

*Комарова И. П., Жукова М. И., Смирнова М. В.*

## **ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОГЕНЕЗА СКЕЛЕТА КОНЕЧНОСТЕЙ АМФИБИЙ В НОРМЕ И СРЕДЕ С ИЗБЫТКОМ ГОРМОНА**

*Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова, Россия*

Преимущество исследования эмбрионального развития земноводных по сравнению с другими позвоночными состоит в том, что есть возможность анализа развития не только путем изучения постоянных эмбриологических препаратов, но и визуально — в лаборатории, при постадийном исследовании на витальном материале. Можно проводить оценку влияния различных тератогенных факторов на закладку органов и систем, отслеживать эмбриональное развитие животных, сформированность структур у взрослой особи и возможного потомства.

Цель работы: изучить эмбриогенез передних и задних конечностей лягушки травяной *Rana temporaria* в норме и эксперименте с тиреоидным гормоном.

**Материал и методы.** Изучено 413 личинок лягушки на разных стадиях развития (от 35-й до 54-й), охватывающих основной органогенез конечностей. Личинки были разложены на серии сагиттальных гистологических срезов, дополнительно проведено окрашивание ализариновым красным и альциановым синим для детализации процессов хондрогенеза и оссификации. Развитие конечностей является важным показателем стадии формирования не только скелета, но и других внутренних органов. Передние и задние конечности начинают прорываться из боковых складок тела на 39-й стадии и формируются полностью к 54-й стадии, с 36 по 54-ю стадию скелет личинки лягушки травяной последовательно проходит стадии развития: мезенхимная — 36–38-я, молодого и зрелого хряща — 40–44-я, оссификации — 47–54-я стадии. Оссификация конечностей начинается с диафизов костей.

В норме (контролем служили особи, взятые в тех же загородных прудах и выращиваемые параллельно в лаборатории в природной воде) с 44-й стадии на гистологических срезах передней и задней конечности обнаруживаются участки с зеленым окрашиванием, гистохимически свидетельствующие о начале хондрогенеза. Такую окраску имеют третий, четвертый и пятый пальцы, закладки плеча, предплечья, голени и бедра. На 45-й стадии наблюдается формирование мо-

лодного хряща во всех элементах конечностей. Для 46-й стадии в норме характерно оформление хрящевых зачатков костей плеча, локтя, голени и бедра, к 48–50-й — появляются очаги оссификации.

Одновременно изучались особенности развития конечности в среде с тиреоидным гормоном (эутирокс в дозе 0,06–24 мкг/л добавлялся в сроки от 2 до 20 суток развития). Он способен управлять развитием особей в популяции. Так, при высокой плотности организмов концентрация гормонов увеличивается за счет выделения их в среду особями, которые первыми прошли метаморфоз. Они на этот момент опережают большинство собратьев в развитии скелета, имеют более крупные размеры и, выделяя дополнительно гормоны, тормозят развитие других членов популяции. Тиреоидные гормоны ускоряют синтез белка, обмен веществ, увеличивают скелетное вытяжение, при этом общий размер личинки не увеличивается, растут передние и задние конечности, что позволяет молодым особям не быть съеденными старшими. При этом замедляется качественное развитие — останавливается (затормаживается) гистогенез, замещение хрящевой ткани костной.

При помещении в среду с эутироксом разной концентрации (0,063–6,3 мкг/л, 12 мкг/л, 24 мкг/л) головастиков на 2–5 сутки изменений в развитии не наблюдается, на седьмые сутки после выклева (35–38-я стадии) наблюдалось замедление роста туловища при сохранении темпа развития и роста конечностей, отсутствие элиминации хвоста, на 48 стадии замечено отставание в передней конечности гистогенеза хряща. Фаланги 1-го и 2-го пальцев представлены хондрифицирующейся закладкой. Третья и четвёртая пястные кости состоят из молодого хряща. В экспериментальном варианте не наблюдается процессов оссификации. Даже на 52 стадии когда интактные особи оссифицированы (диафизы плечевой и лучелоктевой костей, ключица, надлопатка), экспериментальные особи остаются на стадии зрелого хряща.

Те же изменения прослеживаются в задней конечности, уменьшаются размеры костей предплюсны, плюсны и фаланг пальцев, часть костей этого ряда отсутствует. Количество фаланг на пальцах уменьшается до двух. Дифференциальное окрашивание позволяет определить не только изменения размерных показателей, но и структурные изменения в опорно-двигательном аппарате. На поздних стадиях развития у личинок лягушки, выращенных в среде с повышенным содержанием тиреоидного гормона, отсутствуют процессы окостенения элементов скелета конечностей. Вне зависимости от концентрации и, несмотря на прохождение полного метаморфоза у всех особей, достигших 52 стадий развития, процессы оссификации не наступают. Кроме того, гормон нарушает формирование структур, дифференцировка которых в норме происходит позднее всех остальных элементов — кости плюсны и фаланги пальцев.

