

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИЙ БЛАСТОДЕРМЫ В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ВЬЮНА¹

© 2007 г. И. В. Неклюдова, Е. Г. Корвин-Павловская, В. Г. Черданцев

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

119992 Москва, ГСП-2, Ленинские горы

E-mail: neklyudovai@mail.ru

Поступила в редакцию 29.06.06 г.

Окончательный вариант получен 18.01.07 г.

На гистологических срезах, согласно разработанной шкале оценок, определяли степень дифференцировки осевых структур (хорды, нейроэктодермы и сомитов) в суточных эксплантатах (всего 380) эмбриональной бластодермы вьюна. До начала эпиболии осевые структуры образуются только из фрагментов дорсального сектора краевой зоны бластодермы. Остальные ее секторы приобретают способность к образованию осевых структур с началом эпиболии, по мере оформления в краевой зоне зародышевого кольца, в отличие от клеток, не вошедших в его состав. До образования зародышевого щитка степень дифференцировки хорды, нейроэктодермы и сомитов из материала всех секторов краевой зоны одинакова в соответствии с радиальной симметрией клеточных потоков, формирующих зародышевое кольцо. С появлением зародышевого щитка, т.е. области конвергенции клеточных потоков, степень дифференцировки осевых структур в дорсальном секторе краевой зоны достоверно возрастает. При этом впервые возникают статистически достоверные региональные различия морфогенетических потенциалов краевой зоны, соответствующие различиям проспективного значения ее материала: из материала дорсального сектора лучше дифференцируются хорда и нейроэктодерма, а из материала вентрального сектора – сомиты. Таким образом, распределение морфогенетических потенциалов точно отражает пространственно-временную динамику коллективного движения клеток бластодермы при нормальном ходе морфогенеза.

Ключевые слова: эмбриогенез, дифференцировка, морфогенетические потенциалы, осевые структуры, бластодерма, эксплантаты, костистые рыбы, вьюн.

Основное положение теоретической эмбриологии заключается в том, что морфогенетические потенциалы (МП) областей зародыша шире их проспективного значения (Дриш, 1915). Это означает, что из данной области может получаться не только то, что соответствует ее нормальной судьбе, но и многое другое, если изменить условия ее развития или просто наблюдать за нормальной индивидуальной изменчивостью (Черданцев, 2003). Классический способ характеристики МП состоит в изоляции клеточного материала и определении спектра эмбриональных структур, которые развиваются из него без дополнительных воздействий (Holtfreter, 1938a, b). Теоретически это позволяет картировать распределение МП с такой же точностью, с какой мы картируем распределение презумптивных эмбриональных закладок.

Среди позвоночных карты МП составлены только для гастролы амфибий (Holtfreter, 1938a, b), и

их рассмотрение приводит к выводам, которые расходятся с обычным представлением о детерминации эмбриональных закладок как о последовательном ограничении потенциалов эмбрионального материала (см. любой учебник эмбриологии). У амфибий материал “организатора”, т.е. дорсальной губы бластопора, при изоляции образует любые структуры из тех, которые вообще могут развиваться из материала всей краевой зоны ранней гастролы (Holtfreter, 1938a, b; Belousov, 1998). Таким образом, дорсальный сектор краевой зоны представляет область с наиболее широкими потенциалами. В то же время при изоляции материала вентрального сектора краевой зоны гастролы образуются структуры, разнообразие которых меньше или равно его проспективному значению. К тому, что вообще известно о структуре дорсовентральных (ДВ) различий в краевой зоне гастролы, мы можем добавить и тот факт, что ДВ-ось представляет собой однопараметрическое множество МП, различающихся шириной своего спектра (Черданцев, 2003).

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 05-04-48681, 05-04-48847).

Итак, потенции распределены не менее упорядоченно, чем любые актуальные характеристики частей развивающейся системы. Связь между шириной МП и судьбой области разрушает основную парадигму теории позиционной информации (Wolpert, 1996). Разным “позициям” соответствуют качественно различные способы взаимодействия областей со своим окружением, ограничивающие или же, наоборот, расширяющие потенции данной области. Долгое время такое представление казалось совершенно чуждым самому духу моделей генетической регуляции развития. Сейчас же, напротив, эта тема становится актуальной, с тех пор как стало известно, что регуляторные зоны генов, отвечающих за дифференцировку областей зародыша, могут различаться качеством промоторов и, соответственно, числом факторов транскрипции, необходимым для активации генов, выделяющих данную область (Wray et al., 2003).

Подводя итоги своих исследований в области экспериментальной эмбриологии рыб, Оппенгеймер (Oppenheimer, 1979) писала о наблюдениях над “перманентными бластулами” костистых рыб: “Их морфология бедна и однородна, зародыш сохраняет сферическую форму, и у него никогда не образуется осевых структур. Разве что в случайных скоплениях клеток иногда возникают островки кровеносной ткани. Хотелось бы знать, как можно объяснить такой факт – то, что простая морфология допускает развитие только сравнительно простых клеток – с точки зрения молекулярной биологии?”. В этом высказывании безошибочно нащупана связь, изучение которой является предметом данной работы, – связь между уровнем сложности структурной и динамической организации эмбриональных тканей, шириной их потенций и судьбой клеток.

У костистых рыб распределение МП перед началом и в ходе гаструляции (эпиболлии) изучено гораздо меньше, чем у амфибий. Морфологические признаки, позволяющие различать дорсальный и вентральный секторы бластодермы до начала и на ранних этапах эпиболлии, были найдены сравнительно недавно (Черданцева, Черданцев, 1985; Schmitz, Campos-Ortega, 1994; Неклюдова и др., 1999; Cherdantseva, Cherdantsev, 2006), когда интерес к экспериментальной эмбриологии начал угасать. Между тем именно костистые рыбы представляют наиболее удобную модель для изучения пространственно-временной динамики МП, поскольку перед началом эпиболлии клетки бластодермы образуют у них единую и морфологически однородную популяцию (Ballard, 1973, 1980).

У зародышей вьюна *Misgurnus fossilis* L. детерминация ДВ-полярности бластодермы становится необратимой только с образованием зародышевого щитка, когда ее дорсальный полюс становится центром конвергенции клеточных потоков, направ-

ленных в краевую зону бластодермы (Черданцев, Цветкова, 2005; Cherdantseva, Cherdantsev, 2006). До образования зародышевого щитка материал всей краевой зоны (зародышевого кольца) способен при изоляции к образованию всех осевых структур, включая хорду (Неклюдова и др., 1999), а создание путем простых микроопераций новых потенциальных центров конвергенции ведет к перераспределению направления ДВ-оси (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006).

Понимая детерминацию как последовательное ограничение потенций, эти данные должны были бы говорить о том, что у костистых рыб детерминация ДВ-полярности происходит позже, чем у амфибий. Это, однако, неверно, так как у того же вьюна еще до начала эпиболлии бластодерма будущего дорсального сектора отличается не только своими геометрическими и механическими характеристиками (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006), но и тем, что при изоляции ее материала образуются осевые структуры в отличие от материала других секторов бластодермы (Неклюдова и др., 1999). Более того, для костистых рыб давно показано, что ДВ-полярностью зародыш обладает еще до начала дробления (Tung T., Tung W., 1944).

Очевидно, детерминация включает в себя не только ограничение, но и расширение потенций эмбриональной ткани (ср.: Belousov, 1998). Это означает, что потенции области, представляющие вектор ее движения во времени, пространственно распределены между ней самой и ее окружением и это распределение изменяется по мере развития (Черданцев, 2003). Задача нашей работы – картировать распределение потенций к образованию осевых структур на последовательных этапах морфогенеза зародышей вьюна и показать, что МП изменяются за те же характерные времена, что и геометрия коллективного движения клеток. Это означает, что реализация МП данного участка ткани путем изменения его формы ведет к изменению МП окружающих его участков (Cherdantsev, 2006).

Для решения поставленной задачи было важно, чтобы развитие изолированных фрагментов эмбриональной ткани включало в себя нормальное формообразование, поэтому нас интересовала не просто дифференцировка тканей, а образование структур, опознаваемых на обычных гистологических препаратах. Именно полнота воспроизведения нормального морфологического и гистологического строения осевых структур – нейральных структур, хорды и сомитов – служила критерием, по которому оценивалась степень их дифференцировки. Число отчетливых градаций такой оценки невелико, но достаточно для количественного описания морфологии.

При таком подходе потенции можно оценивать как количественный признак, т.е. говорить не только о расширении или ограничении спектра МП, но

и об их увеличении или уменьшении, исходя из количественной оценки осевых структур, образующихся из эксплантатов бластодермы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Зрелые яйцеклетки вьюна *Misgurnus fossilis* L. получали путем инъекции хорионического гонадотропина (Костомарова, 1975). После оплодотворения икру содержали в отстойной воде при температуре 18–20°C. Морфологию нормального развития от начала эпиболии и до образования зародышевого щитка изучали на оптических срезах живых зародышей с помощью стереомикроскопа Zeiss StemiSV11, Германия. Методика изоляции и культивирования эксплантатов бластодермы подробно описана ранее (Неклюдова и др., 1999). Здесь важно подчеркнуть, что эксплантаты включали в себя все слои клеток бластодермы данного сектора, т.е. после удаления эксплантата на его месте оставался участок обнаженного желточного синцития. Размеры и исходное расположение изолируемых эксплантатов показано на рис. 1, а. Угловой размер эксплантатов краевой зоны составлял примерно 1/8 часть окружности бластодермы, а размер эксплантатов А – примерно 1/8 часть площади центральной зоны.

Методика количественной оценки дифференцировки эксплантатов также была описана ранее (Неклюдова и др., 1999). Здесь мы представляем шкалу оценок в виде схемы на рис. 1, б с перечнем признаков, характеризующих форму эксплантатов и состояние осевых зачатков – нейральных структур и их производных, а также хорды и сомитов – на серийных гистологических срезах, и оценок значения этих признаков в условных единицах (баллах). Фотографические изображения суточных эксплантатов, изолированных из разных секторов бластодермы на последовательных стадиях эпиболии и определявшихся по таблицам нормального развития вьюна (Костомарова, 1975), представлены на рис. 2.

