 © Авторы статьи / Authors of the article

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ/ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

DOI: https://doi.org/10.60797/JAE.2026.73.3 EDN: TMALXX

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ТЕПЛОВОГО И ХОЛОДОВОГО ШОКА НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ИКРЫ *NOTHOBRANCHIUS GUENTHERI*

Научная статья

Кочетков Н.И.[1,] *, Смородинская С.В.[2], Кленов А.А.[3], Кривошеев Ф.А.[4]
[1] ORCID : 0000-0002-2196-5421;
[1, 2, 3, 4] Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского (ПКУ), Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (samatrixs[at]gmail.com)

Предложена: 07.07.2026; Принята: 03.09.2026; Опубликована: 18.09.2026

Аннотация

Сезонные карпозубообразные рыбы, обитающие в пересыхающих водоемах, представляют собой уникальную модель для изучения адаптаций к экстремальным условиям среды. В данной работе исследовано влияние кратковременного (2 часа) шокового воздействия субоптимальных температур (7, 16 и 34 °C) на эмбрионы *Nothobranchius guentheri*, находящиеся на стадии первой эмбриональной диапаузы (DP I). Контрольной группой служила икра, инкубируемая при оптимальной температуре 24 °C. Установлено, что кратковременный тепловой шок (34 °C) не оказывает существенного влияния на выживаемость и скорость развития эмбрионов, что подтверждает высокую эволюционную адаптацию вида к перегреву нерестового субстрата в период засухи. Напротив, холодовой стресс приводит к значительным нарушениям.

Воздействие температуры 7 и 16 °C снижает итоговую выживаемость икры до 49,70 и 56,25% (против 81,25% в контроле). Наиболее критичным оказалось влияние температуры 7 °C, при которой наблюдалась не только ранняя гибель эмбрионов, но и выраженное удлинение I диапаузы. Это привело к смещению сроков выклева первых личинок на 26 суток после воздействия (DPE) по сравнению с 14 DPE в остальных группах. Примечательно, что ни в одной из экспериментальных групп не было зафиксировано морфологических аномалий развития. Гибель происходила преимущественно на ранних этапах инкубации (2-8 DPE), тогда как выжившие после холодового шока особи демонстрировали высокую онтогенетическую пластичность и успешно завершали органогенез. Результаты подчеркивают высокую резистентность эмбрионов сезонных рыб к тепловому стрессу и их уязвимость к резкому переохлаждению, что коррелирует со спецификой их естественных биотопов.

Ключевые слова: диапауза, карпозубообразные, онтогенетическая пластичность, холодовой шок, инкубация икры экологическая адаптация, задержка выклева.

THE INFLUENCE OF SHORT-TERM HEAT AND COLD SHOCK ON THE EMBRYONIC DEVELOPMENT AND SURVIVAL OF *NOTHOBRANCHIUS GUENTHERI* FISH EGGS

Research article

Kochetkov N.I.[1,] *, Smorodinskaya S.V.[2], Klenov A.A.[3], Krivosheev F.A.[4]
[1] ORCID : 0000-0002-2196-5421;
[1, 2, 3, 4] Moscow State University of Technologies and Management (FCU), Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (samatrixs[at]gmail.com)

Suggested: 07.07.2026; Accepted: 03.09.2026; Published: 18.09.2026

Abstract

Seasonal cyprinodontid fish inhabiting ephemeral water bodies provide a unique model for studying adaptations to extreme environmental conditions. This work examines the effect of a short-term (2-hour) shock exposure to suboptimal temperatures (7, 16 and 34 °C) on *Nothobranchius guentheri* embryos at the first embryonic diapause (DP I) stage. The control group consisted of eggs incubated at the optimal temperature of 24 °C. It was found that a short-term thermal shock (34 °C) has no significant effect on embryo survival or development rate, confirming the species' high evolutionary adaptation to overheating of the spawning substrate during periods of drought. In contrast, cold stress leads to significant disruptions.

Exposure to temperatures of 7 and 16 °C reduced the final survival rate of the eggs to 49.70 and 56.25% (compared with 81.25% in the control group). The most critical effect was observed at a temperature of 7 °C, at which not only was early embryo mortality observed, but also a marked prolongation of diapause I. This led to a delay in the hatching of the first larvae by 26 days post-exposure (DPE) compared with 14 DPE in the other groups. It is noteworthy that no morphological developmental abnormalities were recorded in any of the experimental groups. Mortality occurred predominantly during the early stages of incubation (2–8 DPE), while specimens that survived the cold shock demonstrated high ontogenetic plasticity and successfully completed organogenesis. The results highlight the high resistance of seasonal fish embryos to heat stress and their vulnerability to sudden hypothermia, which correlates with the specific characteristics of their natural habitats.

 © Авторы статьи / Authors of the article

Keywords: diapause, cyprinodontids ontogenetic plasticity, cold shock, fish egg incubation, ecological adaptation, delayed hatching.

Введение

Nothobranchius guentheri является эндемиком острова Занзибар, относящимся к группе сезонных карпозубых семейства Nothobranchiidae [1]. Как и другие представители семейства, данный вид населяет пересыхающие водоемы юга Африки. Его жизненный цикл характеризуется увеличенной продолжительностью эмбриогенеза, совпадающей с периодом засухи [2], [3]. Выживание в подобных нестабильных биотопах обеспечивается эмбриональной диапаузой — обратимой остановкой развития. Согласно классической периодизации [4], в эмбриогенезе сезонных карпозубообразных выделяют три стадии диапаузы: диапауза I наступает по завершении гаструляции (на этапе дисперсии и реагрегации бластомеров), диапауза II в период сомитогенеза, а диапауза III на стадии сформированного эмбриона непосредственно перед выклевом. Перечисленные особенности эмбрионального развития, наряду с коротким жизненным циклом, позволяют использовать африканские сезонных карпозубообразных в качестве модельных объектов для изучения механизмов адаптации к экстремальным условиям среды у рыб [5], [6].

