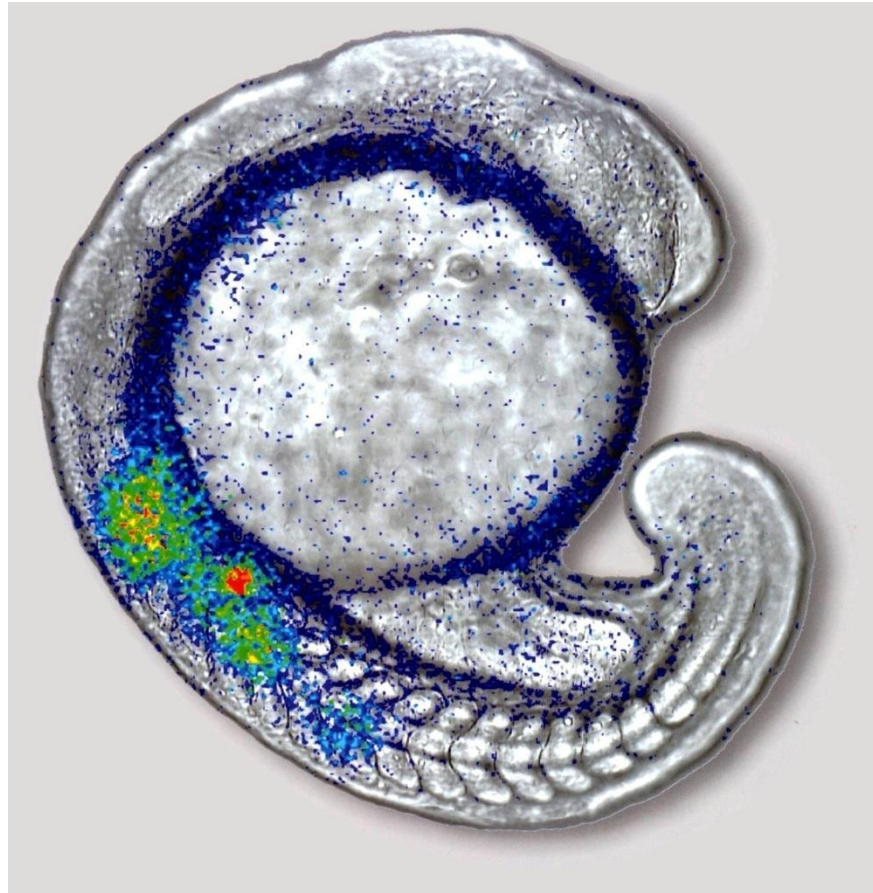


В. Ефремов

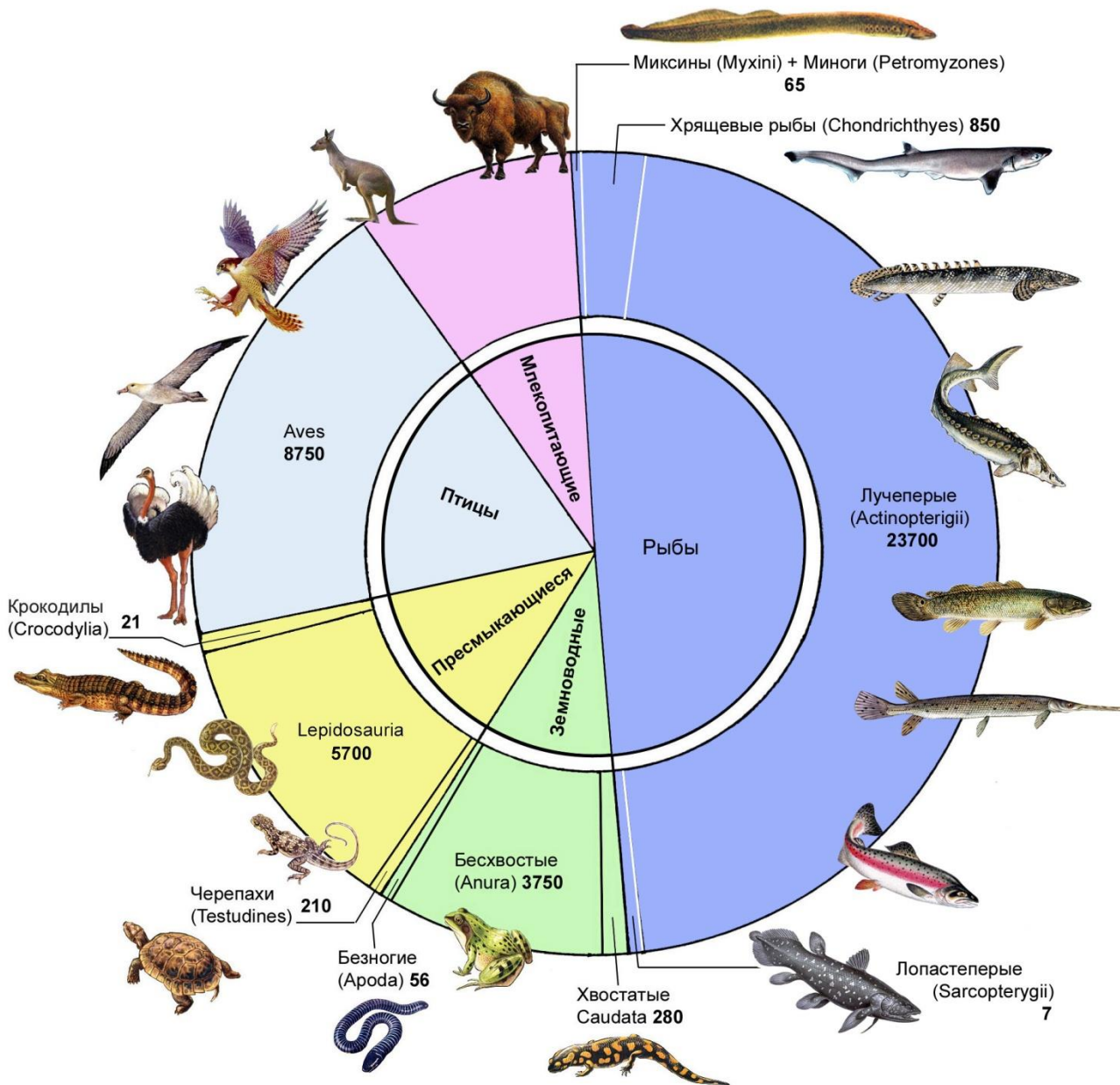


*Эмбриональное развитие
Костистых рыб (1)*

Рыбы в широком смысле слова (Pisces) образуют самую многочисленную группу позвоночных, насчитывающую около **27 000** видов, т.е. более половины видового состава всех позвоночных; и 95 % в ней приходится на долю Костистых рыб (Teleostei). (Слайд ★) Рыбы принадлежат к группе челюстноротых (Gnathostomata), которая, возникнув в ордовике, разделилась в силуре на несколько групп: Хрящевых, Лучепёрых, и Лопастепёрых. Кроме того, от первичных Челюстноротых в это же время отделились также и предки амфибий, которые достигли расцвета в девоне и впоследствии дали начало группе Amniota, представленной рептилиями, птицами и млекопитающими. (Слайд ★)

Считается, что исторический успех развития позвоночных и, в частности, рыб во многом связан с появлением у них качеств, способствующих интенсивному накоплению желтка в яйцеклетках.

Анатомические особенности. Для рыб характерно наличие *замещающего хорду хрящевого или костного позвоночного столба*, к которому прикрепляются череп, многие мышцы и придатки. Головной мозг у них защищен черепом, а спинной мозг – позвоночником. Рыбы обладают разнообразными органами чувств, в том числе органами зрения, вкуса, обоняния и слуха. Имеется внутреннее ухо с полукружными каналами, а вдоль тела проходит *сенсорная боковая линия*. У рыб появляются челюсти, снабженные зубами, позволяющие схватывать добычу.

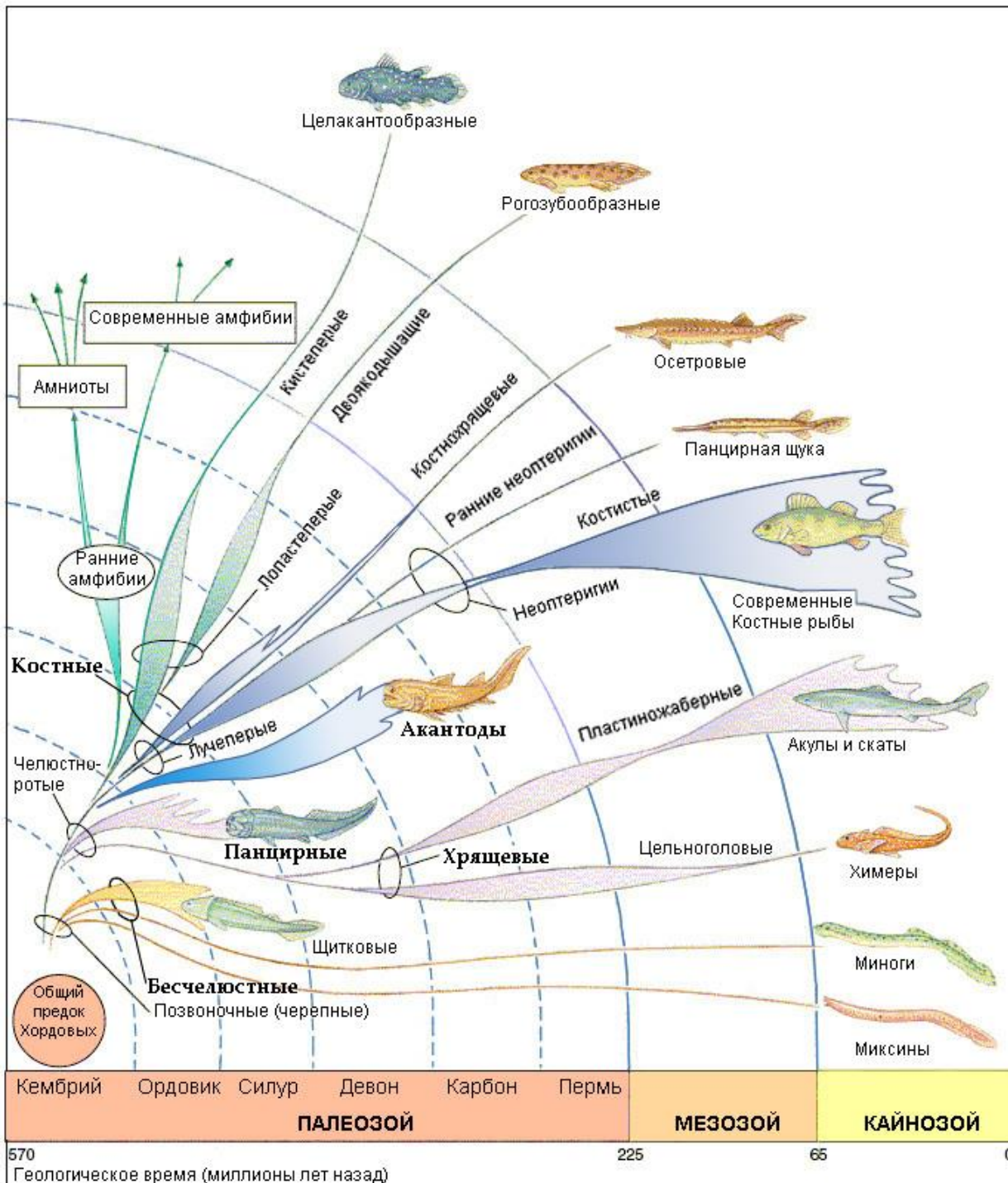


В настоящее время рыбы образуют самую представительную группу Позвоночных как по числу видов, так и по количеству особей, и 95% в ней приходится на долю Teleostei.

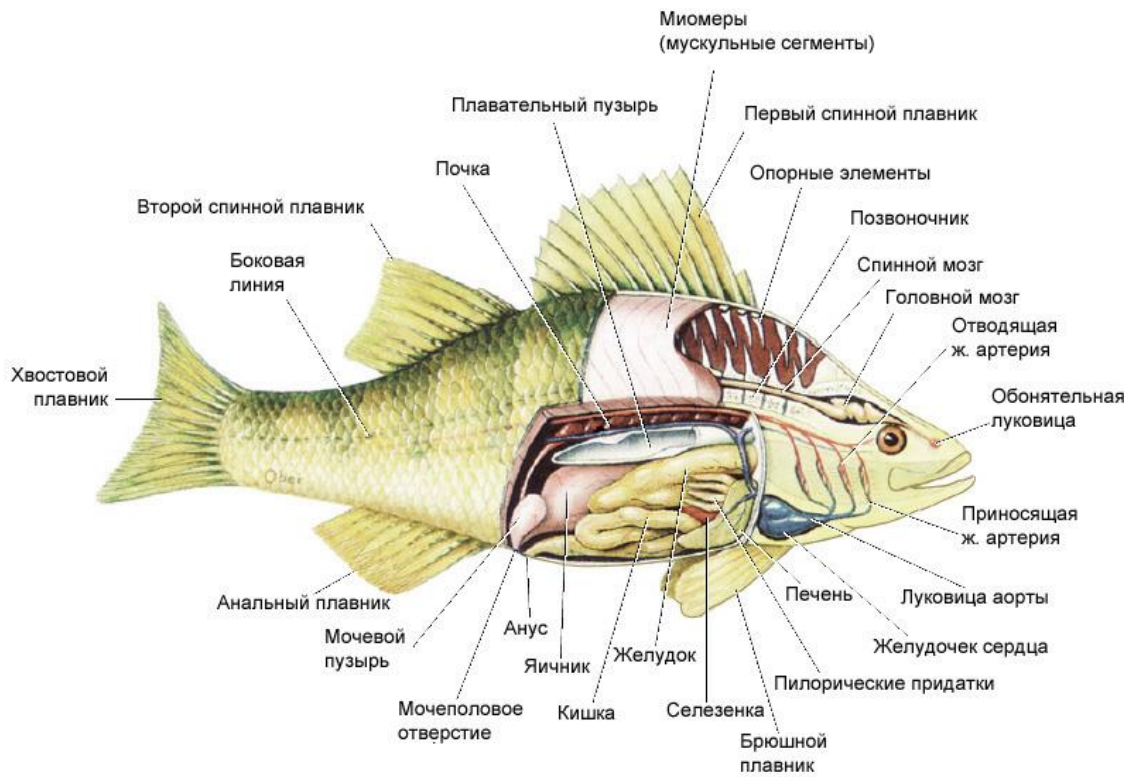
Костистые рыбы – наиболее преуспевающая группа позвоночных животных. Они широко распространены во всех акваториях земного шара, заселяя как солоноводные, так и пресноводные водоемы.

Эволюция Рыб в геологическом времени (в миллионах лет).

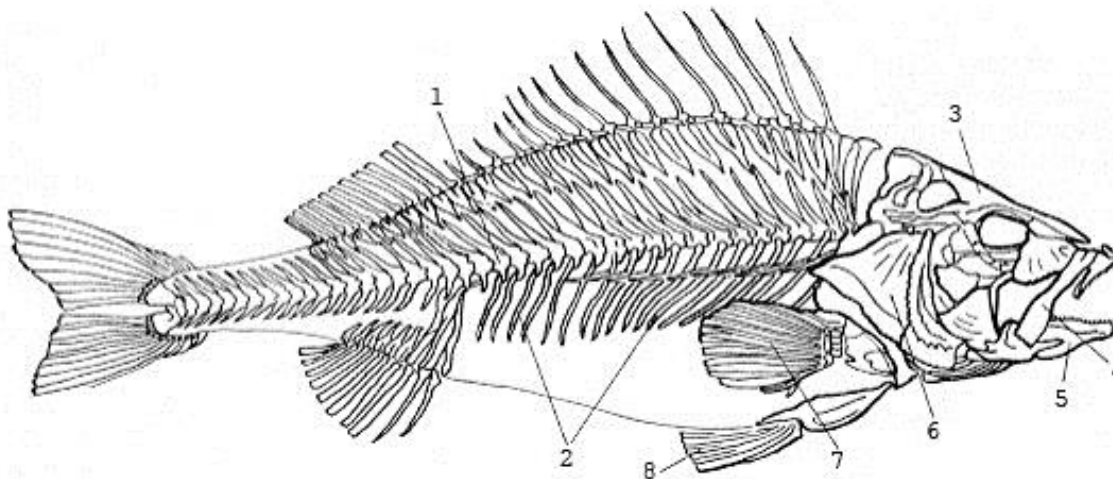
Расширения линий на схеме обозначают периоды адаптационной радиации и относительное число видов в каждой группе. Рыбы принадлежат к группе челюстноротых (Gnathostomata), которая, возникнув в *ордовике*, разделилась в *силуре* на несколько групп: Хрящевых, Лучепёрых, и Лопастепёрых. Кроме того, от первичных Челюстноротых в это же время отделились также и предки амфибий, которые достигли расцвета в девоне и впоследствии дали начало группе Amniota, представленной рептилиями, птицами и млекопитающими.



Анатомия костистой рыбы (Percа)



Скелет костистой рыбы (Percа)

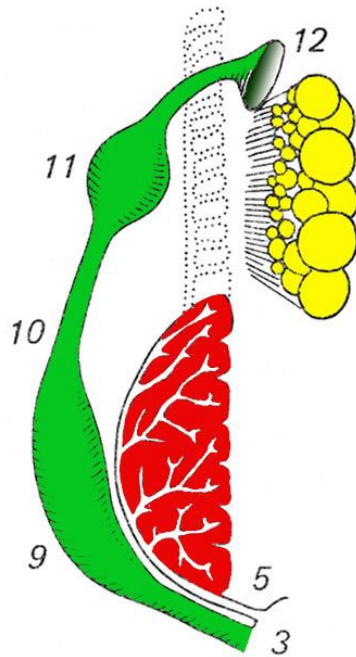


1 - позвоночник (амфицельные позвонки), 2 – ребра, 3 – лобная кость, 4 – верхнечелюстная кость (*maxillare*), 5 – большая зубная кость нижней челюсти (*dentale*), 6 – кость жаберной крышки (*operculum*), 7 – грудной плавник, 8 – брюшной плавник,

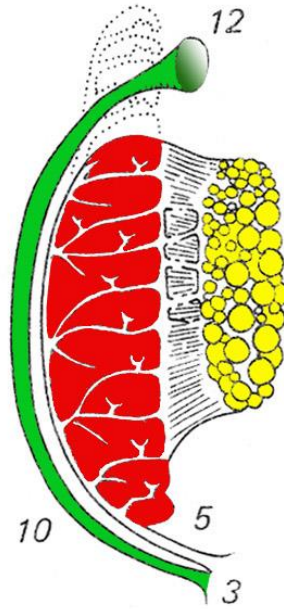
Благодаря эволюции парных грудных и брюшных плавников, поддерживаемых плечевым и тазовым поясами, резко возрастает скорость движения животных, а плавники становятся основой для формирования конечностей четвероногих. *Тело, за редким исключением, покрыто чешуей.* Дыхание осуществляется с помощью жабр эктодермального происхождения с лепестками, прикрепленными к наружной стороне жаберных дуг. *Отсутствие Мюллеровых протоков* создает беспрецедентный вариант организации половой системы у самок Teleostei. У большинства костистых рыб яйцеводы отсутствуют, а мешковидные яичники продолжают непосредственно в короткий канал, открывающийся наружу на мочеполовом или отдельном половом сосочке (Шмальгаузен, 1947).

В основе одной из систем классификации яичников Teleostei лежат различия в месте локализации овулировавшего яйца. (Dodd, 1977). Различают *гимновариальные* (gymnovarian) яичники, овулирующие яйца которых выпадают в жидкость целомической полости, и *цистовариальные* (cystovarian), овуляция в них совершается в жидкость полости яичника. По другой классификации, которой придерживаются отечественные ихтиологи и некоторые эмбриологи различают яичники *открытого типа* и яичники *закрытого типа* (Макеева, 1992). Различия между этими классификациями, как кажется, заключаются только в названиях описанных вариантов. Вольфовы протоки выполняют исключительно выделительную функцию. Все сказанное определенно свидетельствует о радикальном усложнении механизмов раннего эмбриогенеза, о существенном расширении спектра морфогенетических процессов, реализуемых в онтогенезе рыб. С другой стороны, те преобразования индивидуального развития, которые произошли на этом этапе филогении, открыли новые перспективы для поступательного движения эволюции позвоночных животных, которые привели к

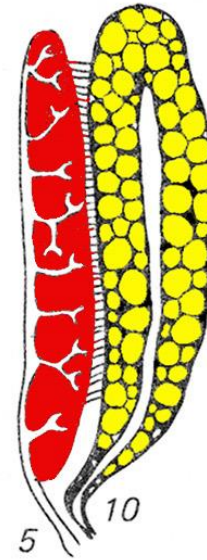
Характерные типы мочеполовой системы самок рыб



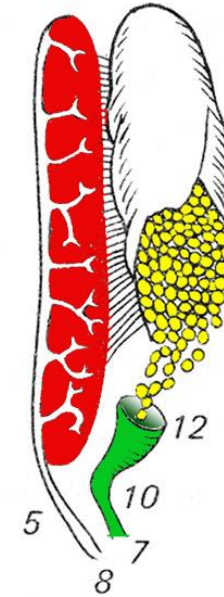
А. Акула



Б. Осетр
(Acipenser)



В. Костистая
рыба



Г. Костистая рыба
(Лосось)

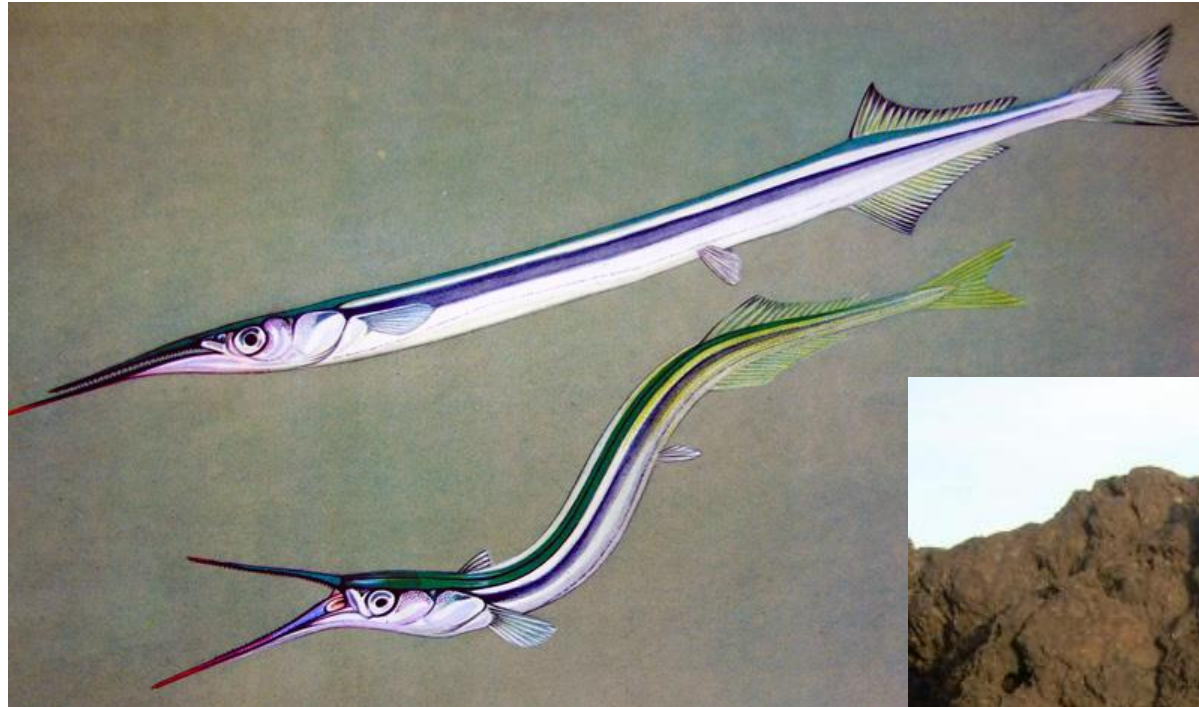
Опистhoneфрос (задняя почка современных позвоночных) показан красным цветом; *яичник* – желтым цветом; *яйцевод* (мюллеров канал) – зеленым цветом. 3 – клоака; 5 – архинефрический канал (вольфов канал) в качестве протока почки; 7 – половое отверстие, 8 – выделительное отверстие у Teleostei; 9 – «матка»; 10 – яйцевод; 11 – скорлуповая железа; 12 – открытая воронка яйцевода.

возникновению новых классов животных – амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих.

О третьей дупликации. 350 млн. лет назад в линии Лучеперых, ведущей к Костистым рыбам, произошла третья дупликация, которая привела к образованию 8 копий анцестрального генома Вторичноротых. Таким образом, у древних Лучеперых, у Лопастеперых рыб и Четвероногих позвоночных величина генома по сравнению с Костистыми рыбами оказалась в 2 раза меньше. *Можно думать, что именно сложность генома Костистых рыб и появление дополнительного генетического ресурса стали причиной их экстраординарного эволюционного успеха, проявившегося, в частности, в исключительном биологическом разнообразии, демонстрируемым на всех уровнях онтогенеза.*

Широчайший ареал обитания. Костистые рыбы заселяют практически все акватории земного океана (соленоводные и пресноводные) и все уровни от поверхностных слоев (*пелагические виды: Mola tola, Сарган, Belone belone*) до очень больших глубин (*глубоководные виды*). *Придонные виды Рыбы придонных «лесов»:*

Разнообразие в мире рыб



Рыбы океанской пелагиали

Обыкновенный сарган (*Belone belone*) – стайная хищная, очень быстрая и сильная, несмотря на скромные размеры (до 90 см и веса 1,5 кг), рыба



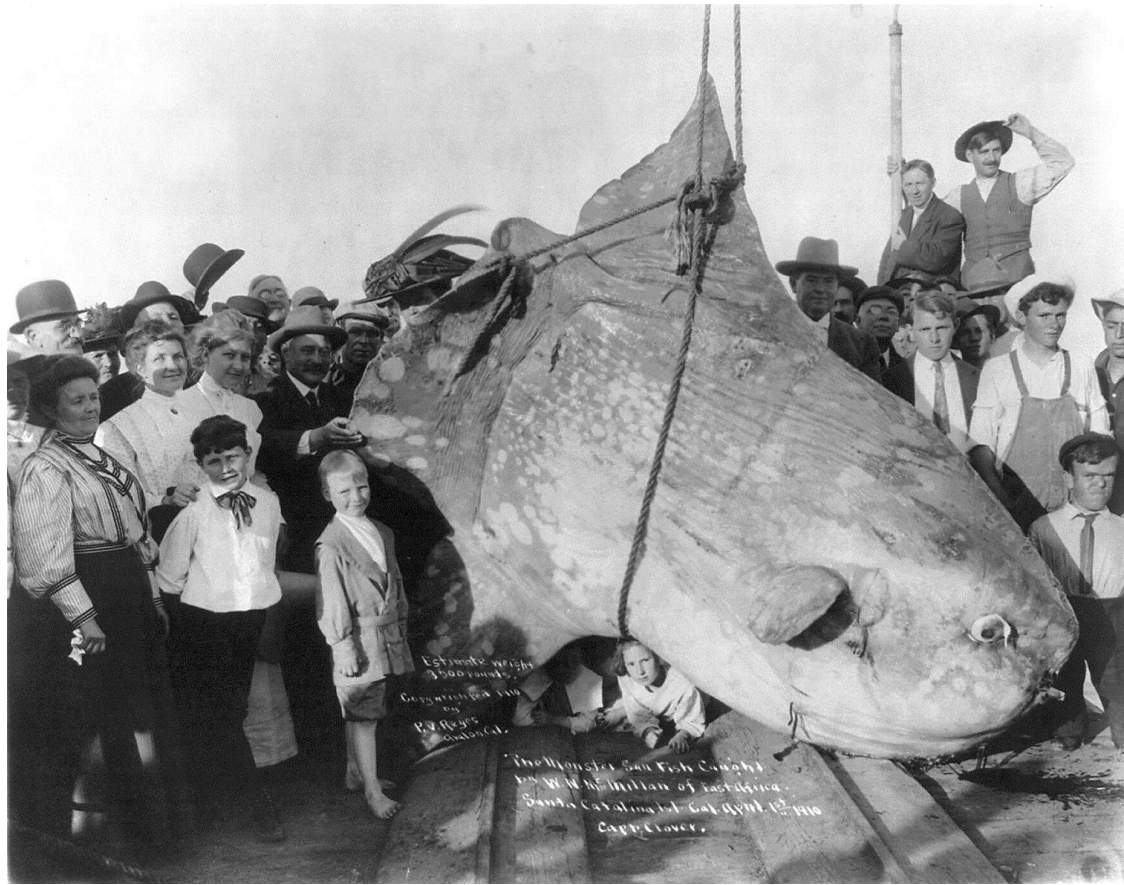
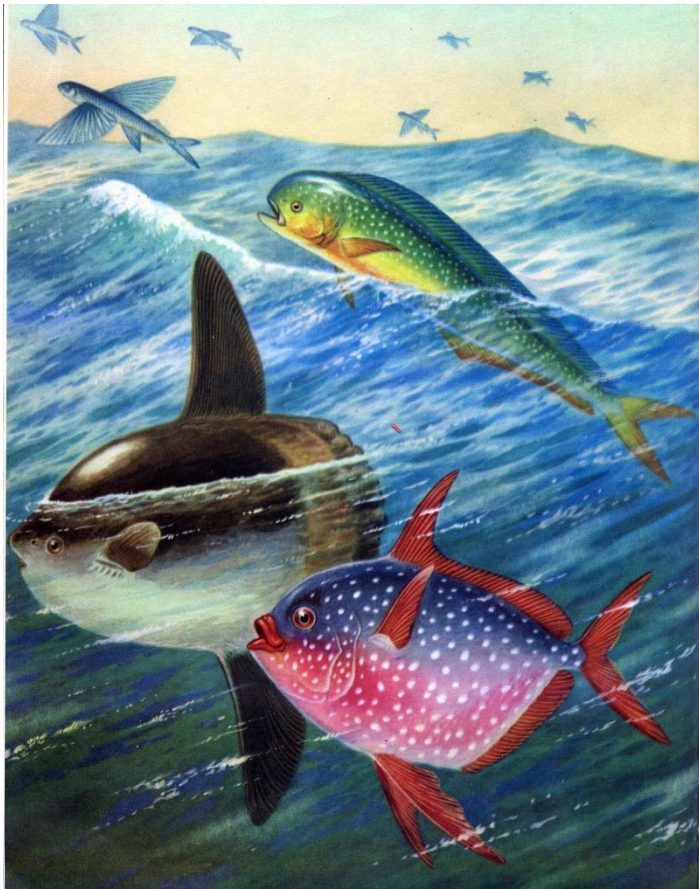
Разнообразие в мире рыб



Рыбы придонных «лесов»: морские иглы (*Syngnathus sp.*) и морские коньки (*Hippocampus sp.*).

Для представителей этих групп характерна особая форма заботы о потомстве, а именно, **наружное вынашивание** икры в кожных складках (морские иглы) или в замкнутых сумках, образующихся в период размножения на теле самца

Разнообразие в мире рыб



Рыбы океанской пелагиали (сверху вниз): летучие рыбки (*Echocoetidae*), корифена (*Coryphaena hippurus*) [до 2 м около 30 кг], луна-рыба (*Mola mola*) [более 3 м в длину и весом свыше 1500 кг], рядом - опак (*Lampris regius*) [до 2 м в длину и весом 250-300 кг]. На фото справа 1908 г выловленный в акватории Сиднея экземпляр *Mola mola* имел длину 4,26 м и вес 2235 кг

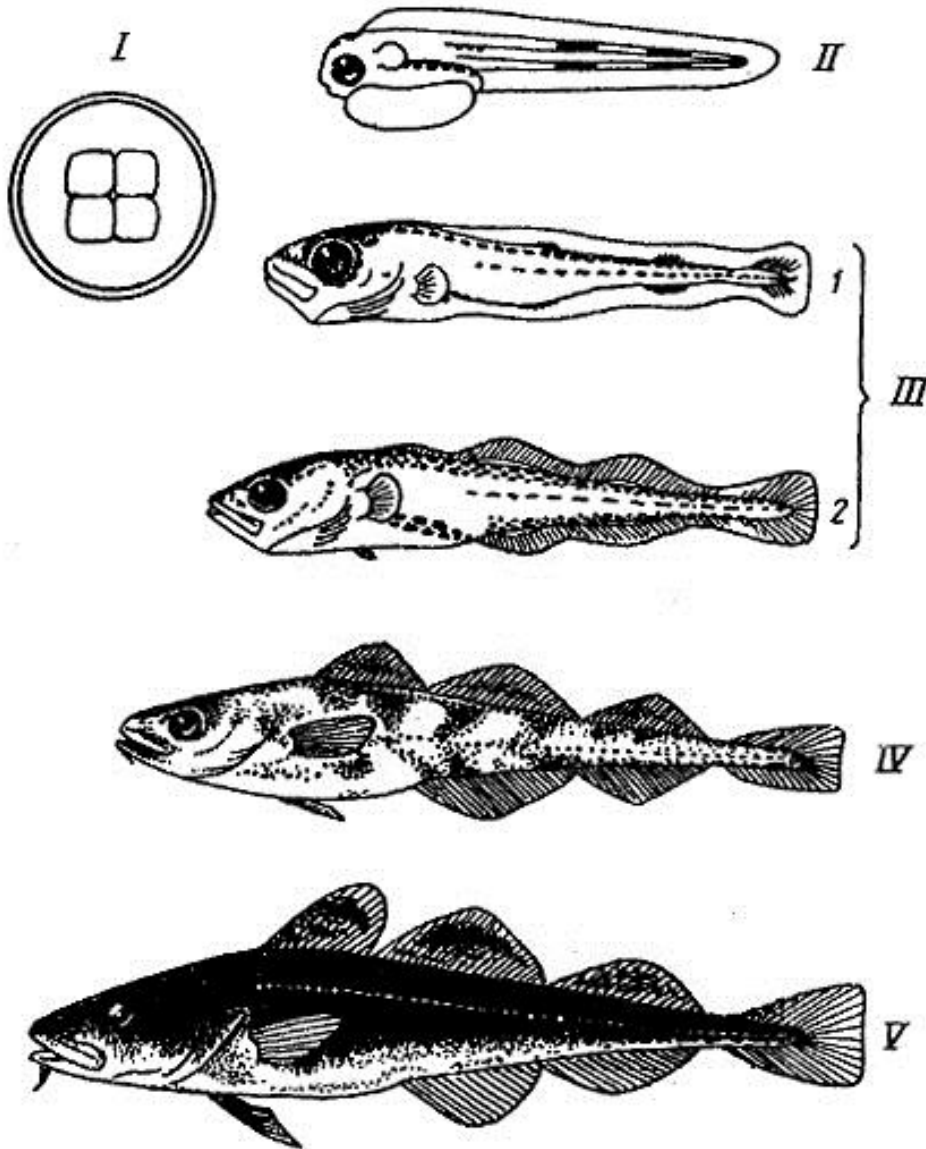
Жизненный цикл Костистых рыб. Непрямое (личиночное) развитие. Главная особенность этого периода – постепенный характер изменений, важным компонентом которых является рост. Предличинка, ранняя личинка, поздняя личинка, *малёк*. Критическим моментом в развитии личинки является *переключение с эндотрофики на экзотрофику*. Следует отметить большое разнообразие самых невероятных форм личинок.

