

Александр Германович СЕЛЮКОВ¹
Мария Владимировна КИБАЛОВА²
Екатерина Валентиновна МИХАЛЕНКО³
Вера Александровна БОГДАНОВА⁴

УДК 597:57.017.642:576.35

ФОРМИРОВАНИЕ ФОНДА ГЕРМИНАТИВНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ СИГОВ БАЛТИЙСКОГО БАССЕЙНА

¹ доктор биологических наук, профессор кафедры зоологии и эволюционной экологии животных, Тюменский государственный университет
ags-bios@yandex.ru

² студент-бакалавр кафедры зоологии и эволюционной экологии животных, Тюменский государственный университет
makib-ichthy@mail.ru

³ студент-бакалавр кафедры зоологии и эволюционной экологии животных, Тюменский государственный университет
mihalenko_ekaterina@mail.ru

⁴ кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории аквакультуры и воспроизводства ценных видов рыб, Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства им. Л. С. Берга
vera-bogdanova@yandex.ru

Аннотация

Статья посвящена исследованию морфологических особенностей первичных гоноцитов и процессов формирования фонда половых клеток у различных форм сига обыкновенного:

Цитирование: Селюков А. Г. Формирование фонда герминативных стволовых клеток в эмбриогенезе сига Балтийского бассейна / А. Г. Селюков, М. В. Кибалова, Е. В. Михаленко, В. А. Богданова // Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование. 2016. Т. 2. № 4. С. 68-81.

DOI: 10.21684/2411-7927-2016-2-4-68-81

морского балтийского сига и двух ладожских сигов (волховского и озерного) в эмбриональный период. Анализ качественных и количественных характеристик первичных гоноцитов проводили на развивающихся эмбрионах, начиная с возраста около 50 суток до вылупления.

Показано, что обособление половых клеток проходит у эмбрионов достаточно рано. Отмечены некоторые различия по цитоморфологическим характеристикам первичных гоноцитов между ладожскими сигадами и балтийским сигом. Так, у первых наблюдали уменьшение размеров половых клеток по мере эмбрионального развития. У балтийского сига, напротив, размеры гоноцитов в процессе эмбриогенеза возрастали и, соответственно, снижалось ядерно-цитоплазматическое отношение.

Показано, что у всех сигов наблюдается резкое возрастание числа гоноцитов к 2,5 месяцам после оплодотворения. Тотальный подсчет первичных гоноцитов выявил существенный размах варьирования их количества у исследованных эмбрионов сигов, что, как предполагается, может быть связано с разным темпом обособления половых клеток как у разных форм, так и у отдельных особей.

Существенное влияние на численность половых клеток оказывают, очевидно, собственные эмбрионам сигов синцитиальные комплексы герминативных стволовых клеток и их фрагментация на отдельные гоноциты. Предполагается также, что вариации в численности первичных гоноцитов могут быть обусловлены направлением будущей сексуализации гонад, что показано на других видах рыб. В этом случае можно считать, что у эмбрионов балтийского сига с низким количеством гоноцитов в интервале 10-25, а также у ладожских сигов с их числом 10-20 полоопределение еще не прошло. Особи, число половых клеток у которых находится ниже этих интервалов, возможно, будут дифференцироваться в самцов, выше — в самок.

Ключевые слова

Сиги Балтийского бассейна, эмбриогенез, первичные гоноциты, цитоморфология.

DOI: 10.21684/2411-7927-2016-2-4-68-81

Введение

Характеризуясь циркумполярным распространением, сиговые рыбы (Coregonidae) обладают широким диапазоном морфофизиологической и экологической изменчивости. Вследствие сложной внутривидовой структуры, высокой морфо-экологической пластичности и активной межвидовой гибридизации, таксономический статус ряда видов по-прежнему остается неясным. Для изучения процессов видообразования в пределах обширного ареала и, в целом, разрешения проблемы видового статуса сига могут считаться идеальными модельными объектами [1; 5].

Для оценки степени генеалогических связей целесообразно обратиться к анализу ранних этапов развития близких форм в аналогичных условиях среды, когда внутривидовая специфика проявляется в наибольшей степени. При этом одним из индикаторных признаков может считаться характер развития репродуктивной системы, а в период эмбриогенеза в качестве маркера могут рассматриваться герминативные стволовые клетки (ГСК), или первичные гоноциты.

Цель работы состояла в оценке количественных параметров ГСК и вероятности направления половой дифференциации зародышей у трех форм европейского сига *Coregonus lavaretus* балтийского региона, относящихся к разным экологическим группам: морского проходного балтийского сига и двух пресноводных форм Ладожского озера — полупроходного волховского и ладожского озерного сига.

Материал и методика

Объектами исследования были эмбрионы и предличинки балтийского, волховского и ладожского сига. Икра от производителей была получена в рыбноводном хозяйстве ООО «Форват» (Приозерский район Ленинградской обл.) с 4 по 9 ноября 2014 г. Температурный режим в инкубационных аппаратах в течение всего эмбрионального периода 2014-2015 гг. представлен на рисунке 1.

Фиксации эмбрионов балтийского и волховского сига в смеси Бродского были проведены в 53, 78, 105, 122 суток и при вылуплении (164 суток), ладожского — на 5 суток раньше: 48, 73, 100, 117 и 159. Материал был доставлен в лабораторию реконструкции биосистем кафедры зоологии и эволюционной экологии животных Института биологии ТюмГУ для проведения гистологического анализа.

