

УДК 597.553.2:597-13

АНАЛИЗ ГИСТОГЕНЕЗА У ЭМБРИОНОВ ЧАВЫЧИ *ONCORHYNCHUS TSCHAWYTSCHA* ПРИ ИНКУБАЦИИ С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ ПОДОГРЕВОМ ВОДЫ

К.В. Метальникова¹, Л.В. Сахаровская²

¹ ВНИРО, Москва, ksenia@vniro.ru

² Малкинский лососевый рыболовный завод, пос. Малки,
Камчатская обл.

ANALYSIS OF HISTOGENESIS FOR EMBRYOS OF CHINOOK SALMON *ONCORHYNCHUS* *TSCHAWYTSCHA* AT THE HATCHERY INCUBATION WITH PREHEATING WATER

K.V. Metalnikova¹, L.V. Saharovskaya²

¹ VNIRO, Moscow, ksenia@vniro.ru

² Malkinskiy Oncorhynchus Hatchery, Malky v., Kamchatskiy region

Введение

Эмбриогенез складывается из тесно связанных друг с другом процессов дифференцировки, организации и роста. Это разные стороны единого процесса, в результате которого образуется вполне развитый организм. Можно разделить исследователей, изучавших эти проблемы, на две группы. Одна группа утверждает, что реакции зародышей на внешние воздействия носят неспецифический характер и это находит свое отражение в неспецифическом изменении структур, при этом существенным является только стадия развития зародышей. Другие исследователи находят наличие специфических черт в изменении эмбриогенеза под воздействием внешних факторов. Поскольку чувствительность к каждому фактору меняется в процессе развития, постольку один и тот же фактор вызывает различные нарушения эмбриогенеза в зависимости от стадии, на которой он возник. Одни факторы влияют на весь организм в целом, другие действуют локально. Так изменения температуры инкубации влияют на весь зародыш в целом [Беляева, 1964; Коровина, 1964]. В условиях современного заводского воспроизводства проходных лососей, к которым относится и чавыча, получение быстрорастущей, готовой к миграции в море, физиологически полноценной молоди, равноценной дикой, но более крупной, является основной задачей искусственного воспроизводства. Наиболее эффективный способ получения такой молоди — использование повышенной температуры воды при инкубации. Однако подробные исследования формирования и развития

тканей в процессе заводского выращивания чавычи при эмбриогенезе не проводили. А именно эти процессы, в период эмбрионального развития чавычи, обуславливают полноценное развитие молоди, её высокий темп роста, жизнеспособность на более поздних этапах развития и увеличение, в общей сложности, величины промыслового возврата.

Эмбриогенез складывается из процессов дифференцировки, организации и роста. Под дифференцировкой понимают изменения в обмене веществ и структуре клеток, в результате которых развиваются морфологические и химические различия между первоначально однородными клетками. В развивающемся организме дифференцировка сопровождается определенной организацией или размещением дифференцированных клеток, это обычно сопровождается ростом организма. Как известно, различают четыре основных периода дифференцировки.

1. Оотипическую дифференцировку, выражающуюся в том, что материал будущих зачатков представлен презумптивными участками цитоплазмы яйцеклетки или зиготы. Далее эмбриогенез можно разделить на несколько периодов при формировании тканей различных органов у чавычи.

2. Период бластомерной дифференцировки у зародышей, когда материал будущих тканевых зачатков представлен различными бластомерами в составе дробящегося зародыша.

3. Период зачатковой дифференцировки, когда, например, из эктодермы выделяется зачаток нервной трубки, из мезодермы образуются спинные сегменты, каждый из которых потом расчленяется на склеротом, миотом, дерматом, выделяется нефротом и спланхнотом. Образуется из разных участков мезодермы мезенхима. Мезенхима — это эмбриональная соединительная ткань, появляется тотчас после формирования зародышевых листков. Промежутки между зародышевыми листками, между мезодермой, с одной стороны и энто- и эктодермой — с другой стороны, быстро заполняются мезенхимой, состоящей из веретенообразных вытянутых или звездообразных разветвленных клеток. Эти клетки соединяются друг с другом своими отростками и образуют сетчатый остов, в петлях которого располагается простейшее межклеточное вещество — жидкая или полужидкая студенистая масса. Данные электронной микроскопии показали, что клетки мезенхимы обособлены друг от друга клеточными оболочками, они имеют хорошо выраженную эргастоплазму и митохондрии [Елисеев, 1963]. Все основные органы формируются именно из этого «строительного материала».

4. Период тканевой дифференцировки, когда тканевый зачаток превращается в ткань. Превращение зачатка в ткань — гистогенез — это процесс, в течение которого клетки и неклеточные образования каждого зачатка, специализируясь в разных направлениях, приобретают характерные для каждой ткани специфическую структуру и соответствующие физиологические и химические свойства. В процессе дальнейшего развития зародыша возникают органы и системы органов. По определению В.Г. Елисеева [1963] ткань — это исторически (филогенетически) сложившаяся система клеток и внеклеточных структур, обладающая общностью строения и специализированная на выполнении определенных функций. Высокий температурный потенциал чавычи давно был доказан и обоснован, как резерв генотипической нормы реакции, который должен стать основой для ускоренного выращивания лососей в заводских условиях [Городилов, 1969; Смирнов, 1975].

Материал и методика

Материалом послужили эмбрионы чавычи, зафиксированные работниками Малкинского ЛРЗ (МЛРЗ) в 2002–2003 гг. в растворе Чемберлена [Паушева,

1988]. В 2002 г. инкубация проводилась на ЛРЗ «Озерки» при естественной температуре воды, а в 2003 г. на Малкинском ЛРЗ (МЛРЗ) при повышенной температуре воды за счет водоподогрева (рис. 1) [Метальникова, Сахаровская, 2005].

Проводку проб осуществляли вручную [Метальникова, 2005] и через автомат для гистологической обработки тканей карусельного типа (Модель STP-120);

заливку в парафин — через заливочную станцию ЕС 350; сагитальные серийные срезы толщиной 5–7 мкм делали на ротационном микротоме. Полученные срезы окрашивали квасцовым гематоксилином по Эрлиху [Роскин, Левинсон, 1957; Паушева, 1988] с докраской ядер эозином. Фотографии сделаны с помощью компьютерной системы с автоматической видеокамерой Leica DC при увеличении окуляра $\times 10$ и объективов 10, 20, 40, $\times 100$. Всего обработано 790 шт. зародышей и икринок с зародышами со срезами типичных картин эмбриогенеза на разных стадиях.

Для зародышей чавычи, инкубированных при более высокой температуре и в обычных температурных условиях без термодогрева, произвели расчет скорости формирования сомитов при данной температуре, по методу, рекомендованному Ю.Н. Городиловым [1986]. Расчет возраста и определения стадий эмбриогенеза для атлантического лосося по формуле:

$$\tau_s = \frac{t_2 - t_1}{n_2 - n_1},$$

где τ_s — «тау-сомит», оказался равен 0,21. При дальнейших расчетах получилось, что за сутки, в среднем, у зародышей чавычи формировалось 4,8 сомитов на МЛРЗ и 3 сомита на ЛРЗ «Озерки»; $t_2 - t_1$ — период времени, за который сформировались сомиты; $n_2 - n_1$ — количество сомитов, сформированных за период времени $t_2 - t_1$. Используя эти показатели, рассчитали возраст эмбрионов чавычи в «тау-сомитах» [Городилов, 1986] и в градусах-днях, по этапам [Смирнов, 1975]. При описании органогенеза у чавычи использовали рекомендации П.П. Иванова [1937] для костистых и, в частности лососевых рыб.

Результаты

Эмбриональное развитие чавычи в условиях без подогрева воды. В начале гастрюляции под бластодиск начинает уходить головная энтодерма через верхний край бластопора, происходит нарастание верхней губы бластопора. Мезодерма задней половины края бластодиска постепенно уходит в бластопор и в передней его половине дифференцируются элементы, подгибающиеся под край обрастания. Клетки, на которые распадается этот подворачивающийся край, являются клетками мезенхимы, той, что дает в дальнейшем кровеносные сосуды периферических частей бластодиска (рис. 2) [Иванов, 1937]. К концу обрастания желточная пробка приобретает вид маленького кружка, у самого конца зародыша происходит замыкание желточной пробки [Иванов, 1937]. То есть,



Рис. 1. Температура воды при инкубации икры чавычи на ЛРЗ «Озерки» (2002 г.) и МЛРЗ (2003 г.)

