

В. Ефремов

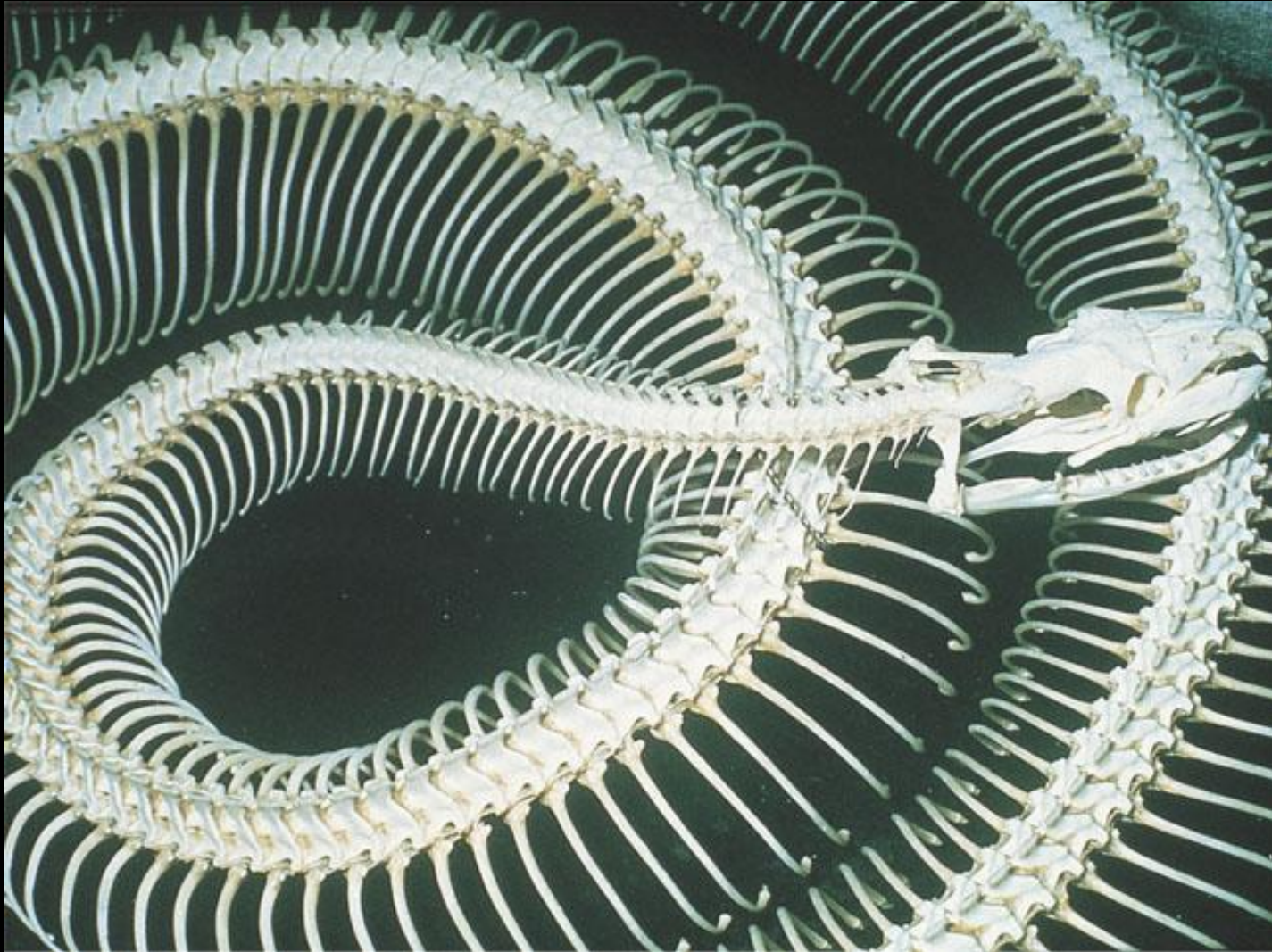
Сравнительная эмбриология ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

2018 г

Эмбриология позвоночных
животных
(Vertebrata)

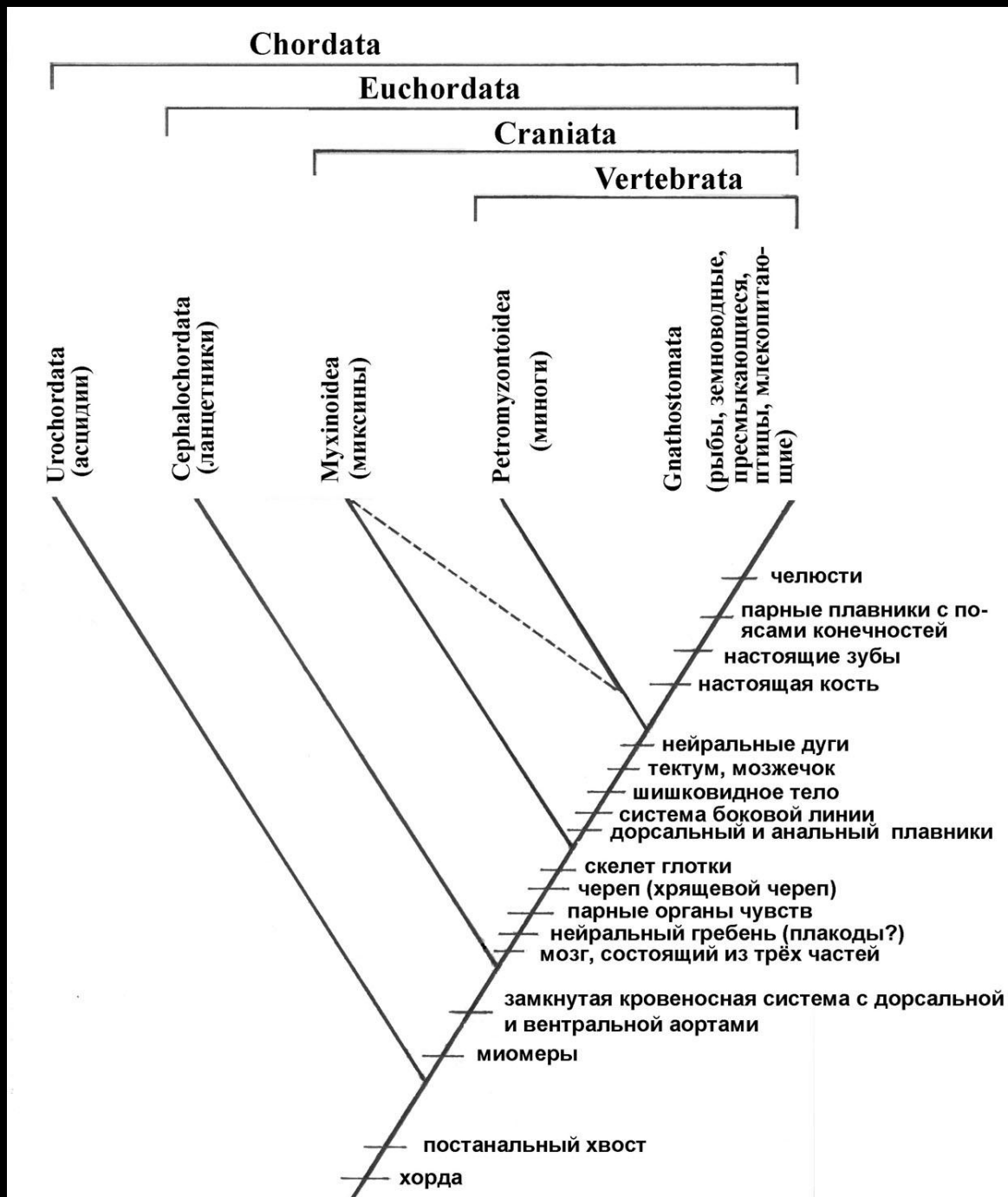
Развитие костистых рыб
(Teleostei)

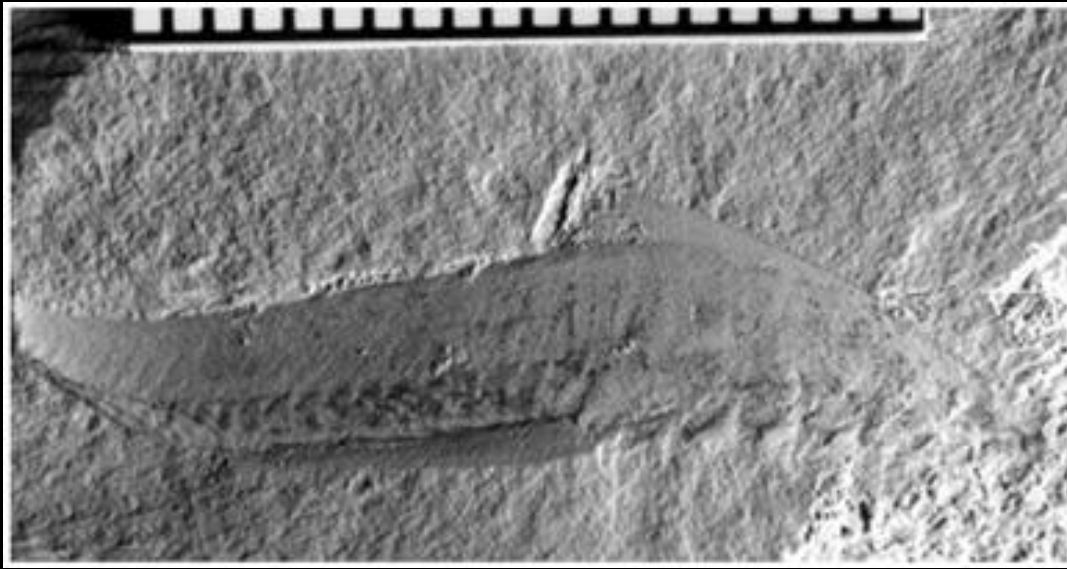
Своим названием эта группа животных обязана осевому скелету (позвоночнику)



Инновации у Позвоночных

Позвоночные более сложно организованы и на генетическом, и на морфологическом уровнях по сравнению с беспозвоночными. У них возникли новые клеточные системы, такие, как *нейральный гребень* и *плагоды* и необыкновенно усложнились другие ткани, например, *мозг*. К тому же, позвоночные, благодаря дублированию (копированию) соответствующих генов в ходе ранней эволюции приобрели значительно большее число семейств **транскрипционных факторов** и **сигнальных молекул**.

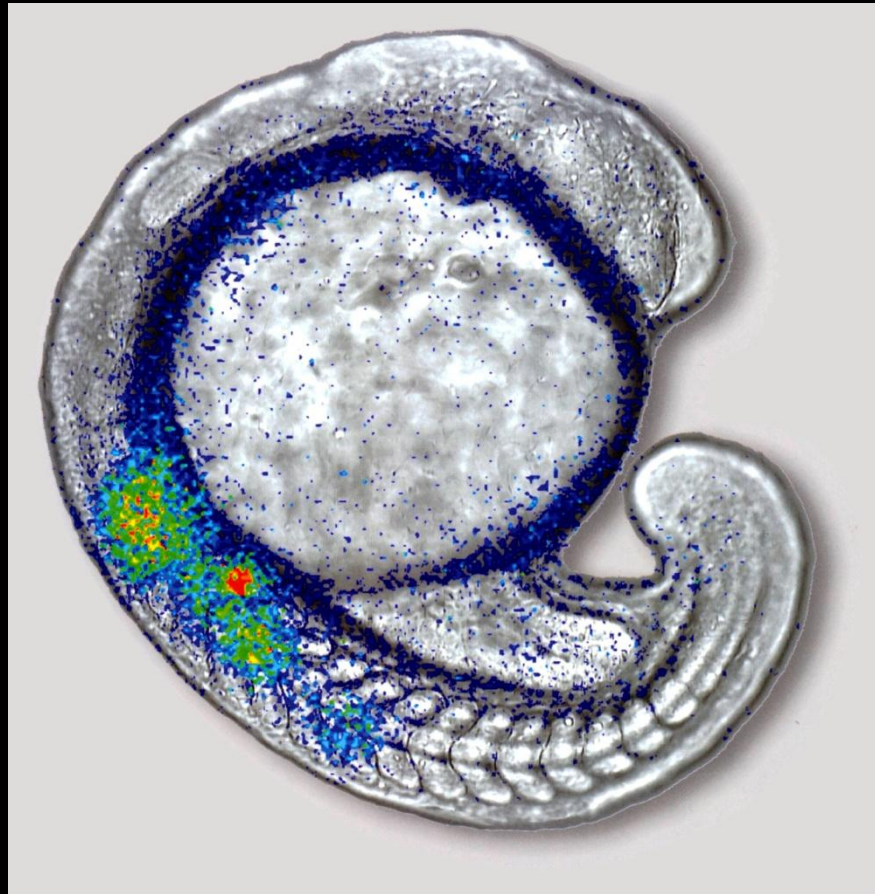




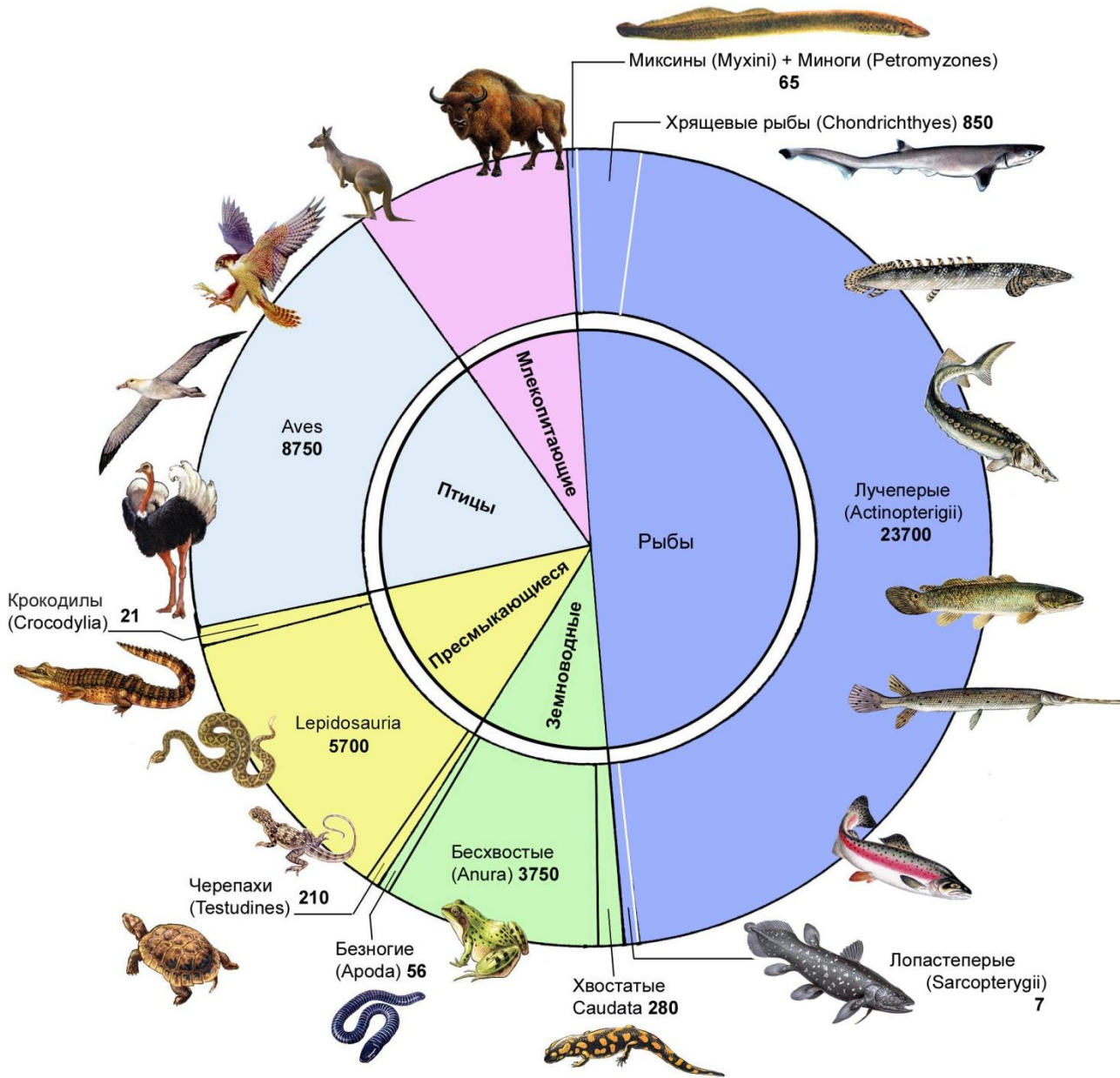
Отпечаток в аргиллите *Myllokunmingia* – одного из представителей Ченджангской (Chengjiang) фауны – формы, лежащей в основе ветви Craniata – Vertebrata. Возраст 520 – 525 миллионов лет (Ранний Кембрий)

Изображение реконструированного предка Craniata – *Myllokunmingia* из раннего Кембрия





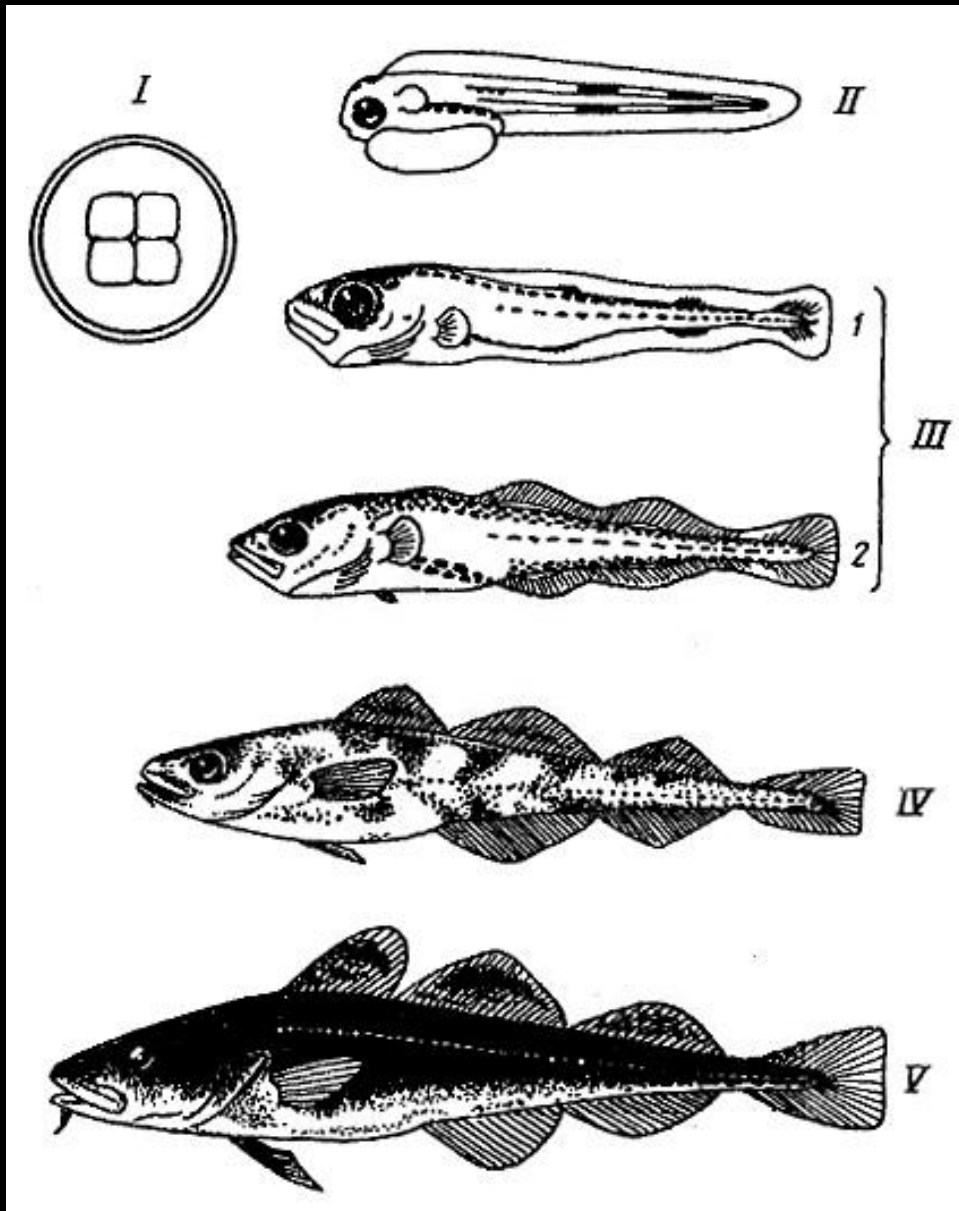
*Эмбриональное развитие
Костистых рыб (Teleostei)*



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.

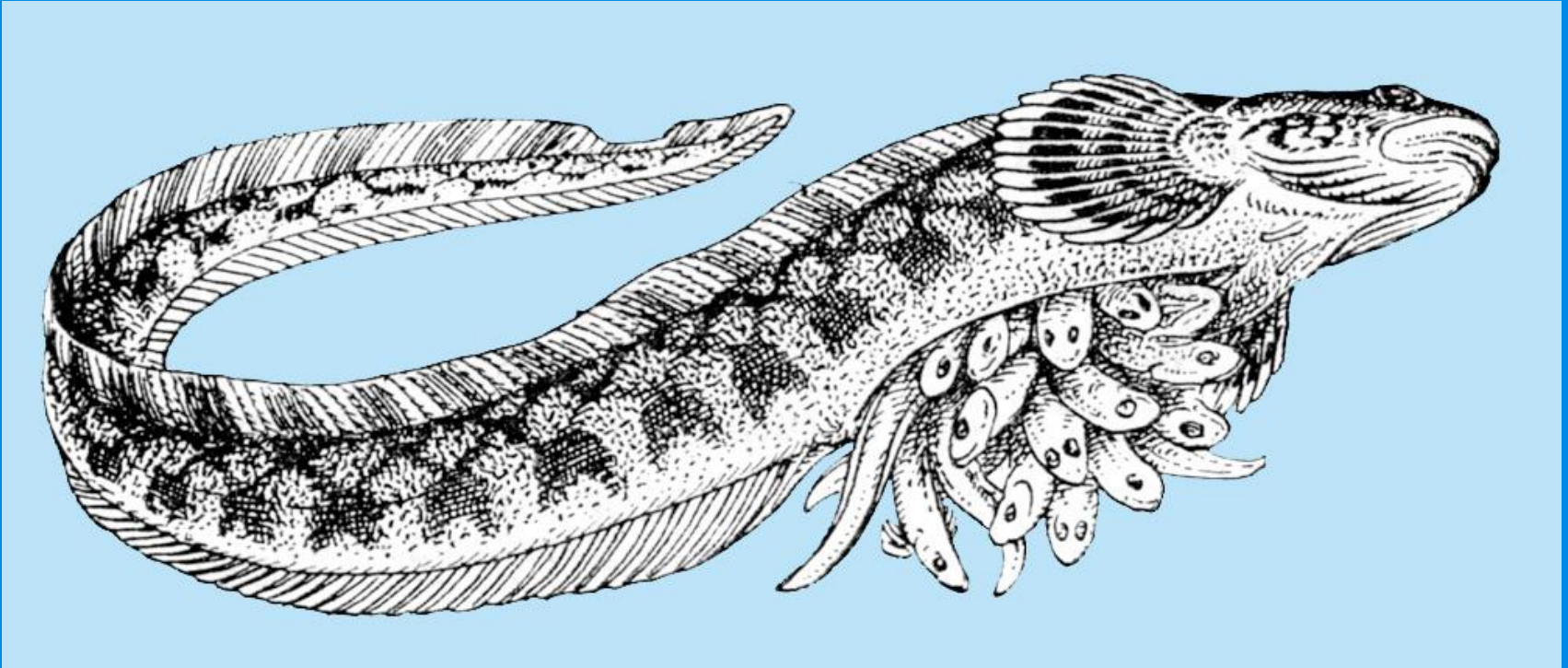
Костистые рыбы – наиболее преуспевающая группа позвоночных животных. Они широко распространены во всех акваториях земного шара, заселяя как солоноводные, так и пресноводные водоемы.

