,3-1,8}$	8,2	$\frac{1,5 \pm 0,04}{1,3-1,8}$	7,3	$\frac{1,2 \pm 0,01}{1,1-1,5}$	7,1	$\frac{1,3 \pm 0,04}{0,9-1,4}$	9,3
число меланофоров										
<i>mfc</i>	$\frac{10,2 \pm 0,8}{2-30}$	50,4	$\frac{26,4 \pm 1,5}{10-50}$	35,4	$\frac{18 \pm 4,6}{4-69}$	66,0	$\frac{2,6 \pm 0,5}{0-14}$	134,0	$\frac{8,0 \pm 1,2}{1-15}$	41,6
<i>mfs</i>	$\frac{52,5 \pm 2,6}{16-83}$	30,8	$\frac{97,1 \pm 3,2}{62-141}$	21,1	$\frac{95 \pm 6,5}{68-147}$	20,8	$\frac{20,9 \pm 1,2}{6-46}$	43,9	$\frac{68 \pm 3,6}{52-96}$	27,6
<i>mfd</i>	$\frac{46,6 \pm 3,6}{18-148}$	48,6	$\frac{85,3 \pm 2,6}{60-125}$	19,1	$\frac{63 \pm 5,6}{37-105}$	23,3	$\frac{9,8 \pm 0,8}{3-38}$	60,3	$\frac{33 \pm 3,6}{15-57}$	28,7
<i>mfv</i>	$\frac{85,0 \pm 3,1}{54-133}$	23,4	$\frac{139,6 \pm 4,3}{87-232}$	19,3	$\frac{51 \pm 4,1}{32-76}$	17,7	$\frac{51,9 \pm 1,7}{22-87}$	24,1	$\frac{46 \pm 4,9}{27-85}$	13,7

Таблица 14. Соотношение половых клеток разного состояния у сиговых рыб в постэмбриональный период

Стадия, возраст	Вид	Число ППК $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ min-max	Одиночные ППК			Многоядерные, %			Синцитии, %	
			с округлым ядром, %	полиморфно-ядерные, %	митозы, %	2 ядра	3 ядра	2 ППК	3 ППК и более	
Выупление	муksун	68,2±7,7 28-102	73,3 53,6-86,3	3,5 0-14,3	0,6 0-2,7	0,4 0-1,4	0	16,6 0-27,3	5,6 0-14,3	
	тугун	36,9±4,0 22-54	68,9 50-82,1	0,6 0-4,5	0	3,2 0-6,1	0,3 0-1,9	14,4 0-29,3	12,6 0-27,8	
	пыжьян	32,9±6,4 10-63	79,6 56,3-100	6,4 0-18,8	0	1,2 0-4,8	0,2 0-1,6	11,3 0-25	1,3 0-6,5	
	чир	31,6±6,0 11-63	90,3 76,2-100	5,5 0-20	0	0	0	4,2 0-15,9	0	
	пелядь	30,0±3,2 23-47	83,9 50-100	8,2 0-20,8	0	0,3 0-2,1	0	6,0 0-20,8	1,6 0-6,3	
	муksун	53,0±6,5 34-70	84,7 72,9-93,7	0	0	0,3 0-1,4	0	13,6 6,4-25,7	1,4 0-6,8	
22 сут	тугун (14 сут)	101,3 97-104	45,2 24,3-73,1	0	2,3 0-4,9	3,0 0-4,9	0	15,1 12,4-19,4	34,4 2,9-26,2	
	пыжьян	27,8±4,7 18-44	75,5 60-100	0	0	2,7 0-13,3	0	15,0 0-26,7	6,8 0-16,7	
	чир	50,0±16,6 1-105	90,8 80-100	0,5 0-24	0	0	0	7,0 0-19,6	1,7 0-8,6	
	пелядь	34,0±5,5 20-48	95,3 86,7-100	0	0	0,4 0-2,2	0	4,3 0-11,1	0	
	муksун	61,3±10,2 31-75	87,3 80,9-93,6	0	0	1,2 0-4,4	0	10,1 6,5-14,7	1,4 0-4,2	
	пыжьян	28,0±4,4 19-40	93,1 85,7-100	0	0	1,3 0-5	0	5,6 0-14,3	0	
30 сут	чир	43,4±15,8 2-0	87,7 76,7-100	0	0	0	0	10,6 0-0	1,7 0-4,9	
	пелядь	48,0±6,6 24-62	85,6 78,7-91,7	0	0	1,7 0-8,5	0	8,4 4-12,8	4,3 0-10,5	