при термopодогpеве воды во время инкубации стадия 11 для атлантического лосося происходит при $\tau_s = 45-47$, а для чавычи при $\tau_s = 102,5$, для чавычи при 193,5 градусо-днях по этапированию эмбриогенеза [Смирнов, 1975] должен быть 8 этап возникновения кардинальных вен и смешанного подкишечно-желточного и печёночно-желточного кровообращения. Поэтому предполагаем, что для классификации стадий зародыша при изучении гистогенеза и органогенеза на гистологическом уровне необходимо создание собственной шкалы.

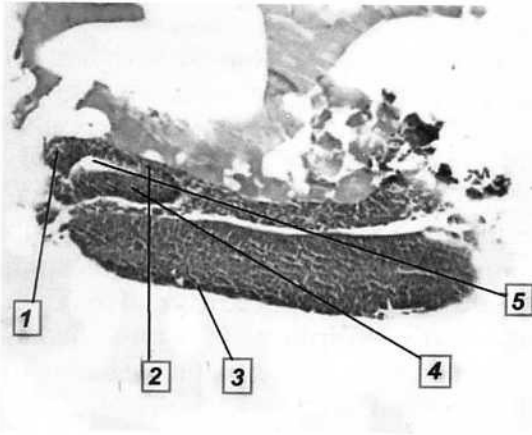


Рис. 2. Сагиттальный срез зародыша чавычи на стадии гастрюляции через зародышевый диск: 1 – краевая мезенхима; 2 – перибласт; 3 – перидерма; 4 – губа бластопора; 5 – купферов пузырь; 6 – икринка. Партия 7. Закладка на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 3 (лоток 3). $t = 6,9$ °С. МЛРЗ, Камчатка. Возраст 179,4 градусо-дней; $\tau_s = 102,5$; 11 стадия; приблизительно 4 этап. Увеличение: ок.10 × об.5

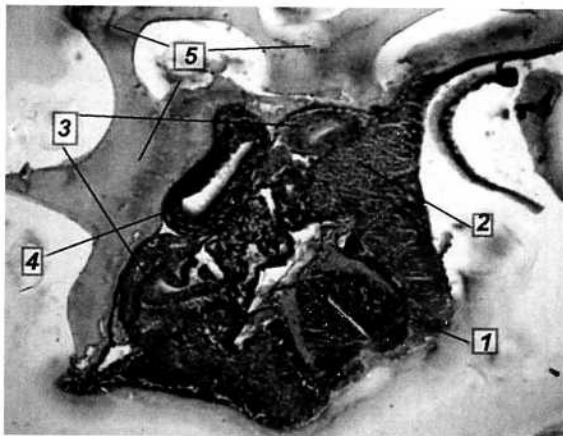


Рис. 3. Срез эмбриона чавычи. Зачатки: 1 – нервной трубки; 2 – миомеров; 3 – почечных канальцев; 4 – кишечной трубки; 5 – запас трофических веществ в икринке. ЛРЗ «Озерки», Камчатка, 2002 г. Партия 1. Закладка на инкубацию 17.07.02 г., $t = 5,1$ °С. $\tau_s = 192$; 29 стадия; 330,5 градусо-дней; 10 этап. Увеличение: ок.10 × об.10

В возрасте 330,5 градусо-дней зародыши чавычи имеют зачаток нервной трубки, кишечной трубки, почечные канальцы в первичной почке, а на месте «мезодермальных крыльев» образуются миотомы, состоящие из миомеров.

Отдельные особи в этом возрасте 430,3 градусо-дней также встречались на ранних стадиях развития. При продвижении краев бластодермы за уровень экватора икринки в передней части расширенного головного мозга появляются два боковых выступа – зачатки глаз. Позади границы головных зачатков мозговых пузырей видны 4 миотома, дифференцировавшихся из осевых участков мезодермы.

На рис. 6 сагиттальный срез типичного зародыша чавычи в области головы. Идут формообразовательные процессы, из зачатков органов формируются ткани органов, т.е. идет процесс гистогенеза. В головном отделе формируются мозговые пузыри, образование глазных бокалов. После перевозки икры на МЛРЗ произошла ре-

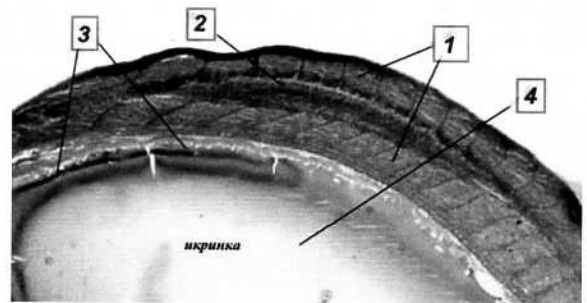


Рис. 4. Сагиттальный срез эмбриона чавычи на 35 стадии перед выклевом: 1 – более 18 сомитов; 2 – хорда; 3 – туловищная складка; 4 – желток. ЛРЗ «Озерки»; Камчатка, 2002 г. Партия 9. Аппарат 4 (лоток 3, 4). Через час после перевозки с ЛРЗ «Озерки»; фиксация 22.10.02 г. Возраст $\tau_s = 340,3$; стадия 35; 425,5 градусо-дней; 11 этап. Увеличение: ок.10 × об.5

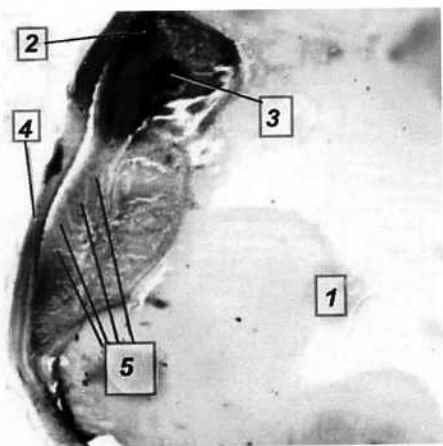


Рис. 5. Сагиттальный срез эмбриона чавычи: 1 — икринка с трофическими включениями; 2 — зачатки пузырей головного мозга; 3 — зачатки глаз; 4 — перидерма; 5 — 4 пары миотомов. ЛРЗ «Озерки», Камчатка, 2002 г. Проба 16. Партия 9. Фиксация 23.10.02 г. Закладка на инкубацию 01.08.02 г. Аппарат 4 (лотки 3, 4); $t = 4,8\text{ }^{\circ}\text{C}$; 430,3 градусо-дней; $\tau_s = 252$; 33 стадия; 11 этап. Увеличение: ок.10 × об.5

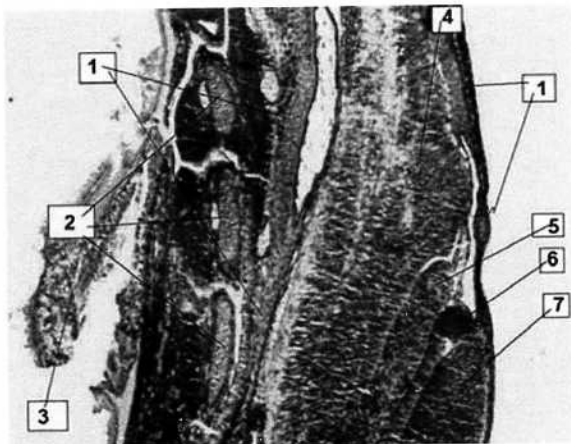


Рис. 6. Сагиттальный срез чавычи: 1 — формирование черепной коробки путем образования прехордальных трабекул, парахордальных хрящей; 2 — идет процесс закладки кровеносных сосудов жабр; 3 — остаток желточного мешка от препарирования зародыша; 4 — пузырь переднего мозга; 5 — пузырь среднего мозга; 6 — (перекрестие) складка мозжечка; 7 — продолговатый мозг. Проба 4 (серия 5). Партия 9. Фиксация 23.10.02 г. Закладка на инкубацию 01.08.02 г. производители из р. Ключевка; $t = 4,8\text{ }^{\circ}\text{C}$; МЛРЗ, Камчатка. Сутки после перевозки с ЛРЗ «Озерки». Аппарат 4 (лотки 3, 4). Возраст 430,3 градусо-дня; $\tau_s = 252$; 33 стадия; 11 этап. Увеличение: ок.10 × об.10

версия в развитии зародышей, и они оказались на более ранней, 33, стадии развития.