Всего на гистологических препаратах было изучено 380 эксплантатов: 170 – перед началом эпиболии (ст. 8 и 9), 137 – во время образования зародышевого кольца (ст. 10 и 11) и 73 – после образования зародышевого щитка (ст. 12).

Для статистической обработки материала использовали пакет программ “STATISTICA” 6.0, причем баллы, в которых оценивали дифференцировку, считали непрерывно варьирующей величиной.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Геометрия эпиболии

Цель этого раздела – уточнить диагностические признаки “табличных” стадий нормального развития вьюна (Костомарова, 1975) и представить эпи-

болию в виде закономерной последовательности этапов морфогенеза. Это необходимо для понимания материала, излагаемого в последующих разделах, и, кроме того, данный раздел может служить справочным пособием по морфологии процесса эпиболии.

Стадия 8 (преэпиболия). У вьюна, как и у многих других костистых рыб, бластодерма перед началом эпиболии представляет собой рыхлую и пространственно однородную сеть эмбриональных клеток (Черданцев, 2003). Это означает (подробнее см.: Cherdantseva, Cherdantsev, 2006), что глубокие клетки образуют многочисленные отростки, соединенные друг с другом, а также с экстраэмбриональными структурами – покровным слоем (перифластом). Внутри такой сети клетки могут свободно менять соседей без изменения своей локальной концентрации, т.е. без изменения среднего расстояния между геометрическими центрами клеток. До начала эпиболии локальная концентрация клеток мала и пространственно однородна (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006).

На сагиттальном оптическом срезе живого зародыша наружная поверхность бластодермы и поверхность желточного мешка представляют фрагменты окружностей разного радиуса, т.е. не вписываются в единую сферическую поверхность. Краевой угол α между наружной поверхностью бластодермы и поверхностью желточного мешка меньше 180°, причем на дорсальной стороне его величина меньше (дальше от 180°), чем на вентральной стороне зародыша (рис. 3, а). Это означает (подробнее см.: Неклюдова и др., 1999; Cherdantseva, Cherdantsev, 2006), что в области дорсального края бластодермы активное натяжение клеточной сети выше, чем в области вентрального края.

Стадия 9 (инициация). Центробежное движение бластодермы начинается с увеличения площади, т.е. уменьшения активного натяжения поверхности раздела бластодермы с желточным мешком. Краевой угол α возрастает до 180°, и в результате наружная поверхность бластодермы и желточного мешка вписываются в единую сферу (рис. 3, б). На время α перестает быть признаком, характеризующим динамику формы зародыша, а ДВ-различия почти полностью исчезают (рис. 3, б).

Стадия 10 (образование эпителиального пласта). Площадь поверхности раздела бластодермы с желточным мешком продолжает увеличиваться, т.е. ее активное натяжение продолжает уменьшаться, но теперь уже за счет того, что внутренняя поверхность бластодермы – граница раздела бластодермы с желточным мешком – выгибается в сторону наружной поверхности (рис. 3, в). Бластодерма начинает принимать форму изогнутого внутрь эпителиального пласта, число клеточных слоев которого уменьшается, а площадь поверхности и ло-

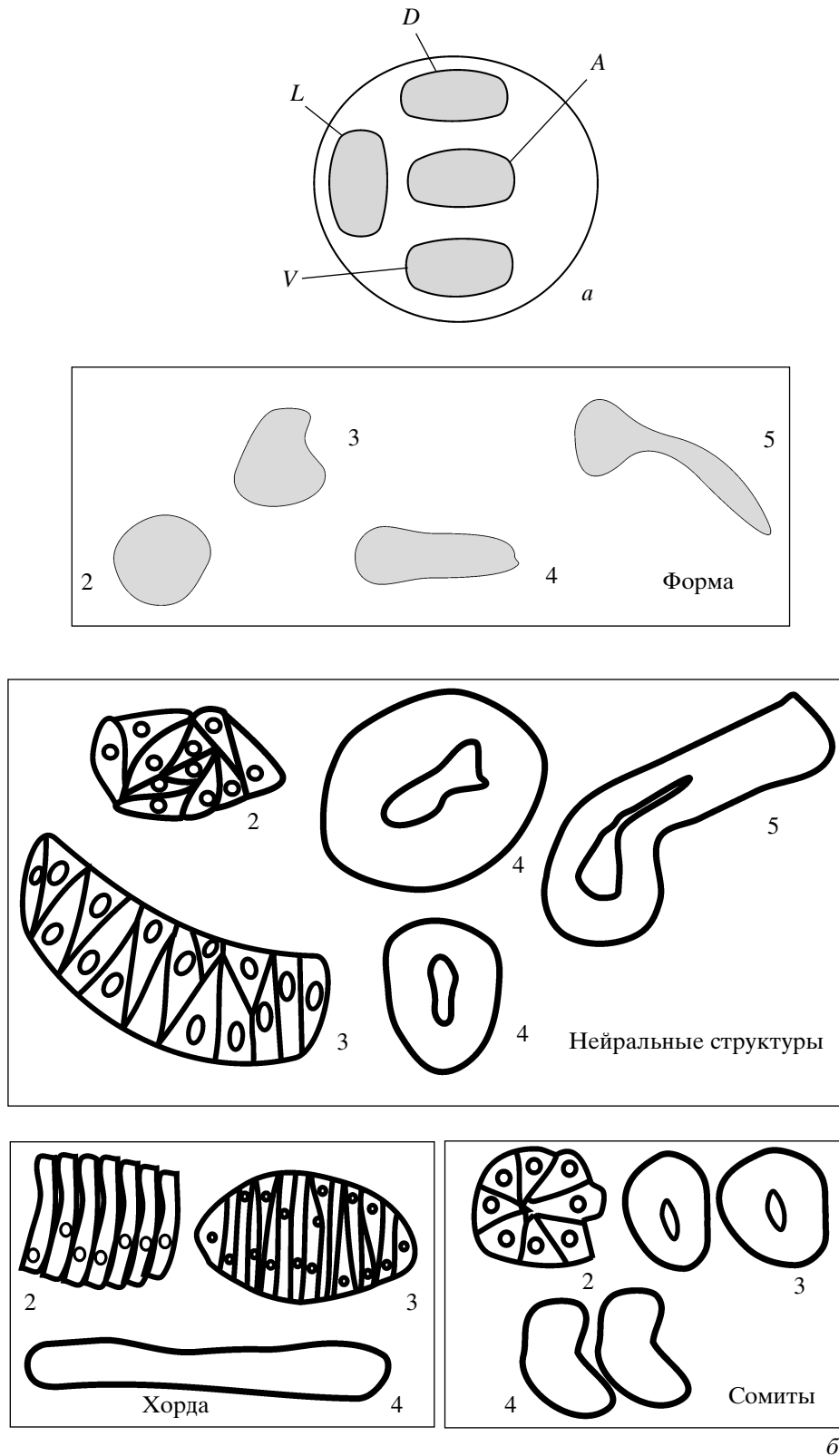


Рис. 1. Схема операций (а) и шкала оценок степени дифференцировки осевых структур (б) зародышей *M. fossilis*. D – дорсальные, L – латеральные, V – вентральные, А – животные фрагменты бластодермы соответственно; 1–4 – баллы (см. в тексте).

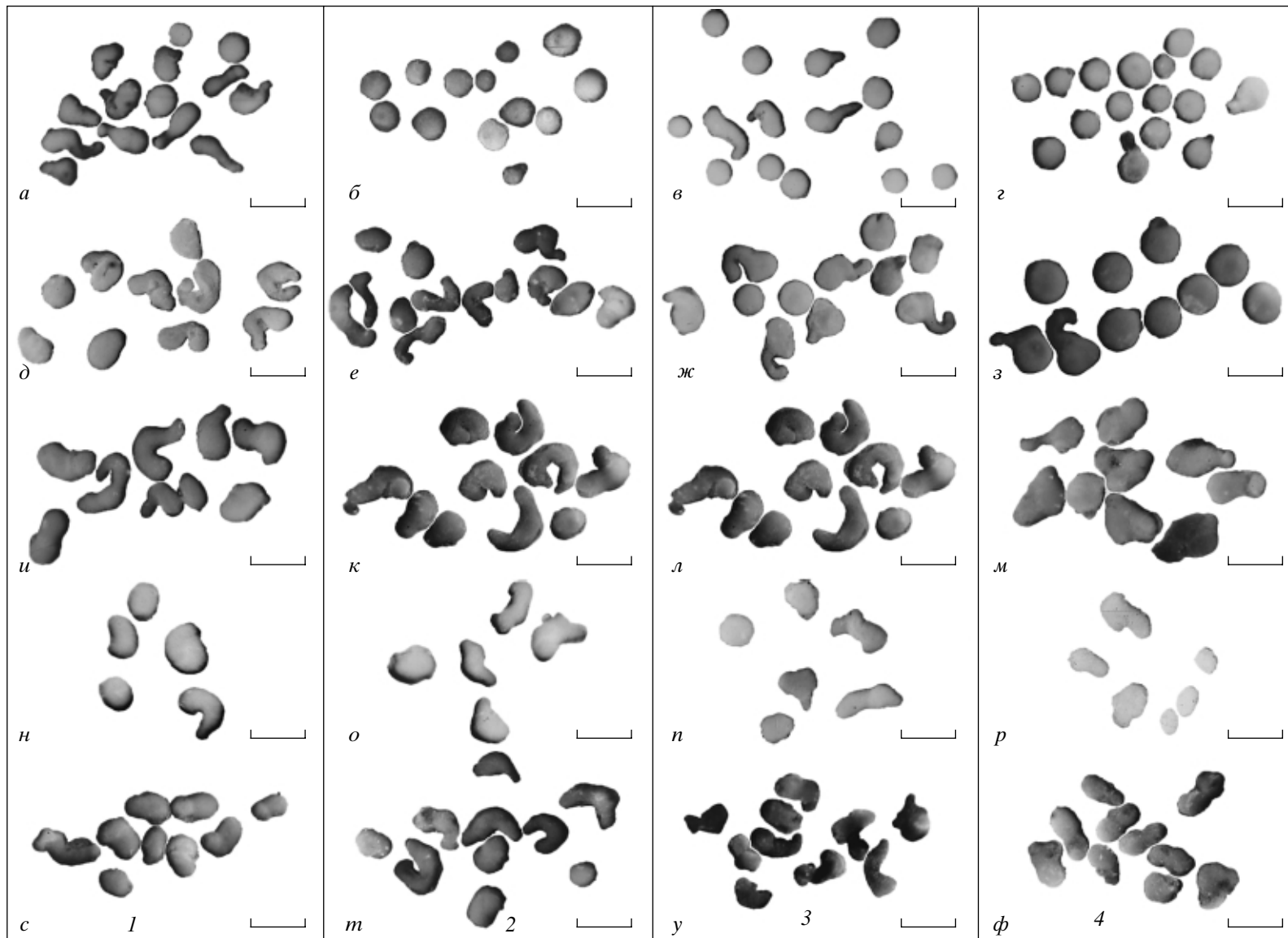


Рис. 2. Форма дорсальных (1), вентральных (2), латеральных (3) и анимальных (4) фрагментов бластодермы вьюна через 24 ч инкубации после эксплантации на разных стадиях развития: *a-г* – 8; *д-з* – 9; *и-м* – 10; *н-р* – 11; *с-ф* – 12. Масштаб: 500 мкм.

