

УДК 591.39

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЧАСЫ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ПОЗВОНОЧНЫХ КАК МЕХАНИЗМ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОБЩЕГО КОНТРОЛЯ ЗА ПРОЦЕССОМ РАЗВИТИЯ ОРГАНИЗМА

© 2010 г. **Ю. Н. Городилов**

Санкт-Петербургский государственный университет
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

E-mail: Y.Gorodilov@pobox.spbu.ru

Поступила в редакцию 08.10.09 г.
Окончательный вариант получен 03.11.09 г.

Проблема, касающаяся понимания роли временного фактора в эмбриогенезе, все еще находится в зачаточном состоянии. В то же время большое количество различных ритмических процессов, которые были описаны в эмбриогенезе животных, указывают на участие биологических часов в этом периоде онтогенеза. Большинство из них (биохимические, биофизические, цитологические) были выявлены в процессе дробления и обычно имеют продолжительность, равную одному делению дробления (τ_0).

Мы исследовали в основном развитие зародышей лососевых рыб, которые по сравнению с привычными моделями (*Danio rerio*, *Oryzias latipes*) имеют ряд дополнительных достоинств: они примерно вдвое крупнее на сходных стадиях и развиваются в 30–40 раз медленнее. У позвоночных наиболее ярким и продолжительным ритмическим процессом является сомитогенез. В отношении временных и пространственных аспектов сомитогенеза раскрыта серия фундаментальных фактов: 1) время образования каждого нового сомита (τ_S) сохраняется постоянным; 2) это время контролируется с высочайшей точностью; 3) размер новых сомитов (l_S) вдоль переднезадней оси постоянен; 4) в процессе морфогенеза сомитов временной фактор по сравнению с пространственным играет *первичную* роль. Ритмы τ_0 и τ_S у разных видов являются равными или соотносятся как кратные числа, что предполагает их единую природу. Обнаружена очень высокая степень синхронности в развитии зародышей от начала дробления до конца сомитогенеза, что доказывает наличие постоянного временного контроля их развития на протяжении большей части эмбриогенеза. Предполагается, что описанные эндогенные ритмы ответственны за координацию и интеграцию многоуровневых процессов эмбриогенеза, компенсируя отсутствие в этом периоде сформированной нервной системы.

Ключевые слова: эмбриогенез, ритмические процессы, биологические часы, дробление, сомитогенез, сиамские близнецы, интегрирующее значение ритмов.

Хорошо известно, что регламентация любых видов активности живых организмов облегчает их выполнение. Соотнесение различных видов жизнедеятельности с временным потоком, способность учитывать его количество совершается благодаря периодичности астрономических явлений: смене дня и ночи, сезонности, различных космических влияний. Поэтому нормальные проявления жизнедеятельности взрослых организмов происходят в соответствии с периодичностью астрономических явлений.

Подчиняются ли какому-либо временному режиму организмы в течение эмбрионального периода? Этот период характеризуется относительной краткостью и необычайно бурными процессами дифференцировки и морфогенеза. Считается, что значительная часть генофонда, сосредоточенного в клетках у позвоночных, проявляет свою активность

в период эмбриогенеза (Рэфф, Кофмен, 1986). Естественно возникает вопрос, каким образом удается организовать порядок в работе огромного числа генов, не забывая при этом, что экспрессия последних является только первым шагом в многоступенчатом процессе реализации гена в признак.

Издавна существует точка зрения, которая разделяется многими специалистами и поныне, о том, что развитие организма с самого начала представляет собой цепь последовательных стадий, постепенно сменяющих друг друга. Смит (1970) считал, что развитие, по-видимому, происходит поэтапно, причем необходимым условием наступления каждого следующего этапа является завершение предыдущего. Ясно, что при таком представлении продолжительность процессов является следствием физико-химических условий, в которых они протекают (температура, O_2 , pH и др.), и поэтому время является про-

изводным этих условий, но не играет роли первичного фактора. Защитники этой точки зрения полагают, что продолжительность различных эмбриональных этапов не является строго постоянной вследствие помех или несовершенств контроля каждого процесса. На основе этих представлений считается, что синхронность между зародышами одной кладки не может быть высокой, и поэтому в такой кладке имеются как передовые зародыши, наиболее быстро развивающиеся, так и отстающие (терминология по: Детлаф, 1962; Игнатъева, 1970). Одним из доказательств асинхронности развития зародышей обычно считают разновременность процесса вылупления их из яиц в одной кладке. Согласно Криспу (Crisp, 1981), продолжительность эмбриогенеза зародышей из одной кладки может различаться на 20%. Однако причина этого явления связана с тем, что акт вылупления зависит от комплекса внешних условий и в зависимости от последних может происходить на морфологически разных стадиях (Городилов, 1983).

Однако постепенно взгляд на эмбриогенез как на процесс, протекающий во времени относительно произвольно, начинает меняться. Это является следствием работ по изучению эмбриогенеза с обеспечением более строгих методических условий, что позволяет оценивать количественные закономерности процессов развития, а также результатом постановки целой группы специальных экспериментов для выявления роли фактора времени в осуществлении эмбриогенеза. Выяснилось, что в зародышах можно обнаружить целый ряд ритмических процессов, наличие которых в живых системах определенно можно рассматривать как показатели существующего временного контроля, или “биологических часов” (Гудвин, 1979). Мы рассмотрим ряд ритмических явлений в эмбриогенезе позвоночных, которые обнаруживают сходство между собой по определенным параметрам. Среди них сомитогенез представляет ярчайшее явление и ему будет уделено наибольшее внимание.

В настоящее время главной моделью в исследованиях биологии развития рыб стала *Danio rerio*, или рыбка-зебра (zebrafish). Считается, что ее эмбрионы являются идеальным объектом для клеточных и тканевых исследований эмбриогенеза благодаря прозрачности эмбрионов и простоте их культивирования (Kimmel et al., 1995; Stickney et al., 2000). В нашей работе представлены результаты собственных исследований, в которых была использована икра лососевых рыб. Зародыши этих рыб обладают теми же достоинствами, что и *D. rerio*, но в сравнении имеют ряд дополнительных преимуществ. Во-первых, эмбрионы лососевых рыб всегда крупнее, чем таковые *D. rerio* сходных стадий. Например, диаметр blastodиска на стадии зиготы у *D. rerio* составляет 0.6 мм (Kimmel et al., 1995), тогда как у лососей он варьирует от 1.0 до 1.3 мм (Смирнов, 1975); длина эмбриона у *D. rerio* на стадии 26–27 сомитов составляет 1.6 мм

(Kimmel et al., 1995), в то время как у лосося она достигает 4.0 мм (Городилов, 1998). Однако, по нашему мнению, самым большим преимуществом рыб Salmonidae является медленная скорость их эмбриогенеза, что дает возможность проводить описательные и экспериментальные работы в этом периоде более детально и с большей точностью. Вследствие высокой скорости развития зародышей большинства, если не всех, модельных видов (*D. rerio*, медака, куриный зародыш и т.д.) такие проблемы, как уровень точности оценки ритмического события или степень синхронности между зародышами в одной кладке, оставались невыясненными. Развитие зародышей лососевых рыб происходит в 30–40 раз медленнее, чем зародышей *D. rerio*, так как их нормальное развитие протекает при очень низкой температуре. Медленная скорость эмбриогенеза позволяет значительно увеличить точность измерения временных интервалов развития, включая измерение стандартных отрезков эмбрионального времени τ_0 и τ_S (см. ниже), и более достоверно оценить степень синхронности развивающихся эмбрионов внутри одной кладки.

РИТМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПЕРИОД ДРОБЛЕНИЯ

Период дробления — наиболее ранний в эмбриогенезе, и в этом периоде уже обнаружен целый набор процессов, которые имеют ритмический характер. В первую очередь, это деления самих клеток, совершающиеся синхронно на протяжении 10–11 циклов (Городилов, Лильп, 1978; Kimmel et al., 1995) примерно с одинаковым временным интервалом τ_0 (Детлаф Т., Детлаф А., 1960) между одноименными фазами ядерного цикла. Было также показано, что в этом же периоде наблюдаются ритмические колебания ряда биохимических и биофизических показателей или реакций. Наиболее интересными являются периодические изменения ригидности в поверхностном слое цитоплазмы зародышей (Yoneda et al., 1978), изменения формы яйца в виде уплощений-округлений и распространение поверхностной сократительной волны (Hara et al., 1980; Sakai, Kubota, 1981; Sakai, Shinagava, 1983). (Обзор этих и других колебаний см. в работах: Городилов, 1990; Satoh, 1982.) У моллюсков *Ilyanassa* и *Dentalium* из отряда Gastropoda полярная лопасть, отрезанная от яйца на стадии 2 бластомеров совершает ритмические движения, синхронные с делением неповрежденных яиц (Morgan, 1933, 1935). Все эти колебательные процессы происходят через интервалы, которые по продолжительности являются равными клеточному циклу дробления, т.е. τ_0 . Они совершаются как в интактных, так и в энуклеированных яйцах и в безъядерных фрагментах яйца. Кроме того, было показано, что изменения электрической активности эмбриональных мембран по разным показателям (мембранный потенциал, электрическое сопротивление) также

проявляют четкую периодичность с продолжительностью ритма, равной клеточному циклу (Божкова и др., 1974; Гойда и др., 1981).

СОМИТОГЕНЕЗ КАК ИДЕАЛЬНЫЙ РИТМИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС

Осевой отдел позвоночных в эмбриогенезе подвергается сегментации, в которой первичным процессом является разделение парахордальных пластов мезодермы в ростокаудальном направлении на серию отдельных телец или сомитов. Они выделяются парами, по одному с каждой стороны. Их общее число варьирует от 30–40 (у рыб семейств *Cobitidae*, *Percidae* и *Cyprinidae*, включая *D. rerio* с 30–34 сомитами) до нескольких сотен пар у змей и акул. Порой он настолько продолжителен, что на его фоне происходит появление и частичное развитие почти всех основных систем будущего организма. Производными осевой сегментации являются миотомы, позвонки, ребра, корешки нервов спинного мозга, сегментные кровеносные сосуды.