Добавление в среду гормона (0,063–25 мкг/л) в разные сроки (2–20 день после выклева) нарушает скорость метаморфоза. Ускорение процесса происходит только при обитании в лабораторном водоеме с дозами 6,3–25 мкг/л. Головастики проявляют наибольшую чувствительность к гормону в концентрации 6,3 мкг/л на 6-й день после выклева. В среде с гормоном (6,3–25 мкг/л) нарушения метаморфоза связаны с отсутствием элиминации хвоста и десинхронизмом развития

передних и задних конечностей в 3–4 стадии. Гормон оказывает и тератогенное действие на развитие опорно-двигательного аппарата лягушки травяной, выражающееся в отсутствии закладок элементов скелета (уростиль, фаланги пальцев), торможении гистогенеза и сохранению «эмбриональных признаков» на поздних стадиях развития (рис.).

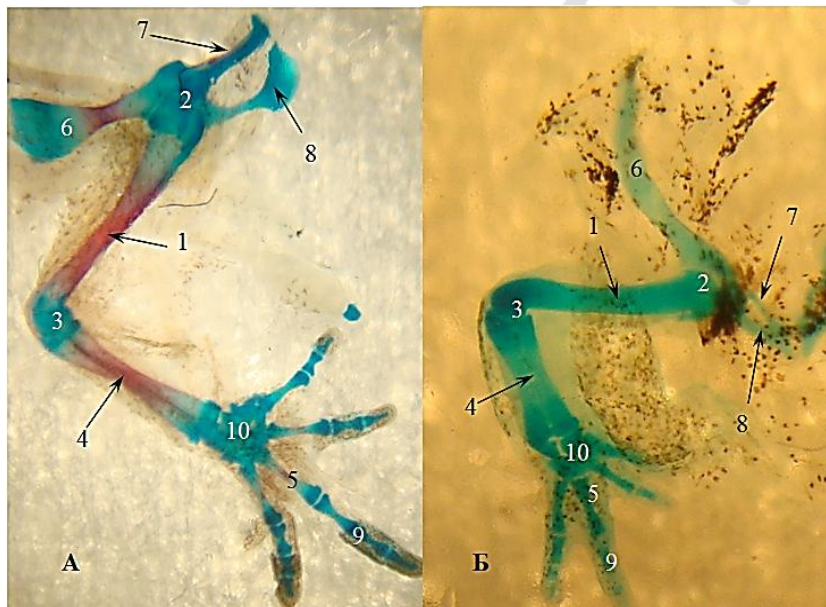


Рис. Передняя конечность в норме (А) и эксперименте с тироксином (Б), 52 стадия: 1 — плечевая кость; 2 — плечевой сустав; 3 — локтевой сустав; 4 — лучевая и локтевая кости; 5 — пястные кости; 6 — лопатка и надлопатка; 7 — ключица; 8 — врановая кость; 9 — фаланги пальцев; 10 — запястные кости

При помещении в среду с гормоном разной концентрации головастиков на двенадцатые сутки после выклева (38–40-я стадии) наблюдается замедление роста только туловища при дальнейшем развитии и росте конечностей, отсутствует элиминация хвоста. Наблюдается десинхрония в 2–3 стадии в развитии передних конечностей и головы головастика.

При действии разных концентраций гормона на головастиков двадцатого дня после выклева (41–43-я стадии) резких изменений в форме тела и прохождении метаморфоза не наблюдалось. К концу эксперимента ни одна особь не прошла полный метаморфоз, развитие завершилось на 53-й стадии (двадцать седьмой день после выклева, семь дней экспозиции).

Дифференциальное окрашивание позволило выявить степень сформированности и наличие оссификации в норме и эксперименте. Известно, что естественно низкий или искусственно пониженный уровень тиреоидных гормонов у бесхвостых амфибий не препятствует дифференцировке конечностей, не блокирует их дальнейший рост, но нормальное формирование дефинитивных конечностей требует непременно участия тиреоидных гормонов [2, 3].

Таким образом, наличие торможения в развитии тканей головастика, при общем ускорении метаморфоза, подтверждает данные [1, 2] о задержке организма на стадии личиночного онтогенеза и гетерохронии при воздействии негативных факторов среды.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Северцова, Е. А.* Механизмы адаптационной регуляции эмбриогенеза бесхвостых амфибий, обитающих в условиях антропогенного загрязнения водоемов / Е. А. Северцова, А. С. Северцов // Ж. общей биологии. 2007. Т. 68, № 5. С. 323–331.
2. *Смирнов, С. В.* Метаморфоз хвостатых амфибий : особенности, механизм регуляции и эволюции / С. В. Смирнов // Ж. общей биологии. 2006. Т. 67, № 5. С. 323–334.
3. *Смирнов, С. В.* Прямое развитие у хвостатых амфибий, его становление и эволюция / С. В. Смирнов // Ж. общей биологии. 2008. Т. 69.

*Komarova I. P., Zhukova M. I., Smirnova M. V.*

### **Features of embriogenesis of amphibians' limbs in norm and experiment**

*P. G. Demidov Yaroslavl State University, Russia*

Embryogenesis of amphibian limbs in norm was studied. Experimental effects of hormones on the development were considered. Thyroid hormones delay metamorphosis when are intruded on the 7th day of development, accelerate it when are intruded on the 12-th day leading to anomalies in development.

**Key words:** embryogenesis, a limb, hormones and heavy metals, development, embryotoxicity, histogenesis, metamorphosis, anomalies in development.