Репродуктивные стратегии и формы заботы о потомстве у Teleostei. Костистые рыбы в массе своей – типичные выразители энергоемкой многозатратной т.н. экстенсивной репродукционной стратегии «г». Примером репродуктивной стратегии этого типа может служить биология размножения океанической луна-рыбы (*Mola mola*). Самки этой, имеющей странную форму тела, рыбы выметывают за один раз огромное количество икры (до 300 млн. яиц).

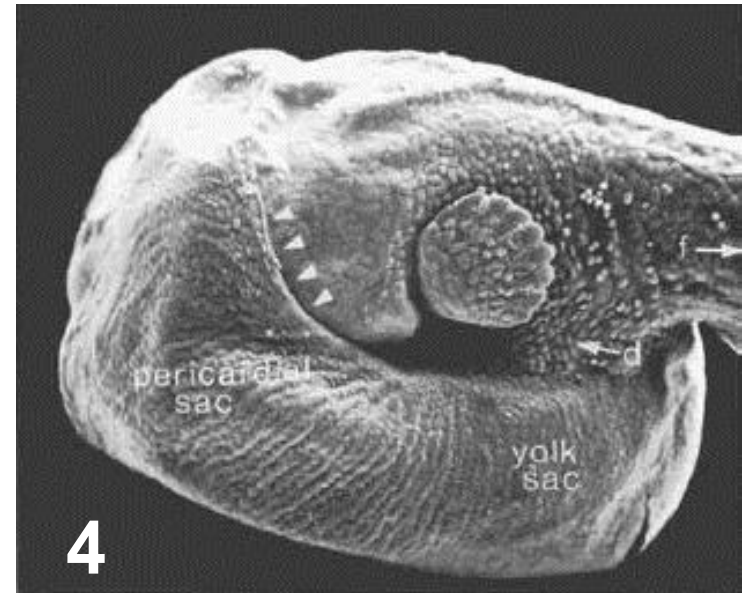
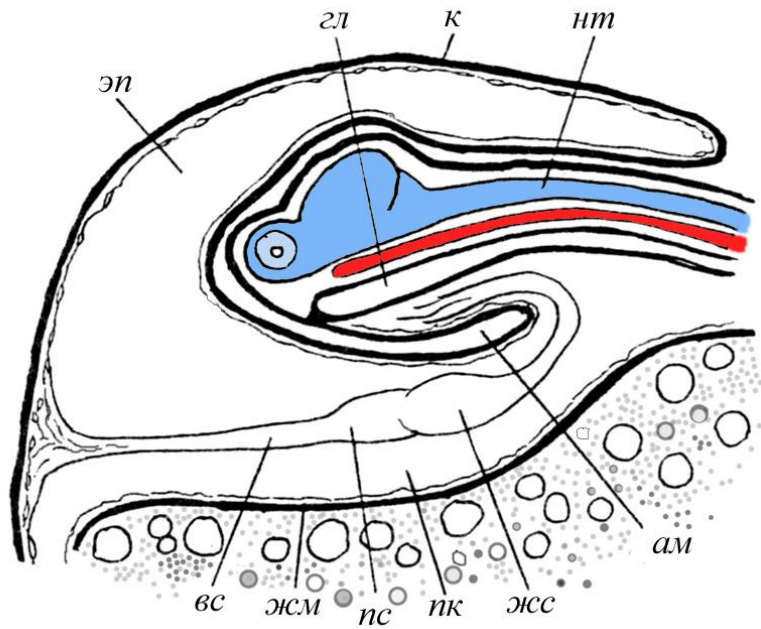
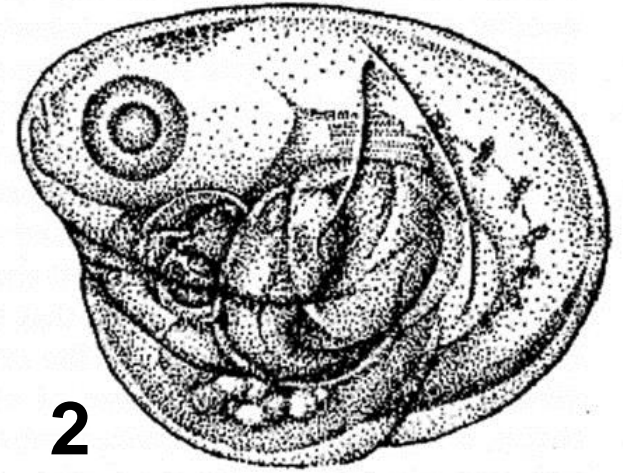
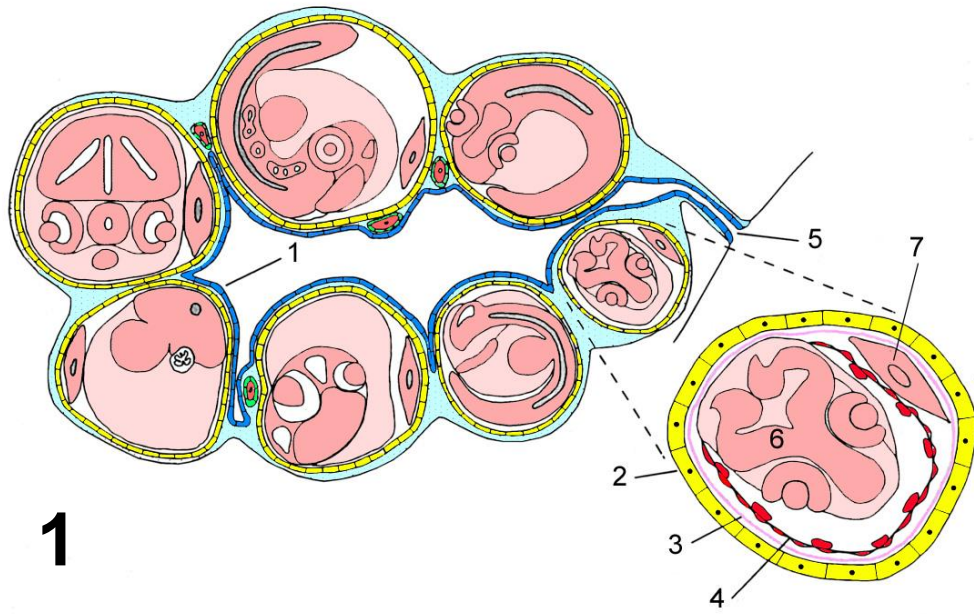
Разные формы «заботы о потомстве» существенно изменяют эффективность репродуктивной стратегии. Использование «внешних инкубаторов» (горчак, карепрокт). В некоторых случаях надежным инкубатором служит родительское тело (складки на коже; котилефоры; вынашивание в передних отделах пищеварительного тракта). Выраженный инстинкт охраны гнезда с развивающейся икрой (*трехиглая колюшка*).

Живорождение у Костистых рыб. Живорождение у Teleostei не столь распространено по сравнению с Chondrichthyes. Живорождение обнаружено у представителей 5 отрядов в 13 семействах. Наиболее широко живорождение представлено в отряде Карпозубообразных (Cyprinodontiformes).

Жизненный цикл трески, *Gadus morhua*



- I. Эмбриональный период.** Развитие происходит в яйцевых оболочках при эндогенном питании за счет желтка
- II. Зародыш вскоре после вылупления (предличинка).** Свободно плавающий зародыш характеризуется наличием остатков желточного мешка, непарной плавниковой складкой
- III. Личинка:** наличие личиночных органов, продолжается от резорбции желтка до метаморфоза
- IV. Малек 1.** Исчезновение личиночных органов
- V. Малек 2.** Приобретение черт строения взрослого организма, усиленный рост.



Пояснение к предыдущему слайду.

- (1) Схема разреза фрагмента яичника беременной *Heterandria formosa* с зародышами в фолликулах. 1 – внутренний эпителий яичника; 2 – фолликулярный эпителий; 3 – яйцевая оболочка; 4 – абсорбирующая поверхность эмбриона; 5 – половое отверстие; 6 – головной мозг зародыша; 7 – хвост зародыша; 8 – полость (просвет) яичника
- (2) Яичник беременной самки из Пециллид, содержащий шесть эмбрионов на разных стадиях развития. Маленькие сферы в основании яичника эмбрионы на самых ранних стадиях развития (для характеристики выраженности матротрофии).
- (3) Передний конец зародыша Платипецилии (*Platypocilus maculatus*). *ам* – «амниотическая полость»; *вс* – венозный синус; *гл* – глоточный отдел кишки; *жс* – желудочек сердца; *жм* – желточный мешок; *к* – «капюшон»; *нт* – нервная трубка; *пк* – перикардальная полость; *пс* – предсердие; *эпк* – экстраэмбриональный перикард. **Красным цветом обозначена хорда**.
- (4) На фото представлен зародыш *Heterandria formosa* на поздних стадиях развития. Можно видеть, что задний край (наконечники стрелок) перикардального мешка начинает отступать от стенок тела зародыша.

Живорождение оказывается возможным только при определенных обязательных адаптациях, затрагивающих строение некоторых частей тела. Например, самцы всех живородящих КР имеют своеобразное приспособление для доставки мужских половых продуктов в половую систему самки – *гоноподий*. Гоноподий в эволюции возник на основе анального плавника, свернутого в трубку. Можно назвать и другие приспособления, связанные с транспортировкой половых продуктов самцов КР, например, *сперматофоры* – пакеты спермы, покрытые специальными оболочками или *спермозегму* – агрегаты эякулированных спермиев, лишенные каких-либо наружных оболочек (капсул) в специальном отделе клоаки самки.

В силу анатомических особенностей организации репродуктивной системы у самок Костистых рыб вынашивание при живорождении может происходить только в яичнике. Если развитие молодежи полностью протекает в фолликуле с образованием или разрастанием в зародыше специализированных обильно снабженных сетью кровеносных сосудов структур, адсорбирующих поступающие через фолликулярный слой питательные субстанции из крови самки («*фолликулярная плацента*»), то такое живорождение называют ***фолликулярной вивипарией***. У некоторых видов развивающиеся зародыши на определенной стадии покидают фолликул, и их дальнейшее личиночное развитие совершается в полости яичника (***овариальная вивипария***). После истощения запасов желтка питание происходит или путем диффузии специальными абсорбционными органами (типа *трофотений*) выделяемых в полость яичника питательных веществ из кровяного русла самки, или в результате поступления питания в кровеносную систему личинки (малька) через специальные выросты стенки яичника.

ЗРЕЛЫЕ ГАМЕТЫ

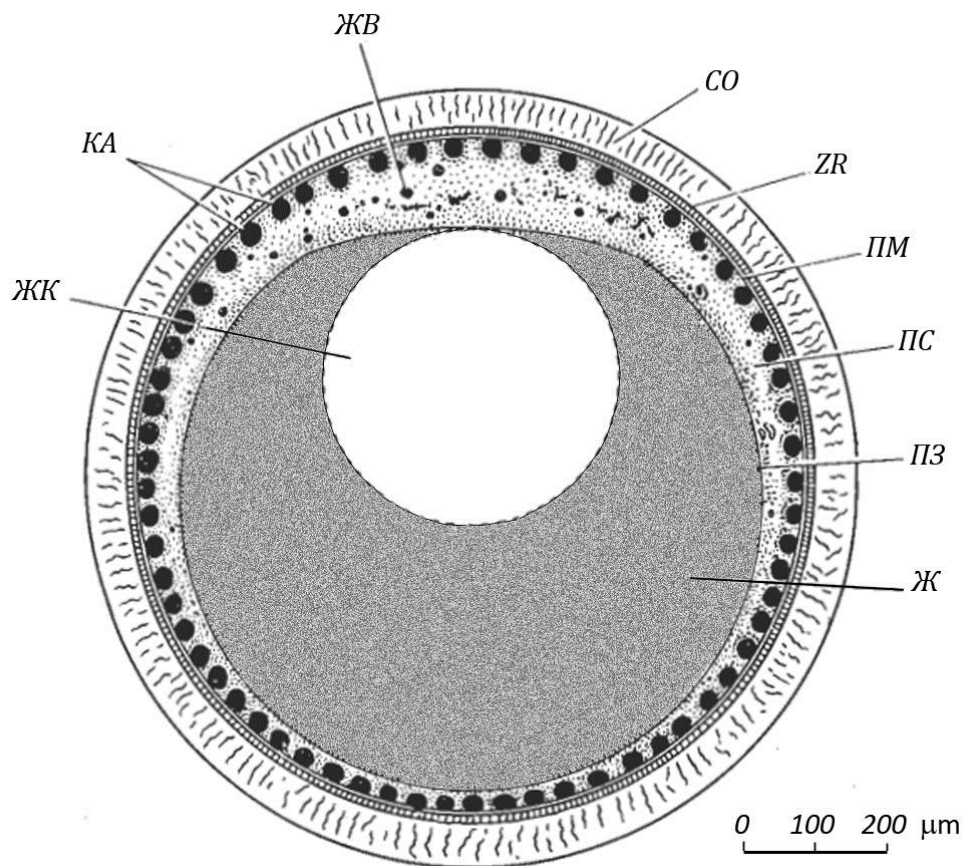
оплодотворение

Зрелая яйцеклетка. Полилецитальные яйца костистых рыб обычно обособленножелткового (телолецитального) типа содержат, как правило, много желтка, количество которого определяет размер икринки. Размеры зрелых яйцеклеток значительно различаются у разных видов (например диаметр у *Danio rerio* 0,73-0,75 mm, а у хорошо известного дальневосточного лосося *Oncorhynchus keta* – 9,1 mm). У Костистых рыб источниками желтка в основном является печень самки. В ооците желток претерпевает модификацию : *вителлогенин* ⇒ (*липовителлин* + 2 *фосвитина*). В яйцеклетке желток может находиться в разной консистенции: либо в виде *гранул*, либо в виде *пластинок* или представлять сплошную желточную массу (*ихтулин*). В яйцеклетках хорошо прослеживается градиентная *анимально/вегетативная поляризация* по разным параметрам желточного содержимого. У всех Костистых рыб овуляция ооцита совершается на стадии метафазы II.

По взаимоотношению с окружающей средой различают два типа яиц: ***пелагическое*** (плавающее) с присутствием липидной глобулы (глобул) и ***демерсальное*** (донное).

Строение зрелой яйцеклетки: (см. слайд 23). В яйцеклетке можно видеть: *слой свободной цитоплазмы, цитоплазматический матрикс, кортикальный слой, кортикальные гранулы, слой пигмента (если пигмент имеется), зародышевый пузырек* (ядро яйцеклетки). Яйцевые оболочки: Зрелое яйцо одето полупрозрачной светопреломляющей оболочкой, пронизанной канальцами на одинаковом расстоянии друг от друга. Канальцы - места расположения *микроворсинок* ооцита и фолликулярных клеток, с помощью которых ооцит assi-

Зрелая яйцеклетка Костистой рыбы

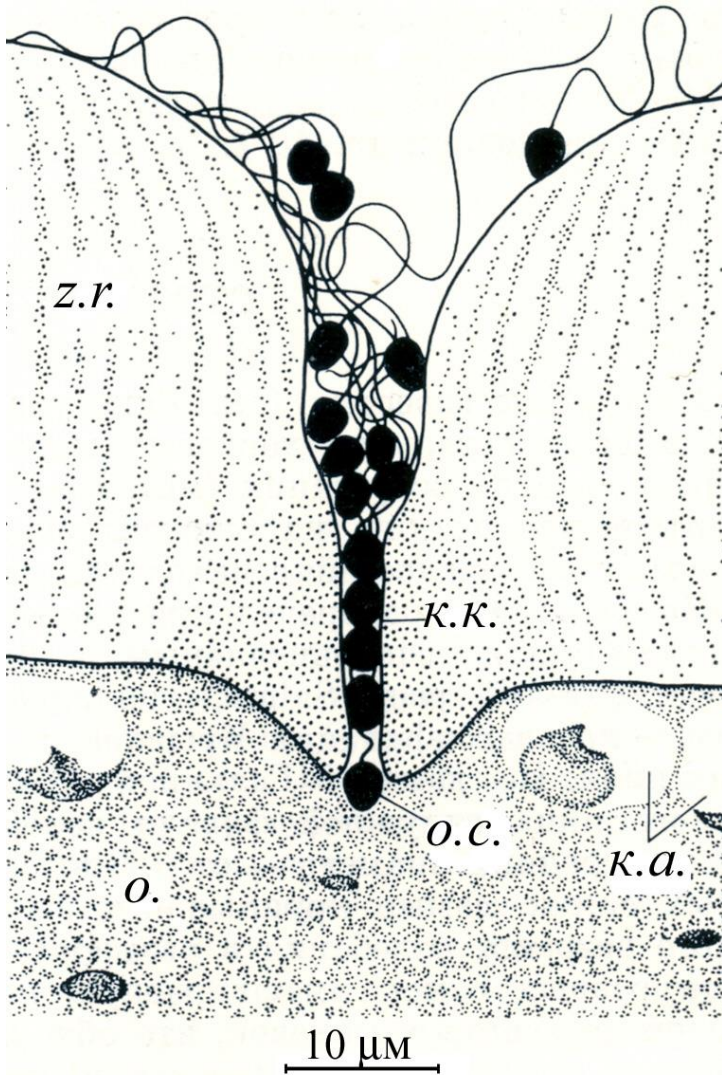


Яйцо окуня (*Perca fluviatilis*) относится к классу пелагических (плавающих) яиц. Для обеспечения плавучести такие яйца содержат одну или несколько жировых капель (ЖК). Обозначения:

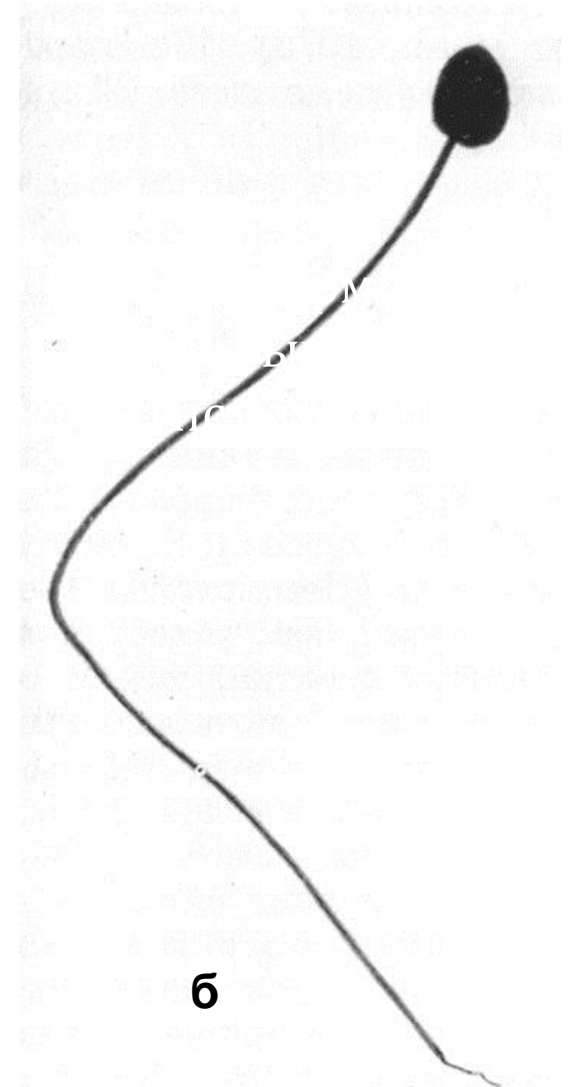
ка – кортикальные альвеолы; ж – желток; жв – желточные включения; пз – пограничная зона; пм – плазматическая мембрана яйцеклетки; со – студенистая оболочка; zr – *zona radiata*

(по Thomopoulos, 1953)

Микропиле и сперматозоиды в яйце костистой рыбы



а



б

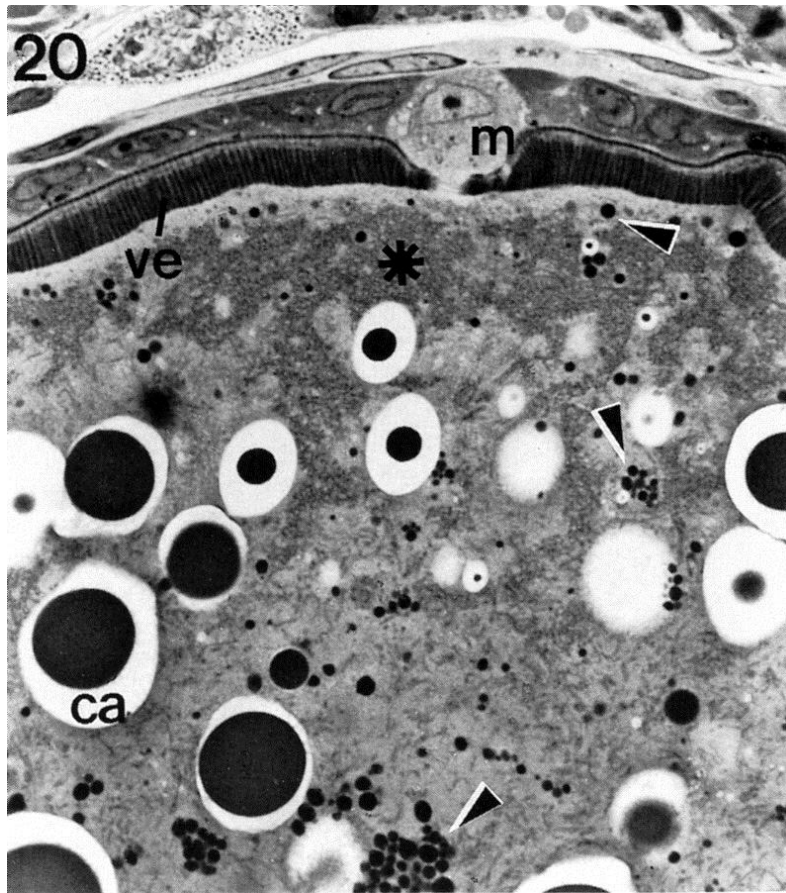
ассимилирует питательные вещества из пространства между плазматической мембраной ооцита и фолликулярным эпителием. Регулярное расположение этих канальцев придает желточной оболочке вид радиальной исчерченности. Этим и объясняется ее название - *zona radiata*. Над *zona radiata* располагается тонкая *студенистая оболочка* - продукт деятельности клеток фолликулярного эпителия. Студенистая оболочка может обладать клеящими свойствами и обеспечивать прикрепление икринки к водному грунту.

Микропиле. На анимальном полюсе *zona radiata* имеет 1 микропиле - воронкообразное углубление, открывающееся в цитоплазму *концевым канальцем*, диаметр которого соответствует ширине головки спермия. Воронка микропиле представляет собой отпечаток особой микропилярной клетки из числа фолликулярных, отпавшей в ходе овуляции.

Спермии костистых рыб. В спермиях изученных видов *Костистых рыб акросома не обнаружена* (Гинзбург, 1968).

Осеменение, оплодотворение. Подавляющее большинство Костистых рыб раздельнополы и лишь немногие (морские окуни и дорады) являются гермафродитами, но мужские и женские половые продукты созревают у них в разное время, что исключает возможность самооплодотворения. У большинства костистых рыб осеменение наружное, исключая живородящих, у которых оплодотворение происходит, как правило, внутри яичника. У всех Костистых оплодотворение моноспермное.

Образование микропиле в раннем вителлогенном фолликуле *Danio rerio*

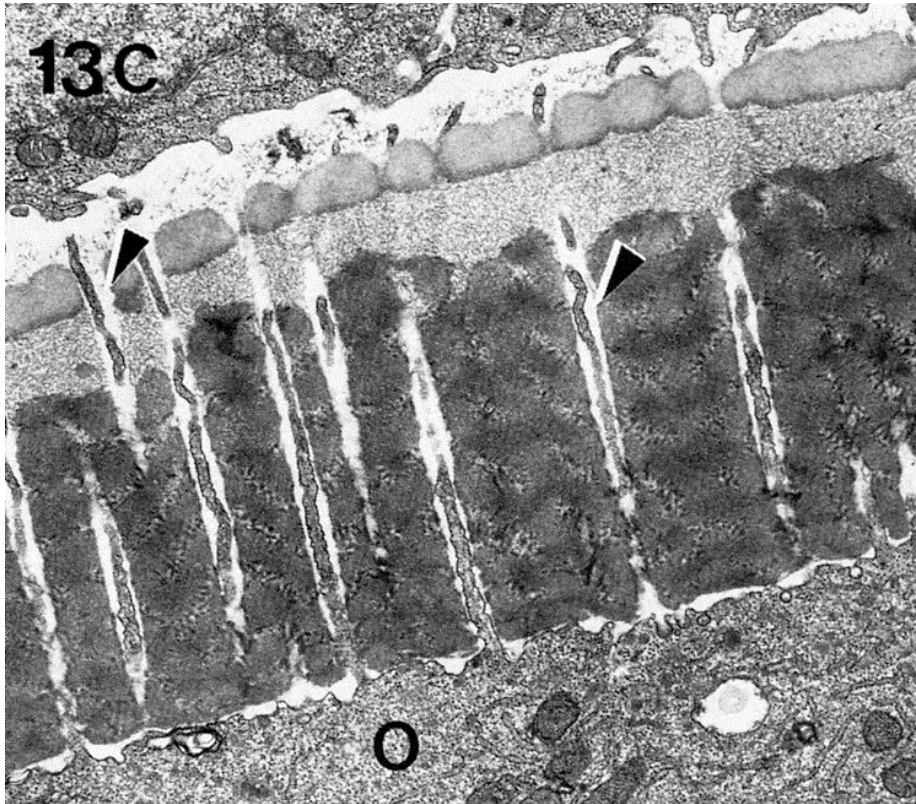


На анимальном полюсе *вителлиновая оболочка* имеет воронкообразное углубление, открывающееся в ооплазму, в котором находится особая микропиллярная клетка (m) из числа фолликулярных. Микропиле представляет собой отпечаток этой клетки, отпавшей в ходе овуляции. ca – кортикальные альвеолы; ve – вителлиновая (желточная) оболочка

По Selman et al. (1993)

Яйцевые оболочки яйцеклетки

Danio rerio



Зрелая яйцеклетка одета полупрозрачной (иногда абсолютно прозрачной) светопреломляющей желточной оболочкой (*zona radiata*). Эта оболочка пронизана канальцами. Канальцы представляют собой отпечатки микроворсинок ооцита, собственно, и клеток фолликулярного эпителия (наконечники стрелок).

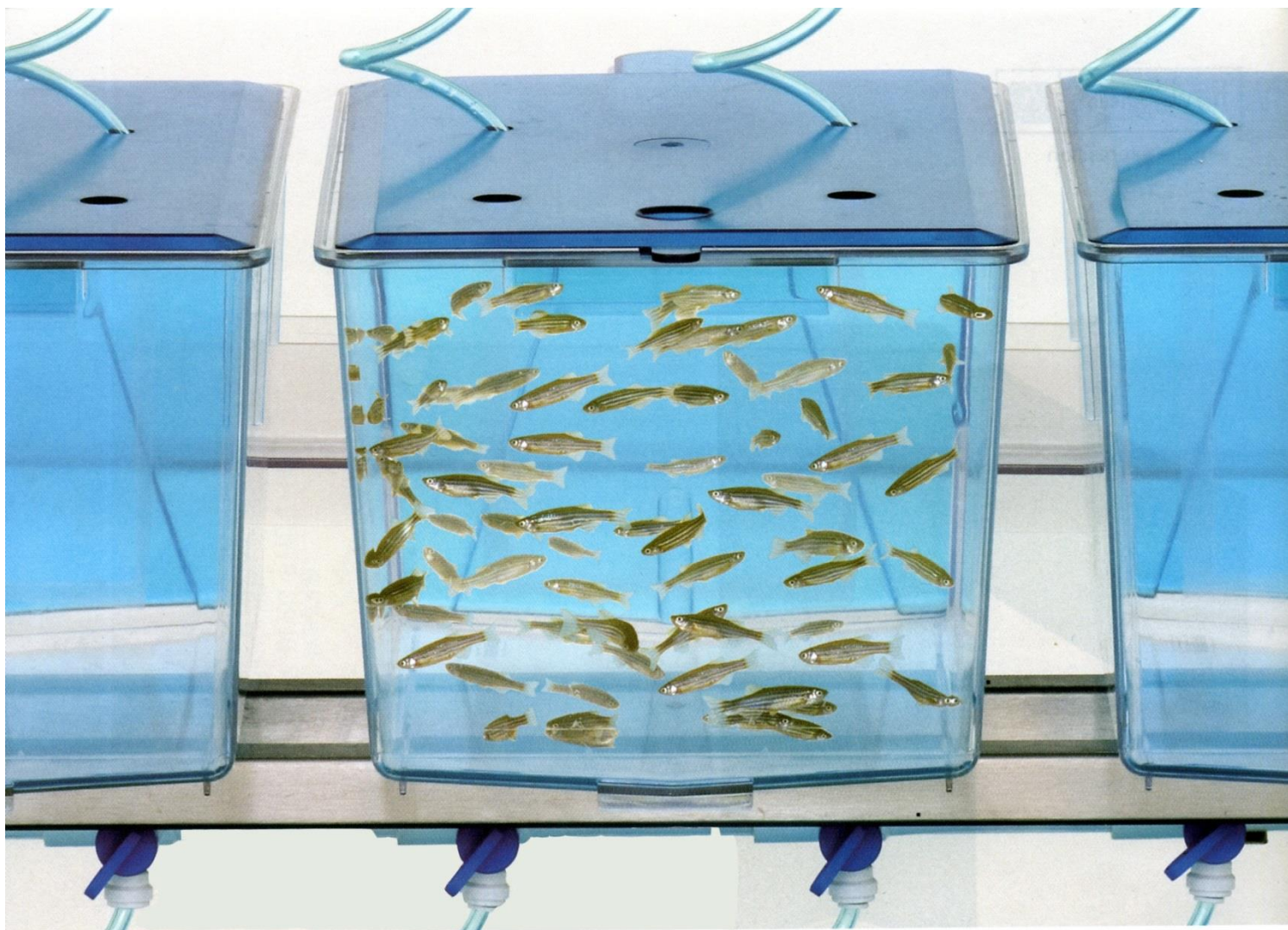
По Selman et al. (1993)

“Drosophila” в мире позвоночных



В последние 40 лет в исследованиях эмбриологии позвоночных всё чаще предпочтение отдаётся изящной полосатой рыбке *Danio rerio* (отряд Cypriniformes, сем. Cyprinidae), известной под названием «рыба-зебра» (zebrafish). Благодаря легкости культивирования и получения массового материала, быстрой наступления репродуктивного периода (около трёх месяцев), высокой скорости эмбрионального развития и возможности получения гаплоидного потомства (что облегчает его генетический анализ), прозрачности зародыша (удобство для микроскопирования и киносъёмки), zebrafish сейчас является одним из наиболее популярных объектов биологии развития позвоночных животных. Для этого вида описано большое количество мутаций, часть которых прямо затрагивают ход эмбриогенеза, что позволяет использовать *Danio rerio* в качестве модельного объекта генетики развития. Более того, Данио является первым позвоночным, для которого был предпринят интенсивный мутагенез. Путём обработки производителей мутагенами и селективного разведения потомства исследователи обнаружили тысячи мутаций генов, нормальное функционирование которых имеет критическое значение для развития Данио. Традиционный метод генетического скрининга (аналогичный широкомасштабному скринингу на *Drosophila*), позволяет выявлять дефекты развития на уровне отдельных групп клеток. Наконец, сходство программ развития у всех позвоночных определило важное место Данио в исследованиях генов, которые оперируют в эмбриогенезе человека. Известно, что зародыши Данио проницаемы для небольших молекул, вносимых в окружающую их водную среду. Это позволяет

тестировать многие вещества, которые могут оказаться вредными для развития позвоночных животных и человека. Учитывая все эти исключительные свойства Данио, многие специалисты биологии развития, полагают что, благодаря этой рыбке, можно получить детальную характеристику развития позвоночных.