Жизненный цикл трески, *Gadus morhua*



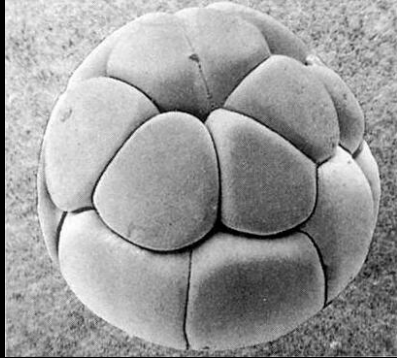
- I. Эмбриональный период.** Развитие происходит в яйцевых оболочках при эндогенном питании за счет желтка
- II. Зародыш вскоре после вылупления (предличинка).** Свободно плавающий зародыш характеризуется наличием остатков желточного мешка, непарной плавниковой складкой
- III. Личинка:** наличие личиночных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

Живорождение у Костистых рыб

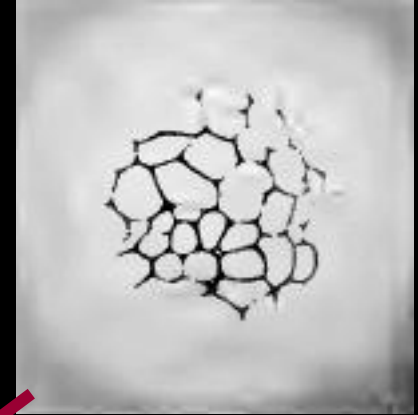
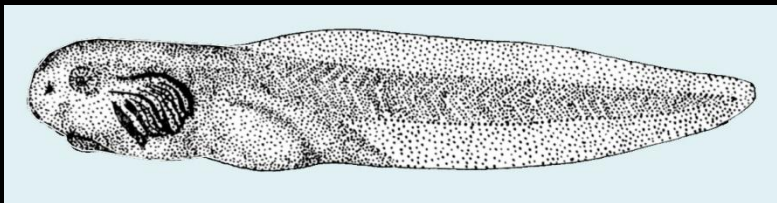
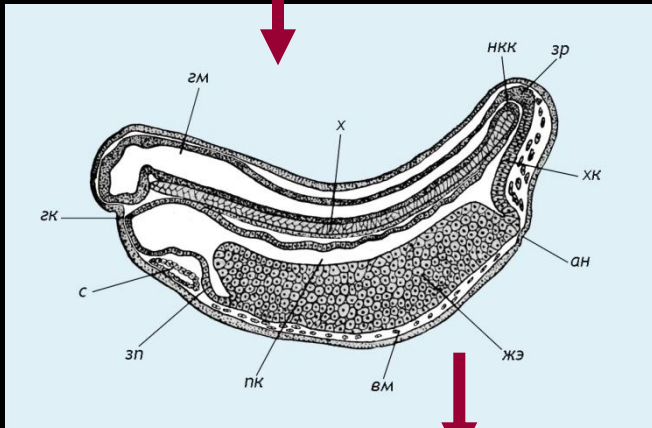


- Репродуктивным модусом Европейской бельдюги (*Zoarces viviparus*) является живорождение. В эмбриональном развитии этой рыбы различают два периода: развитие внутри икринки и развитие выклюнувшейся в полости яичника личинки

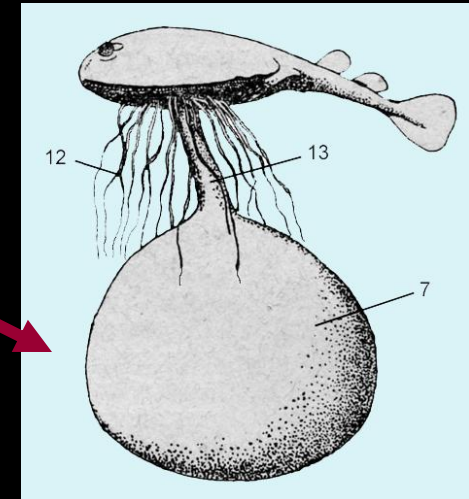
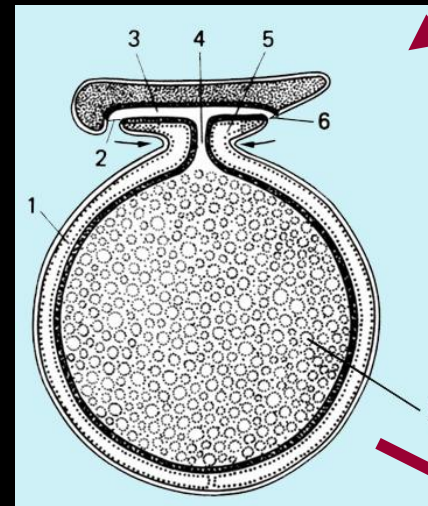
ГОЛОБЛАСТИЧЕСКИЙ И МЕРОБЛАСТИЧЕСКИЙ ТИПЫ РАЗВИТИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ



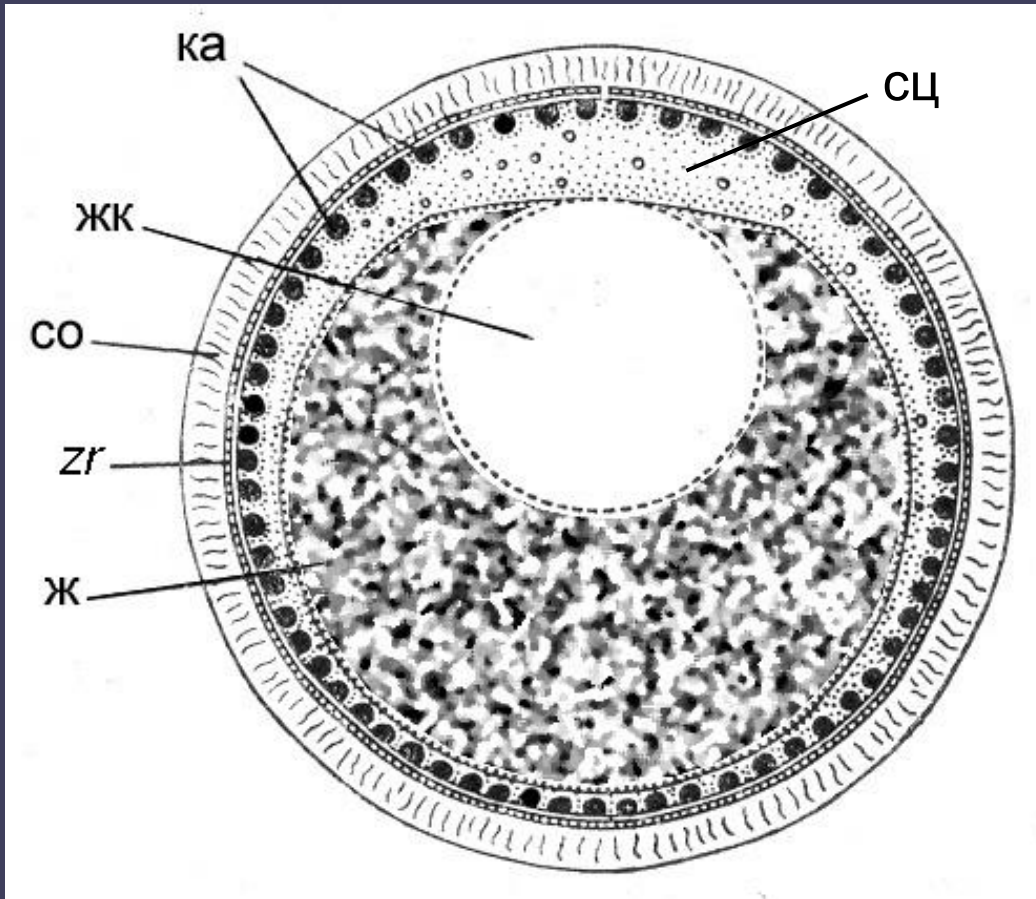
ГОЛОБЛАСТИЧЕСКОЕ
РАЗВИТИЕ



МЕРОБЛАСТИЧЕСКОЕ
РАЗВИТИЕ

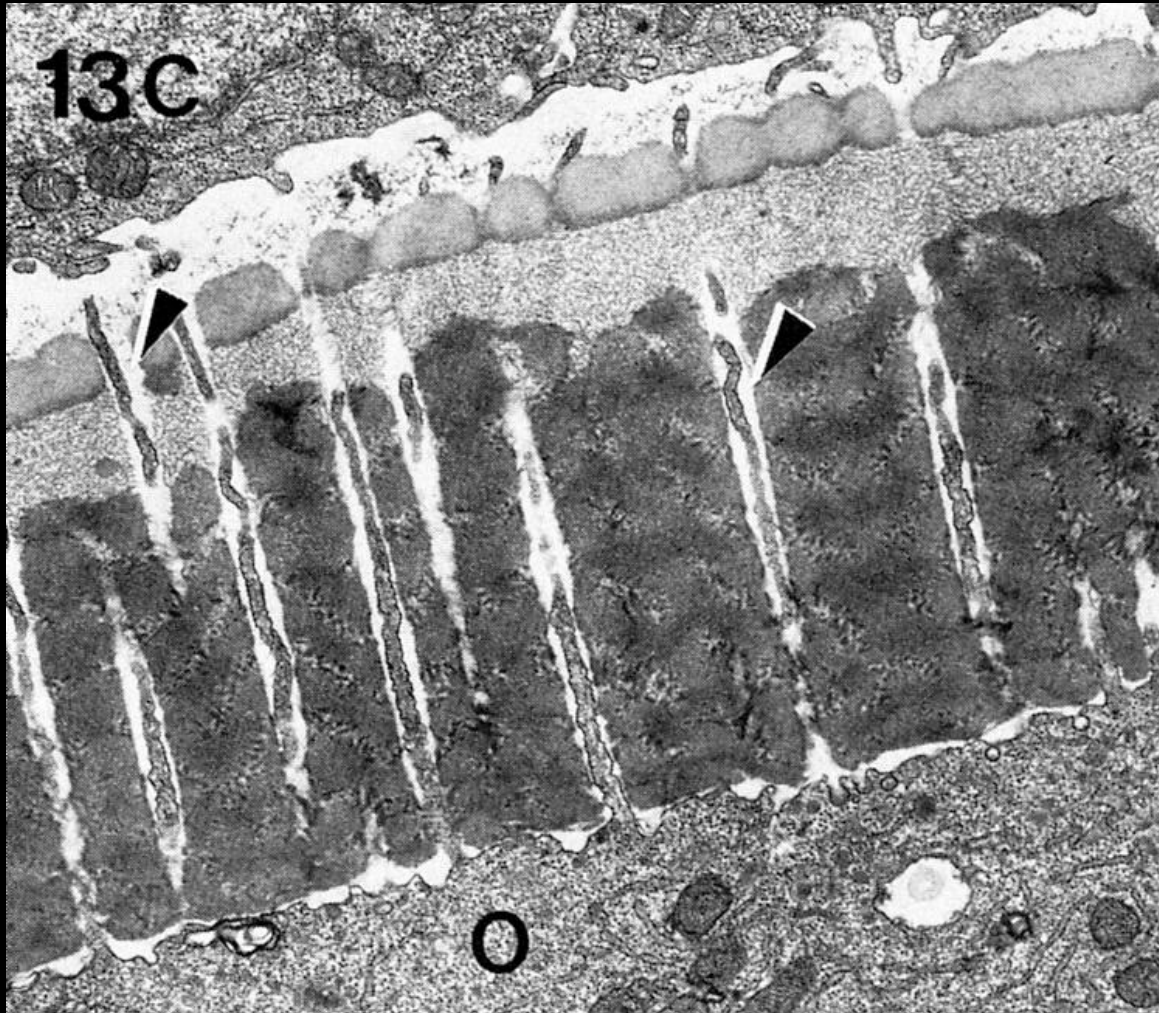


Зрелая яйцеклетка Костистой рыбы



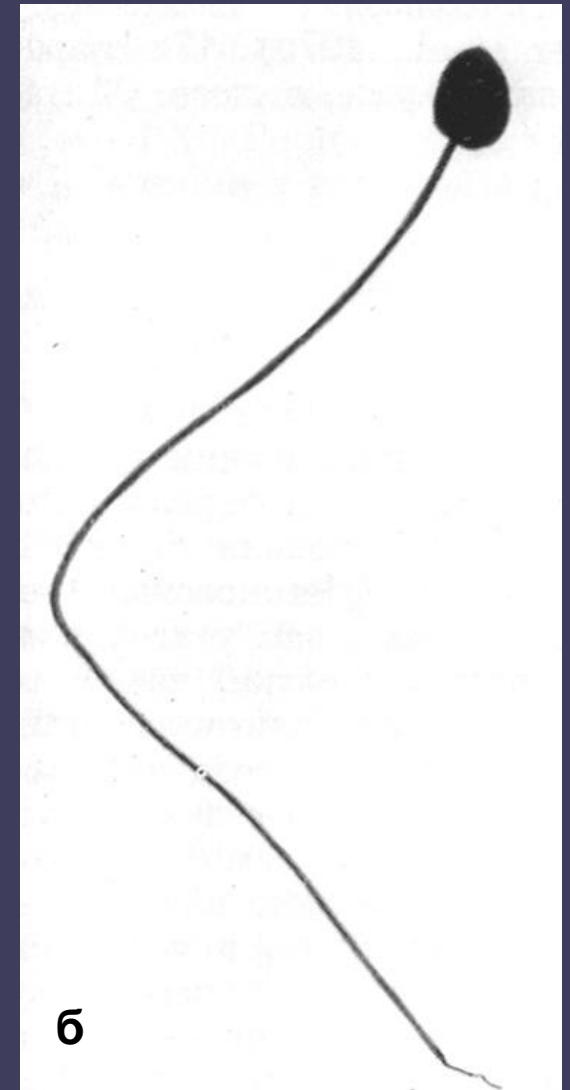
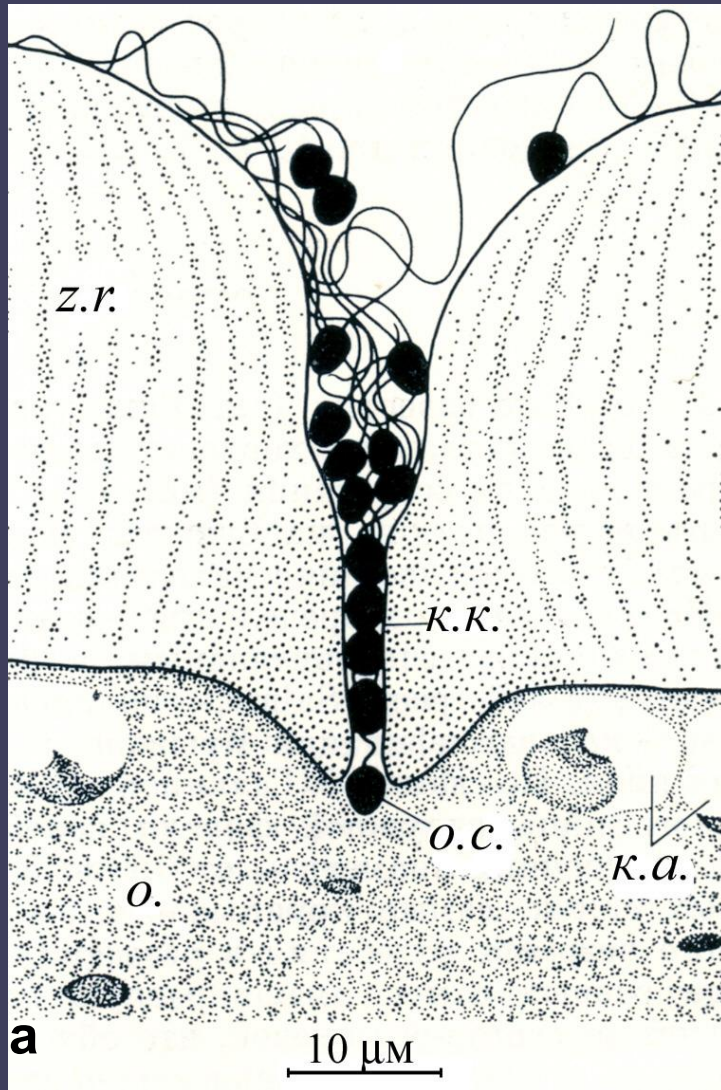
- Яйцо **окуня** (*Perca fluviatilis*) относится к классу **пелагических** (плавающих) яиц. Для обеспечения плавучести такие яйца содержат одну или несколько **жировых капель** (жк).
- ка – кортикальные альвеолы; ж – желток; со – студенистая оболочка; сц – скопление свободной цитоплазмы на анимальном полюсе яйца; zr – *zona radiata*

Яйцевые оболочки яйцеклетки Костистых рыб

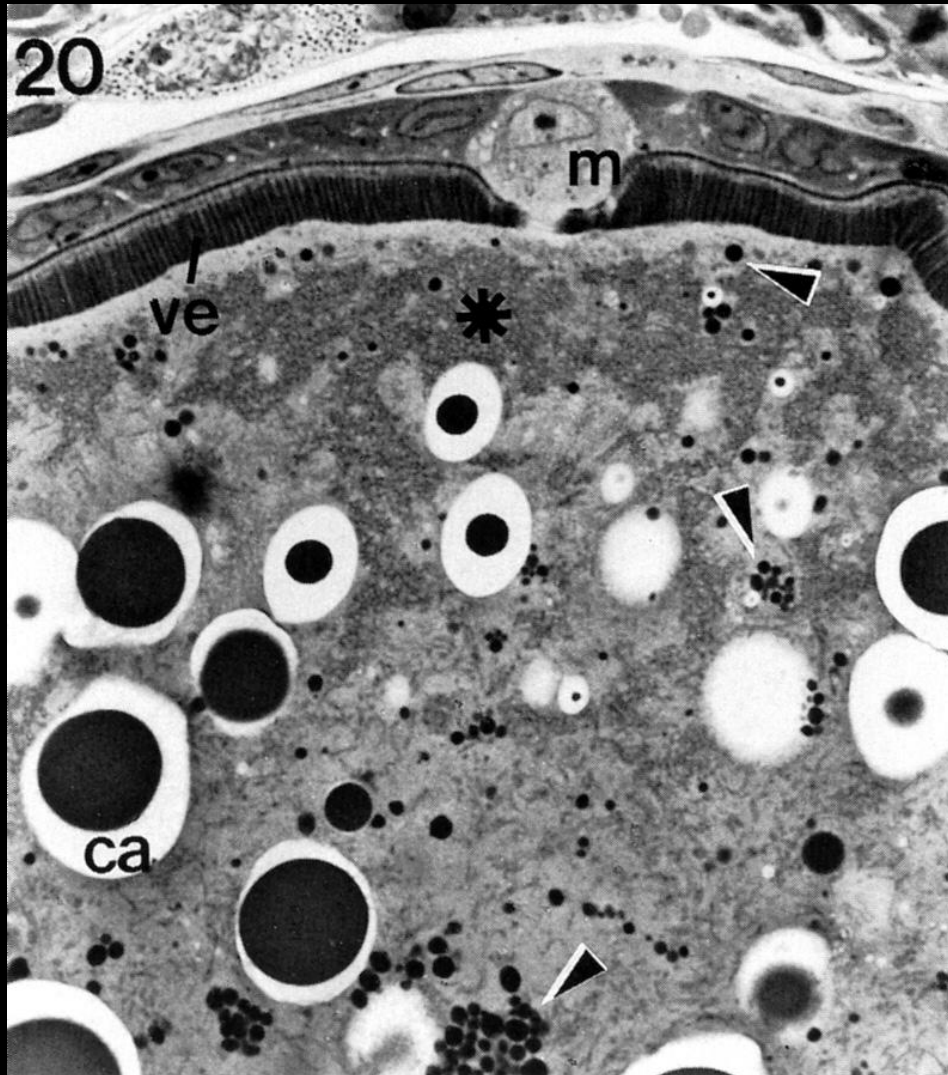


- Зрелая яйцеклетка к. рыб одета полупрозрачной (иногда абсолютно прозрачной) светопреломляющей желточной оболочкой (*zona radiata*). Эта оболочка пронизана канальцами. Канальцы – отпечатки микроворсинок (наконечники стрелок) ооцита, собственно, и клеток фолликулярного эпителия

Микропиле в zona radiata яйца (а) и спермий (б) озерной форели



Образование микропиле



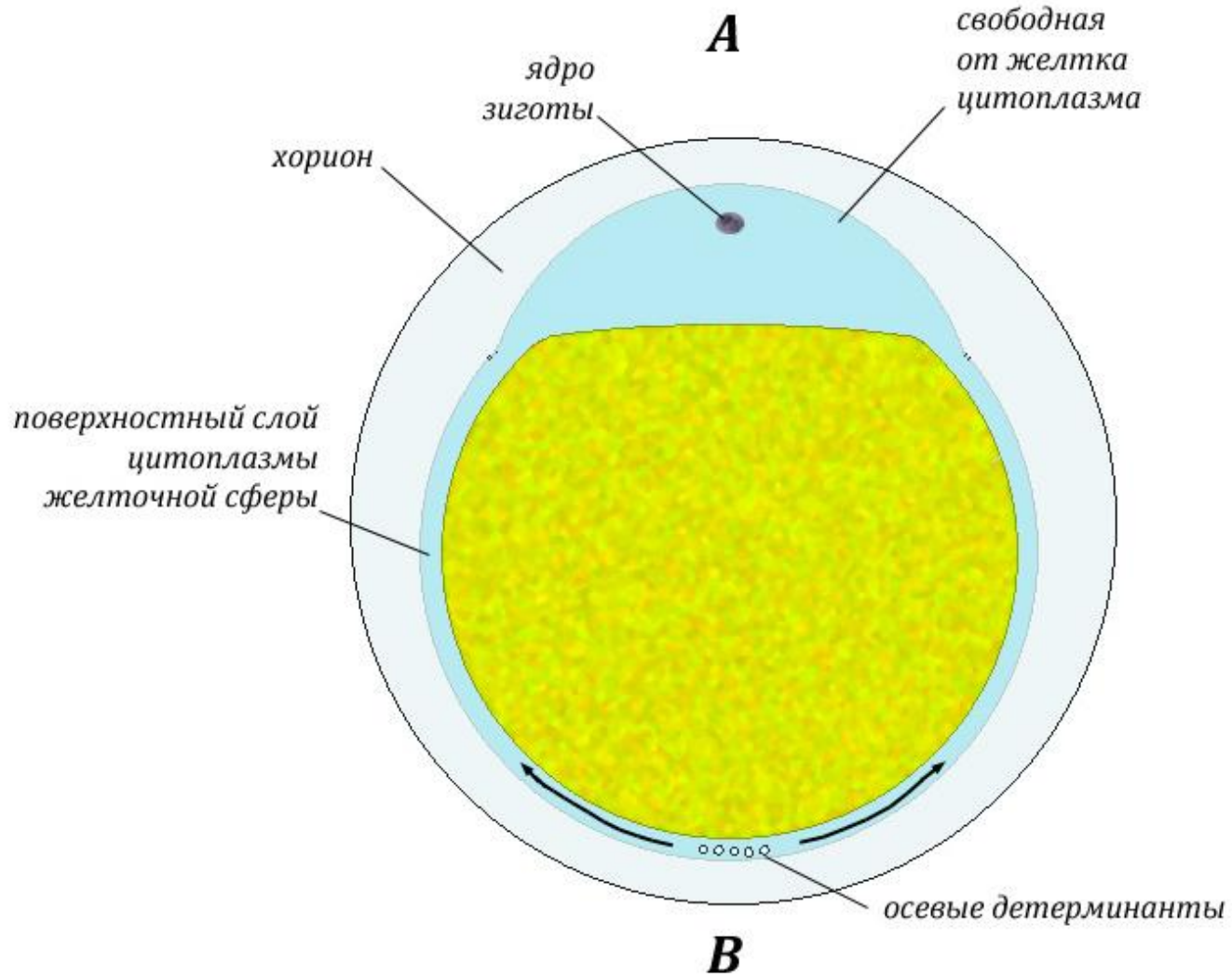
- На анимальном полюсе *zona radiata* имеет **микропиле** (m) – воронкообразное углубление, открывающееся в ооплазму. Микропиле представляет собой отпечаток особой **микропилярной клетки** из числа фолликулярных, отправшей в ходе овуляции