Тотальные гистологические препараты готовили по стандартным гистологическим методикам [3; 4]. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм были изготовлены на микротоме HM 355S. В качестве красителя применяли железный гематоксилин по Гейденгайну [6]. С использованием микроскопа AxioImager A1 через видеокамеру AxioCam MRc5, при помощи программы AxioVision Release 4.7.1 фотографировали препараты при увеличении: окуляр 10^x; объективы 40^x и 100^x. Для оценки состояния герминативных стволовых клеток изучали динамику количества ГСК, ядерно-цитоплазматическое отношение, число ядрышек

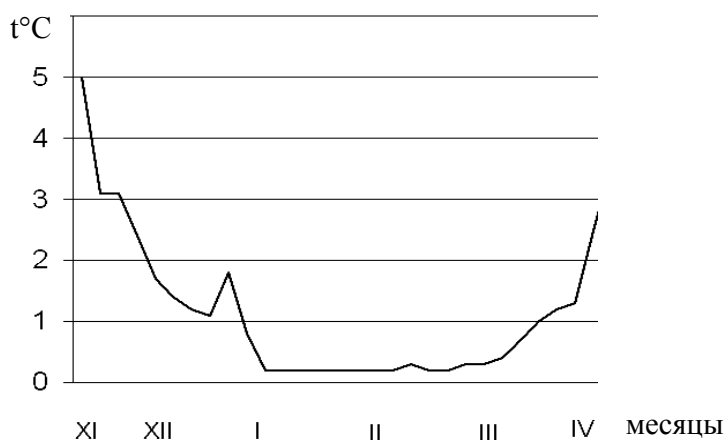


Рис. 1. Температурный режим в течение инкубационного периода сига (2014-2015 гг.)

Fig. 1. Temperature conditions during the incubation period of whitefish (2014-2015)

и характер пролиферации (рис. 2). Для статистических расчетов использовали программы MS Excel 2007, STATISTICA v6.

Всего было проанализировано 49 эмбрионов и предличинок балтийского сига, 49 волховского и 50 ладожского. На каждую дату приходилось по 9-10 особей.

Результаты исследований

Балтийский сиг. В течение эмбрионального периода у зародышей этого вида первичные гоноциты распределялись по спланхноплевре с момента их обнаружения на 14-15 стадии до участка под Вольфовыми протоками при вылуплении.

К 53 суткам после оплодотворения (стадия 15) герминативные стволовые клетки (ГСК) уже отчетливо различались. Их ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) было незначительно смещено в сторону цитоплазмы (таблица 1), количество ядрышек варьировало от 1 до 3. Вследствие еще только продолжающегося обособления первичных гоноцитов от сомы зародыша и низкого темпа пролиферации, число этих клеток было незначительным (рис. 3). Полиморфноядерные (ПМЯ) гоноциты и синцитиальные комплексы (СК) встречались редко, митозы и многоядерные клетки отсутствовали совсем.

На 78 сутки после оплодотворения количество первичных гоноцитов у эмбрионов многократно увеличивалось, что может свидетельствовать как о высоком темпе обособления, так и повышенном уровне пролиферации. ЯЦО составляло 42,8% (таблица 1). На данной стадии эмбриогенеза были отмечены все состояния клеток — от типичных с округлой или овальной формой до синцитиальных структур и двухъядерных ГСК (рис. 2). Большая их часть была представлена полиморфноядерными первичными гоноцитами.

У зародышей сига через 105 суток после оплодотворения количество первичных гоноцитов продолжало возрастать (рис. 3). Эти клетки стали более крупными, число ядрышек варьировало от 1 до 4. Основную часть ГСК составляли одиночные гоноциты с округлыми ядрами, а доля клеток с полиморфным ядром и синцитиальных комплексов снижалась. Митозы не были выявлены, но возросшее количество клеток могло свидетельствовать о пролиферации, свойственной мигрирующим ГСК [7].

К 122 суткам эмбриогенеза количество первичных гоноцитов сокращалось, их ядра имели малые размеры, снижалось и ЯЦО (таблица 1). Незначительно увеличивалось количество полиморфноядерных клеток (на 1,2%), были отмечены также многоядерные ГСК и синцитиальные комплексы, которые по-прежнему включали две клетки.

К моменту вылупления (164 суток) вновь отмечали возрастание числа первичных гоноцитов, притом, что снижение ЯЦО продолжалось (таблица 1). На данной стадии присутствовали почти все состояния ГСК, однако их митозов по-прежнему не выявляли. Доля одиночных ГСК с округлым ядром снижалась до 62,7%. На этой стадии впервые в эмбриогенезе балтийского сига численность синцитиальных комплексов возросла до 10,5% и также впервые отмечены синцитии, включавшие от 2 до 5 ГСК (рис. 2г).