Время образования каждой пары сомитов при постоянной температуре является константной величиной. Автор выполнил специальные исследования, касающиеся измерений скорости сомитогенеза у разных видов рыб. Все наблюдения проводили в инкубаторных аппаратах с непрерывной проточностью воды, в которых поддерживалась строго постоянная температура. Данные по приросту числа сомитов в течение сомитогенеза были получены примерно для 20 видов рыб, принадлежащих к различным отрядам (*Samonoformes*, *Esociformes*, *Perciformes*, *Gadiformes*). Во всех случаях скорость образования большинства сомитов у эмбрионов каждого вида была строго постоянной (Городилов, 1980, 1983, 1985, 1988, 1990, 1991, 1992, 1998, 2004; Городилов, Мельникова, 2006; Gorodilov, 1992, 1995, 1996; Gorodilov et al., 2008). Поэтому мы можем говорить о ритмическом характере этого процесса у рыб и, по-видимому, у других позвоночных. В качестве иллюстрации представлены графики прироста числа сомитов в зависимости от времени инкубации в процессе сомитогенеза у эмбрионов атлантического лосося *Salmo salar* L. и щуки *Esox lucius* L. при разных постоянных температурах (рис. 1). Максимально возможное число сомитов у обоих видов равно 67–69. Легко можно увидеть, что увеличение числа сомитов в диапазоне от 2 до, по крайней мере, 60 (у лосося) или до 58 (у щуки) находится в строго линейной зависимости от времени инкубации. Это означает, что все сомиты в этом диапазоне, а скорее всего начиная с 1-й пары, формируются через один и тот же интервал времени, который обозначен символом τ_s (тау-сомит). После 58–60 пар сомиты формируются более медленно, что прослеживается по изменению наклона кривых 3 и 4 на рис. 1. Следует отметить, что после завершения сомитогенеза несколько последних каудальных пар сомитов дегенерируют,

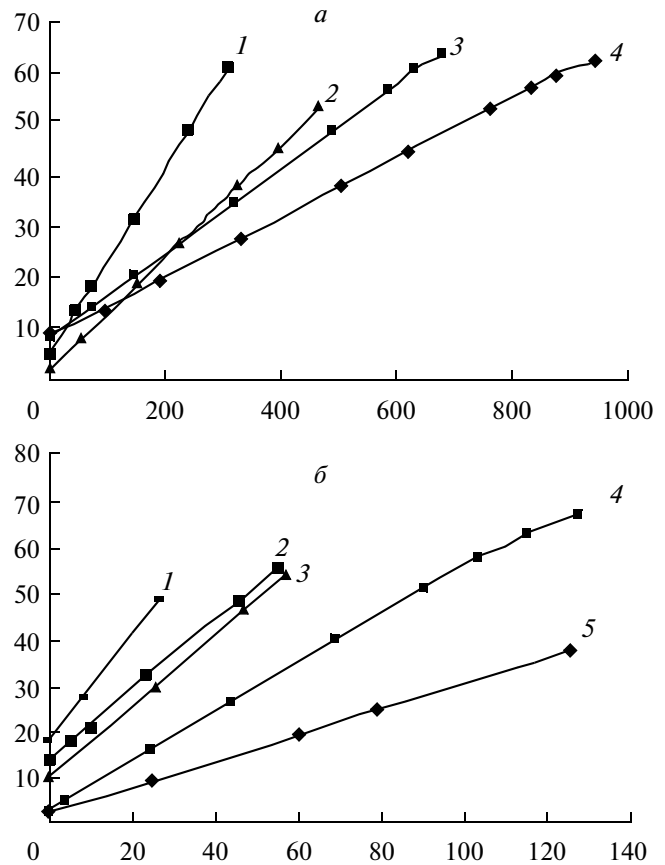


Рис. 1. Зависимость числа сомитов (по оси ординат) у зародышей атлантического лосося *Salmo salar* (a) и щуки *Esox lucius* (б) от времени инкубации (по оси абсцисс, ч) при разных режимах постоянной температуры: 1 – 7.0, 2 – 5.0, 3 – 2.7, 4 – 1.0°C.

так что они могут быть названы псевдосомитами, в отличие от истинных сомитов. По-видимому, только из последних позже возникают метамеры, такие как миотомы, позвонки, сегментные кровеносные сосуды, и т.д.

Тот факт, что большинство сомитов появляются через один и тот же временной интервал τ_s , позволяет вычислить этот интервал либо на прямолинейной части каждой кривой на графиках, либо с помощью следующего соотношения:

$$\tau_s = t_2 - t_1 / n_2 - n_1,$$

где t_1 и t_2 соответствуют времени инкубации на двух последовательных стадиях сомитогенеза с числом пар сомитов n_1 и n_2 , причем очевидно, что чем больше различие между n_1 и n_2 , тем выше будет точность определения τ_s (Городилов, 1992; Gorodilov, 1995). Зная продолжительность эмбриональных стадий и их временное расписание при той же температуре, мы можем превратить продолжительность стадий, выраженную в астрономических единицах t_n , в единицы относительной продолжительности t_n/τ_s .

Таблица 1. Определение интервала τ_S в течение равномерного сомитогенеза у зародышей атлантического лосося *Salmo salar* L. из разных популяций

Температура, $\pm 0.05^\circ\text{C}$	Популяция (река)	Число сомитов в пробе зародышей: среднее и (в скобках) у каждого зародыша		Период наблюдений $t_2 - t_1$, ч	Значение τ_S , мин	Отклонение от абсолютного значения, %
		n_1	n_2			
0.4	Кола ¹	12.8 ± 0.15 (12, 13, 13, 13, 13, 13, 13)	56.8 ± 0.18 (56, 57, 57, 57, 57)	840	1146	0.1
	Нева ²	16.0 ± 0.00 (16, 16, 16, 16, 16, 16, 16)	58.8 ± 0.17 (58, 59, 59, 59, 59, 59, 59, 59, 59, 59)	818	1147	
6.0	Кола ¹	12.5 ± 0.34 (11, 13, 13, 13, 13, 12)	56.2 ± 0.22 (56, 56, 57, 56, 56)	291	400	1.0
	Салаца ³	8.3 ± 0.25 (8, 8, 8, 9, 9, 8)	54.3 ± 0.19 (54, 54, 54, 55, 54, 54, 55, 54)	306	399	
	Нева ²	7.0 ± 0.22 (7, 6, 8, 7, 7, 7, 7)	56.9 ± 0.21 (57, 56, 57, 57, 58, 56, 57, 57)	335	403	

Примечание. Бассейны: ¹ Баренцева моря (69° сев. шир.), ^{2, 3} Балтийского моря (60° и 57° сев. шир. соответственно).

Используя крайние точки на прямолинейной части каждой кривой, можно рассчитать τ_S для каждой температуры или прямо на кривой, или с помощью указанной выше формулы. Например, ее значения у атлантического лосося для температур, представленных на графиках (рис. 1), были определены как следующие: 7.0°C – 333 мин; 5.0°C – 464 мин; 2.7°C – 711 мин; 1.0°C – 1008 мин.

Теперь возникает вопрос, какой уровень точности достигается при определении τ_S как временной единицы внутренних биологических часов описанным способом. Если все затраты времени для приготовления необходимых данных (получение препаратов живых зародышей и подсчет сомитов у каждого из них) со стороны наблюдателя уменьшить до минимума, а мы стремились к этому, уровень точности определения τ_S может, в сущности, отражать уровень точности работы самих внутренних часов. С этой целью τ_S измеряли у зародышей одного вида в двух-трех параллельных сериях, развивавшихся в совершенно идентичных условиях, причем использовали икру рыб либо из разных популяций, либо из одной популяции, но разных кладок.

В табл. 1 и 2 представлены данные по вычислению τ_S у различных видов лососевых рыб, причем для решения этой задачи по возможности стремились использовать крайние эмпирические точки на кривых прироста числа сомитов. Для того чтобы показать, с каким материалом мы имели дело, здесь представляются не только средние значения числа сомитов из всех зародышей данной пробы, но также число сомитов у каждого индивидуального зародыша в пробе. Показывая читателю эти данные, мы

обеспечиваем возможность судить об уровне синхронности развития зародышей в составе одной кладки. Несомненно, что во всех случаях степень синхронности в кладке остается очень высокой, причем, что удивительно, она остается на одном уровне от начала до конца сомитогенеза.

Данные, показанные в табл. 1 и 2, раскрывают исключительно высокую точность временного контроля при образовании сомитов: отклонения в абсолютных значениях τ_S , определенного в параллельных сериях, не превышают 1%, а в некоторых случаях даже 0.1%, что составляет ошибку в 1 мин для интервала 1000 мин. Взяв в расчет время, затраченное на приготовление препаратов из 5–9 зародышей (30–50 мин), и имея в виду, что τ_S определяется как среднестатистическая величина, выведенная при подсчете сомитов у каждого из этих зародышей, можно полагать, что реальный механизм, обеспечивающий контроль поддержания ритма сомитогенеза у индивидуальных эмбрионов, работает с еще более высокой точностью. С позиций этих данных мы можем говорить о существовании у зародышей эндогенного часового механизма, способного учитывать время с уровнем точности, который может быть сравним или даже превосходить уровень точности механических часовых систем. Есть ли еще какие-либо другие биологические процессы, работающие на таком же уровне точности? Автору о таковых ничего не известно.

В самой известной работе, посвященной описанию эмбриогенеза рыб, утверждается, что асинхрония между зародышами, оплодотворенными одновременно, “возникает на самых ранних стадиях, и

Таблица 2. Определение интервала τ_S в течение равномерного сомитогенеза у зародышей кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)

Температура, $\pm 0.05^\circ\text{C}$	Порядковый номер кладки	Число сомитов в пробе зародышей: среднее и (в скобках) у каждого зародыша		Период наблюдений $t_2 - t_1$, ч	Значение τ_S , мин	Отклонение от абсолютного значения, %
		n_1	n_2			
6.0	1	2.0 \pm 0.41 (2, 1, 3, 2)	59.7 \pm 0.16 (60, 60, 59, 59, 60, 60, 60, 60)	332	340	0.9
6.0	2	9, 6 \pm 0, 36 (9, 9, 11, 9, 10, 9, 10)	54.7 \pm 0.18 (55, 55, 54, 55, 54, 55, 55)	261	343	
0.85	1	15.4 \pm 0.18 (15, 15, 15, 16, 15, 16, 16, 15, 16)	56.1 \pm 0.18 (56, 56, 56, 55, 56, 56, 57, 56, 57, 56)	605	893	1.1
0.90	2	13, 1 \pm 0, 13 (13, 14, 13, 13, 13, 13, 13, 13)	59.5 \pm 0.29 (58, 60, 59, 59, 60, 61, 60, 59, 59)	682	883	

она становится по мере времени более выраженной” (Kimmel et al., 1995. P. 253). Киммел и его соавторы полагают, что эта асинхронность более выражена среди эмбрионов от разных производителей, чем от одной пары. Ничего подобного не прослеживается в наших наблюдениях. Степень синхронности между зародышами сохраняется на одном и том же уровне в течение всего сомитогенеза, хотя этот период занимает у разных рыб от 1/2 до 2/5 общей продолжительности эмбриогенеза. Очевидно, что величина τ_S является строго постоянной у всех зародышей данного вида даже в популяциях, разделенных между собой расстоянием более чем в 1000 км. Очевидно, что пути миграций популяций атлантического лосося из рек Кола и Нева не пересекались уже много поколений, тем не менее скорость сомитогенеза у эмбрионов рыб этих популяций совпадает идеально.