“Drosophila” в мире позвоночных

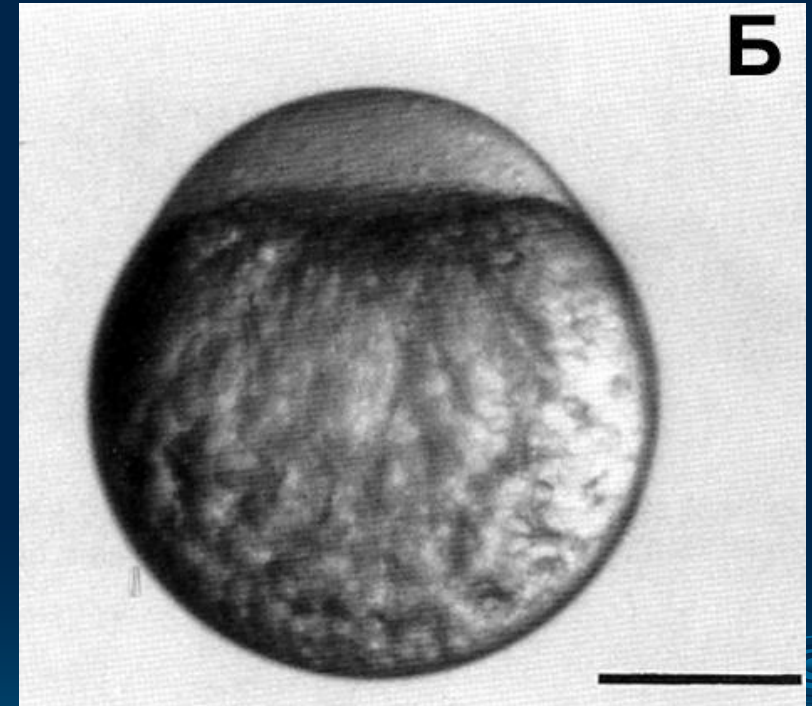
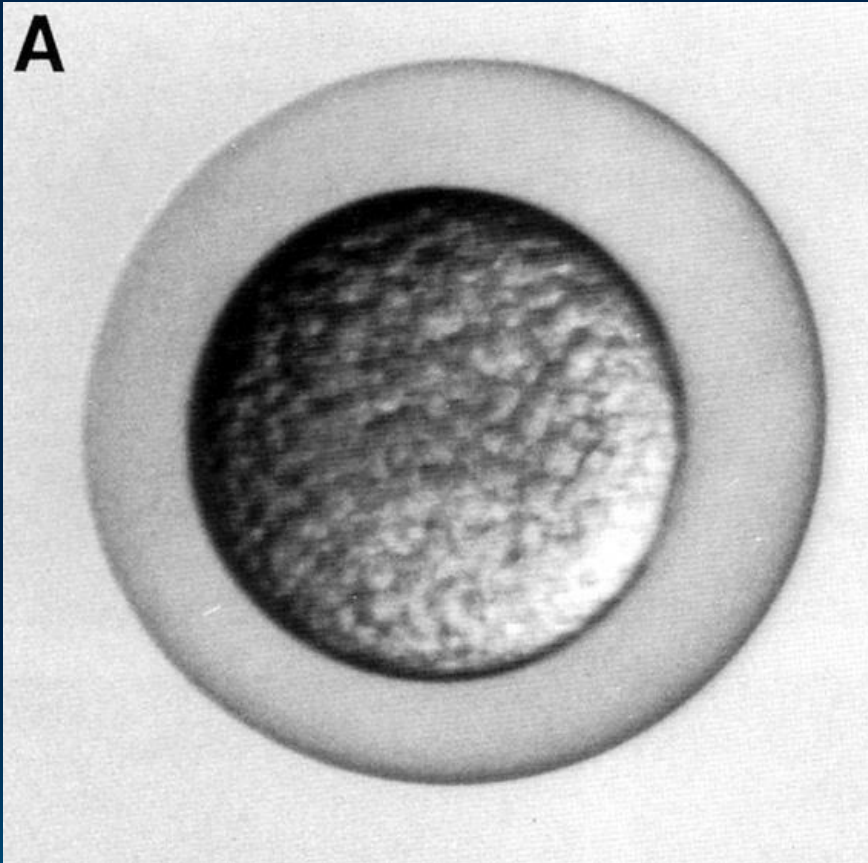


- В последние 25 лет в исследованиях эмбриологии Позвоночных всё чаще предпочтение отдаётся изящной полосатой рыбке *Danio rerio* (отряд Cypriniformes, сем. Cyprinidae), известной под названием «рыба-зебра» (zebrafish).

Зигота Костистой рыбы

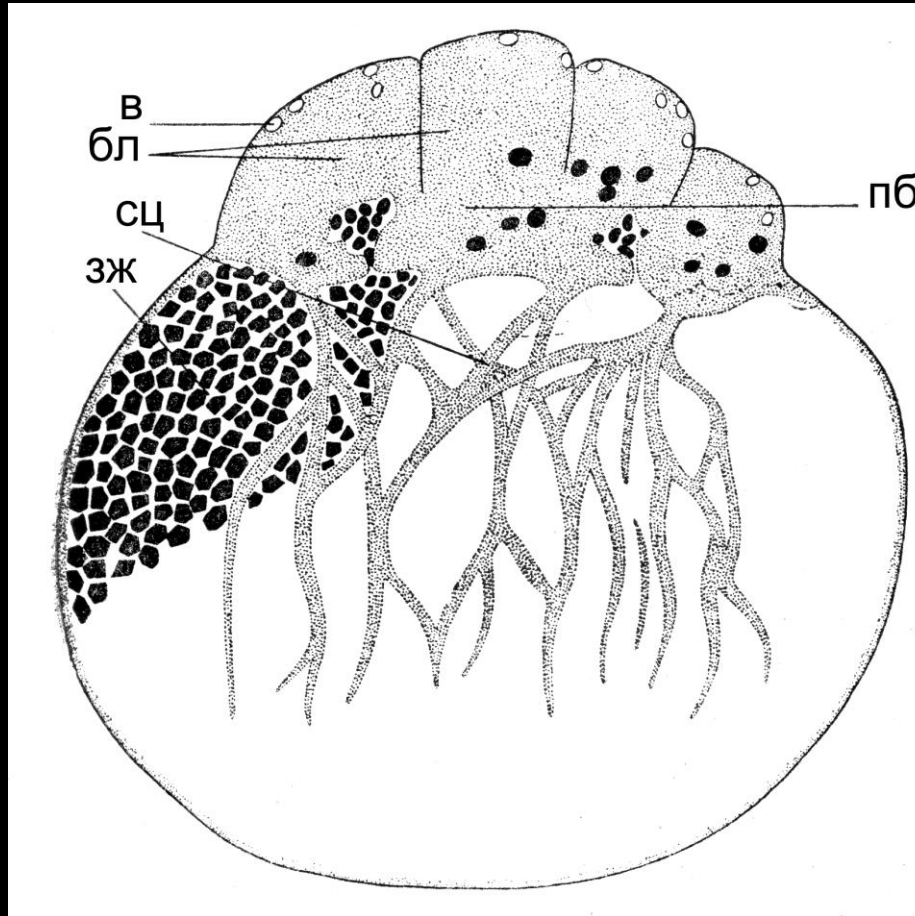


Анимально-вегетативная поляризация зиготы



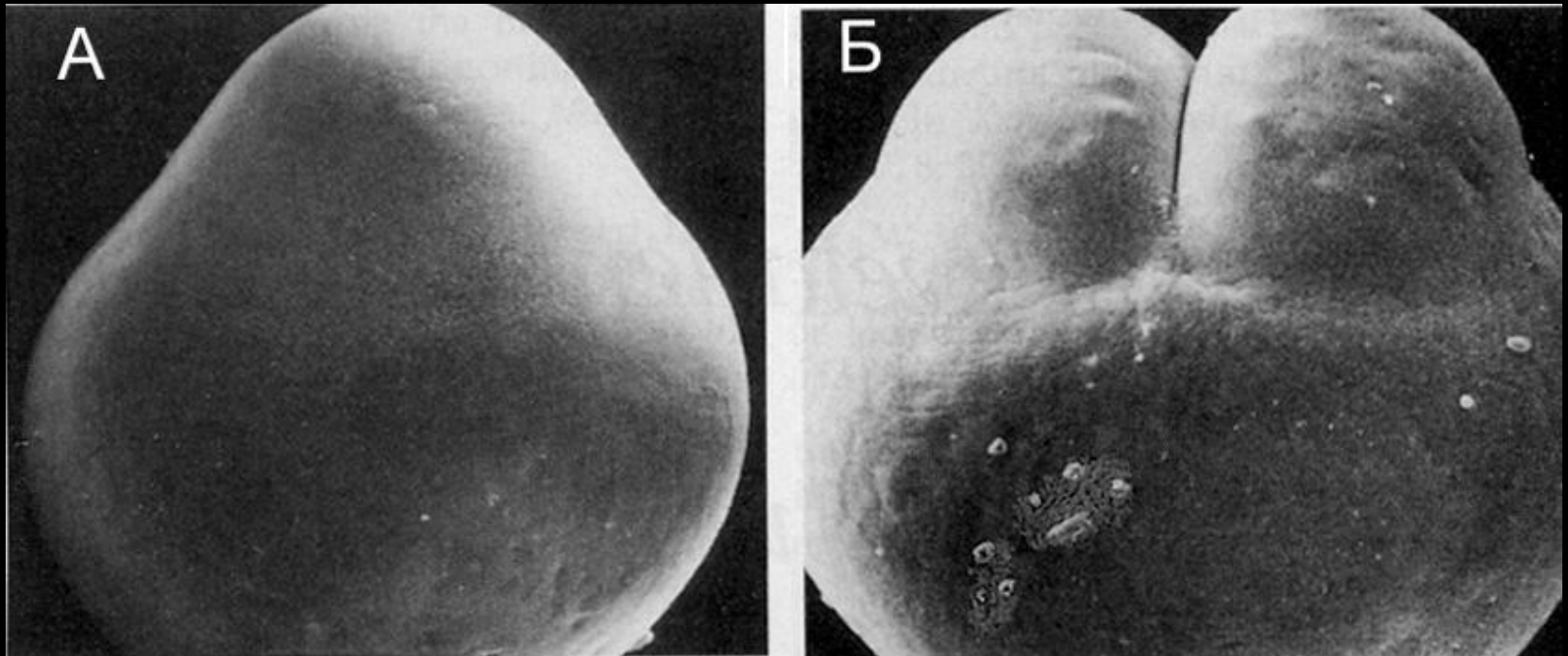
Демерсальное яйцо *Danio rerio*. А: зигота в яйцевой оболочке через несколько минут после оплодотворения. Б: зигота без оболочки с анимальным полюсом наверху через 10 минут после оплодотворения. Начало отмишивания свободной ооплазмы.

Струи цитоплазмы в ходе дробления у *Misgurnus fossilis*



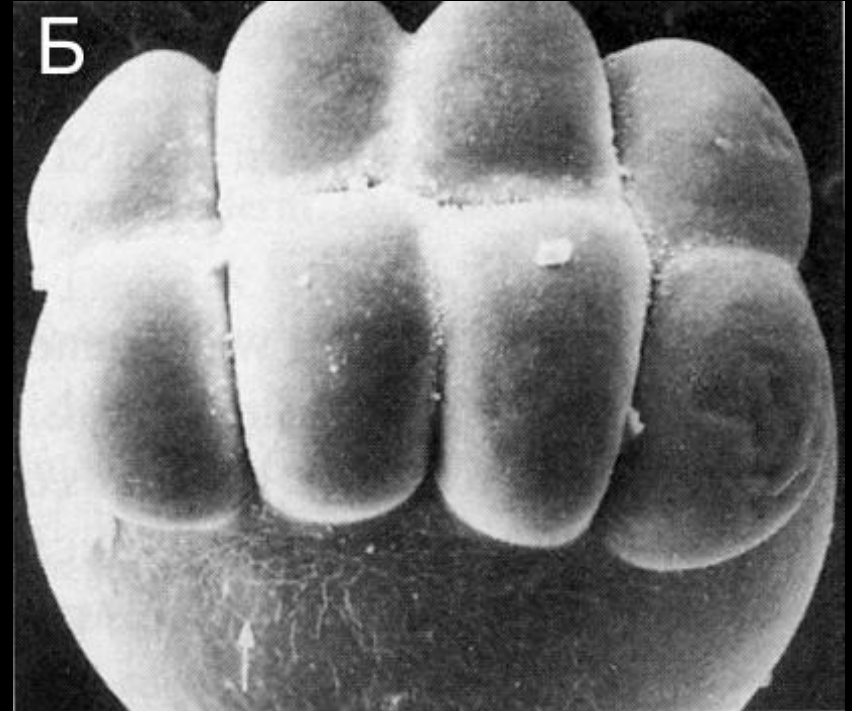
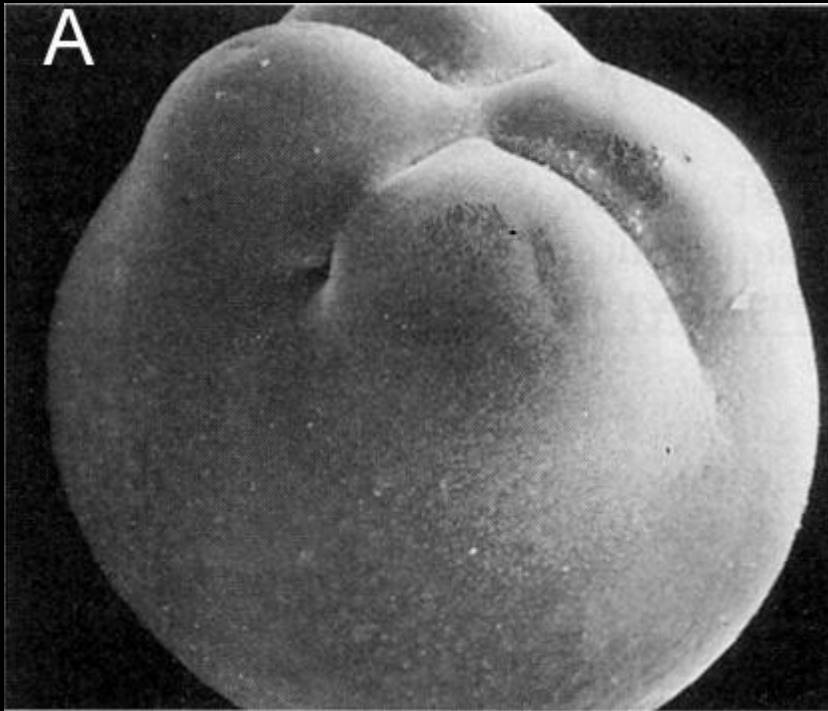
- В цитоплазме желточной сферы происходит непрерывное движение в направлении от вегетативного к анимальному полюсу. Оно начинается до дробления и продолжается на стадиях обрастания желтка бластодермой. На схеме показан зародыш на стадии 16 бластомеров.

Дробление яйцеклетки Костистой рыбы



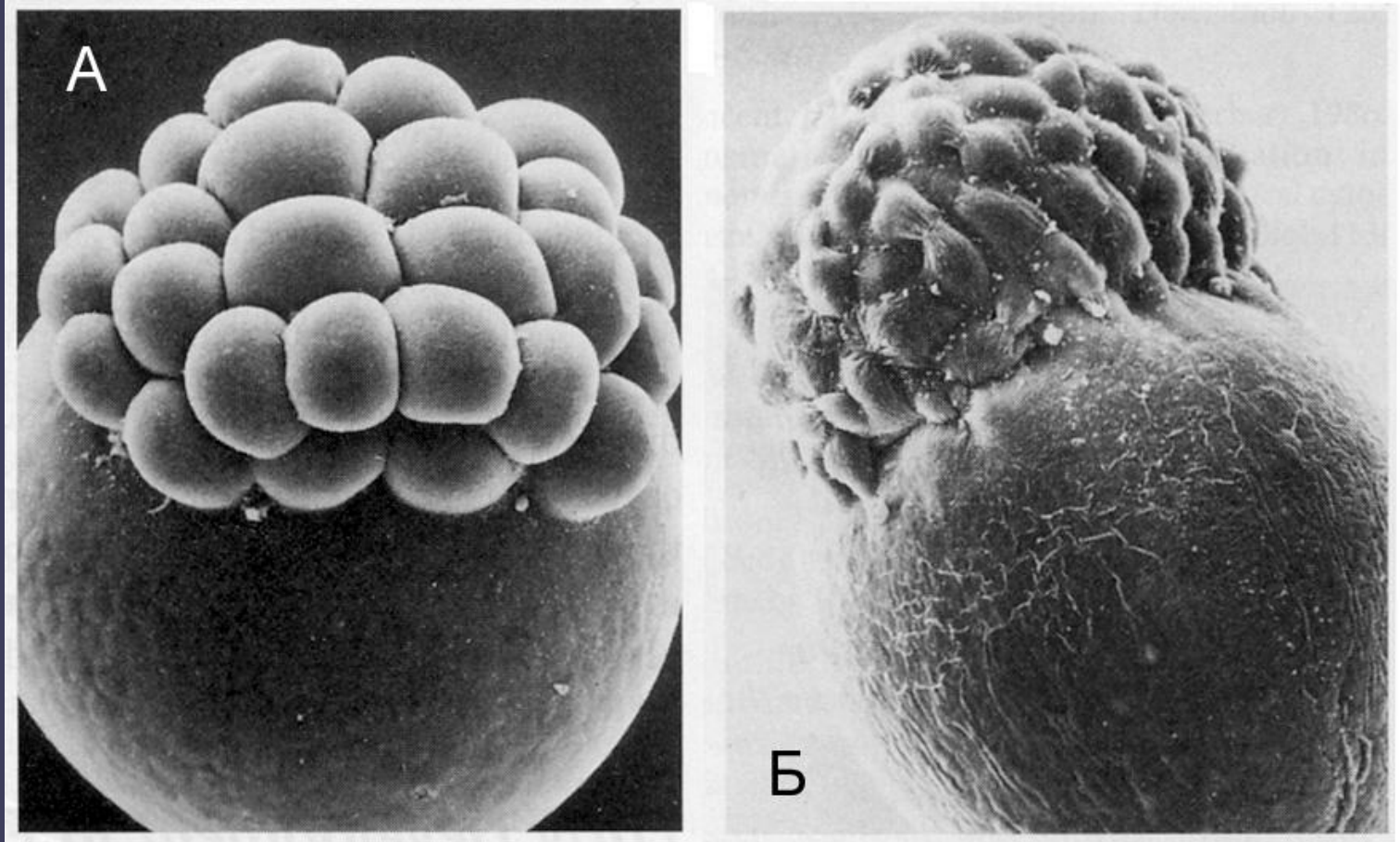
- Табличное дробление яйцеклетки *Danio rerio*.
- А – зародыш на одноклеточной стадии, накопление свободной цитоплазмы на анимальном полюсе. Б – двухклеточный зародыш

Дробление яйца костистой рыбы



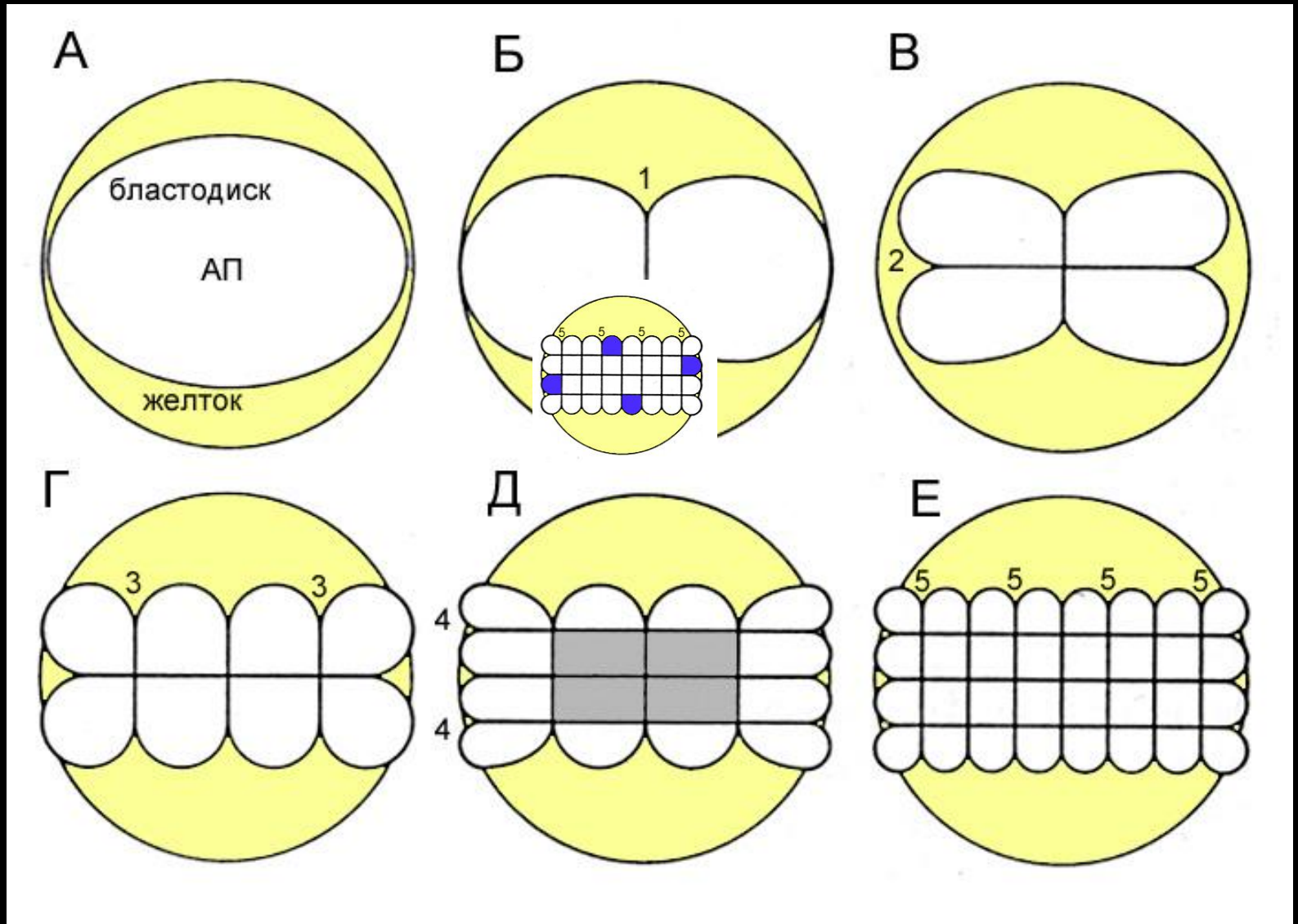
- *Danio rerio*. А – четырёхклеточный зародыш, Б – восьмиклеточный зародыш, представленный двумя рядами из четырёх клеток, выступающих над объёмной желточной сферой.