После образования кишечной трубки она остается связанной с желточным мешком энтодермальным каналом, проходящим в желточном стебельке. Желточный мешок выполняет трофическую функцию, клеточные элементы его энтодермы расщепляют желток, и продукты расщепления доставляются по сосудам стенки желточного мешка к телу зародыша. Другая его функция, кроветворная, заключается в образовании в мезодерме его стенки клеточных элементов крови.

На рис. 8 можно проследить гистогенез зачатков мозга.

На рис. 9 косой срез зародыша чавычи в районе концентрации первичных половых клеток — 2, характеризующихся центрально расположенным ядром, ядерно-плазматическим отношением, выраженным в пользу цитоплазмы (табл. 1).

Как видно из табл. 1, ядерно-плазматическое отношение в измеренных клетках было $64,01 \pm 2,17\%$ при коэффициенте изменчивости признака в

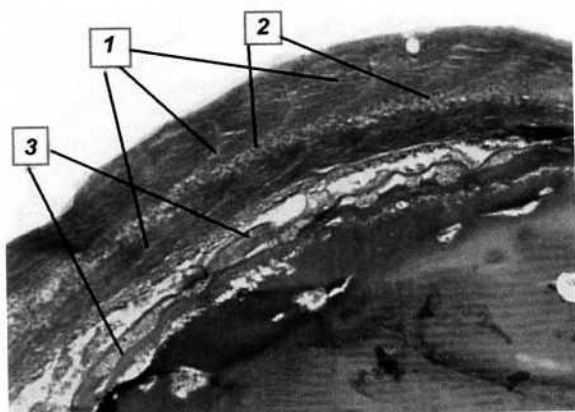


Рис. 7. Сагиттальный срез эмбриона чавычи: 1 — сомиты более 18 пар, сформировавшиеся из мезодермы; 2 — хорда; 3 — туловищная складка, из которой формируется желточный стебелек, связывающий зародыш с желточным мешком. Инкубация на ЛРЗ «Озерки». ЛРЗ «Малки» после перевозки и при продолжении инкубации при $t = 6,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2002 г. Партия 4. Лоток 1. Фиксация 25.10.02 г. в растворе Чемберлена. Закладка на инкубацию 25.07.02 г. Камчатка. $t = 6,4\text{ }^{\circ}\text{C}$. $\tau_s = 276$; 33 стадия; 11 этап; 476,3 градусо-дней. Увеличение: ок.10 × об.10

19 %, явно выражено в пользу цитоплазмы, что характерно для генеративных клеток [Персов, 1975], промеры делали не менее чем по пяти диаметрам в каждой клетке.

Далее на рис. 9 можно наблюдать зачаток дефинитивной или первичной почки, позднее в первичную почку вырастает лимфоидная ткань, не нарушая её

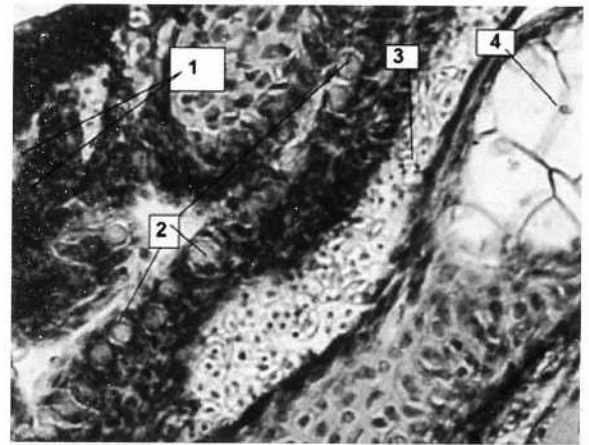
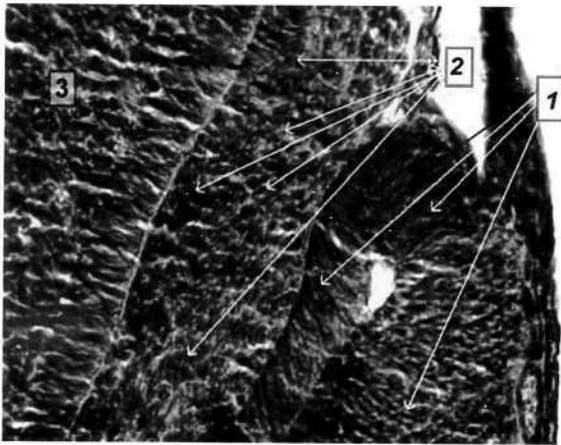


Рис. 8. Сагиттальный срез чавычки:

1 — начало формирования зачатка мозжечка; 2 — ядра пузыря среднего мозга; 3 — пузырь переднего мозга. Проба 4.

Партия 9. Фиксация 23.10.02 г. Закладка на инкубацию 01.08.02 г. Производители из р. Ключевка; $t = 4,8 \text{ }^\circ\text{C}$; МЛРЗ, Камчатка; сутки после перевозки с ЛРЗ «Озерки».

Аппарат 4 (лотки 3, 4). Возраст 430,3 градусо-дня; $\tau_s = 252$; 33 стадия; 11 этап.

Увеличение: ок. $10 \times \text{об.}40$

Рис. 9. Сагиттальный срез зародыша чавычки:

1 — зачаток дефинитивной или первичной почки; 2 — концентрация первичных половых клеток; 3 — зачаток кровеносного сосуда со сформировавшимися эритроцитами и лимфоцитами, но не окрашенными пигментом; 4 — зачаток плавательного пузыря. Проба 3. Партия 1. Закладка на инкубацию 17.07.02 г. Фиксация от 31.10.02 г. МЛРЗ (через 10 дней после перевозки икры с ЛРЗ «Озерки»). Камчатка. Возраст 550,7 градусо-дней; $t = 6,4 \text{ }^\circ\text{C}$; $\tau_s = 318$; 33–34 стадия; 12 этап (пассивное состояние свободных зародышей).

Увеличение ок. $10 \times \text{об.}20$

Таблица 1

Результаты измерений клеток зародыша чавычки в возрасте 550,7 градусо-дней, 2002 г.

Показатели	Диаметр ядра	Диаметр клетки	Ядерно-плазматическое отношение
Среднее	52,76	82,49	64,01
Стандартная ошибка	2,47	2,38	2,17
Медиана	51,10	80,75	62,11
Мода	60,83	69,69	81,00
Стандартное отклонение	14,41	13,91	12,67
Дисперсия выборки	207,72	193,76	160,70
Экссесс	5,35	1,71	-0,15
Асимметричность	1,82	0,91	0,66
Интервал	72,06	65,52	48,74
Минимум	35,38	61,99	45,39
Максимум	107,45	127,51	94,13
Сумма	1794,12	2804,74	2176,58
Счет	34	34	34