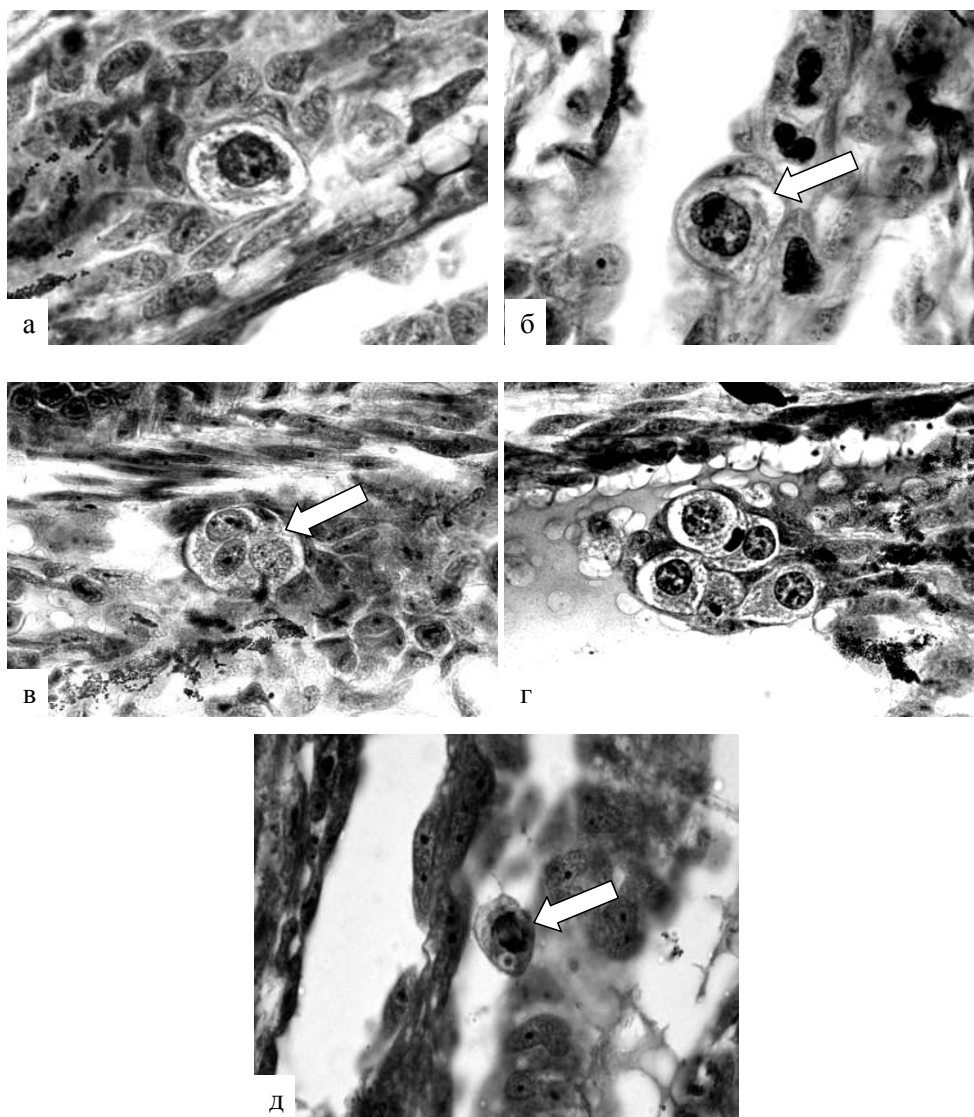


Рис. 2. Герминативные стволовые клетки зародышей и личинок сига на разных стадиях трансформации (увел.: ок. 10х, об. 100х):
 а — типичная ГСК;
 б — полиморфноядерная ГСК (стрелка);
 в — многоядерная (стрелка);
 г — синцитиальный комплекс первичных гоноцитов;
 д — митоз ГСК (стрелка)

Fig. 2. Germinal stem cells (GSC) of whitefish embryos and larvae at different stages of transformation (zoom: ocular lens 10x, objective lens 100x):
 а — a typical GSC;
 б — a polymorphonuclear GSC (arrow);
 в — multicore (arrow);
 г — syncytial complex of primary gonocytes;
 д — GSC mitosis (arrow)