Дробление яйца костистой рыбы

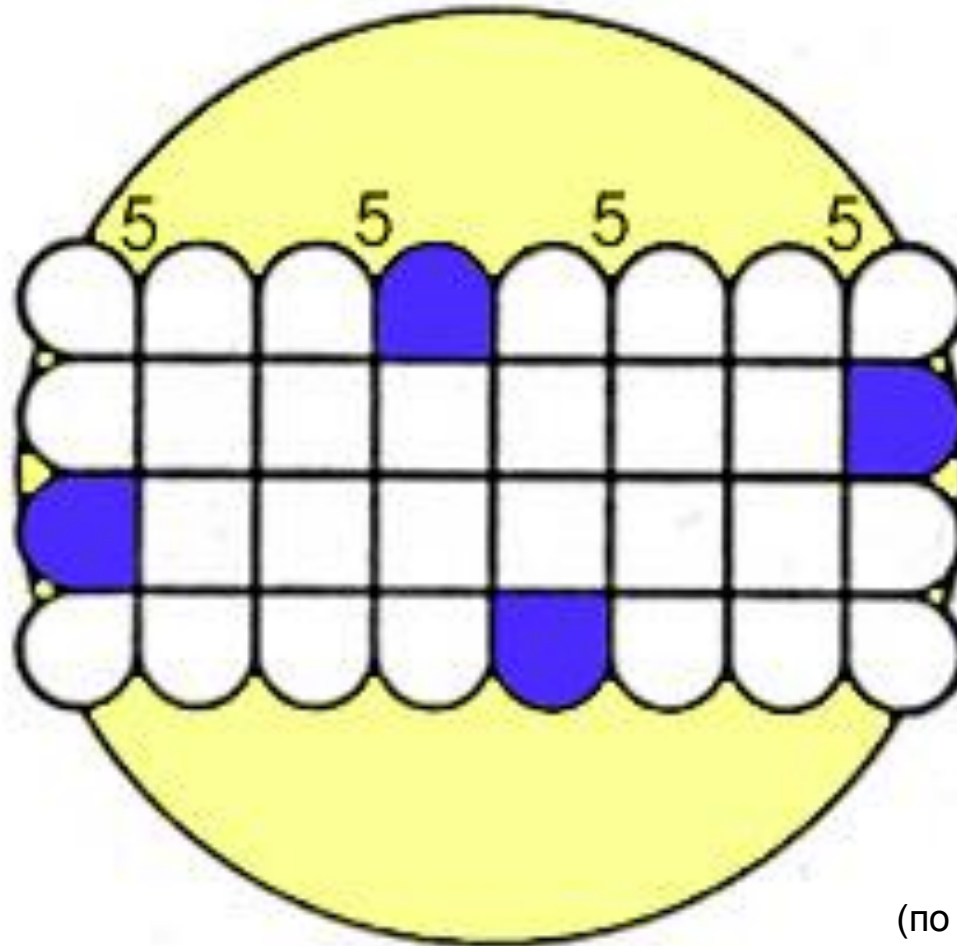


- А - 32-клеточный зародыш *Danio rerio*. Б - 64-клеточный зародыш; бластодиск возвышается над желточной сферой

Схема табличного дробления у *Danio rerio*

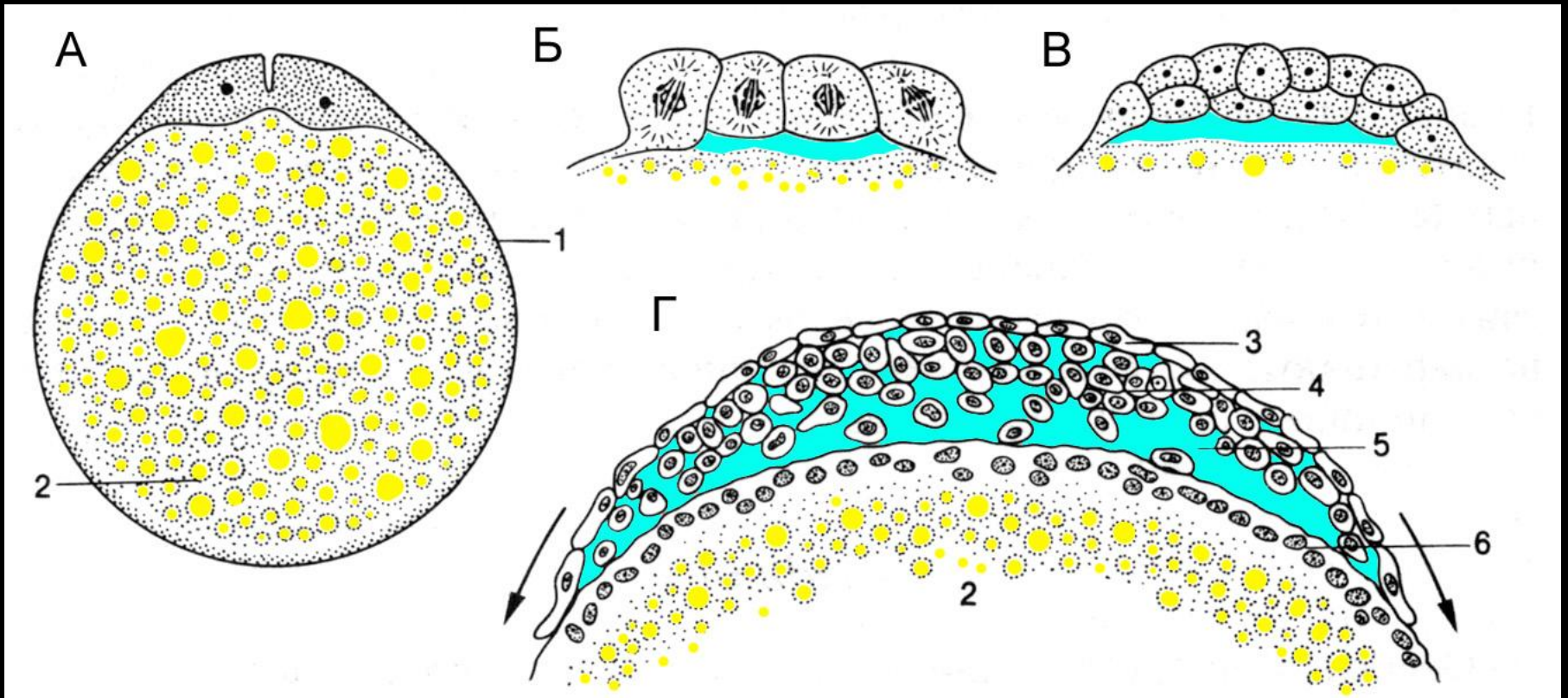


Экспрессия гена *vas* в клетках зародыша на стадии 32 бластомеров



(по Yoon et al., 1997)

Дробление и образование бластодермы у костистой рыбы

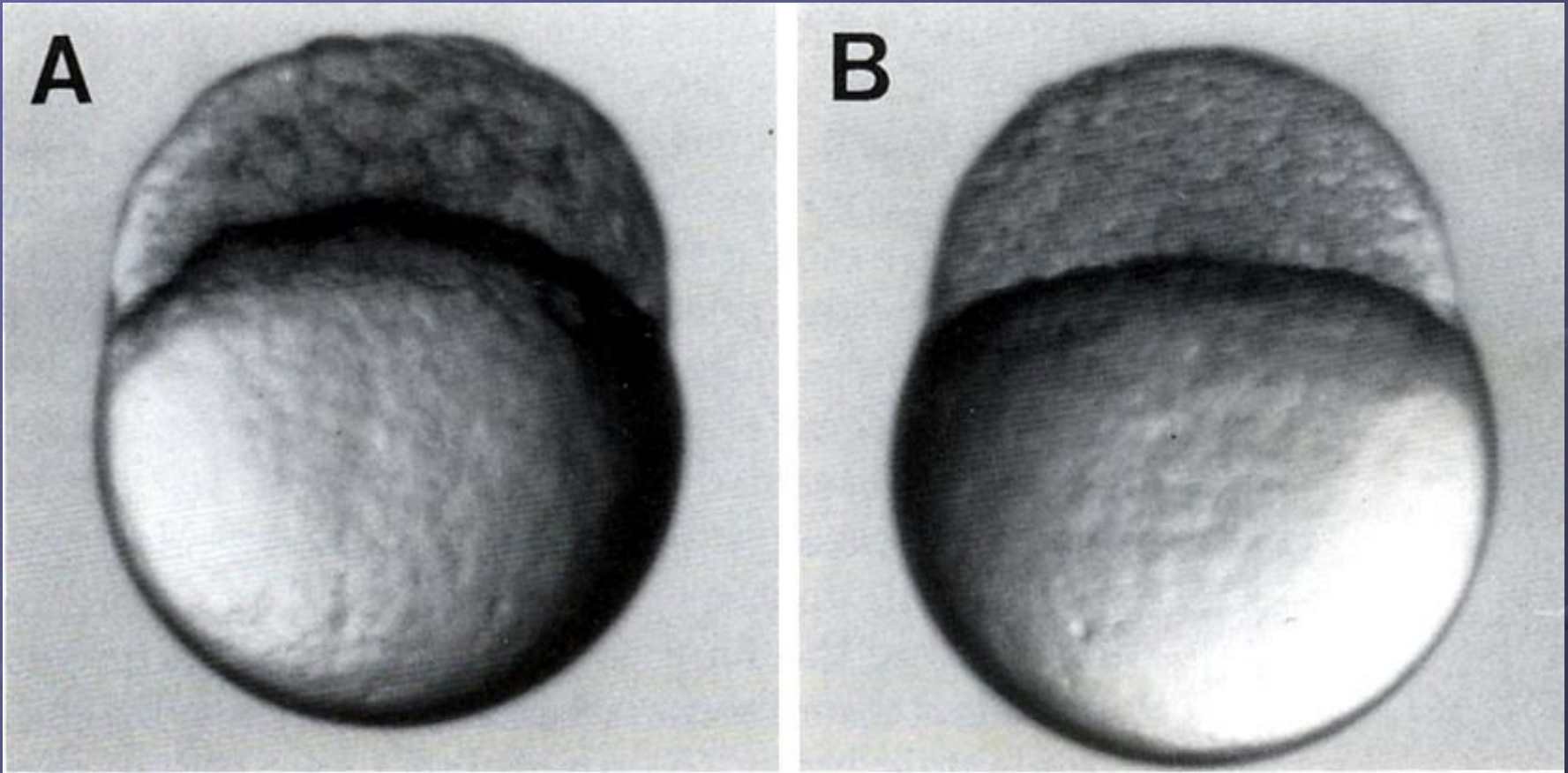


Обозначения к рисункам на предыдущем слайде

- 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 – глубокие клетки, 5 – межклеточное пространство бластулы, 6 – ядра перибласта. Стрелками показано направление обрастания желточной сферы

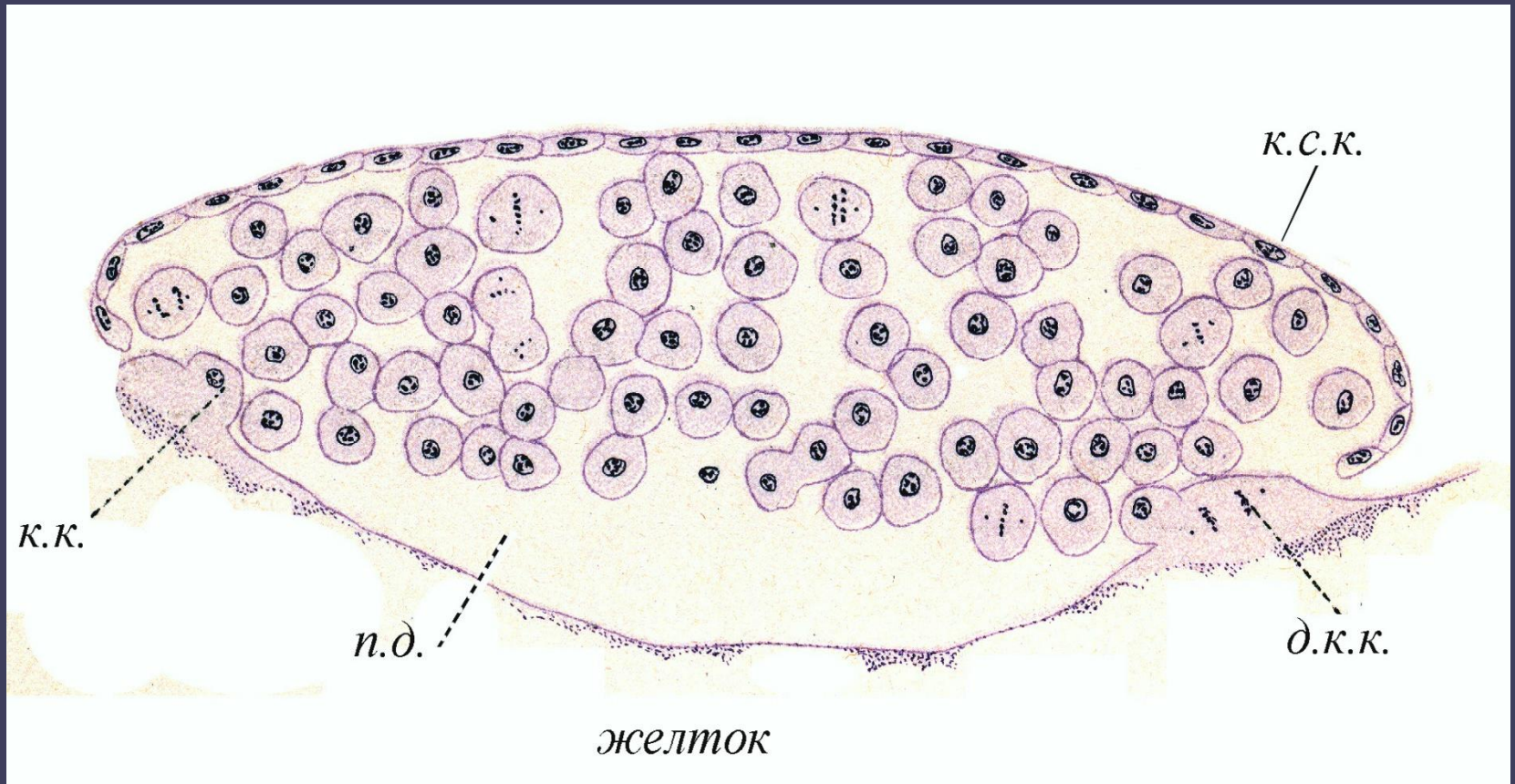
«Стереобластула»

Danio rerio



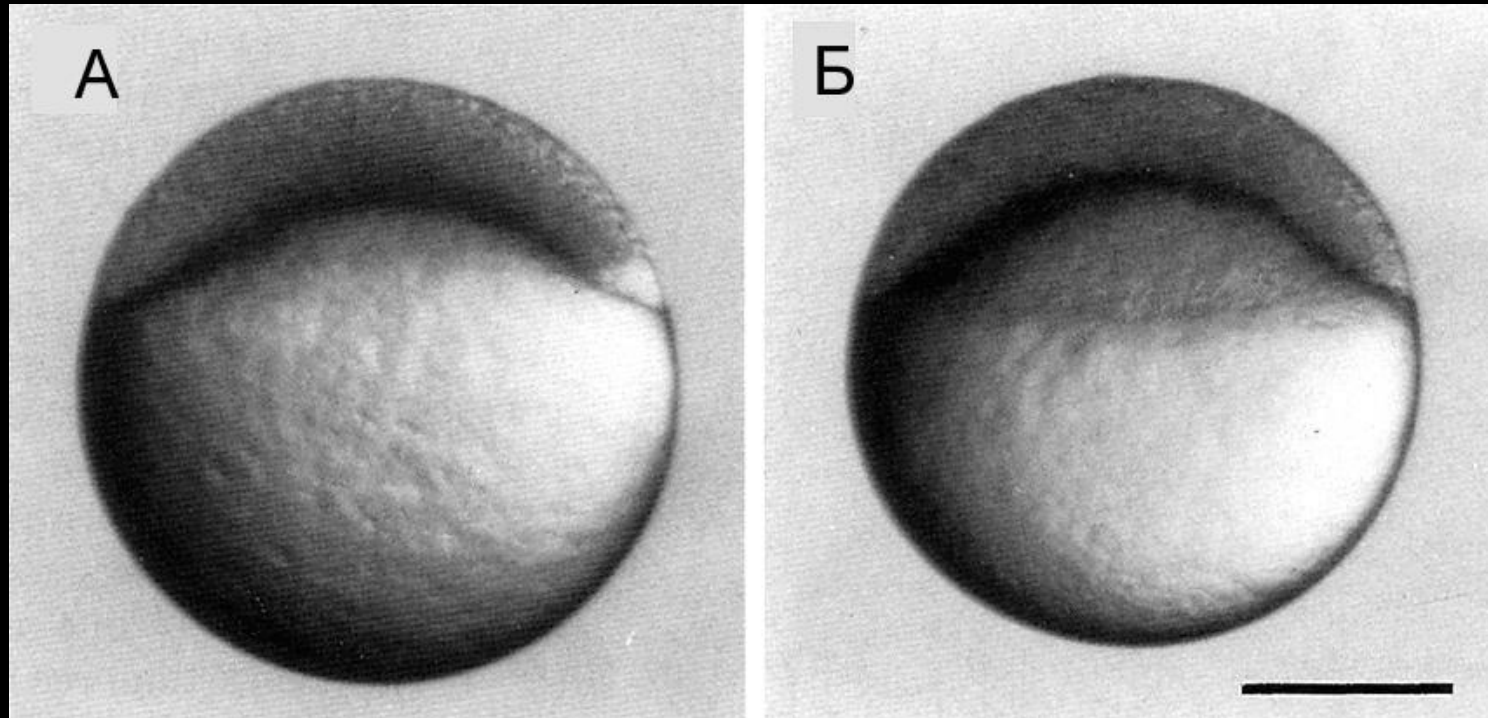
- *Danio rerio*. (А) Стадия 256 клеток. Еще отсутствует перибласт и нет бластоцеля. (Б) Т.н. «высокая бластула» или «бластомерная бластула» по старой терминологии, *перибласт* содержит два ряда синцитиальных ядер

Бластомерная бластула форели



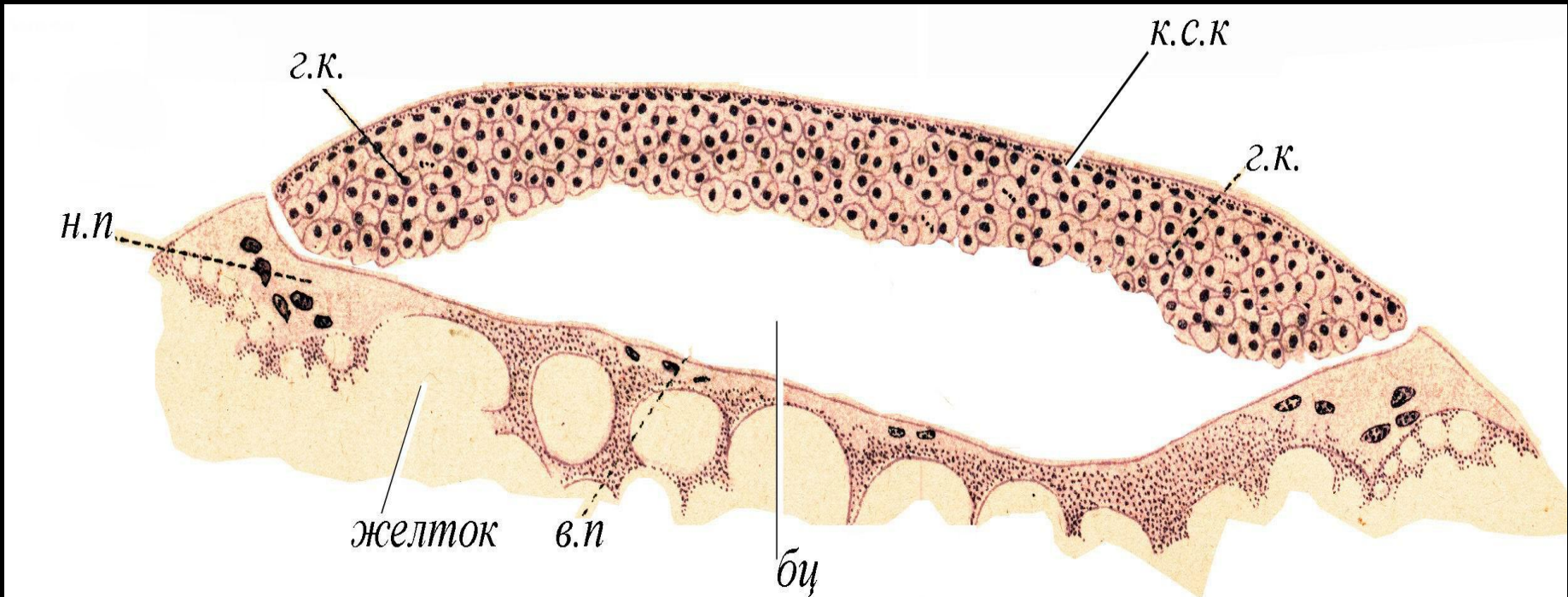
из А. Гурвича (1908)

Поздние стадии бластулы



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

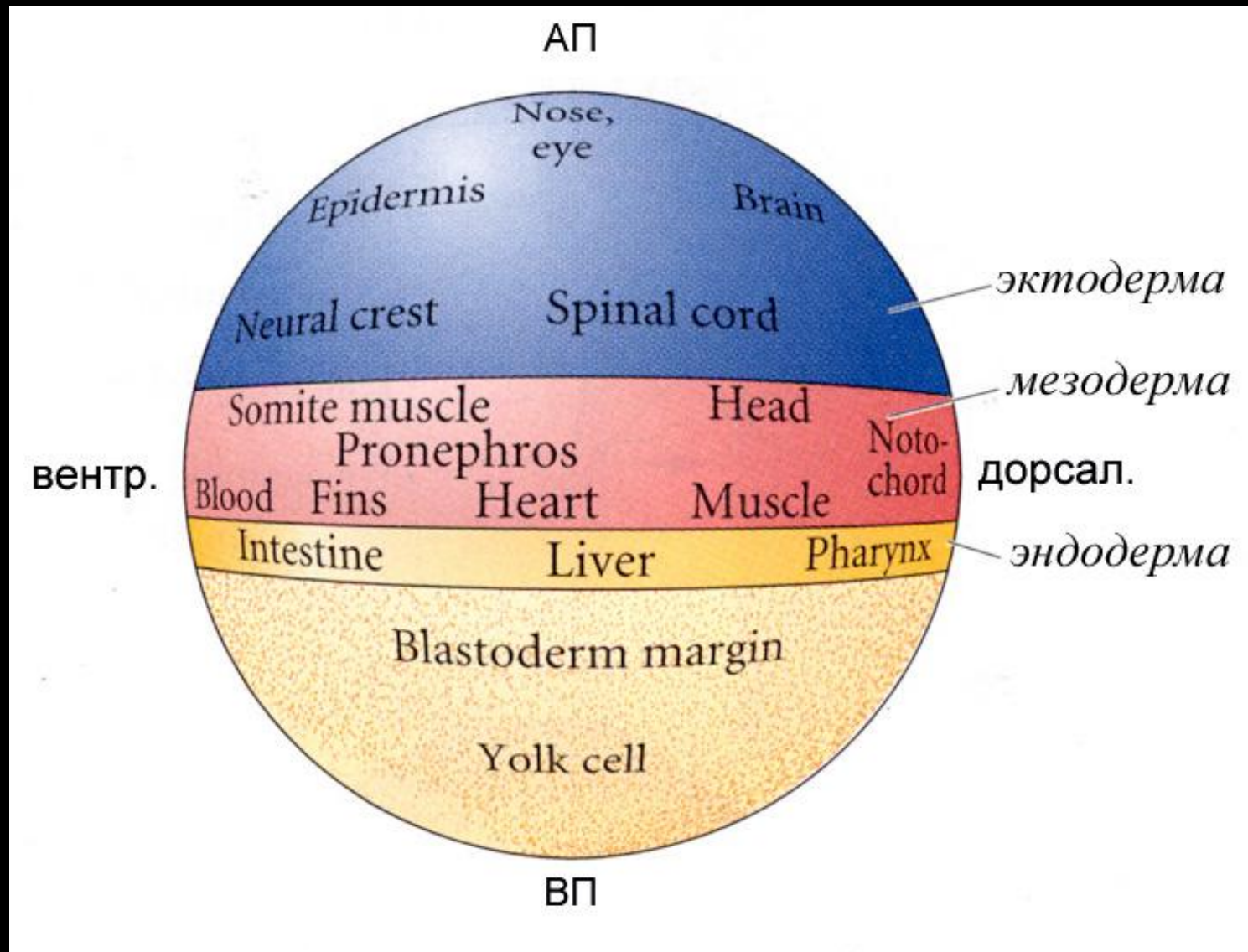
Эпителиальная бластула форели



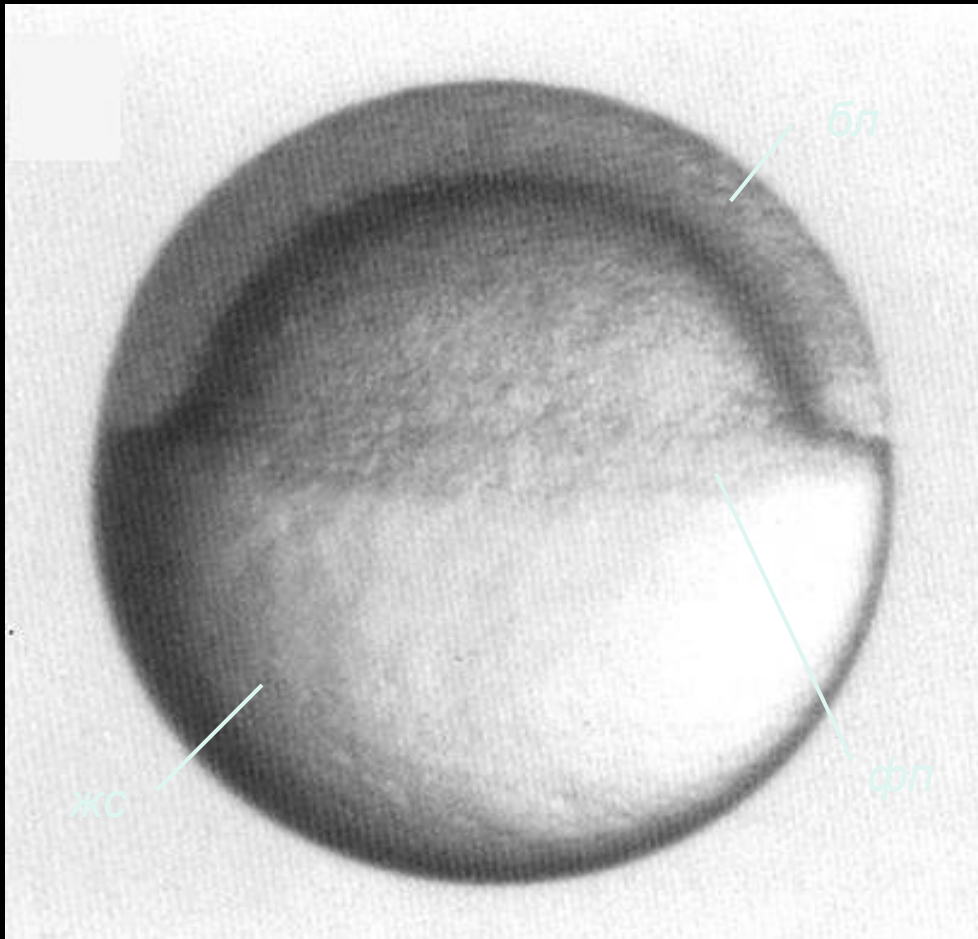
бц – полость бластоцеля, *вп* – внутренний перибласт, *нп* – наружный перибласт, *г.к.* – глубинные (погруженные) клетки, *к.с.к.* – кроющий слой клеток