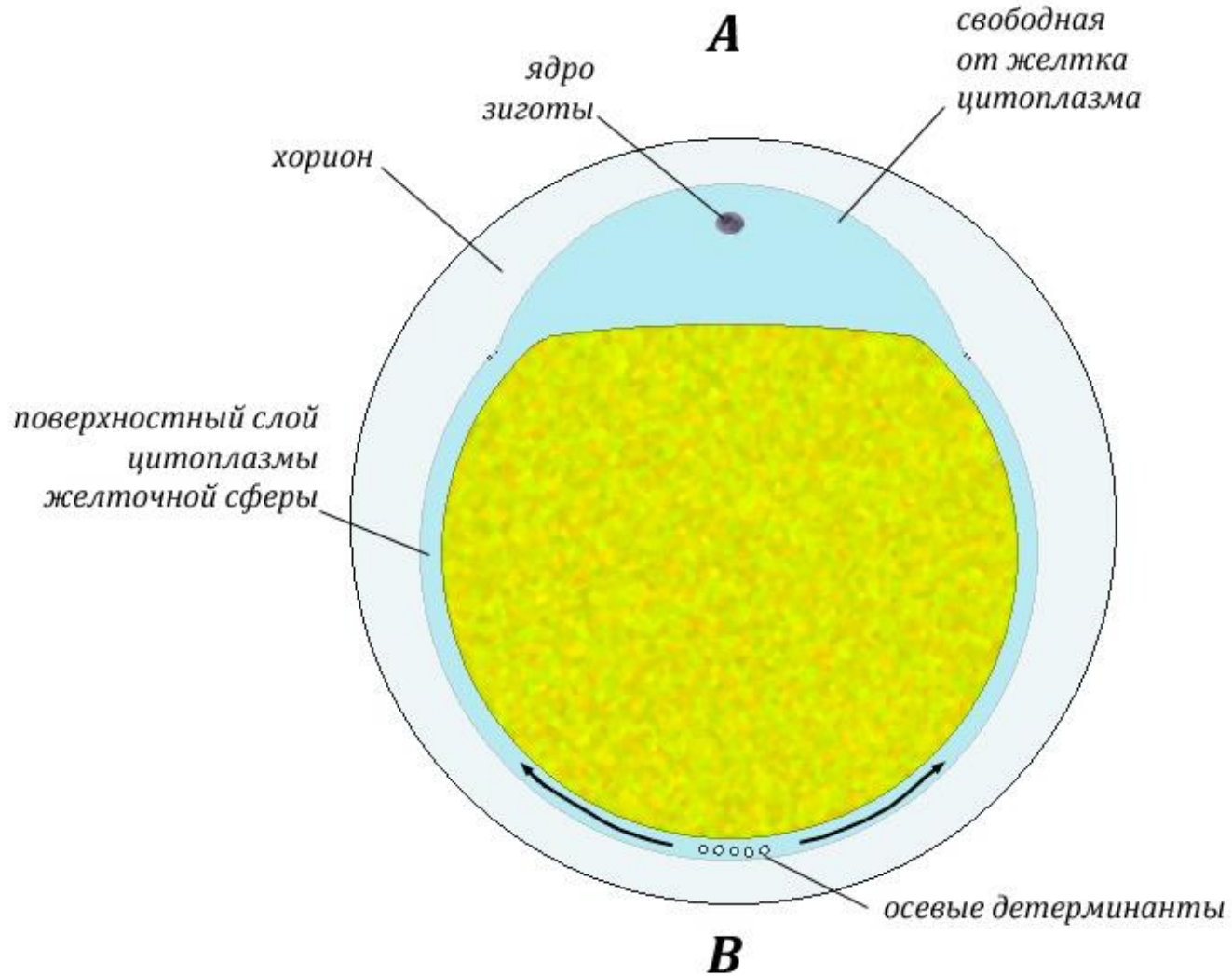


Оплодотворение вызывает кортикальную реакцию, видимым проявлением которой является отставание от поверхности оолеммы яйца желточной оболочки и образование перивителлинового пространства, разделяющего наружную (хориальную, хорион) и внутреннюю (вителлиновую) мембраны. Последняя у *Danio rerio* представляет собой гомогенный гранулярный слой, покрывающий поверхность яйца. Она выполняет функцию избирательно проницаемой мембраны.

Для Teleostei характерен меробластический тип развития. Высокий уровень организации органов чувств, появление челюстей, резкое усиление двигательной активности и развитие хищничества – все это и многое другое создало у костистых рыб совершенно *новые возможности накопления энергии*, приведшие, в частности, к существенным видоизменениям оогенеза. Отмеченная уже у Круглоротых интенсификация вителлогенеза в полной мере проявилась у Костистых рыб, в ооцитах которых запасается исключительно большое количество желтка. С этим связано появление целого ряда *особенностей эмбриогенеза* КР, которые отсутствовали у низших хордовых. В ходе эволюции рыб несколько раз независимым образом возникало меробластическое дробление. Большая часть Костистых рыб имеет дискоидальный тип дробления, при котором формирование зародыша происходит лишь в анимальном полушарии, тогда как в вегетативной области сосредоточен инертный желток.

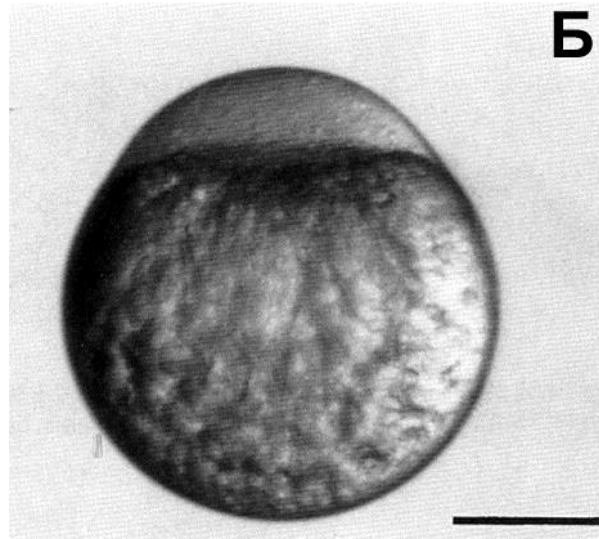
Нельзя не заметить вместе с тем, что наблюдаемые у рыб интенсификация и изменение характера вителлогенеза, сделав шаг по пути автономизации эмбриогенеза и отделив время перехода зародыша на активное питание, имели существенные филогенетические последствия, поскольку стали одной из важных предпосылок выхода позвоночных на сушу. Другим важным новшеством эмбриогенеза, сопряженным с дифференциацией яйцеклетки на две области, одна из которых предназначалась для сохранения энергетических запасов, было возникновение механизма ассимиляции этих запасов. В эмбриогенезе рыб появляются внезародышевые структуры, предназначенные для сохранения, переработки и транспортировки энергетических ресурсов. Появление таких структур и клеточного материала, непосредственно не участвующего в формировании тела зародыша, создало предпосылки для возникновения и эволюции разных форм живорождения, широко представленного в различных группах рыб и более высоко стоящих классах Позвоночных. Возникшие у рыб морфогенетические процессы и управляющие ими механизмы имели исключительное значение для эволюции всех позвоночных, включая высших Амниот.

Зигота Костистой рыбы

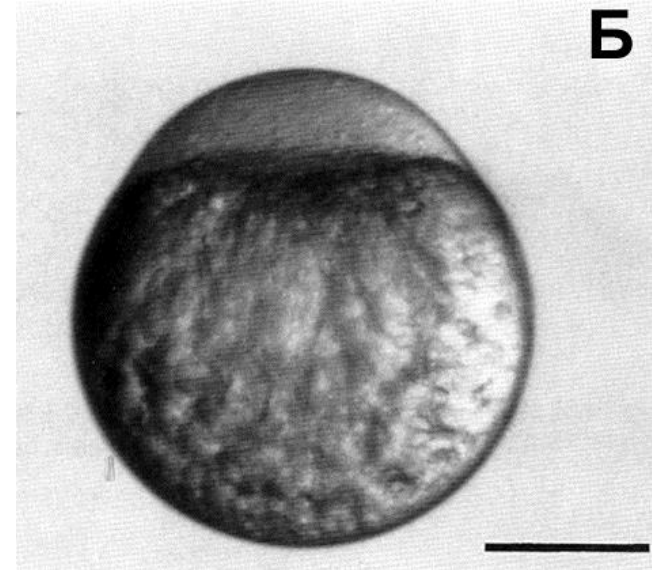
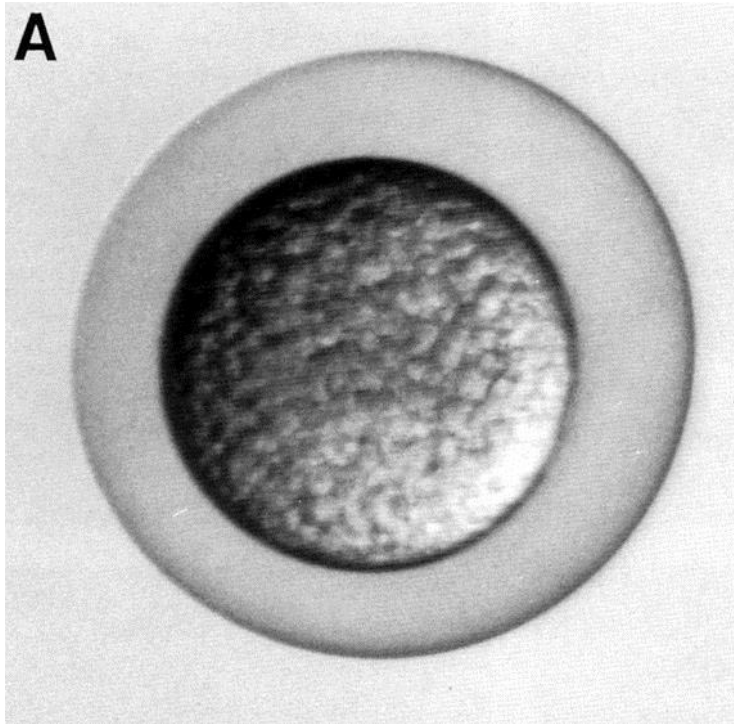


Ранние процессы в зиготе Костистых рыб.

Параллельно с образованием перивителлинового пространства начинается процесс биполярной дифференциации (*разновидность ооплазматической сегрегации*) яйца, в ходе которого в результате направленных потоков цитоплазмы из желточной массы в направлении анимального полюса почти вся свободная от желтка цитоплазма сосредотачивается на вершине яйца в виде большей или меньшей припухлости (бугорка). Так формируется *бластодиск*, в центральной части которого происходит **слияние пронуклеусов при оплодотворении**. Струйные движения цитоплазмы начинаются через 50 минут п/о и иссякают (у *D. rerio*) при 3-4 делении дробления. Предполагается, что эти потоки могут обеспечивать **перемещение гранул р-РНК** и гипотетических морфогенетических факторов, запускающих **программу дорсализации** в дробящемся бластодиске.

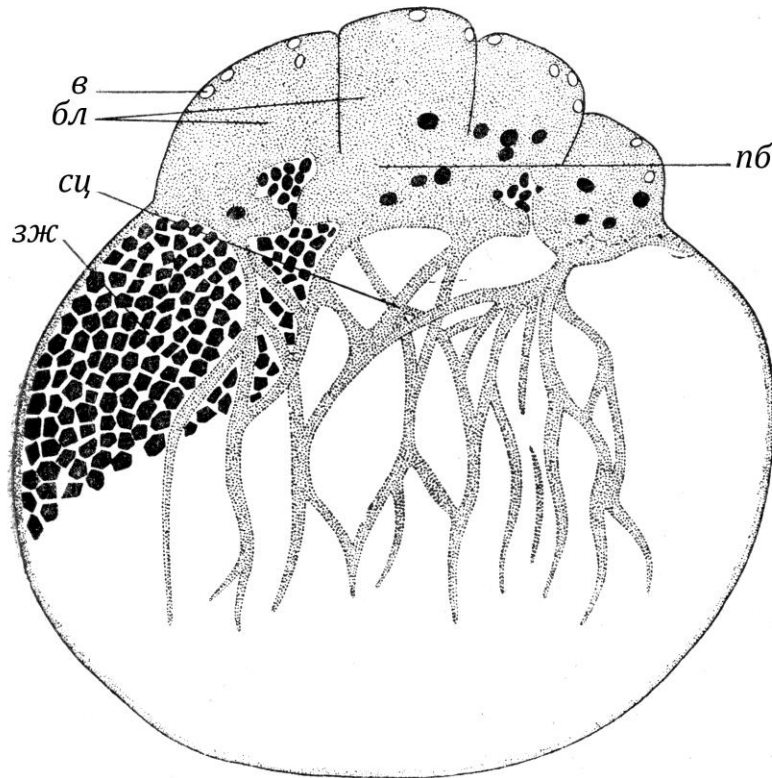


Анимально-вегетативная поляризация зиготы



Демерсальное яйцо *Danio rerio*. А: зигота в яйцевой оболочке через несколько минут после оплодотворения. Б: зигота без оболочки с анимальным полюсом наверху через 10 минут после оплодотворения. Здесь уже хорошо видно начало отмишивания свободной ооплазмы.

Струи цитоплазмы в ходе дробления у *Misgurnus fossilis*



В цитоплазме желточной сферы происходит непрерывное движение в направлении от вегетативного к анимальному полюсу. Оно начинается до дробления и продолжается на стадиях обрастания желтка бластодермой. Результатом такого струйного движения оказывается скопление свободной от желтка цитоплазмы на анимальном полюсе в виде выпуклости. На схеме показан зародыш на стадии 16 бластомер.

Обозначения: *бл* – бластомеры, *в* – поверхностные вакуоли, *зж* – зерна желтка (желточные пластинки), *сц* – сеть цитоплазмы, *пб* – подзародышевая полость.

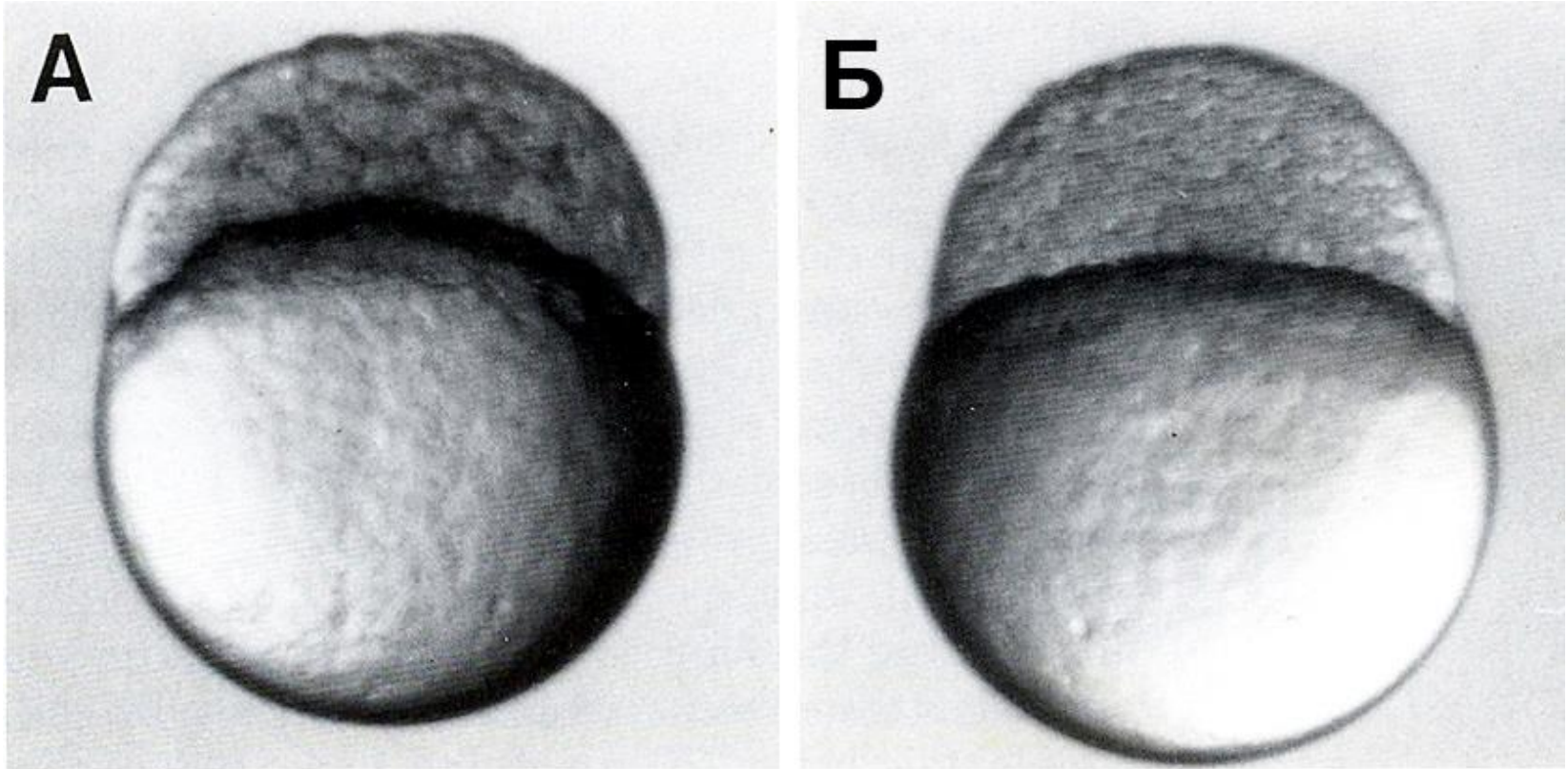
По Светлов и др. (1962)

Меробластическое дробление и бластула у Teleostei

*Первая сегрегация клеточных линий,
средне-бластульный переход,
движения обрастания желтка
(обдукция)*

Дробление неполное (меробластическое или дискоидальное). Плоскости первых пяти делений дробления ориентированы перпендикулярно поверхности бластодиска, в последующем наблюдается чередование меридиональных и *латитудинальных* (широтных) борозд, возникающих синхронно с периодом 15 минут. До 16-клеточной стадии все бластомеры вместе с желточной сферой являются частями единой системы, и весь зародыш представляет собой *синцитий* (правильнее называть его симпластом) поскольку между желтком и цитоплазмой бластомеров отсутствует плазматическая мембрана и между отдельными бластомерами поддерживается высокая коммуникабельность. Её проявлением является *синхронность клеточных делений*, которая поддерживается у *Danio rerio* в течение 9 циклов, т.е. до стадии 512 клеток. В результате дробления бластодиск преобразуется в горку бластомеров, возвышающихся над поверхностью желточной сферы. В ходе дальнейшего дробления уменьшившиеся в размерах бластомеры все более тесно располагаются в этой горке, при этом группа ранее обособившихся бластомеров концентрируется ближе к поверхности, образуя сплошной поверхностный слой, в виде купола над желтком. Клетки, составляющие основную промежуточную массу, располагаются рыхло в жидкости, заполняющей пространство под куполом. С этого момента вся клеточная совокупность зародыша называется *бластодермой*. Такая многоклеточная бластодерма на стадии 128 клеток, получила название *бластомерной бластулы* (стереобластулы).

«Стереобластула»» *Danio rerio*



Danio rerio. (A) Стадия 256 клеток. Перибласт ещё отсутствует, и нет бластоцеля. (Б) Т.н. «высокая бластула» или «бластомерная бластула» (по старой терминологии), симпласт перибласта содержит два ряда ядер

По Kimmel et al. (1995)

По мере увеличения числа клеток в зародыше происходит сегрегация трёх «клеточных линий». Раньше других обособляется слой поверхностных клеток кроющий слой. Клетки в этом слое уплощаются, а их деления совершаются только в плоскости слоя, так что, начиная со стадии 128 клеток, кроющий слой не поставляет клетки в подлежащие слои и никакого участия в формировании тела зародыша не принимает. Со временем клетки кроющего слоя дифференцируются в перидерму, покрывающую зародыш и желточную сферу. Кроющий слой и затем перидерма выполняет защитные функции, надежно изолируя развивающийся зародыш вместе с его желточным мешком.

Второй специализированной областью оказывается желточный синцитиальный слой. Этот симпласт, лежащий под бластодермой, формируется у Данио, после 9-10 деления дробления в виде кольца по краю бластодермы в результате деления краевых клеток. Во время 10 деления цитоплазма одной из дочерних клеток вместе с ядром сливается с тонким цитоплазматическим слоем желточной сферы. Так возникает желточный синцитиальный слой или перибласт – особая провизорная многофункциональная структура развивающегося яйца костистых рыб. Ядра перибласта на стадии средней бластулы проходят три митотических деления, но митозы при этом не сопровождаются цитотомией. Затем деления в желточном синцитии прекращаются, а ядра начинают увеличиваться в размерах, возможно, в связи с полиплоидизацией. Перибласт – внезародышевая структура, которая с момента своего появления выполняет

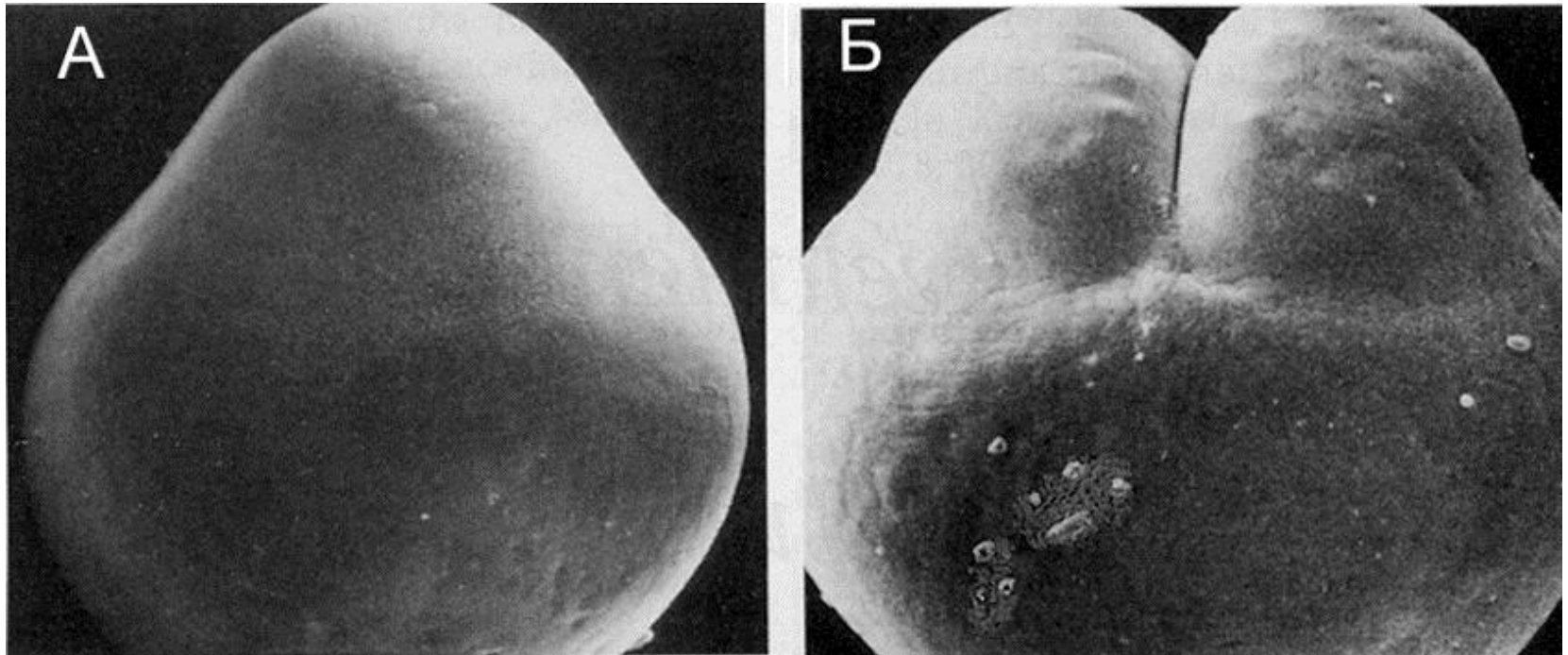
ряд важных морфогенетических функций:

1. Он выступает в качестве эквивалента «центра Ньюкупа» амфибий, влияющего на формирование «организатора» зародышевой оси в соответствующем участке зародышевого кольца.
2. Он играет роль индуктора или передатчика сигналов, индуцирующих транскрипцию ряда генов, ответственных за образование энтодермы и мезодермы из материала гипобласта.
3. На более поздних стадиях развития перибласт (или вся желточная сфера) принимает активное участие в спецификации энтодермы (пищевод, желудок, кишечник, пищеварительные железы).
4. Играет роль «движателя» процесса обдукции (эпиболии).
5. Принимает участие в ассимиляции белков желтка и поступлении их в клетки зародыша.
6. Ещё позднее он превращается в первичную выстилку желточного мешка рыб.

Третья область бластодермы представлена т.н. «глубинными клетками», составляющими самую многочисленную популяцию, из которых возникает зародыш, собственно.

Когда сформируется перибласт, зародыш костистых рыб претерпевает т.н. «средне-бластальный переход» (midblastula transition), во время которого происходит удлинение митотического цикла, сопровождающееся утратой синхронности делений, активация транскрипции (начало морфогеморфогенетической функции ядер) и приобретение клетками подвижности. Полагают, что сигналом к началу событий этой трансформации служит стабилизация ядерно-цитоплазматического отношения в клетках зародыша.

Дробление яйцеклетки Костистой рыбы

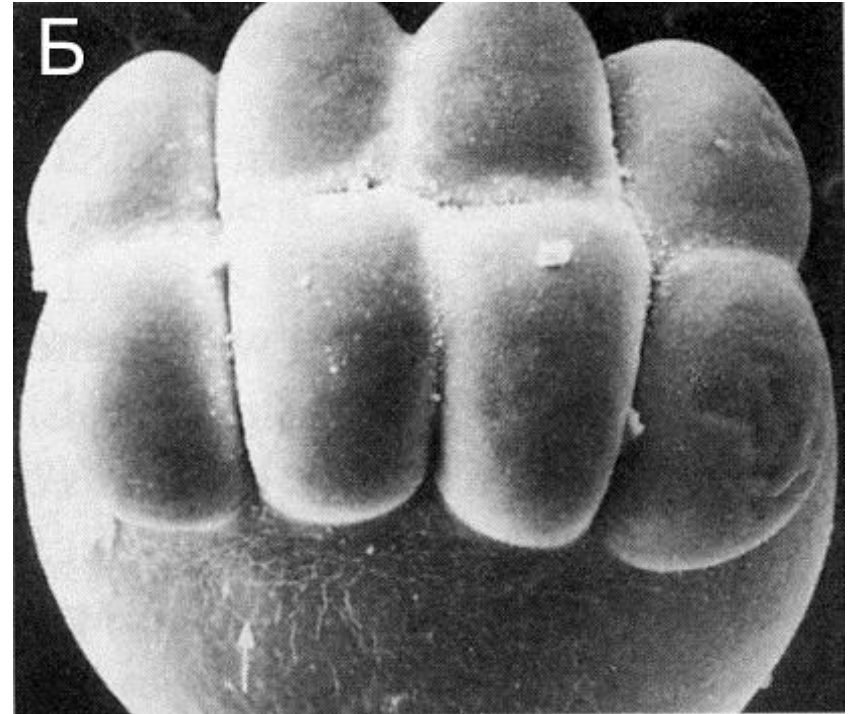
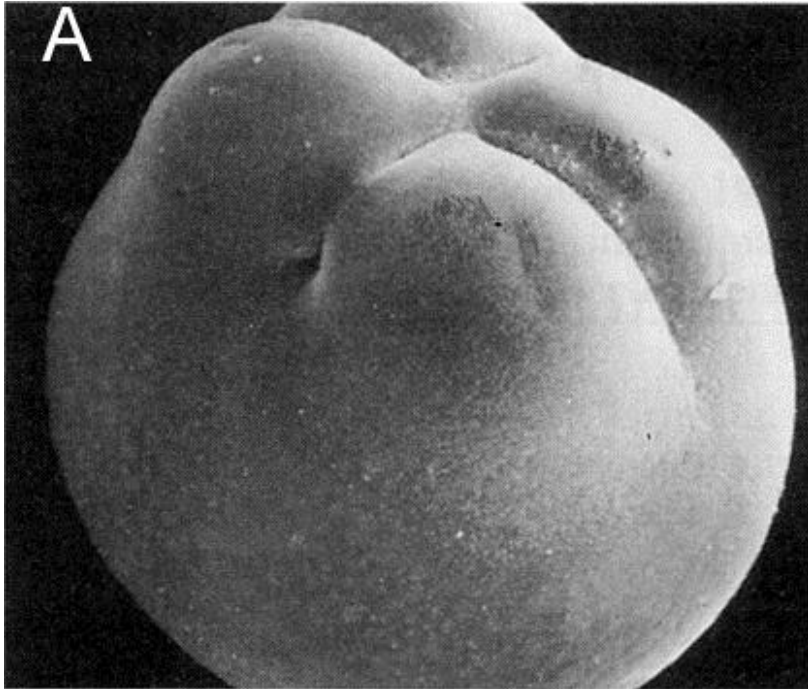


•Табличное дробление яйцеклетки *Danio rerio*.

А – зародыш на одноклеточной стадии, накопление свободной цитоплазмы на анимальном полюсе. Б – двухклеточный зародыш

Из Gilbert (2004)

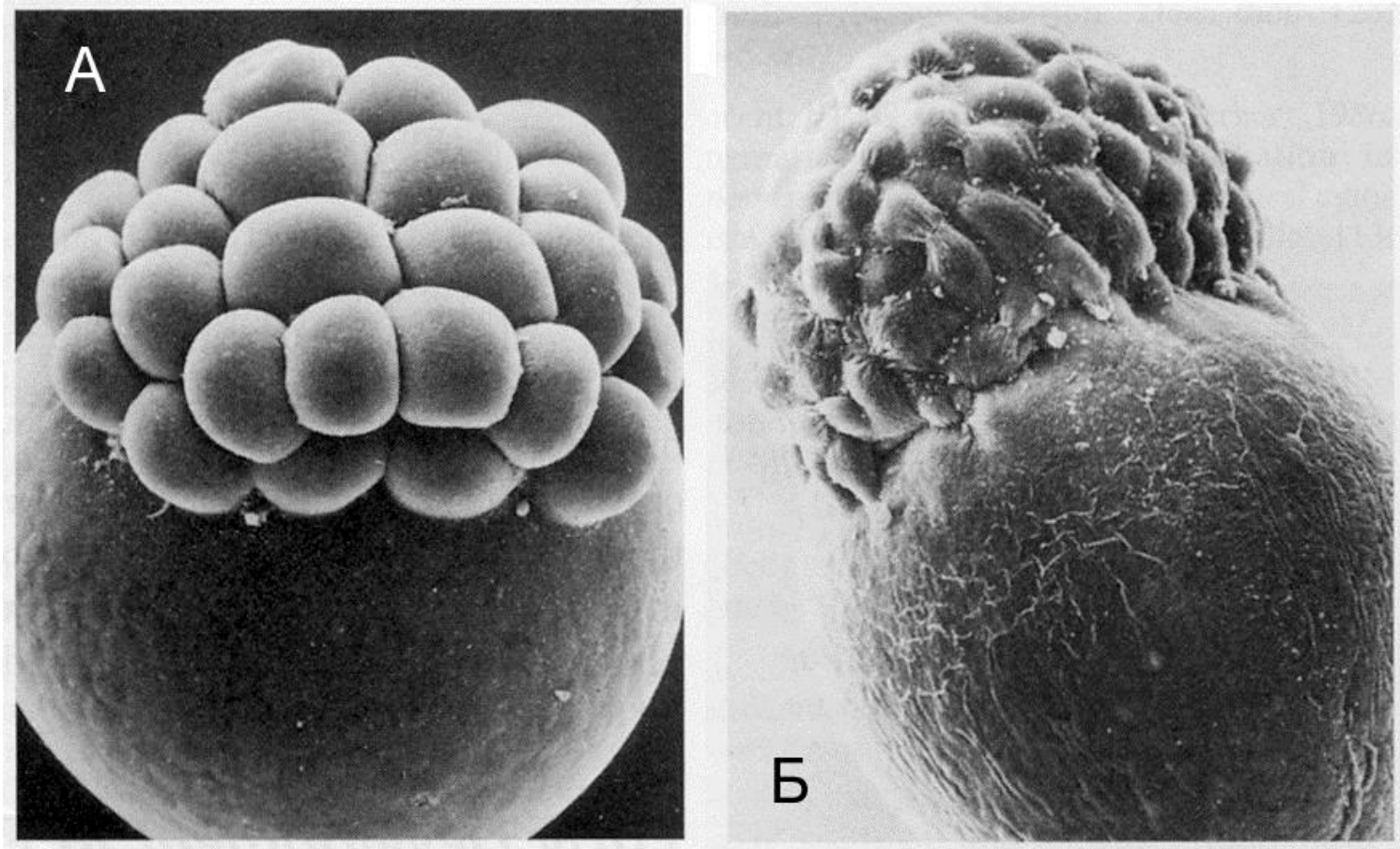
Дробление яйца костистой рыбы



•*Danio rerio*. А – четырёхклеточный зародыш, Б – восьмиклеточный зародыш, представленный двумя рядами из четырёх клеток, выступающих над объёмной желточной сферой (табличка бластомеров).