кальная концентрация клеток увеличиваются. Эпителиальный пласт формируется путем радиальной интеркаляции клеток, которые в каждый момент времени движутся в центробежном направлении вдоль радиусов кривизны внутренней поверхности бластодермы и встраиваются в промежутки между соседними клетками (Черданцев, 2003).

Наружная поверхность всего зародыша по-прежнему вписывается в сферу, т.е. краевой угол α по-прежнему равен 180° . ДВ-асимметрия проявляется теперь в различии величины краевого угла α^* между наружной и внутренней поверхностями бластодермы (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006). На дорсальной стороне величина этого угла больше, чем на вентральной стороне зародыша, – ближе к 90° (рис. 3, в). Из этого следует, что на дорсальной стороне эпителизация проходит быстрее и активное натяжение свободного края эпителиального пласта выше, чем на вентральной стороне зародыша.

Стадия 11 (образование зародышевого кольца, ЗК). К концу ст. 10 бластодерма, а с ней и весь зародыш могут принимать радиально симметричную форму, без видимых признаков ДВ-полярности. При этом образование ЗК начинается, как правило, на той стороне зародыша, которая на предшествующем этапе эпиболии соответствовала его дорсальной стороне, и граница, отделяющая ЗК от центральной зоны, распространяется вдоль окружности бластодермы по направлению к ее вентральному полюсу (рис. 3, г).

При образовании ЗК эпителиальный пласт краевой зоны загибается внутрь (рис. 3, д) совершенно так же, как это делают свободные края изолированных эпителиальных пластов (Черданцев, 2003). В результате наружная поверхность краевой зоны приобретает собственную кривизну, отличную от кривизны наружной поверхности всего зародыша (ср. радиусы кривизны R и r на рис. 3, д), и величина α опять становится меньше 180° . На дорсальной стороне величина этого угла меньше (дальше от 180°), чем на противоположной стороне зародыша (рис. 3, д). На границе бластодермы с желточным мешком появляется перетяжка (“талиа”), позволяющая бластодерме обрастать желток, не увеличивая диаметра своей окружности (Черданцев, Цветкова, 2005).

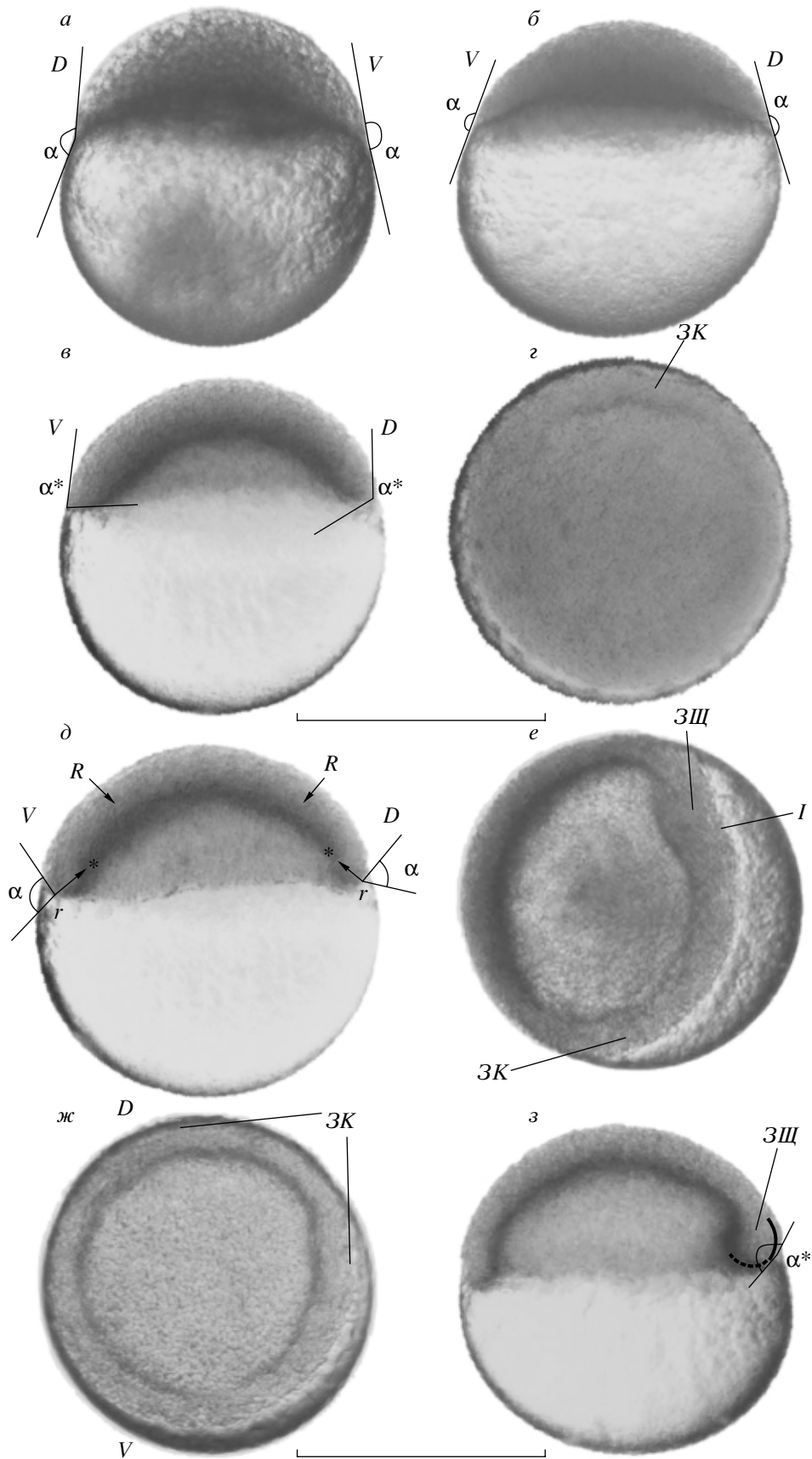
В сагиттальном сечении поверхность краевой зоны приобретает особенность, которая в теории гладких отображений называется складкой (Арнольд, 1993). В геометрическом смысле это – точка перегиба кривизны внутренней поверхности, отмеченная на рис. 3, д звездочкой, но гораздо важнее ее топологический и динамический смыслы. Возникновение складки означает, что поверхность краевой зоны образует фрагмент тора. Тем самым она становится топологически более сложной поверхностью, чем наружная и внутренняя поверхности бластодермы, и, следовательно, динамически независимой от них. С появлением складки зачаток ЗК становится топологической “ловушкой”, накапливающей клетки, мигрирующие из центральной зоны бластодермы (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006).

Стадия 12 (образование зародышевого щитка, ЗЩ). ЗЩ выделяется как сектор ЗК, поначалу занимающий почти четверть окружности бластодермы – сектор, периметр которого уменьшается по сравнению с остальными секторами бластодермы, имеющими такой же угловой размер (рис. 3, е). Физически это означает увеличение активного натяжения границы бластодермы с желточным мешком. При этом дорсальная граница смещается в направлении, противоположном вектору эпиболии, и такое ее движение представляет морфогенетический аналог инвагинации поверхности краевой зоны гастролы у амфибий (Черданцев, 2003). ЗЩ обычно закладывается задолго до замыкания ЗК (рис. 3, е), но бывает, и довольно часто, что ЗК образует полный топологический тор, “дырой” которого является вся центральная зона бластодермы, а признаков ЗЩ еще не видно (рис. 3, ж). В последнем случае бластодерма, как и при переходе к ст. 10, приобретает радиально симметричный вид (рис. 3, ж) без видимых ДВ-различий.

На сагиттальных оптических срезах живых зародышей появление ЗЩ можно опознать по фактическому исчезновению угла α^* , величина которого приближается к 180° , а величина угла α , естественно, уменьшается (рис. 3, з). Потоки центробежной миграции клеток (Ballard, 1973) изменяют форму поверхности краевой зоны таким образом, что ее локальная кривизна выравнивается во всех направле-

Рис. 3. Последовательность этапов морфогенеза *M. fossilis* при нормальном ходе эпиболии (по данным прижизненной фотосъемки): а – преэпиблия (ст. 8); б – инициация (ст. 9); в – образование эпителиального пласта (ст. 10); г, д – образование зародышевого кольца; е–з – образование зародышевого щитка (ст. 12).

D и *V* – дорсальная и вентральная стороны; *ЗК* – зародышевое кольцо; *ЗЩ* – зародышевый щиток; α – краевой угол между наружными поверхностями бластодермы и желточного мешка; α^* – краевой угол между наружной и внутренней поверхностями бластодермы; R , r – нормальные радиусы кривизны наружной поверхности зародыша и краевой зоны бластодермы; * – топологические складки на границе зародышевого кольца; *I* – “инвагинация” наружной поверхности зародышевого кольца при образовании зародышевого щитка; (–) – выравнивание локальной кривизны меридиана и экватора тора, образуемого наружной поверхностью краевой зоны бластодермы в области зародышевого щитка, точка их пересечения – центр конвекции клеточных потоков (остальные пояснения см. в тексте). Масштаб: 1 мм.



