

## **ЭМБРИОГЕНЕЗ КОНЕЧНОСТЕЙ И ИХ ПОЯСОВ ЛЯГУШКИ ТРАВЯНОЙ В НОРМЕ И ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ТИРЕОИДНЫМ ГОРМОНОМ**

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

Лягушка травяная (*Rana temporaria*, Anura, Amphibia) — объект, который на протяжении многих лет используется в различных областях биологии. Прежде всего, это связано с относительной простотой содержания и неприхотливостью животных. Помимо этого лягушка может быть прекрасным объектом для наблюдения за формированием, развитием и закладкой различных систем, что связано с уникальным циклом развития земноводных. Преимущество исследования эмбрионального развития земноводных по сравнению с другими позвоночными (млекопитающими, птицами) в том, что есть возможность исследовать развитие не только путем изучения постоянных эмбриологических препаратов, но и непосредственно визуально оценивать особенности развития. Также следует отметить то, что в эмбриогенезе травяной лягушки существует четко сформированная система постадийного развития ротового и опорно-двигательного аппарата. Отклонения от этой системы является наиболее наглядным проявлением влияния различных тератогенов на эмбриогенез амфибии.

Развитие пояса и конечностей является важным показателем стадии формирования не только скелета, но и других внутренних органов.

**Целью** работы было изучение эмбриогенеза поясов и свободных конечностей лягушки травяной *Rana temporaria* в норме и эксперименте с тиреоидным гормоном.

**Задачи:**

1. Определить стадии развития головастика по строению рта и конечностей. Проанализировать развитие головастика лягушки травяной на разных стадиях развития.
2. Изучить эмбриогенез пояса и свободных конечностей головастика в норме.
3. Проанализировать развитие головастика лягушки в эксперименте с тиреоидным гормоном.

Сбор материала проводился на территории поселка Цибирино Ярославской области в естественном водоеме (озере). Выклев и развитие головастика происходили в лабораторных условиях. Время экспозиции — 19–27 суток. Исследования проводились методом лабораторной обработки.

Была проведена серия опытов по исследованию влияния различных концентраций тиреоидного гормона (25, 12,5, 8,3, 6,3, 4,2 мкг/л) на развитие головастика травяной лягушки (*Rana temporaria*). Также исследовалось влияние вре-

мени постановки эксперимента (7, 12, 15, 20-й день после выклева) и времени экспозиции объектов в токсикантах разной концентрации. В качестве источника тиреоидного гормона был выбран препарат эутирокс.

Приготовление срезов производилось стандартным методом с фиксацией в парафине. Затем срезы окрашивались гематоксилин-эозином. Освобождённые от мягких тканей кости конечностей и поясов окрашивались альциановым синим и ализариновым красным. Препараты микроскопировали и фотографировали.

#### **Результаты и обсуждение**

По морфологическим признакам все концентрации тиреоидного гормона при одинаковом времени начала воздействия оказывали сходное действие.

В норме полный метаморфоз происходит спустя 70 суток от оплодотворения. При помещении в гормон разной концентрации головастики на 7 и 12-й день после выклева зафиксировано резкое увеличение скорости метаморфоза (диагностировалось по времени достижения 53 стадии) в 2,5 раза (по литературным данным и показателям нормы для достижения 53 стадий необходимо 65 суток, в эксперименте с добавлением гормона на 12-е сутки после выклева потребовалось 27 дней). При этом различия в концентрации гормона в диапазоне 4,2–25 мкг/л существенной роли не сыграли.

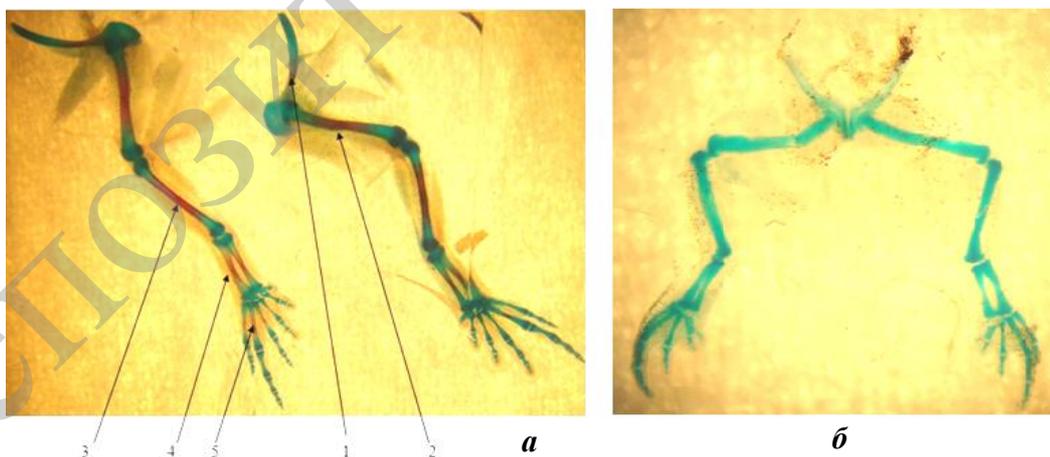
В опыте с гормоном показано, что при сильном повышении концентрации тиреоидных гормонов в среде формирование костных структур скелета передних конечностей и их пояса не происходит, замедляется созревание хрящевой ткани относительно нормы (рис. 1). Но это не мешает дифференцировке передних конечностей и увеличению их относительной длины, при этом все элементы скелета остаются в состоянии зрелого хряща к моменту метаморфоза. Головастики в норме к 52 стадии имеют полностью сформированный костный скелет, что отчётливо видно при окраске альциановым и ализариновым красителем (рис. 1, А).