Таким образом, сомитогенез при постоянных условиях является строго ритмическим процессом, который контролируется с экстраординарно высоким уровнем точности. Данные табл. 1 и 2 доказывают, что τ_S является константной временной характеристикой для всех эмбрионов данного вида, независимо от времени и места размножения. В то же время эта характеристика различается у разных видов. Например, у атлантического лосося и кижуча τ_S при 6.0°C равняется соответственно 401 и 342 мин (табл. 1, 2). Можно сказать, что зародыши каждого вида обладают видоспецифичным “собственным временем” развития.

Осевой размер нарождающихся сомитов на уровне хорды остается постоянной величиной в течение всего сомитогенеза. Итак, время образования большинства сомитов является константным. Является ли их размер вдоль переднезадней оси тоже константным или он подвержен изменениям в течение сомитоге-

неза? На зародышах одного из видов рода тихоокеанских лососей – симы *Oncorhynchus masu* – были проведены измерения размеров новых, только что выделившихся из пресомитной мезодермы сомитов вдоль переднезадней (ПЗ) оси – назовем этот параметр *осевой длиной сомита* l_S – на уровне хорды на разных стадиях сомитогенеза. Эти сомиты являются на каждой стадии самыми каудальными. Кроме них, обычно на тех же стадиях измеряли l_S самых передних сомитов (сегментов), чтобы проследить как меняется их ПЗ-размер в процессе эмбриогенеза. Для того чтобы нивелировать ошибку измерений, все данные были нивелированы как средние величины путем определения осевой длины шести самых каудальных (новых) и шести самых роstralных (передних) сомитов, затем разделенной на шесть (табл. 3).

Очевидно, что у вновь формируемых сомитов l_S практически не изменяется в течение сомитогенеза и для этого вида остается на уровне 50 мкм. Таким образом, в период сомитогенеза константным является не только время формирования каждого очередного сомита, но также и размер каждого нового сомита на момент его отделения от пресомитной мезодермы (ПСМ).

У зародышей симы l_S равняется 50 мкм, хотя у разных видов лососей (см. табл. 6) и у других рыб он варьирует так же, как и у позвоночных других классов (Городилов, 2004). В то же время l_S передних сомитов (или сегментов, так как сомиты очень быстро дифференцируются на склеротом и дермомиотом, поэтому лучше говорить о них уже как о сегментах) постепенно увеличивается (табл. 3).

Итак, почти все сомиты формируются вдоль ПЗ-оси тела с одинаковым интервалом, а ПЗ-размер этих вновь формируемых сомитов также является одинаковым. В таком случае какой же сигнал явля-

Таблица 3. Измерения осевой длины самых передних и самых задних сомитов на разных стадиях сомитогенеза тихоокеанского лосося симы *Oncorhynchus masu*

Возраст от оплодотворения, τ_S	Стадия по числу сомитов	Осевая длина l_S одного сомита вдоль переднезадней оси, средняя из шести сомитов, мкм	
		рострального	каудального
66	11		54
			55
			55
			57
71	16	67	52
		63	54
		67	52
		63	52
76	21	67	50
		70	50
		63	52
85	30	67	48
		68	50
		70	48
95	40	78	52
		75	48
		77	48
108	53	80	52
		78	50
		78	50
		80	50
115	60	90	53
		92	53
		95	50
			52

ется ведущим для образования из ПСМ нового сомита: временной или пространственный?

Если исходить из представления о сомитогенезе как о распространяющейся волне активации клеток ПСМ (Cooke, Zeeman, 1976), то можно легко предположить, что сигналом для образования сомита могло бы быть продвижение этой волны на расстояние, равное размеру осевой длины сомита l_S . Однако Кук (Cooke, 1975), удаляя часть клеток из бластулы *Xenopus*, получал миниатюрные эмбрионы с тем же самым числом маленьких сомитов, что и у нормальных. Следовательно, поступление сигнала на образование сомита не зависит от числа клеток: сомит может быть сформирован из меньшего их числа. К сожалению, Кук не измерял время образования сомитов.

Для того чтобы решить вопрос о том, какой из упомянутых факторов является ведущим, мы сравнили временной и пространственный аспекты сомитогенеза у нормальных и двойных зародышей, когда мы находили тех и других в одной и той же кладке. Предполагалось, что у близнецов должны

наблюдаться задержки в появлении сомитов, так как они тратили клеточный строительный материал на образование двух зародышей.

Близнецы были разного типа: либо полностью отделенные друг от друга, но в одном желточном мешке, либо слившиеся, подобно сиамским близнецам. Среди последних были близнецы с одной общей головой, но с двумя туловищами, или с одним общим хвостом, но с двумя головами. Если такие близнецы встречались в кладке во время сомитогенеза, то обычно мы не упускали возможности сосчитать число сомитов как у обоих близнецов, так и у нормальных зародышей из этой же пробы. В табл. 4 можно видеть результаты таких подсчетов. Как видно, оба близнеца имеют одинаковое число сомитов, причем такое же, как и у нормальных зародышей из этой же кладки.

Одновременно были произведены измерения линейных размеров зародышей в целом и их отдельных частей. Оказалось, что все ПЗ-параметры размеров тела у двойников имеют меньшие значения, чем таковые у нормальных зародышей. Это наблюдение

Таблица 4. Число сомитов у нормальных зародышей и у близнецов в икринках из одной кладки

Вид	Температура инкубации, °С	Число сомитов у зародышей		Тип деформации у близнецов
		нормальных	близнецов	
Арктический голец <i>Salvelinus alpinus</i> L.	5.6	56	57 + 57	Общая голова
		56		
		56		
		58		
		59		
	среднее 56.8			
Кижуч <i>Oncorhynchus kisutch</i> Walbaum	6.0	55	55 + 55	Общая голова и сросшиеся вместе хвосты
		55		
		54		
		54		
		55		
		55		
		55		
	среднее 54.7			
Атлантический лосось <i>Salmo salar</i> L.	10.0	28	28 + 28	Сросшиеся вместе на уровне туловищ и хвостов
		28		
		27		
	среднее 27.7			
То же	6.0	44	43 + 43	Оба зародыша разделены полностью;
		44		
		44		
		44		
		44		
	среднее 44.0	44 + ~40	~40 сомитов с аномально нечеткой сегментацией в хвостовой части	
»	Естественный режим на рыбозаводе	26	26 + ?	Сросшиеся хвосты. Один из близнецов был поврежден при изготовлении препарата
		29		
		30		
		30		
	среднее 28.3			
»	То же	44	43 + 43	Сросшиеся хвосты. Эмбрионы различаются по размерам (рис. 2, б)
		43		
		44		
		44		
		44		
	среднее 43.7 (рис. 2, а)	44 + 44		

является истинным также для средней сегментированной части тела (табл. 5). Имеют ли, однако, вновь образующиеся сомиты у близнецов также меньший, чем у нормальных зародышей, размер по длине оси l_s ? Для того чтобы ответить на этот вопрос, мы провели дополнительное исследование на зародышах *Salmo salar*, выявив в некоторых кладках сиамских близнецов (табл. 6). Как очевидно из представленных данных, у сходных сомитов сиамских близнецов. Единственным исключением был близнец (рис. 2), у которого сами эмбрионы имели различные размеры: у более крупного эмбриона сформировались сомиты, которые по размеру l_s были почти та-

кие же, как сомиты у нормальных эмбрионов, в то время как у мелкого эмбриона образовались более мелкие сомиты (табл. 6). Однако, очевидно, что у каждого близнеца из обеих пар сиамских близнецов (рис. 2, б), найденных в одной кладке, так же как у нормальных зародышей из этой же кладки (рис. 2, а), насчитывалось 43–44 сомита (табл. 4).

Отсюда следует, что сигнал на образование нового сомита относится скорее к временному интервалу, чем к количеству материала (числу клеток) или к его линейному размеру. Как оказалось, первый (τ_s) является идентичным как у нормальных зародышей, так и у близнецов, тогда как показатель размерности

Таблица 5. Некоторые размерные параметры и пропорции тела у нормальных и двойных зародышей арктического гольца *Salvelinus alpinus* в образцах икринок из одной кладки

Типы зародышей	Стадия по числу сомитов	Длина, мм					Отношение длины сегментированной части к длине головы
		голова от переднего края до первого сомита	сегментированной части	несегментированной части хвоста	всего зародыша	одного сомита в среднем	
Нормальный	56	2.00	3.96	0.52	6.48	0.071	1.98
То же	56	1.90	4.08	0.52	6.50	0.073	2.15
Близнец 1	57	1.65	3.35	0.40	5.40	0.059	2.03
Близнец 2	57	1.65	3.45	0.40	5.50	0.060	2.09

(l_s) теряет идентичность, изменяясь у близнецов в сторону уменьшения. Случай сиамских близнецов, которые различались по общему размеру и, соответственно, по размерам сомитов (рис. 2, б), дополнительно подчеркивает вторичность пространственно-го фактора при образовании сомитов.

Таким образом, в наших исследованиях была обнаружена серия фундаментальных фактов, касающихся временных и пространственных характеристик процесса сомитогенеза.

Таблица 6. Линейная длина всей сегментированной части тела и самых задних индивидуальных сомитов у нормальных зародышей и сиамских близнецов атлантического лосося *Salmo salar*

Число сомитов	Длина, мм		
	сегментированной части в целом	одного сомита в среднем	самого заднего сомита, l_s
Нормальные зародыши			
26	1.87	0.072	0.061
29	2.17	0.074	0.061
30	2.22	0.074	0.063
44	3.19	0.072	0.059
43	3.19	0.074	0.060
44	3.30	0.075	0.059
44	3.08	0.070	0.059
Сиамские близнецы			
26 + ?	1.64	0.063	0.051
44 +	2.81	0.064	0.051
44	2.81	0.064	0.051
43 +			0.058**
43*			0.049***

Примечания. * см. рис. 2, б; ***, ** более крупный и мелкий близнецы соответственно.

1. Вычленение каждого сомита из ПСМ при постоянном режиме развития происходит с одним и тем же временным интервалом, т.е. строго ритмически.

2. Интервал времени между появлением последовательных сомитов контролируется с высочайшей точностью, которая является уникальной для биологических процессов.

3. Измерение размера вновь возникающих из ПСМ сомитов вдоль переднезадней оси на уровне хорды обнаружило, что этот размер остается постоянным на протяжении всего сомитогенеза.

4. Эксперименты с близнецами показали, что в пространственно-временных взаимоотношениях, принимающих участие в морфогенезе сомитов, ведущую роль играет фактор времени.