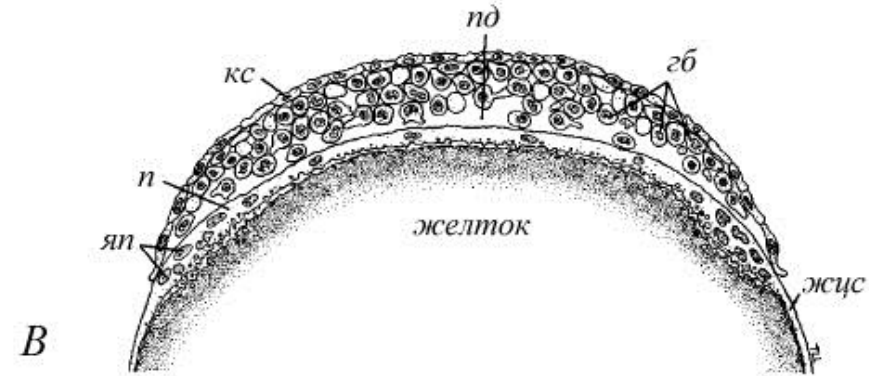
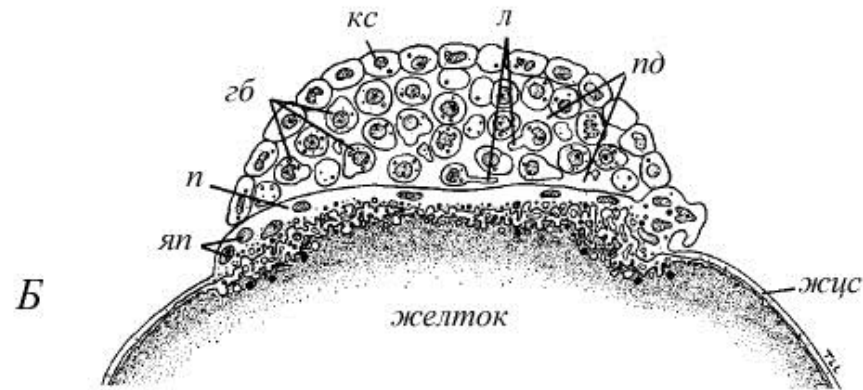
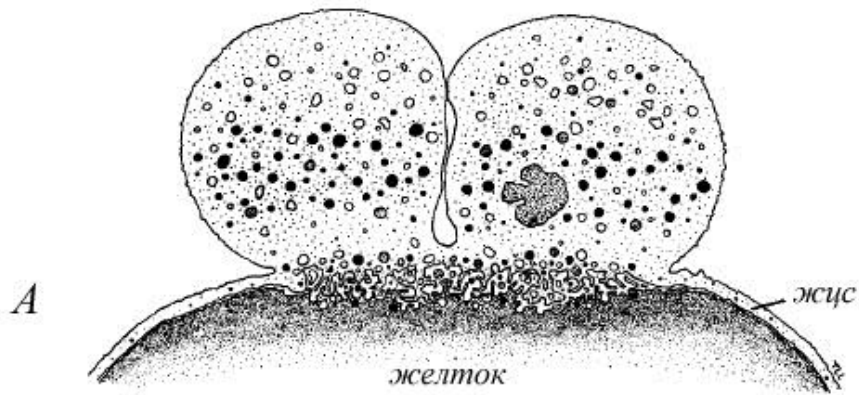
Из Gilbert (2004)

Дробление яйца костистой рыбы



- А - 32-клеточный зародыш *Danio rerio*. Б - 64-клеточный зародыш; бластодиск возвышается над желточной сферой

Дробление и ранняя бластула в развитии *Fundulus heteroclitus*

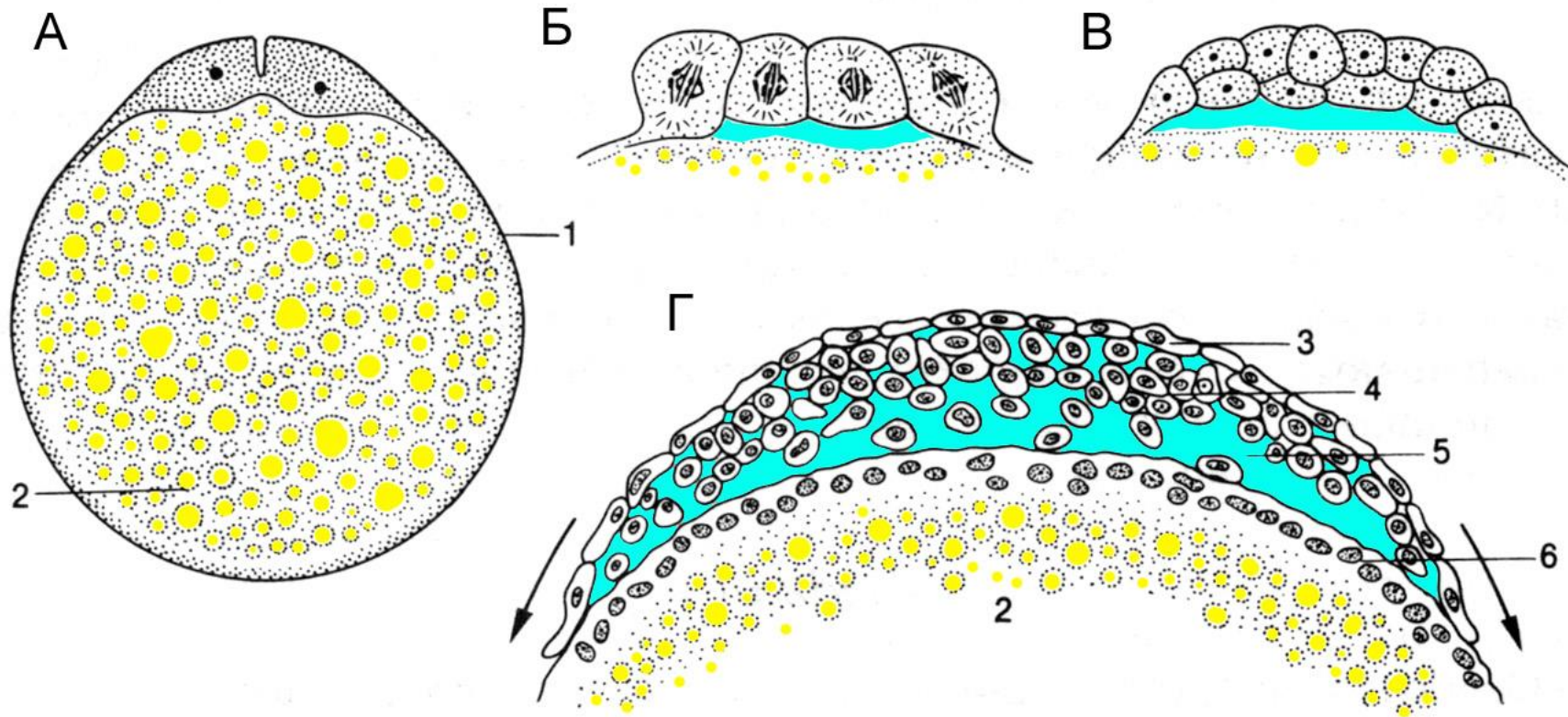


А – стадия двух бластомеров; Б – стадия 128 клеток; В – стадия 512 клеток (после 9-го деления дробления).

Обозначения: гб – глубинные клетки; жсц – желточный цитоплазматический слой; кс – кроющий слой; л – лобоподии; п – перибласт (желточный синцитиальный слой); пд – подзародышевая полость; яп – ядра перибласта

По Trinkaus (1984)

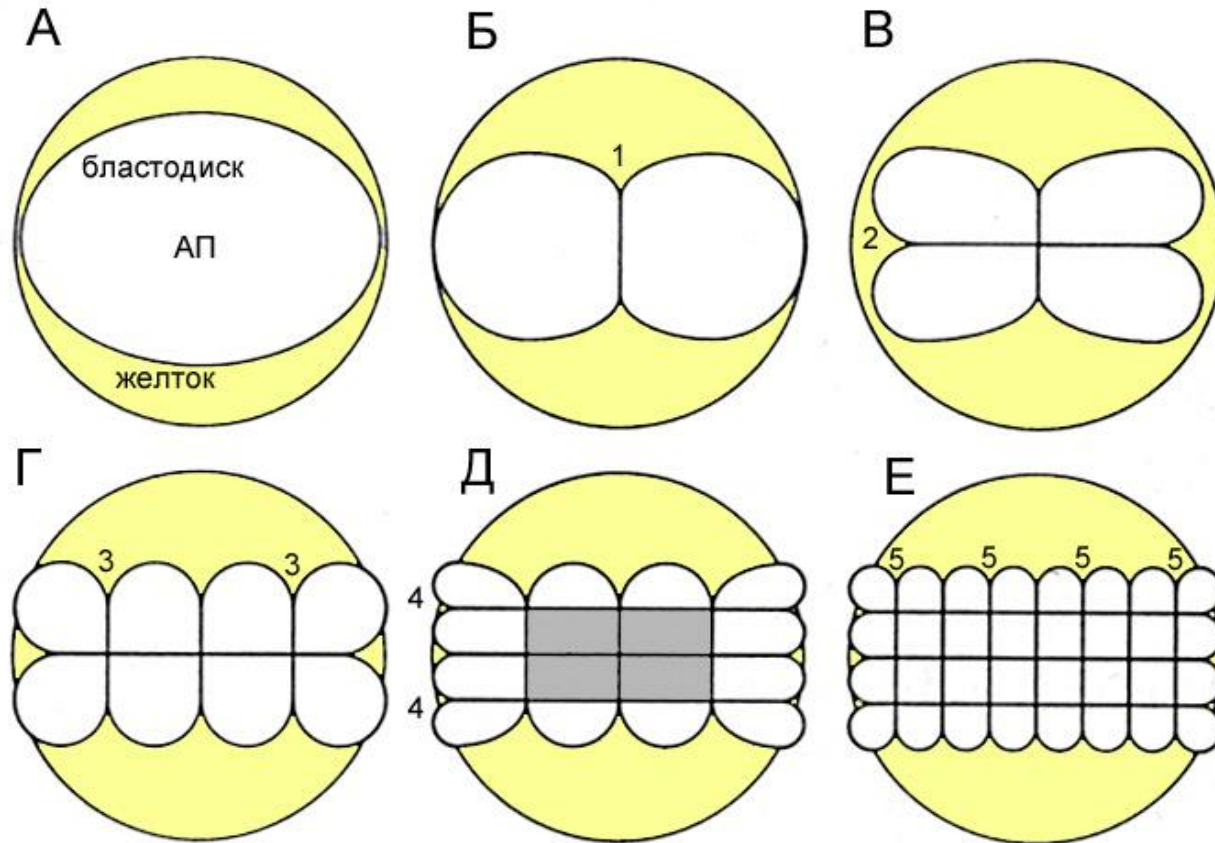
Дробление и образование бластодермы у костистой рыбы



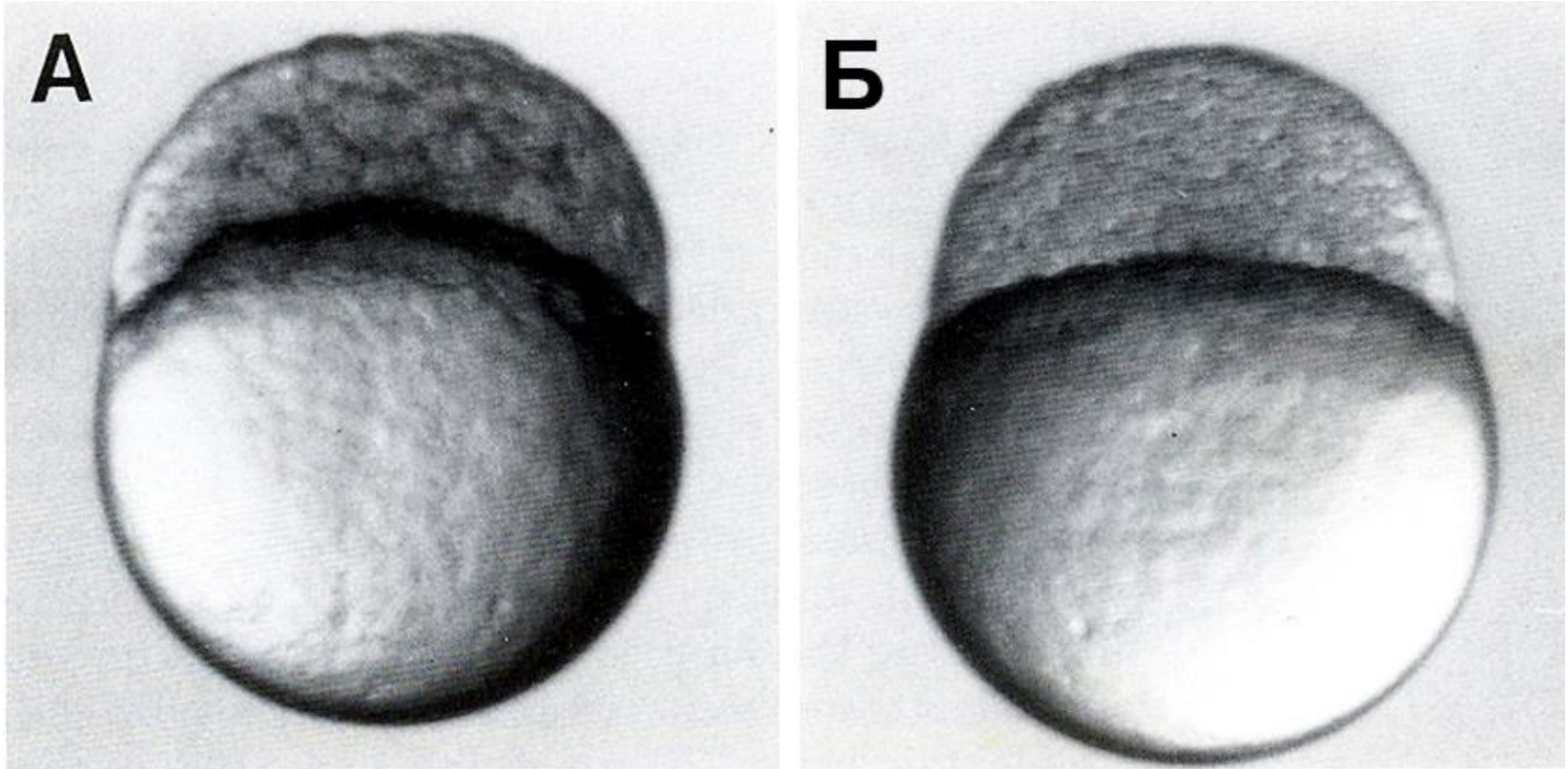
Обозначения к рисункам на предыдущем слайде: «Дробление и образование бластодермы у костистой рыбы»

- А - стадия 2 бластомеров; Б – стадия 8 бластомеров; В – стадия 32 бластомеров; Г – бластомерная бластула костистой рыбы.
- 1 – слой цитоплазмы, 2 – желточная сфера, 3 – кроющий слой (перидерма), 4 – глубинные клетки, 5 – межклеточное пространство бластулы, 6 – ядра перибласта. Стрелками показано направление обрастания желточной сферы

Схема табличного дробления у *Danio rerio*



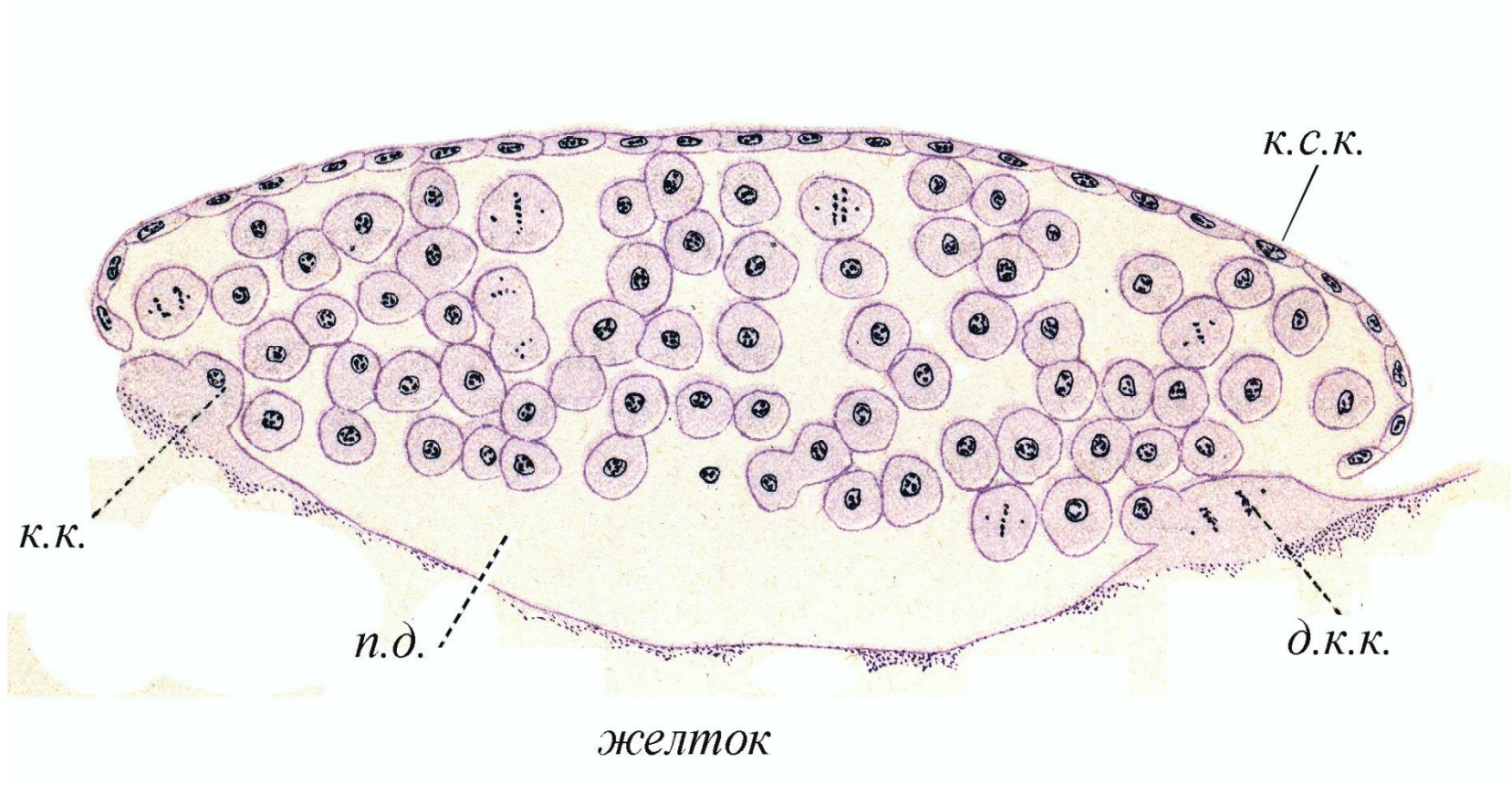
«Стереобластула»» *Danio rerio*



Danio rerio. (А) Стадия 256 клеток. Перибласт ещё отсутствует, и нет бластоцеля. (Б) Т.н. «высокая бластула» или «бластомерная бластула» (по старой терминологии), симпласт перибласта содержит два ряда ядер

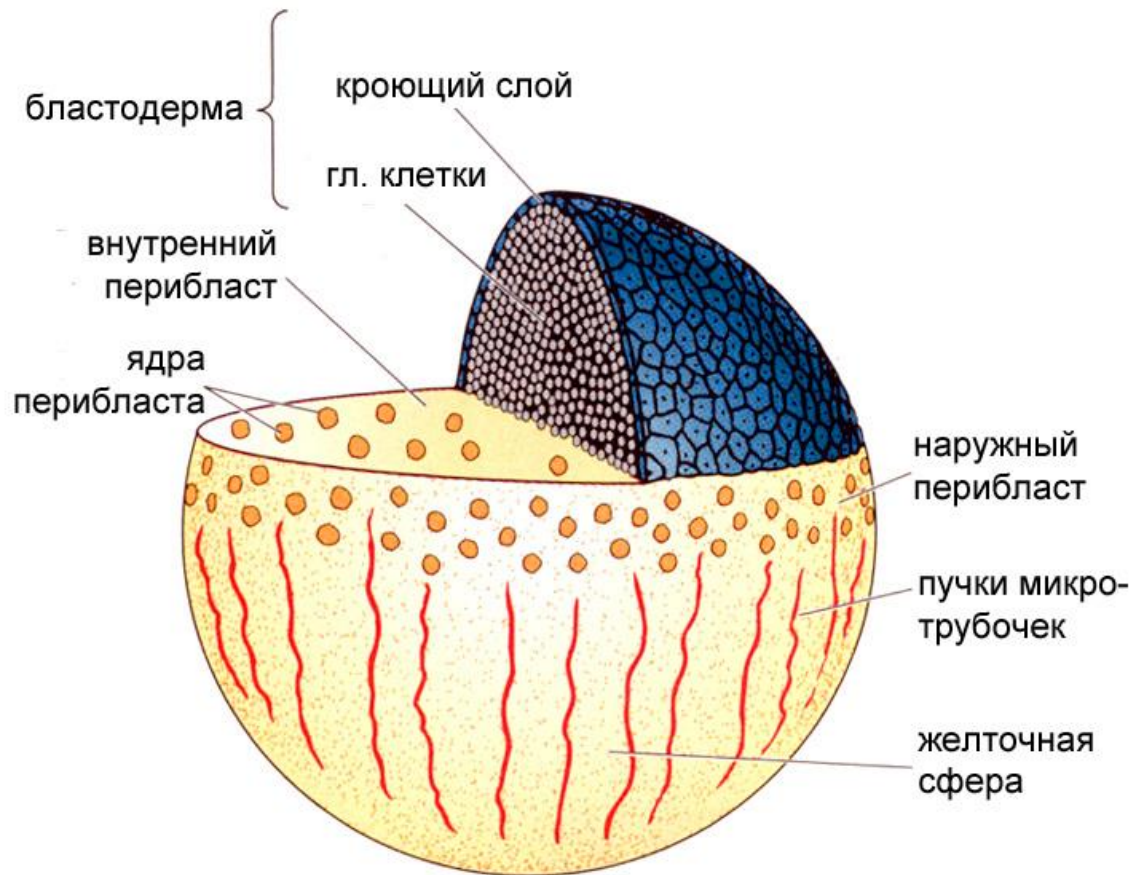
По Kimmel et al. (1995)

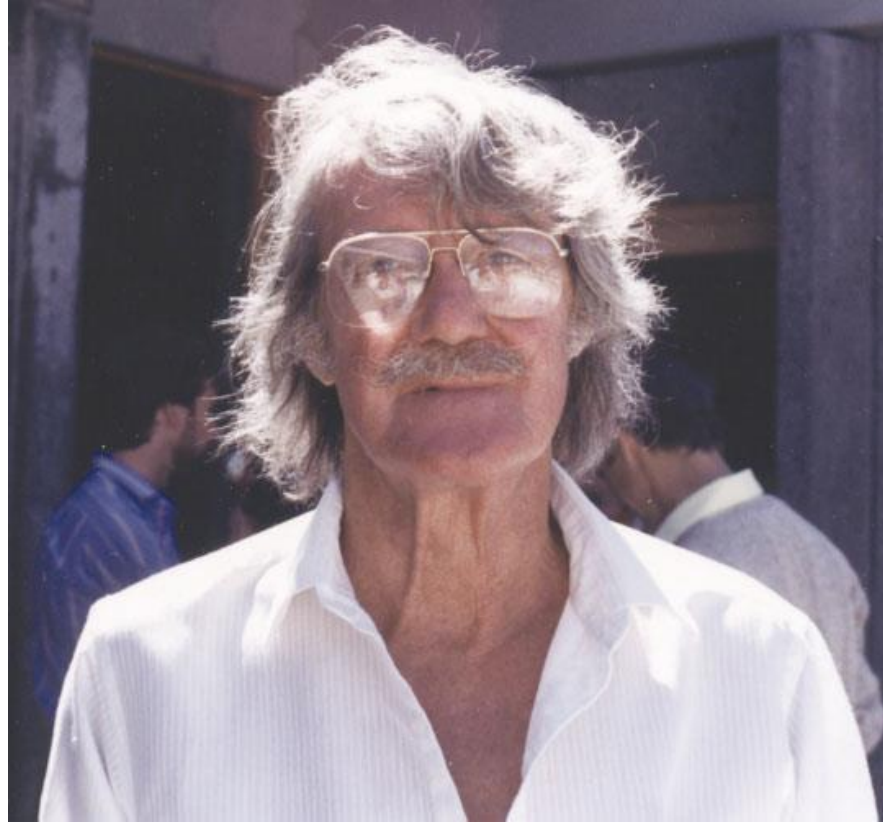
Бластомерная бластула форели



из А. Гурвич (1908)

Зародыш *Danio* на стадии средней бластулы (первый акт сегрегации клеточных линий)

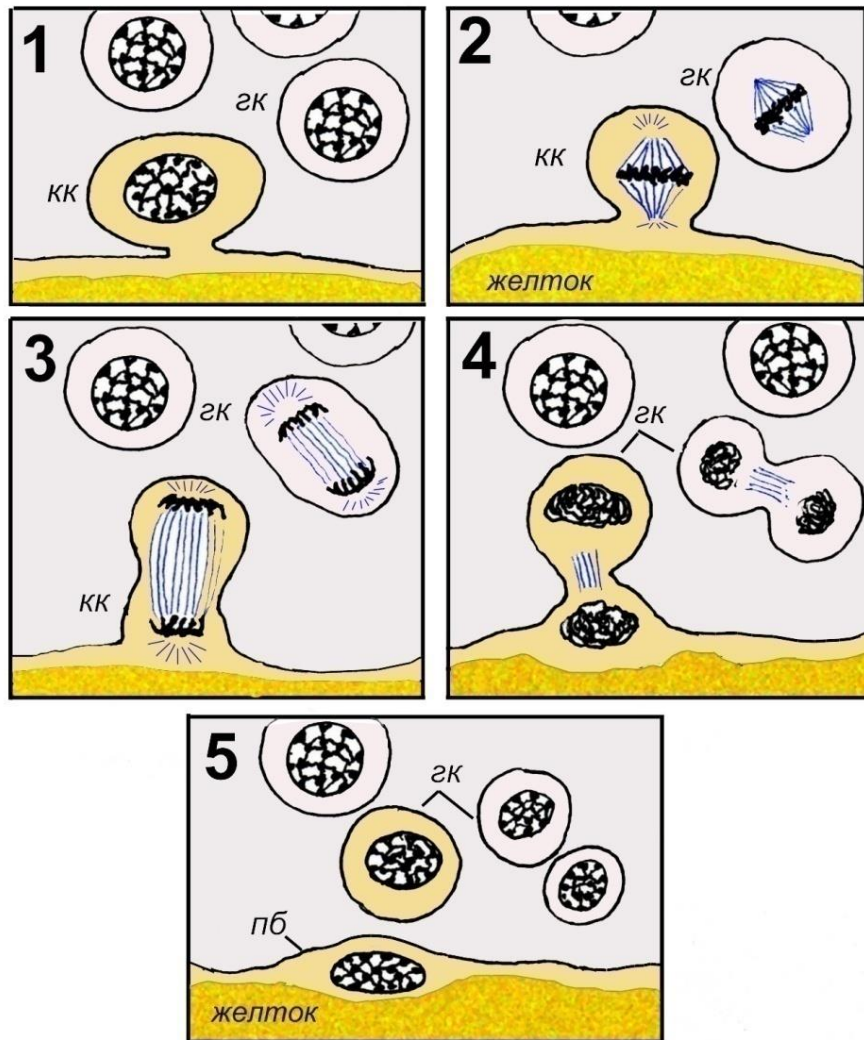




John Philip Trinkaus

(1918 – 2003)

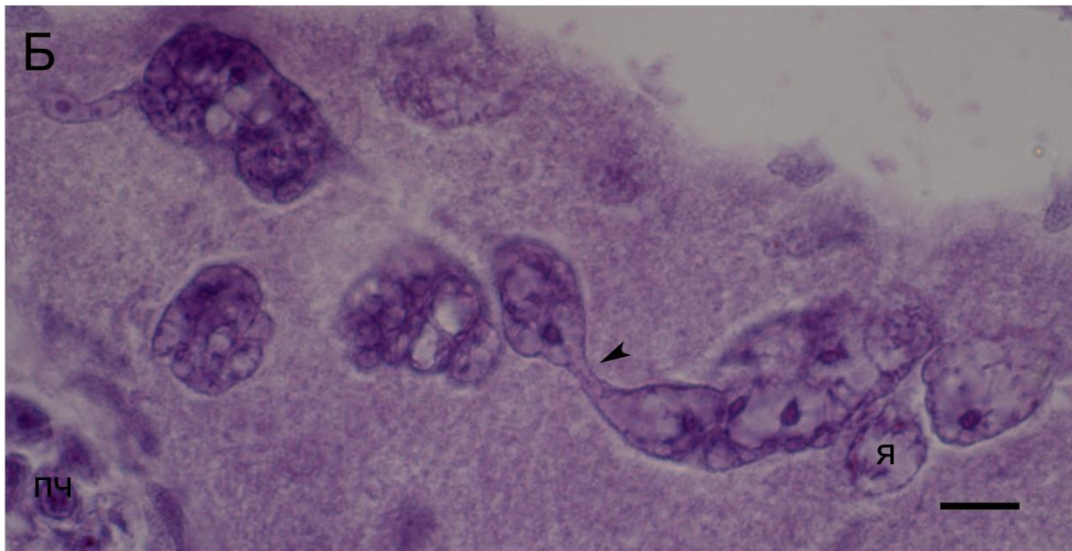
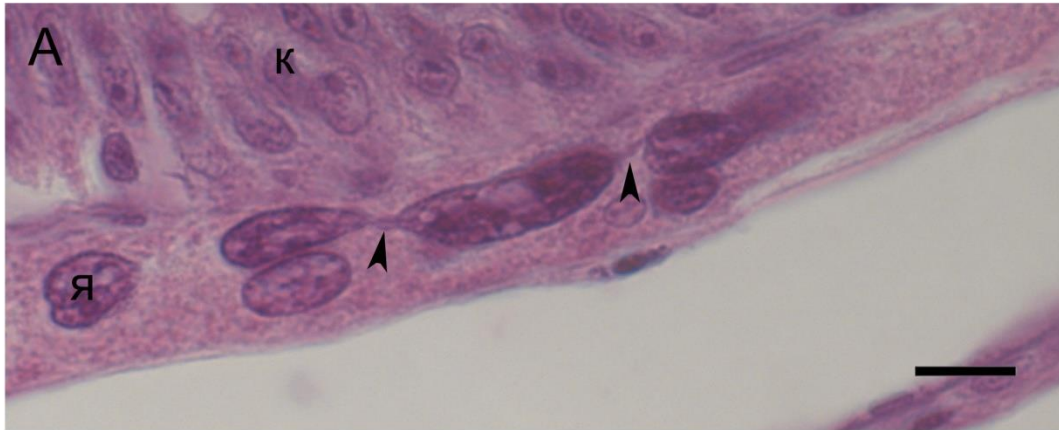
Образование желточного синцитиального слоя (перибласта)



Очередной митоз краевой желточной маргинальной клетки (кк). На схеме обозначена жёлтым цветом. По завершении митоза одна из разделившихся сестринских клеток этого типа вступает в популяцию свободных глубинных клеток (гк), а ядро другой клетки, испытывающей недостаток цитоплазмы остается в исходной позиции синцитиального слоя в ряду ядер перибласта (пб).

По Ефремов, 2011.

Полиморфизм и фрагментация полиплоидных ядер перибласта *Cyprinus carpio coi*

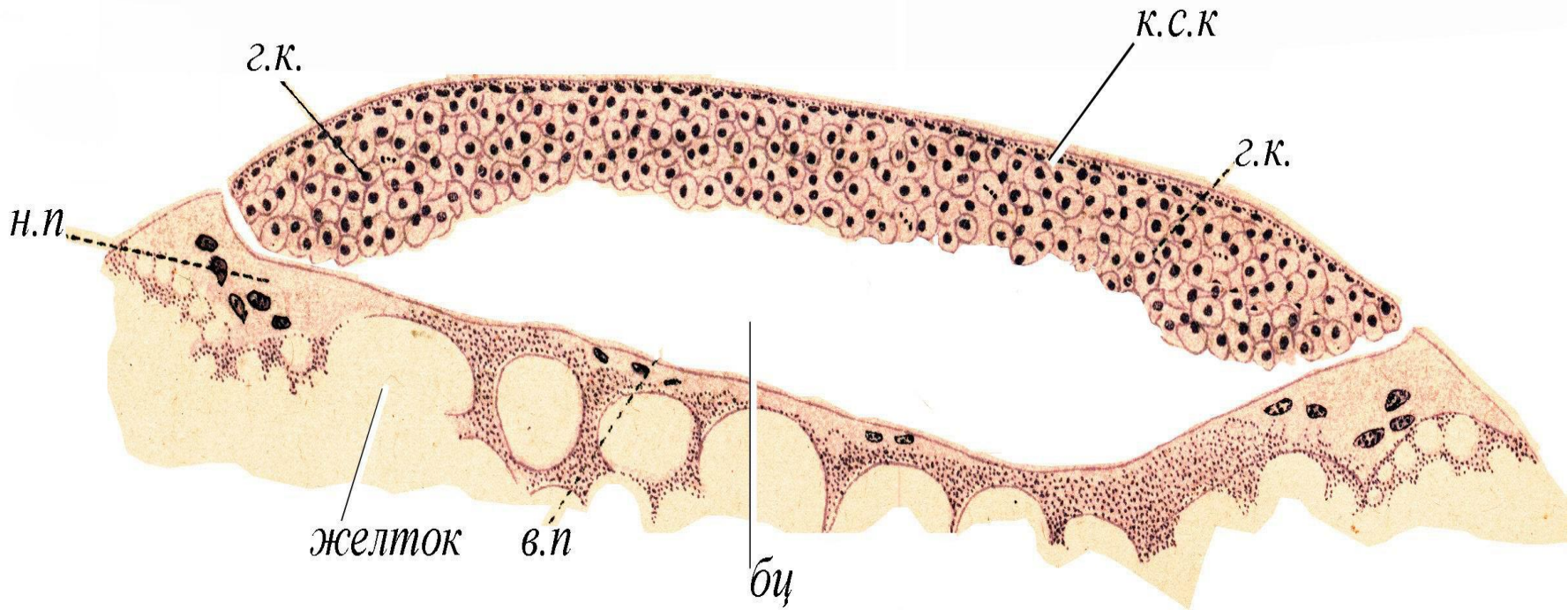


(А) Парасагиттальный срез. (Б) Фронтальный срез (5 сут. п/о). Ядра, соединенные мостиками (показаны наконечниками стрелок). Окраска гематоксилином Караччи с эритрозином. к кишка; пч печень; я ядро ЖСС. Масштабные линейки: 10 μm .