В лабораторных условиях продолжительность эмбрионального развития *N. guentheri* составляет 3–4 недели [7], [8]. Выклев основной массы эмбрионов, как правило, происходит на 3-й неделе инкубации; при этом развитие протекает относительно синхронно в пределах одной кладки, минуя стадии диапаузы I и II и реализуя прямой путь развития (*англ*. escape trajectory). По срокам эмбриогенеза данный вид значительно более по сравнению с *N. rachovii* (4-7 месяцев) [9] и *N. furzeri*, *N. kadleci* (2–3 месяца) [10], [11], но сопоставим с *N. korthausae* (1–2 месяца) [12]. Относительно короткий период инкубации в сочетании с прозрачной яйцевой оболочкой на всех этапах эмбриогенеза делает *N. guentheri* удобным видом для изучения влияния экзогенных факторов на эмбриональное развитие [13].

Температура выступает ключевым экзогенным фактором, определяющим эмбриональное развитие рыб. Отклонение температуры инкубации от оптимума закономерно изменяет скорость эмбриогенеза [14], [15], а значительный выход за пределы оптимума приводит к повышению смертности эмбрионов и частоты морфологических аномалий [16]. Влияние различных температурных режимов на сезонных карпозубых было описано в ряде работ [17], [18], [19]. При этом в естественных биотопах развитие данной группы протекает на фоне постоянных температурных флуктуаций в диапазоне от 15 до 35 °C [3]. Работы, посвященные шоковому воздействию субоптимальных температур на эмбрионы сезонных карпозубых, малочисленны [20], [21], [22]. В существующих исследованиях акцент сделан преимущественно на механизмах выхода из диапаузы, тогда как влияние температурного стресса на общую динамику эмбриогенеза остается практически неизученным.

Таким образом, целью настоящего исследования является оценить влияния краткосрочного шокового температурного воздействия на выживаемость и скорость эмбрионального развития *Nothobranchius guentheri*, как представителя сезонных карпозубообразных.

Методы и принципы исследования

Изолят *Nothobranchius guentheri* Zanzibar TAN 14-02 был получен из коллекции Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН. Содержание и уход за рыбами осуществлялся согласно рекомендациям Polačik et al. [11]. Для получения икры рыб (возрастом 3-5 мес) разделили по половому признаку (1 самец на 2 самки) и содержали в аквариумах объемом 30 л (45 × 45 × 15 см, Ш × Д × В) с постоянной аэрацией при температуре 22,0 ± 1,5 °C и pH 7,2–7,6. Всего, в рамках настоящего исследования, было задействовано 12 нерестовых групп производителей (36 особей). Вода в этих аквариумах заменялась частично (один раз в 2 дня) и полностью (один раз в 7 дней). В качестве нерестового субстрата использовал кокосовый торф. Рыб кормили живым кормом (*Daphnia magna*, личинки семейства Chironomidae, *Artemia salina*) два раза в день (12:00 и 18:00 ч).

В качестве температурного воздействия использовали три субоптимальных температуры (7, 16 и 34 °C) и один оптимальный (24 °C), служивший контролем. Длительность температурного шока составляла 2 часа; данный интервал был выбран на основе предварительных экспериментов, в которых более продолжительное воздействие приводило к гибели большей части икры. Выбор температурных режимов основывался на данных Markofsky & Matias [17], [20].

Икру отбирали из влажного торфа через 7 суток после акклиматизации и начала активного нерестового поведения. Для экспериментов использовались только икринки на морфологической стадии, соответствующей первой диапаузе. Отобранный материал помещали в чашки Петри (диаметром 90 мм, объем раствора 100 мл) с раствором Ямамото (130 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 2,0 мМ $CaCl_2$, 0,2 мМ $NaHCO_3$) при плотности 16 икринок на чашку.

Эксперимент выполняли в трехкратной повторности (n = 16 × 3). Для инкубации при температурах 16 и 34 °C чашки Петри помещали в термостат (Binder 115, Binder GmbH, Германия), при 7 °C — в холодильную камеру (LKexv 1800 Mediline, Liebherr, Австрия). После 2-часовой экспозиции чашки переносили в термостат (Binder 115) с оптимальной температурой (24 °C). Контрольную группу непрерывно инкубировали при оптимальной температуре. Наблюдение за развитием икры (фиксация гибели и условной стадии развития) осуществляли каждые двое суток в течение 32 дней. Фотофиксацию проводили с помощью светового микроскопа Olympus BX53 (Olympus Corp., Япония), оснащенного цифровой камерой ToupCam 16.0 MP. Для получения изображений применяли программное обеспечение ToupView (ToupTek Photonics, Китай). Последующую обработку полученных микрофотографий (коррекцию яркости, контрастности и экспозиции) выполняли в программе Adobe Photoshop 2024 (Adobe Systems, США).

Для количественной оценки влияния температурного шока на эмбриогенез *N. guentheri* процесс развития был разделен на несколько стадий со следующими морфологическими критериями:

– диапауза I (DP I) — равномерное покрытие желтка клетками (глубокими клетками и клетками обволакивающего слоя) (рис. 1, а);

 © Авторы статьи / Authors of the article

– органогенез I (Org I) — формирование оси тела (4–16 сомитов), визуализация мозговых плакод и глазных пузырей (рис. 1, б);

– органогенез II (Org II) — рост тела эмбриона (24–30 сомитов), частичная пигментация сетчатки и тела, дифференцировка трех отделов головного мозга и слуховых капсул, начало кровообращения (рис. 1, в);

– органогенез III (Org III) — рост тела эмбриона при уменьшении желточного мешка, интенсивное кровообращение, формирование плавниковой складки, достижение кончиком хвоста границы головного отдела (рис. 1, г);

– перед выклевом (PreH) — завершение органогенеза, выраженная пигментация сетчатки и тела, значительное уменьшение желточного мешка, кончик хвоста достигает среднего отдела мозга, аналогичная диапаузе III (рис. 1, д, е);

– выклев — личинки непосредственно после выхода из яйцевых оболочек. Следует отметить, что описанные стадии не являются универсальными, а представляют собой концептуальную основу для данных настоящего исследования. Классическая стадийность развития сезонных карпозубообразных дана в работах Wourms [23] и Inglima et al. [24].