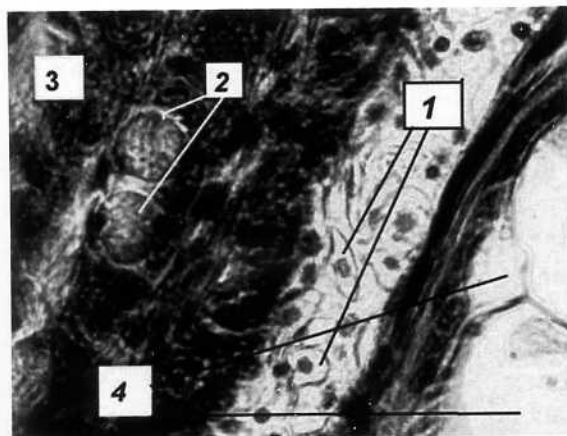


Рис. 10. Сагиттальный срез чавычи: 1 — зачаток кровеносного сосуда со сформировавшимися эритроцитами и лимфоцитами; 2 — первичные половые клетки; 3 — зачаток дефинитивной или первичной почки; 4 — зачаток плавательного пузыря. Проба 3. Партия 1. Закладка на инкубацию 17.07.02 г. Фиксация от 31.10.02 г., МЛРЗ (через 10 дней после перевозки икры с ЛРЗ «Озерки»), Камчатка. Возраст 550,7 градусо-дней; $t = 6,4\text{ }^{\circ}\text{C}$; $t_s = 318$; 34–35 стадия; 12 этап. Увеличение: ок.10 × об.100 с иммерсией

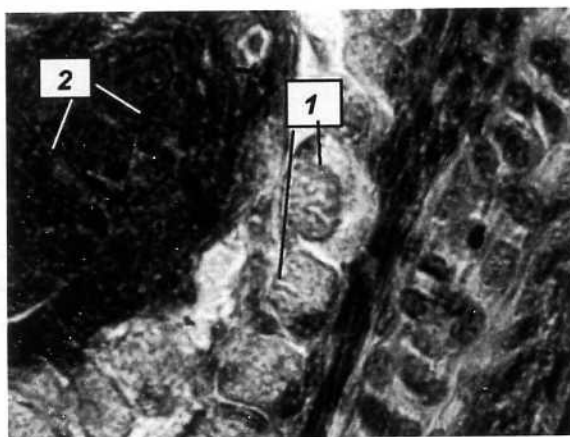


Рис. 11. Сагиттальный срез чавычи: 1 — первичные половые клетки обособляются в виде цепочки; 2 — капилляры, которые образуют сосудистое сплетение предпочки. Проба 7. Партия 1. Закладка на инкубацию 17.07.02 г. Фиксация от 31.10.02 г., МЛРЗ, Камчатка. Возраст 550,7 градусо-дней; $t = 6,4\text{ }^{\circ}\text{C}$; $t_s = 318$. 34–35 стадия. 12 этап. Увеличение: ок.10 × об.100 с иммерсией

выделительной функции, и она становится также органом кроветворения. Перед входом в желудок, пищевод дает от себя вырост дорзальной стенки, имеющей вид кармана, загибающегося назад, представляющий собой зачаток плавательного пузыря, который растет назад, образуя вздутую дистальную и узкую проксимальную часть, у некоторых костистых она редуцируется. На срезе виден зачаток кровеносного сосуда со сформировавшимися эритроцитами и лимфоцитами, но не окрашенными пигментом.

На рис. 10 даны формирующиеся: первичные половые клетки, зачаток дефинитивной или первичной почки, процесс образования зачатка первичных половых клеток, прорастание зачатка формирующегося кровеносного сосуда у зародыша чавычи в возрасте 550,7 градусо-дней перед вылуплением.

Благодаря обособлению промежуточной массы между миотомы и спланхнотомом, которое происходит до закладки выделительной системы, нефротом, возникающий затем в виде утолщения верхнего края спланхнотомы, не имеет метамерной группировки (рис. 10, 11). Верхний край спланхнотомы у передних миотомов вздувается вследствие утолщения своих стенок. Этот зачаток разрастается вперед и назад и образует ка-

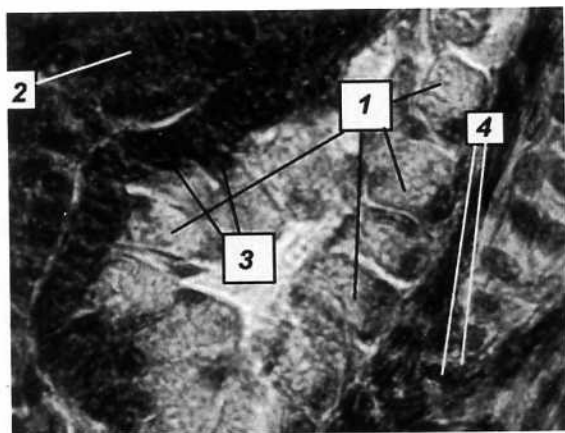


Рис. 12. Сагиттальный срез чавычи: 1 — первичные половые клетки; 2 — сосудистое (glomus) сплетение предпочки; 3 — зачатки первичных половых клеток; 4 — зачаток кровеносного сосуда, с «конусом нарастания» (из возможно, мезенхимных клеток, по аналогии с формированием корня у растений). Проба 7. Партия 1. Закладка на инкубацию 17.07.02 г. Фиксация от 31.10.02 г. МЛРЗ, Камчатка. Возраст 550,7 градусо-дней; $t = 6,4\text{ }^{\circ}\text{C}$; $t_s = 318$; 34–35 стадия; 12 этап. Увеличение: ок.10 × об.100 с иммерсией

меру предпочки. Камеры левой и правой предпочки, представляющие собой обособившиеся участки спланхноцеля, сближаются друг с другом у срединной линии тела, где проходит аорта.

Выше рассмотрены процессы гистогенеза у зародышей чавычи, инкубированных на ЛРЗ «Озерки», Камчатка, в 2002 г. при естественной температуре воды, без термоподогрева и после перевозки на МЛРЗ с термоподогревом до вылупления личинок из икры, которое началось в 550,7 градусо-дней.

Зародыши чавычи, инкубированные с термоподогревом воды на Малкинском лососевом рыбноводном заводе (МЛРЗ), Камчатка. На рис. 13 сагиттальный срез зародыша чавычи после стадии замыкания желточной пробки. Идет вырастание в длину хвостовой почки, она образует хвост, который и дифференцируется. По описательной классификации стадий развития зародыша это 13–14 стадия сомитогенеза, хотя возраст зародыша всего 169,7 градусо-дней, а в $\tau_s = 100,8$, что должно соответствовать 20 стадии сомитогенеза, или 5 этапу формирования головы и туловища зародыша. В этом возрасте молодь чавычи по степени онтогенетического развития уже обгоняла развитие молоди чавычи в воде без термоподогрева в более позднем возрасте в 193,5 градусо-дней (см. рис. 2).

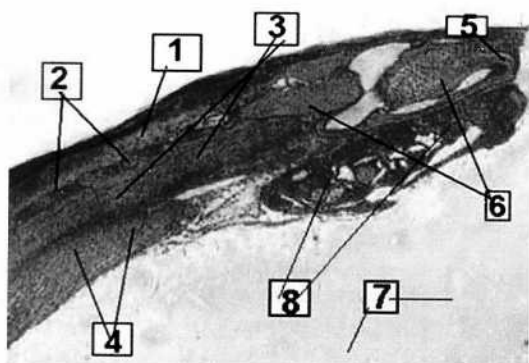


Рис. 13. Сагиттальный срез чавычи: 1 — нервный ствол; 2 — хорда; 3 — миотомы; 4 — спланхнотом; 5 — зачаток мозговых пузырей; 6 — концевые скопления индифферентных клеток, поверх зародыша идет перидерма; 7 — желток икринки; 8 — зачатки кровеносной системы. Проба 5/2. Партия 10. Аппарат 4 (лоток 3). Фиксация 21.08.03 г. МЛРЗ, Камчатка. Закладка на инкубацию 31.07.03 г., $t = 7,2$ °С; возраст 169,7 градусо-дней; 5 этап. $\tau_s = 100,8$; 14 стадия. Увеличение: ок.10 x об.5



Рис. 14. Сагиттальный срез чавычи: 1 — кровеносная система; 2 — сердце; 3 — рудиментарная жаберная крышка; 5 — икринка. Проба 2/3. Партия 10. Аппарат 4 (лоток 3). Закладка 31.07.03 г.; $t = 6,7$ °С, МЛРЗ, Камчатка, 2003 г. Возраст 310,1 градусо-дней; $\tau_s = 201,6$; 30 стадия; 10 этап. Увеличение: ок.10 x об.20

На рис. 14 сагиттальный срез эмбриона чавычи, инкубированный при $\tau_s = 201,6$, что соответствует 10 этапу или 30 стадии образования опорных лучей в хвостовом плавнике.