**Таблица 15.** Размеры гонад и половых клеток у сеголеток муксуна при содержании в УЗВ

Дата (возраст, сут)	Число экз. (пол)	Размеры гонады (фронтальный срез), $\overline{X \pm S_{\bar{x}}}$ min-max	Площадь гонады, $\overline{X \pm S_{\bar{x}}}$ mm <sup>2</sup> min-max	Диаметр женских половых клеток, мкм				
				оогонии $\overline{X \pm S_{\bar{x}}}$ min-max	зиготена $\overline{X \pm S_{\bar{x}}}$ min-max	пахитена $\overline{X \pm S_{\bar{x}}}$ min-max	ранняя дипло- тена $\overline{X \pm S_{\bar{x}}}$ min-max	превител- логенные $\overline{X \pm S_{\bar{x}}}$ min-max
8.07.09 (69)	5	$52,1 \pm 3,9$ 126,0±17,6	$0,005 \pm 0,001$ 0,004-0,008	$10,9 \pm 0,2^*$ 8,2-13,1	-	-	-	-
20.07.09 (81)	6	$66,6 \pm 4,6$ 170,2±23,9	$0,009 \pm 0,001$ 0,004-0,015	$10,0 \pm 0,1^*$ 7,1-13,2	-	-	-	-
4.08.09 (96)	3	$62,4 \pm 6,8$ 248,5±46,4	$0,014 \pm 0,003$ 0,007-0,017	$10,3 \pm 0,4^*$ 8,9-11,8	-	-	-	-
24.08.09 (116)	7 (самки)	$179,3 \pm 54,9$ 388,9±73,4	$0,059 \pm 0,022$ 0,009-0,18	$9,9 \pm 0,3$ 8,9-11,7	$10,8 \pm 0,2$ 8,0-13,5	$12,8 \pm 0,4$ 10,0-16,2	$17,6 \pm 0,3$ 12,9-24,4	-
30.09.09 (153)	2 (самки)	$120,2 \pm 4,8$ 550,1±3,4	$0,051 \pm 0,00$ 0,04-0,06	$10,2 \pm 0,1$ 8,8-11,2	-	$12,6 \pm 0,3$ 10,3-16,6	$13,9 \pm 0,4$ 13,1-15,0	-
	2 (самцы)	$36,6 \pm 1,3$ 145,5±7,0	$0,005 \pm 0,001$ 0,003-0,007	-	-	-	-	-
28.11.09 (212)	6 (самки)	$297,6 \pm 69,8$ 739,9±200,1	$0,236 \pm 0,123$ 0,04-0,8	$10,7 \pm 0,3$ 10,1-12,1	$10,1 \pm 0,1$ 10,0-10,2	$13,2 \pm 0,4$ 12,4-14,9	$17,3 \pm 1,5$ 14,6-23,1	$51,9 \pm 0,4$ 51,5-52,2
	5 (самки)	$533,8 \pm 32,5$ 966,1±81,5	$0,407 \pm 0,046$ 0,3-0,5	$10,7 \pm 0,4$ 9,9-11,6	$9,6 \pm 0,6$ 7,9-10,7	$14,5 \pm 0,7$ 12,6-16,2	$28,1 \pm 1,2$ 25,3-30,9	$66,7 \pm 0,7$ 66,0-67,4
6.02.10 (283)	2 (самцы)	$225,2 \pm 78,4$ 492,9±48,3	$0,09 \pm 0,033$ 0,02-0,1	-	-	-	-	-

**Примечание:** \* пол недифференцирован, половые клетки представлены гониями.

**Таблица 16.** Соотношение половых клеток у сеголеток муксуна при содержании в УЗВ, %

Дата (возраст, сут)	Митоти- ческий. индекс, %	Среднее количество женских половых клеток на 1 срез, %				
		оогонии $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	зиготена $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	пахитена $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	ранняя диplotена $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	превителло- генные $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max
8.07.09 (69)	$1,3 \pm 0,9$ 0-4,9	$2,0 \pm 0,2$ 0-8 (100)	-	-	-	-
20.07.09 (81)	$2,1 \pm 0,7$ 0-4	$1,5 \pm 0,1$ 0-10 (100)	-	-	-	-
4.08.09 (96)	-	$0,5 \pm 0,3$ 0-13 (100)	-	-	-	-
24.08.09 (116)	$0,9 \pm 0,4$ 0-2,6	$18,2 \pm 2,1$ 0-99 (65,6)	$0,6 \pm 0,2$ 0-10 (2,1)	$10,3 \pm 1,6$ 0-86 (28,5)	$1,8 \pm 0,4$ 0-26 (3,8)	-
30.09.09 (153)	$0,6$ 0-1,9	$9,5 \pm 0,9$ 2-19 (58,7)	-	$7,9 \pm 0,5$ 2-14 (39,3)	$0,4 \pm 0,2$ 0-3 (2,0)	-
28.11.09 (212)	$1,5 \pm 0,6$ 0-3,6	$12,3 \pm 1,5$ 0-87 (53,6)	$2,5 \pm 0,7$ 0-38 (11,7)	$9,4 \pm 1,3$ 0-96 (33,3)	$0,4 \pm 0,1$ 0-4 (1,2)	$0,2 \pm 0,1$ 0-3 (0,2)
6.02.10 (283)	♀ $1,1 \pm 0,4$ 0,5-2,2	$23,9 \pm 1,8$ 4-55 (37,7)	$26,9 \pm 6,4$ 0-140 (47,4)	$10,0 \pm 0,6$ 0-18 (11,7)	$4,7 \pm 0,4$ 0-13 (2,9)	$1,3 \pm 0,2$ 0-4 (0,3)
	♂ $0,7 \pm 0,6$ 0-1,9	-	-	-	-	-