ниях, т.е. на поверхности тора возникает “пробой” в виде участка сферической кривизны (рис. 3, з). Такой участок, топологически эквивалентный “дыре” на поверхности исходного тора, т.е. зачатку нового маленького тора, является центром конвергенции клеточных потоков с положительной обратной связью между величиной локальной концентрации клеток и скоростью ее роста. Именно по этой причине ЗЩ становится “организатором” морфогенеза осевых структур (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006).

(Нормальная морфологическая изменчивость эпиболии выюна очень велика, и ее анализ, как мы надеемся, станет предметом следующей публикации. Здесь мы отметим только то, что важно для интерпретации опытов с эксплантацией фрагментов бластодермы, а именно – точность определения самих стадий развития и ориентации ДВ-оси. Описанная последовательность этапов эпиболии является инвариантной в том смысле, что ни один из них никогда не выпадает полностью. Однако их пространственно-временная протяженность – по абсолютному времени и доле эпиболии – варьирует в весьма широких пределах. Так, доля эпиболии, т.е. отношение размеров покрытой бластодермой части яйца и всего яйца, при которой образуются ЗК и ЗЩ, варьирует от 0.4 до 0.6, значит, ЗЩ может возникнуть как до, так и после прохождения бластодермой экватора яйца (Черданцев, Цветкова, 2005). Следовательно, при определении стадий нормального развития доля эпиболии не является надежным критерием – следует больше полагаться на описанные выше геометрические характеристики. Другой стороной изменчивости является то, что каждый последующий этап морфогенеза может наступать как до, так и после завершения предыдущего этапа (ср. рис. 3, е и ж). В первом случае преемственность признаков ДВ-полярности не вызывает вопросов. Во втором случае дело обстоит иначе, так как зародыш в конце каждого очередного этапа эпиболии (до появления ЗЩ, т.е. до начала формирования осевых структур) становится радиально симметричным и преемственность направления ДВ-оси на разных этапах ее формирования можно установить только с помощью наблюдения индивидуальных траекторий развития. Для подавляющего большинства зародышей такая преемственность действительно существует (Черданцев, Цветкова, 2005), но в редких случаях удавалось наблюдать и изменение направления ДВ-оси при переходе с одного этапа эпиболии на другой (Черданцев, неопубл. данные). Исходя из такой возможности в опытах с эксплантацией мы использовали только зародыши определенного типа, а именно такие, у которых новый этап морфогенеза начинался до окончания предыдущего этапа, т.е. фактически работали со смещенной выборкой зародышей. Таков, впрочем, удел любого эмбриологического опыта, хотя об этом и не принято говорить.)

Пространственно-временная динамика распределения МП

Постановка опыта позволяет сравнивать степень дифференцировки осевых структур, развивающихся из материала эксплантатов одной и той же зоны бластодермы на последовательных этапах эпиболии, а также МП разных зон на каждом из этих этапов. Выбирая для сравнения *D*, *L*, *V* и *A*-зоны, мы исходили из проспективного значения материала бластодермы, т.е. из распределения презумптивных зачатков осевых структур перед началом эпиболии, известного для других видов костистых рыб (Oppenheimer, 1947; Ballard, 1980; Kimmel et al., 1990). Известно, что презумптивный материал хорды расположен в секторах *D* и *L*, сомитов – в *V* и *L*, а материал нейральных осевых структур – в *D* и *A*.

Карты распределения МП на последовательных этапах эпиболии. Результаты количественной оценки дифференцировки осевых структур в эксплантатах *D*, *L*, *V* и *A* на каждой из исследованных стадий нормального развития приведены в таблице. Напомним, что оценка в 1 балл означает отсутствие осевых структур в эксплантатах. Для более наглядного представления этих данных мы построили карты МП, нанеся на схематичные изображения бластодермы границы раздела областей со статистически достоверными различиями степени дифференцировки осевых структур, развивавшихся из материала эксплантатов (рис. 4).

На стадии презиболии (ст. 8) к образованию осевых структур способен только материал зоны *D*, причем лучше всего развиваются нейральные структуры (рис. 4, а). Во время инициации эпиболии и превращения бластодермы в эпителиальный пласт (ст. 9 и 10) способность к осевой дифференцировке приобретает материал всей краевой зоны бластодермы, без достоверных различий между секторами (рис. 4, б, в). В частности, из материала зон *D* и *V* хорда и сомиты развиваются в равной мере (ср.: Неклюдова и др., 1999).

Итак, до начала образования ЗК между картами МП бластодермы и расположением презумптивных зачатков осевых структур нет ни малейшего сходства, так как МП распределены по принципу “все или ничего”. Сначала *D*-зона, потом – вся краевая зона бластодермы приобретают способность к образованию осевых структур любого типа, а весь остальной материал вообще не способен к дифференцировке, т.е. имеет “нулевые” потенциалы.

Особый интерес представляет карта МП при формировании ЗК (ст. 11, рис. 4, з). Между зонами *V* и *L* нет достоверных различий, но они есть между *V* и *D* – у материала зоны *V* нейральные МП достоверно ниже, а МП к образованию сомитов – достоверно выше, чем у материала *D*-зоны, поэтому *V*-зона выделена пунктирной границей (рис. 4, з). При этом в *D*-зоне МП к образованию сомитов вообще отсутствуют. Таким образом, областью, спо-

Количественная оценка дифференцировки осевых структур, образующихся в дорсальных (*D*), вентральных (*V*) и латеральных (*L*) эксплантатах краевой зоны бластодермы, а также в эксплантатах центральной зоны (*A*) на последовательных стадиях нормального развития *M. fossilis*

Стадия развития	Тип эксплантата	Оценка дифференцировки осевых структур, средний балл			
		хорда	нейральные структуры	сомиты	сумма
8	<i>D</i>	1.54(0.20)* ↓	2.79 (0.17)* ↓	1.54 (0.17)* ↓	5.88 (0.42)* ↓
	<i>V</i>	1.00	1.00	1.00	3.00
	<i>L</i>	1.08 (0.05)	1.24 (0.10)	1.12 (0.09)	3.44 (0.21)
	<i>A</i>	1.00	1.09 (0.04)	1.00	3.09 (0.04)
9	<i>D</i>	1.94 (0.28)*	2.22 (0.31)*	1.06 (0.06)	5.22 (0.57)*
	<i>V</i>	1.65 (0.20)*	1.74 (0.21)*	1.13 (0.07)	4.52 (0.39)*
	<i>L</i>	1.53 (0.17) ↓	1.71 (0.21) ↓	1.23 (0.11)* ↓	4.47 (0.17)* ↓
	<i>A</i>	1.05 (0.11)	1.16 (0.16)	1.00	3.26 (0.26)
10	<i>D</i>	2.06 (0.25)*	2.72 (0.25)*	1.44 (0.18)*	6.22 (0.46)*
	<i>V</i>	1.80 (0.21)*	2.25 (0.29)*	1.80 (0.21)*	5.85 (0.44)*
	<i>L</i>	2.00 (0.25)* ↓	2.78 (0.24) ↓	1.79 (0.21) ↓	6.42 (0.47)* ↓
	<i>A</i>	1.17 (0.13)	1.20 (0.11)	1.00	3.41 (0.21)*
11	<i>D</i>	1.61 (0.20)*	3.44 (0.32)* ↓	1.00 ↓	6.01 (0.44)*
	<i>V</i>	1.62 (0.18)*	2.57 (0.24)*	1.54* (0.16)	5.73 (0.44)*
	<i>L</i>	1.37 ((0.38)	3.25 (0.31)* ↓↑	1.63 (0.38)	6.25 (0.88)* ↓
	<i>A</i>	1.00	1.09 (0.05)	1.00	3.09 (0.05)
12	<i>D</i>	3.47 (0.27)* ↓	4.47 (0.21)* ↓	1.13 (0.09)* ↓	9.07 (0.37)* ↓
	<i>V</i>	1.40 (0.17)*	2.40 (0.25)*	2.00 (0.19)*	5.8 (0.41)*
	<i>L</i>	2.00 (0.20)* ↓↑	2.58 (0.28)* ↓	2.16 (0.17)* ↓	6.74 (0.51)* ↓↑
	<i>A</i>	1.00	1.26 (0.10)	1.00	3.26 (0.10)*

Примечание. (→, ↔) – статистически достоверные ($p < 0.05$) различия между эксплантатами соседних секторов бластодермы; * статистически достоверные ($p < 0.05$) отличия от единицы.

собной к образованию осевых структур любого типа, является *V*-зона. Это означает, что в преддверии закладки ЗЩ краевая зона пытается создать новый центр дорсализации на максимальном расстоянии от исходного центра. Это, на первый взгляд, удивительное обстоятельство хорошо согласуется с тем фактом, что на стадии образования ЗК простые микрооперации, изменяющие только структуру клеточных потоков, ведут к переопределению ДВ-полярности – возникновению нового центра дорсализации на вентральном полюсе бластодермы (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006).

Только после образования ЗЩ, т.е. на стадии 12, когда, строго говоря, осевые структуры уже начали формироваться, распределение МП соответствует расположению презумптивных осевых зачатков (рис. 4, д). Получается очень точное совпадение, из чего, в частности, следует, что наш метод регистрации и количественной оценки МП вполне удовлетворителен.

На всех исследованных стадиях развития центральная зона бластодермы (*A*-зона) имеет нулевые потенциалы к образованию осевых структур – в статистическом смысле, конечно, так как в отдельных случаях из материала этой зоны осевые структуры все-таки образуются (таблица). Если вспомнить, что в этой зоне расположен только материал презумптивных нейральных структур, то нулевые МП *A*-зоны хорошо согласуются с современным представлением об индукции развития нервной системы “по умолчанию” (Nemmati-Bri-vanlou, Melton, 1997).