Таблица 1

Цитометрические показатели ГСК
эмбрионов балтийских сигов

Table 1

The cytometric indicators
of the Baltic whitefish GSCs embryos

Сутки после оплодотворения	Число всех ГСК	Число одиночных ГСК	$D_{ГСК}, \text{ мкм}$ $\frac{X \pm S_{\bar{x}}}{\text{min-max}}$	$d_{\text{ядра}}, \text{ мкм}$ $\frac{X \pm S_{\bar{x}}}{\text{min-max}}$	Число ядрышек $\frac{\bar{X} \pm S_{\bar{x}}}{\text{min-max}}$	ЯЦО (%) $\frac{S_{\text{я}}}{S_{\text{кл}} - S_{\text{я}}} \times 100$
Балтийский сиг						
53	38	$\frac{5,6 \pm 1,0}{3-8}$	$\frac{16,3 \pm 1,2}{9,8-22,95}$	$\frac{10,5 \pm 1,0}{5,6-18,7}$	$\frac{1,5 \pm 0,1}{1-3}$	$\frac{53,3 \pm 5,8}{38,9-74,1}$
78	224	$\frac{18,2 \pm 3,7}{5-43}$	$\frac{16,1 \pm 10,3}{13,7-16,9}$	$\frac{8,9 \pm 0,2}{8,1-9,8}$	$\frac{1,7 \pm 0,1}{1-3}$	$\frac{42,8 \pm 1,7}{36,3-52,9}$
105	313	$\frac{29,5 \pm 4,6}{15-52}$	$\frac{18 \pm 0,4}{16,2-20,3}$	$\frac{9,7 \pm 0,2}{8,7-10,7}$	$\frac{2 \pm 0,1}{1-4}$	$\frac{43,3 \pm 1,2}{33,9-50,7}$
122	268	$\frac{25,8 \pm 4,1}{8-53}$	$\frac{18,4 \pm 0,4}{13,2-29,3}$	$\frac{9,6 \pm 0,2}{6,3-14,1}$	$\frac{1,8 \pm 0,08}{1-4}$	$\frac{42,0 \pm 0,9}{36,3-44,5}$
164	362	$\frac{25,2 \pm 6,0}{1-52}$	$\frac{19,9 \pm 0,4}{13,4-26,1}$	$\frac{9,9 \pm 0,2}{7,2-14,7}$	$\frac{1,8 \pm 0,07}{1-4}$	$\frac{36,8 \pm 0,9}{32,6-41}$
Волховской сиг						
53	23	$\frac{2,4 \pm 0,7}{1-6}$	$\frac{18,1 \pm 0,6}{13,1-21,2}$	$\frac{10,6 \pm 0,3}{7,4-12,7}$	$\frac{2,6 \pm 0,3}{1-4}$	$\frac{50,4 \pm 4,5}{36,2-69,6}$
78	267	$\frac{18,8 \pm 4,9}{2-54}$	$\frac{14,97 \pm 0,2}{11,8-19,3}$	$\frac{9,6 \pm 0,1}{7,5-12,7}$	$\frac{1,8 \pm 0,1}{1-4}$	$\frac{65,3 \pm 2,96}{56,0-82,7}$
105	270	$\frac{20,9 \pm 6,0}{2-55}$	$\frac{14,8 \pm 0,2}{11,9-19,5}$	$\frac{9,1 \pm 0,2}{6,2-12,8}$	$\frac{1,8 \pm 0,1}{1-4}$	$\frac{57,4 \pm 2,7}{48,8-72,1}$
122	207	$\frac{17,5 \pm 4,7}{1-43}$	$\frac{15,4 \pm 0,3}{12,0-21,7}$	$\frac{10,1 \pm 0,1}{7,9-13,8}$	$\frac{2,0 \pm 0,2}{1-5}$	$\frac{76,5 \pm 5,1}{58,8-114,3}$
164	156	$\frac{12,3 \pm 3,7}{2-33}$	$\frac{15,1 \pm 0,6}{10,8-22,5}$	$\frac{9,7 \pm 0,3}{6,6-11,6}$	$\frac{2,2 \pm 0,2}{1-6}$	$\frac{53,1 \pm 2,5}{41,8-66,3}$
Ладожский сиг						
48	28	$\frac{1,9 \pm 0,7}{1-6}$	$\frac{16,8 \pm 1,0}{10,9-21,5}$	$\frac{10,0 \pm 0,4}{8,7-11,7}$	$\frac{2,1 \pm 0,3}{1-4}$	$\frac{66,3 \pm 9,4}{30,9-105,3}$
73	102	$\frac{5,3 \pm 2,0}{1-21}$	$\frac{13,8 \pm 0,7}{8,5-18,4}$	$\frac{8,5 \pm 0,4}{5,4-11,1}$	$\frac{2,1 \pm 0,2}{1-4}$	$\frac{64,1 \pm 5,8}{36,8-103,0}$
100	165	$\frac{12,0 \pm 2,4}{2-30}$	$\frac{15,6 \pm 0,6}{9,5-23,0}$	$\frac{9,6 \pm 0,3}{6,5-12,8}$	$\frac{2,03 \pm 0,1}{1-4}$	$\frac{55,3 \pm 2,2}{47,5-69,9}$
117	180	$\frac{18,3 \pm 4,0}{5-42}$	$\frac{15,6 \pm 0,3}{11,6-22,4}$	$\frac{9,8 \pm 0,1}{7,4-12,9}$	$\frac{2,4 \pm 0,2}{1-6}$	$\frac{69,3 \pm 2,2}{58,7-81,0}$
159	220	$\frac{17,0 \pm 4,3}{1-39}$	$\frac{16,5 \pm 0,5}{11,6-24,3}$	$\frac{10,6 \pm 0,2}{6,3-13,8}$	$\frac{2,6 \pm 0,2}{1-5}$	$\frac{54,8 \pm 2,4}{40,7-69,0}$

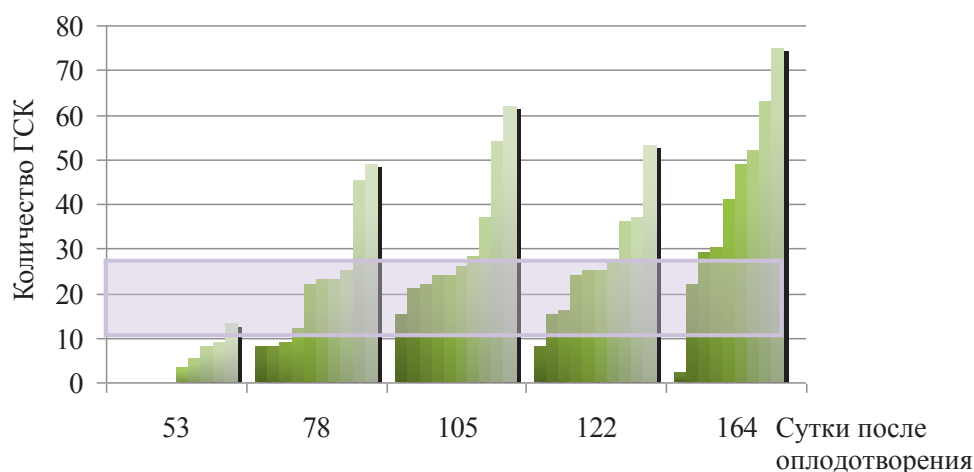


Рис. 3. Динамика ГСК у эмбрионов балтийского сига

Fig. 3. The dynamics of GSCs in the embryos of the Baltic whitefish

Таким образом, у зародышей балтийского сига в ходе эмбриогенеза количество ГСК от стадии к стадии флуктуировало, то возрастая, то снижаясь, но в целом число первичных гоноцитов увеличивалось. Также на протяжении всего исследуемого эмбрионального периода отмечено постепенное снижение ЯЦО — с 53,3% до 36,8%. К концу эмбриогенеза доля ПМЯ клеток снижалась, митозы оставались единичными или отсутствовали совсем. Напротив, число синцитиальных комплексов и их структурная сложность только нарастали.