Из Кондакова и др. (2016)

Вскоре после начала среднебластульного перехода рыхло расположенные бластомеры центральной группы постепенно смещаются к кроющему слою и вместе с ним образуют многослойную плотную стенку бластулы. Затем её наружная стенка принимает вид более ровной многослойной эпителиальной пластинки, и зародыш переходит на стадию эпителиальной бластулы. Одновременно с этими превращениями область желточной сферы под бластодермой начинает выпячиваться к анимальному полюсу, не оставляя свободного пространства между клетками и желтком. Вслед за формированием эпителиальной бластулы начинается процесс обрастания желточной сферы перибластом и сцепленной с ним в краевой зоне бластодермой. За этим процессом закрепилось не совсем корректное название эпиболии. В связи с этим А.К. Дондуа предложил называть это явление по аналогии с геологическим процессом обдукцией. **Обдукция** — надвигание океанической литосферы на континентальную кору. В результате формируется офиолитовый комплекс. Термин введен Р.Колманом в 1971 году. Обдукция в развитии костистых рыб первый морфогенетический процесс. Здесь обдукция – это обрастание бластодермой (потомки глубоинных клеток вместе с кроющим слоем) желточной сферы (желточной клетки), в основе которого лежат три связанных и одновременно самостоятельных активности. Одной из них является распространение в направлении вегетативного полюса популяции ядер перибласта. В основе этого движения лежит сокращение микротрубочек особого аппарата (**моторных молекул**, Solnica-Krezel & Driver, 1994), связанного с ядрами синцития. Два типа организации микротрубочек в желточной клетке зародышей: а) в YSL сеть митотических и интерфазных микротрубочек; б) в YSL микротрубочки вытянуты вдоль анимально-вегетативной оси

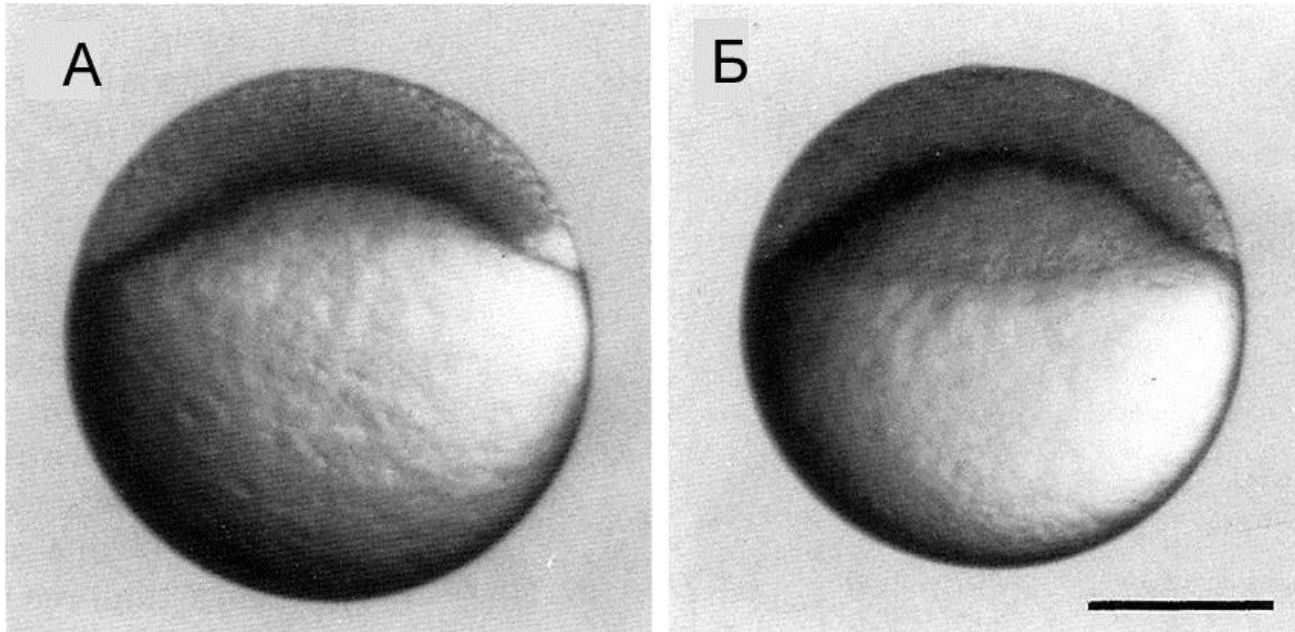
Эпителиальная бластула форели



бц – полость бластоцеля, *вп* – внутренний перибласт, *нп* – наружный перибласт, *г.к.* – глубинные (погруженные) клетки, *к.с.к.* – кроющий слой клеток

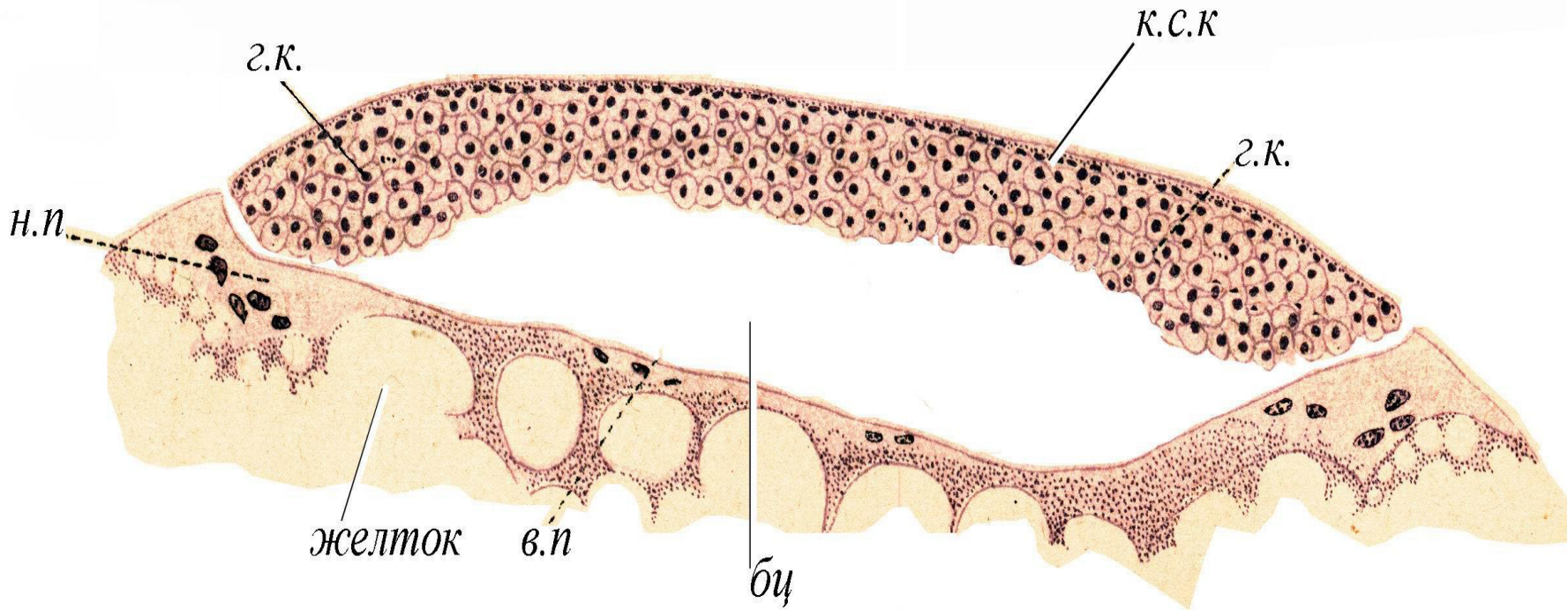
(из А. Гурвич, 1908)

Поздние стадии бластулы



Danio rerio. А – «куполообразная» стадия (эпителиальная бластула); Б – стадия 30% обрастания (поздняя бластула)

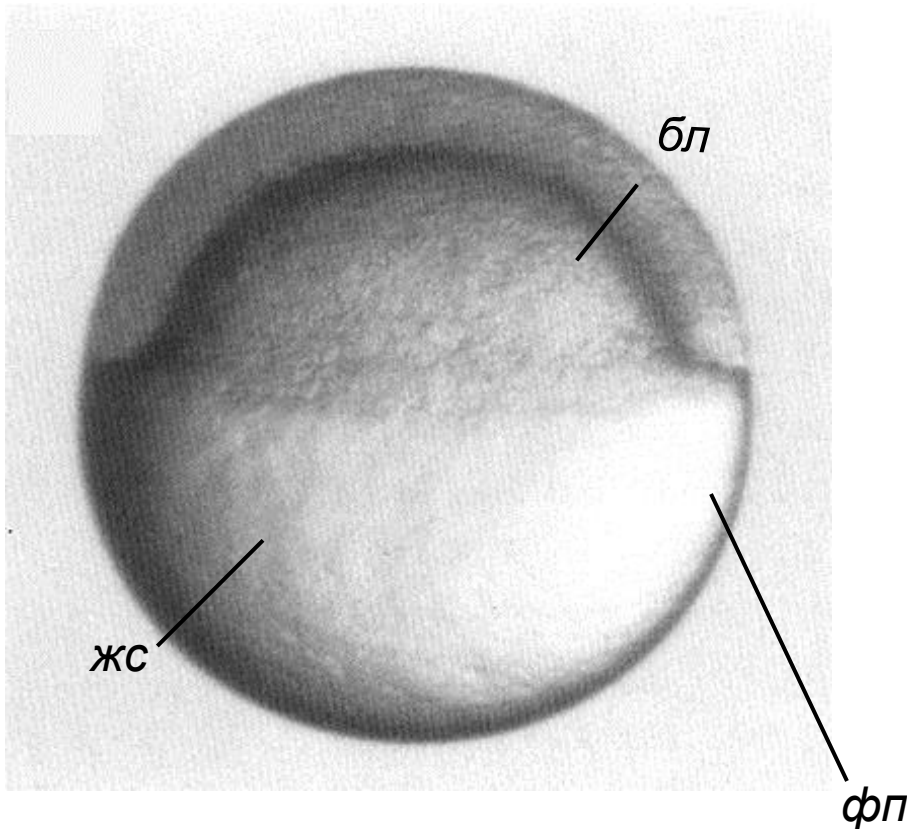
Эпителиальная бластула форели



бц – полость бластоцеля, *в.п* – внутренний перибласт, *н.п* – наружный перибласт, *г.к.* – глубинные (погруженные) клетки, *к.с.к.* – кроющий слой клеток

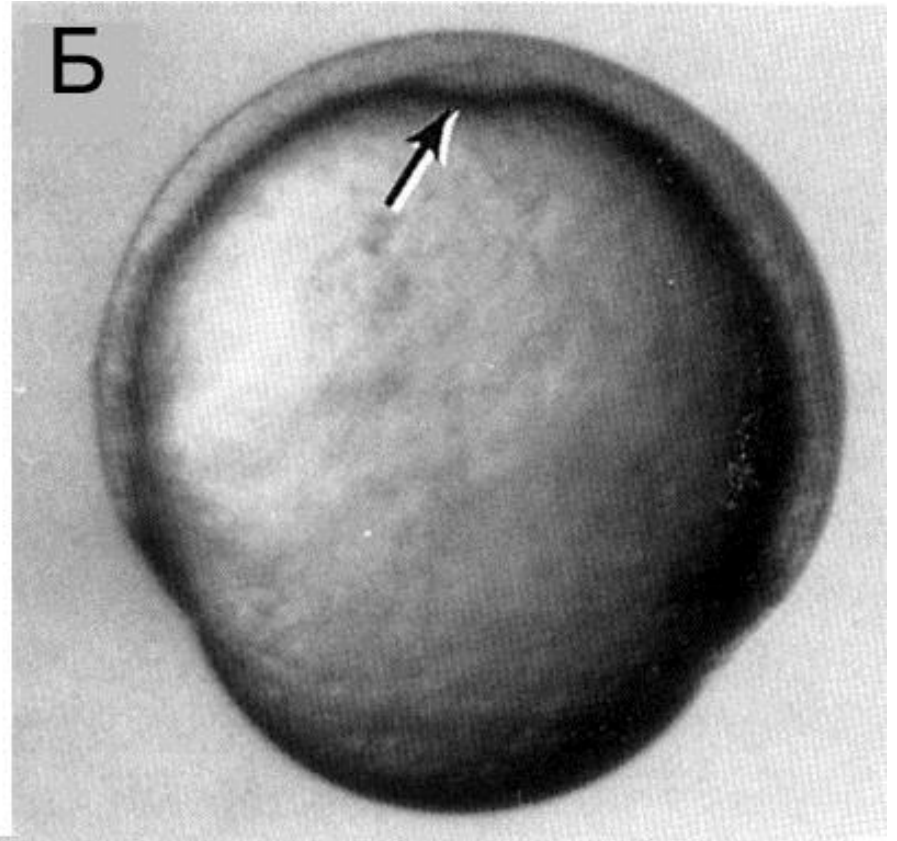
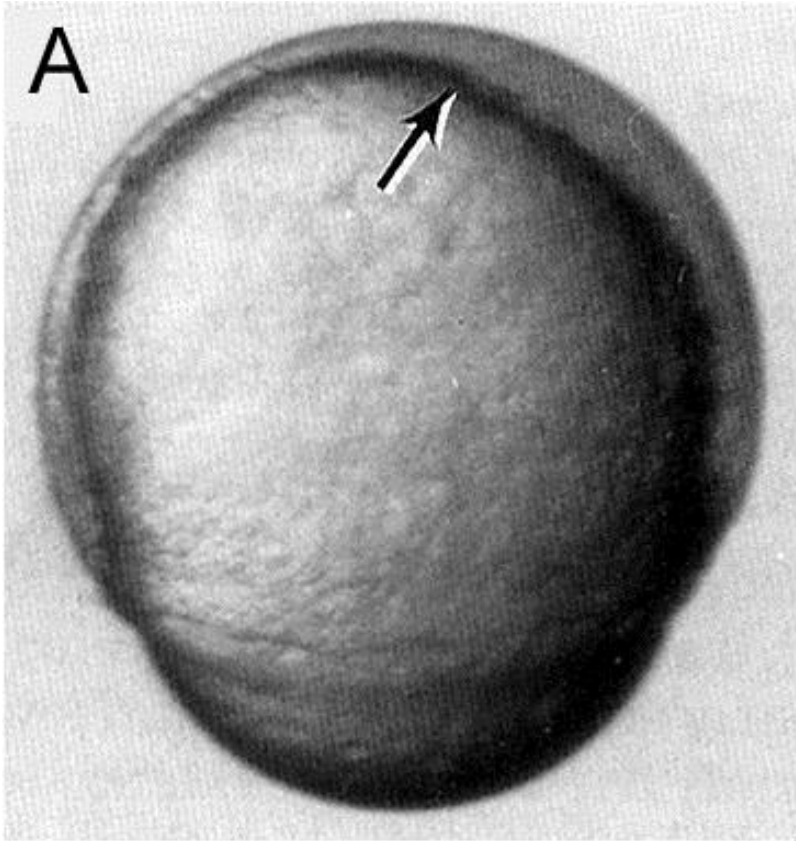
(из А. Гурвич, 1908)

Обрастание у костистых рыб



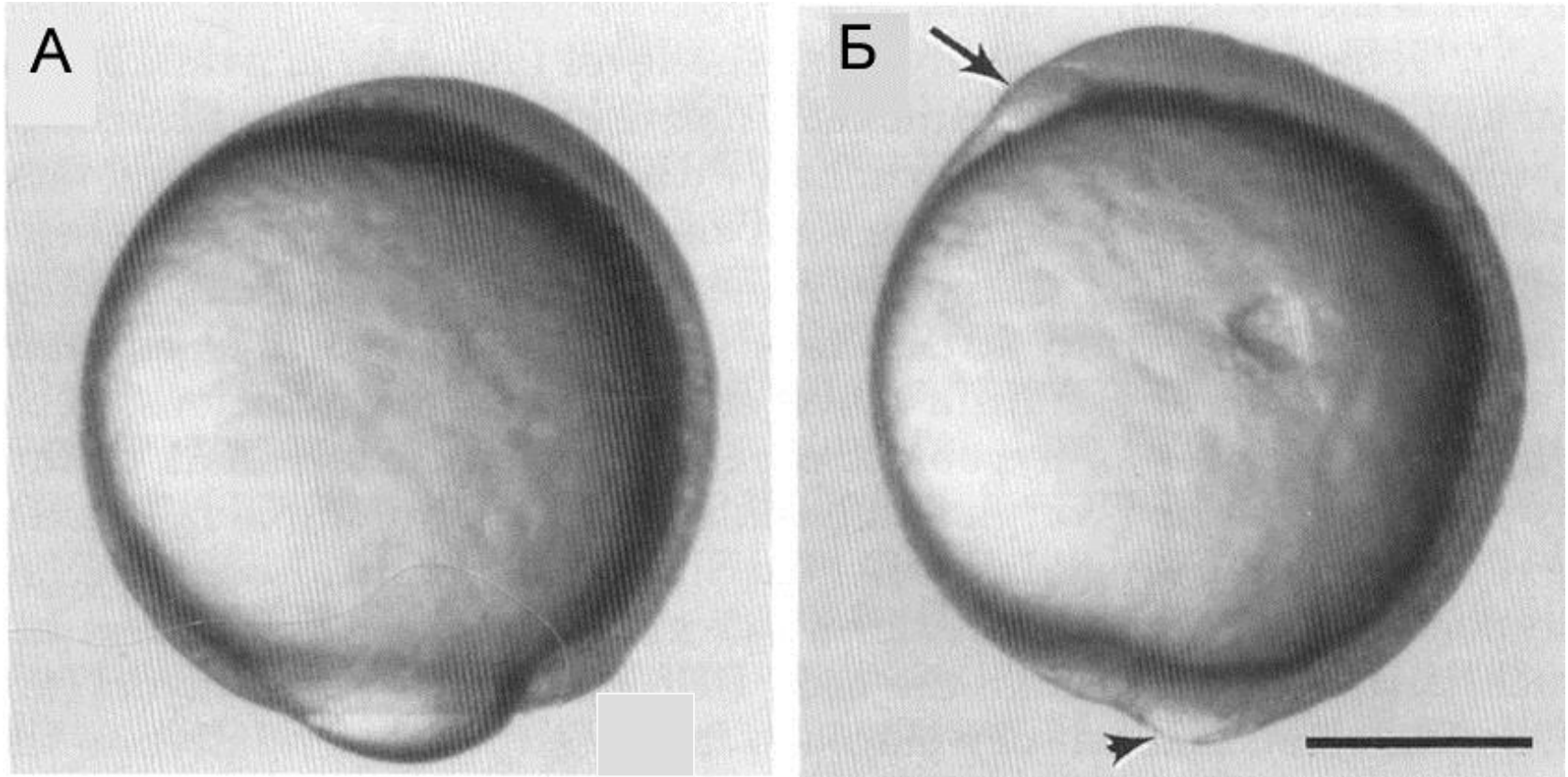
На фотографии показан зародыш *Danio rerio* на стадии **50% обрастания** бластодермой (бл) желточной сферы (жс). Несколько ближе к вегетативному полюсу от границы бластодермы виден фронт обрастания **перибластом (фп)**.

По Kimmel et al. (1995)



А – 70 % обрастания. Внешний вид зародыша *Danio rerio* сбоку; дорсальная сторона бластодермы (справа) толще вентральной стороны (слева); стрелка отмечает границу прехордальной пластинки. Б – вид с вентральной стороны; видно центральное утолщение (прехордальная пластинка), показанное в центре бластодермы стрелкой.

Завершающие стадии обрастания у *Danio*



А – стадия 90% абдукции («желточная пробка»); Б – обрастание завершилось, наконечник стрелки показывает хвостовой бугорок (хвостовую почку); стрелка отмечает зачаток железы вылупления

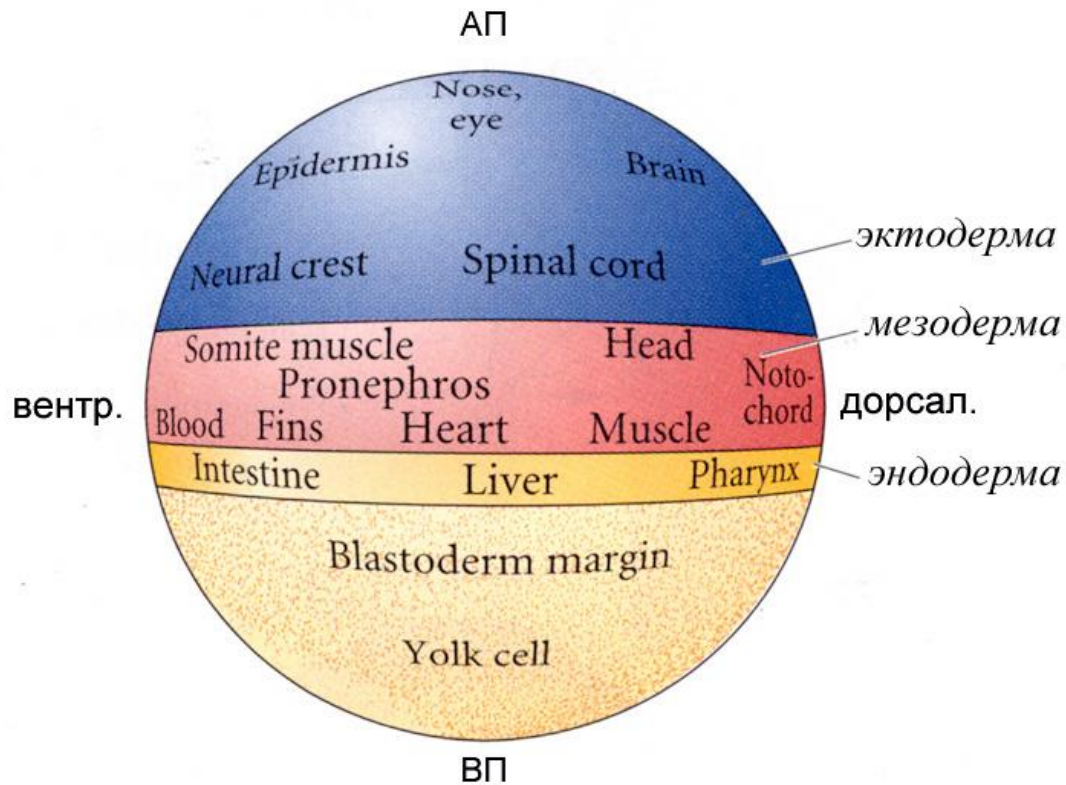
По Kimmel et al. (1995)

Механика процесса эпиболии (обдукции).

В основе обрастания бластодермой желточной сферы лежит сокращение внешнего желточного синцитиального слоя в результате активного эндоцитоза поверхности. В этом процессе играет активную роль поверхностный слой актиновых микрофиламентов. Вегетативно направленное движение фронта при перемещении желточной сферы в ходе обрастания связано с образованием и поддержанием особой зоны перибласта, с которой с определенного момента тесно спаяна краевая зона кроющего слоя бластодермы. Распространение этого слоя само по себе пассивно и обеспечивается силами натяжения, возникающими во фронтальной зоне перибласта в результате движения на поверхности последнего волны складкообразования и интернализации свободной складчатой поверхности мембраны.

Значение разглаживания складчатой поверхности внутреннего YSL. Эта область действует в уступающем режиме. С другой стороны, *затаскивание кроющего слоя* в направлении вегетативного полюса поддерживается уплощением составляющих его клеток. Глубинные клетки бластодермы также вовлекаются в движение эпиболии, но их распространение по поверхности перибласта обеспечивается с помощью реаранжировок клеток по типу радиальной интеркаляции.

Карта презумптивных зачатков на поздней бластуле у *Danio rerio*

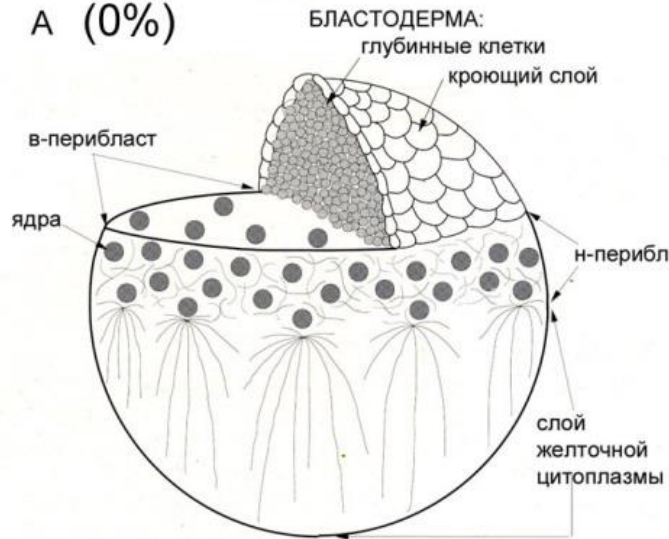


ГАСТРУЛЯЦИЯ У КОСТИСТЫХ РЫБ

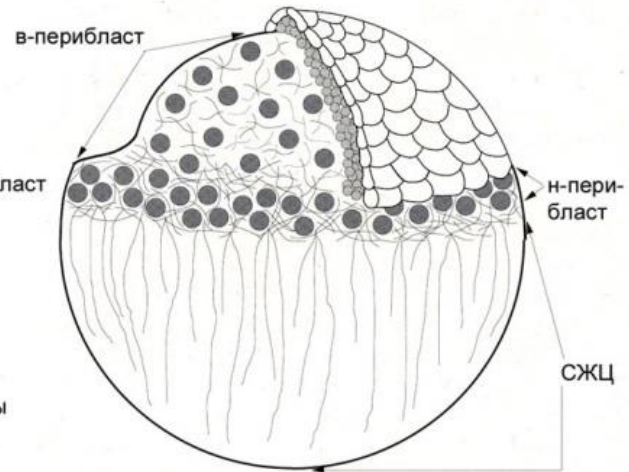
На следующем этапе развития происходит формирование зародышевых листков - *гастрюляция*. После того, как бластодерма покрывает 30% поверхности желтка, по периметру бластодермы на границе глубоких клеток образуется утолщение – зародышевое кольцо. По всей окружности клетки кольца под кроющим слоем образуют наружный пласт клеток - эпибласт и внутренний пласт – гипобласт (или мезэнтодерму). Образование мезэнтодермы происходит в результате инволюции слоя глубоких клеток и выселения отдельных клеток из его состава (ингрессии). На дорсальной стороне медиолатеральные интеркаляции клеток эпибласта и гипобласта приводят к образованию *зародышевого щитка*; по его средней линии в гипобласте клеточные интеркаляции формируют осевую мезодерму (хордомезодерму) – зачаток хорды. Аксиальная мезодерма, как следует из экспериментов по трансплантации материала эмбрионального щитка со стадии ранней гастрюлы, потенциально способна индуцировать вторичную эмбриональную ось. Следовательно, **эмбриональный щиток** в отношении его морфогенетической роли, его дорсального, маргинального положения в зародыше и судьбы клеток, его составляющих, является полным эквивалентом области организатора Шпемана земноводных.

Вскоре после образования зародышевого щитка происходит разделение мезэнтодермы на мезодерму и лежащий на перибласте слой энтодермы.

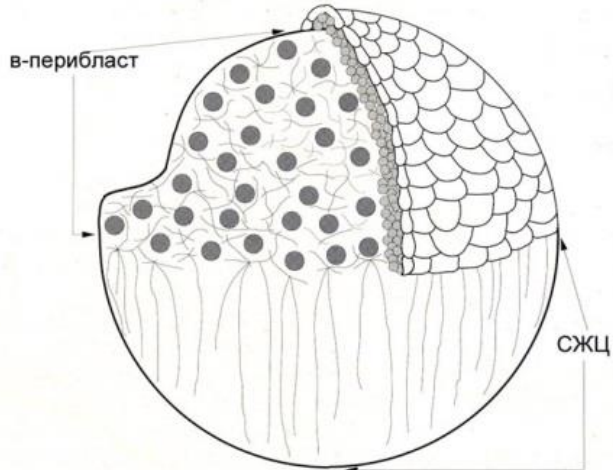
А (0%)



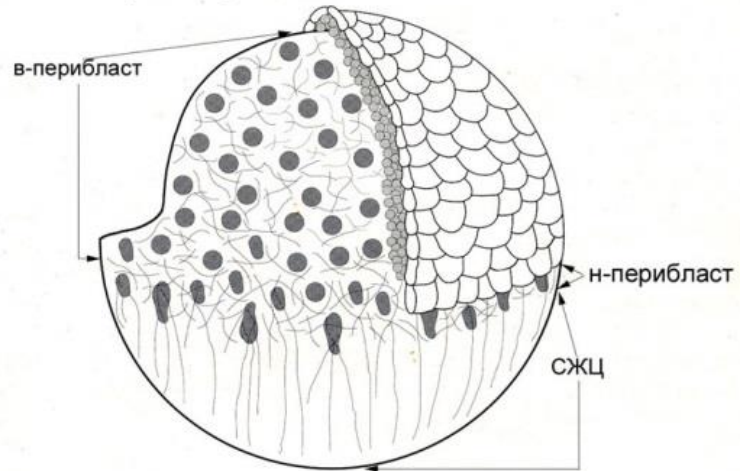
Б (30%)



В (50%)



Г (60%)



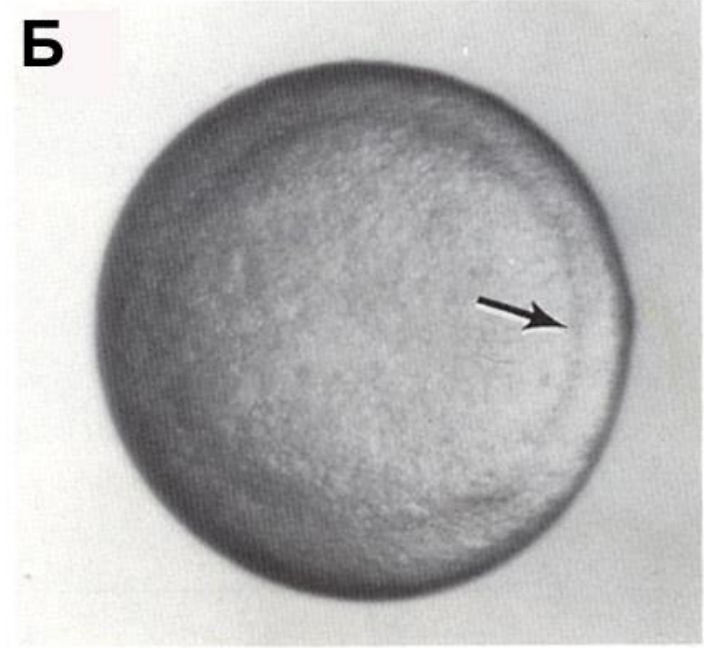
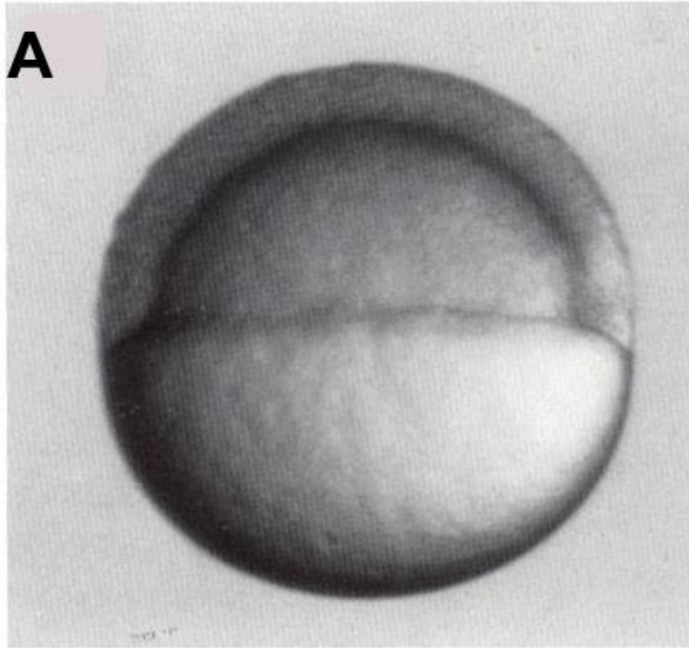
Пояснение к предыдущему слайду, на котором представлены схематические изображения некоторых стадий обдукции у развивающегося эмбриона *Danio rerio* (по материалам работы Solnica-Krezel and Driever, 1994).

А. Зародыш на стадии бластулы. Показана рестрикция трех клеточных линий. Обратите внимание на пучки микротрубочек, сохраняющиеся после очередных митотических преобразований в ядрах; эти структуры обращенные к вегетативному полюсу, будучи закрепленными в слое цитоплазмы, обеспечивают перемещение ядер синцития в направлении этого полюса. **Б.** 30% обрастания, начало формирования «куполообразной бластулы» (механика процесса не вполне понятна). **В.** 50% обдукция совпадает по времени с началом гастрюляции. На этой стадии происходит временная остановка процесса обрастания в связи с начавшейся интернализацией. **Г.** Возобновление процесса обдукции.