На рис. 17 — процесс формирования хрусталика путем прорастания, модифицирующихся в процессе, мезенхимных клеток через радужную оболочку.

На рис. 21 четко просматриваются следующие отделы внутренних органов: пузырь переднего головного мозга, эпифиз, продолговатый мозг, мозжечок, видна обонятельная ямка, идет процесс формирования нижней челюсти у зародыша, видны дентино-костные чешуйки (на месте будущего появления дентино-костной чешуйки образуется утолщение эктодермы, называемое эмалевым органом, под ним в соединительной ткани дифференцируется дентино-костные чешуйки, эмалевый орган исчезает и является гомологом эпителиального зачатка), началась пигментация глаз, но меланофоры на голове и теле зародыша еще не просматриваются.

На рис. 22–27 представлены последовательные, серийные срезы зародыша чавычи.

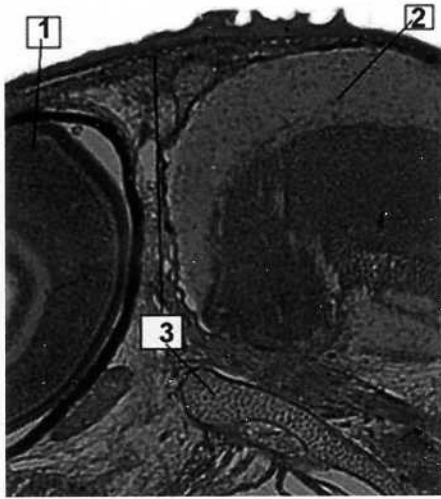


Рис. 15. Сагиттальный срез чавычи: 1 — зачаток радужной оболочки глаза, идет процесс интенсивной пигментации глаз; 2 — пузырь переднего головного мозга; 3 — прехордальная трабекула, парахордальный хрящ. Проба 2/3. Партия 10. Аппарат 4 (лоток 3). Закладка на инкубацию 31.07.03 г.; $t = 6,7^{\circ}\text{C}$. Возраст 310,1 градусо-дней; $\tau_s = 202$; 30 стадия; 10 этап; МЛРЗ, Камчатка. Увеличение: ок. $10 \times$ об.10

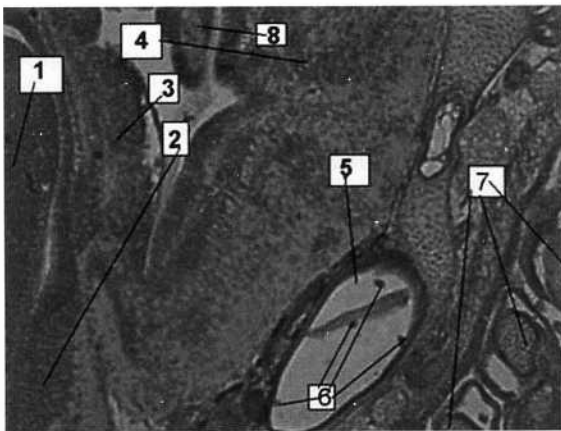


Рис. 16. Сагиттальный срез чавычи: 1 — пузырь переднего головного мозга; 2 — пузырь среднего головного мозга; 3 — мозжечок; 4 — продолговатый мозг; 5 — слуховая капсула; 6 — зачатки отолитов 4 штуки; 7 — жаберные щели, прорывающиеся в жаберные карманы [Иванов, 1937]; 8 — зачаток эпифиза. Проба 2/3. Партия 10. Аппарат 4 (лоток 3). Закладка на инкубацию 31.07.03 г. МЛРЗ, Камчатка; $t = 6,7^{\circ}\text{C}$. Возраст 310,1 градусо-дней; в $\tau_s = 202$, что соответствует для атлантического лосося 30 стадии, когда жаберная крышка должна уже прикрывать первую жаберную дугу и меланофоры по всему телу, что соответствовало 10 этапу развития, но меланофор не было. Увеличение: ок. $10 \times$ об.10

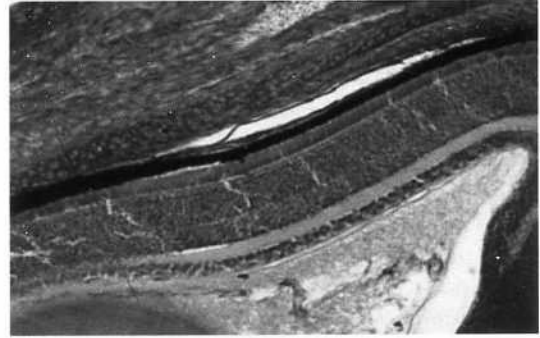
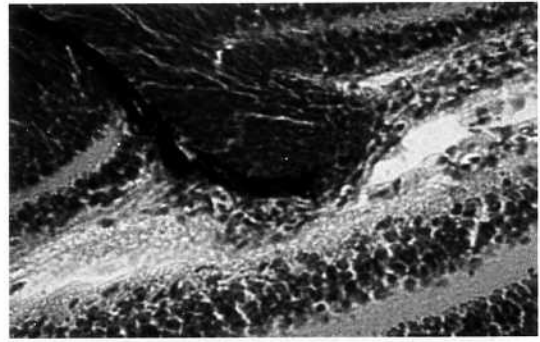


Рис. 17. Сагиттальный срез чавычи: А — процесс формирования хрусталика; Б — процесс формирования радужной оболочки. Партия 10. Аппарат 4 (лоток 3). Закладка на инкубацию 21.07.03 г. МЛРЗ, Камчатка; $t = 6,7^{\circ}\text{C}$. Возраст 310,2 градусо-дней; в $\tau_s = 202$, что соответствует для атлантического лосося 30 стадии, 10 этапу развития. Увеличение: ок. $10 \times$ об.40

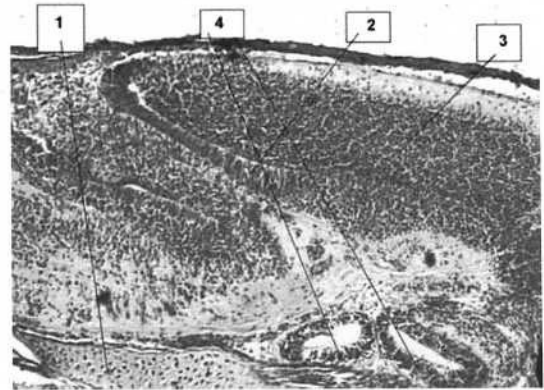


Рис. 18. Сагиттальный срез зародыша чавычи: 1 — скопления мезенхимных клеток; 2 — складка в передней стенке заднего пузыря — зачаток мозжечка; 3 — пузырь переднего головного мозга; 4 — симпластический зачаток щитовидной железы, первые фолликулы щитовидной железы, с небольшим количеством высоких клеток тиреоидного эпителия. Проба 3. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4). Фиксация 9.10.03 г. $t = 5,1^{\circ}\text{C}$; МЛРЗ, Камчатка. Возраст 493,5 градусо-дней; 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия. Увеличение: ок. $10 \times$ об.10

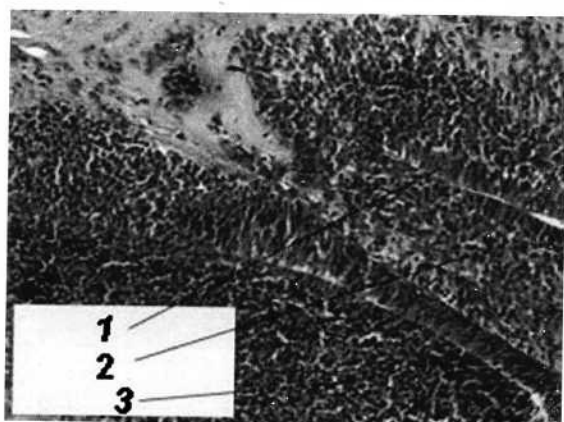


Рис. 19. Сагиттальный срез зародыша чавычи: 1 — складка формирующегося мозжечка; 2 — средний мозг; 3 — передний мозг. Партия 7. Аппарат 4 (лоток 4). МЛРЗ, 2003 г. Закладка на инкубацию 29.07.03 г. Фиксация 09.10.03 г., $t = 5,1^\circ\text{C}$. Возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия. Увеличение: ок. $10 \times$ об.20