(из А. Гурвич, 1908)

Карта презумптивных зачатков на поздней бластуле у *Danio rerio*

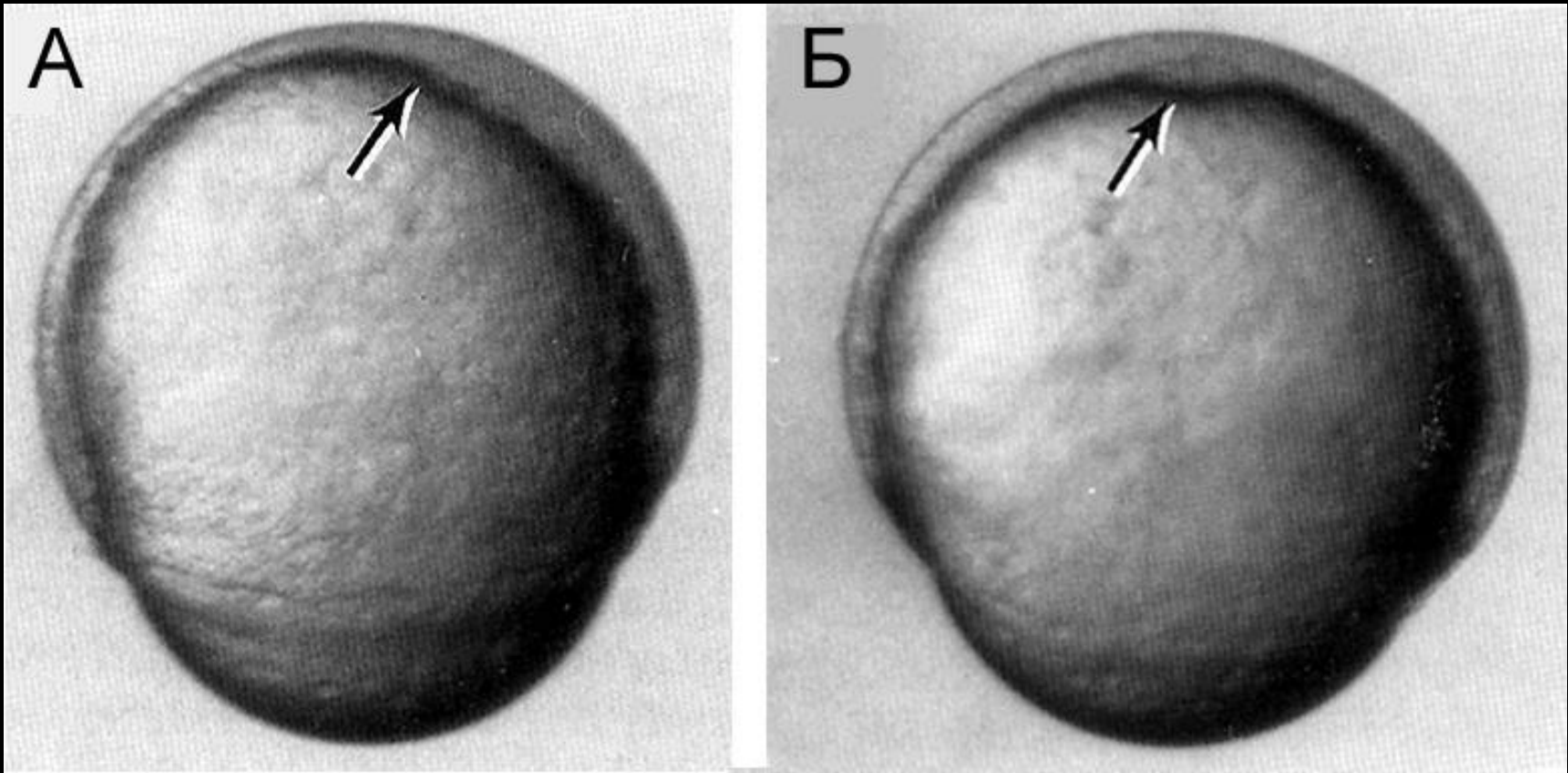


Обдукция у *Danio*



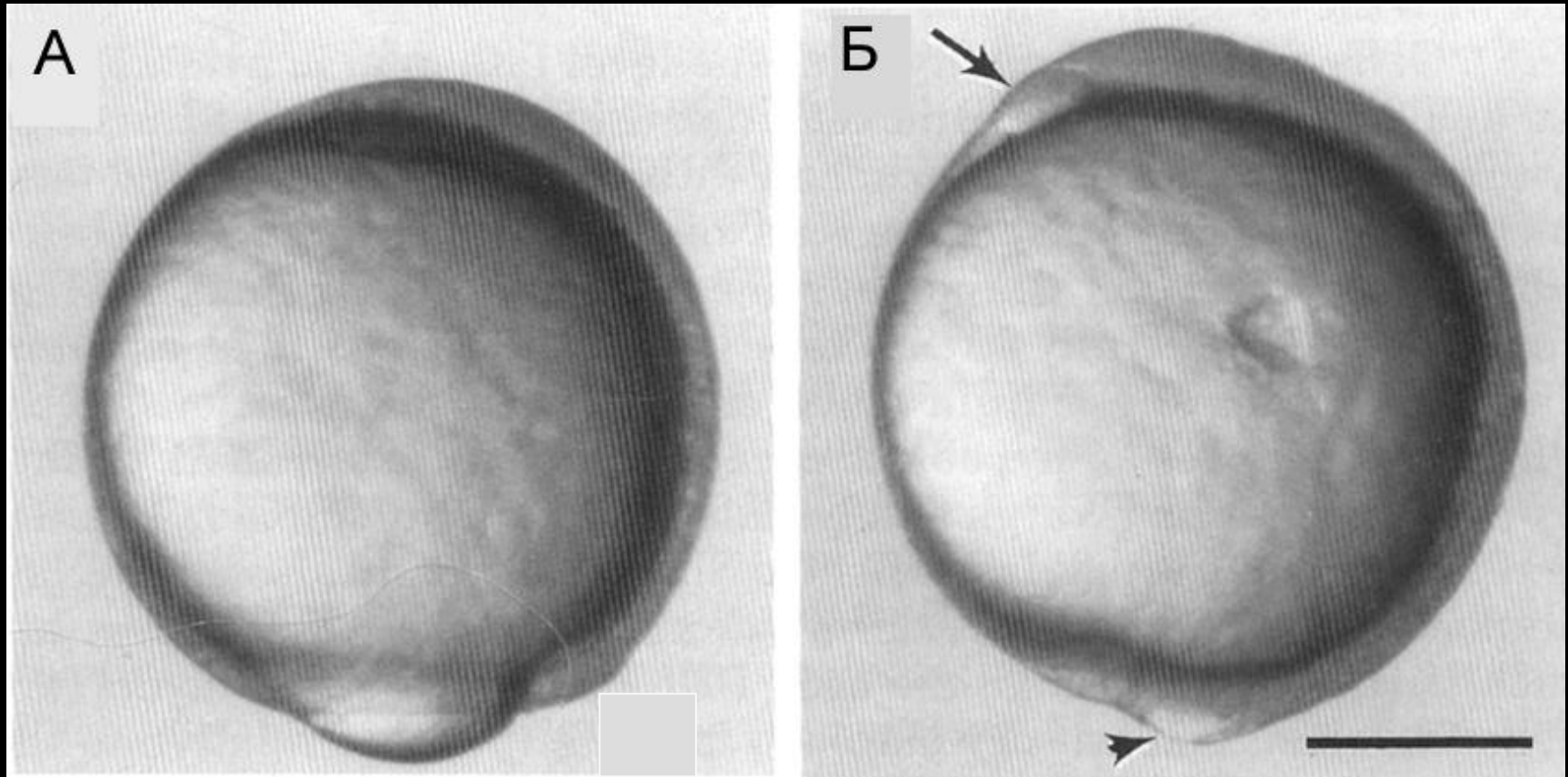
- На фото показан зародыш *Danio* на стадии 50% обдукции (обрастания) бластодермой (бл) желточной сферы (жс). Несколько ближе к вегетативному полюсу от границы бластодермы виден фронт обрастания перибластом (фп).

Внешний вид зародыша *Danio* на стадии 70 % обрастания



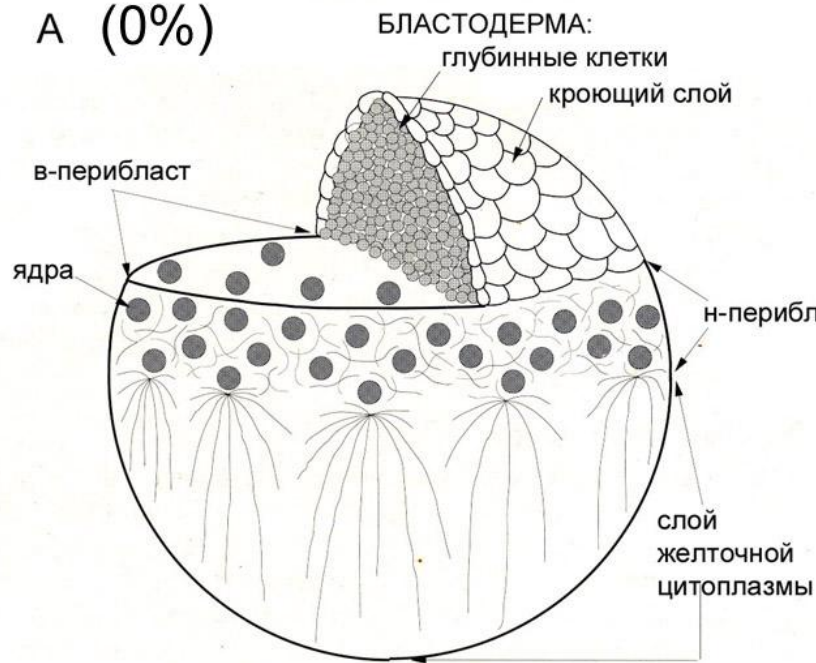
- А – вид зародыша сбоку; дорсальная сторона бластодермы (слева) тоньше вентральной стороны (справа); стрелка отмечает границу прехордальной пластинки. Б – вид с вентральной стороны; видно центральное утолщение (прехордальная пластинка), показанное в центре бластодермы стрелкой.

Завершающие стадии обрастания у *Danio*

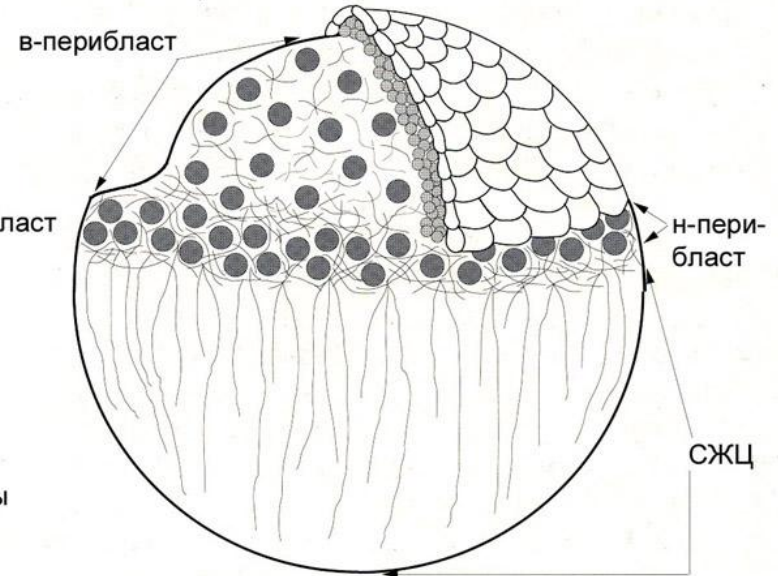


- А – стадия 90% обдукции («желточная пробка»); Б – обрастание завершилось, наконечник стрелки показывает хвостовой бугорок (хвостовую почку); стрелка отмечает зачаток *железы выщипления*

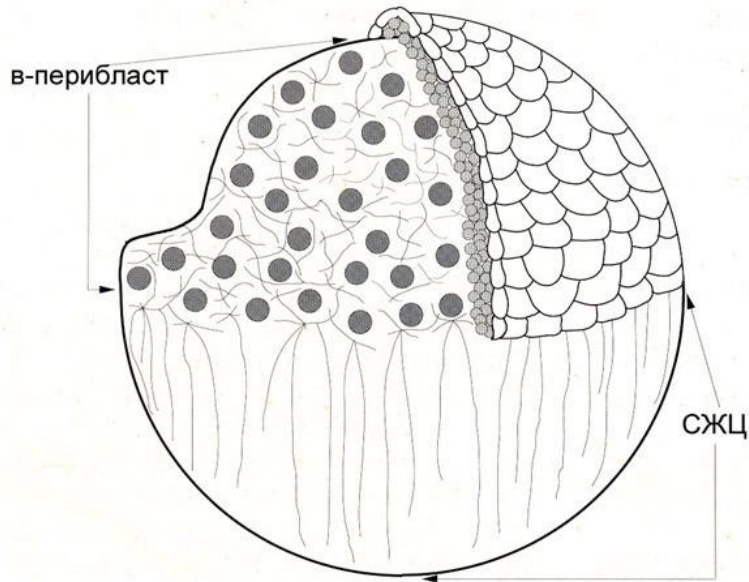
A (0%)



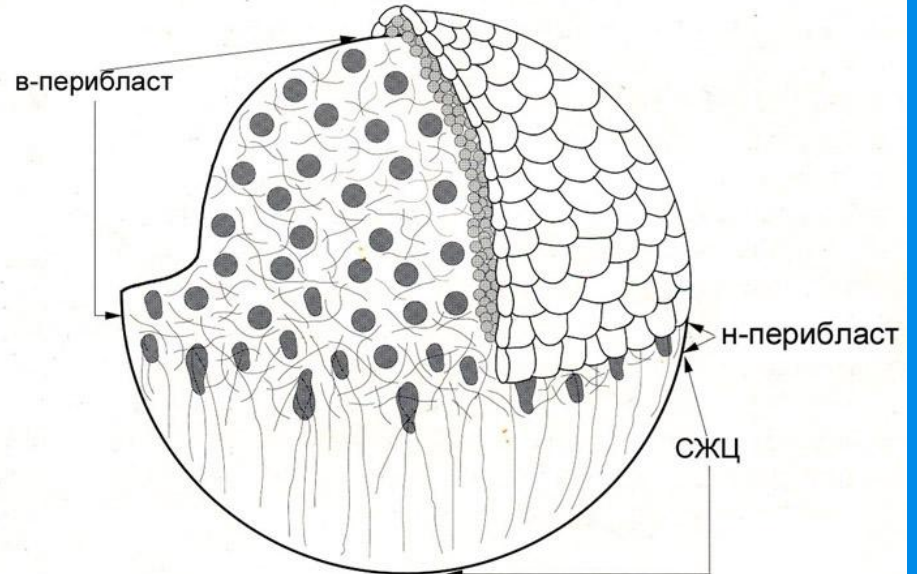
Б (30%)



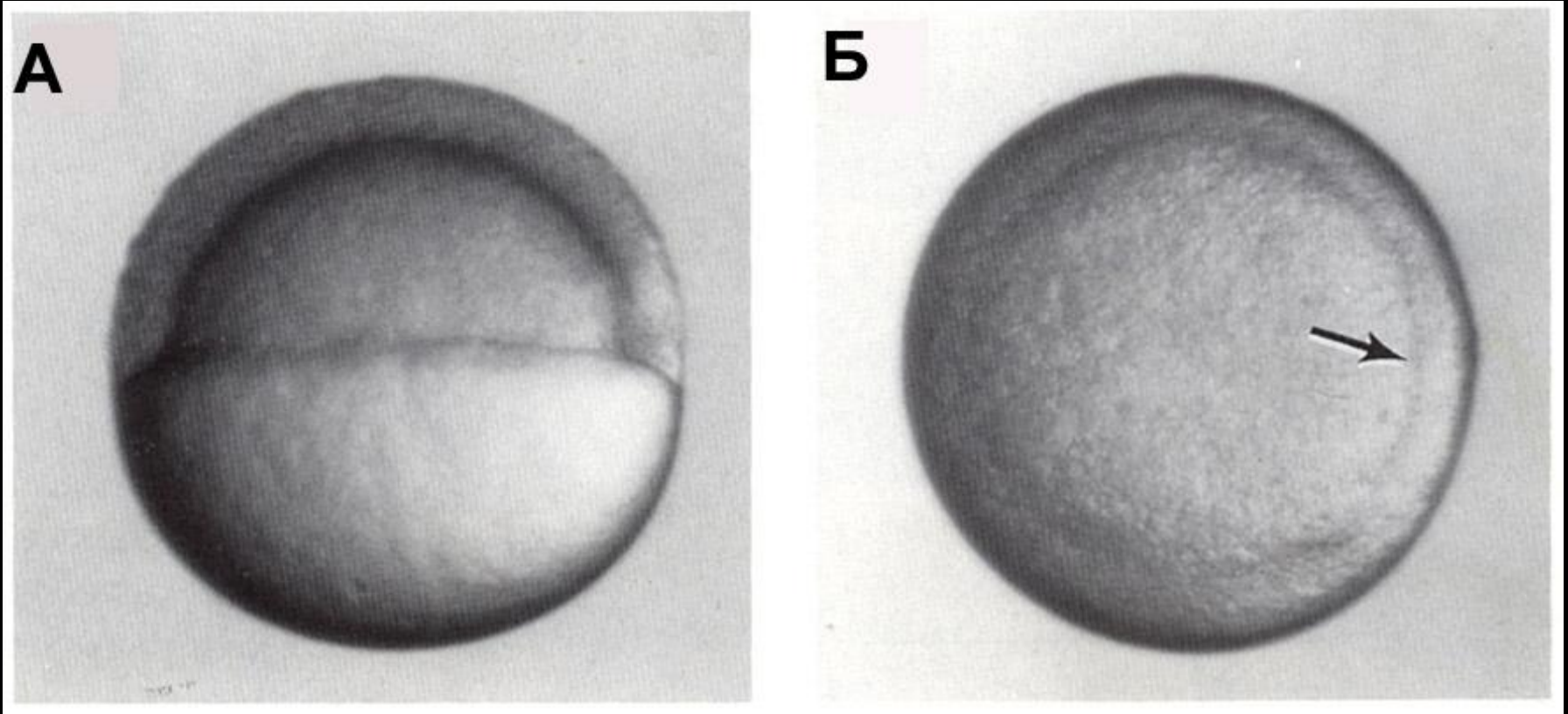
В (50%)



Г (60%)

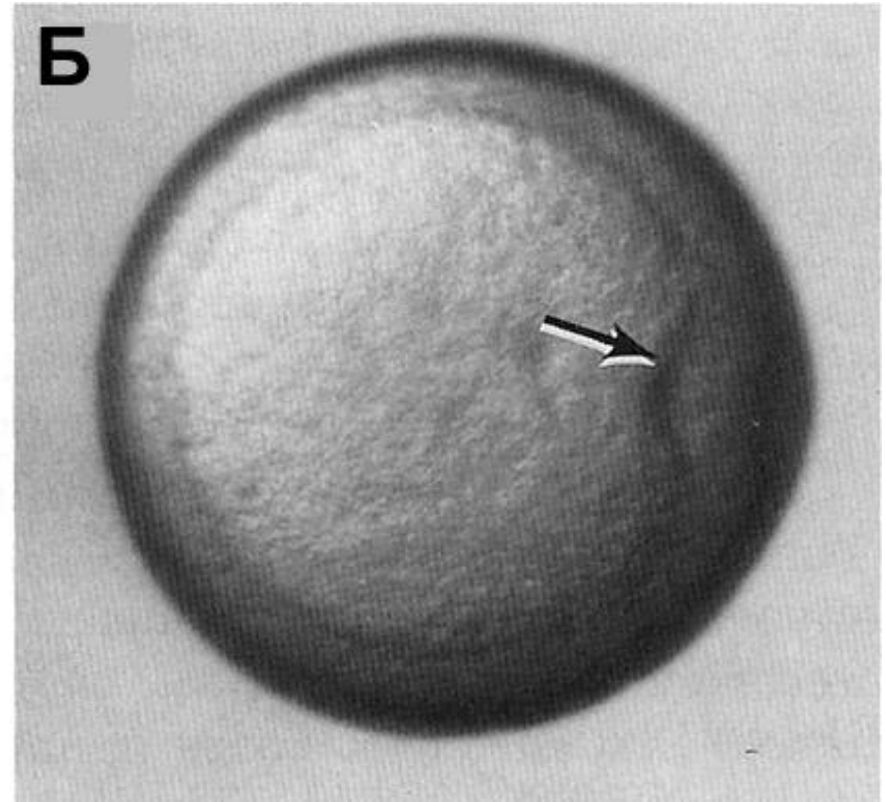
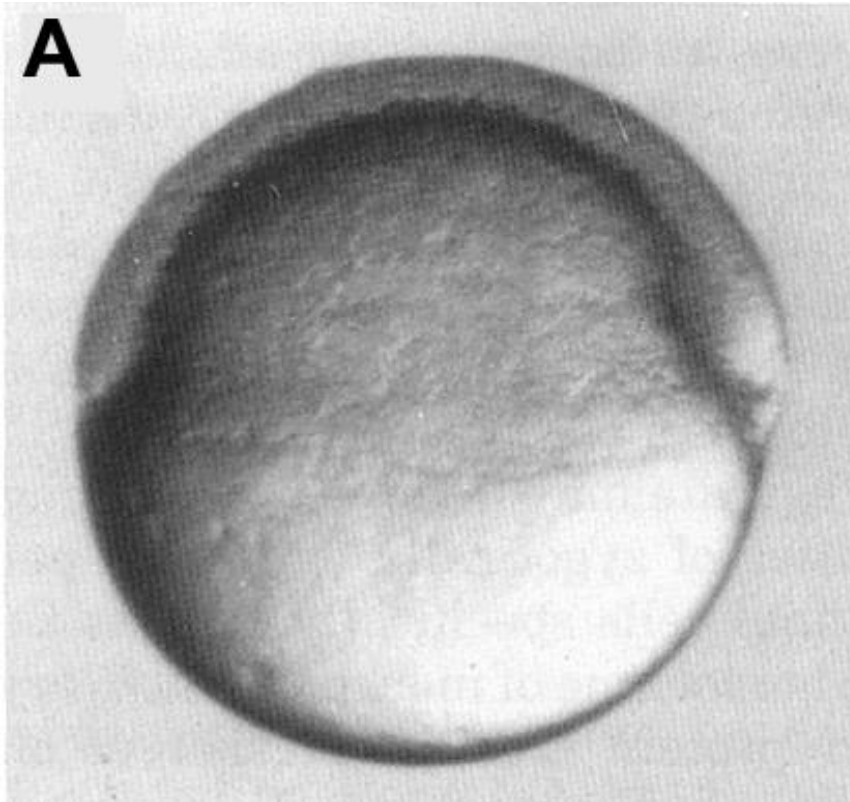


Начало гаструляции у *Danio*



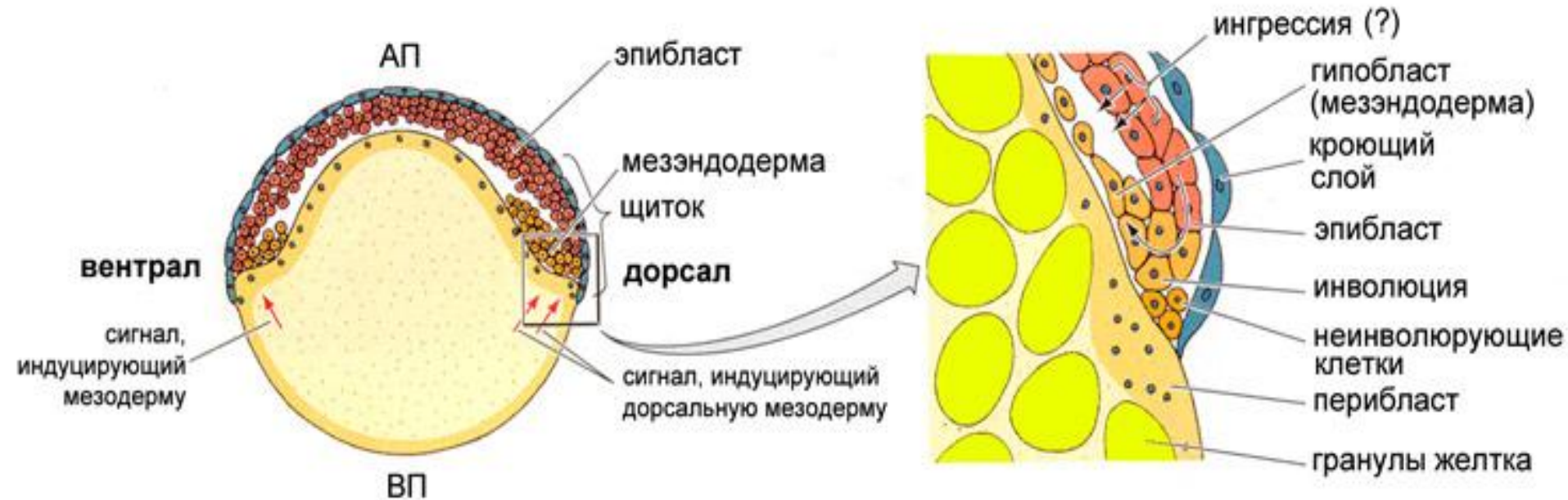
- На фото зародыши на стадии 50% обдукции (5,25 час). А – вид сбоку, Б – вид с анимального полюса. Хорошо виден кольцевой контур (стрелка), представляющий собой кольцевое утолщение бластодермы на краю обрастания. Это утолщение – результат интернализации краевых клеток подповерхностного слоя бластодермы.