Обработка данных и визуализация результатов производилась с использованием GraphPad Prism v 9.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA) и в среде RStudio v 3.6.0 [25] с использованием языка R v 4.4.3 [26]. Значение $p < 0.05$ было принято, как статистически достоверное. Данные сравнения анализируемых переменных представлены в виде Средних ± стандартное отклонение (M ± SD), если не указано иное. Визуализация динамики эмбрионального развития в виде графиков с областями выполнялась с использованием пакета ggplot2 v. 4.0.0 [27].

Для оценки влияния кратковременного температурного воздействия на кумулятивную выживаемость эмбрионов применялся метод Каплана-Майера с последующим сравнением кривых выживаемости с помощью теста Мантеля-Кокса. Сравнение доли выживших эмбрионов и долей эмбрионов на конкретных установленных стадиях развития в определенных временных точках (сутки после воздействия, DPE) проводилось с использованием критерия Краскела-Уоллиса с пост-хок тестом Данна, исходя из распределения данных и однородности вариаций (тесты Шапиро-Уилка и Левена). Для сравнения профилей развития доля эмбрионов на конкретных стадиях рассчитывалась исключительно от числа выживших особей на момент наблюдения, принятого за 100%. Это позволило убрать влияние разной смертности в экспериментальных группах на оценку скорости эмбриогенеза.

Для оценки сдвигов в общем профиле развития (сравнение распределения по всем выделенным стадиям развития) в конкретные временные точки использовался критерий Хи-квадрат. Для данного анализа использовались абсолютные значения количества икринок, просуммированные по трем повторностям каждой группы. При этом на ряде временных точек из сравнения исключались стадии развития без эмбрионов.

Для оценки влияния температурного шока на динамику развития икры на протяжении всего эксперимента применялась обобщенная линейная смешанная модель (GLMM) с биномиальным распределением из пакета glmmTMB v. 1.1.14 [28]. В качестве фиксированных факторов в модель были включены «Температура» (7°C, 16°C, 24°C и 34°C), «Время» (0-32 DPE) и их взаимодействие, а в качестве случайного эффекта — биологическая повторность. Оценка значимости главных эффектов и их взаимодействия проводилась с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) с поправкой Тьюки из пакета car v. 3.1.5 [29].

Основные результаты

Кратковременное воздействие низких температур оказало статистически значимое влияние на выживаемость икры *N. guentheri*. Необходимо отметить, что при исследовании икры всех экспериментальных групп морфологических аномалий развития у эмбрионов и личинок обнаружено не было.

Во всех экспериментальных группах в период с 2 по 8 DPE отмечалась единичная гибель эмбрионов (рис. 1, ж). Сравнение кривых выживаемости Каплана-Мейера выявило статистически значимые различия между выборками ($\chi^2(3) = 13{,}91$, $p = 0{,}003$). В частности, при кратковременном действии температуры 7 °C уже на 6-е сутки зафиксировано значимое снижение выживаемости до 56,3% по сравнению с контролем ($H(3) = 8{,}805$, $p = 0{,}004$; $p_{adj} = 0{,}049$) (рис. 1, з). В этой группе наблюдался повышенный уровень смертности на протяжении всего эксперимента, которые достоверно отличался от контроля на 32 DPE ($H(3) = 9{,}278$, $p = 0{,}002$; $p_{adj} = 0{,}008$) (рис. 1, и). Выживаемость икринок после воздействия температуры 16 °C к концу опыта также оказалась ниже контрольного показателя — 56,25% против 81,25% ($p_{adj} = 0{,}021$). Между остальными исследованными группами статистически значимых различий не обнаружено.