Ладожский озерный сиг. На 48 сутки после оплодотворения (стадия 14) количество герминативных стволовых клеток было незначительным, что обусловлено продолжающимся их обособлением (рис. 4). Размеры первичных гоноцитов крупные; ЯЦО смещено в сторону ядра, число ядрышек варьировало от 1 до 4 (таблица 1). ГСК представлены типичными клетками с округлыми (48,8%) и полиморфными (35,3%) ядрами, были выявлены митозы и двухъядерные гоноциты.

К 73 суткам эмбрионального развития число ГСК у зародышей увеличивалось (рис. 4), а размеры первичных гоноцитов и их ядер снижались; ЯЦО и количество ядрышек оставалось неизменными (таблица 1). Наблюдалось небольшое сокращение доли полиморфноядерных клеток, количество синцитиев возрастало, а доля типичных ГСК с округлым ядром составила 55,3%. Митозов на данной стадии не наблюдалось.

Через 100 суток после оплодотворения общее количество первичных гоноцитов еще более возрастало (рис. 4). Размеры половых клеток и их ядер увеличивались, а ЯЦО снижалось до 55,3%; число ядрышек не превышало 4 (таблица 1). При увеличении доли типичных половых клеток (72%) количество полиморфноядерных и многоядерных ГСК, а также синцитиальных образований снижалось; митозы встречались редко.

На 117 сутки после оплодотворения количество первичных гоноцитов стало еще больше (рис. 4), при этом у одного из десяти изученных эмбрионов ГСК не

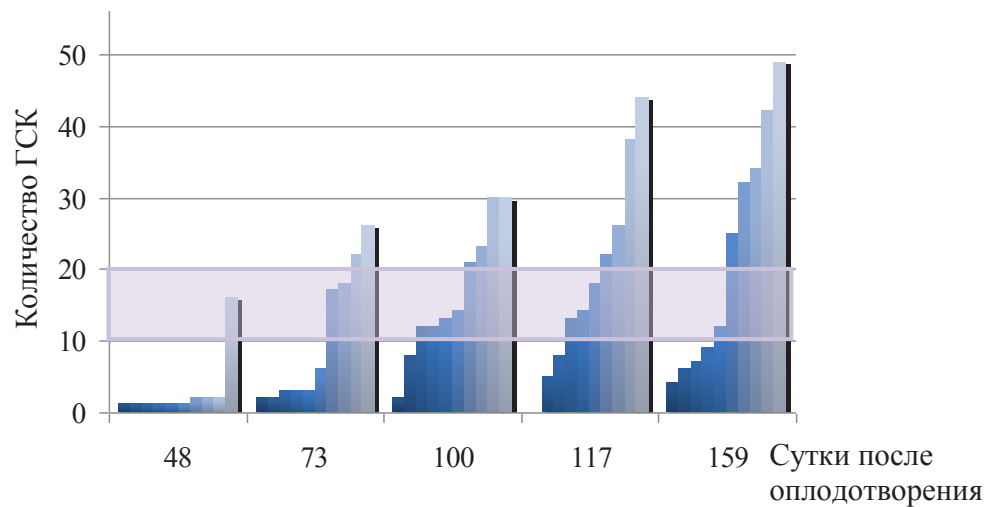


Рис. 4. Динамика ГСК у эмбрионов ладожского озерного сига

Fig. 4. The dynamics of GSCs in the embryos of the Ladoga lake whitefish

было выявлено совсем. На данной стадии было учтено максимальное количество типичных клеток с округлым ядром — 91%, другие состояния ГСК встречались редко. Число ядрышек составляло 1-4, реже отмечали 5 и 6. Снижалась доля клеток с полиморфными ядрами, также сокращалось количество двухъядерных гоноцитов и синцитиальных комплексов. Митозы не были отмечены.

На этапе вылупления установлено максимальное число герминативных стволовых клеток (рис. 4). Размеры гоноцитов и их ядер увеличились, а ядерно-цитоплазматическое отношение снизилось до 54,8%; при этом количество ядрышек возрастало и варьировало от 1 до 5 (таблица 1). Число полиморфноядерных клеток снизилось до минимального, а доля многоядерных ГСК и синцитиев, образованных из двух и трех клеток, возрастала, что далее должно сопровождаться очередным увеличением числа первичных гоноцитов

Таким образом, у зародышей ладожского сига герминативные стволовые клетки в течение эмбрионального периода характеризуются повышенной морфологической вариабельностью, проявляющейся в высокой доле полиморфноядерных и многоядерных первичных гоноцитов, и нарастающей сложностью синцитиальных комплексов. Ядерно-цитоплазматическое отношение у ГСК на разных стадиях эмбрионального развития было смещено в сторону ядра.

Волховской сиг. У эмбрионов в 53 суток после оплодотворения количество ГСК было незначительным (рис. 5). При этом у трех из девяти изученных зародышей на данной стадии ГСК совсем не было выявлено, возможно, вследствие задержки процесса обособления. Размеры гоноцитов относительно крупные. Площадь их цитоплазмы на данной стадии совпадает с площадью ядра (ЯЦО — 50,4%). Число ядрышек варьировало от 1 до 4 (таблица 1). Наибольшее количество первичных гоноцитов составляли типичные клетки с округлым ядром (рис. 2). Часть ГСК были полиморфноядерными (21,7%), также были отмечены митозы. Синцитиальных комплексов и многоядерных гоноцитов не выявляли.