Гастрология у Teleostei

Инволюция, ингрессия
(иммиграция), конвергентное
удлинение

Начало гаструляции у *Danio*

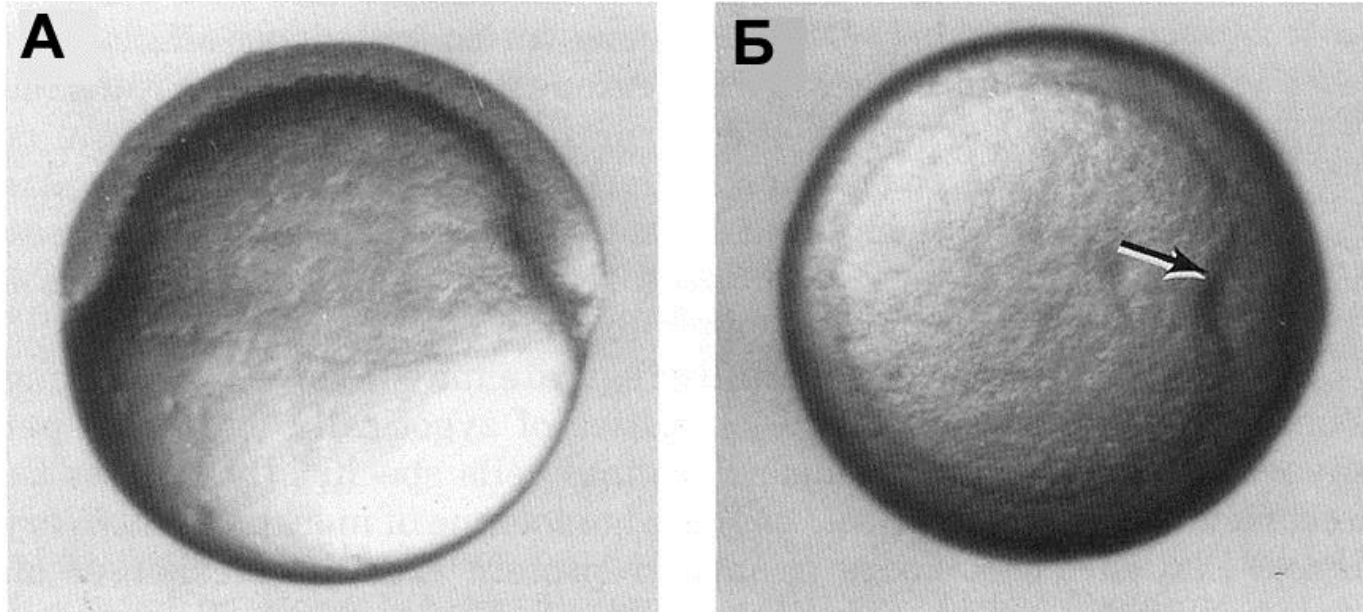


- На фото зародыши на стадии 50% обдукции (5,25 час). А – вид сбоку, Б – вид с анимального полюса. Хорошо виден *кольцевой контур* (стрелка), представляющий собой кольцевое утолщение бластодермы на краю обрастания. Это утолщение – результат интернализации краевых клеток подповерхностного слоя бластодермы.

На следующем этапе развития происходит формирование зародышевых листков - *гастрюляция*. После того, как бластодерма покрывает 30% поверхности желтка, на границе глубоких клеток образуется утолщение – зародышевое кольцо. По всей окружности клетки кольца под кроющим слоем образуют наружный пласт клеток - эпибласт и внутренний пласт – гипобласт (или мезэнтодерму). Образование мезэнтодермы происходит в результате инволюции слоя глубоких клеток и выселения отдельных клеток из его состава (ингрессии).

На дорсальной стороне медиолатеральные интеркаляции клеток эпибласта и гипобласта приводят к образованию зародышевого щитка; по его средней линии в гипобласте клеточные интеркаляции формируют осевую мезодерму (хордомезодерму) – зачаток хорды. Аксиальная мезодерма, как следует из экспериментов по трансплантации материала эмбрионального щитка со стадии ранней гастрюлы, потенциально способна индуцировать добавочную эмбриональную ось. Следовательно, эмбриональный щиток в отношении его морфогенетической роли, его дорсального, маргинального положения в зародыше и судьбы клеток, его составляющих, является полным эквивалентом области организатора Шпемана у земноводных. Вскоре после образования зародышевого щитка происходит *разделение мезэнтодермы на мезодерму и лежащий на перибласте слой энтодермы*.

Стадия «зародышевого щитка»



К 6 ч п/о у зародышей Данио можно видеть компактный участок (стрелка) зародышевого кольца, разрастающийся в направлении ан. полюса. Это утолщение отмечает будущую дорсальную сторону, а направление его роста соответствует будущей переднезадней оси зародыша.

Организатор Шпемана-Мангольд у Костистых рыб

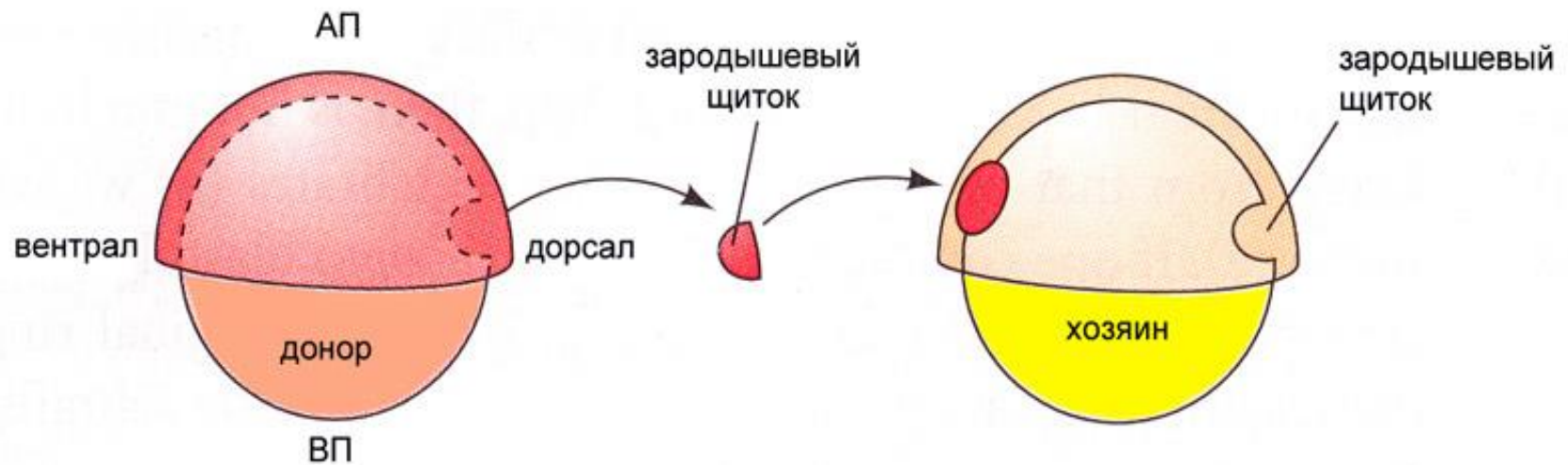


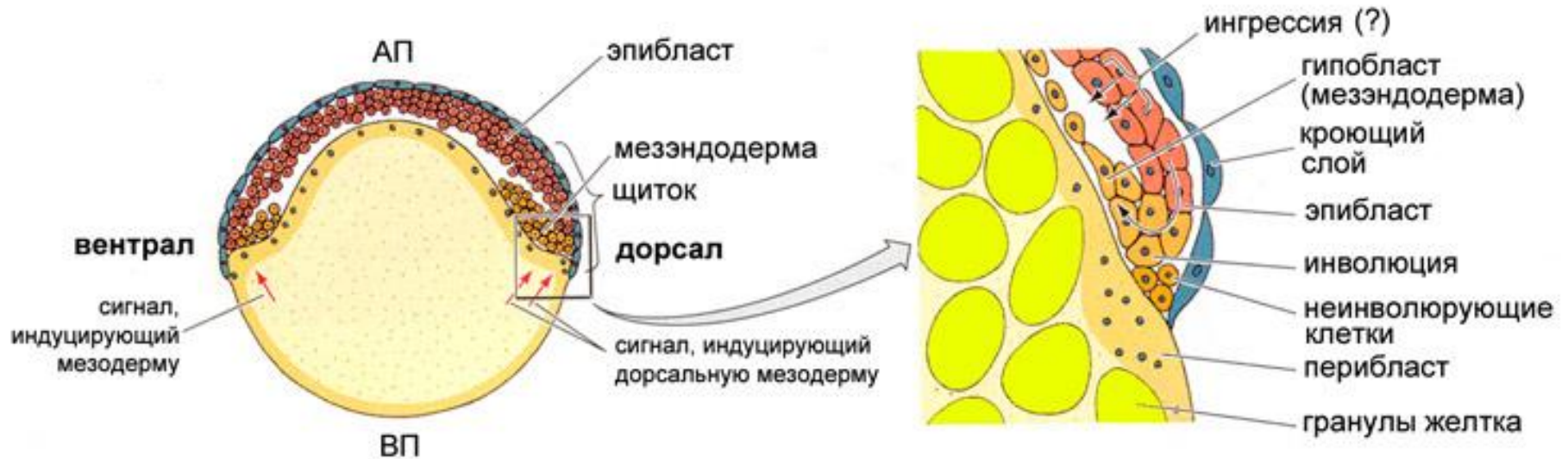
Схема классического эксперимента по пересадке материала зародышевого щитка (около 100 клеток) ранней гастролы, который в эктопическом положении вызывает у зародыша хозяина образование вторичной оси тела.

Организатор Шпемана-Мангольд у Костистых рыб



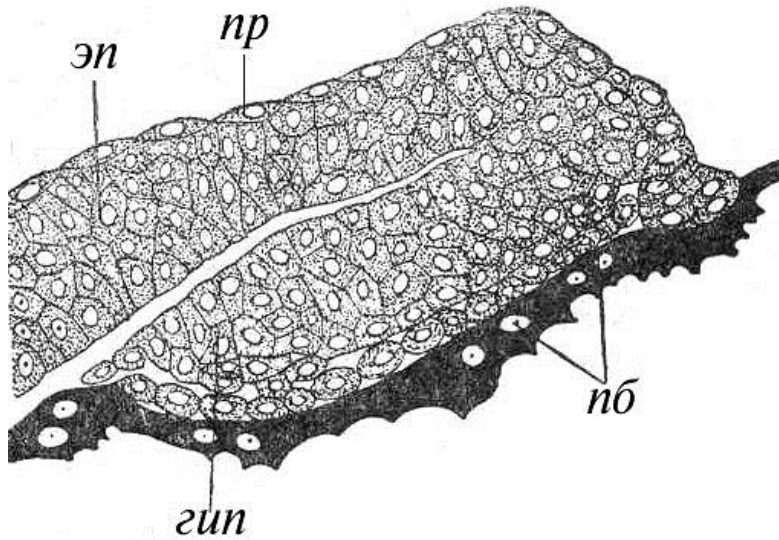
На фото показан результат эксперимента по трансплантации ЗЩ: два эмбриональных осевых комплекса окружают одну желточную сферу. Зародышей окрашивали на м-РНК *sonic hedgehog*, который экспрессируется по средней линии тела в вентральной области

Интернализация клеток в ходе гаструляции



На схемах показано образование мезэндодермы в результате инволюции от края бластодермы или ингрессии или деляминации клеток из эпипласта

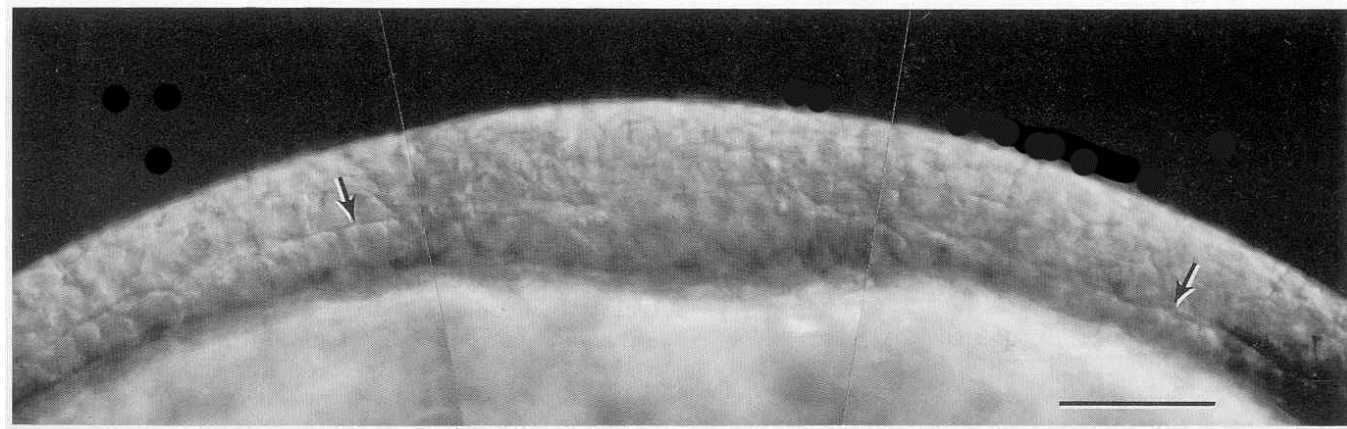
Инволюция или ингрессия ?



Сагиттальный срез бластодермы мурены, *Murena helena* в начале гастрюляции.
гип – гипобласт; *пб* – перибласт; *пр* – кроющий слой (перидерма); *эп* – эпибласт

Из Воеске (1910) по Иванов (1937)

Щель Браше (стрелки) во время инволюции у *Danio rerio*



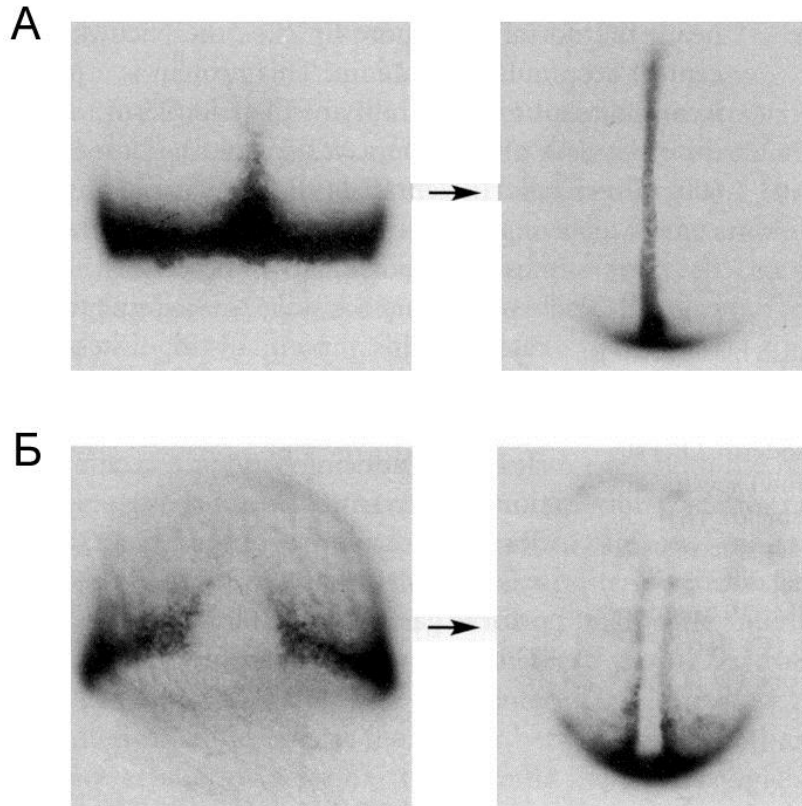
По Kimmel et al. (1995)

Завершение гаструляции



На схеме слева зародыш на стадии 90 % обрастания (эктодерма и мезодерма окружают большую часть ж. сферы). Энтодерма в виде отдельного слоя клеток подстилает мезодерму в дорсальной области. На схеме справа показан зародыш к моменту завершения обдукции и гаструляции.

Конвергенция и экстензия в гастреле Данио

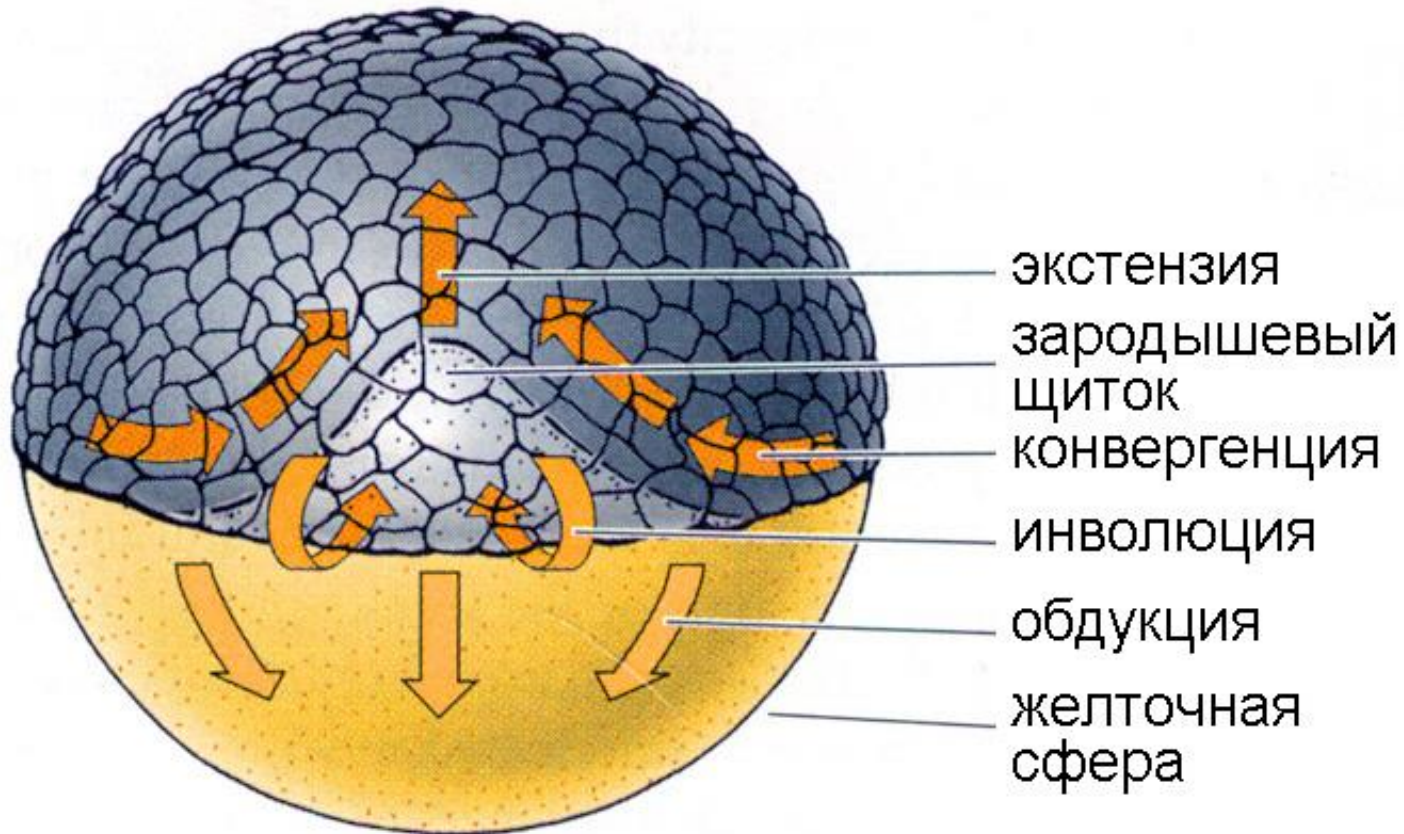


А – движения клеток хордомезодермы, экспрессирующих ген *snail* *no tail* в начале и в конце гастрюляции;

Б – конвергентные движения клеток параксиальной мезодермы, прослеженные путем выявления специфической экспрессии гена.

Основные морфогенетические движения в ходе гаструляции

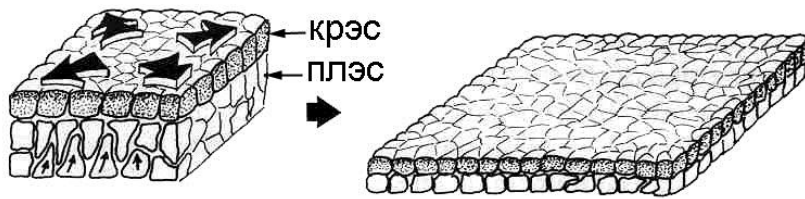
анимальный полюс



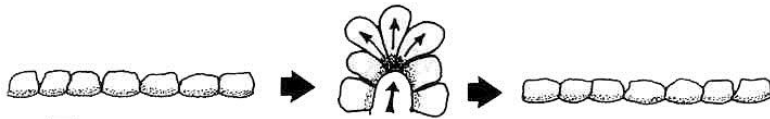
вегетативный полюс

По S. Gilbert (2000)

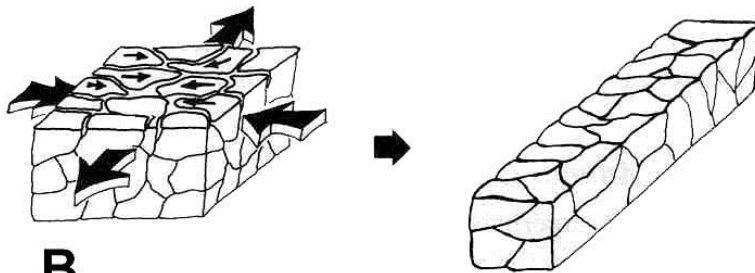
Реаранжировки клеток в ходе гаструляции



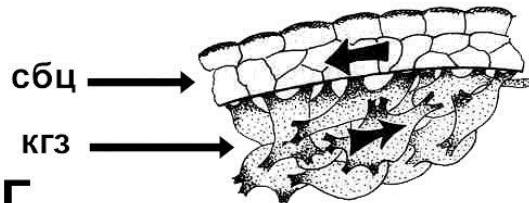
A



Б



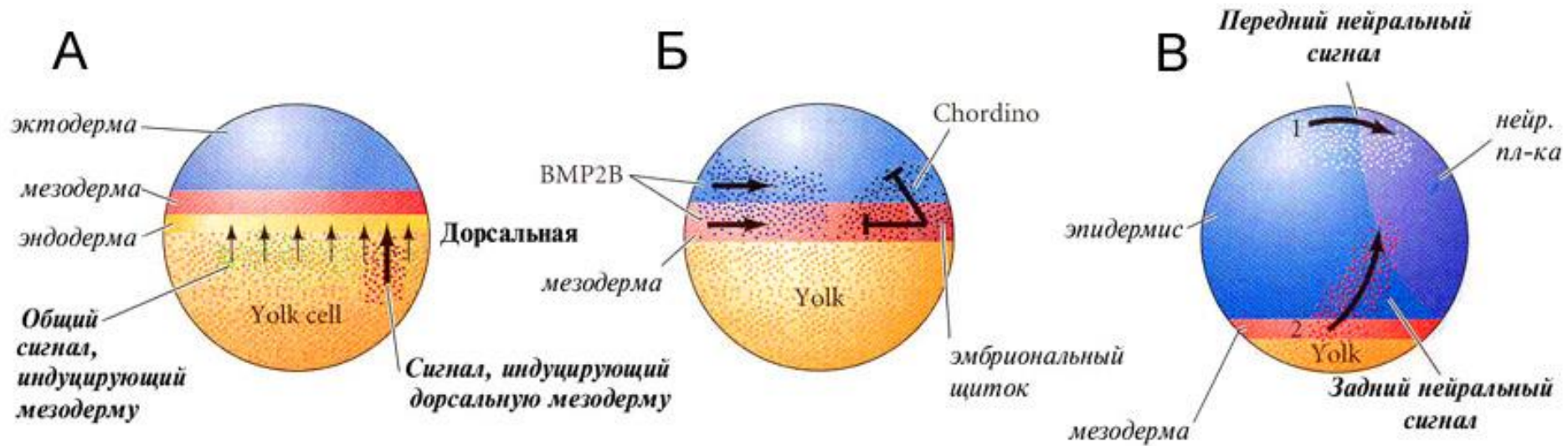
B



Г

А – радиальная интеркаляция (мелкие стрелки) обеспечивает увеличение площади и уменьшение толщины внешней стенки гаструлы, например. При обрастании бластодермой желточной сферы ; Б – инвагинация на основе апикального сокращения бокаловидных клеток.. В – конвергентное удлинение на основе латеральной интеркаляции (мелкие стрелки). Обеспечивает увеличение тела зародыша в длину. Г – движение сцепленной популяции мезенхимных клеток по *фибронектину* на внутренней поверхности вышележащих слоев клеток (принцип противохода).

Аксиализация у зародышей Костистых рыб



А – зародыш до гастрюляции содержит материал презумптивной эктодермы в области анимального полюса, презумптивной мезодермы ниже его и, наконец, клетки будущей эндодермы размещаются на ЖС.

Б – **образование дорсовентральной оси.** Во время гастрюляции вентральная мезодерма секретирует BMP2B (стрелки), который индуцирует вентральную и латеральную дифференциацию мезодермы и эпидермальную – эктодермы. Клетки дорсальной мезодермы секретируют факторы (например, Chordino), которые блокируют BMP2B, дорсализуют мезодерму и позволяют эктодерме развиваться по исходно предначертанному «нейральному» пути.

В – **два сигнальных центра, определяющие переднезаднюю полярность** (показаны цифрами и стрелками).

По S. Gilbert (2000)

ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ОБОБЩЕНИЯ О ГАСТРУЛЯЦИИ У КОСТИСТЫХ РЫБ

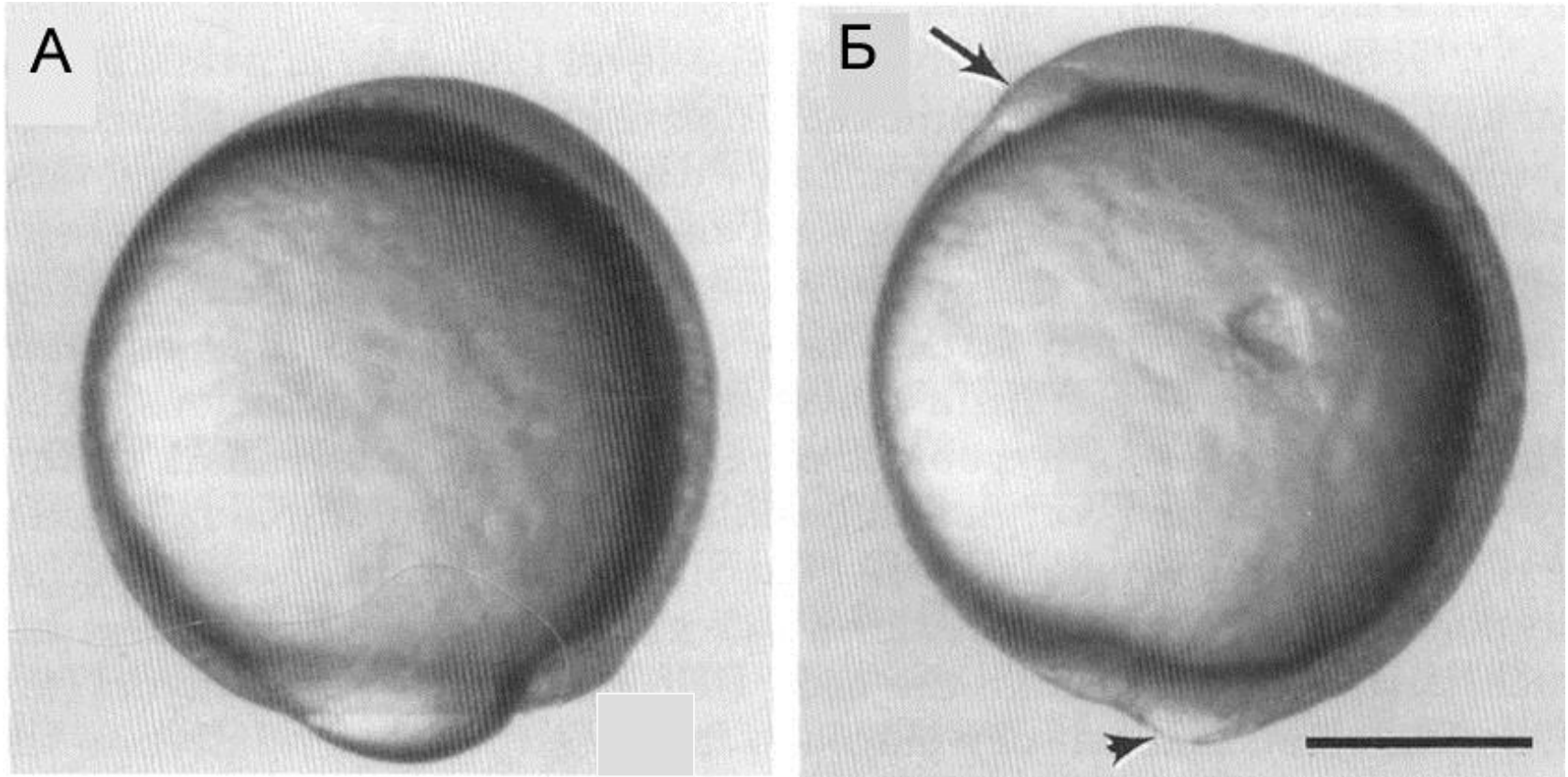
1. Особенности организации обособленножелткового яйца Костистых рыб (КР) сказываются не только на характере дробления, они проявляются также в строении зародыша на стадии бластулы, в специфике интернализации поверхностных клеток при гастрюляции
2. У зародышей КР нет бластоцеля, в привычном смысле слова, а бластопор представлен одной протяженной губой в виде кольца по периметру бластодермы
3. Костистые рыбы демонстрируют несколько способов интернализации, все они ведут к формированию более или менее консолидированного нижнего слоя клеток гастрюлы – *гипобласта (мезэнтодермы)*.
4. У КР не встречается *инвагинация* как способ интернализации. На стадиях, непосредственно предшествующих гастрюляции и в ходе её в поверхностном слое отсутствуют *бокаловидные (бутылковидные) клетки*.
5. Из способов интернализации чаще других отмечают *инволюцию*.
6. При этом первой вдоль будущей продольной оси погружается небольшая совокупность пограничных клеток, образующая *прехордальную пластинку*, за ней движутся клетки будущей хорды.
7. Вскоре после подворачивания внутрь клетки гипобласта диссоциируют, покидают и ранее не сильно спаянный слой, превращаясь в типичную *мезенхиму*. Поэтому, по-видимому, правильнее считать, что гастрюляционная интернализация у КР есть инволюция, переходящая в ингрессию.
8. Однако у некоторых групп рыб (например, у Лососевых) образование гипобласта происходит путем *ингрессии* или *деляминации* клеток из поверхностного слоя, несмотря на «щель Браше».
9. Начиная со второй половины гастрюляции, к интернализации добавляются движения латеро-медиальной конвергенции, обеспечивающие аккумуляцию клеток в дорсальной области вдоль переднезадней оси тела и одновременно удлинение этой оси.
10. У гастрюлы КР нет гастроцеля (архентерона) и, следовательно, нет и первичной кишки, а есть лишь тонкий слой дефинитивной энтодермы.

Заключение

Таким образом, гастрюляция у костистых рыб совершается без участия бутылковидных клеток, без образования бластопора и, кроме того, у костистых рыб она не приводит к формированию кишечной трубки. В конце гастрюляции основные зачатки у КР (*Danio* в частности) имеют вид пластинок, распластанных на желтке.