 © Авторы статьи / Authors of the article

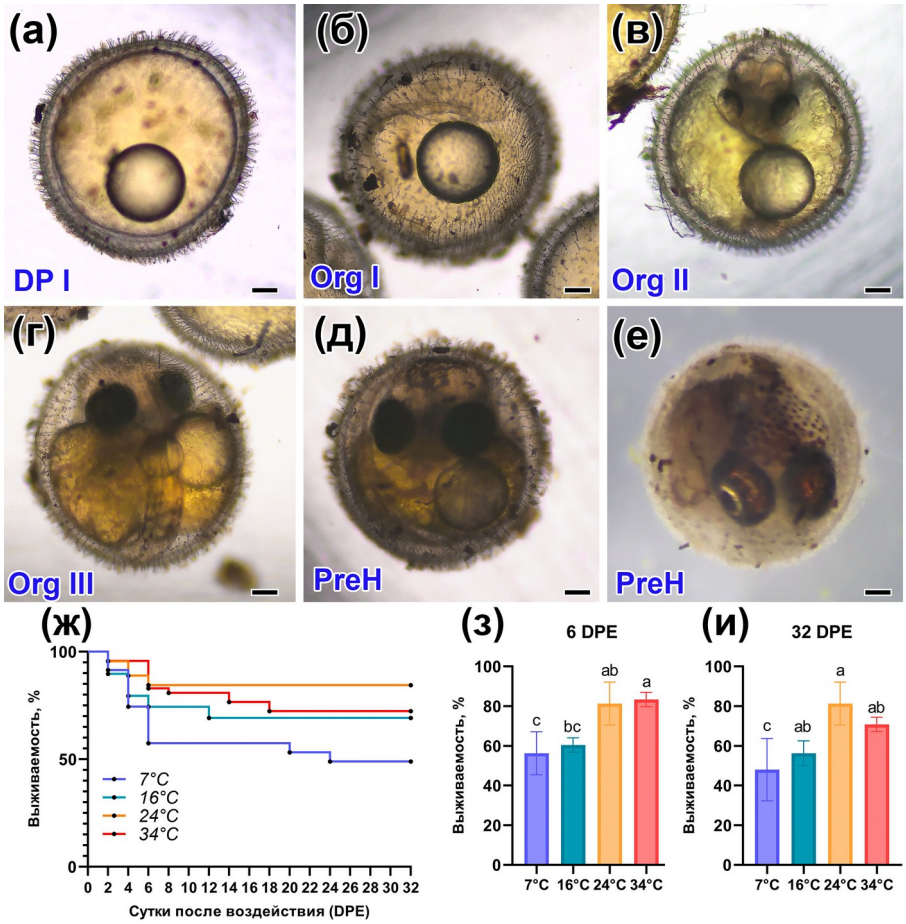

Рисунок 1 - Ключевые стадии развития *(а-е)* и показатели выживаемости *(ж-и)* икринок *N. guentheri* после краткосрочного воздействия различных температур
DOI: https://doi.org/10.60797/JAE.2026.73.3.1

Примечание: здесь и далее надстрочные буквы (a, b, c) указывают на статистическую значимость из критерия Краскела-Уоллиса с пост-хок тестом Данна

Анализ динамики эмбриогенеза позволил выявить статистически значимое влияние температурного шока на развитие икры *N. guentheri*. Согласно рисунку 2 (а, г), наибольшие отличия от контрольной группы отмечались при кратковременном воздействии температуры 7 °C. В частности, выход части эмбрионов (25,2–53,5%) из диапаузы I (формирование оси тела) во всех исследуемых группах происходил уже на 4 DPE (рис. 2, в). Сравнение доли эмбрионов на стадии Org I выявило значимо более низкие показатели в группах с температурой воздействия 7 °C и 34 °C по сравнению с темпратурой 16 °C ($H(3) = 9,04$, $p = 0,002$; $p_{adj} = 0,025$ и 0,010 соответственно). Однако к 6 DPE различия по доле эмбрионов на стадии DP I между группами нивелировались ($H(3) = 6,424$, $p = 0,085$). После воздействия температур 7 °C и 16 °C вплоть до 32 DPE часть эмбрионов (10,83% и 4,17%) оставалась на стадии DP I.

Применение GLMM для оценки влияния температурного шока на динамику развития икры на протяжении эксперимента подтвердило статистически значимое влияние температуры на траектории стадий DPI ($\chi^2(3) = 28,589$, $p < 0,001$), PreH ($\chi^2(3) = 15,724$, $p = 0,001$) и выклева ($\chi^2(3) = 11,884$, $p = 0,008$). Апостериорный анализ показал, что кратковременное понижение температуры замедляет выход из DP I, переход на стадию PreH и выклев. Так, начиная с 21 DPE, доля эмбрионов на стадии PreH при действии температуры 7 °C была значимо ниже, чем в контрольной группе ($z = -4,640$, $p_{adj} < 0,001$) и температуре 35 °C ($z = -4,709$, $p_{adj} < 0,001$) (рис. 2, а, г, д). Аналогичная задержка развития была выявлена и для стадии выклева: начиная с 23 DPE икринки при шоковом воздействии температуры 7 °C значимо уступали как контролю ($z = -4,912$, $p_{adj} < 0,001$), так и эмрионам, подвергшимся действию температуры 35 °C ($z = -4,927$, $p_{adj} < 0,001$). При этом динамика доли эмбрионов на стадиях OrgI, OrgII и OrgIII не показала статистически значимых различий между температурными группами (во всех случаях $\chi^2(3) < 1,00$, $p > 0,05$).

 © Авторы статьи / Authors of the article

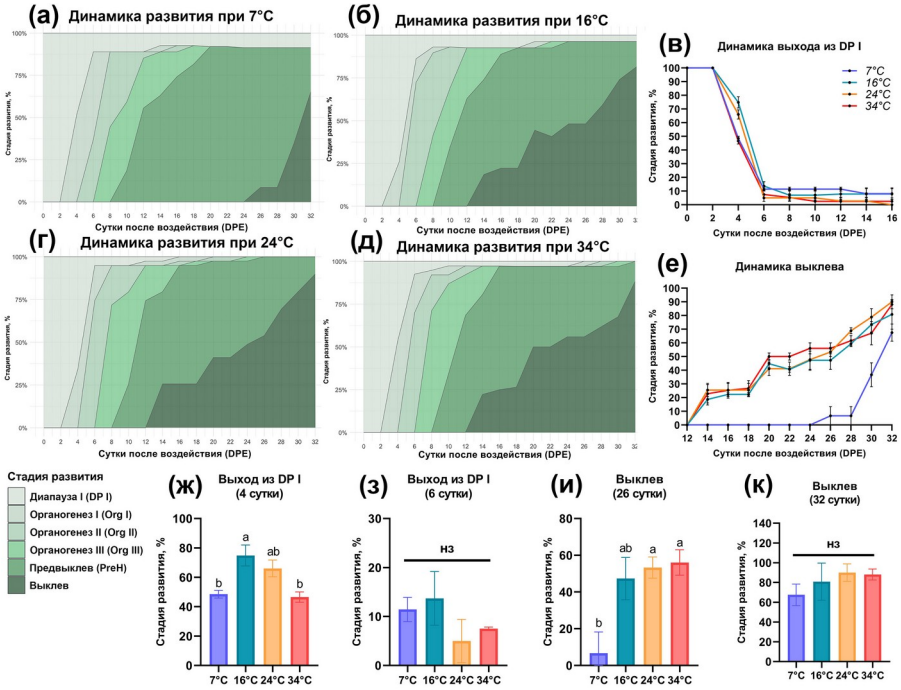

Рисунок 2 - Динамика развития (изменение ключевых стадий развития) икринок *N. guentheri* после краткосрочного воздействия различных температур