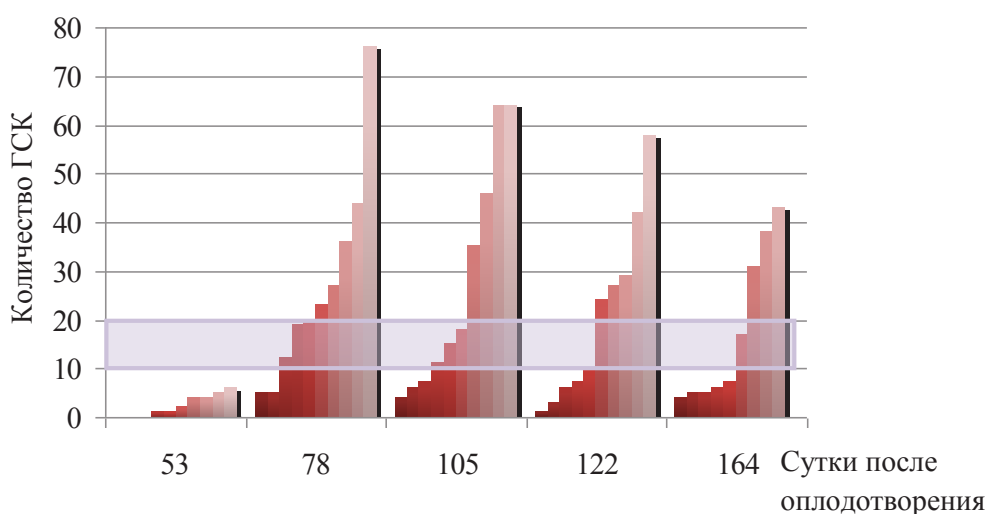


Рис. 5. Динамика ГСК у эмбрионов волховского сига

Fig. 5. The dynamics of GSCs in the embryos of the Volkhov whitefish

На 78 сутки эмбрионального развития количество ГСК у зародышей значительно увеличивалось (рис. 5), а их размеры и число ядрышек оставались неизменными, при том, что ЯЦО значительно возросло (таблица 1). Доля полиморфноядерных ГСК снижалась до 16,9%. Наблюдалось множество синцитиальных комплексов, также были выявлены митозы и двухъядерные ГСК.

Через 105 суток после оплодотворения отмечали небольшое увеличение количества ГСК (рис. 5). Размеры клеток и число ядрышек по сравнению с предыдущей датой не изменялось (таблица 1). ЯЦО снижалось, т. е. возрастал относительный объем цитоплазмы. Доля митозов и типичных гоноцитов с округлым ядром увеличивались, присутствовали также полиморфноядерные, двухъядерные и клетки в составе синцитиев.

На 122 сутки эмбриогенеза наблюдалось снижение количества ГСК (рис. 5). Было выявлено некоторое увеличение размеров первичных гоноцитов, а ядерно-цитоплазматическое отношение смещалось в сторону ядра (таблица 1), что свидетельствовало о его возросшей функциональной активности, также у части гоноцитов увеличивалось число ядрышек. На этой стадии эмбриогенеза отмечено также максимальное число типичных клеток с округлыми ядрами и увеличение количества первичных гоноцитов в составе синцитиев. Многоядерные ГСК встречались редко, митозы отсутствовали.

На стадии вылупления (164 суток) у предличинок количество первичных гоноцитов значительно снизилось (рис. 5); ядерно-цитоплазматическое отношение также уменьшилось, а число ядрышек несколько увеличилось (таблица 1). Наблюдалось значительное возрастание доли полиморфноядерных и многоядерных клеток, отмечали синцитиальные образования, а митозы у этой молодежи по-прежнему не выявлялись.

Таким образом, у эмбрионов волховского сига на разных стадиях эмбриогенеза среднее значение ЯЦО изменялось от 50,4% до 76,5%, когда площадь ядра в меньшей или большей степени превышала площадь цитоплазмы. Отметим, что у зародышей волховского сига ГСК с полиморфными ядрами, а также входящие в состав синцитиальных комплексов и многоядерные первичные гоноциты встречаются постоянно.

Обсуждение результатов

Проанализируем морфодинамические трансформации первичных гоноцитов исследованных форм сигов в ходе эмбриогенеза.

У эмбрионов волховского и ладожского озерного сигов значительных различий в таких цитометрических показателях, как размеры клеток и ядер и количество ядрышек, не наблюдается. Максимальных размеров ГСК у зародышей обеих форм достигали на более ранних стадиях эмбриогенеза, а на последующих снижались; при этом объем ядра всегда превышал объем цитоплазмы, что связано с повышенной функциональной активностью ядра. Напротив, у балтийского сига в процессе эмбриогенеза размеры первичных гоноцитов возрастали и, соответственно, снижалось ядерно-цитоплазматическое отношение, т. е. объем цитоплазмы преобладал над объемом ядра, что ранее отмечалось нами [7] у эмбрионов муксуна.