Образование осевого комплекса
зачатков (нотогенез) у Teleostei

Завершающие стадии обрастания у *Danio*



А – стадия 90% абдукции («желточная пробка»); Б – обрастание завершилось, наконечник стрелки показывает хвостовой бугорок (хвостовую почку); стрелка отмечает зачаток железы вылупления в головном отделе

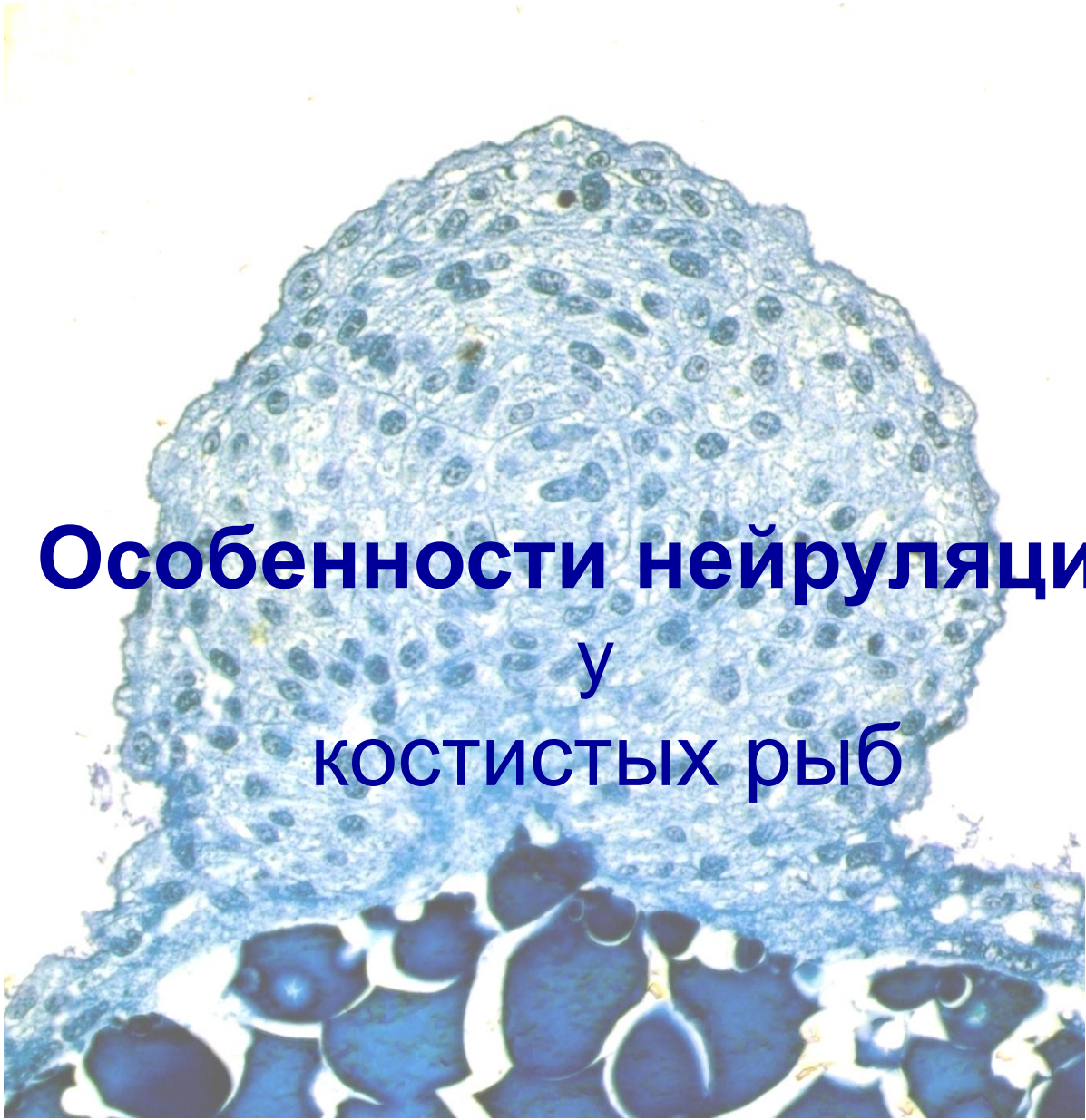
По Kimmel et al. (1995)

Осевой комплекс зачатков



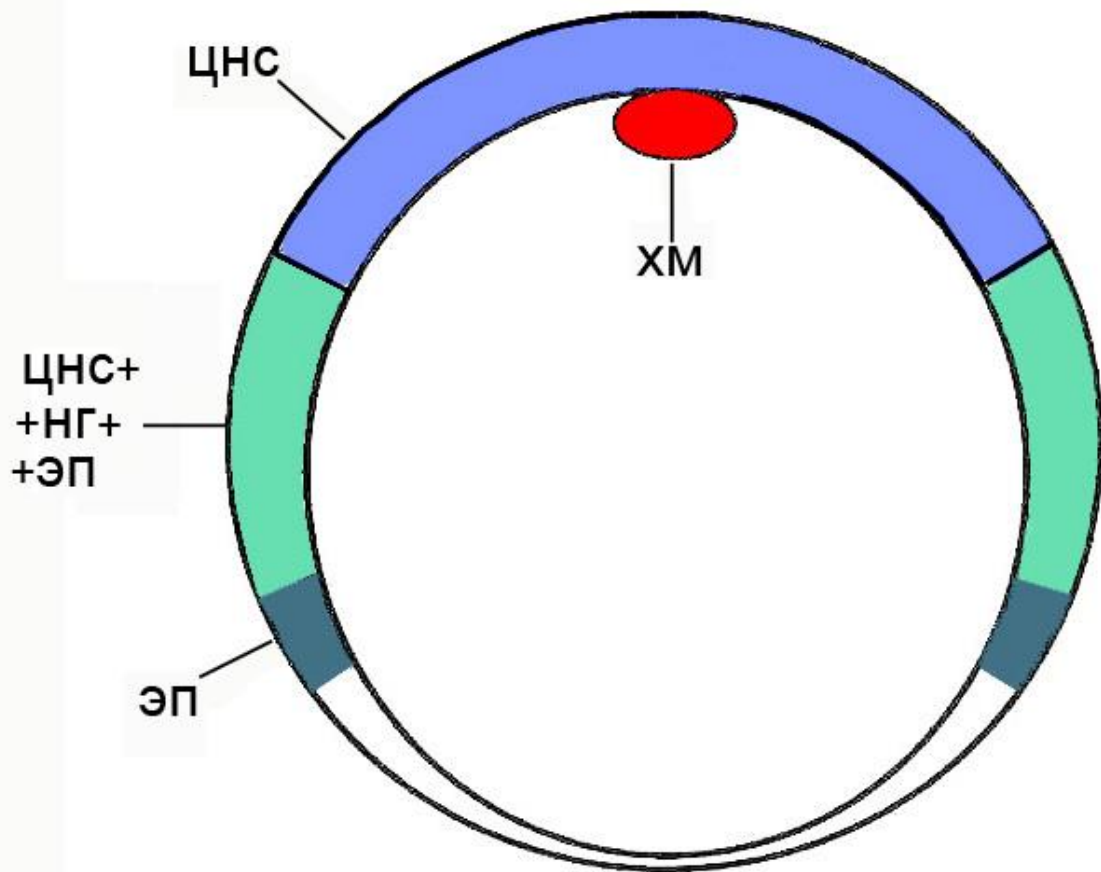
Осевой комплекс зачатков зародышей позвоночных включает: зачаток центральной нервной системы, как правило, в виде *нейральной трубки* (нт); *хорду* (х) – тяж плотно упакованных и сильно вакуолизированных клеток; примыкающую с двух сторон к хорде *параксиальную мезодерму*, разделенную на блоки клеток – *сомиты* (с) и *энтодермальный зачаток кишки* (зк). Последний у животных, развивающихся по меробластическому типу, приобретает трубчатое строение на относительно поздних стадиях онтогенеза. На фотографии поперечного среза эмбриона *Danio rerio* кроме уже упомянутых зачатков показаны: *перибласт* (пб) и *желток* (ж) в *желточном мешке*.

По Ефремов и др. (2006)



**Особенности нейруляции
у
костистых рыб**

Композиция эпибласта на поперечном разрезе зародыша по завершении обрастания



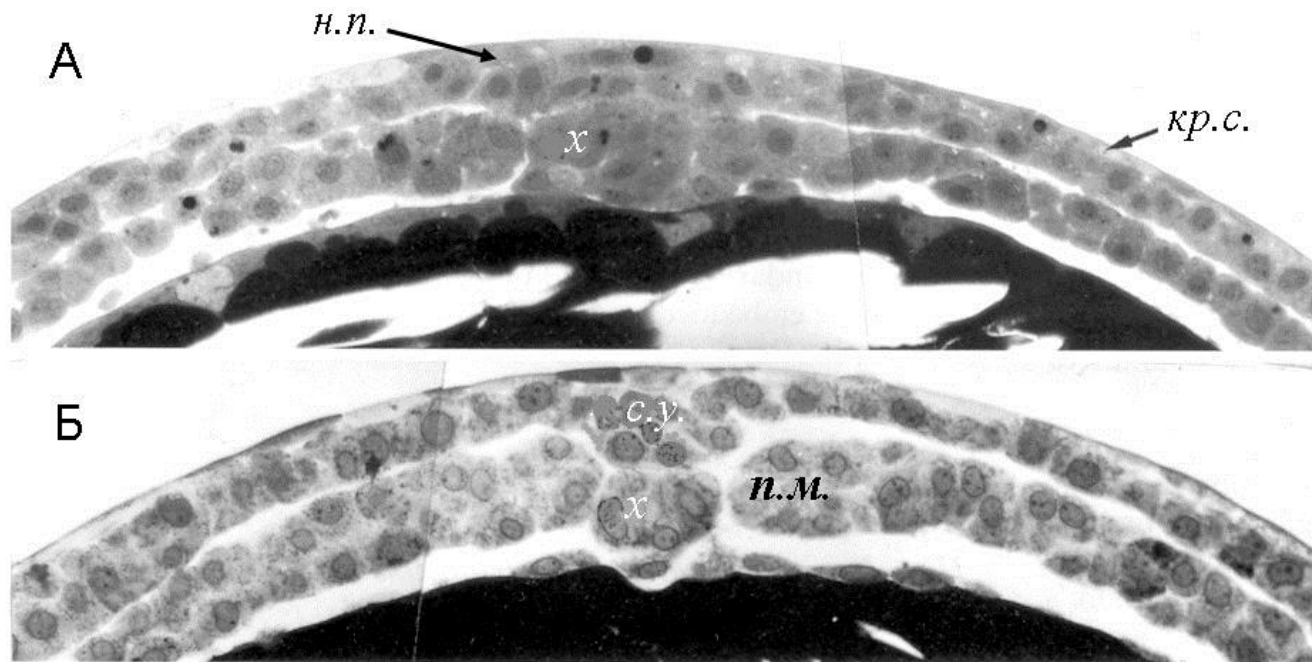
Разным цветом показаны перспективные судьбы клеток обозначенных регионов. Верхний сектор рисунка соответствует дорсальной стороне эмбриона.

Обозначения: нг – нейральный гребень; хм – хордомезодерма; цнс – материал будущего спинного мозга; эп – эпидермис.

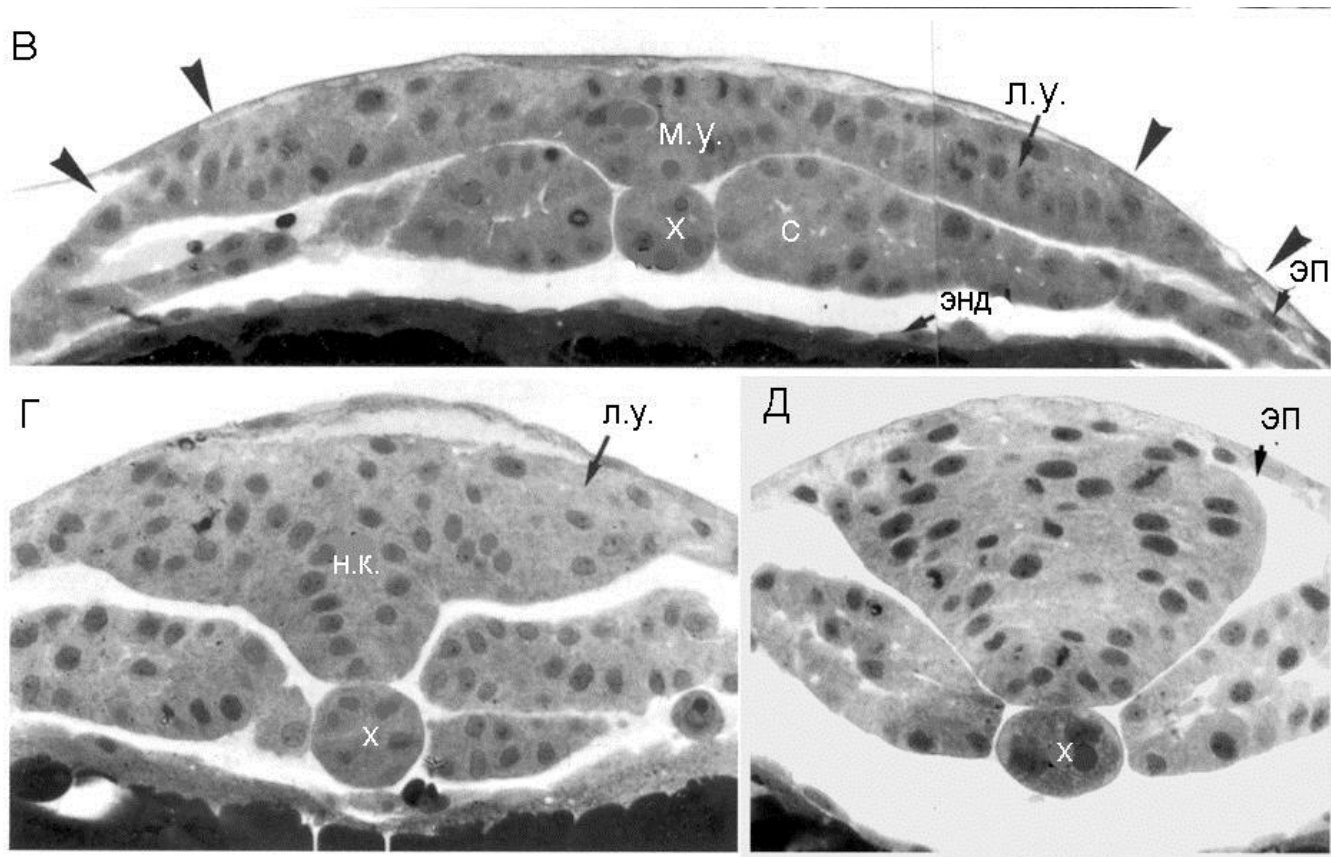
По мере развития в области эмбрионального щитка формируется тело зародыша, и оформляется осевой комплекс зачатков.

Нейруляция у костистых рыб в некоторых отношениях отличается от нейруляции у других позвоночных. Начинается процесс формирования ЦНС, как и у всех, с утолщения нейральной эктодермы и формирования нейральной пластинки, однако у них не наблюдается инвагинации нейроэктодермы с формированием нейральных валиков, а вместо нейральной трубки с первичным просветом образуется сплошное массивное своеобразной формы скопление клеток – нейральный киль. Нейроцель или центральный канал у зародышей костистых рыб развивается вторично *схизоцельным* способом в массиве ткани нейрального кия (тяжа).

Ранняя нейральная пластинка *Danio rerio*



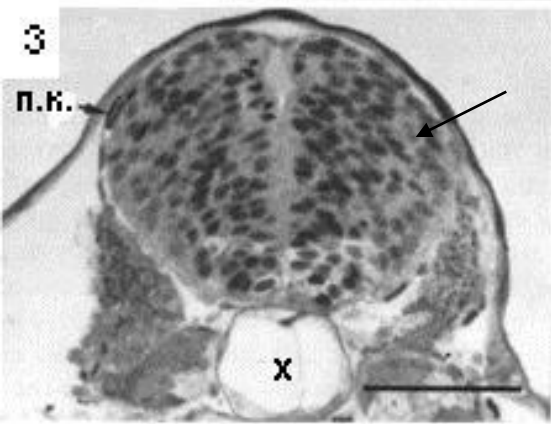
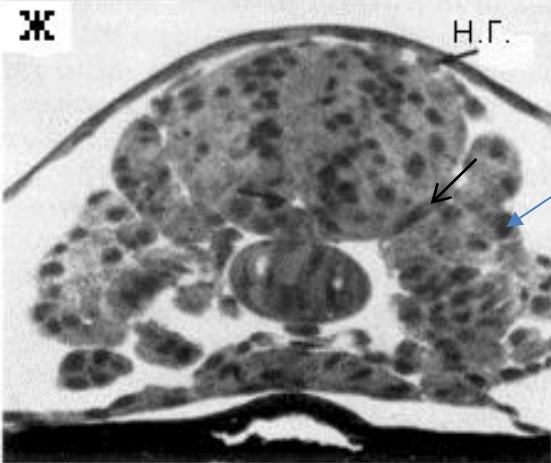
А. Стадия 90% обдукции – начало формирования нейральной пластинки (**н.п.**).
Б. Срединное утолщение (**с.у.**), примыкающее непосредственно к хорде (**х**), появляется на стадиях 95-100% обрастания. **кр.с.** – кроющий слой (будущая перидерма), **п.м.** – параксиальная мезодерма. По Schmitz et al., (1993)



В. Латеральные и медиальное утолщения (л.у. и м.у.) нейральной пластинки становятся видимыми на 2-х сомитной стадии, Г. Нейральный киль (н.к.) формируется в ходе 5-и – сомитной стадии; Д. На 14- сомитной стадии нейральный киль превращается в нейральный тяж клеток.

По Schmitz et al., (1993)

Заключительные этапы формирования нейральной трубки у *Danio rerio* в туловищном отделе



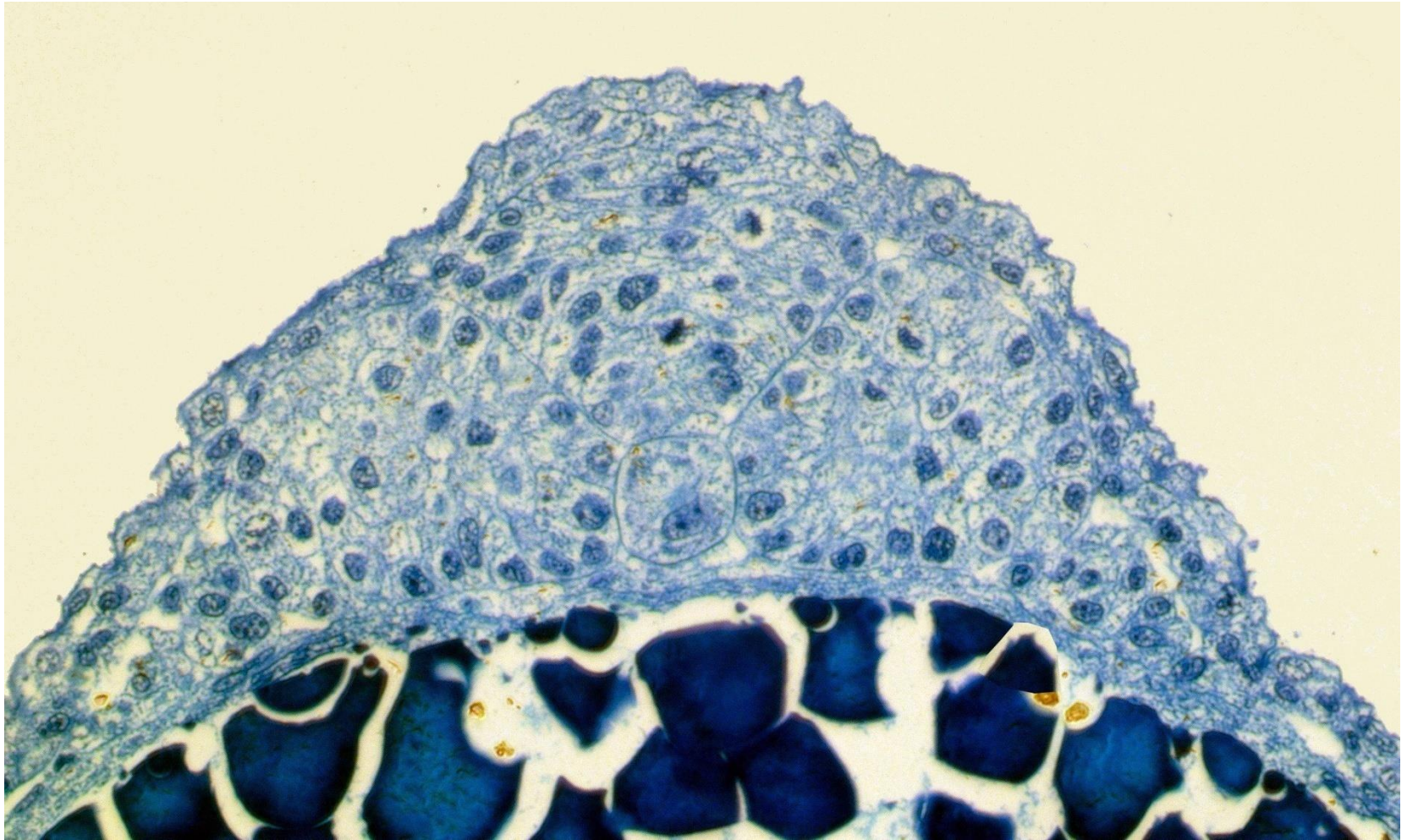
Е – стадия 14 сомитов; заканчивается формирование нейрального кила, который превращается в нейральный тяж клеток и обрастание его эпидермисом (эп); начинаются выселение и миграции клеток нейрального гребня (н.г.).

Ж – 20-сомитная стадия; появляются первые признаки нейроцелля (белая стрелка).

З – 30-сомитный зародыш; завершается образование нейроцелля. Обратите внимание на сильную вакуолизацию хорды (х)

По Schmitz et al., (1993

)



Danio rerio. 15 пар сомитов. Туловищная область перед концевой почкой. Поперечный полутонкий срез, окрашенный метиленовым синим с бурой. Хорошо видны не только границы клеток, но и очертания отдельных зачатков.

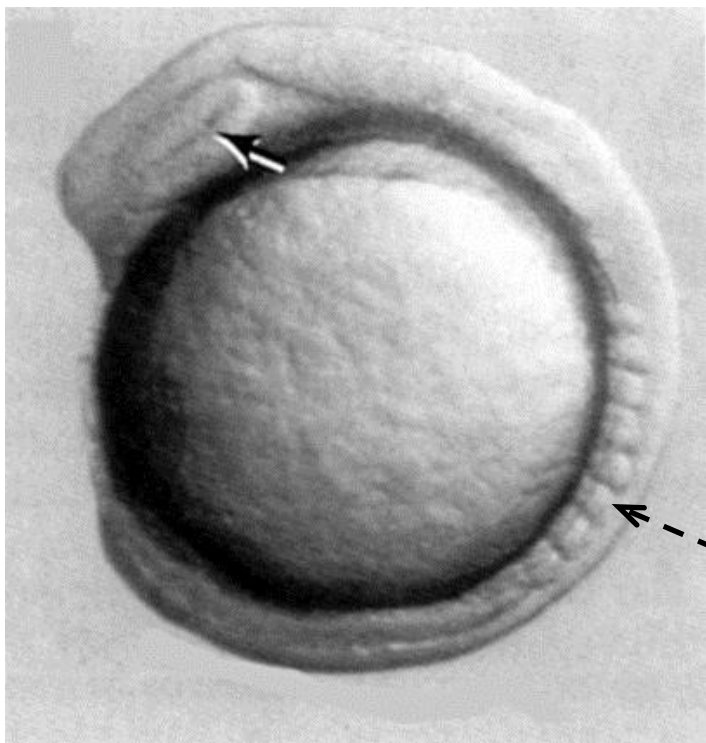
По Борисенко (2006)

РАЗВИТИЕ МЕЗОДЕРМЫ У КОСТИСТЫХ РЫБ

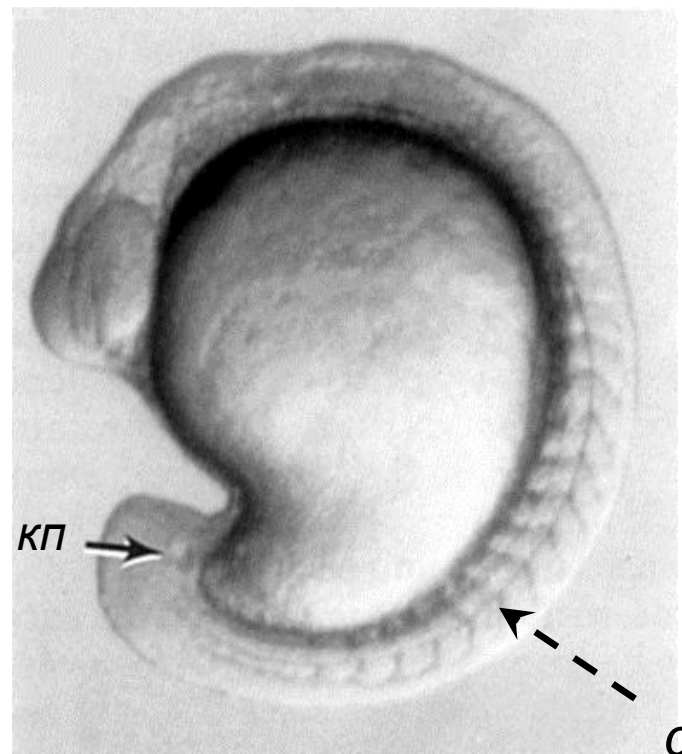
Сегментация параксиальной мезодермы (сомитогенез) никак не связана с прогрессом обдукции (эпиболии). Например, у *Danio rerio* первые сомиты образуются сразу после завершения обрастания желтка, у зародышей лососёвых к моменту закрытия желточной пробки в теле насчитывают уже около 30 пар сомитов. Сомиты возникают последовательно один за другим в переднезаднем направлении. Первые несколько пар сомитов формируются быстрее (у Данио в среднем через 20 минут), последующие образуются с интервалом 30 минут на сомит. Оформление каждого сомита сопровождается эпителизацией его поверхностного слоя клеток. Эпителий окружает сердцевину из клеток мезенхимной организации. Подавляющее большинство внутренних клеток в каждом сомите будут формировать *миотом* или *мышечный сегмент*. Миотомы в ходе развития сохраняют метамерную организацию. Вскоре после своего образования миотомы приобретают характерную *форму шевронов*. Соседние миотомы отделены друг от друга поперечными миосептами из соединительной ткани.

Хорда также дифференцируется в переднезаднем направлении. Некоторые из её клеток вакуолизируются и набухают, превращаясь в структурные элементы этого органа. Другие клетки позже формируют футляр в виде эпителиального монослоя, окружающего орган.

Сомитогенез у *Danio rerio*

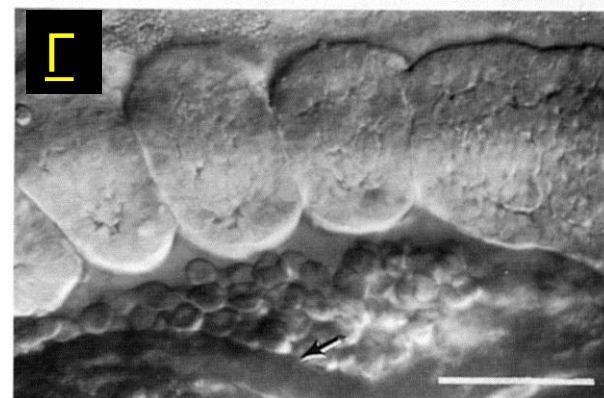
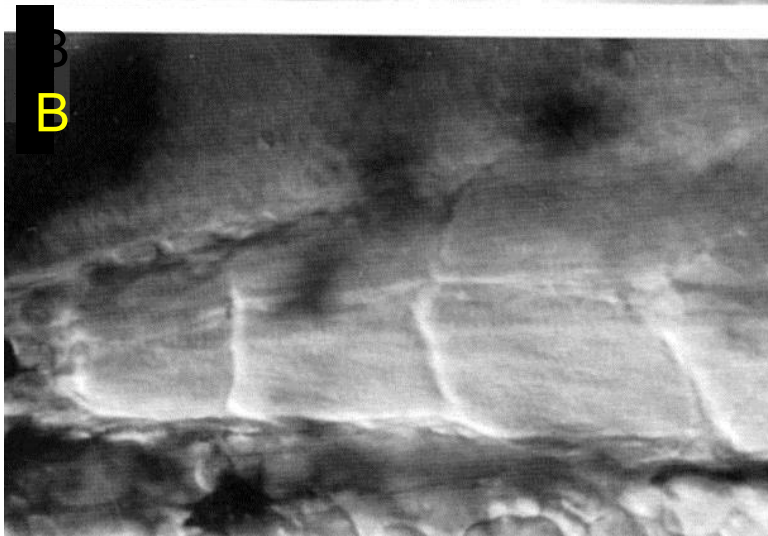
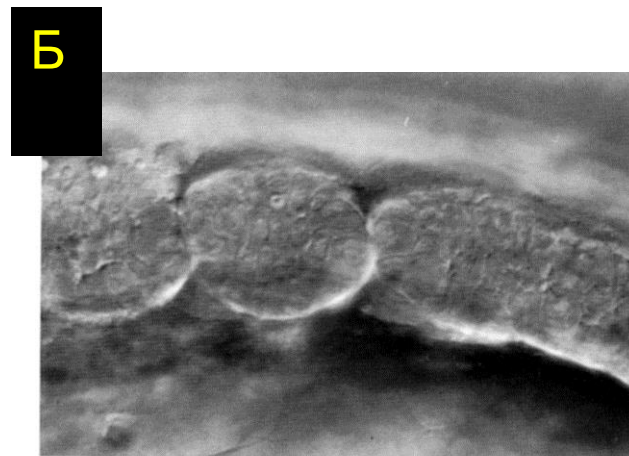


Стадия 8 пар сомитов



Стадия 15 пар сомитов

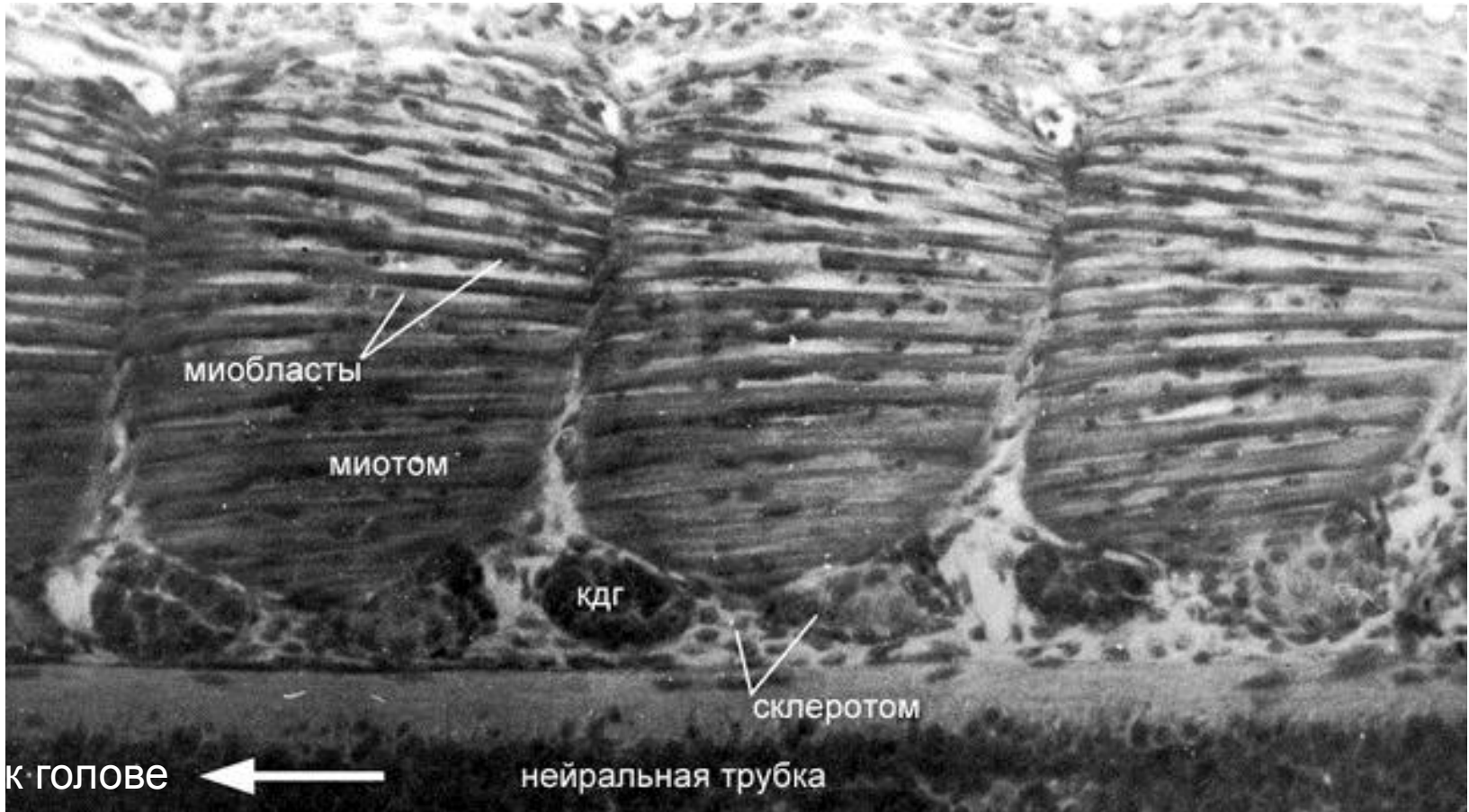
Морфогенез сомитов *Danio rerio*



Пояснения к предыдущему слайду

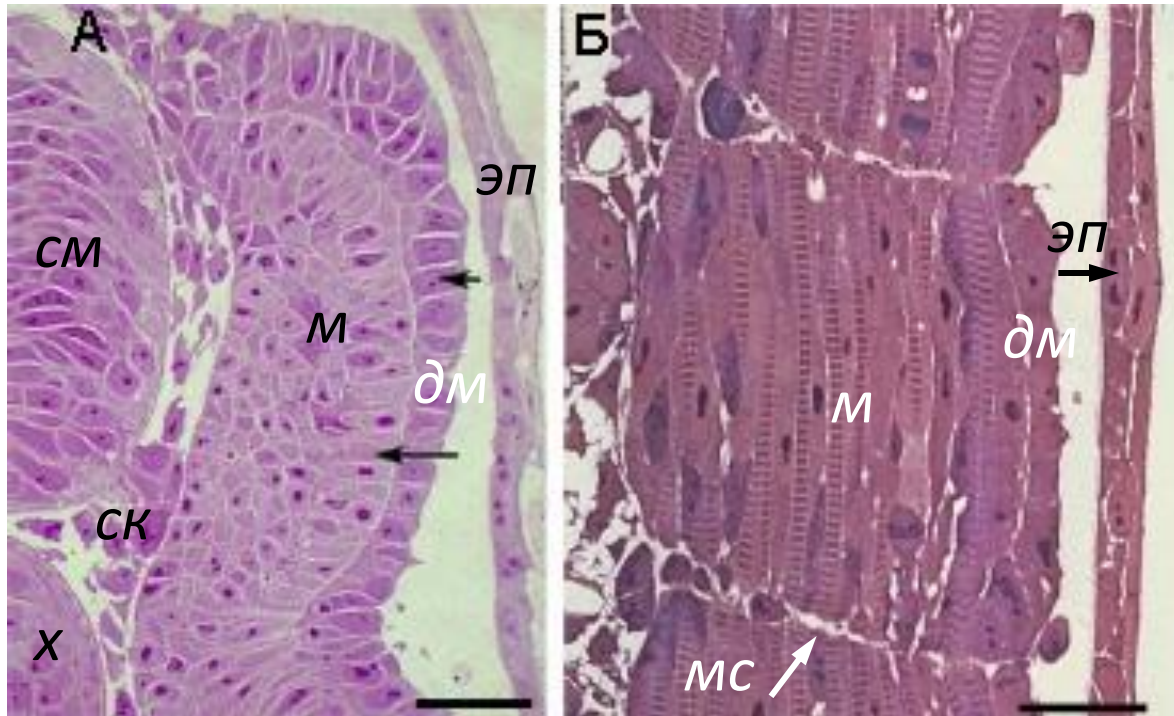
Морфогенез сомитов (вид с левой стороны, спина обращена вверх, передний конец слева). **А:** передние (1-3) сомиты у зародыша на 9-сомитной стадии (13,5 ч). **Б:** задние (8-9) сомиты у того же зародыша. Десятый сомит только начинает оформляться и представляет собой округлый участок сегментарной пластинки параксиальной мезодермы. **В:** миотомы 1-3, развившиеся из первых трех сомитов (ср. с А). Стадия 30 ч п/о. Заметны поперечные и продольная *миосепты* и дифференцированные *миофибриллы*, вытянутые на всю длину миотома. При большем увеличении хорошо видна их поперечная исчерченность. Задние миотомы имеют более выраженную *форму шевронов*. **Г:** задние три сомита на 19-сомитной стадии (сопоставить с Б). 20-й сомит, отделяющийся от сегментарной пластинки, выглядит более эпителизованным, чем такой же сомит на более ранней стадии. Передний (17-й) сомит из представленной группы уже имеет форму *шеврона*. Сомиты лежат над развивающимися клетками кровяных островков, расположенными выше зачатка *пронефрического протока* (показан стрелкой), который на этой стадии еще не имеет центрального просвета. Сомиты, созревая, превращаются в миотомы и значительно вытягиваются вдоль переднезадней оси, поэтому уже через 24 ч п/о 17-й миотом оказывается над окончанием пронефрического протока, а к концу эмбриогенеза в том же положении оказывается 15-й миотом.