DOI: https://doi.org/10.60797/JAE.2026.73.3.2

Сравнение распределения эмбрионов по стадиям развития показало, что наиболее выраженные различия в профиле их развития фиксировались на начало опыта: на 4-е ($\chi^2(3) = 8{,}019$, $p = 0{,}045$) и 6-е сутки ($\chi^2(6) = 15{,}07$, $p = 0{,}019$), а также в период с 16-х ($\chi^2(15) = 25{,}81$, $p = 0{,}040$) по 30-е сутки ($\chi^2(6) = 17{,}30$, $p = 0{,}008$). Эти результаты согласуются с оценками, полученными с помощью GLMM и последующего апостериорного анализа. При этом, применение критерия хи-квадрат для анализа данных на 32 DPE (рис. 2, а, г) не выявило статистически значимых различий ($\chi^2(6) = 9{,}624$, $p = 0{,}1414$).

Анализ динамики выклева показал, что во всех группах, за исключением икринок после кратковременной действия температуры 7 °C, выклев первых личинок происходил на 14 DPE (рис. 2, е). Послей воздействия температуры 7 °C выклев наблюдался только на 26-е сутки (рис. 2, и), что статистически значимо отличалось от показателей при температурах 24 °C и 34 °C ($H(3) = 7{,}32$, $p = 0{,}036$; $p_{adj} = 0{,}034$ и 0,011 соответственно). Несмотря на выраженную тенденцию к снижению доли выклева при 7 °C (65,2% против 89,7% в контроле), статистически значимых различий выявлено не было ($H(3) = 5{,}50$, $p = 0{,}134$), что может быть связано с высокой дисперсией данных при данном объеме выборки.

Таким образом, температурный шок (особенно 7 °C и 16 °C) значимо снижает общий репродуктивный успех за счет высокой смертности и задержки эмбриогенеза, однако эмбрионы, пережившие шок, сохраняют способность к успешному завершению развития и выклеву.

Обсуждение

Результаты проведенного исследования показывают, что наиболее выраженное влияние на эмбриональное развитие *N. guentheri* оказывает холодовой шок, в частности кратковременное воздействие температуры 7 °C. Это согласуется с данными Markofsky & Matias [17], [20], показавшими, что острая экспозиция при низких температурах (3,4 и 9,0 °C), а также субоптимальная температура инкубации (19,4 °C) приводят к существенному замедлению эмбриогенеза *N. guentheri*, снижению выживаемости и увеличению доли аномалий развития. Инкубация икры указанного вида, под данным другого исследования Nguyen & Persoone [21], при субоптимальных температурах (15–20 °C) также приводила к замедлению развития и снижению выклева. Дополнительно, в работе по определению кривых температурной эффективности для ранних стадий развития несезонного вида — *Fundulus heteroclitus* было установлено, что нижний температурный предел предположительно лежит в пределах 15 °C [30], что также сходится с результатами настоящего исследования.

В то же время кратковременное действие повышенной субоптимальной температуры (34 °C) не оказало статистически значимого влияния на скорость развития и выживаемость эмбрионов. Как и у других рыб, повышение температуры инкубации у карпозубообразных сокращает сроки эмбриогенеза, что ранее отмечено для *Aphanius dispar* [31] и *F. heteroclitus* [30]. У многих сезонных карпозубых этот фактор позволяет эмбрионам миновать стадию диапаузы, реализуя прямой путь развития [19], [18], [32]. В свою очередь данные о краткосрочном воздействии температур на эмбриогенез карпозубообразных немногочисленны. Например, у *F. heteroclitus* инкубация при изменяющейся температуре — 26 ± 7 °C (с пиками до 33 °C) снижала выживаемость икры [22]. Для *N. guentheri* установлено, что тепловой шок при 40,0 °C замедляет развитие из-за увеличения длительности диапаузы II, тогда как кратковременная экспозиция при 32,7 °C не изменяет траекторию развития и не вызывает гибели эмбрионов [20].

 © Авторы статьи / Authors of the article

Приведенные выше экспериментальные данные и результаты настоящего исследований можно объяснить эволюционной адаптацией сезонных карпозубообразных, в частности представителей рода *Nothobranchius*, к высоким температурам. Эмбриогенез этих видов протекает в субстрате пересыхающих водоемов в условиях выраженных температурных колебаний, гипоксии и дефицита влаги [5], [6]. Как было показано в работе Polačik et al. [2] для естественных популяций *Nothobranchius* spp., в период засухи температура нерестового субстрата на поверхности варьирует от 13 до 47 °C. Сходные температурные колебания (27,1–35,7 °C) были также выявлены в местах обитания южноамериканского сезонного вида *Austrofundulus limnaeus* [33]. Следовательно, эмбрионы сезонных карпозубообразных обладают высокой толерантностью к тепловому стрессу, в то время как механизмы устойчивости к резкому переохлаждению у них развиты слабо, что определяет высокую смертность икры при шоковом воздействии 7 °C.