Далее, у зародышей балтийского и ладожского озерного сигов в течение эмбрионального периода отмечали возрастание общего числа ГСК, тогда как у отдельных особей волховского сига наибольшее их количество зарегистрировано уже в 78 суток, а по мере дальнейшего развития снижается. При этом для большинства дат показано значительное варьирование количества гоноцитов, что могло быть вызвано разным темпом обособления ГСК как среди разных форм сигов, так и у отдельных особей. Кроме того, пролиферация части ГСК обусловлена фрагментацией синцитиальных образований на отдельные гоноциты, т. е. типичный митоз замещается полиплоидизирующим [2] с выпадением некоторых его стадий, что нами рассматривалось ранее [7].

Наконец, в составе изученных выборок могли присутствовать разное количество будущих самок и самцов. Согласно современным представлениям [8-10], различия в количестве первичных гоноцитов у эмбрионов могут быть связаны с направлением сексуализации гонад. Так, на трехиглой колюшке *Gasterosteus aculeatus* была показана [9] прямая зависимость дифференцировки гонад по типу яичников от числа ГСК. На медаке *Oryzias latipes* было установлено [10], что мутация *hotei* с избыточным количеством ППК свидетельствует о феминизации гонад. Но если ГСК не заселяют гонаду, происходит реверсия пола от самок к самцам, уровни андрогена увеличиваются, а эстрогена — снижаются [8]. Исследователями установлено, что в раннем онтогенезе при дифференцировке пола морфанты *sxst4* неспособны поддерживать стероидные клетки, синтезирующие эстрогены. В клетках несформированных гонад экспрессируются специфичные для самца гены, независимо от генетического пола. Таким образом, количество гоноцитов в гонаде свидетельствует о направлении ее дифференциации: при увеличении числа первичных гоноцитов наблюдается тенденция дифференцировки гонад в направлении яичников.

В связи с этим, можно предположить, что у зародышей балтийского сига с количеством ГСК в интервале 10-25 (рис. 3), а также у волховского и ладожского озерного сига с числом гоноцитов в интервале 10-20 (рис. 4-5), полоопределение еще не состоялось. Те же особи, число первичных гоноцитов у которых находится ниже этих интервалов, очевидно, будут дифференцироваться в самцов, выше — в самок.

Таким образом, полученные для сига Балтийского бассейна в условиях аквакультуры данные дают основание для разработки ранней диагностики направления сексуализации гонад, что может найти применение в практике культивирования рыб, в первую очередь при использовании генетических методов селекции и управления полом. Возможно также, что заселяющее гонаду количество ГСК не только определяет будущий пол, но и индивидуальную плодовитость, что особенно актуально при формировании маточных стад.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балдина С. Н. Генетическая дифференциация муксуна *Coregonus muksun* (Pallas) и родственных видов сиговых рыб (Coregonidae, Salmoniformes) Сибири по мтДНК / С. Н. Балдина, Н. Ю. Гордон, Д. В. Политов // Генетика. 2008. Т. 44. № 7. С. 896-905.
2. Бродский В. Я. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка / В. Я. Бродский, И. В. Урываева. М.: Наука, 1981. 260 с.
3. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. М. 1969. 645 с.
4. Микодина Е. В. Гистология для ихтиологов: опыт и советы / Е. В. Микодина и др. М.: ВНИРО, 2009. 112 с.
5. Политов Д. В. Ю. Филогенетика и филогеография сиговых — сравнение морфологического и генетического подходов / Д. В. Политов, С. Н. Балдина, Н. Ю. Гордон // Материалы 7-го Всероссийского научно-производственного совещания по биологии, биотехнике сиговых рыб. Тюмень: Госрыбцентр, 2010. С. 37-41.
6. Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. М.: Издательство иностранной литературы, 1953. 718 с.
7. Селюков А. Г. Цитоморфологические преобразования первичных половых клеток в эмбриогенезе муксуна *Coregonus muksun* (Pallas) / А. Г. Селюков, Е. В. Ефремова, Г. Н. Бондаренко // Вестник Тюменского государственного университета. Медико-биологические науки. Науки о земле. Химия. 2010. № 3. С. 45-51.
8. Kurokawa H. Germ Cells Are Essential for Sexual Dimorphism in the Medaka Gonad / H. Kurokawa, D. Saito, S. Nakamura et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007. Vol. 104. No 43. Pp. 16958-16963.
9. Lewis Z. R. Female-Specific Increase in Primordial Germ Cells Marks Sex Differentiation in Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) / Z. R. Lewis, M. C. McClellan, J. H. Postlethwait et al. // Journal of Morphology. 2008. Vol. 269. No 8. Pp. 909-921. DOI: 10.1002/jmor.10608
10. Tanaka M. Cross Talk between Germ Cells and Gonadal Somatic Cells Is Critical for Sex Differentiation of the Gonads in the Teleost Fish, Medaka (*Oryzias latipes*) / M. Tanaka, D. Saito, C. Moringa et al. // Development, Growth and Differentiation. 2008. Vol. 50. No 4. Pp. 273-278.