Волны распространения и сегрегации МП. Морфологические наблюдения, изложенные в разделе “Геометрия эпиболии”, показывают, что изменения формы краевой зоны бластодермы, происходящие до образования ЗЩ и связанные с оформлением эпителиального пласта и образованием ЗК, начинаются на дорсальной стороне зародыша и постепенно распространяются на его вентральную

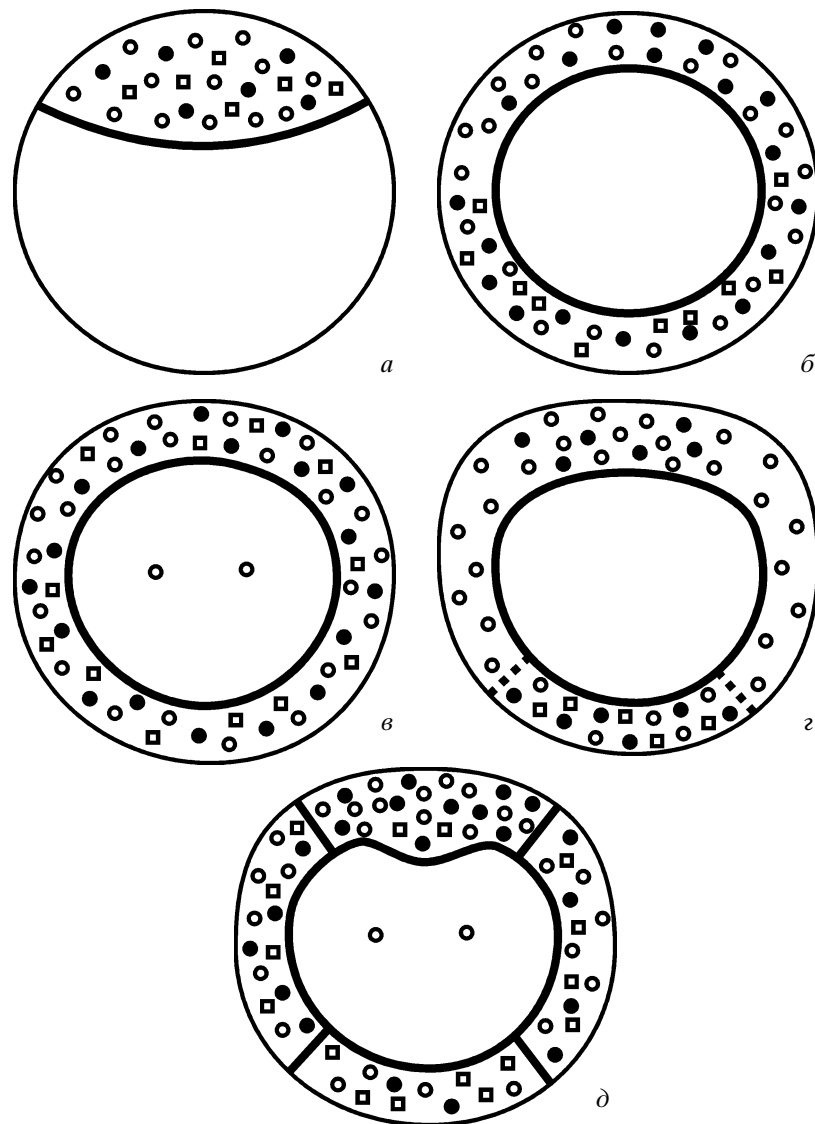


Рис. 4. Карты распределения морфогенетических потенций, составленные по данным опытов с эксплантацией фрагментов бластодермы на стадиях: *а* – 8, *б* – 9, *в* – 10, *г* – 11, *д* – 12. (○) – нейральные структуры, (●) – хорда, (□) – сомиты; (–) – проведенные границы между областями бластодермы, статистически достоверно ($p < 0.05$) различающимися степенью дифференцировки осевых структур, оцениваемой в баллах; (■ ■ ■) – условные границы, соответствующие МП в зонах, не контактирующих друг с другом, т.е. между зонами *D* и *V*. Отсутствие обозначений типов осевых структур в данной области означает, что оценка дифференцировки достоверно не отличается от единицы.

сторону. Оказывается, что именно такую пространственно-временную динамику имеет и распределение МП, если взять их суммарную оценку, т.е. сумму баллов, характеризующих дифференцировку всех осевых структур, развивающихся в эксплантате (таблица, графа “сумма”).

Способность эксплантатов *A*-зоны к образованию осевых структур очень мала (таблица), поэтому мы рассмотрим только секторы *D*, *L* и *V* краевой зоны на последовательных этапах эпиволии, объединив друг с другом ст. 9 и 10, для которых распределение МП одинаково (рис. 4). В результате с помощью метода наименьших квадратов мы получа-

ем серию кривых, показывающих динамику зональных различий суммарного показателя дифференцировки осевых структур (рис. 5). Нельзя прямо оценить статистическую достоверность наклона кривых, построенных этим методом. Судить об их наклоне можно по величине коэффициентов корреляции между значениями зависимой переменной в соседних секторах бластодермы (рис. 5).

Перед началом эпиволии (рис. 5, *а*) по величине этого показателя доминирует *D*-сектор, и до образования ЗЩ все изменения сводятся к тому, что его последовательно догоняют сначала *L*- (рис. 5, *б*), а потом *V*-секторы (рис. 5, *в*). Получается типичная

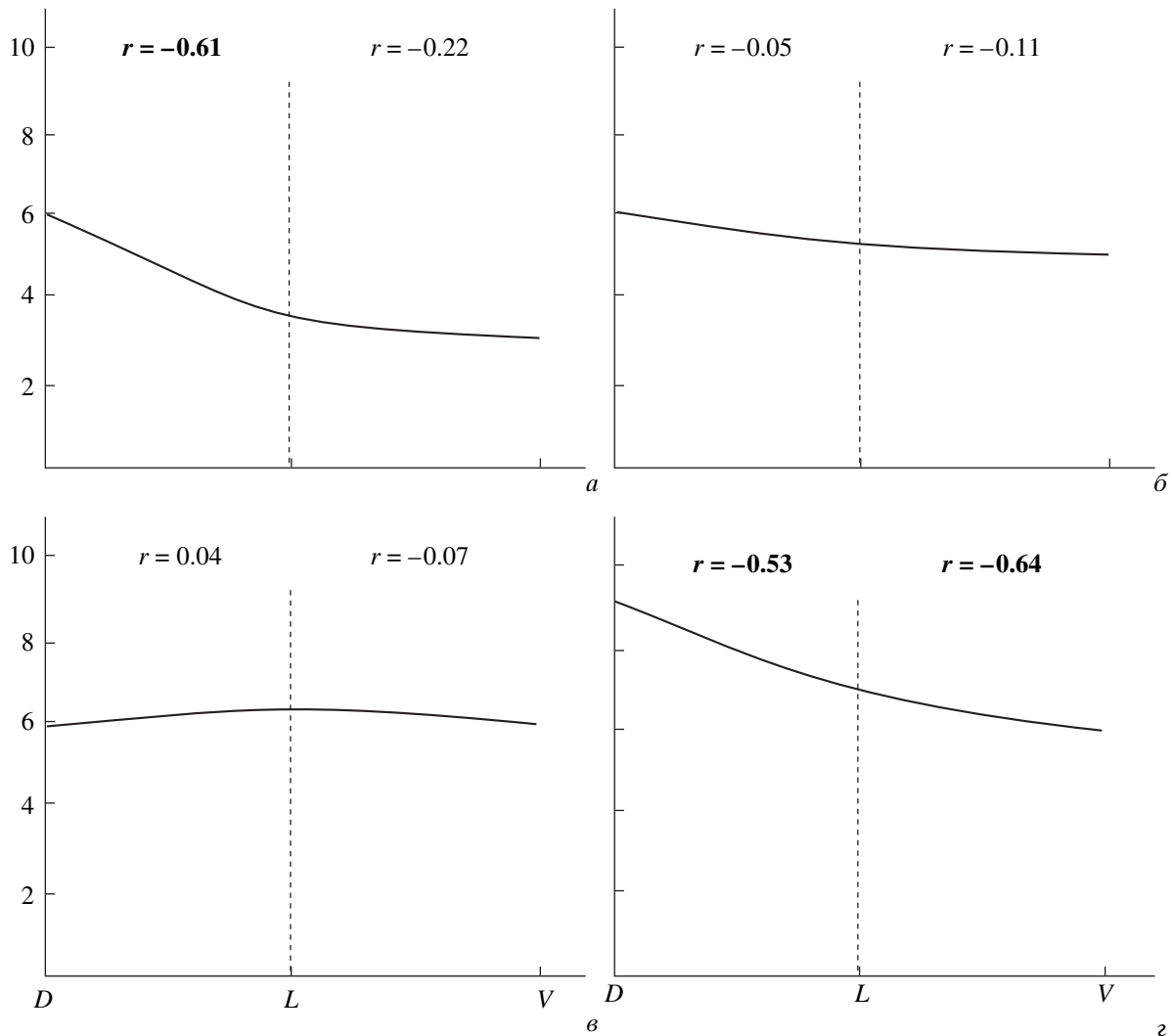


Рис. 5. Зависимость суммарной количественной оценки дифференцировки осевых структур (по оси ординат, баллы) от сектора краевой зоны бластодермы, из которого происходит материал эксплантатов (по оси абсцисс) на стадиях: *a* – 8, *б* – 9 и 10, *в* – 11, *г* – 12. Указаны значения коэффициентов корреляции *r* суммарных оценок дифференцировки в соседних секторах краевой зоны и статистически достоверные значения *r*.

картина движения фронта волны в ДВ-направлении, причем волна распространяется только по краевой зоне бластодермы, обходя ее центральную зону.

Образование ЗЩ ведет к новому подъему суммарного показателя дифференцировки в *D*-секторе (рис. 5, *г*): получается, что на изученном отрезке развития профиль распределения МП ведет себя подобно осциллятору, а дорсальный сектор бластодермы – подобно водителю его ритма. Вторая волна в отличие от первой связана не с расширением, а с сегрегацией МП, т.е. с их разделением между различными зачатками осевых структур.

Сегрегация МП происходит вслед за их расширением. Из таблицы видно, что в *D*-зоне дифференцировка хорды и нейральных структур достоверно усиливается по сравнению с дифференцировкой со-

митов лишь после того, как способность к образованию осевых структур распространяется на всю краевую зону бластодермы. То же самое относится и к дифференцировке сомитов в *L*- и *V*-зонах, которая усиливается без ослабления нейральной дифференцировки и дифференцировки хорды.