ПРЕСОМИТНАЯ МЕЗОДЕРМА КАК АРЕНА ЦИКЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ СЕГМЕНТАЦИИ

Недавно появились публикации, в которых описывается экспрессия некоторых генов в ПСМ. Эта экспрессия характеризуется динамическим паттерном, который воспроизводится с периодом, равным времени образования одного сомита. Ряд этих генов, таких как *c-hairy1* и *c-hairy2* (Palmeirim et al., 1997; Jouve et al., 2000), *lunatic fringe* (McGrew et al., 1998; Forsberg et al., 1998; Aulehla, Johnson, 1999), *her1* (Sawada et al., 2000; Holley et al., 2002) и *delta C* (Jiang et al., 2000), характеризуются сходной динамикой экспрессии: вначале в самой каудальной части тела появляется широкий домен активации, затем он смещается вперед, одновременно делаясь более узким, и, наконец, локализуется в постериорной части вновь отделяемого от ПСМ сомита. В это же время в каудальной части зарождается новый домен экспрессии. Стоит отметить, что пресомитная часть тела включает в себя не только ПСМ, но и несегментирующуюся часть хвоста (Городилов, 2004). Другие вовлекаемые в сомитогенез гены, например каскада *Notch-Delta* или семейств *Mesp* и *Eph*, также обнару-

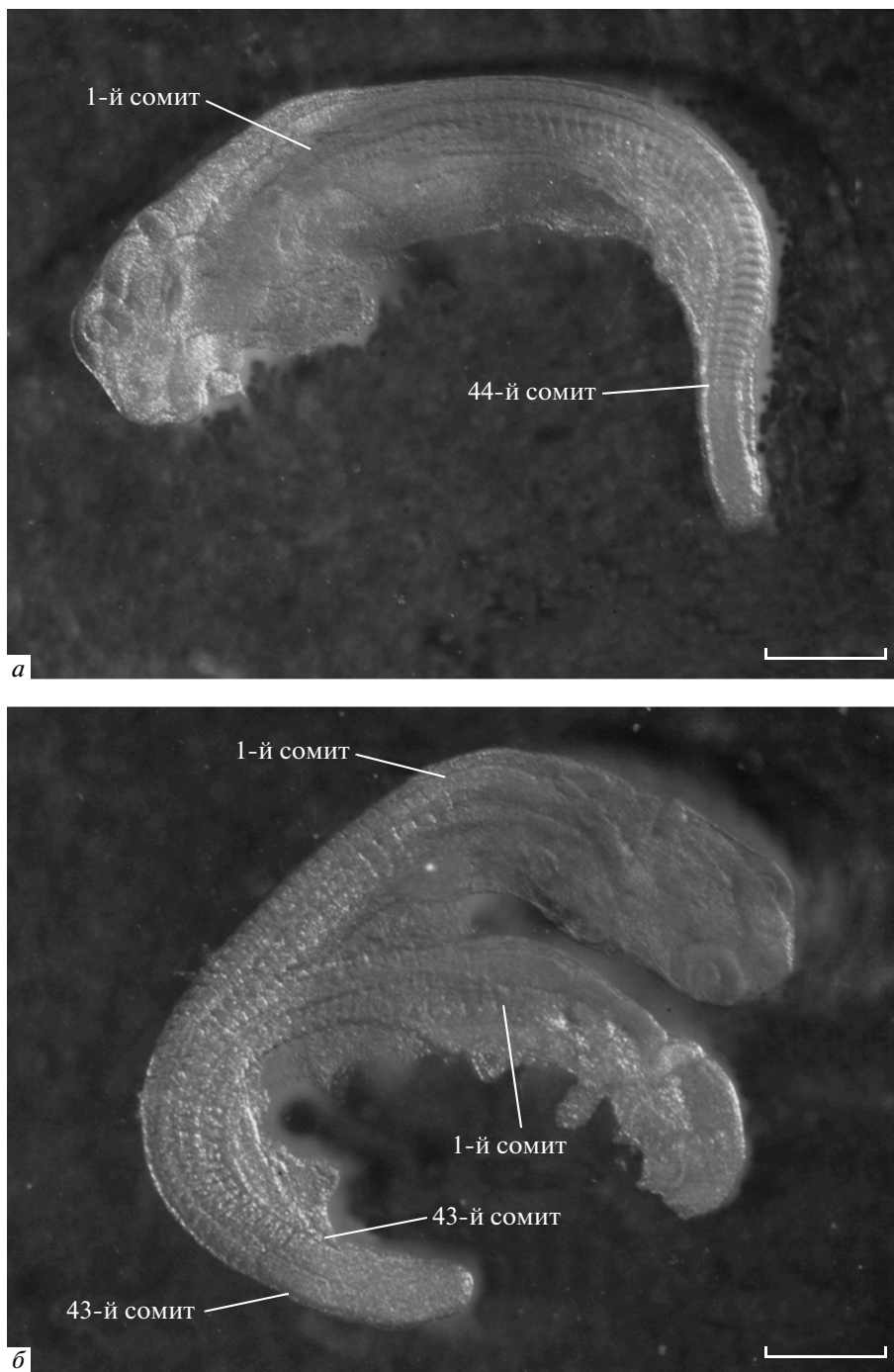


Рис. 2. Зародыши *Salmo salar* из одной пробы, находящиеся на стадии 43–44 сомитов (см. табл. 4): *a* – один из нескольких нормальных зародышей; *б* – одна из двух пар сиамских близнецов. Масштаб: 0.5 мм.

живаю динамический характер экспрессии, но с отличающимся паттерном: они выявляют экспрессию РНК соответствующих генов в области в ближайших пресомитов, в будущих сомитах, прилежащих к рождающемуся сомиту (Durbin et al., 1998; Sawada et al., 2000; Holley et al., 2002). Таким образом, в ПСМ одновременно происходит активация большой группы

генов, каждая из которых предшествует акту морфогенеза сомита.

Являются ли эти волны экспрессии ряда регуляторных генов молекулярной основой процесса морфогенеза сомита? Это предположение можно было бы принять как утверждение, если согласиться с позицией всех вышеупомянутых авторов: работа био-

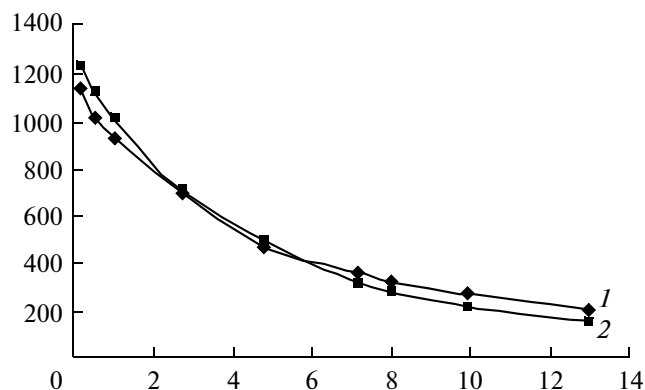


Рис. 3. Зависимость продолжительности образования одной пары сомитов τ_S (1) и клеточных делений в период дробления τ_0 (2) (по оси ординат, мин) от температуры (по оси абсцисс, °C).

логических часов, которые управляют периодической активацией генов в ПСМ и самим сомитогенезом, ограничивается только этим периодом. Однако есть основания полагать, что контролирующая роль биологических часов не ограничивается только сомитогенезом. Просто на протяжении последнего мы имеем возможность регистрировать внешние проявления временного фактора наиболее определенно благодаря формированию большого числа сходных морфологических структур с одним и тем же интервалом времени. Подобных демонстративно ритмических процессов на других стадиях развития не наблюдается, но существование временного контроля на таких стадиях может быть доказано косвенными методами. С этой целью представим далее некоторые факты.

Таблица 7. Сравнение длительности одного клеточного дробления τ_0 и образования одного сомита τ_S при идентичных температурах у зародышей трех видов лососевых рыб, мин

Температура, °C	Атлантический лосось <i>Salmo salar</i>		Кета <i>Oncorhynchus keta</i>		Радужная форель <i>Oncorhynchus mikiss</i>	
	τ_0	τ_S	τ_0	τ_S	τ_0^*	τ_S
3.0	657	670	570	654	514	527
4.0	558	555	480	538	433	431
5.0	479	470	408	452	367	357
6.0	415	397	350	374	314	300
7.0	364	328	303	317	270	254
8.0	321	284	265	270	234	219
9.0			234	232		
$\pm\sigma$	16.7	3.9	7.3	16.9	20.9	4.6

* Рассчитано по: Игнатьева, 1970.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ РИТМАМИ ДЕЛЕНИЙ ДРОБЛЕНИЯ И СОМИТОГЕНЕЗА

Если сопоставить продолжительность циклов делений дробления τ_0 и сомитогенеза τ_S , то оказывается, что при некоторых значениях температуры они совпадают. Сравним две кривые зависимости этих индексов от температуры инкубации икры, полученные для атлантического лосося (рис. 3). Очевидно, что скорости процессов дробления и сомитогенеза у зародышей, принадлежащих к одному виду, коррелируют между собой и при некоторых значениях температуры совпадают. Подобная взаимосвязь между τ_0 и τ_S наблюдается и у других видов. Это легко можно проследить, сравнивая значения τ_0 и τ_S у видов, имеющих в период эмбриогенеза разное “собственное время”. В табл. 7 такие данные показаны для трех видов лососевых рыб. Несомненно, что при одинаковых температурах оба сравниваемых процесса наиболее медленно протекают у атлантического лосося, а наиболее быстро — у радужной форели, в то время как у кеты они идут с промежуточной скоростью. В результате этих сопоставлений можно сделать следующие выводы: 1) у зародышей, принадлежащих к одному виду, τ_0 и τ_S при некоторых температурах инкубации совпадают; 2) виды рыб, имеющие более высокий темп дробления, характеризуются и более высоким темпом сомитогенеза, и наоборот.

Неполное совпадение τ_0 и τ_S у исследованных видов рыб при некоторых температурах может быть обусловлено различными причинами. Одной из них может быть то, что активность внутреннего осциллятора регистрируется только через внешние процессы, которые могут не вполне адекватно отражать этот внутренний ритм.