Стадия «зародышевого щитка»



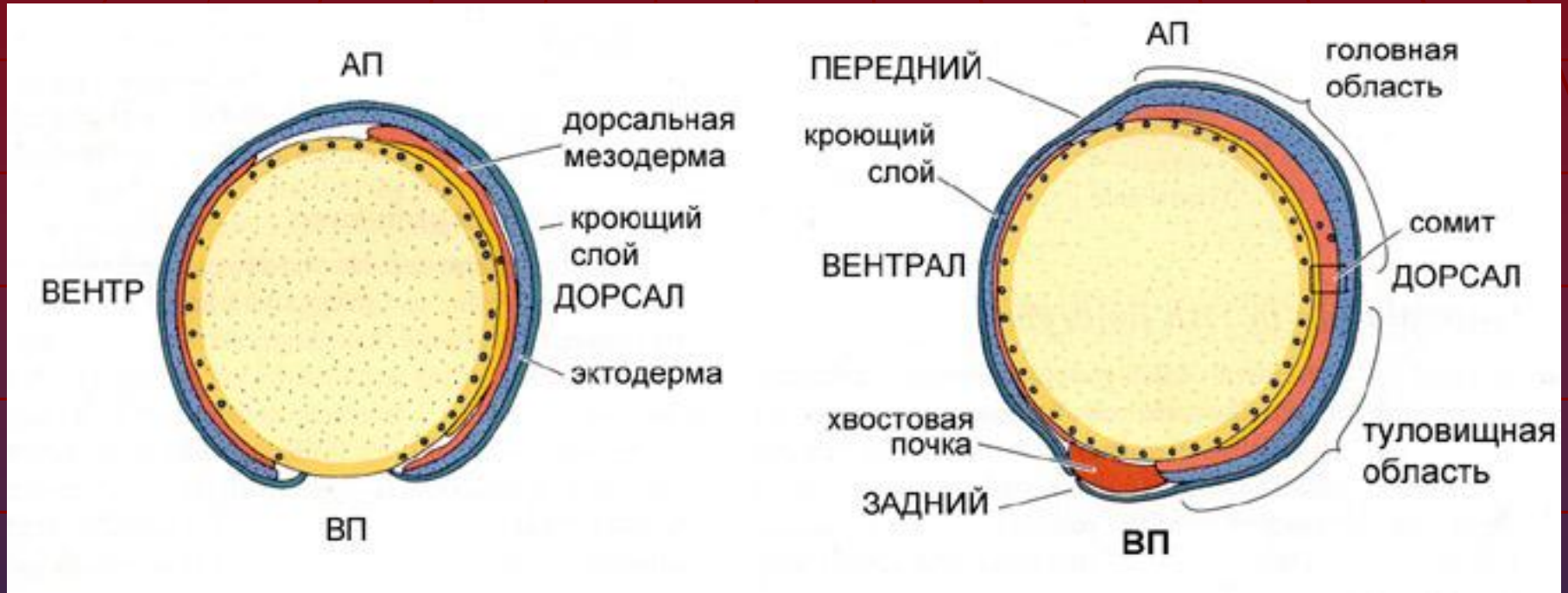
- К 6 ч п/о у зародышей можно видеть компактный участок (стрелка) зародышевого кольца, разрастающийся в направлении ан. полюса. Это утолщение отмечают будущую дорсальную сторону, а направление его роста соответствует будущей переднезадней оси зародыша.

Интернализация клеток в ходе гастрюляции



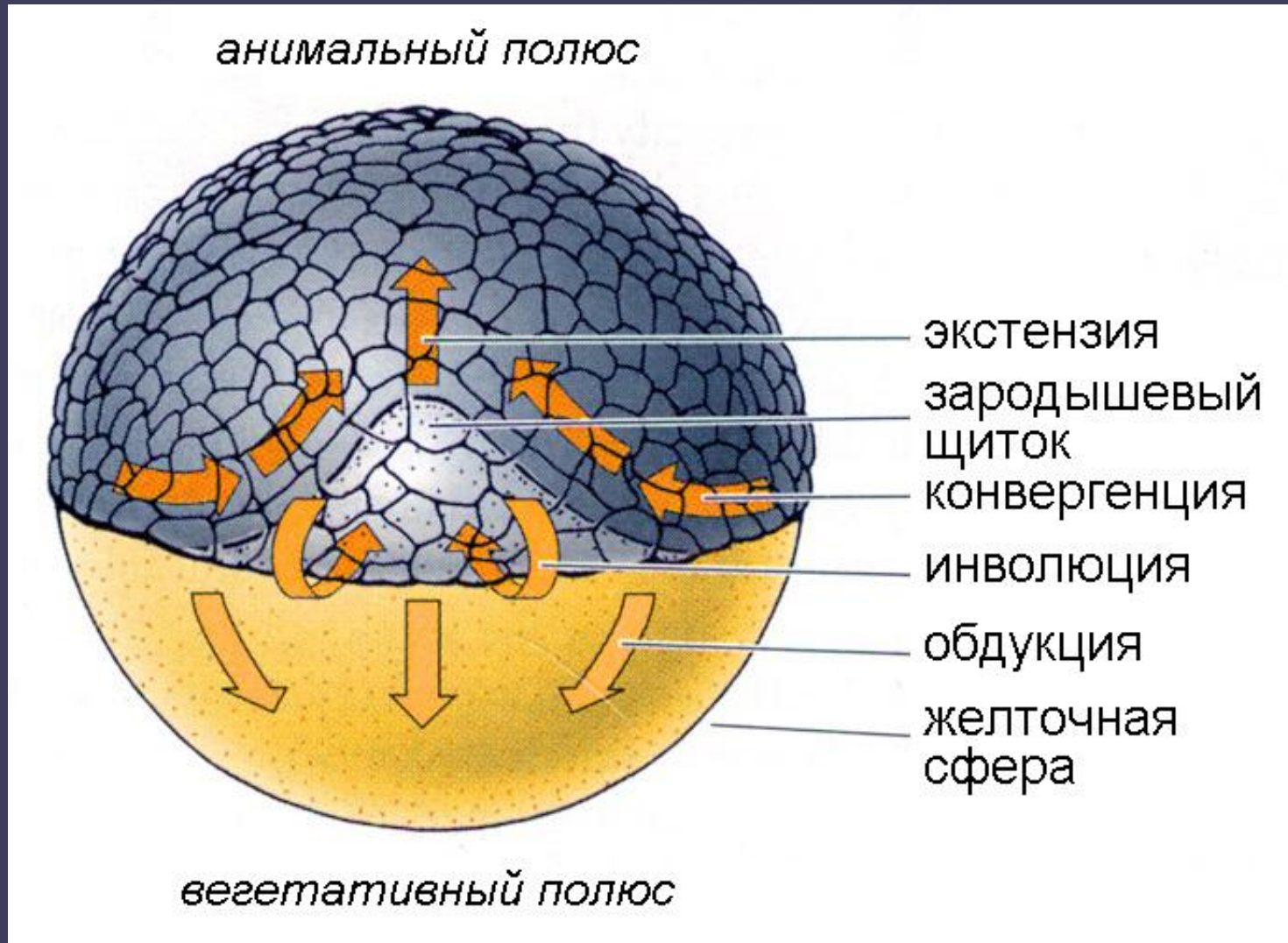
- На схемах показано образование мезэндодермы в результате **инволюции** от края бластодермы или **ингрессии (деляминации)** клеток из эпибласта

Завершение гаструляции

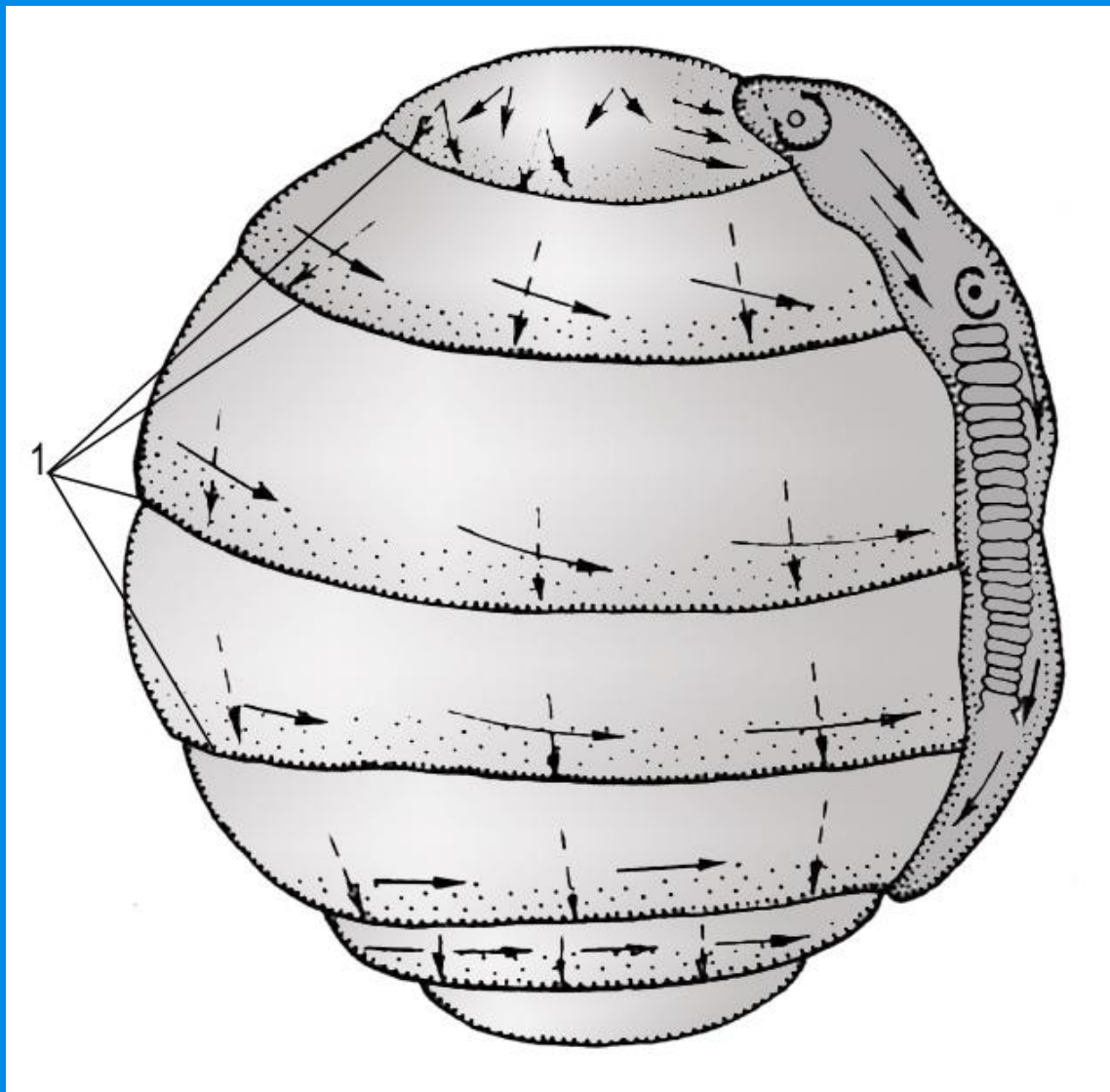


- На схеме слева зародыш на стадии 90 % обрастания (эктодерма и мезодерма окружают большую часть ж. сферы). **Энтодерма** в виде отдельного слоя клеток подстилает мезодерму в дорсальной области. На схеме справа показан зародыш к моменту завершения обдукции и гаструляции.

Основные морфогенетические движения в ходе гаструляции



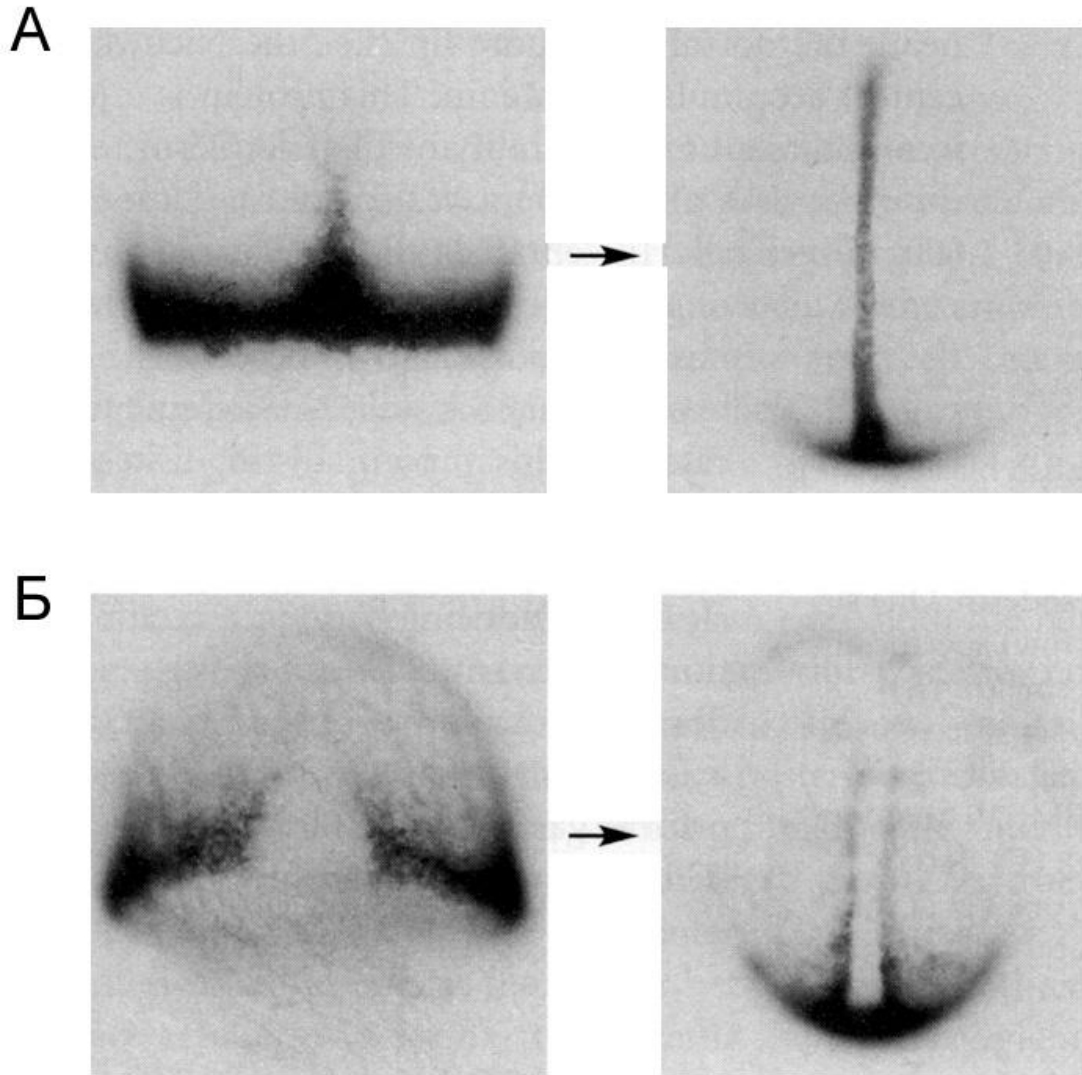
ОБРАСТАНИЕ ЖЕЛТКА И КОНВЕРГЕНЦИЯ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ТЕЛА ЗАРОДЫША ФОРЕЛИ (по Ballard, 1973)



Клетки кроющего слоя с момента его сегрегации участвуют исключительно в движениях обрастания желточной сферы в направлении к вегетативному полюсу (*пунктирные стрелки*) и к образованию тела зародыша не имеют никакого отношения.

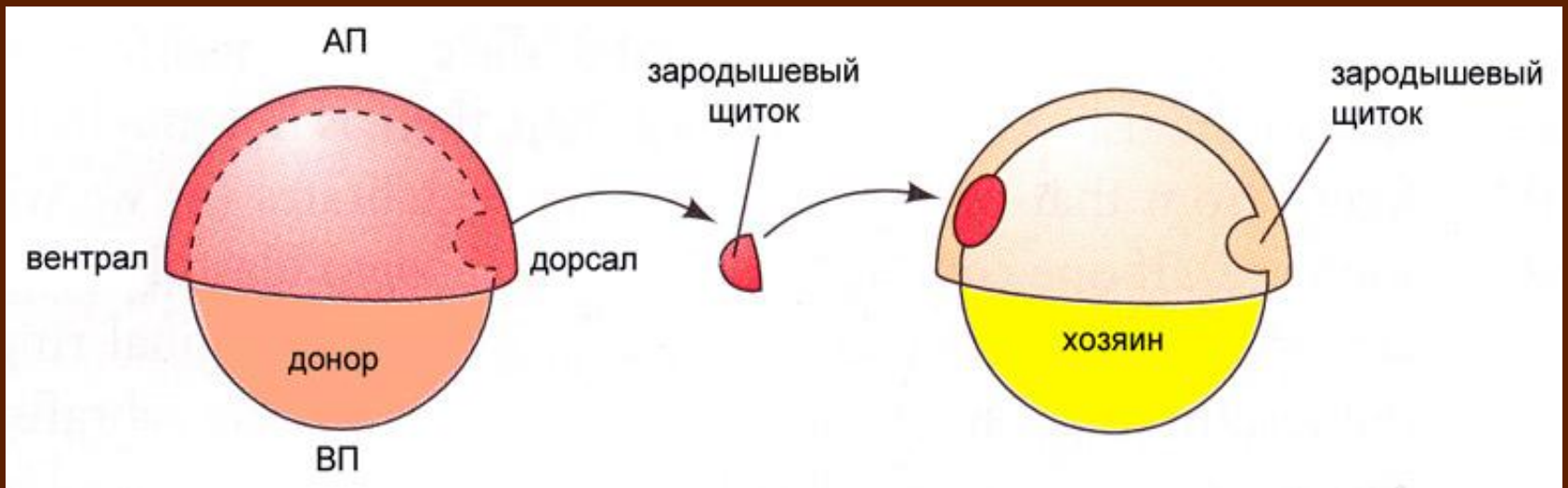
Погруженные клетки бластодермы, напротив, в первые моменты обрастания демонстрируют радиальные интеркаляции, которые затем сочетаются с движениями конвергенции (*сплошные стрелки*). 1 – последовательные этапы обдукции

Конвергенция и экстенция в гастреле Данио



- А – движения клеток хордомезодермы, экспрессирующих ген *no tail* в начале и в конце гастрюляции;
- Б – конвергентные движения клеток параксиальной мезодермы, прослеженные с помощью выявления специфической экспрессии гена *snail*.

Организатор Шпемана-Мангольд у Костистых рыб



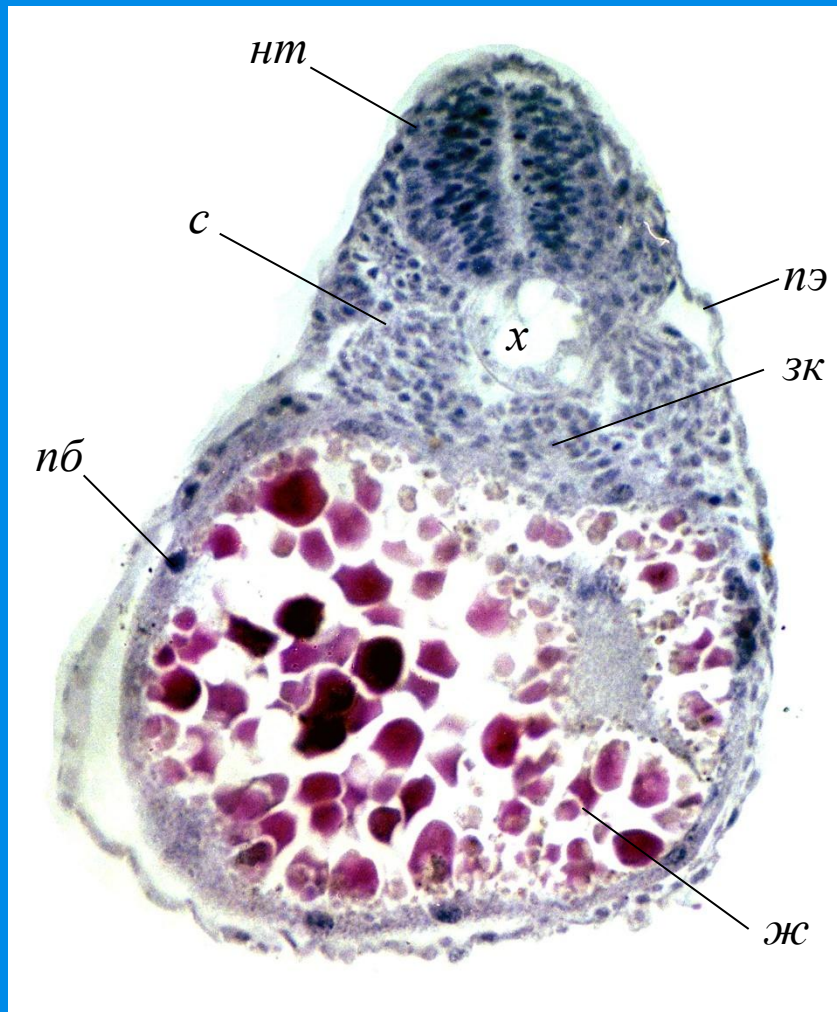
- Схема классического эксперимента по пересадке материала зародышевого щитка (около 100 клеток) ранней гастролы, который в эктопическом положении вызывает у зародыша хозяина образование вторичной оси тела.