Профили МП к образованию отдельных осевых структур на последовательных этапах эпистолии приведены на рис. 6, причем на графиках указаны только статистически достоверные коэффициенты корреляции оценок МП в соседних зонах, показывающие, что наклон соответствующих кривых достоверно отличается от нулевого. ДВ-распространение первой волны подъема МП выравнивает потенции к образованию хорды и нейральных структур во всей краевой зоне бластодермы (ср. рис. 6, *a* и *б*). Почти одновременно с ее распро-

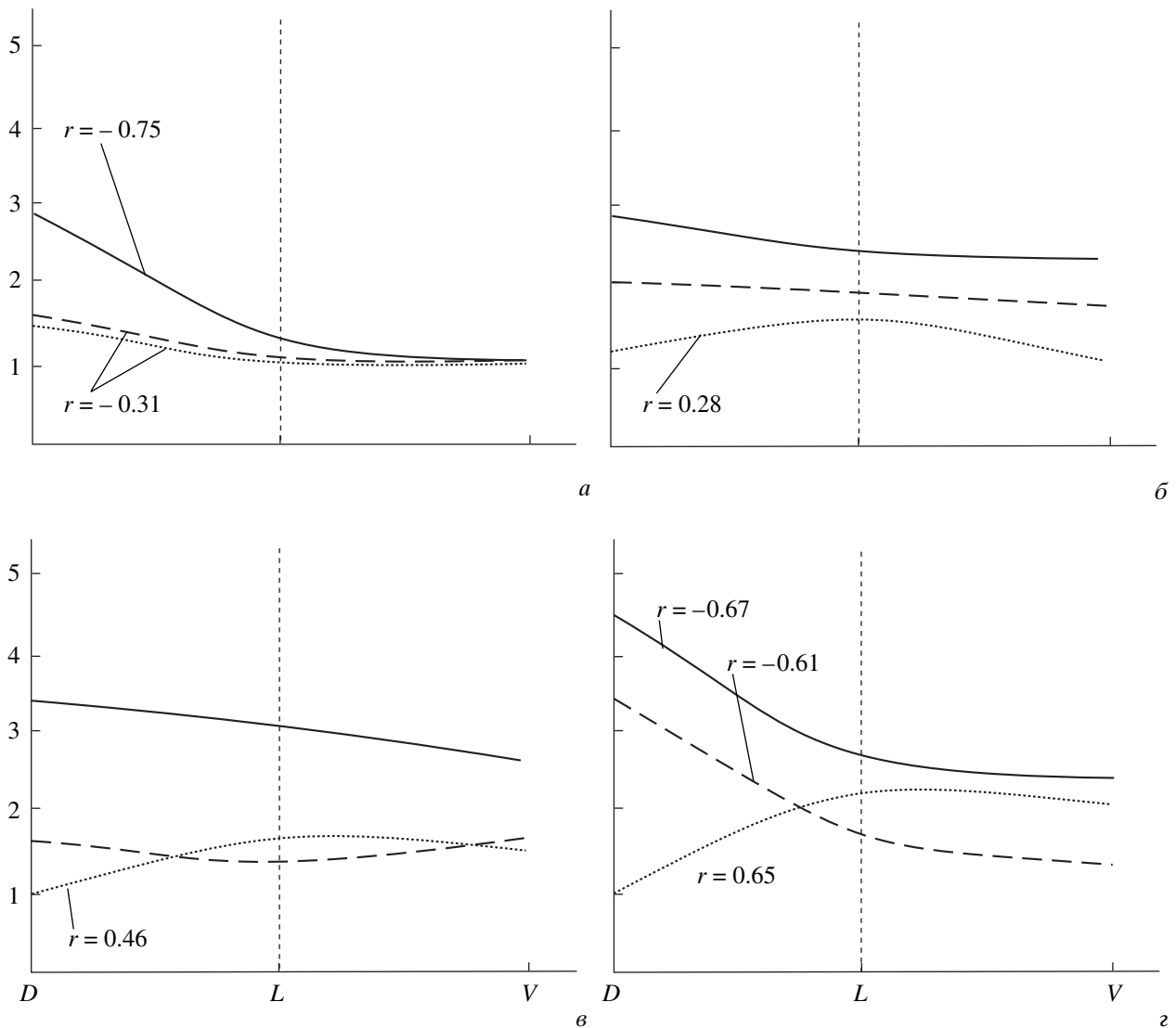


Рис. 6. Зависимость количественной оценки дифференцировки отдельных зачатков осевых структур (по оси ординат) от сектора краевой зоны, из которого происходит материал эксплантатов (по оси абсцисс) на стадиях: *а* – 8, *б* – 9 и 10, *в* – 11, *г* – 12. (–) – нейральные структуры, (---) – хорда, (...) – сомиты. Указаны только статистически достоверные значения коэффициентов корреляции r оценок дифференцировки в соседних секторах краевой зоны.

странением потенции к образованию сомитов из материала дорсального сектора начинают падать (рис. 6, б, в), а второй подъем нейральных и хордомезодермальных потенций в этом секторе связан с образованием ЗЩ (рис. 6, г). Следовательно, ДВ-сегрегация зачатков осевых структур происходит благодаря тому, что вторая волна подъема МП не распространяется за пределы дорсального сектора бластодермы и связана с “конкурентным вытеснением” сомитов нейральными структурами и хордой.

(Тот факт, что пространственно-временная динамика расширения МП организована в виде волны, распространяющейся в ДВ-направлении, позволяет практически исключить возможность ошибки при определении ДВ-полярности в опытах с эксплантацией фрагментов краевой зоны. Так, если

бы однородность пространственного распределения МП на промежуточных этапах эпиболлии была следствием такой ошибки, то было бы невозможно получить региональные различия *последовательности* формирования МП в исследованных секторах краевой зоны бластодермы.)

Самодифференцировка и самоорганизация. Самодифференцировкой называется реализация МП данного эмбрионального материала при его эксплантации (Spremann, 1936; Holtfreter, 1938a, b). Под самоорганизацией тогда следует понимать образование структур за пределами нормального проспективного значения данного материала, например, образование сомитов из материала *D*-сектора краевой зоны бластодермы. Дело осложняется тем, что у зародышей выюна элементы самоорганизации при-

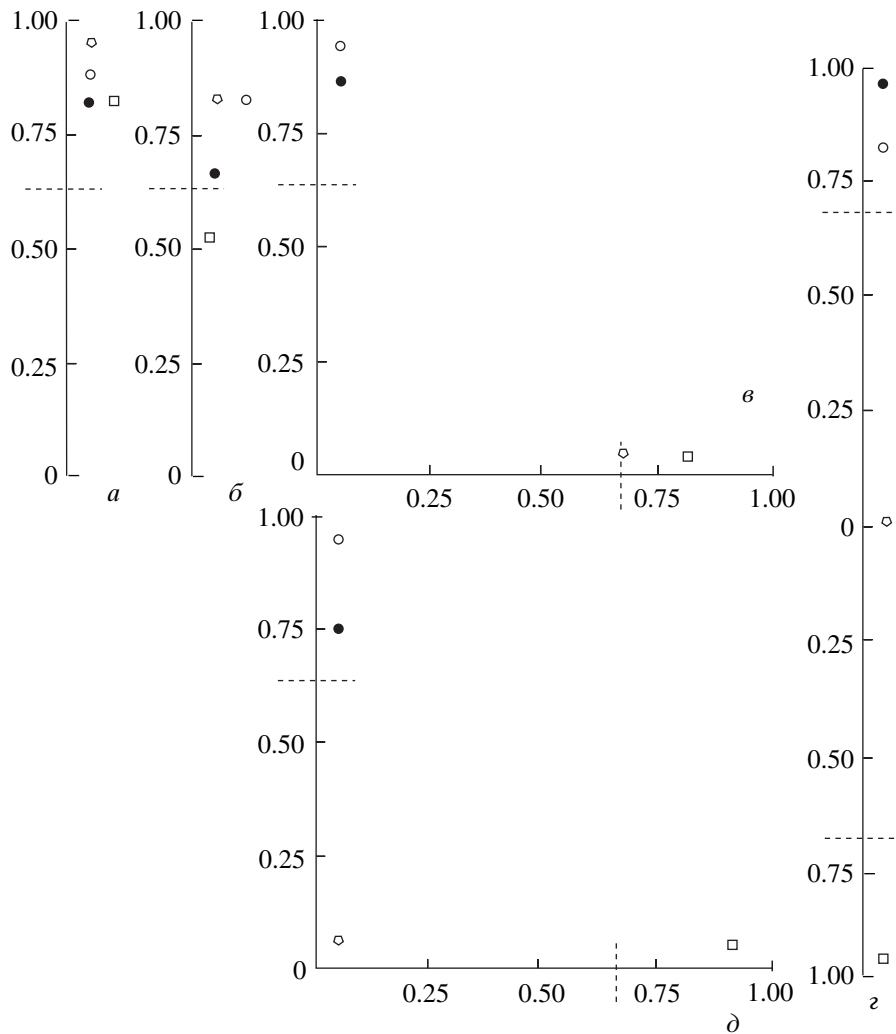


Рис. 7. Структура морфогенетических взаимодействий при дифференцировке эксплантатов краевой зоны бластодермы по данным анализа главных компонент: *а–в* – объединенная выборка эксплантатов всех секторов на стадиях 8 (*а*), 9–11 (*б*) и 12 (*в*); *г, д* – дорсальные (*г*) и вентральные (*д*) эксплантаты ст. 12. По осям – вклады анализируемых признаков в первую (абсцисса) и вторую (ордината) главные компоненты; в случаях *а, б* и *г* изменчивость укладывается в первую главную компоненту. (\diamond) – форма эксплантата, (\circ) – нейральные структуры, (\bullet) – хорда, (\square) – сомиты.

существуют и в нормальном развитии осевых структур *in situ* (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006). Однако количественная оценка позволяет обращаться с потенциальными к образованию структур данного типа как с обычным количественным признаком и оказывается, что различие между самодифференцировкой и самоорганизацией осевых структур в эксплантатах можно показать с помощью стандартных методов многомерного статистического анализа.