Особенность полученных результатов являлась гибель эмбрионов в опытных группах преимущественно на начало опыта (2–8 DPE). Ранние стадии эмбриогенеза рыб (периоды дробления и сомитогенеза) обладают повышенной чувствительностью к стрессовым воздействиям, в том числе термическим. Это обусловлено тем, что на данных стадиях развития происходят важные морфогенетические процессы, при этом формирование эффективных гомеостатических механизмов еще не завершено [14], [34], [35], [36]. Несмотря на это, большинство эмбрионов, перенесших холодовой шок, в конце опыта успешно достигали стадии выклева. Дальнейшее развитие после температурного стресса может объясняться высокой степенью онтогенетической пластичности у эмбрионов карпозубообразных — группы, характеризующейся выраженной толерантностью к абиотическим факторам [18], [22]. В частности, эмбрионы несезонного солоноватоводного вида *Fundulus grandis* способны развиваться при солености до 60 г/л [37], а для икры *Austrofundulus limnaeus* показана крайне высокая устойчивость к гипоксии среди рыб [32]. Вероятно, при успешном преодолении эмбрионом острого стрессового воздействия активируются компенсаторные механизмы, позволяющие завершить органогенез.

В рамках текущего исследования не оценивалось постэмбриональное развитие особей, перенесших температурный шок. Известно, что подобные воздействия могут приводить к отсроченным физиологическим изменениям на последующих стадиях. Например, у взрослых особей *F. heteroclitus*, при инкубации икры за пределами температурного оптимума, отмечалось снижение толерантности к колебаниям температуры и гипоксии [22], а у *N. furzeri* — увеличение скорости роста и сокращение продолжительности жизни [39]. Сходные физиологические перестройки различной направленности также были зарегистрированы и у других видов рыб [40], [35]. Следовательно, оценка долгосрочных последствий острого температурного стресса у представителей *Nothobranchius* spp. требует проведения дополнительных исследований.

Наряду с вышеизложенным, воздействие кратковременного холодового шока (7 °C) индуцировало выраженную задержку выхода эмбрионов *N. guentheri* из первой диапаузы (DP I). Это приводило к увеличению длительности последующего эмбриогенеза и смещению сроков выклева, который наступал лишь на 26-е сутки. Известно, что у сезонных карпозубообразных температурный фактор служит одним из ключевых сигналов к прерыванию диапаузы и возобновления развития. В частности, кратковременная (2 суток) экспозиция икры *A. Limnaeus* [18], [32] и инкубация икры *N. korthausae* [41] при 30 °C приводили к полному пропуску II диапаузы. В свою очередь, инкубация при 18 °C вызывала у *F. heteroclitus* диапаузо-подобную задержку выклева [30]. Согласно Podrabsky et al. [3], ускорение эмбриогенеза в ответ на повышение температуры обусловлено тем, что в естественной среде обитания данный фактор ассоциирован с началом сезона дождей в тропических регионах, выступая экологическим стимулом к быстрому развитию. Исходя из этого, резкое кратковременное снижение температуры, до экстремальных значений, вероятно, вызывает метаболические нарушения, которые фенотипически проявляется как пролонгация фазы DP I.

Несмотря на значимость полученных результатов, настоящее исследование имеет ряд методологических ограничений.

Во-первых, воздействие температурного шока оценивалось исключительно на эмбрионах, находящихся на стадии первой диапаузы (DP I). Поскольку чувствительность к стрессовым факторам может изменяться в процессе онтогенеза, реакция эмбрионов на температурный стресс на более поздних этапах может иметь иную динамику [14], [36].

Во-вторых, дизайн эксперимента охватывал только эмбриональный период, оставляя неизученным вопрос выживаемости и качества личинок после выклева. Дополнительно, небольшой объем выборки на фоне высокой дисперсии траекторий развития и выживаемости ограничил статистическую мощность анализа, в частности, не позволив подтвердить достоверность снижения доли выклева в группе 7 °C. Ко всему прочему, результаты данного исследования могут быть использованы при содержании лабораторной культуры рыб рода *Nothobranchius*, в частности для при контроле за развитием икры на различных субстратах и при определении оптимальных условий для развития эмбрионов.

Заключение

1. Кратковременный тепловой шок при 34 °C на стадии первой диапаузы не влияет на динамику развития и выживаемость икры, что отражает высокую эволюционную адаптацию эмбрионов *N. guentheri* к перегреву нерестового субстрата в естественных условиях.

2. Температурный шок при 7 °C и 16 °C приводит к существенному снижению выживаемости эмбрионов (до 49,7–56,3% к концу эксперимента), при этом основная гибель наблюдается в ранний период — со 2-х по 8-е сутки после стрессового воздействия.

3. Холодовой стресс (7 °C) вызывает выраженную задержку развития за счет удлинения стадии первой диапаузы. Это приводит к смещению начала выклева жизнеспособных личинок с 14-х на 26-е сутки после воздействия.

 © Авторы статьи / Authors of the article

4. Несмотря на высокую смертность и задержку сроков развития при низких температурах, температурный шок не индуцирует видимых морфологических аномалий у *N. guentheri*. Можно предположить, что эмбрионы, пережившие фазу стресса, обладают достаточными компенсаторными механизмами для успешного завершения органогенеза и выклева.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Bulavkina E.V. Multifaceted nothobranchius / E.V. Bulavkina, A.A. Kudryavtsev, M.A. Goncharova [et al.] // Biochemistry. — 2022. — Vol. 87, № 12. — P. 1563–1578. — DOI: 10.1134/s0006297922120136.

2. Polačik M. Embryo ecology: Developmental synchrony and asynchrony in the embryonic development of wild annual fish populations / M. Polačik, M. Vrtílek, M. Reichard [et al.] // Ecology and Evolution. — 2021. — Vol. 11, № 9. — P. 4945–4956. — DOI: 10.1002/ece3.7402.

3. Podrabsky J. Tolerance of environmental stress / J. Podrabsky, C. Riggs, J. Wagner // Annual Fishes. Life History Strategy, Diversity, and Evolution. — 2016. — P. 159–184. — DOI: 10.1201/b19016-14.