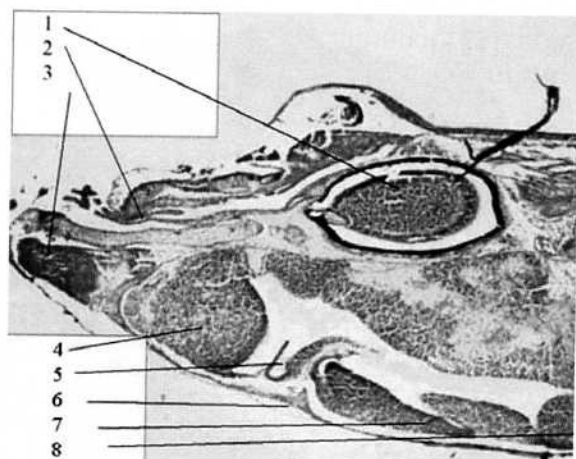


Рис. 21. Сагиттальный срез головы зародыша чавычи: 1 — пигментация глаза зародыша; 2 — эмалевый орган чавычи; 3 — обонятельная ямка зародыша чавычи; 4 — передний мозг; 5 — мозжечок; 6 — эпифиз; 7 — средний мозг зародыша чавычи; 8 — продолговатый мозг зародыша. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4); $t = 5,1^\circ\text{C}$. Возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г. Увеличение: ок. $10 \times$ об.5

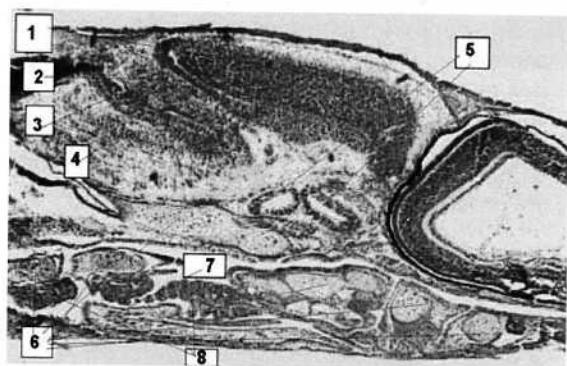


Рис. 20. Сагиттальный срез зародыша чавычи. Идет гистогенез: 1 — пузырь переднего мозга; 2 — пузырь среднего мозга; 3 — мозжечка; 4 — продолговатого мозга; 5 — формирование фолликулы щитовидной железы на втором этапе гистогенеза и высоких клеток тиреоидного эпителия; 6 — формирование кровеносной системы; 7 — закладка сердца; 8 — формирование жаберных карманов, зачатки жаберных щелей, над ними зачатки кровеносной системы жабр. Проба 3. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4). МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г.; $t = 5,1^\circ\text{C}$. Возраст 493,5 градусо-дней; 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия. Увеличение: ок. $10 \times$ об.5

На рис. 22 прослеживается расхождение висцерального и париетального листков при дифференцировке миотомов, спланхнотома и промежуточной массы, образующих сомиты. Происходит закладка сомитов в краниальном участке тела зародыша, число сомитов соответствует 13. На рис. 23 продолжение сагиттального среза эмбриона чавычи, закладка 19 сомитов в кранио-каудальном направлении, продолжается процесс обособления внутренних органов у этого зародыша, последовательное его фотографирование позволяет восстановить всю картину в целом. На рис. 24 продолжение среза: сомиты из висцерального листка зародыша образовались в 8 шт., из париетального — 6 шт. На рис. 25 продолжение среза: со стороны висцерального листка 15 сомитов, со стороны париетального листка 10 сомитов. На рис. 26

срез того же зародыша чавычи, со стороны висцерального листка образовалось 12 сомитов, со стороны париетального листка 12 сомитов. На рис. 27 срез того же зародыша чавычи: 3 сомита. Таким образом, к возрасту, чавычи в 493,5 градусо-дней имелись не только все зачатки внутренних органов, но и сформиро-



Рис. 22. Сагиттальный срез зародыша чавычи. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4); $t = 5,1$ °С.

Возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г. Увеличение: ок. $10 \times об.5$



Рис. 23. Сагиттальный срез зародыша чавычи. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4); $t = 5,1$ °С.

Возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г. Увеличение: ок. $10 \times об.5$

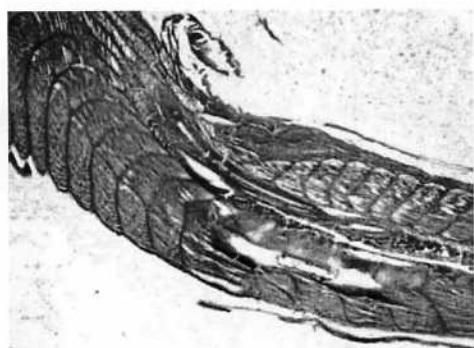


Рис. 24. Сагиттальный срез зародыша чавычи. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4); $t = 5,1$ °С.

Возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г. Увеличение: ок. $10 \times об.5$

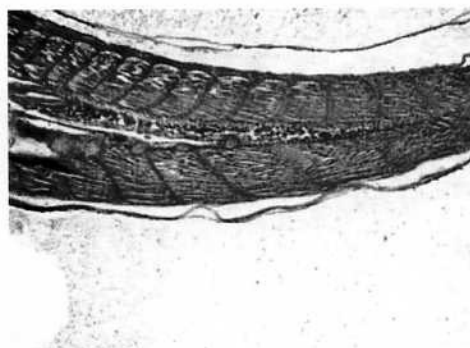


Рис. 25. Сагиттальный срез зародыша чавычи. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4); $t = 5,1$ °С.

Возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г. Увеличение: ок. $10 \times об.5$

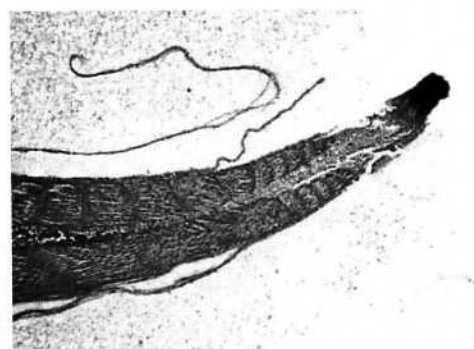


Рис. 26. Сагиттальный срез зародыша чавычи. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4); $t = 5,1$ °С.

Возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г. Увеличение: ок. $10 \times об.5$

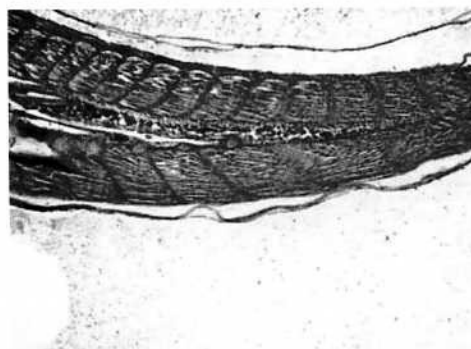


Рис. 27. Сагиттальный срез зародыша чавычи. Партия 7. Закладка икры на инкубацию 29.07.03 г. Аппарат 4 (лоток 4); $t = 5,1$ °С;

возраст 493,5 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 350,4$ начало выклева личинок 35–36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 9.10.03 г. Увеличение: ок. $10 \times об.5$

вались до 59 пар сомитов, у отдельных экземпляров эмбрионов чавычи, при переменном температурном режиме от 8,7 °С в начале инкубации и до 5,1 °С при окончании инкубации. Эти процессы у атлантического лосося происходят в 185 градусо-дней или в 110 τ_s при 5 °С, когда только начинают закладываться обонятельные плакоды, образуется ротовая воронка. У чавычи эти процессы происходят значительно позже (см. рис. 21 и 28) даже при калориферном подогреве воды (см. рис. 1).