Относительная длина задних конечностей (по отношению к длине тела) в опытных вариантах достоверно больше, чем в норме, что свидетельствует о вытяжении задних конечностей при замедлении роста тела. На вытяжение конечностей также влияет время начала действия тиреоидного гормона: чем меньше стадия, тем сильнее тормозится рост тела при дальнейшем увеличении задних конечностей.



*Рис. 1.* 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

Помимо изменений размерных показателей, гормон вносит структурные изменения в опорно-двигательный аппарат. Вне зависимости от концентрации и, несмотря на прохождение полного метаморфоза у всех особей, достигших 49–52 стадий развития, процессы оссификации не наблюдаются. К 52 стадии развития в норме процесс оссификации охватывает уже диафизарные части костей конечностей. У экспериментальной особи аналогичной стадии развития не наблюдается ни одного центра оссификации, весь скелет пояса и свободных задних конечностей находится на стадии зрелого хряща (рис. 2).



*Рис. 2.* Пояс и свободные задние конечности личинки 52 стадии в норме (а) и в среде с тиреоидным гормоном 8,3 мкг/л (б):

1 — центр оссификации подвздошной кости; 2 — центр оссификации бедренной кости; 3 — центр оссификации берцовой кости; 4 — проксимальный ряд предплюсны; 5 — 3 кости плюсны

Отмечается неправильная закладка частей скелета предплюсны, плюсны и фаланг пальцев. В отличие от нормы кости предплюсны меньше. Четвертая и пя-

тая кости плюсны не дифференцируются между собой. Количество фаланг на пальцах уменьшено на 1 (рис. 3).

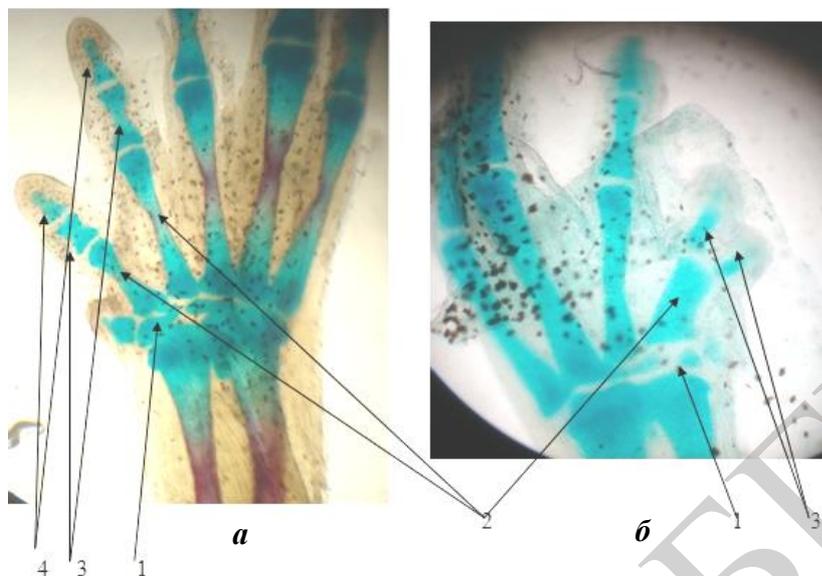


Рис. 3. Кисть личинки 52 стадии в норме (а) и в среде с тиреоидным гормоном 8,3 мкг/л (б): 1 — кости предплюсны; 2 — 4 и 5 кости плюсны; 3 — 1 фаланги 4 и 5 пальца стопы; 4 — 2 фаланга 4 и 5 пальцев стопы

### Выводы:

1. Эффект воздействия тироксина зависит от стадии развития головастика на момент его воздействия.
2. Воздействие гормона на 40-й стадии развития увеличивает скорость метаморфоза в 2,5 раза по сравнению с нормой.
3. Добавление в среду тироксина на 35–43 стадии развития приводит к торможению процесса оссификации даже на поздних стадиях и элиминации хвоста к моменту метаморфоза.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Балева, Н. В. Грудной пояс амфибий / Н. В. Балева. СПб. : Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2009. 151 с.
2. Астауров, Б. Л. Объекты биологии развития / Б. Л. Астауров, Т. А. Детлаф. М. : Наука, 1975. 579 с.
3. Вершинин, В. Л. Морфологические аномалии амфибий городской черты / В. Л. Вершинин // Экологи. 1989. № 3. С. 58–66.