4. Wourms J.P. Developmental biology of annual fishes. I. Stages in the normal development of Austrofundulus myersi Dahl / J.P. Wourms // Journal of Experimental Zoology. — 1972. — Vol. 182, № 2. — P. 143–167. — DOI: 10.1002/jez.1401820202.

5. Furness A.I. The evolution of an annual life cycle in killifish: adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause / A.I. Furness // Biological Reviews. — 2016. — Vol. 91, № 3. — P. 796–812. — DOI: 10.1111/brv.12194.

6. Nagy B. A review of the conservation status of seasonal Nothobranchius fishes (Teleostei: Cyprinodontiformes), a genus with a high level of threat, inhabiting ephemeral wetland habitats in Africa / B. Nagy, B.R. Watters // Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems. — 2022. — Vol. 32, № 1. — P. 199–216. — DOI: 10.1002/aqc.3741.

7. Genade T. Annual fishes of the genus Nothobranchius as a model system for aging research / T. Genade, M. Benedetti, E. Terzibasi [et al.] // Aging Cell. — 2005. — Vol. 4, № 5. — P. 223–233. — DOI: 10.1111/j.1474-9726.2005.00165.x.

8. Nikiforov-Nikishin D.L. Evaluation of age-dependent changes in the coloration of male killifish Nothobranchius guentheri using new photoprocessing methods / D.L. Nikiforov-Nikishin, N.I. Kochetkov, E.V. Mikodina [et al.] // Biology. — 2022. — Vol. 11, № 2. — P. 205. — DOI: 10.3390/biology11020205.

9. Hsu C.Y. Ambient temperature influences aging in an annual fish (Nothobranchius rachovii) / C.Y. Hsu, Y.C. Chiu // Aging Cell. — 2009. — Vol. 8, № 6. — P. 726–737. — DOI: 10.1111/j.1474-9726.2009.00525.x.

10. Blažek R. Rapid growth, early maturation and short generation time in African annual fishes / R. Blažek, M. Polačik, M. Reichard // EvoDevo. — 2013. — Vol. 4, № 1. — P. 24. — DOI: 10.1186/2041-9139-4-24.

11. Polačik M. Laboratory breeding of the short-lived annual killifish Nothobranchius furzeri / M. Polačik, R. Blažek, M. Reichard // Nature Protocols. — 2016. — Vol. 11, № 8. — P. 1396–1413. — DOI: 10.1038/nprot.2016.080.

12. Levels P.J. Oxygen consumption during embryonic development of the annual fish Nothobranchius korthausae with special reference to diapause / P.J. Levels, R.E. Gubbels, J.M. Denucé // Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology. — 1986. — Vol. 84, № 4. — P. 767–770. — DOI: 10.1016/0300-9629(86)90403-2.

13. Shedd T.R. Evaluation of the annual killifish Nothobranchius guentheri as a tool for rapid acute toxicity screening / T.R. Shedd, M.W. Widder, M.W. Toussaint [et al.] // Environmental Toxicology and Chemistry. — 1999. — Vol. 18, № 10. — P. 2258–2261. — DOI: 10.1002/etc.5620181020.

14. Whitehouse L.M. The effect of thermal stress on fish development: A mini-review / L.M. Whitehouse // Science Reviews Biology. — 2024. — Vol. 3, № 4. — P. 24–30. — DOI: 10.57098/scirevs.biology.3.4.3.

15. Rombough P.J. The effects of temperature on embryonic and larval development / P.J. Rombough // Global Warming: Implications of Fresh Water and Marine Fish. — 1997. — DOI: 10.1017/cbo9780511983375.009.

16. Álvarez-Quintero N. Heatwaves during embryonic development reveal duration-dependent effects in zebrafish / N. Álvarez-Quintero, L. Pinzoni, M.C. Breedveld [et al.] // Journal of Thermal Biology. — 2025. — Vol. 131. — P. 104195. — DOI: 10.1016/j.jtherbio.2025.104195.

17. Markofsky J. The effects of temperature and season of collection on the onset and duration of diapause in embryos of the annual fish Nothobranchius guentheri / J. Markofsky, J.R. Matias // Journal of Experimental Zoology. — 1977. — Vol. 202, № 1. — P. 49–56. — DOI: 10.1002/jez.1402020107.

18. Podrabsky J.E. Alternative developmental pathways associated with diapause regulated by temperature and maternal influences in embryos of the annual killifish Austrofundulus limnaeus / J.E. Podrabsky, I.D. Garrett, Z.F. Kohl // Journal of Experimental Biology. — 2010. — Vol. 213, № 19. — P. 3280–3288. — DOI: 10.1242/jeb.045906.

19. Anderson S.N. The effects of hypoxia and temperature on metabolic aspects of embryonic development in the annual killifish Austrofundulus limnaeus / S.N. Anderson, J.E. Podrabsky // Journal of Comparative Physiology B. — 2014. — Vol. 184, № 3. — P. 355–370. — DOI: 10.1007/s00360-014-0803-6.

 © Авторы статьи / Authors of the article

20. Matias J.R. The survival of embryos of the annual fish Nothobranchius guentheri exposed to temperature extremes and the subsequent effects on embryonic diapause / J.R. Matias, J. Markofsky // Journal of Experimental Zoology. — 1978. — Vol. 204, № 2. — P. 219–227. — DOI: 10.1002/jez.1402040209.

21. Nguyen L.T.H. Controlled storage and hatching of eggs of the annual fish Nothobranchius guentheri for toxicity testing / L.T.H. Nguyen, G. Persoone // New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring. — Boston, MA: Springer US, 2000. — P. 155–162. — DOI: 10.1007/978-1-4615-4289-6_14.