Модификация и дифференцировка сомитов



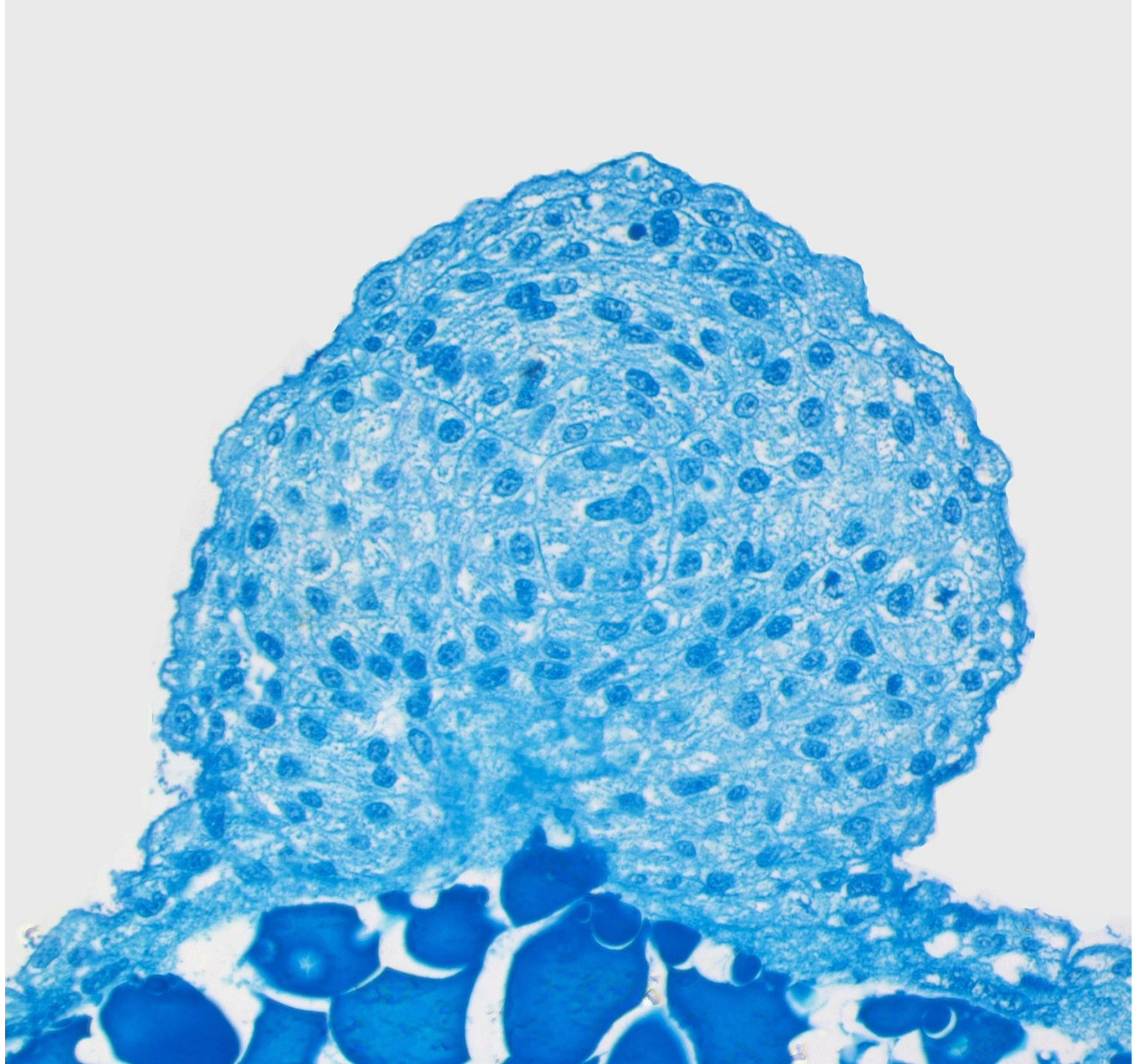
Сегментация у лосося (*Salmo*), продольный срез. В отличие от зародышей амниот сомиты у этих рыб, как и у амфибий состоят, главным образом, из миотомов. Каждый *склеротом* представлен маленькой группой клеток, расположенной между нейральной трубкой (на срезе она показана внизу) и высоким миотомом. Дорсальный корешок ганглия (*кдг*) проходит через переднюю половину такого маленького склеротома. Видно, что каждый миотом состоит из вытянутых в длину миобластов.

Модификация и дифференцировка сомитов у *Salmo*

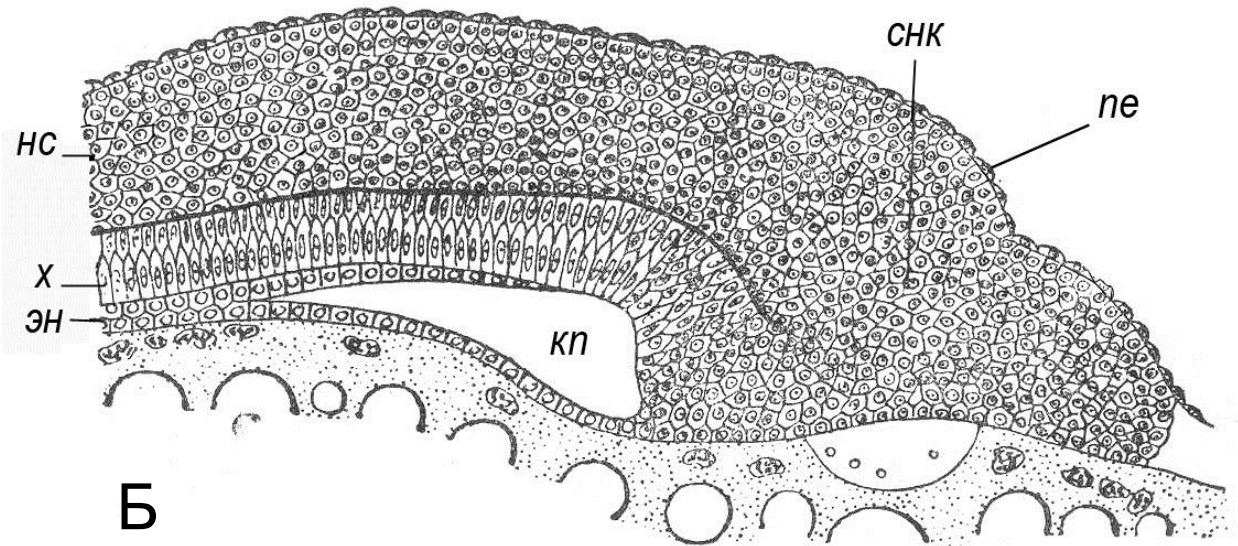
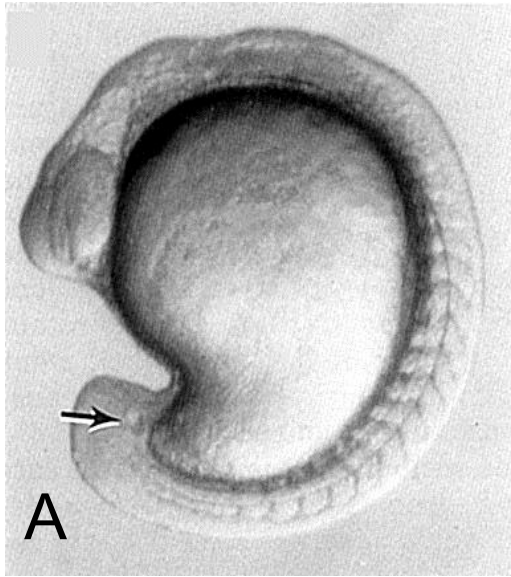


Для зародышей Лучеперых рыб характерно наличие в модифицированном сомите слоя недифференцированных клеток на поверхности миотома. Этот слой вместе с поверхностным слоем дифференцированных миофибрилл миотома (м) образует дермомиотом (дм).

(А) Полутонкий поперечный срез позади анального отверстия зародыша лосося *Salmo trutta*, на стадии 55-60 сомитов. Внешние по отношению к миотому клетки образуют хорошо различимый кубический эпителий. (Б) Полутонкий фронтальный срез через зародыш на той же стадии и на том же уровне. «Внешние клетки» не вытянуты и не имеют признаков миогенной дифференцировки. Поверхностные и глубинные клетки имеют миофибрильную исчерченность. ск – склеротом, см – спинной мозг, х – хорда, эп – эпидермис. На фронтальном срезе стрелкой обозначена миосепта.



Концевой отдел тела раннего зародыша Teleostei



А. Зародыш *Danio rerio* на стадии 15 пар сомитов. Задняя оконечность тела на этой стадии представлена утолщенной несегментированной массивной областью, заметно выступающей за пределы общего контура тела. Примечательной чертой этой области у зародышей Teleostei является *купферов пузырек* (стрелка), По Kimmel et al. (1995). **Б.** Изображение сагиттального среза концевой отдела тела зародыша ручьевой форели, *Salmo fario* на стадии перед замыканием желточной пробки. *кп* – купферов пузырек; *нс* – нейральный зачаток; *пе* – перидерма; *снк* – концевое скопление недифференцированных клеток; *х* – хорда; *эн* – кишечная энтодерма.

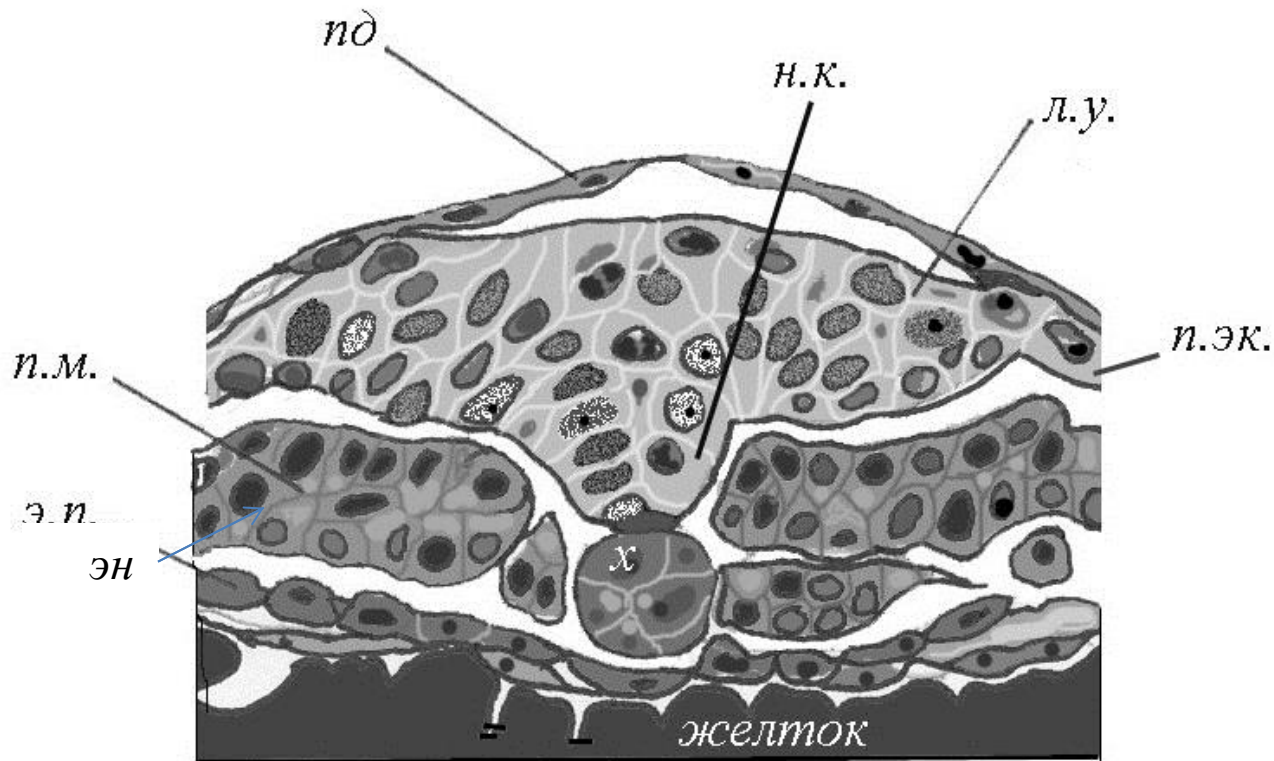
Из Иванов (1937)

Формирование кишечной трубки у
Danio rerio

Кишечная энтодерма становится морфологически различимой в начале сегментации. Причем, вначале лишь немногие из разрозненных клеток можно определить как энтодермальные исключительно по их положению вдоль средней линии и по их контактам с перибластом. С течением развития количество этих клеток увеличивается, они располагаются компактно, приобретая вид эпителиальной пластинки. В дальнейшем в передних отделах тела (до уровня будущей печени) *энтодермальная пластинка* начинает отделяться от перибласта. В области будущего жаберного отдела пластинка образует шесть пар боковых выростов, в которых вскоре появляются полости. Это *жаберные карманы*. Обособление энтодермальной пластинки сопровождается врастанием между нею и перибластом мезенхимы, из которой будет формироваться *эндокард сердца*. Затем в эту зону прорастают большие участки спланхнотомов в виде полых мешков, сливающихся друг с другом, образуя перикард и миокард.

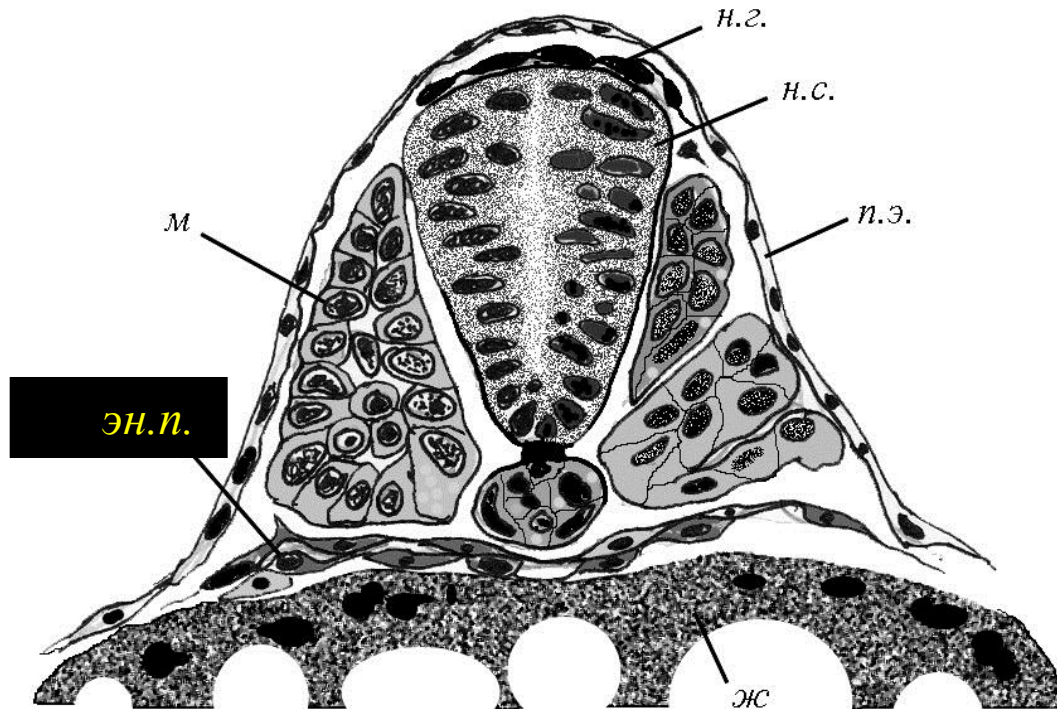
Одновременно происходят реаранжировки клеток энтодермальной пластинки, в результате которых клетки медиальной группы вначале выстраиваются в виде веера, который постепенно преобразуется в розетку с центральным каналом (★). Этот центральный просвет постепенно расширяется, и компактный вытянутый вдоль тела зародыша зачаток превращается в кишечную трубку.

Развитие энтодермы у Teleostei



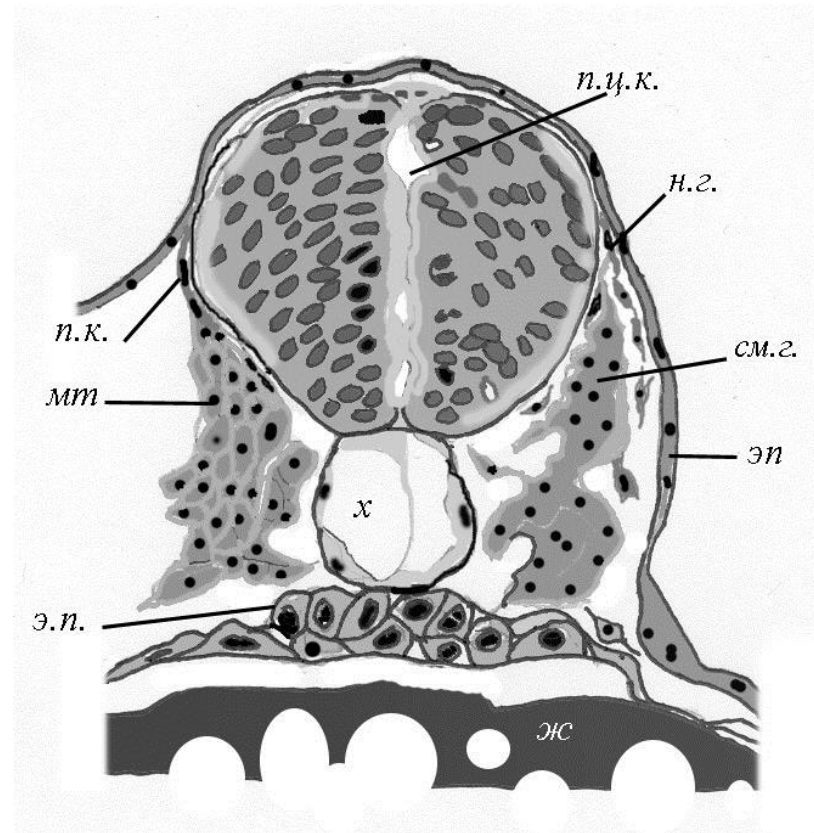
Данио. Средняя нейрула (поперечный срез). Обозначения: *pd* – перидерма; *н.к.* – срединное утолщение (нейральный киль); *л.у.* – латеральные утолщения; *п.эк.* – покровная эктодерма; *п.м.* – параксиальная мезодерма; *х* – хорда; *эн* – энтодермальный слой.

Формирование энтодермальной пластинки



Danio rerio. Нейруляция (стадия нейрального тяжа). н.г. – нейральный гребень, н.с. – нейральный тяж, п.э. – покровная эктодерма, эн.п. – энтодермальная пластинка, м - миотом

Формирование энтодермальной пластинки



Данио. Поздняя нейрула (поперечные срезы).

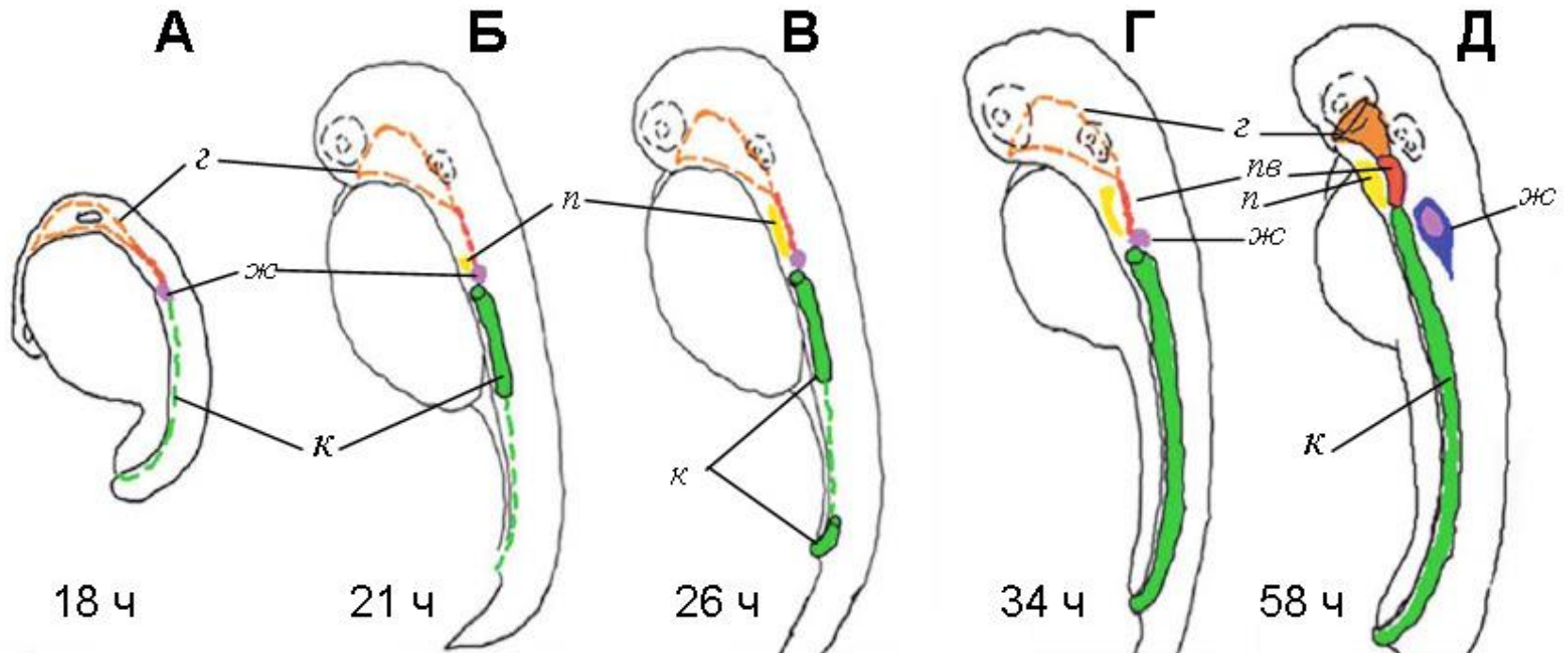
Обозначения: *п.ц.к.* – полость центрального нейрального канала; *эп* – эпидермис; *н.г.* – материал нейрального гребня; *см.г.* – спинномозговой ганглий; *мт* – миотом; *х* – хорда; *э.п.* – энтодермальная пластинка.

Одна из примечательных особенностей нотогенеза Костистых рыб состоит в том, что элементы рострального отдела пищеварительной системы (глотка и пищевод) возникают и оформляются в трубчатые структуры позднее и отдельно от первичной кишки и, следовательно, не являются первоначально её частями. Их смыкание с кишкой происходит уже после вылупления в процессе разрастания кишечной трубки в переднем направлении (★).

Схема морфогенеза пищеварительной системы *Danio rerio* (слайд 107).

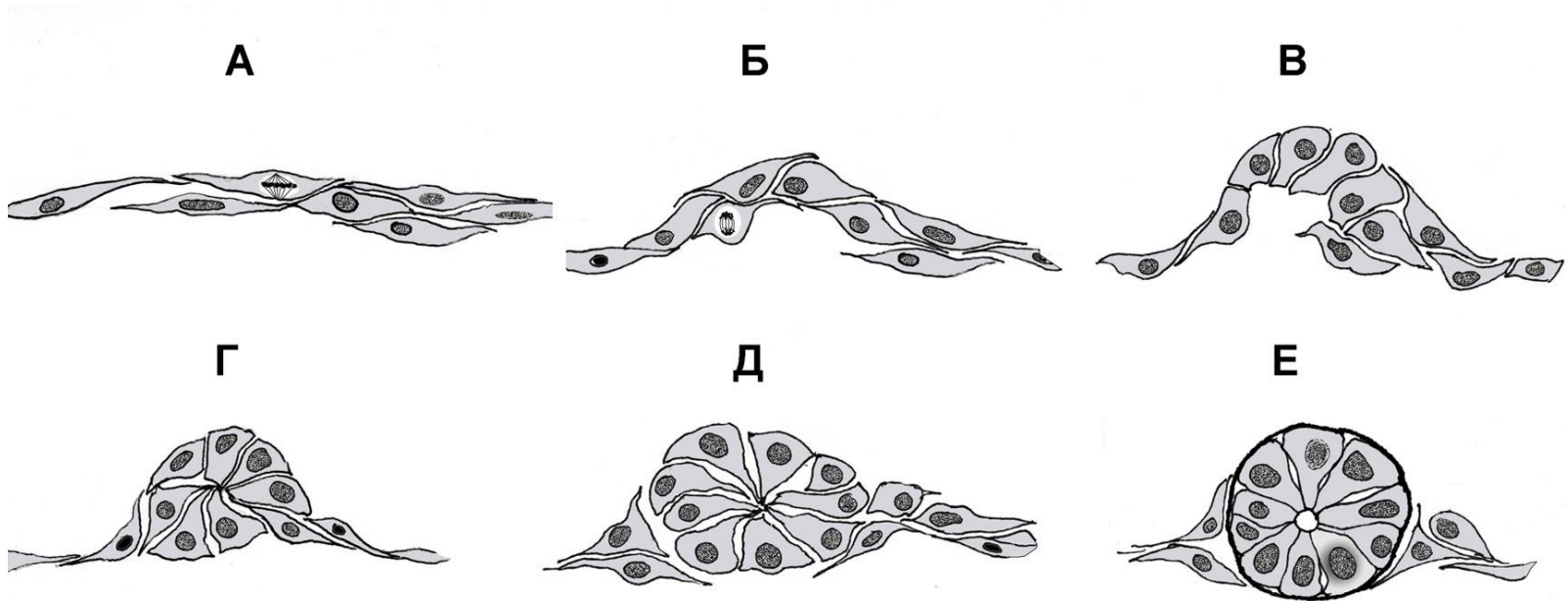
(А) Локализация клеток - предшественников глотки (г – оранжевый), поджелудочной железы (ж - пурпурный) и кишки (к – зелёный) на стадии 18 п.с. (18 часов после оплодотворения) может быть определена только по экспрессии генов-маркеров. (Б) На стадии 21 час после оплодотворения кишка сформировалась и может быть определена область локализации клеток-предшественниц печени (п – желтый). (В) Через пять часов образуется задняя кишка. (Г) К 34 часам развития произошло соединение двух фрагментов кишечной трубки, передний участок которой к этому времени достигает области почки грудного плавника; но оформленные зачатки глотки и пищевода еще отсутствуют. (Д) Через 58 часов после оплодотворения глотка, пищевод (пв – красный) и разросшаяся кишка соединяются в единую структуру.

Схема морфогенеза пищеварительной системы *Danio rerio*



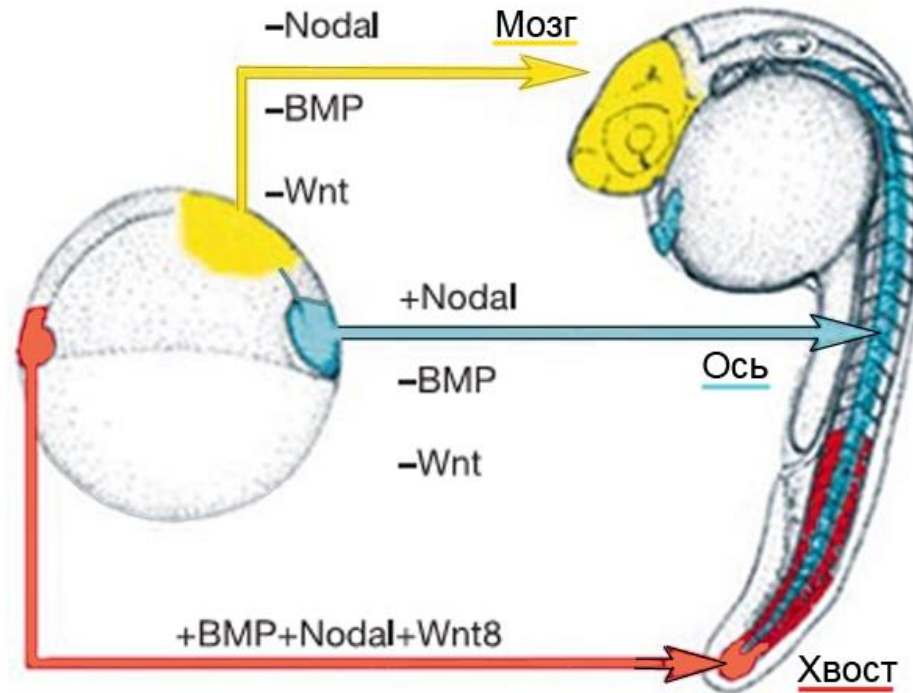
(А) Локализация клеток-предшественников глотки (г – оранжевый цвет), поджелудочной железы (ж – пурпурный) и кишки (к – зеленый) на стадии 18 п.с. (18 часов п.о.); (Б) На стадии 21 час п.о. сформировалась средняя кишка, и может быть определена область локализации клеток-предшественников печени (п – желтый). (В) Через 5 часов образуется задняя кишка. (Г) К 34 часам развития произошло соединение двух фрагментов кишечной трубки. (Д) Через 58 часов п/о глотка, пищевод (пв – красный) и разросшаяся кишка соединяются в единую структуру.

Поляризация и реаранжировки энтодермальных клеток при формировании кишечной трубки у зародышей *Danio rerio*



(А) Слой клеток кишечной энтодермы на стадии 14 пар сомитов; (Б) Наслоение клеток энтодермы в медиальной зоне (стадия 16 п.с.); (В) Начинающаяся апико-базальная поляризация клеток и смыкание боковых участков пластинки (стадия 18 п.с.); (Г) и (Д) Замыкание краев двухслойной пластинки в цилиндрический тяж (стадии 22 и 26 п.с.); (Е) Завершение эпителизации (появление базальной мембраны) и центрального просвета кишечной трубки (стадия 34 пары сомитов).

Молекулярная природа «организатора» хвоста у *Danio*

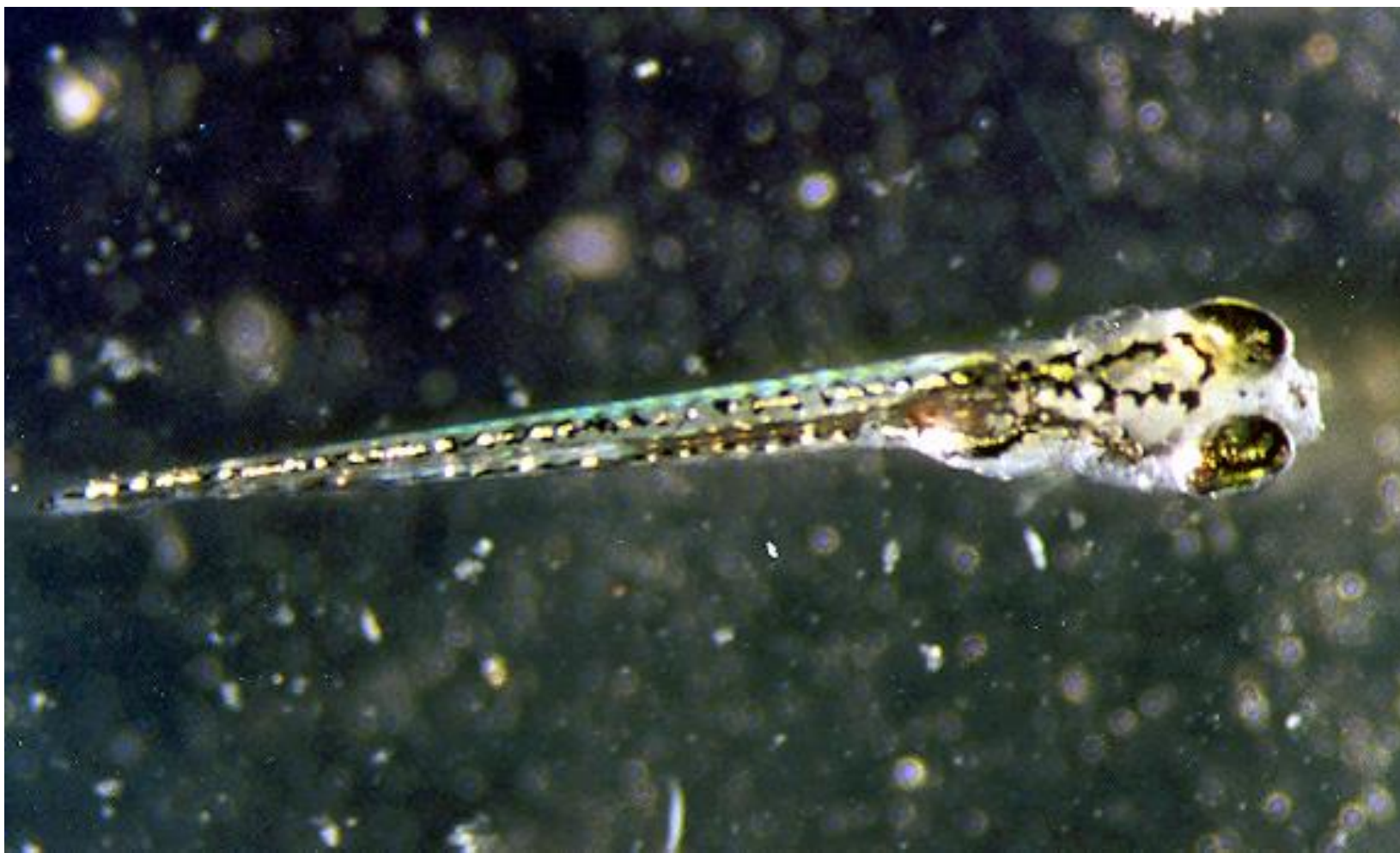


Спецификация отделов тела зародыша *Danio* определяется уже на стадии зародышевого щитка путями сигналинга BMP, Nodal и Wnt. Формирование головы есть результат подавления всех трех путей (BMP, Nodal и Wnt). Образование туловищной оси (прехордальной пластинки, хордомезодермы и нейральной трубки туловища) есть следствие ингибирования BMP, Wnt и стимуляции Nodal. Развитие хвоста зависит от активирования всех трёх путей сигналинга.

48 часов после оплодотворения -
вылупление *Danio rerio*



Окончание презентации



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