Организатор Шпемана-Мангольд у Костистых рыб



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

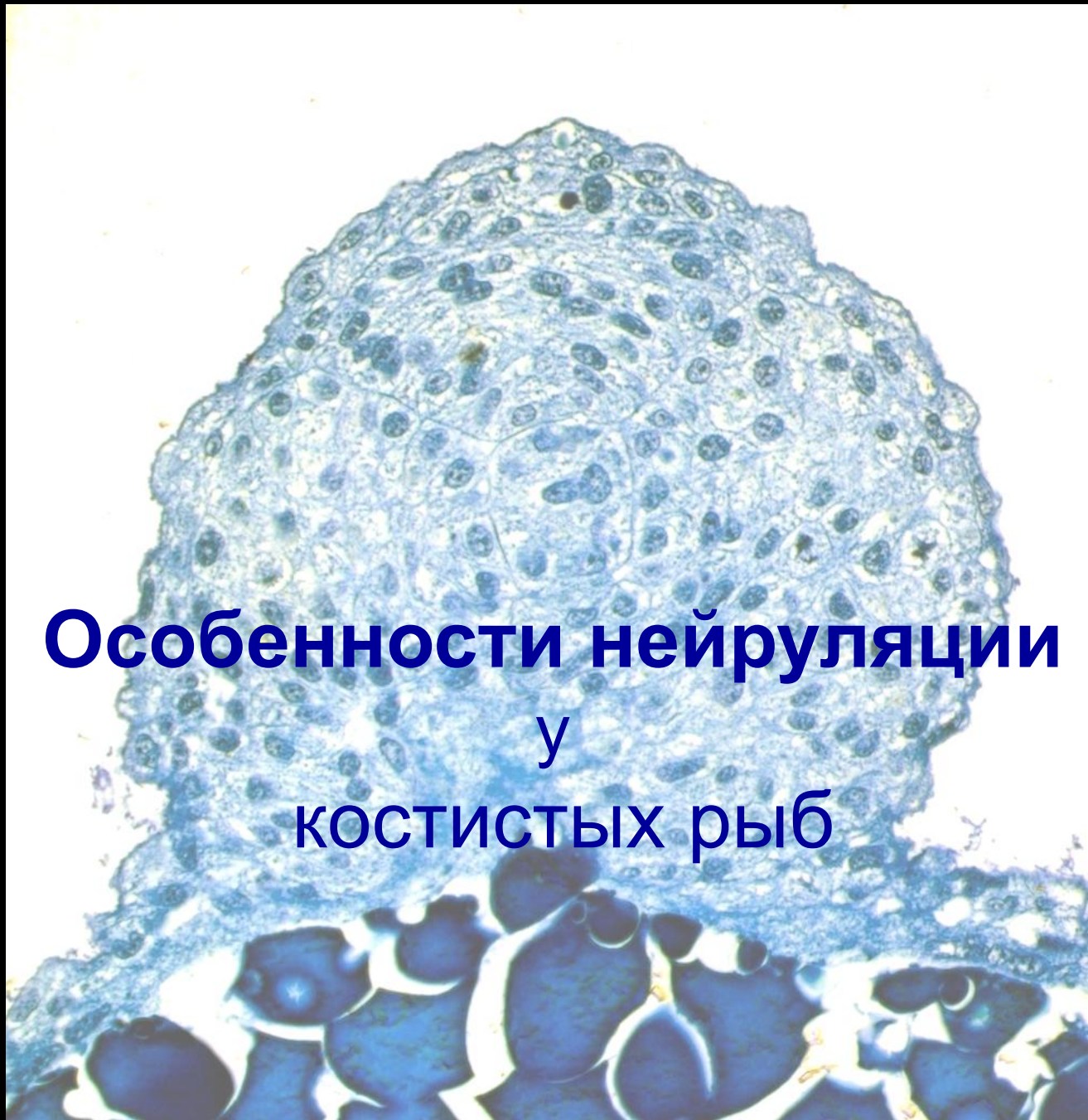
Образование осевого
комплекса зачатков (нотогенез)
у Teleostei



Из Ефремов и др. (2006)

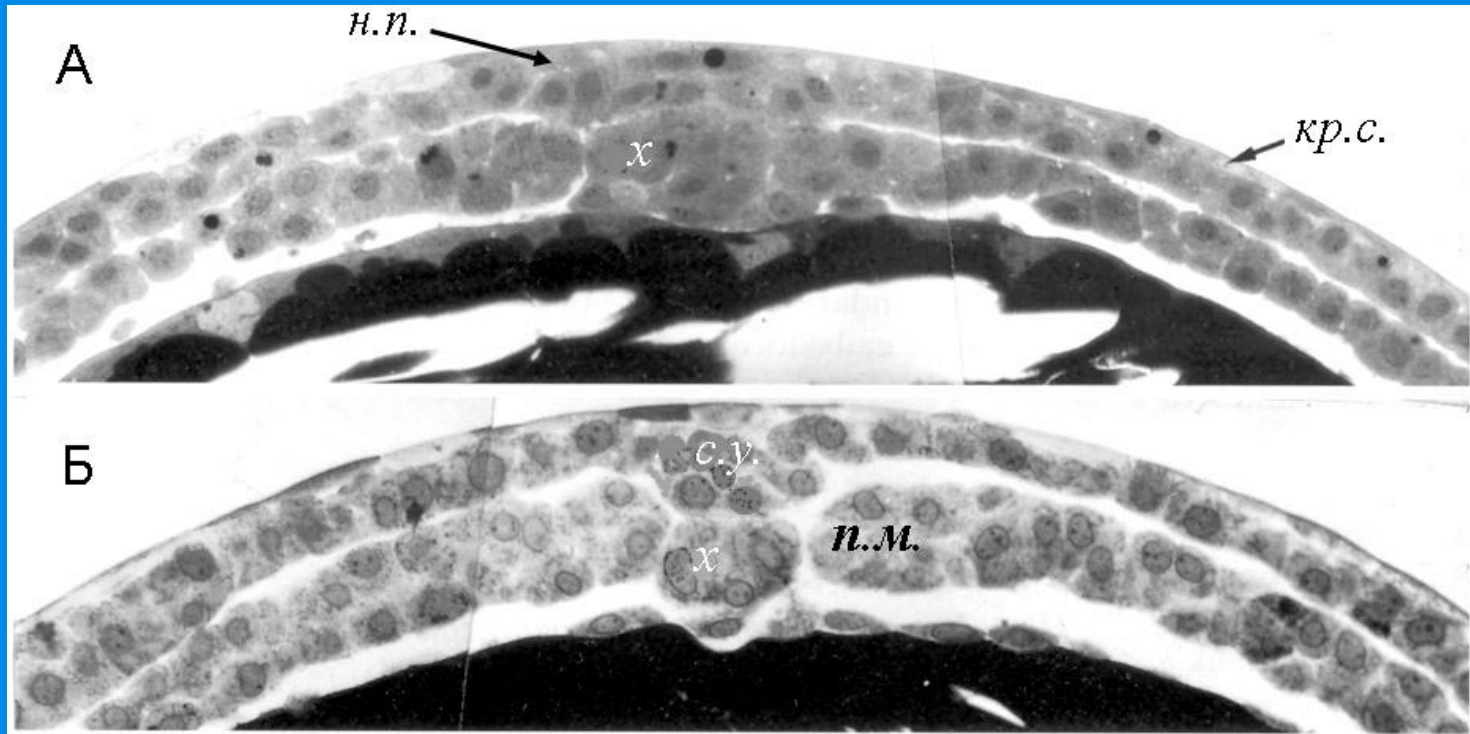
Осевой комплекс зачатков

Осевой комплекс зачатков зародышей позвоночных включает неперменный набор: 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 энтодермальную зачатку *кишки (зк)*. Последний у животных, развивающихся по меробластическому типу, приобретает трубчатое строение на относительно поздних стадиях. На фотографии поперечного среза эмбриона *Danio rerio* кроме уже упомянутых зачатков показы: *перибласт (пб)* и желток (*жс*) в зачатке *желточного мешка*.



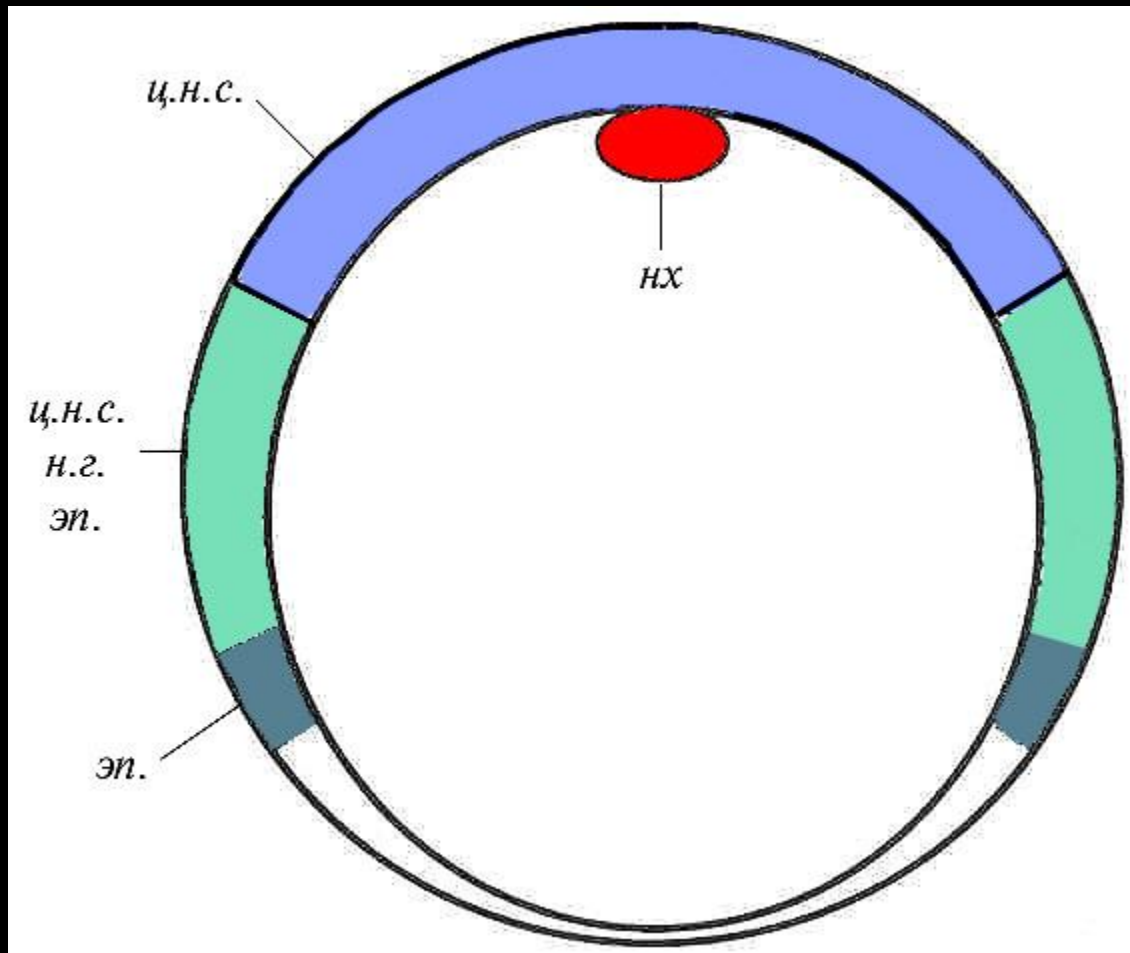
**Особенности нейруляции
у
костистых рыб**

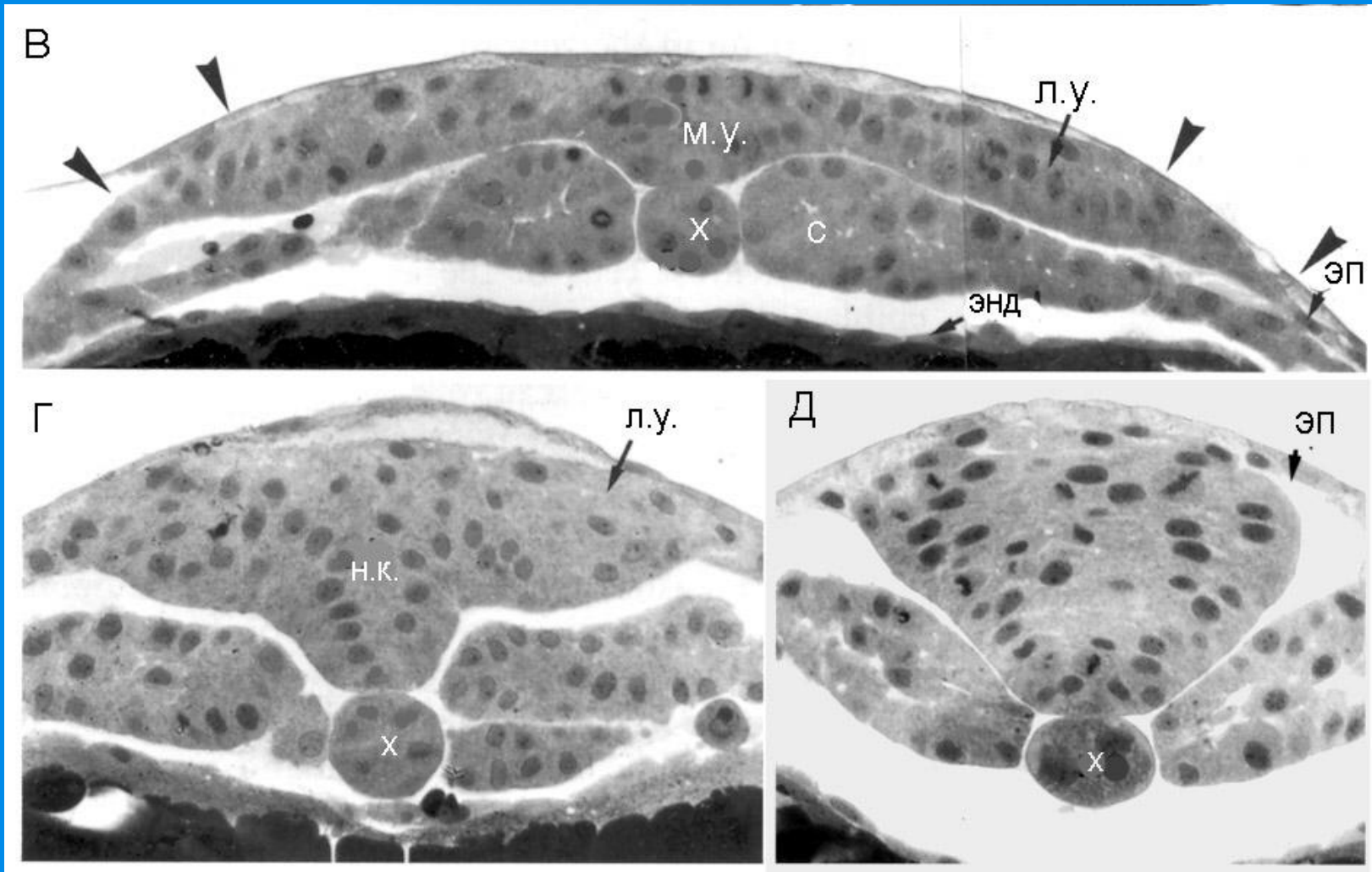
Ранняя нейральная пластинка у *Danio rerio*



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

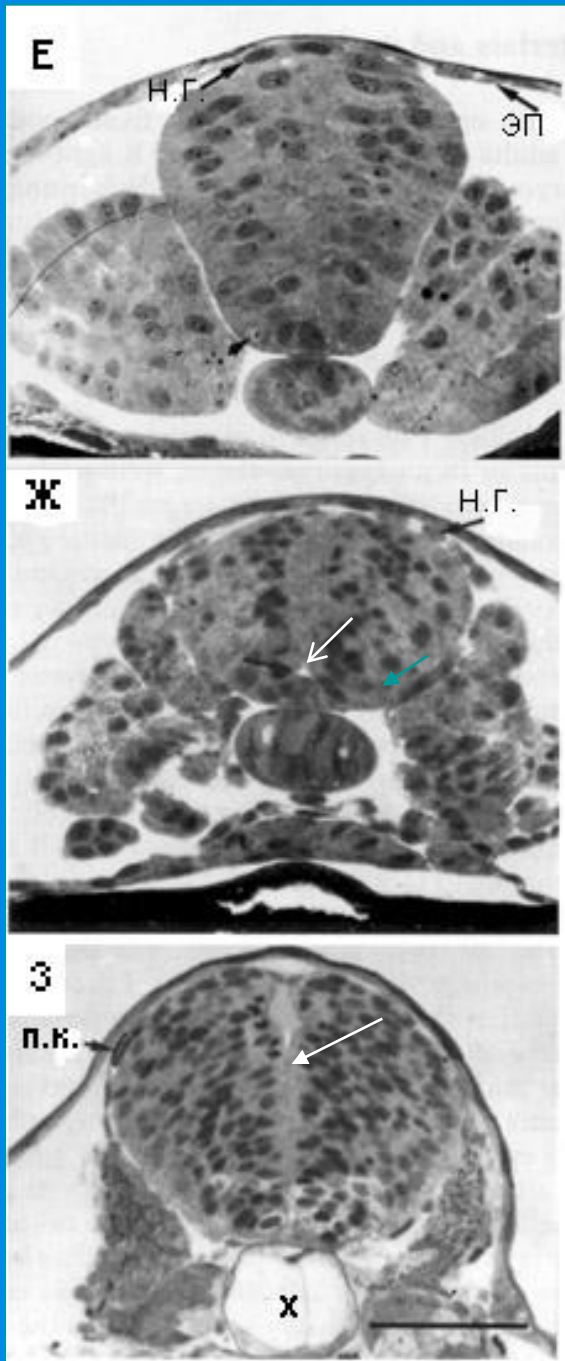
Композиция эпибласта по завершении эпиболии (на поперечном разрезе зародыша)





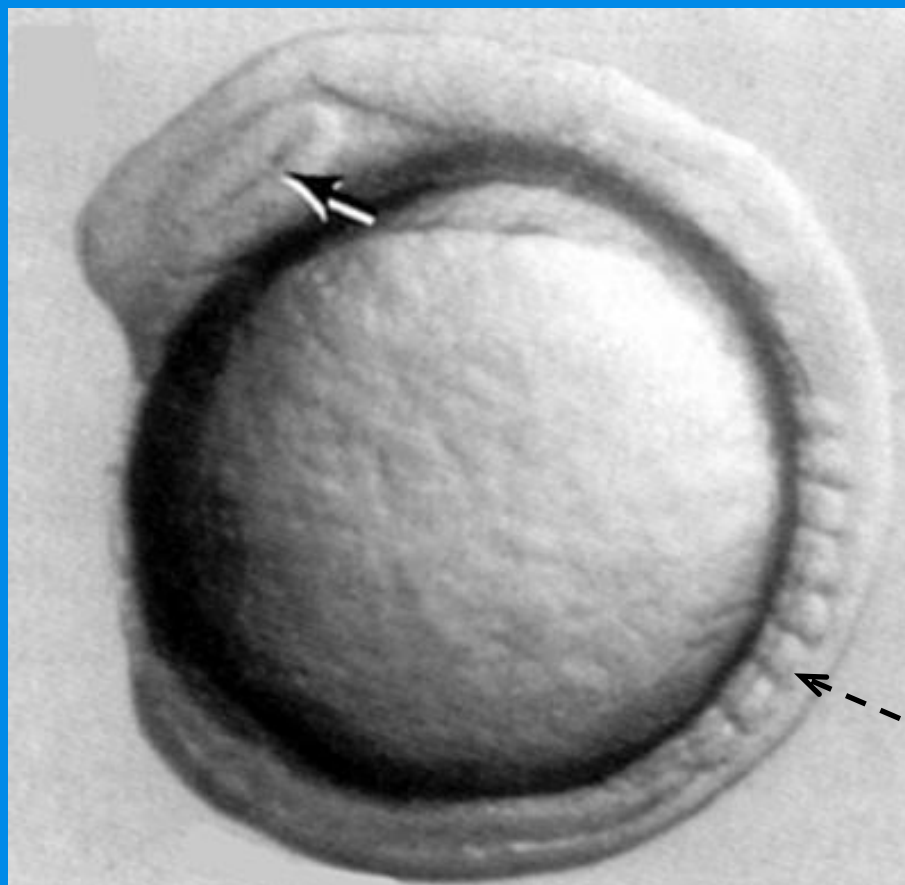
- В. Латеральные утолщения (л.у.) нейральной пластинки становятся видимыми на 2-сомитной стадии, нейральный киль (н.к.) формируется прогрессивно в ходе 5 – Г, 9 – Д и 14- сомитной стадий. м.у. – медиальное (срединное) утолщение

Заключительные этапы формирования нейральной трубки у *Danio rerio*

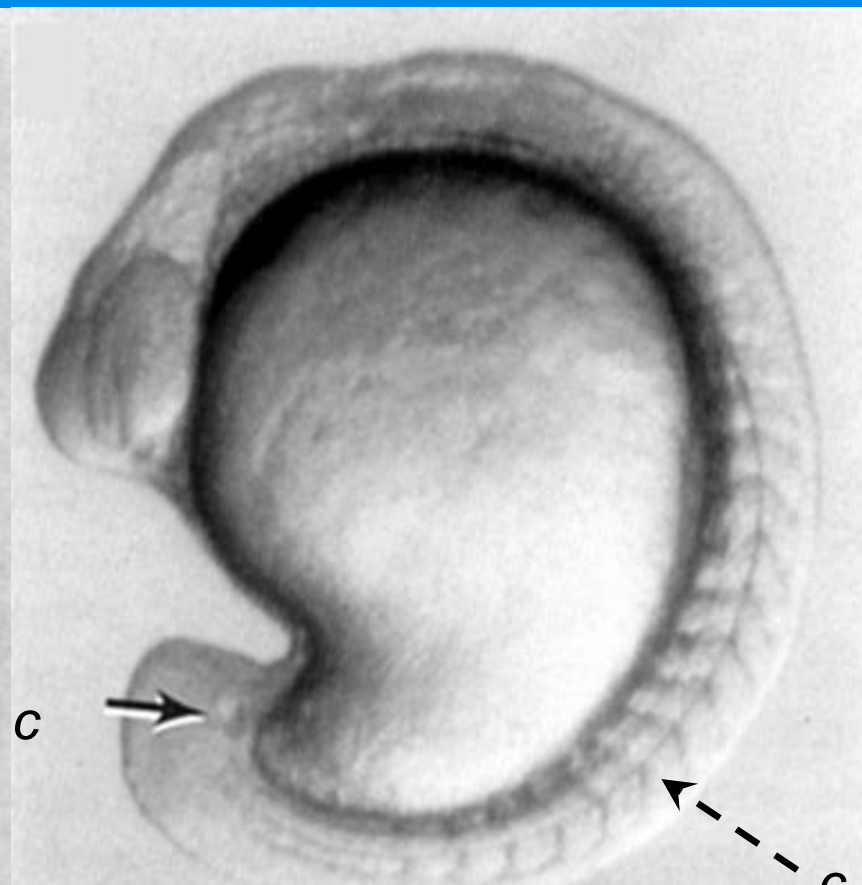


- E – стадия 14 сомитов, заканчивается формирование нейрального кила и обрастание его эпидермисом (эп); начинается выселение и миграции клеток нейрального гребня (н.г.).
- Ж – 20-сомитная стадия; появляются первые признаки нейроцеля (белая стрелка).
- З – 30-сомитный зародыш; завершается образование нейроцеля. Обратите внимание на сильную вакуолизацию хорды (х)