Проще всего воспользоваться методом анализа главных компонент (факторным анализом). Мы рассматриваем четыре количественных переменных, т.е. оценку дифференцировки хорды, сомитов и нейральных структур, а также формы эксплантата (рис. 1, б; рис. 2) на трех этапах морфогенеза: перед началом эпиболлии (ст. 8), на стадии образования

ЗЩ (ст. 12) и в промежутке между этими стадиями (стадии 9–11).

Результаты этого анализа представлены на рис. 7. На ст. 8 вся изменчивость изучаемых признаков попадает в состав первой главной компоненты (рис. 7, *а*). Развитие всех типов осевых структур только из материала дорсального сектора краевой зоны тесно связано друг с другом и с формой эксплантата, имеющей наибольший вклад в общую изменчивость. Это означает, что форма эксплантата, т.е. уровень ее сложности (см. критерии оценки на рис. 1, б), является фактором, лимитирующим дифференцировку клеточного материала. На ст. 9–11, когда МП к образованию осевых структур распространяются на всю краевую зону бластодермы, факторный анализ продолжает выделять единственную ось изменчивости (рис. 7, б).

Зависимость дифференцировки от формы эксплантата сохраняется, но становится слабее, и развитие разных типов осевых структур разобщается. Из общей изменчивости заметнее всего выпадают сомиты. Это значит, что их развитие в наименьшей степени связано с развитием остальных осевых структур, но в то же время собственная их изменчивость недостаточно велика для выделения еще одной оси изменчивости. На ст. же 12, после образования ЗЩ, факторный анализ уже выделяет две оси изменчивости осевых структур – одну для хорды вместе с нейральными структурами и другую для сомитов, – точно соответствующие сегрегации зачатков внутри бластодермы (рис. 7, в). При этом оказывается, что только образование сомитов продолжает зависеть от формы эксплантата – и то на грани статистической достоверности (рис. 7, в).

Теперь сопоставим данные факторного анализа для дифференцировки осевых структур из материала эксплантатов *D* и *V* на ст. 12, когда материал *D*-зоны уже тяготеет к образованию хорды и нейральных структур, а материал *V*-зоны – к образованию сомитов (рис. 7, г, д). Для *D*-эксплантатов выделяется единственная ось изменчивости, четко разделяющая две конкурирующие друг с другом моды дифференцировки – образование хорды вместе с нейральными структурами и образование сомитов, причем ни одна из них не зависит от формы эксплантата (рис. 7, г). Для *V*-эксплантатов факторный анализ выделяет две оси изменчивости, соответствующие тем же модам дифференцировки, которые выделяются для *D*-эксплантатов, и различие только в том, что между ними нет конкурентных отношений (рис. 7, д). Таким образом – довольно неожиданно – факторный анализ показывает отсутствие качественных различий между способами образования осевых структур *D*- и *V*-эксплантатами, несмотря на различие их МП.

В то же время он ясно показывает, что динамика МП не сводится к их последовательному ограничению, а имеет совсем иную структуру. Перед началом эпиболлии только дорсальный сектор бластодермы дает осевые структуры при эксплантации, а весь остальной материал вообще не способен к образованию эмбриональных зачатков. Развитие изолированного материала *D*-зоны – типичная самоорганизация, потому что, во-первых, развитие всех осевых зачатков тесно связано друг с другом и, во-вторых, критическую роль для их дифференцировки играет формообразование изолированной эмбриональной ткани.

Следующим шагом является отнюдь не ограничение потенциалов дорсального сектора, а расширение МП, когда способность к образованию осевых структур приобретает материал всей краевой зоны бластодермы. Уровень формообразования эксплантатов по-прежнему важен для успешной дифференцировки осевых структур, хотя уже не имеет

критического значения, такого, как на предыдущем этапе. Причина заключается в том, что возникают две альтернативные моды дифференцировки материала, не зависящие от формообразования эксплантата – образование хорды вместе с нейральными структурами и образование сомитов.

Замечательно, что эти моды одновременно соответствуют альтернативным путям развития одного и того же материала и пространственной сегрегации зачатков бластодермы, т.е. различию между дорсальным и вентральным секторами краевой зоны. Развитие материала *D*- и *V*-эксплантатов после образования ЗЩ является самодифференцировкой в том и только в том смысле, что выбор пути развития перестает быть случайным, но начинает зависеть от материала эксплантата.

Связь динамики МП со структурой морфогенетических движений

Изложенные данные позволяют установить практически полное соответствие между распределением МП и геометрией клеточных потоков.

Морфологическая однородность бластодермы представляет большое удобство, поскольку дает возможность исходя из геометрической формы ее поверхностей судить о соотношении действующих на нее механических сил и, следовательно, о направлении массового движения клеток. Основой для такого суждения является принцип механического равновесия (Thompson, 1942; Belousov et al., 1975; Belousov, 1998). Исходная однородность клеточной сети, образуемой эмбриональными клетками, позволяет рассматривать поверхность бластодермы как упругую оболочку, форма которой отражает равновесие сил активного натяжения, стремящихся сократить площадь ее свободной поверхности, и упругих сил, препятствующих такому сокращению. При этом, естественно, учитывается активное натяжение поверхности раздела бластодермы с желточным мешком, покрытой желточным синцитием, и активное натяжение поверхности желточного мешка. Что касается покровного слоя (перидермы), то можно считать, что у него нет собственного активного натяжения и его контур полностью совпадает с контуром наружной поверхности бластодермы (Trinkaus, 1993).

Принцип механического равновесия работает следующим образом. Исходя из сравнения величин краевого угла α на границе раздела бластодермы с желточным мешком (рис. 3, а) можно утверждать, что перед началом эпиболлии активное натяжение клеточной сети выше на дорсальной стороне зародыша. Между тем в ходе эпиболлии дорсальный и вентральный края бластодермы обрастают желточный мешок с одинаковой скоростью (Черданцев, Цветкова, 2005; Cherdantseva, Cherdantsev, 2006). Следовательно, избыток активного натяже-

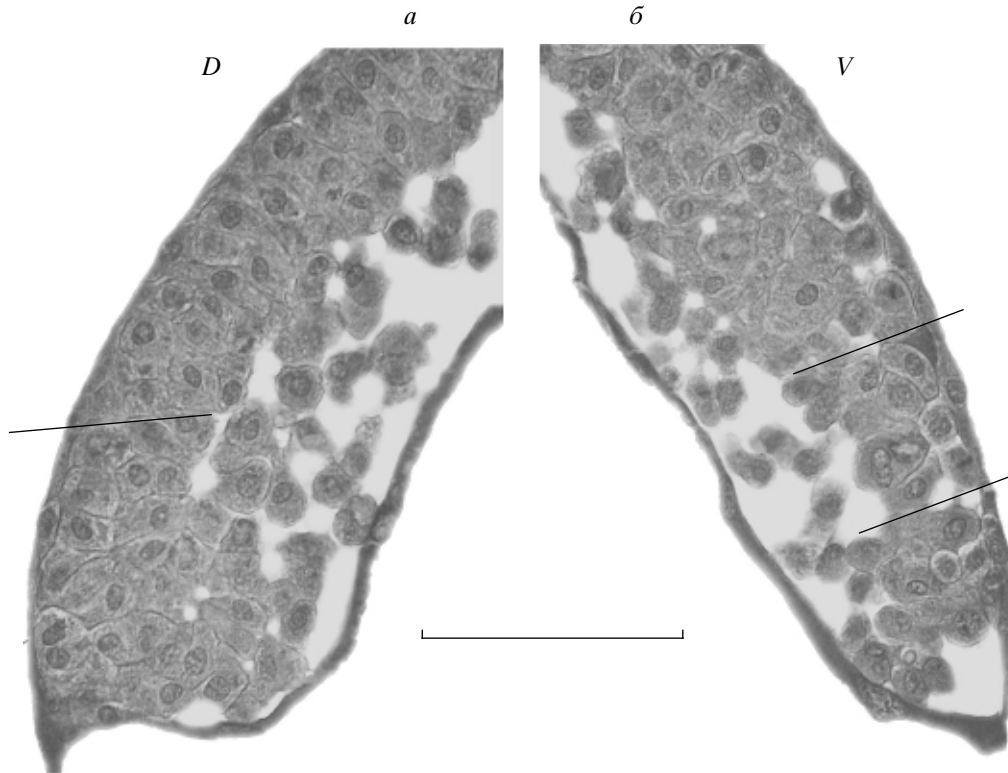


Рис. 8. Гистологическое строение дорсального (а) и вентрального (б) краев бластодермы перед началом образования зародышевого щитка. (—) – нормальные радиусы кривизны наружной поверхности бластодермы. Масштаб: 150 мкм.

ния поверхности дорсального края должен быть уравновешен увеличением внутреннего давления под этой поверхностью. Локальная концентрация клеток должна возрастать, а это означает, что в состав дорсального сектора краевой зоны вовлекаются все новые и новые клетки (Cherdantseva, Cherdantsev, 2006). В результате возникает первая динамическая ловушка для клеток, вовлекающих окружающие клетки в свое собственное движение. Именно эта ловушка и выделяет дорсальный сектор как часть бластодермы, где возникают МП к образованию осевых структур.

Второй такой ловушкой становится свободный край эпителиального пласта, выделяющий краевую зону, который загибается внутрь, т.е. навстречу движущимся к нему потокам центробежной миграции клеток (рис. 3, б, в). С образованием ЗК она приобретает зримые очертания в виде тора, очерчивающего окружность бластодермы (рис. 3, д, ж), но первоначально она тоже имеет чисто динамическую природу как область, форма которой зависит от постоянной подпитки окружающими клетками. В этой области формируются МП к образованию осевых структур, причем значительная их часть никак не используется при дальнейшем ее развитии. Именно последнее обстоятельство и позволяет говорить о самоорганизации.