Следует отметить, что у исследованных нами видов лососей τ_0 и τ_S соотносятся как 1 : 1, но у других видов эта пропорция может отличаться, видимо, кратно. Например, у *D. rerio* τ_0 и τ_S соотносятся между собой как 1 : 2 (Kimmel et al., 1995), подобное же соотношение было выявлено у травяной лягушки *Rana temporaria*: при 15°C продолжительность цикла дробления составляет 70 мин (Дабагян, Слепцова, 1975), а образование одной пары сомитов происходит за 140 мин (Elsdale, Davidson, 1987). Форсберг с соавторами (Forsberg et al., 1998) показали, что волна экспрессии гена *lunatic fringe* возникает в хвостовой почке мыши в период сомитогенеза каждые 2 ч, но время ее продвижения до уровня формирующегося сомита составляет 4 ч. Следовательно, для осуществления одного и того же события в одном случае тратится время, равное τ_0 , а в другом — $2\tau_0$. Наличие таких кратных соотношений связано, по нашему мнению, с тем, что процесс сомитогенеза так же, как синхронные деления дробления, подчиняется эндогенному ритму зародышей с основным периодом τ_0 , но в зависимости от сложности и специфики про-

цесса, укладывается в один, два или более периодов эндогенного ритма.

Недавно временные закономерности онтогенеза были рассмотрены более широко и выяснилось, что кратные соотношения τ_0 и τ_5 характерны для эмбриогенеза не только низших, но и высших позвоночных. Более того, анализируя материалы по клеточным циклам, исследованным не только *in situ*, но и на клеточных линиях *in vitro*, авторы пришли к выводу о том, что “удлинение митотических циклов, предшествующее и сопровождающее дифференциацию клеток, происходит “скачками” — с шагом, протяженность которого равна длительности специфического для вида минимального митотического цикла” (Доронин, Голиченков, 2006. С. 38). Этот шаг в размере минимального митотического цикла, т.е. τ_0 , авторы назвали временным модулем онтогенеза.

ВРЕМЕННОЙ КОНТРОЛЬ РАЗВИТИЯ ЭМБРИОНОВ НА СТАДИЯХ МЕЖДУ ДРОБЛЕНИЕМ И СОМИТОГЕНЕЗОМ

После делений дробления, которые являются ритмическими и равными по продолжительности 9–10 циклам (Городилов, Лильп, 1978; Kimmel et al., 1995), наступает бластуляция, во время которой деления клеток десинхронизируются. Контролируется ли ход времени клетками эмбриона на стадиях после дробления? Во-первых, заметим, что после подавления делений дробления (см. выше) циклические изменения некоторых показателей сохраняются. Во-вторых, имеются наблюдения (Kane, Kimmel, 1993), что неоплодотворенные икринки *D. rerio* можно активировать простым погружением в воду, при этом они подвергаются очень продолжительной — не менее 15 — серии циклических беспорядочных дроблений, которые по длительности соответствуют клеточным циклам нормального дробления. Могут быть представлены другие данные, которые доказывают существование временного контроля у зародышей и их клеток после дробления.

В серии экспериментов было установлено, что в различных группах животных начало бластуляции и гастрюляции зависит не от ядерно-цитоплазматического соотношения или от количества клеточных делений, а от продолжительности развития (Mita, 1983; Mita, Obata, 1984; Kirschner et al., 1985). Также было показано, что время осуществления различных процессов в любых зачатках эмбриона запрограммировано в клетках и расписание их развития (с того или иного момента) реализуется независимо от соседних зачатков. Например, при сращивании зародышей морской звезды на разных стадиях развития, несмотря на то, что между клетками зародышей формировались высокопроницаемые контакты, каждый из них переходил к началу гастрюляции по своему расписанию: тот зародыш, который начинал развитие на 2 ч раньше, и гастрюляцию начинал раньше на то же время (Mita, Satoh, 1982). Попытки

изменить время начала гастрюляции, используя досрочную обработку эмбрионов мезодермализующим индуктором, не были успешными (Symes, Smith, 1987).

Создается также впечатление, что включение синтеза некоторых специфических ферментов и химических соединений зависит от хода зародышевых внутриклеточных часов. Так, синтез тканеспецифического фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ) происходит у зародышей асцидий в мышечных клетках (Whittaker, 1973). Если яйца асцидий на стадии 32 бластомеров обработать цитохалазином В (действие которого прекращает цитокинез, но сохраняет деления ядер) или колхицином (блокирует деление ядер), то в том и другом случае может быть обнаружена активность АХЭ в не развивающихся внешне зародышах, но только в то время, когда АХЭ появляется и у контрольных зародышей (Whittaker, 1973; Satoh, Ikegami, 1981; Satoh, 1982).

Наконец, высокая степень синхронности зародышей в одной кладке, когда они вступают в сомитогенез (Gorodilov et al., 2008; табл. 1, 2), может служить явным доказательством существования контроля времени на предыдущем этапе развития.

Удивительно, что незначительная степень дисперсии между зародышами одной кладки или партии в начале сомитогенеза практически не возрастает к его окончанию, несмотря на то, что этот период занимает у разных видов от 2/5 (Городилов, 1998) до 1/2 (Городилов, Мельникова, 2006) общей продолжительности эмбриогенеза. Создается впечатление, что если все условия инкубации являются адекватными по всему ряду параметров, то все 100% зародышей будут развиваться *абсолютно* синхронно.

Если даже согласиться с тем положением, что степень синхронности между эмбрионами постепенно снижается в силу разных причин (различные микроусловия внутри инкубатора, флуктуации в работе часового механизма у разных зародышей), очевидно, что наивысший уровень синхронности следует ожидать сразу после оплодотворения. Для того чтобы проверить это предположение, необходимо было бы произвести сравнение эмбрионов в пределах одного образца на такой стадии развития, которая бы позволила достоверно оценить степень дисперсии эмбрионов по времени в самом начале эмбриогенеза. Очевидно, что фазы митоза первого деления дробления являются самым ранним событием, когда может быть оценена степень дисперсии между зародышами уже в самом начале процесса развития.

ОЦЕНКА УРОВНЯ СИНХРОННОСТИ МЕЖДУ ЗАРОДЫШАМИ В ОДНОЙ КЛАДКЕ НА СТАДИИ ДЕЛЕНИЯ ДРОБЛЕНИЯ I

Для того чтобы проверить последнее предположение, мы исследовали уровень синхронности раз-

Таблица 8. Оценка временной дисперсии между зародышами атлантического лосося *Salmo salar* по встречаемости митотических фаз деления дробления I

Фазы митоза	Число обработанных зародышей	Продолжительность фазы митоза деления I индивидуального зародыша, мин	Время между крайними фиксациями, в которых зародыши встречаются в данной фазе, мин	Временная дисперсия между индивидуальными зародышами в единицах	
				астрономического времени, мин	относительного времени, $\tau_0 (\approx \tau_S)$
Интерфаза + профаза деления I*	31				
Прометафаза	6	25	90	65	0.14
Метафаза	23	94	180	86	0.19
Анафаза	24	98	180	82	0.17
Телофаза	13	54	150	96	0.21
Интерфаза деления II**	10				

Примечания. * Начальная граница интерфазы деления дробления I не была определена; ** продолжительность интерфазы + профазы деления дробления II при температуре 4.8°C – 204 мин (Городилов, Лильп, 1978).

вития зародышей в кладке атлантического лосося во время деления дробления I. Когда сперматозоид проникает в яйцо, он становится мужским пронуклеусом. Ядерный гаплоидный материал яйца становится в это же время женским пронуклеусом. Оба пронуклеуса двигаются навстречу друг другу и сливаются, образуя диплоидное ядро зиготы, которое сразу же входит в интерфазу деления I. Ранее мы показали, что у зародышей атлантического лосося при температуре 4.8°C через 10.5 ч инкубации слияние пронуклеусов уже совершалось, и зиготическое ядро находилось в пределах интерфазы деления дробления I (Городилов, Лильп, 1978).

Для того чтобы получить необходимые данные, была выполнена серия фиксаций икринок атлантического лосося (по 8–10 шт. в каждой) между 13 и 21 ч инкубации при температуре 4.8°C с 30-минутным интервалом. Затем еще не разделившиеся одноклеточные бластодиски были выделены из яиц, подвергнуты гистологической обработке, порезаны (толщина срезов 6 мкм) и покрашены гематоксилином по Генденгайну и Майеру.

В результате микроскопических исследований оказалось, что в процессе цикла дробления I и в начале цикла дробления II находилось 197 одноклеточных зародышей. Продолжительность каждой из четырех митотических фаз цикла I была определена по числу зародышей, находившихся в этих фазах (табл. 8). Оказалось, что их продолжительность соответствовала таковой этих фаз в циклах II–IV, определенных раньше (Городилов, Лильп, 1978). После этого было рассмотрено, в каком числе фиксаций одноклеточных зародышей встречаются ядра в каждой из фаз митоза (табл. 8). Полученные данные показывают, что уже в первом цикле дробления вре-

менной разброс между зародышами достигает 0.14–0.21 τ_0 (или $\approx \tau_S$).

Если сравнить показатели временного разброса (степени асинхронности) в делении дробления I и в течение сомитогенеза (табл. 1, 2), где он оценивается по числу сомитов, т.е. в τ_S , можно видеть, что в обоих случаях наблюдается одинаковый уровень вариативности. Следовательно, временная дисперсия между зародышами возникает практически сразу после оплодотворения, и в последующем эмбриогенезе вплоть до конца сомитогенеза (по крайней мере) этот уровень не увеличивается. Это поразительный результат, подчеркивающий, очевидно, что часовой механизм, который отсчитывает время внутри зародыша, ведет этот отсчет с исключительно высокой точностью. К этому можно добавить, что установка внутренних часов, отсчитывающих “собственное время” и их настройка по уровню точности оказываются одинаковыми не только у зародышей в одной кладке, но у зародышей всего вида (табл. 1, 2).

Включение счетчика времени происходит, по видимому, сразу после слияния пронуклеусов. К этому моменту временная дисперсия между зародышами накапливается до величины, равной 0.15–0.20 τ_S : по-видимому, она возникает за счет вариативности в проникновении спермия в яйцо и различной длительности движения пронуклеусов к точке их слияния. С этого момента и, по крайней мере, до конца сомитогенеза уровень синхронности между зародышами сохраняется неизменным и очень высоким.

Надо, однако, подчеркнуть, что столь сверхточную работу часового механизма и высокий уровень синхронности развивающихся зародышей удалось выявить только потому, что мы предприняли боль-

шие усилия для обеспечения оптимального режима инкубации икры. Как только какие-то из факторов среды становятся неблагоприятными, так сразу же в пробах икры фиксируется быстрое появление и увеличение уровня асинхронности между зародышами. Это могут быть неоптимальная температура, дефицит O_2 , накопление опасных метаболитов, особенно если при инкубации икры используется не проточная, а стоячая вода, — в результате в инкубационной среде возникают градиенты этих факторов и зародыши оказываются в неодинаковых условиях. Например, в работе японских авторов (Fujimoto et al., 2006), описывающих развитие выюна *Misgurnus anguillicaudatus*, инкубацию икры проводили в чашках Петри. В качестве индекса степени развития они использовали среднее число сомитов, подсчитанных в выборке зародышей; среди зародышей одной выборки различия достигали 8 сомитов. Подобная дисперсия невозможна, если тщательно соблюдать вышеупомянутые условия инкубации.