Сомитогенез у *Danio rerio*

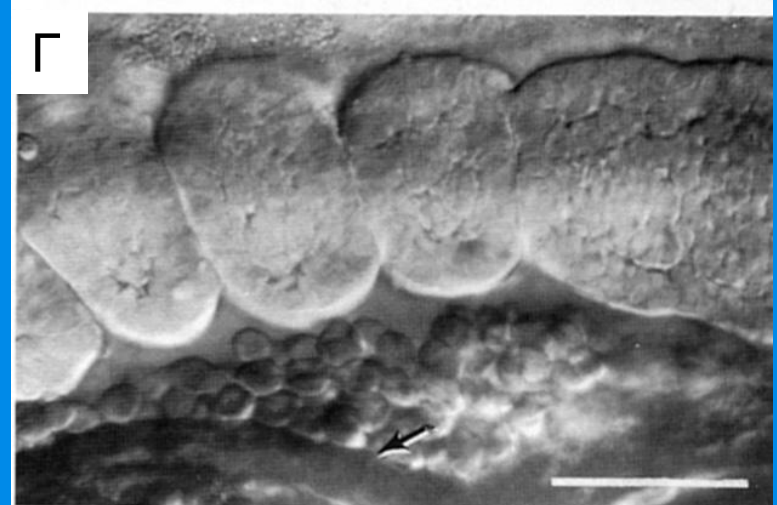
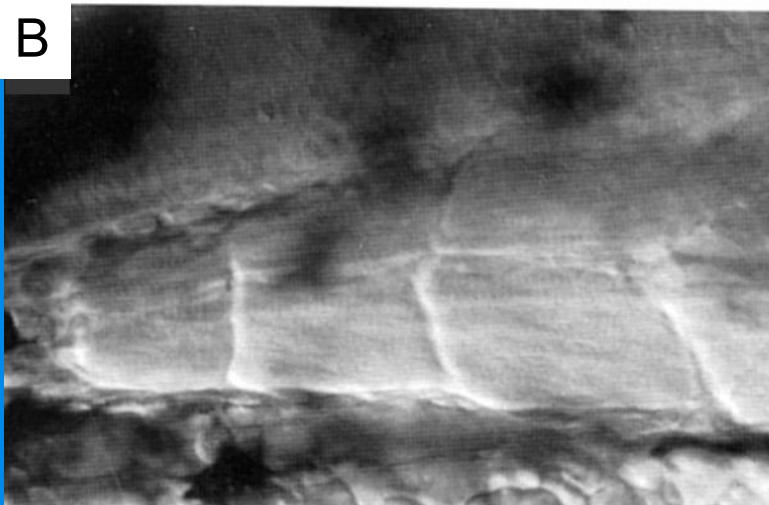
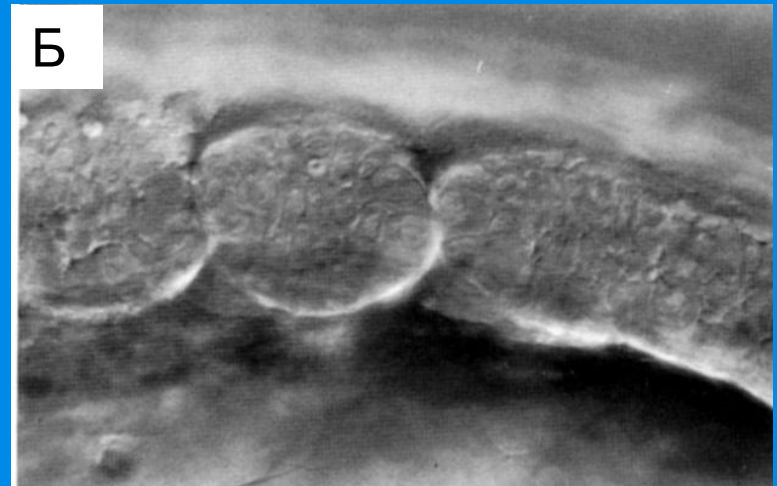


Стадия 8 пар сомитов



Стадия 14 пар сомитов

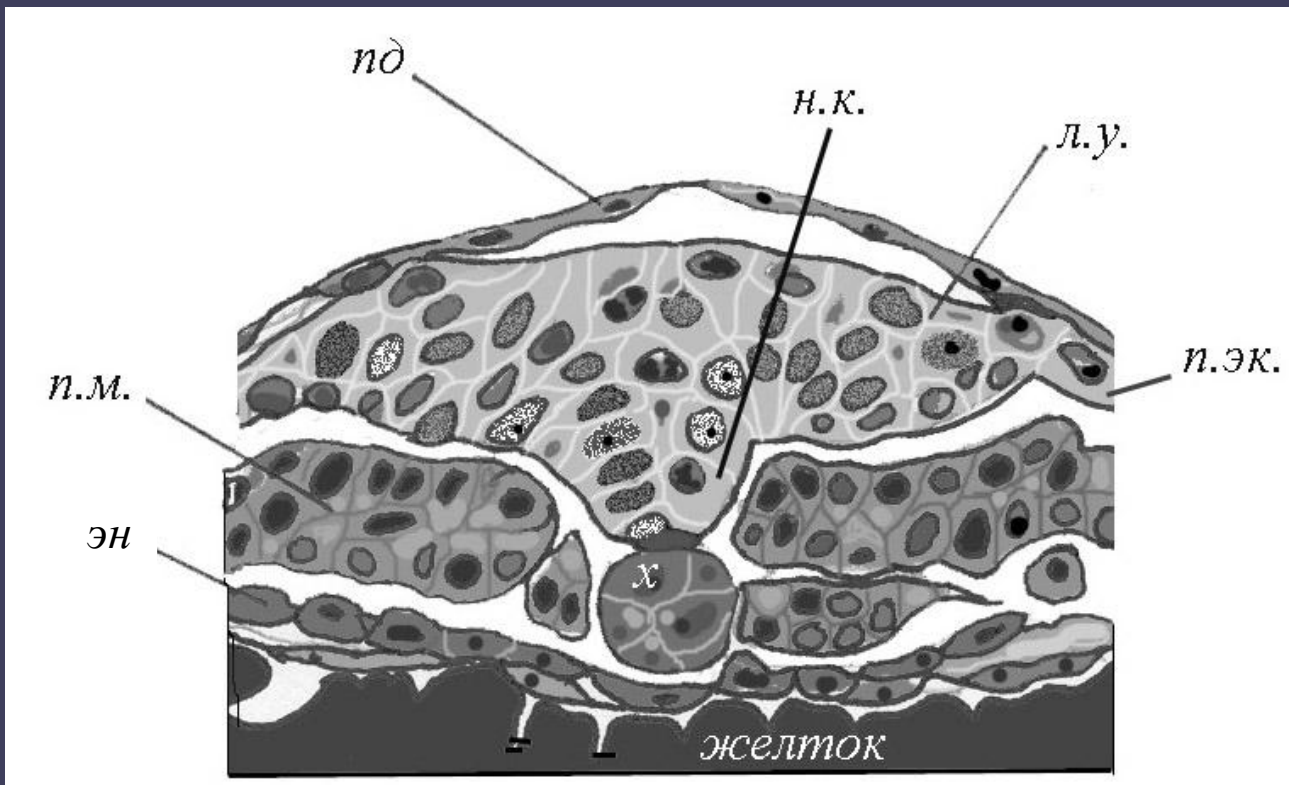
Морфогенез сомитов *Danio rerio*



Пояснения к предыдущему слайду

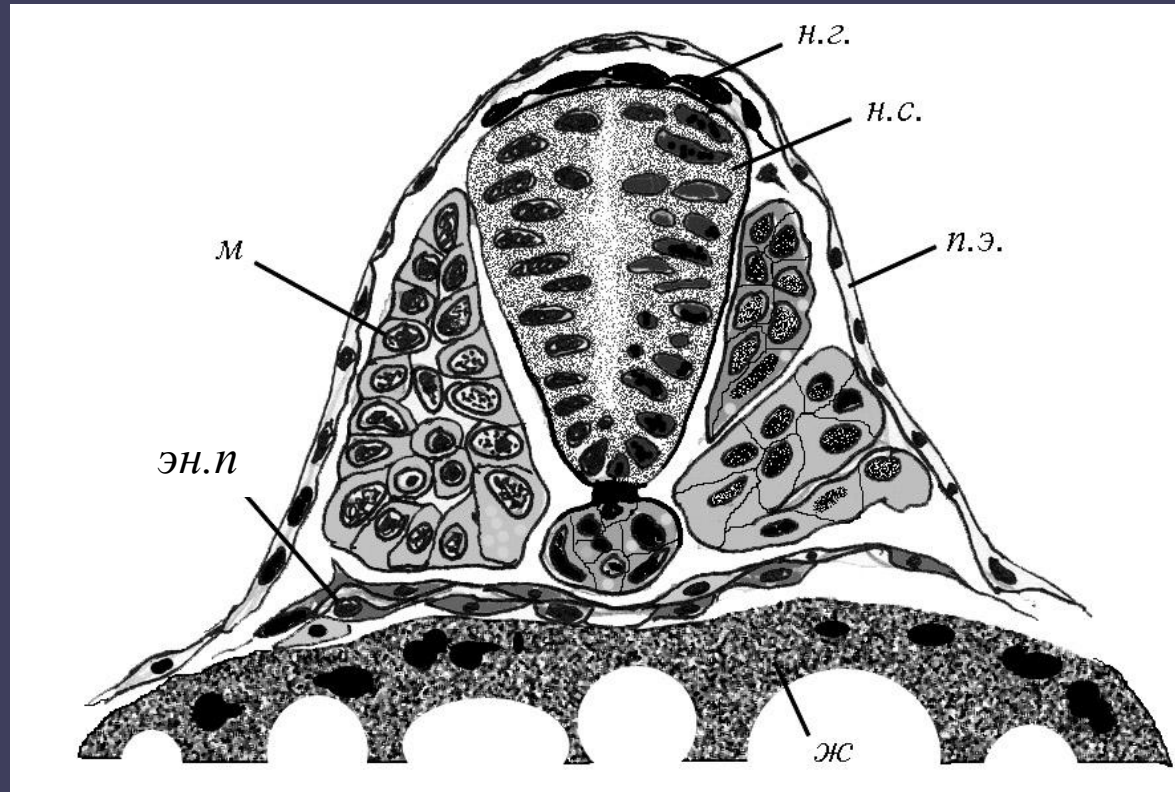
Морфогенез сомитов (вид с левой стороны, спина обращена вверх, передний конец слева). **А:** передние (1-3) сомиты у зародыша на 9-сомитной стадии (13,5 ч). **Б:** задние (8-9) сомиты у того же зародыша. Десятый сомит только начинает оформляться и представляет собой округлый участок сегментарной пластинки 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 кровяными 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.

Формирование кишечной трубки у Teleostei



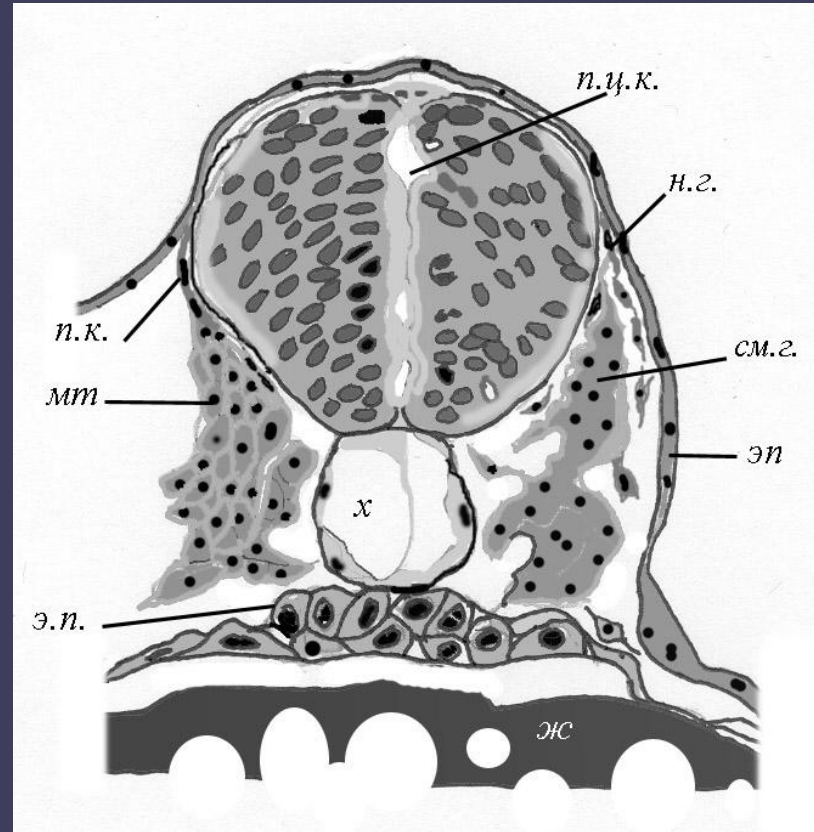
- Данио. Средняя нейрула (поперечный срез). Обозначения: пд – перидерма; н.к. – срединное утолщение (нейральный киль); л.у. – латеральные утолщения; п.эк. – покровная эктодерма; п.м. – параксиальная мезодерма; х – хорда; эн – энтодермальский слой.

Формирование кишечной трубки



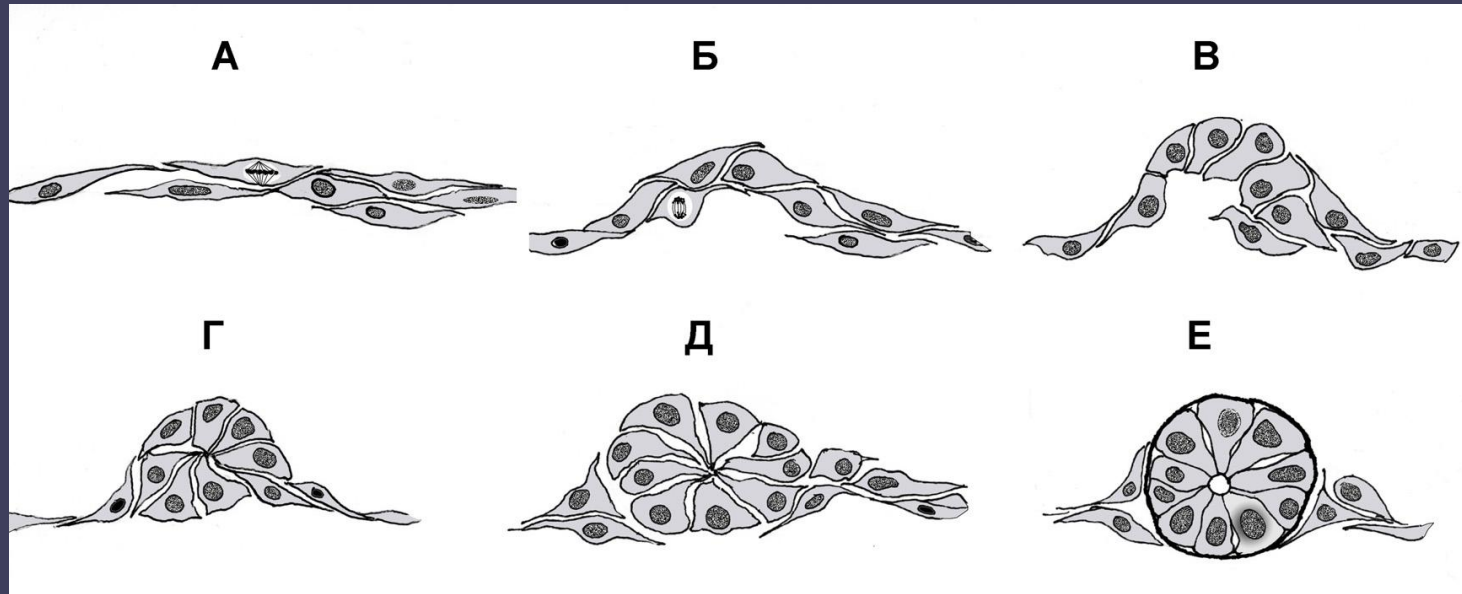
- *Danio rerio*. Нейруляция (стадия нейрального тяжа). н.г. – нейральный гребень, н.с. – нейральный тяж, п.э. – покровная эктодерма, эн.п. – эндодермальна́я пластинка, м - миотом

Формирование кишечной трубки



- Данио. Поздняя нейрула (поперечные срезы).
- Обозначения: *п.ц.к.* – полость центрального канала; *эл* – эпидермис; *н.г.* – материал нейрального гребня; *см.г.* – спинномозговой ганглий; *мт* – миотом; *х* – хорда; *э.п.* – эндодермальна́я пластинка.

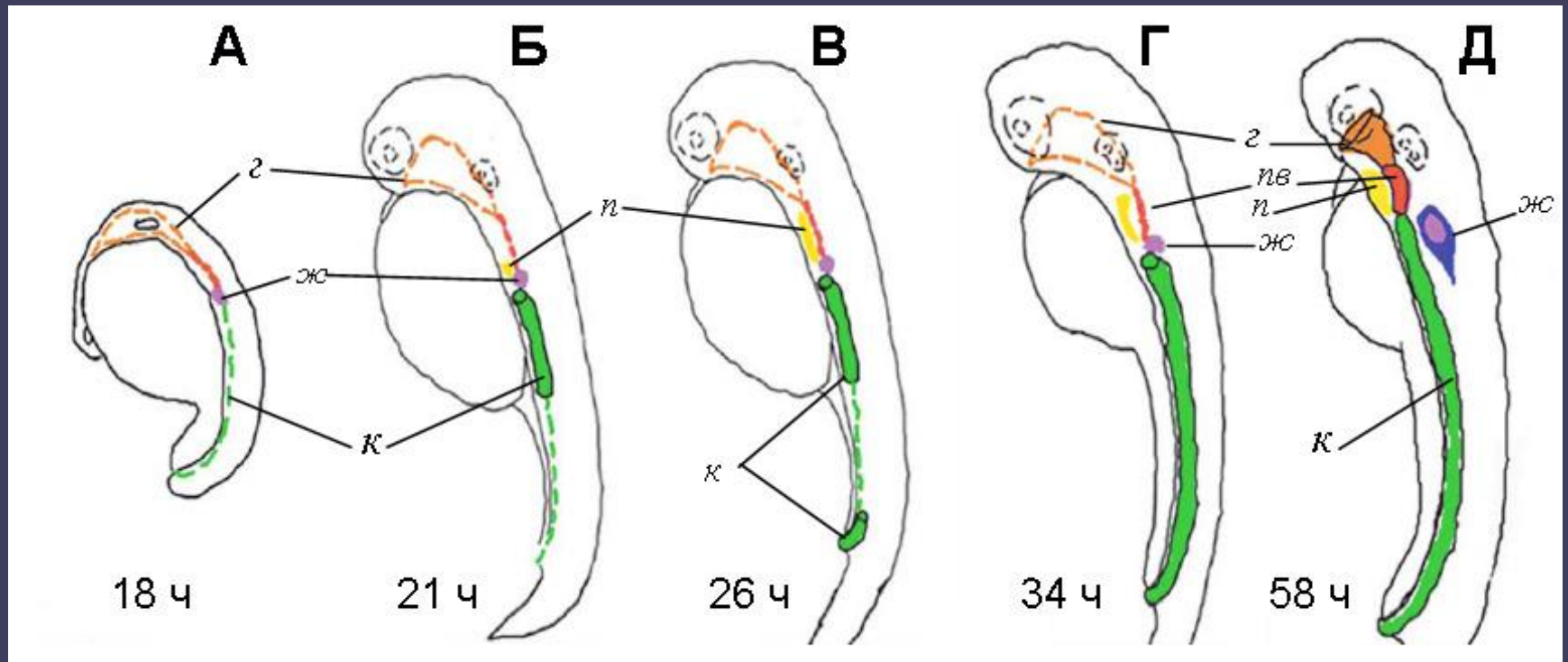
Поляризация и реаранжировки энтодермальных клеток при формировании кишечной трубки у зародышей *Danio rerio*



(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 формирование «веера» (стадия 18 п.с.); (Г) и (Д) Замыкание клеточного «веера» в «розетку» (стадии 22 и 26 п.с.); (Е) Появление центрального просвета кишечной трубки (стадия 34 пары сомитов).

Одна из примечательных особенностей нотогенеза Костистых рыб, отличающая их от развивающихся зауропсид, 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 изначально её частями. Их смыкание с кишкой происходит уже после вылупления в процессе разрастания кишечной трубки в переднем направлении (см. следующий слайд).

Схема морфогенеза пищеварительной системы *Danio rerio*

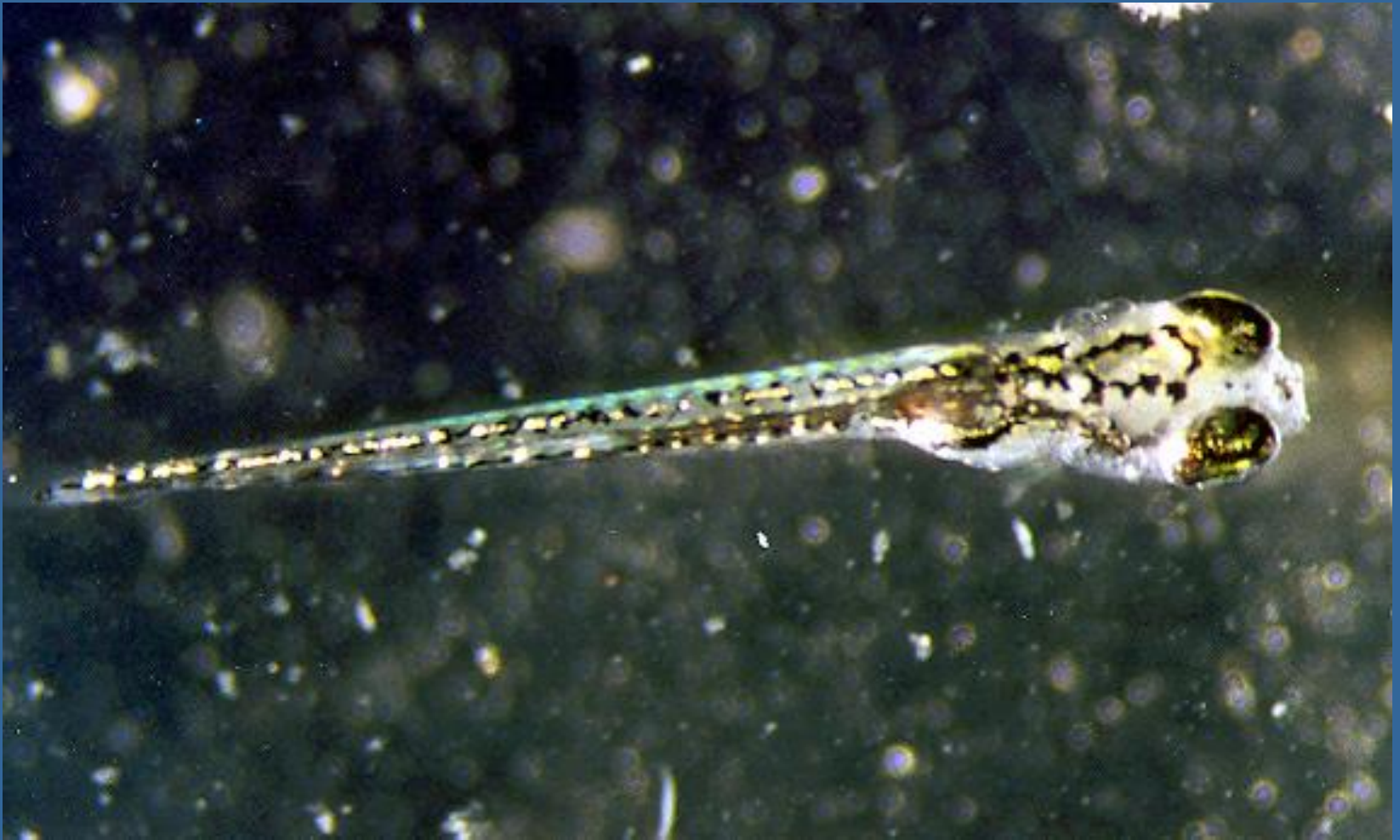


(А) Локализация клеток-предшественников глотки (г – оранжевый цвет), поджелудочной железы (ж – пурпурный) и кишки (к – зеленый) на стадии 18 п.с. (18 часов п.о.); (Б) На стадии 21 час п.о. сформировалась средняя кишка, и может быть определена область локализации клеток-предшественников печени (л – желтый). (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.

Вылупление *Danio rerio*



Личинка *Danio rerio*





автор
презентации
В.И. ЕФРЕМОВ