22. Blanchard T.S. Diel thermal fluctuations during embryonic development affect molecular and physiological phenotypes in later life stages of Fundulus heteroclitus / T.S. Blanchard, M.L. Earhart, L. Campbell [et al.] // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. — 2025. — P. 111190. — DOI: 10.1016/j.cbpb.2025.111190.

23. Wourms J.P. The developmental biology of annual fishes. III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes / J.P. Wourms // Journal of Experimental Zoology. — 1972. — Vol. 182, № 3. — P. 389–414. — DOI: 10.1002/jez.1401820310.

24. Inglima K. Reversible stage-specific embryonic inhibition mediated by the presence of adults in the annual fish Nothobranchius guentheri / K. Inglima, A. Perlmutter, J. Markofsky // Journal of Experimental Zoology. — 1981. — Vol. 215, № 1. — P. 23–33. — DOI: 10.1002/jez.1402150104.

25. RStudio: Integrated Development Environment for R. — RStudio, PBC, 2020. — URL: http://www.rstudio.com/ (accessed: 07.07.2026).

26. A Language and Environment for Statistical Computing / R Core Team. — R Foundation for Statistical Computing, 2021. — URL: https://www.R-project.org/ (accessed: 07.07.2026).

27. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis / H. Wickham. — Springer-Verlag New York, 2016. — URL: https://ggplot2.tidyverse.org (accessed: 07.07.2026).

28. Brooks M.E. glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling / M.E. Brooks, K. Kristensen, K.J. van Benthem [et al.] // The R Journal. — 2017. — Vol. 9, № 2. — P. 378–400. — DOI: 10.32614/RJ-2017-066.

29. Fox J. An R Companion to Applied Regression / J. Fox, S. Weisberg. — 3rd ed. — Sage, 2019. — URL: https://www.john-fox.ca/Companion/ (accessed: 07.07.2026).

30. Blanchard T.S. Intraspecific variation in thermal performance curves for early development in Fundulus heteroclitus / T.S. Blanchard, M.L. Earhart, A.K. Shatsky [et al.] // Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology. — 2024. — Vol. 341, № 8. — P. 827–844. — DOI: 10.1002/jez.2827.

31. Alsakran A. Stage-by-stage exploration of normal embryonic development in the Arabian killifish, Aphanius dispar / A. Alsakran, R. Minhas, A.S. Hamied [et al.] // Developmental Dynamics. — 2025. — Vol. 254, № 5. — P. 380–395. — DOI: 10.1002/dvdy.738.

32. Podrabsky J.E. Embryonic development of the annual killifish Austrofundulus limnaeus: An emerging model for ecological and evolutionary developmental biology research and instruction / J.E. Podrabsky, C.L. Riggs, A.L. Romney [et al.] // Developmental Dynamics. — 2017. — Vol. 246, № 11. — P. 779–801. — DOI: 10.1002/dvdy.24513.

33. Podrabsky J.E. Physical and chemical characteristics of ephemeral pond habitats in the Maracaibo basin and Llanos region of Venezuela / J.E. Podrabsky, T. Hrbek, S.C. Hand // Hydrobiologia. — 1997. — Vol. 362, № 1. — P. 67–77. — DOI: 10.1023/a:1003168704178.

34. Polačik M. Diet overlap among three sympatric African annual killifish species Nothobranchius spp. from Mozambique / M. Polačik, M. Reichard // Journal of Fish Biology. — 2010. — Vol. 77, № 3. — P. 754–768. — DOI: 10.1111/j.1095-8649.2010.02717.x.

35. Del Rio A.M. Differential sensitivity to warming and hypoxia during development and long-term effects of developmental exposure in early life stage Chinook salmon / A.M. Del Rio, G.N. Mukai, B.T. Martin [et al.] // Conservation Physiology. — 2021. — Vol. 9, № 1. — P. coab054. — DOI: 10.1093/conphys/coab054.

36. Romney A.L. Temperature-dependent vitamin D signaling regulates developmental trajectory associated with diapause in an annual killifish / A.L. Romney, E.M. Davis, M.M. Corona [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2018. — Vol. 115, № 50. — P. 12763–12768. — DOI: 10.3410/f.734452211.793554229.

37. Tay K.L. Some embryogenic responses of mummichog, Fundulus heteroclitus (L.) (Cyprinodontidae), to continuous incubation in various combinations of temperature and salinity / K.L. Tay, E.T. Garside // Canadian Journal of Zoology. — 1975. — Vol. 53, № 7. — P. 920–933. — DOI: 10.1139/z75-107.

38. Riggs C.L. Small noncoding RNA expression during extreme anoxia tolerance of annual killifish (Austrofundulus limnaeus) embryos / C.L. Riggs, J.E. Podrabsky // Physiological Genomics. — 2017. — Vol. 49, № 9. — P. 505–518. — DOI: 10.1152/physiolgenomics.00016.2017.

39. Polačik M. Alternative intrapopulation life-history strategies and their trade-offs in an African annual fish / M. Polačik, R. Blažek, R. Řežucha [et al.] // Journal of Evolutionary Biology. — 2014. — Vol. 27, № 5. — P. 854–865. — DOI: 10.1111/jeb.12359.

40. Cordova-de la Cruz S.E. Larval development in tropical gar (Atractosteus tropicus) is dependent on the embryonic thermal regime: ecological implications under a climate change context / S.E. Cordova-de la Cruz, M.F. Riesco, G. Martínez-Bautista [et al.] // Fishes. — 2022. — Vol. 7, № 1. — P. 16. — DOI: 10.3390/fishes7010016.

41. Levels P.J. Intrinsic variability in the frequency of embryonic diapauses of the annual fish Nothobranchius korthausae, regulated by light: dark cycle and temperature / P.J. Levels, J.M. Denucé // Environmental Biology of Fishes. — 1988. — Vol. 22, № 3. — P. 211–224. — DOI: 10.1007/bf00005382.