На рис. 29 сагиттальный срез того же зародыша, что и на рис. 28, но с большим увеличением. Мезенхимные клетки, преобразуясь, прорастают в полость глаза, формируя зачаток хрусталика.

На рис. 30 сагиттальный срез зародыша чавычи в возрасте 521,3 градусо-дней или $\tau_s = 364,8$ по стадированию развития икры у атлантического лосося или 11 этап развития по этапированию развития икры дальневосточных лососей. Но не одна из этих классификаций гисто- и органогенеза на гистологи-

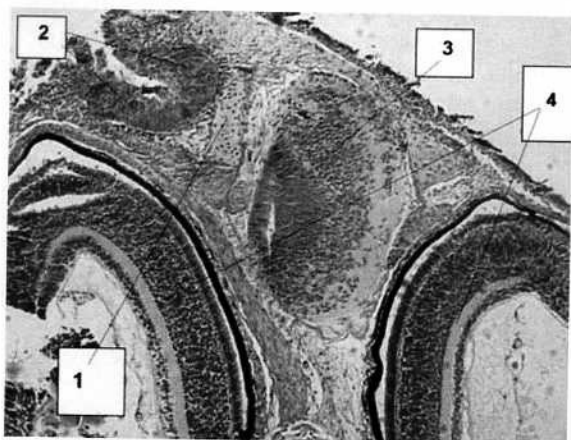


Рис. 28. Сагиттальный срез чавычи: 1 — мезенхима; 2 — зачаток ротовой полости из эктодермы; прототип многослойного плоского эпителия; 3 — зачаток пузыря переднего головного мозга зародыша чавычи; 4 — пигментация глазных пузырей. Проба 4. Партия 4. Закладка на инкубацию 25.07.03 г. Лоток 4; $t = 4,9$ °С. Возраст зародыша 521,0 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 278,5$; 36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 08.10.03 г. Увеличение: ок.10 × об.5

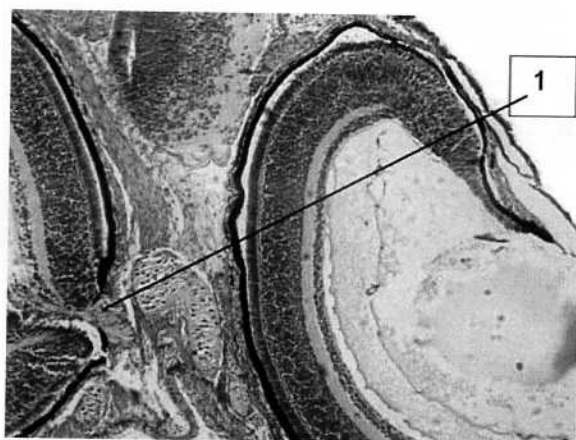


Рис. 29. Сагиттальный срез чавычи. 1 — формирование зачатка хрусталика. Проба 4. Партия 4. Закладка на инкубацию 25.07.03 г. Лоток 4; $t = 4,9$ °С. Возраст зародыша 521,0 градусо-дней. 11 этап или $\tau_s = 278,5$; 36 стадия; МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 08.10.03 г. Увеличение: ок.10 × об.5

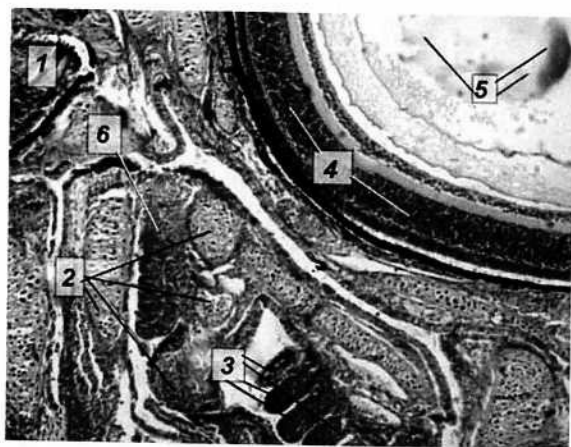


Рис. 30. Сагиттальный срез чавычи: 1 — зачаток пузыря переднего головного мозга; 2 — закладка кровеносной системы; 4 — меланин в глазных бокалах; 5 — зачаток хрусталика; 3 — жаберные щели с жаберными пластинками, которые позже прикроются складкой эктодермы с мезенхимой, вырастающей на гиоидной дуге зародыша — 6. Проба 4. Партия 4. Аппарат 2 (лоток 1); $t = 4,9$ °С. Возраст зародыша 521,3 градусо-дней. МЛРЗ, Камчатка. 11 этап. $\tau_s = 278,5$. 36 стадия. Фиксация 08.10.03 г. Увеличение: ок.10 × об.10

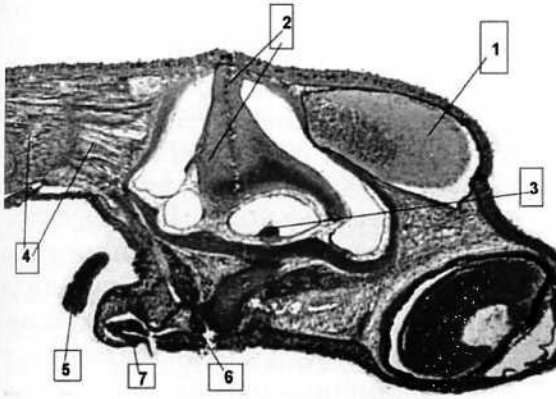


Рис. 31. Сагиттальный срез чавычи: 1 — пузырь среднего головного мозга; 2 — мозжечок и продолговатый мозг; 3 — зачаток отолита; 4 — сомиты; 5 — пластинка зачатка грудного плавника, внутри клетки мезенхимной ткани; 6 — зачаток сердца; 7 — вращение эктодермы по направлению к кишечной энтодерме. Проба 5. Партия 1. Аппарат 1 (лоток 2), $t = 5,1$ °C. Возраст зародыша 559,2 градусо-дней. $\tau_s = 336$. 12 этап. МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 09.10.03 г. Увеличение: ок.10 × об.5

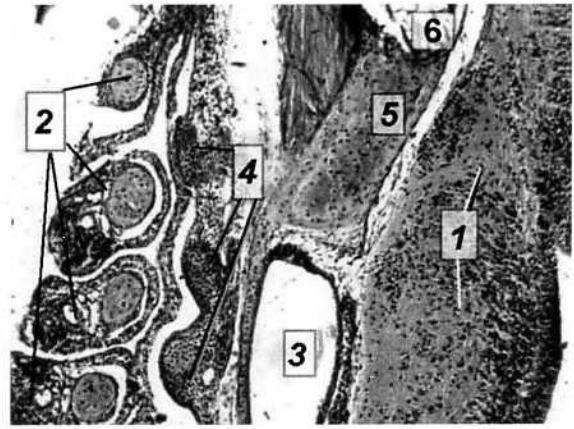


Рис. 32. Сагиттальный срез чавычи чавычи на «сигнальном» выклевке: 1 — пузырь среднего мозга; 2 — кровеносная система жабр; 3 — слуховая камера; 4 — складки эктодермы с мезенхимой, вырастающей на гионидной дуге зародыша; 5 — продолговатый мозг зародыша; 6 — зачаток плавательного пузыря. Проба 2. Партия 3. Аппарат 1 (лоток 2). $t = 5,1$ °C. Возраст зародыша 559,2 градусо-дней. $\tau_s = 336$. 12 этап. МЛРЗ, Камчатка. Фиксация 09.10.03 г. Увеличение: ок.10 × об.10

ческом уровне не подходит, следует создавать собственную шкалу, что нами и предложено по наличию тех или иных зачатков внутренних органов зародыша. Принцип стадирования, предложенный Ю.Н. Городиловым [1986], весьма хорошо подходит и в этом случае, т.к. нет зависимости от температуры инкубации икры, которая четко прослеживается при всех других вариантах описания стадий развития эмбрионов, пригодных для дальневосточных лососей [Детлаф и др., 1960], инкубация которых проходит при меняющихся температурных условиях.