ЗНАЧЕНИЕ ВНУТРИЗАРОДЫШЕВОГО ЧАСОВОГО МЕХАНИЗМА В ИНТЕГРАЦИИ ПРОЦЕССОВ ЭМБРИОГЕНЕЗА

Существование ритмических процессов, встречающихся на разных стадиях эмбриогенеза, вполне определенно указывает на присутствие у зародышей механизма временного контроля. Отсчет времени, по-видимому, начинается с момента слияния пронуклеусов и продолжается, возможно, до конца эмбриогенеза. Этот механизм осуществляет временную регламентацию процессов развития, благодаря которой каждая стадия протекает в строгих временных рамках, а все развитие подчиняется жестко фиксированному временному расписанию. Его можно представить в виде метронома, осцилляции которого воспринимают все эмбриональные клетки, тогда как период осцилляции соотносится с длительностью разных процессов, ступеней этапов дифференцировки и морфогенеза как 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 и т.д., т.е. всегда кратно.

Можно полагать, что в яйце периодически генерируются некие сигналы, которые воспринимаются всеми клетками зародыша и являются своего рода триггерами, запускающими экспрессию генов и их кластеров, включение/выключение программ и подпрограмм дифференцировок и морфогенезов в соответствии с порядковым номером сигнала в разных типах клеток и участках зародыша.

Автор попытался отобразить эту картину эмбрионального развития с помощью схемы (рис. 4). С левой ее стороны схемы по вертикали представлена временная шкала развития зародыша начиная от оплодотворения (или слияния пронуклеусов?), где единицей времени является период (τ_0 или τ_s , если они равны). С правой стороны от шкалы вдоль горизонтальных линий обозначено название некоторых

структур, тканей, органов зародыша, которые начинают или завершают развитие одновременно, т.е. по одному и тому же сигналу, генерированному часовым механизмом. Штриховые участки на линиях обозначают, что кроме названных событий данный сигнал может включать/выключать большое количество других процессов. Фактическая сторона схемы основана на данных по развитию зародышей лососевых рыб. Например (Городилов, 1983, 1998), в течение первых интервалов τ происходят деления дробления, в результате которых число клеток каждый раз удваивается. Через 12 τ от начала развития формируется бластула с тремя, по крайней мере, типами тканей. Через 56 τ образуется комплекс осевых органов и начинается сомитогенез и т.д. К 350 τ эмбриогенез заканчивается и морфологическое развитие, за исключением деталей, завершается.

Согласно излагаемой схеме, программы развития тех или иных дифференцировок как бы фиксированы на временной шкале часового механизма зародыша, и каждая из них запускается в соответствии с порядковым номером своего сигнала. Один и тот же сигнал может запускать и останавливать процессы развития в разных частях эмбриона и на различных уровнях его организации, от молекулярного до надклеточного, а продолжительность любого процесса или его отдельных звеньев должна быть ограничена одним или большим числом идентичных интервалов τ . Очевидно, что присутствие единого сигнала для запуска или прекращения сразу многих процессов означает, что эти процессы могут совершаться в значительной степени независимо. Этот вывод из предложенной схемы должен объяснить, почему некоторые циклические процессы продолжают, когда цитокинез или ядерные деления подавляются (Satoh, Ikegami, 1981), или почему попытки сместить начало гаструляции путем различных экспериментальных процедур были безуспешными (Mita, Satoh, 1982; Symes, Smith, 1987). Принцип независимости может также быть причиной того, что изолированные клетки и ткани сохраняют свое расписание наравне с этими же клетками в составе интактных зародышей. Еще одной функцией системы сигналов точного времени можно признать обеспечение координации многих более или менее независимых процессов эмбриогенеза, для которого она играет роль интегрирующего фактора в тот период онтогенеза, когда нервная система еще не сформировалась.

О ПРЕДСКАЗУЕМОСТИ ПРЕДЛОЖЕННОЙ МОДЕЛИ

Истинность любой модели обычно испытывается тем, как она может предсказывать различные ситуации в поведении описываемой модели. По мнению автора, намеченная модель способна предсказать: 1) возможную потерю некоторых эмбриональных стадий без серьезных последствий для последующего развития и 2) реализацию любых эм-

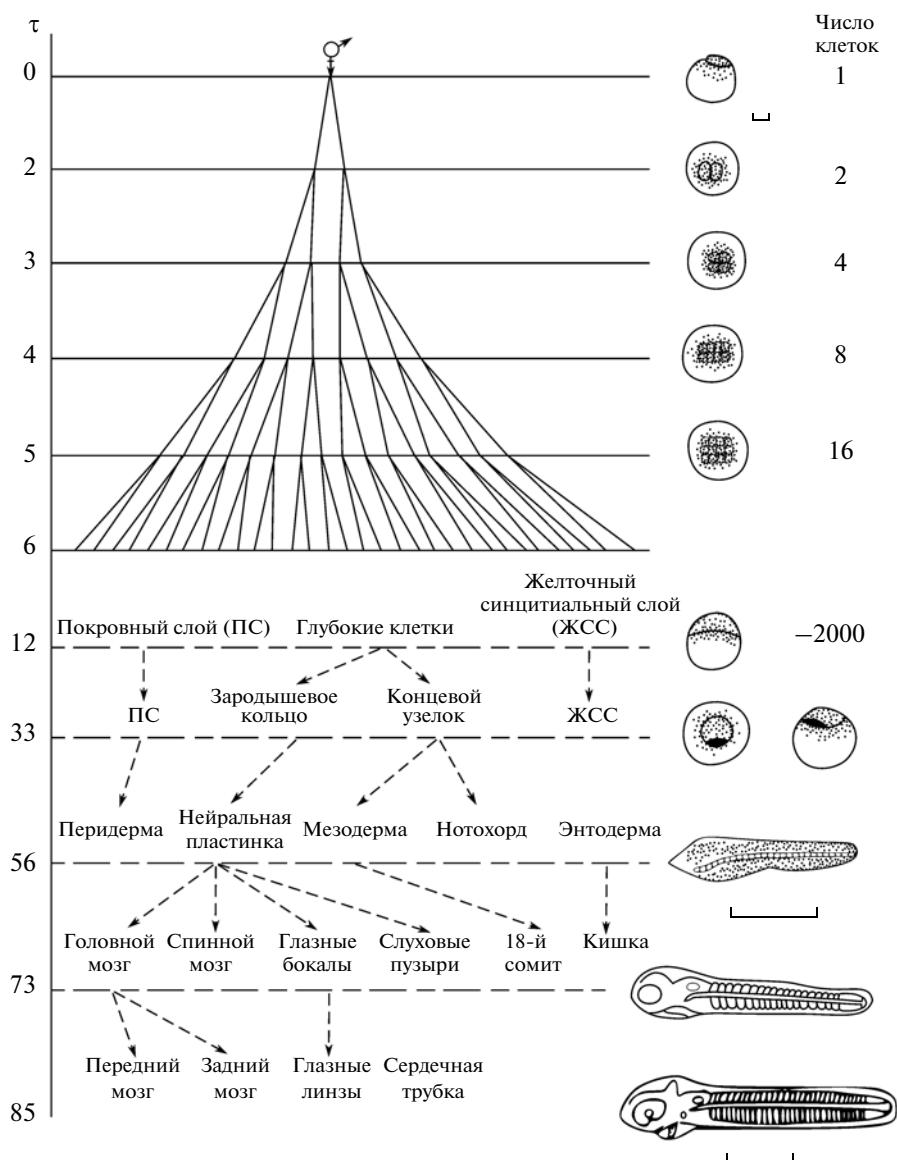


Рис. 4. Схема развития зародышей позвоночных (на примере лососевых рыб) под контролем сигналов эндогенного времени, генерируемых с периодичностью τ (объяснения см. в тексте). Масштаб: 1 мм.

бриональных процессов (на молекулярном, клеточном, надклеточном уровнях) путем периодических включений/выключений через интервалы, равные или кратные τ_s . Имеются ли уже сегодня какие-либо факты в пользу этих предсказаний?

Может ли процесс эмбриогенеза не прекращаться при выпадении или деформации некоторых стадий? Каждая новая осцилляция, генерируемая эндогенным часовым механизмом зародышей, является сигналом для перехода к следующей стадии развития всем клеткам, которые должны принять активное участие в ней. Что может случиться, если образование структуры не успеет завершиться ко времени нового сигнала? Видимо, если дело касается жизненно важных органов (сердце, почки, мозг), то образовав-

шийся дефект может привести к летальному исходу. Если же затрагивается орган, нарушения которого не столь резко влияют на жизнеспособность, то образующийся дефект сохраняется, а орган, получив очередной сигнал, входит в следующую стадию развития. Например, когда во время сомитогенеза с помощью теплового шока были произведены деформации в некоторых формирующихся сомитах, последующие сомиты продолжали развиваться нормально и с нормальной скоростью (Cooke, 1978; Cooke, Elsdale, 1980).

Другие случаи связаны с инактивацией экспрессируемых во время эмбриогенеза отдельных генов или их комплексов. Закани с соавторами (Zakany et al., 2001) исследовали экспрессию генов *Hoxd1* и

Hoxd3 и показали, что она вначале проявлялась в той части ПСМ, которая находится в состоянии преобразования в сомит через интервал $1 \tau_S$ (если использовать нашу терминологию). Естественно сделать вывод о том, что эти гены участвуют непосредственно в подготовке к образованию соответствующих сомитов, однако мутантная инактивация этих генов, как и всего комплекса *HoxD* в целом, не влияла на ход нормального сомитогенеза, хотя позднее в позвонках – производных этих сомитов наблюдались некоторые дефекты. Получается, что ген проявляет себя непосредственно в процессе образования данного сомита, но его инактивация не сказывается на этом процессе и выявляется гораздо позднее – у производных этого сомита. Предполагается также, что гены *her1* и *delta C* у *D. rerio* являются активными членами осцилляторного механизма во время сомитогенеза (Holley et al., 2002). Однако прекращение их предшествующих осцилляций не прекращает процесс сегментации и образования новых сомитов.

Еще один пример относится к мутации гена *Paraxis*, который контролирует в парасевой мезодерме транскрипционный фактор bHLH. Мутация приводит к развитию эмбрионов, у которых при формировании сомитов теряется стадия эпителиальных сфер. Однако более поздние производные этих сомитов (скелетные мышцы, позвонки, ребра) возникают, хотя и с большим количеством мелких нарушений (Burgess et al., 1996). Следовательно, при образовании органа может выпасть важная стадия, в то же время это не прекращает его последующего развития. Подобные результаты получены и при выключении других сомитогенных факторов (Durbin et al., 2000).