Последняя динамическая ловушка – конвергенция клеточных потоков в той части краевой зоны, где именно благодаря их конвергенции образуется ЗЩ (рис. 3, з). Зона конвергенции выделяет моду совместной дифференцировки хорды и нейральных структур, а за ее пределами доминирует альтернативная мода – образования сомитов. Напомним, что чуть раньше, сразу после образования ЗК, возникают две области с максимальной способностью к образованию хорды – одна на месте будущего ЗЩ, а другая – на противоположном полюсе бластодермы (рис. 4, г). Это еще один пример чистой самоорганизации, поскольку, как уже было сказано, у единичных зародышей ЗЩ может образоваться у того края бластодермы, который вплоть до завершения ЗК вел себя как вентральный.

Для всех перечисленных ловушек имеется связь между расширением и (или) количественным ростом МП и увеличением локальной концентрации клеток, т.е. сокращением клеточной сети. Однако это лишь один из признаков областей с повышенной морфогенетической активностью, и нельзя сказать, что различия МП зависят именно от клеточной плотности. На типичном сагиттальном гистологическом срезе бластодермы, сделанном незадолго до появления ЗЩ, видно, насколько дорсальный и вентральный края бластодермы различаются плотностью расположения клеток (рис. 8). При этом, одна-

ко, плотность расположения клеток в центральной зоне несколько не ниже, чем в краевой зоне вентрального сектора. Гораздо более важными, чем любые различия значений любых морфологических переменных, представляются различия динамического состояния областей, также видимые на гистологическом препарате. Так, длинные оси клеток, расположенных внутри и в окрестности дорсального края бластодермы, отклонены от нормальных радиусов кривизны наружной поверхности бластодермы гораздо сильнее, чем у клеток вентрального края (рис. 8). Такое отклонение является критерием коллективного движения, в котором каждая клетка продолжает свое собственное движение благодаря вовлечению в него окружающих клеток (Черданцев, 2003). Карты МП, представленные на рис. 4, лучше всего рассматривать как карты “потенциалов ассимиляции”, т.е. способности областей данной формы вовлекать (ассимилировать) окружающие клетки в свое собственное движение. Классификатором МП является только отношение области к своему окружению, и в этом состоит принципиальное типологическое сходство с картированием зон экспрессии регуляторных генов, различаемых по способу их регуляции другими генами (Wray et al., 2003).

Именно соответствие пространственной структуры экспрессии таких генов с картами МП, которое нельзя установить иначе, чем методами экспериментальной эмбриологии, позволяет предполагать наличие у них морфогенетической функции, а не просто связи с уже сформированными морфологическими различиями. У зародышей *Danio rerio* (Stachel et al., 1993; Schulte-Merker et al., 1994), а также у зародышей японского вьюна *Misgurnus anguillicaudatus* (Fujimoto et al., 2004) максимум экспрессии гена *gooseoid* (*gsc*), одного из (+)-регуляторов транскрипции, приходится как раз на дорсальный сектор бластодермы перед началом эпиболии, что хорошо соответствует данным, изложенным в нашей работе. При формировании же у бластодермы краевой зоны его экспрессия по-прежнему локализована на дорсальной стороне бластодермы, т.е. не отражает различия МП краевой и центральной зон бластодермы, господствующего на этом этапе морфогенеза. Зато у *D. rerio* этому различию близко соответствует характер экспрессии гена *no tail* (*ntl*), гомологичного *T*-гену мыши и гену *Brachyury* шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*. Этот ген, тоже (+)-регулятор транскрипции (Wray et al., 2003), экспрессируется только в краевой зоне бластодермы, и его экспрессия распространяется по краевой зоне такой же волной, которая в нашей работе установлена для МП (Schulte-Merker et al., 1992; 1994). Это отнюдь не доказывает, но, по крайней мере, не исключает участия этих генов в становлении пространственной структуры зародыша.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арнольд В.И. Теория катастроф. М.: МГУ, 1993. 240 с.
- Дриш Г. Витализм. Его история и система / Авт. пер. Гурвича А. Г. М.: Книгоиздательство “Наука”, 1915. 279 с.
- Костомарова А.А. Вьюн (*Misgurnus fossilis* L.) // Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 308–323.
- Неклюдова И.В., Корвин-Павловская Е.А., Черданцев В.Г. Дорсовентральные различия морфогенетических потенциалов бластодермы вьюна в опытах с экплантацией ее фрагментов // Онтогенез. 1999. Т. 30. № 5. С. 353–361.
- Черданцев В. Г. Морфогенез и эволюция. М.: Изд-во КМК, 2003. 360 с.
- Черданцев В.Г., Цветкова Н.В. Динамика и изменчивость морфогенеза вьюна по данным наблюдений за индивидуальными траекториями развития // Онтогенез. 2005. Т. 36. № 3. С. 211–221.
- Черданцева Е.М., Черданцев В.Г. Детерминация дорсовентральной полярности у костистой рыбы *Brachydanio rerio* // Там же. 1985. Т. 16. № 3. С. 270–280.
- Ballard W.W. Morphogenetic movements in *Salmo gairdneri* Richardson // J. Exp. Zool. 1973. V. 184. P. 27–48.
- Ballard W.W. Morphogenetic movements and fate maps of vertebrates // Am. Zool. 1980. V. 21. P. 391–399.
- Belousov L.V. The dynamic architecture of a developing organism. N. Y.: Kluwer Acad. Publ., 1998. 390 p.
- Belousov L.V., Dorfman J.G., Cherdantsev V.G. Mechanical stresses and morphological patterns in amphibian embryos // J. Embryol. Exp. Morphol. 1975. V. 34. P. 559–574.
- Cherdantsev V.G. The dynamic geometry of mass cell movements in animal morphogenesis // Int. J. Devel. Biol. 2006. V. 50. P. 169–182.
- Cherdantseva E.M., Cherdantsev V. G. Geometry and mechanics of teleost gastrulation and the formation of primary embryonic axes // Ibid. 2006. V. 50. P. 157–168.
- Fujimoto T., Kataoka T., Otani S. et al. Embryonic stages from cleavage to gastrula in the loach *Misgurnus anguillicaudatus* // Zool. Sci. 2004. V. 21. P. 747–55.
- Hemmati-Brivanlou A., Melton D. Vertebrate embryonic cells will become nerve cells unless told otherwise // Cell. 1997. V. 88. P. 13–17.
- Holtfreter J. Differenzierungspotenzen isolierter Teile der Urodelengastrula // W. Roux Arch. Entw.-Mech. Org. 1938a. Bd. 138. S. 522–656.
- Holtfreter J. Differenzierungspotenzen isolierter Teile der Anurengastrula // Ibid. 1938b. Bd. 138. S. 657–738.
- Kimmel C.B., Warga R.M., Schilling T.F. Origin and organization of the zebrafish fatemap // Development. 1990. V. 108. P. 581–594.
- Oppenheimer J.M. Organization of the teleost blastoderm // Quart. Rev. Biol. 1947. V. 22. P. 105–118.
- Oppenheimer J.M. Fifty years of *Fundulus* // Ibid. 1979. V. 54. P. 385–395.
- Schmitz B., Campos-Ortega J. Dorsoventral polarity of the zebrafish embryo is distinguishable prior to the onset of gas-

- trulation // W. Roux' Arch. Devel. Biol. 1994. V. 203. P. 374–380.
- Schulte-Merker S., Ho R.K., Herrmann B.R., Nuslein-Volhard C. The protein product of the zebrafish homologue of mouse *T* gene is expressed in nuclei of the germ ring and the notochord of the early embryo // Development. 1992. V. 116. P. 1021–1032.
- Schulte-Merker S., Hammerschmidt M., Beuchle D. et al. Expression of zebrafish goosecoid and no tail gene products in wild-type and mutant *no tail* embryos // Ibid. 1994. V. 120. P. 843–852.
- Spemann H. Experimentelle Beitrage zu einer Theorie der Entwicklung. Berlin: Springer, 1936. 455 p.
- Stachel S.E., Grunwald D.J., Myers P.Z. Lithium perturbation and goosecoid expression identify a dorsal specification pathway in the pregastrula zebrafish // Development. 1993. V. 117. P. 1261–1274.
- Thompson D'A. W. On growth and form. Cambridge: Univer. Press, 1942. 650 p.
- Trinkaus J.P. The yolk syncytial layer of *Fundulus*: Its origin and history and its significance for early embryogenesis // J. Exp. Zool. 1993. V. 265. P. 258–284.
- Tung T.C., Tung W.F.W. The development of egg fragments, isolated blastomeres and fused eggs in the gold fish // Proc. Zool. Soc. L. 1944. V. 114. P. 46–64.
- Wolpert L. One hundred years of positional information // Trends Genet. 1996. V. 12. P. 359–364.
- Wray G.A., Hahn M.W., Abouheif E. et al. The evolution of transcriptional regulation in eukaryotes // Mol. Biol. Evol. 2003. V. 20. № 9. P. 1377–1419.

Spatial-Temporal Dynamics of Morphogenetic Blastoderm Potencies in Early Embryogenesis of the Loach

© 2007 г. I. V. Neklyudova, E. G. Korvin-Pavlovskaya, and V. G. Cherdantsev

Moscow State University, Leninskie gory, Moscow, 119992 Russia

E-mail: neklyudova@mail.ru

Received June 29, 2006; in final form, January 18, 2007

Abstract—The degree of differentiation of axial structures (notochord, neuroectoderm, and somites) in 24-hour explants (a total of 380) of the loach embryonic blastoderm was determined on histological sections according to a developed scale of estimates. Before the beginning of epiboly, axial structures were formed only from fragments of the dorsal sector of the blastoderm marginal zone. Its other sectors acquired the capacity of forming axial structure only with the beginning of epiboly, as the germ ring was formed in the marginal zone, unlike the cells outside the germ ring. The degree of differentiation of axial structures in the dorsal sector of marginal zone increased reliably with the appearance of embryonic shield, i.e. area of the convergence of cell flows. Here, statistically significant regional differences in morphogenetic potencies of the marginal zone first appeared, which corresponded to the differences in prospective significance of its materials; notochord and neuroectoderm better differentiate from the dorsal sector material, while somites better differentiate from the ventral sector material. Thus, distribution of morphogenetic potencies reflects precisely the spatial-temporal dynamics of collective movement of the blastoderm cells during the normal course of morphogenesis.

Key words: embryogenesis, differentiation, morphogenetic potencies, axial structures, blastoderm, explants, teleostean fish, loach.