Обсуждение результатов

У эмбрионов чавычи щитовидная железа, расположенная впереди брюшной аорты (см. рис. 18 и 20), разрастается из уростилия при эмбриогенезе. У костистых рыб она охватывает брюшную аорту в области передних жаберных дуг и секрет её выводится непосредственно в кровь — тироксин. Как известно [Яковлева, 1964], он стимулирует: обмен веществ, метаморфоз (доказано для угрей, сельдей, осетровых), темп роста, влияет на пигментацию у рыб (у лососевых, наиболее ярко), влияет на липидный обмен и осмотическую регуляцию [Яковлева, 1964]. Большая функциональная пластичность щитовидной железы является существенной предпосылкой эволюционной пластичности рыб. В результате функционирования щитовидной железы происходят все основные процессы органогенеза в организме зародышей. При этом у чавычи с МЛРЗ её закладка происходит в более ранние сроки развития, чем у зародышей чавычи инкубируемых без термopодогрева (см. рис. 2 и 13). Сомитогенез чавычи, при термopодогреве, происходит также более быстрыми темпами, чем у эмбрионов чавычи без подогрева воды (см. рис. 4, 5, 7, 22–27).

При органогенезе впервые были выявлены: процессы формирования зачатков мозговых пузырей, процессы прорастания крупного кровеносного сосуда,

**Шкала степени развития эмбрионов чавычи
в зависимости от условий инкубации**

Наличие тканей и органов	Возраст зародышей, градусо-дни	
	513,2	521,3
	Без подогрева	С подогревом
Количество пар сомитов, шт.	24	21
Возраст в t_s	225	278,5
Ротовая воронка	+	+
Челюсти	-	+
Эмалевый орган	-	-
Обонятельные плакоды	-	+
Пузырь переднего мозга	+	+
Пузырь среднего мозга	+	+
Продолговатый мозг	+	+
Мозжечок	+	+
Эпифиз	+	+
Гипофиз	+	+
Щитовидная железа	+	+
Хорда	-	-
Слуховые пузыри	+	+
Отолиты	-	-
Жаберные пластины	-	+
Жаберные лепестки	-	+
Пигментация глаз	-+	+
Хрусталик	-+*	+
Кровеносная система	+	+
Сердце	-+	+
Плавательный пузырь	-	+
Пищеварительная система	+	+
Гонады	+	+
Пигментация тела	-	-
Хвостовой плавник	-	-+

Примечание. * -+ - у части особей зачаток органа имеется, а у части особей закладка зачатка данного органа ещё не произошла, что зависит, скорее всего, от качества икры, взятой для оплодотворения и характеризует качество производителей, используемых для скрещивания.

Стадирование в «тау-сомитах» процессов гисто- и органогенеза у эмбрионов чавычи весьма актуально, особенно в меняющихся температурных условиях инкубации (см. рис. 1).

Изучение гистогенеза и органогенеза у эмбрионов чавычи с возраста в 160 градусо-дней и в 193,5 градусо-дней показало несущественные отличия в процессах гистогенеза у чавычи, инкубированной в условиях естественных температур и при подогреве воды, поступающей в инкубационный цех. Отличия в органогенезе более существенны: личинки после инкубации в условиях с термopодогревом воды выклевывались из икры более развитыми, выклев происходил в более короткие сроки на МЛРЗ через 69 ± 1 день, на ЛРЗ «Озерки» через 106 дней от закладки икры на инкубацию.

Таблица 2 формирование сплетения (glomus) предпочки, закладки первичных половых клеток, плавательного пузыря у эмбрионов чавычи, инкубируемой без термopодогрева воды. Впервые также наблюдали процессы формирования хрусталика из мезенхимных клеток через радужную оболочку у эмбрионов чавычи, инкубируемой с термopодогревом воды. Составили шкалу дифференцировки органов у эмбрионов чавычи перед выклевом зародышей из икры, инкубированных с подогревом воды и без него (табл. 2).

По этой шкале можно определить не только степень развития эмбрионов, качественный состав эмбрионов, но и качественный состав производителей, использованных для скрещивания в период нереста. Например, по разнообразию наличия или отсутствия того или иного органа на данном этапе развития. При этом исходят из того, что условия инкубации для всех партий икры на каждом, исследованном ЛРЗ («Малки» и «Озерки») были одинаковые, для МЛРЗ с термopодгревом, для ЛРЗ «Озерки» без термopодогрева воды для инкубации.

Выводы

1. Анализ гистогенеза эмбрионов чавычи при их инкубации с предварительным термopодогревом воды показал, что этот метод более эффективен для получения полноценных, адекватно развитых, более крупных личинок чавычи, с дружным выклевом из икры и с более коротким сроком инкубации в сутках.

2. Полученные результаты подтверждают, что оптимальным способом расчета возраста культивируемых рыб — расчет возраста в градусо-днях: выклев чавычи происходил и на ЛРЗ «Озерки» в 550,7 градусо-дней в течении недели, и на МЛРЗ в 520–559 градусо-дней (в зависимости от качества производителей). А общая продолжительность инкубации на ЛРЗ «Озерки» без термopодогрева воды составила 106 дней, а с термopодогревом воды на МЛРЗ инкубация составила 69 ± 1 дней.

3. При этом, оптимальным способом описания стадии развития эмбриона — описание в «тау-сомитах» (τ_s), в «безразмерных» единицах (при меняющемся температурном режиме инкубации).

ЛИТЕРАТУРА

- Беляева В.Н. 1964. Периодичность процессов роста и дифференциации на ранних этапах развития рыб // Проблемы современной эмбриологии. — М.: МГУ. — С. 228–230.
- Городилов Ю.Н. 1969. Исследование чувствительности рыб к действию высокой температуры в период их эмбриогенеза. 1. Изменение чувствительности развивающейся икры осеменерестующих видов рыб к действию высокой температуры // Цитология. Т. 11. № 2. — С. 169–179.
- Городилов Ю.Н. 1983. III. Таблица определения возраста и стадий зародышей. // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. Вып. 203. — С. 8–12
- Городилов Ю.Н. 1986. Методические материалы по определению возраста и стадий развития зародышей атлантического лосося. — Мурманск: ПИНРО. — 72 с.
- Детлаф Т.А., Детлаф А.А. 1960. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии // ДАН СССР. Т.134. № 2. — С. 199–202.
- Елисеев В.Г. 1963. Гистология. — М.: Медгиздат. — С. 71–645.
- Иванов П.П. 1937. Общая и сравнительная эмбриология. М.-Л. — С. 65–114.
- Коровина В.М. 1964. Изменение эмбриогенеза рыб и амфибий под влиянием некоторых внешних факторов // Проблемы современной эмбриологии. М.: МГУ. — С. 222–227.
- Метальникова К.В. 2005. Методика качественной оценки степени развития эмбрионов // Сб. науч. статей «Пресноводная аквакультура: состояние, тенденции и перспективы развития», посвященная 60-летию Fisheries Research Station (FRS) Moldova. — Кишинев. — С. 81–85.
- Метальникова К.В., Сахаровская Л.В. 2005. Некоторые особенности эмбриогенеза чавычи при разной температуре инкубации // М.-лы Междунар. науч.-практ. конф. 26–30 сентября 2005 г. — Киев. — С. 158–161.
- Паушева З.П. 1988. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат. — 270 с.
- Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. 1957. Микроскопическая техника. — М.: Госиздат «Советская наука». — 467 с.
- Смирнов А.И. 1975. Черты сходства и различия в развитии тихоокеанских лососей (*Salmonidae*, *Oncorhynchus*). — М.: МГУ. — 333 с.
- Яковлева И.В. 1964. Гистогенез щитовидной железы и гипофиза осетра в связи с этапами личиночного периода // Проблемы современной эмбриологии. — М.: МГУ. — С. 236–242.