Является ли периодичность основным способом функционирования разного уровня систем зародышей? Предлагаемая модель (рис. 4) представляет схему регуляции и координации эмбриогенеза в целом, основанную на участии часового механизма, обеспечивающего точный отсчет времени. Основным следствием этой модели является признание цикличности в осуществлении всех процессов, происходящих в зародыше на любом уровне организации, начиная от молекулярного. Поэтому для нас неудивительно, что такая цикличность была недавно открыта у ряда генов. Правда, в этих работах исследовался сомитогенез, и их авторы полагают, что выявленная ими периодическая экспрессия генов связана только с этим периодом, предполагая, что сам процесс морфогенеза сомитов и предшествующая ему циклическая активность генов подчиняются специальным *сегментационным часам* (Palmeirim et al., 1997; Hirsinger et al., 2000; Pourquie, 2000). Если удастся доказать, что не только сегментационные, но и многие другие гены, которые не участвуют в сомитогенезе и включаются в работу в другие периоды или в других органах, функционируют при помощи циклических активаций, то можно будет говорить о реальности постулируемого механизма. Такие дан-

ные по циклической экспрессии генов, которые трудно объяснить только тем, что они связаны с сомитогенезом, уже стали появляться.

Недавно показано (Pascoal et al., 2007), что при росте и паттернизации стопы передней конечности цыпленка происходит циклическая экспрессия гена *hairy 2* с периодичностью в 6 ч. В первую очередь обращает внимание сам факт периодической экспрессии гена в ткани, не имеющей отношения к сомитогенезу, а во вторую, что время этой периодичности и интервал τ_S у цыпленка, равный 1.5 ч, находятся в кратных отношениях.

В вышеупомянутой работе Закани и др. (Zakany et al., 2001) было отмечено, что периодические экспрессии *Hoxd1* и других генов *HoxD*, возникающие еще в ПСМ, затем происходили в дефинитивных сомитах, но только от того уровня, где они впервые наблюдались. Таким образом, как только гены *Hox* становятся “открытыми” и транскрипционно доступными, они продолжают проявлять периодические всплески активности.

Другая группа фактов, которые трудно интерпретировать с позиций причинно-следственной связи между циклической экспрессией генов типа *c-hairy* в ПСМ и образованием соответствующего сомита, связана с теми случаями, когда наблюдается явно избыточное число экспрессий. Известно, что у куриного эмбриона в составе ПСМ находится до 12 будущих сомитов или пресомитов и клетки, пока они перемещаются от каудальной к ростральной части ПСМ, испытывают 12 циклов экспрессии (Palmeirim et al., 1997; Pourquie, 2000; Hirsinger et al., 2000). В то же время у мыши в ПСМ может размещаться не более шести пресомитов (Tam, Bedington, 1986). По нашим данным, у рыб в состав ПСМ тоже может входить 12 пресомитов, но по мере завершения сомитогенеза число возможных пресомитов падает до двух-трех (Городилов, 2004). Поскольку у рыб подобные всплески циклической экспрессии тоже наблюдаются (Sawada et al., 2000), то очевидно, что проходимое клетками ПСМ число сомитных преобразований также будет падать от 12 до двух-трех; то же самое, вероятно, должно иметь место и у куриного эмбриона. Из этих данных можно сделать такой вывод: количество циклов экспрессии, видимо, не имеет отношения к процессу превращения пресомита в сомит. Скорее всего, достаточно всего одного цикла экспрессии мРНК, но произведенного в тот момент, когда подготовлены условия для ее использования. Остальные пульсации происходят из-за того, что гены, после того как клетки переходят в детерминированное состояние, открываются (деблокируются) и неизбежно реагируют на периодические осцилляции генератора сигналов времени.

Возможно, что периодическая экспрессия является одним из механизмов, которые гарантируют включение гена в работу *в нужное время и в нужном*

месте. В уже цитированной работе (Zakany et al., 2001) было показано, что мРНК генов *Hox* имеет очень короткое время полужизни, исчисляемое в минутах. Транскрипты, возникающие в результате периодических экспрессий, распадаются, пока нет необходимых условий для их включения, но в нужное время они стабилизируются за счет соединения с другими молекулярными продуктами и становятся доступными транскрипционной машине. Доказательства, которые помогут превратить предположения о циклическом характере работы любых систем зародыша в утверждения, по-видимому, будут получены в недалеком будущем.

Итак, временной фактор в эмбриогенезе животных является не просто одной из координат процесса формирования организма, но в паре с пространственными ориентирами он играет роль первичного фактора, производящего активный мониторинг процесса развития с помощью эндогенно генерируемых ритмических сигналов. Последние обеспечивают механизм измерения эмбрионального внутреннего времени и таким образом определяют порядок функционирования клеток и многоклеточных структур эмбриона.

В отличие от сформированных взрослых организмов, у которых время отсчитывается за счет внешних периодических астрофизических процессов и в этом смысле является единым для всех видов, время зародышевых организмов каждого вида отсчитывается за счет внутреннего видоспецифического периодического процесса неизвестной природы. После завершения эмбриогенеза индивидуумы постепенно переключаются на внешние универсальные ритмы, которые начинают управлять их жизнедеятельностью.

Перечислим основные выводы.

1. Время эмбрионального развития, по-видимому, не зависит от внешних периодических сигналов в отличие от организмов, которые находятся на постэмбриональных стадиях онтогенеза. Отсчет времени жизни эмбрионов происходит благодаря механизму внутренних периодических осцилляций неизвестной природы.

2. Многие специалисты ищут особые часы для каждого периода эмбриогенеза. Так, описаны часы, ответственные: за деления клеток в период дробления (Kirschner et al., 1985); за время перехода на стадию средней бластулы (Newport, Kirschner, 1982); за начало гастрюляции (Mita, 1983; Satoh, 1985); за сомитогенез (Cooke, Zeeman, 1976) и др. Автор статьи полагает, что у зародышей работают часы лишь одного типа, которые отсчитывают время с одинаковой периодичностью на протяжении всего эмбриогенеза. Материалы настоящей статьи подтверждают это мнение.

3. Предполагается, что любой процесс в эмбриогенезе совершается под контролем часового механизма и продолжительность всех событий и стадий

или их отдельных ступеней укладывается либо в один временной интервал τ , либо соотносится с последним как кратное число.

4. Согласно предложенной схеме управления эмбриогенезом (рис. 4), программы для разных дифференцировок и морфогенезов как бы фиксированы на циферблате часового механизма зародыша. Эта схема показывает, что многие процессы могут включаться/выключаться по одному сигналу одновременно и независимо друг от друга.

5. Если все процессы эмбриогенеза подчиняются внутренним зародышевым часам, можно предположить, что периодическая экспрессия генов с интервалом τ или кратным ему свойственна не только для генов, которые явно напрямую связаны с сомитогенезом (*c-hairy1*, *lunatic fringe* и др.), но и для генов, которые экспрессируются на стадиях, не имеющих отношения к сомитогенезу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Божкова В.П., Квавилашвили И.Ш., Ротм Н.Н., Чайлахян Л.М. Соотношение между периодами циклических изменений электрических характеристик мембран и фазами цито- и кариокинеза в дробящихся яйцах вьюна и аксолотля // Цитология. 1974. Т. 16. № 6. С. 709–716.
- Гойда Е.А., Ротм Н.Н., Санагурский Д.И. Изменение трансмембранного потенциала зародышей вьюна при действии колхицина // Онтогенез. 1981. Т. 12. № 6. С. 643–647.
- Городилов Ю.Н. Равномерный темп метамеризации осевого отдела у зародышей костистых рыб при постоянной температуре // Докл. АН СССР. 1980. Т. 251. № 2. С. 469–473.
- Городилов Ю.Н. Стадии эмбрионального развития атлантического лосося *Salmo salar* L. II. Описание и хронология // Сб. науч. трудов ГосНИОРХ. 1983. Вып. 200. С. 107–126.
- Городилов Ю.Н. Периодизация и хронология эмбрионально-личиночного развития некоторых видов пресноводных рыб. 1. Щука обыкновенная *Esox lucius* L. // Там же. 1985. Вып. 235. С. 31–49.
- Городилов Ю.Н. Сравнительный анализ динамики раннего онтогенеза лососей рода *Salmo* // Вопр. ихтиологии. 1988. Т. 28. № 2. С. 230–241.
- Городилов Ю.Н. Значение фактора времени в регуляции эмбрионального развития (на примере низших позвоночных) // Онтогенез. 1990. Т. 21. № 3. С. 319–330.
- Городилов Ю.Н. Периодизация и хронология развития окуня обыкновенного *Perca fluviatilis* L. // Там же. 1991. Т. 22. № 3. С. 282–290.
- Городилов Ю.Н. Анализ математической зависимости скорости эмбриогенеза от температуры у низших позвоночных // Журн. общ. биологии. 1992. Т. 53. № 1. С. 118–128.
- Городилов Ю.Н. Зародышевое и личиночное развитие атлантического лосося // Атлантический лосось / Под ред. Казакова Р.В. СПб.: Наука, 1998. С. 142–158.