**Таблица 17.** Размеры гонад и половых клеток у сеголеток сига при содержании в УЗВ

Дата (возраст)	Число рыб, экз.	Длина гонады (фронтальный срез), мкм $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	Площадь гонады, $\frac{\text{мм}^2}{\text{мм}^2}$ $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	Стадия развития и диаметр половых клеток, мкм				
				оогонии $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	зиготена $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	пахитена $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	ранняя диплотена $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max	превитель- логенные ооциты $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ min-max
31.08.11 (141 сут)	4 (самки)	$150,3 \pm 47,7$ 278,9±81,3	$0,042 \pm 0,02$ 0,01-0,08	$10,4 \pm 0,01$ 10,3-10,4	$8,5 \pm 0,8$ 7,6-9,3	$13,7 \pm 0,2$ 13,5-13,8	$24,4 \pm 0,4$ 24,1-4,8	$39,1 \pm 2,7$ 36,4-41,7
8.10.11 (179 сут)	6 (самки)	$369,7 \pm 54,3$ 575,9±57,1	$0,18 \pm 0,04$ 0,04-0,33	$9,4 \pm 0,2$ 8,5-10,3	$8,9 \pm 0,5$ 7,6-9,7	$12,8 \pm 0,4$ 11,5-13,8	$21,2 \pm 1,7$ 14,9-24,7	$58,9 \pm 3,6$ 47,3-66,8
20.12.11 (212 сут)	5 (самки)	$825,7 \pm 78,7$ 1206,6±141,0	$0,8 \pm 0,14$ 0,36-1,09	$8,2 \pm 1,3$ 4,5-10,1	$9,0 \pm 0,4$ 7,8-9,9	$13,6 \pm 0,3$ 12,8-14,6	$18,9 \pm 4,1$ 11,6-25,9	$88,8 \pm 5,9$ 78,3-110,2
	2 (самцы)	$186,6 \pm 74,3$ 474,2±45,5	$0,08 \pm 0,03$ 0,04-0,1	-	-	-	-	-

**Таблица 18.** Соотношение половых клеток у сеголеток сига при содержании в УЗВ, %

Дата (возраст)	Среднее число женских половых клеток на 1 срезе, шт./%					
	одгоний $X \pm S_{\bar{x}}$ min-max	митотический индекс, %	зиготена $X \pm S_{\bar{x}}$ min-max	пахитена $X \pm S_{\bar{x}}$ min-max	ранняя диплотена $X \pm S_{\bar{x}}$ min-max	превителлогенные ооциты $X \pm S_{\bar{x}}$ min-max
31 августа 2011 (141 сут)	$9,2 \pm 2,1$ 0-42 (33,2)	$0,8$ 0-2,4	$8,7 \pm 2,9$ 0-68 (38,7)	$7,5 \pm 2,0$ 0-36 (20,7)	$2,8 \pm 1,0$ 0-27 (4,2)	$3,3 \pm 1,4$ 0-31 (3,2)
8 октября 2011 (179 сут)	$4,6 \pm 0,7$ 0-22 (41,9)	$6,8 \pm 5,3$ 0-33,3	$1,6 \pm 0,4$ 0-21 (23,2)	$4,3 \pm 0,4$ 0-18 (29,0)	$0,5 \pm 0,1$ 0-3 (2,4)	$2 \pm 0,2$ 0-8 (3,5)
20 декабря 2011 (212 сут)	$1,1 \pm 0,3$ 0-10 (27,7)	$12$ 0-60	$2,1 \pm 0,4$ 0-18 (40,4)	$2,2 \pm 0,4$ 0-13 (27,4)	$0,1 \pm 0,04$ 0-2 (1,8)	$1,4 \pm 0,1$ 0-5 (2,7)

СЕЛЮКОВ Александр Германович  
ЕФРЕМОВА Екатерина Владимировна  
БОНДАРЕНКО Галина Николаевна  
МИКОДИНА Екатерина Викторовна

РАННИЙ ГАМЕТОГЕНЕЗ СИГОВЫХ РЫБ СИБИРИ

Заведующая редакцией *Н.Э. Боровик*  
Художественный редактор *М.Е. Котова*  
Корректор *Е.Н. Гаврилова*  
Компьютерная верстка *Т.Н. Боровик*

Подписано в печать  
Печ. л. 15,0. Формат 60x84 1/8

Издательство ВНИРО  
107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17  
Тел.: +7 (499) 264-65-33  
Факс: +7 (499) 264-91-87