Alexander G. SELYUKOV¹
Mariya V. KIBALOVA²
Ekaterina V. MIKHALENKO³
Vera A. BOGDANOVA⁴

**THE FUND OF THE GERMINATIVE STEM CELLS FORMATION
IN THE EMBRYOGENESIS OF BALTIC SEA BASIN WHITEFISHES**

- ¹ Dr. Sci. (Biol.), Professor,
Department of Zoology
and Evolution Ecology of Animals,
Tyumen State University
ags-bios@yandex.ru
- ² Under-Graduate Student,
Department of Zoology
and Evolution Ecology of Animals,
Tyumen State University
makib-ichty@mail.ru
- ³ Under-Graduate Student,
Department of Zoology
and Evolution Ecology of Animals,
Tyumen State University
mihalenko_ekaterina@mail.ru
- ⁴ Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate,
Aquaculture Laboratory,
State Research Institute on Lake and River Fisheries
vera-bogdanova@yandex.ru

Abstract

The article aims to study the primordial germ cells morphology and processes of the sex cells fund formation in different forms of *Coregonus lavaretus*: the marine Baltic whitefish and two Ladoga whitefishes — Volkhov and Lake forms in the embryogenesis. The analysis

Citation: Selyukov A. G., Kibalova M. V., Mikhalenko E. V., Bogdanova V. A. 2016. “The Fund of the Germinative Stem Cells Formation in the Embryogenesis of Baltic Sea Basin Whitefishes”. Tyumen State University Herald. Natural Resource Use and Ecology, vol. 2, no 4, pp. 68-81.

DOI: 10.21684/2411-7927-2016-2-4-68-81

of the qualitative and quantitative characteristics of primary sex cells was carried out on the developing embryos, beginning from the age about 50 day before the hatching.

The results show that embryos have relatively early sex cells determination. There are some differences noted on the cytomorphological characteristics of primary gonocytes between the Ladoga whitefishes and the Baltic whitefish. Thus, in the first case the decrease of sex cells sizes during embryonic growth was observed. In the Baltic whitefish, on the contrary, the sex cells sizes during embryogenesis increased, and nuclear-cytoplasmic relation was reduced correspondingly.

The paper shows that in all the whitefishes an intensive increase of the number of gonocytes to the 2.5 months after fertilization was observed. The total calculation of primordial germ cells showed the large range of their quantity in the investigated embryos of whitefishes. That, presumably, can be connected with the different rate of the detachment of sex cells both in different forms and separate individuals.

The syncytial complexes of germ cells and their fragmentation to separate gonocytes that are characteristic for the whitefish embryos, have, obviously, an essential influence on the number of sex cells. It is also assumed that the variations in the number of sex cells can result from the direction of the future gonad sexualization, which is shown in other fish. In this case it is possible to consider that in the Baltic whitefish with small number of sex cells (10-25), as in Ladoga whitefishes embryos with low gonocytes number (10-20), the sex differentiation does not happen. Individuals that have the number of sex cells below these numbers will be differentiated into the males, above — possibly into the females.

Keywords

Baltic basin's whitefishes, embryogenesis, primordial germ cells, cytomorphology.

DOI: 10.21684/2411-7927-2016-2-4-68-81

REFERENCES

1. Baldina S. N., Gordon N. Yu., Politov D. V. 2008. "Geneticheskaya differentsiatsiya muksuna *Coregonus muksun* (Pallas) i rodstvennykh vidov sigovykh ryb (Coregonidae, Salmoniformes) Sibiri po mtDNK" [Genetic Differentiation of *Coregonus muksun* (Pallas) and Related Forms of the Whitefishes (Coregonidae, Salmoniformes) of Siberia on mtDNK]. *Genetics*, vol. 44, no 7, pp. 896-905.
2. Brodsky V. Y., Uryvaeva I. V. 1981. *Kletochnaya poliploidiya. Proliferatsiya i differentsirovka* [Cellular polyploid. Proliferation and Differentiation]. Moscow: Nauka.
3. Kurokawa H., Saito D., Nakamura S. et al. 2007. "Germ Cells are Essential for Sexual Dimorphism in the Medaka Gonad." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no 43, pp. 16958-16963.
4. Lewis Z. R., McClellan M. C., Postlethwait J. H. et al. 2008. "Female-Specific Increase in Primordial Germ Cells Marks Sex Differentiation in Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*)." *Journal of Morphology*, vol. 269, no 8, pp. 909-921. DOI: 10.1002/jmor.10608

5. Lilli R. 1969. Patogistologicheskaya tekhnika i prakticheskaya gistokhimiya [Histopathological technology and practical histochemistry]. Moscow.
6. Mikodina E. V. et al. 2009. Gistologiya dlya ikhtiologov: opyt i sovety [Histology for the Ichthyologists: Experience and Advice]. Moscow: VNIRO.
7. Politov D. V., Baldina S. N., Gordon N. Y. 2010. "Filogenetika i filogeografiya sigovykh — sravnenie morfologicheskogo i geneticheskogo podkhodov" [Phylogenetics and Philogeography of Whitefishes — the Comparison of Morphological and Genetic Approaches]. The Proceedings of 7th All-Russian Scientific Conference on Biology, Biotechnics of Whitefish Fishes, pp. 37-41. Tyumen: Gosrybtsentr.
8. Romeys B. 1953. Mikroskopicheskaya tekhnika [Microscopic Technology]. Moscow.
9. Selyukov A. G., Efremova E. V., Bondarenko G. N. 2010. "Tsitomorfologicheskie preobrazovaniya pervichnykh polovykh kletok v embriogeneze muksuna *Coregonus muksun* (Pallas)" [Cytomorphological Transformations of Primordial Germ Cells in the Embryogenesis of Muksun *Coregonus muksun* (Pallas)]. Tyumen State University Herald. Medical and Biological Sciences. Earth Sciences. Chemistry, no 3, pp. 45-51.
10. Tanaka M., Saito D., Moriga C. et al. 2008. "Cross Talk between Germ Cells and Gonadal Somatic Cells is Critical for Sex Differentiation of the Gonads in the Teleost Fish, Medaka (*Oryzias latipes*).". Development, Growth and Differentiation, vol. 50, no 4, pp. 273-278.