- Городилов Ю.Н. Исследование временных и пространственных характеристик сомитогенеза у зародышей рыб // Онтогенез. 2004. Т. 35. № 2. С. 124–139.
- Городилов Ю.Н., Лильн И.Г. Продолжительность клеточных циклов и фаз митоза в период дробления у *Salmo salar* L. // Там же. 1978. Т. 9. № 4. С. 363–375.
- Городилов Ю.Н., Мельникова Е.Л. Описание эмбрионального развития европейской корюшки *Osmerus eperlanus* (L.) (невская популяция) // Биология моря. 2006. Т. 32. № 3. С. 204–216.
- Гудвин Б. Аналитическая физиология клеток и развивающихся организмов. М.: Мир, 1979. 287 с.
- Дабаян Н.В., Слепцова Л.А. Травяная лягушка *Rana temporaria* L. // Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 442–462.
- Детлаф Т.А. Динамика митоза первых делений дробления в яйцах осетра и форели // Журн. общ. биологии. 1962. Т. 23. № 6. С. 401–409.
- Детлаф Т.А., Детлаф А.А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии // Докл. АН СССР. 1960. Т. 134. № 1. С. 199–202.
- Доронин Ю.К., Голиченков В.А. Временной модуль онтогенеза. М.: Изд-во МГУ, 2006. 113 с.
- Игнатьева Г.М. Закономерности раннего эмбриогенеза лососевых рыб, выявляемые методом безразмерной характеристики продолжительности развития // Онтогенез. 1970. Т. 1. № 1. С. 29–41.
- Рэфф Р., Кофмен Т. Эмбрионы, гены и эволюция. М.: Мир, 1986. 402 с.
- Смирнов А.И. Биология, размножение и развитие тихоокеанских лососей. М.: Изд-во МГУ, 1975. 335 с.
- Смит М.Д. Проблема счета // На пути к теоретической биологии. М.: Наука, 1970. С. 116–119.
- Aulehla A., Johnson R.L. Dynamic expression of *Lunatic fringe* suggests a link between *Notch* signalling and an autonomous cellular oscillator driving somite segmentation // *Devel. Biol.* 1999. V. 207. P. 49–61.
- Burgess R., Rawls A., Brown D. et al. Requirement of the *paraxis* gene for somite formation and musculoskeletal patterning // *Nature*. 1996. V. 384. P. 570–573.
- Cooke J. Control of somite number during morphogenesis of a vertebrate, *Xenopus laevis* // *Ibid.* 1975. V. 254. P. 196–199.
- Cooke J. Somite abnormalities caused by short heat shock to preneurula stages of *Xenopus laevis* // *J. Embryol. Exp. Morphol.* 1978. V. 45. P. 283–294.
- Cooke J., Elsdale T. Somitogenesis in amphibian embryos. III. Effects of ambient temperature and developmental stage upon pattern abnormalities that follow short temperature shocks // *Ibid.* 1980. V. 58. P. 107–118.
- Cooke J., Zeeman J.C. A clock and wavefront model for control of the number of repeated structures during animal morphogenesis // *J. Theor. Biol.* 1976. V. 58. P. 455–476.
- Crisp D.T. A desk study of the relationship between temperature and hatching time for the eggs of five species of salmonid fishes // *Freshwater Biol.* 1981. V. 11. P. 361–368.
- Durbin L., Brennan C., Shiomi K. et al. *Eph* signaling is required for segmentation and differentiation of the somites // *Genes Devel.* 1998. V. 12. P. 3096–3109.
- Durbin L., Sordino P., Barrios A. et al. Anteroposterior patterning is required within segments for somite boundary formation in developing zebrafish // *Development*. 2000. V. 127. P. 1703–1713.
- Elsdale T., Davidson D. Timekeeping by frog embryos, in normal development and after heat shock // *Ibid.* 1987. V. 99. P. 41–49.
- Forsberg H., Crozet F., Brown N.A. Waves of mouse *Lunatic fringe* expression, in four hour cycles at two-hour intervals, precede somite boundary formation // *Curr. Biol.* 1998. V. 8. P. 1027–1030.
- Fujimoto T., Kataoka T., Sakao S. et al. Developmental stages and germ cell lineage of the loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) // *Zool. Sci.* 2006. V. 23. P. 977–989.
- Gorodilov Y.N. Rhythmic processes in lower vertebrate embryogenesis and their role for developmental control // *Ibid.* 1992. V. 9. P. 1101–1111.
- Gorodilov Y.N. The relation between the temperature and the duration of embryogenesis in vertebrates may be described by a logarithmic parabola of the second order // *Anim. Biol.* 1995. V. 4. P. 145–151.
- Gorodilov Y.N. Description of the early ontogeny of the Atlantic salmon, *Salmo salar*, with a novel system of interval (state) identification // *Environ. Biol. Fish.* 1996. V. 47. P. 109–127.
- Gorodilov Y., Terjesen B., Krasnov A., Takle H. Description of embryogenesis of Atlantic cod *Gadus morhua* // *Open Marine Biol. J.* 2008. V. 2. P. 43–53.
- Hara K., Tydeman P., Kirschner M.A. A cytoplasmic clock with the same period as the division cycle in *Xenopus* eggs // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1980. V. 77. P. 462–466.
- Hirsinger E., Jouve C., Dubrulle J., Pourquie O. Somite formation and patterning // *Int. Rev. Cytol.* 2000. V. 198. P. 1–65.
- Holley S.A., Jülich D., Rauch G.-J. et al. *her1* and the *notch* pathway function within the oscillator mechanism that regulates zebrafish somitogenesis // *Development*. 2002. V. 129. P. 1175–1183.
- Jiang Y.J., Aerne B.L., Smithers L. et al. *Notch* signalling and the synchronisation of the somite segmentation clock // *Nature*. 2000. V. 408. P. 475–479.
- Jouve C., Palmeirim I., Henrique D. et al. *Notch* signalling is required for cyclic expression of the hairy-like gene *HES1* in the presomitic mesoderm // *Development*. 2000. V. 127. P. 1421–1429.
- Kane D.A., Kimmel C.B. The zebrafish midblastula transition // *Ibid.* 1993. V. 119. P. 447–456.
- Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R. et al. Stages of embryonic development of the zebrafish // *Devel. Dyn.* 1995. V. 203. P. 253–310.
- Kirschner M., Newport J., Gerhart J. The timing of early developmental events in *Xenopus* // *Trends Genet.* 1985. V. 1. № 2. P. 41–47.
- McGrew M.J., Dale J.K., Fraboulet S., Pourquie O. The *lunatic fringe* gene is a target of the molecular clock linked to segmentation in avian embryos // *Curr. Biol.* 1998. V. 8. P. 979–982.
- Mita I. Studies on factors affecting the timing of early morphogenetic events during starfish embryogenesis // *J. Exp. Zool.* 1983. V. 225. P. 295–299.
- Mita I., Obata C. Timing of early morphogenetic events in tetraploid starfish embryos // *Ibid.* 1984. V. 229. P. 215–222.
- Mita I., Satoh N. Timing of gastrulation in fused double-embryos formed from eggs with different cleavage schedules in the starfish, *Asterina pectinifera* // *Ibid.* 1982. V. 223. P. 67–74.
- Morgan T.H. The formation of the antipolar lobe in *Ilyanassa* // *Ibid.* 1933. V. 64. P. 433–467.
- Morgan T.H. The rhythmic changes in form of the isolated antipolar lobe of *Ilyanassa* // *Biol. Bull.* 1935. V. 68. P. 296–299.
- Newport J., Kirschner M. A major developmental transition in early *Xenopus* embryos. I. Characterization and timing of

- cellular changes and the midblastula stage // *Cell*. 1982. V. 30. P. 675–686.
- Palmeirim I., Henrique D., Ish-Horowicz D., Pourquie O. Avian hairy gene expression identifies a molecular clock linked to vertebrate segmentation and somitogenesis // *Ibid*. 1997. V. 91. P. 639–648.
- Pascoal S., Carvalho C.R., Rodriguez-Leon J. et al. A molecular clock operates during chick autopod proximal-distal outgrowth // *J. Mol. Biol.* 2007. V. 368. P. 303–309.
- Pourquie O. Segmentation of the paraxial mesoderm and vertebrate somitogenesis // *Curr. Top. Devel. Biol.* 2000. V. 47. P. 81–105.
- Sakai M., Kubota H.Y. Cyclic surface changes in the non-nucleate egg fragments of *Xenopus laevis* // *Devel. Growth Diff.* 1981. V. 23. № 1. P. 41–50.
- Sakai M., Shinagawa A. Cyclic cytoplasmic activity of non-nucleate egg fragments of *Xenopus* controls the morphology of injected sperms // *J. Cell. Sci.* 1983. V. 63. P. 69–76.
- Satoh N. Timing mechanisms in early embryonic development // *Differentiation*. 1982. V. 22. № 3. P. 156–163.
- Satoh N. Recent advances in our understanding of the temporal control of early embryonic development in amphibians // *J. Embriol. Exp. Morphol.* 1985. V. 89. Suppl. P. 257–270.
- Satoh N., Ikegami S. A definite number of aphidicolin-sensitive cell-cyclic events are required for acetylcholinesterase development in the presumptive muscle cells of ascidian embryos // *Ibid*. 1981. V. 61. P. 1–13.
- Sawada A., Fritz A., Jiang Y. et al. Zebrafish *Mesp* family genes, *mesp-a* and *mesp-b* are segmentally expressed in the presomitic mesoderm, and *Mesp-b* confers the anterior identity to the developing somites // *Development*. 2000. V. 127. P. 1691–1702.
- Stickney H.L., Barresi M.J.F., Devoto S.H. Somite development in zebrafish // *Devel. Dyn.* 2000. V. 219. P. 287–303.
- Symes K., Smith J. Gastrulation movements provide an early marker of mesoderm induction in *Xenopus laevis* // *Development*. 1987. V. 101. P. 339–349.
- Tam P.P.L., Beddington R.S.P. The metameric organization of the presomitic mesoderm and somite specification in the mouse embryo // *Somites in developing embryos* / Eds. Bellairs R. et al. N.Y.; L.: Plenum Press, 1986. P. 17–36.
- Whittaker J.R. Segregation during ascidian embryogenesis of egg cytoplasmic information for tissue-specific enzyme development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1973. V. 70. P. 2096–2100.
- Yoneda M., Ikeda M., Washitani S. Periodic change in the tension at the surface of activated non-nucleate fragments of sea-urchin eggs // *Devel. Growth Diff.* 1978. V. 20. P. 329–336.
- Zakany J., Kmita M., Alarcon P. et al. Localized and transient transcription of *Hox* genes and the segmentation clock // *Cell*. 2001. V. 106. P. 207–217.

The Biological Clock in Vertebrate Embryogenesis as a Mechanism of General Control over the Developmental Organism

Yu. N. Gorodilov[†]

St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

e-mail: Y.Gorodilov@pobox.spbu.ru

Abstract—The problem of understanding the role of the time factor in embryogenesis is still at the conceptual stage. At the same time, a number of rhythmic processes described in the embryogenesis of animals point to the involvement of a biological clock in this period of ontogenesis. Most of them (biochemical, biophysical, cytological) have been identified during the process of cleavage and have a duration equal to that of a single cleavage division τ_0 .

The current paper considers mainly the development of salmon fish embryos, which, in comparison with the widely used models (*Danio rerio*, *Oryzias latipes*), have some extra advantages: they are about twice as big at similar stages and develop 30–40 times slower. The most pronounced and rhythmical process in vertebrates is somitogenesis. The work presents a series of fundamental facts in relation to the temporal and spatial aspects of somitogenesis: 1) the formation of each new somite occurs within a constant time τ_S ; 2) this time is controlled to a high degree of accuracy; 3) the size of new somites (l_S) along the anterioposterior axis is constant; 4) the temporal factor, in contrast to the spatial, plays the primary role during morphogenesis of somites. The rhythms τ_0 and τ_S in different species are equal or are multiples of each other, an indication of their common origin. A high degree of synchronism in embryo development from the start of cleavage to the end of somitogenesis is revealed. This proves the existence of constant temporal control of their development during most of the period of embryogenesis. It is proposed that the endogenic rhythms under discussion are responsible for the coordination and integration of multilevel processes in embryogenesis, compensating for the lack of a formed nervous system during this period.

Key words: embryogenesis, rhythmic processes, biological clocks, cleavage, somitogenesis, synchronism, Siamese twins, integrating value of rhythms.