

КОНДАКОВА Екатерина Александровна

СРАВНИТЕЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕЛТОЧНОГО
СИНЦИТИАЛЬНОГО СЛОЯ В РАЗВИТИИ КОСТИСТЫХ РЫБ

03.03.05 – биология развития, эмбриология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург
2018

Работа выполнена на кафедре эмбриологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

Научный руководитель:

Ефремов Владимир Иванович
кандидат биологических наук,
доцент ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,
г. Санкт-Петербург

Официальные оппоненты:

Воскобойникова Ольга Степановна
доктор биологических наук
главный научный сотрудник лаборатории ихтиологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Зоологический институт Российской академии наук
г. Санкт-Петербург

Ивашкин Евгений Геннадьевич
кандидат биологических наук
старший научный сотрудник лаборатории нейробиологии развития
Федерального государственного учреждения науки
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук
г. Москва

Ведущая организация:

ФГБУН Институт цитологии РАН
г. Санкт-Петербург

Защита состоится «17» мая 2018 г. в 14.00 на заседании Диссертационного совета Д212.232.12 по защите докторских и кандидатских диссертаций на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» по адресу: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, ауд. 3011 (90).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. А.М. Горького Санкт-Петербургского государственного университета по адресу: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9 и на сайте Санкт-Петербургского государственного университета по адресу: <https://disser.spbu.ru/disser/soiskatelyu-uchjonoj-stepeni/dis-list/details/14/1593.html>

Автореферат разослан «___» _____ 2018 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета Д212.232.12
кандидат биологических наук

С.А. Галкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Желточный синцитиальный слой (ЖСС) - это провизорное многофункциональное образование, характерное для животных с меробластическим типом дробления и развития в целом (Иванова-Казас, 1995; Long, Ballard, 2001; Godard et al, 2014). ЖСС представляет собой симпласт с многочисленными ядрами различных форм и уровней ploидности, расположенный в виде слоя на периферии желточной сферы, которая, по завершении эпиболии, входит в состав желточного мешка (ЖМ). В развитии костистых рыб ЖСС выполняет трофическую, морфогенетическую и иммунную функции (Carvalho, Heisenberg, 2010, Kondakova et al., 2016). Некоторые авторы определяют ЖСС как внезародышевую энтодерму (Cooper, Virta, 2007).

Костистые рыбы являются многочисленной и наиболее разнообразной группой позвоночных животных. Одной из предпосылок этого эволюционного успеха является пластичность структуры обособленножелтковых яиц, обуславливающая меробластический тип развития (Соин, 1981; Иванова-Казас, 1995; Broughton et al., 2013; Glasauer, Neuhauss, 2014). Таким образом, возникновение ЖСС, вероятно, является одним из условий расцвета костистых рыб. Данные литературы свидетельствуют, что в организации ЖСС у различных видов существуют вариации. В связи с этим возникает вопрос о консерватизме или разнообразии организации ЖСС у костистых рыб, принадлежащих к разным систематическим группам и обитающим в различных условиях.

Симпластическая организация провизорных систем широко распространена в различных таксонах Metazoa (Иванова-Казас, 1995). На примере ЖСС костистых рыб можно рассматривать явления, характерные для многоядерных клеточных структур, например, регионализацию. Эти вопросы связаны с общебиологической проблемой разнообразия провизорных структур.

Исследование морфологии ЖСС у представителей различных видов костистых рыб является необходимым звеном изучения их онтогенетического разнообразия и может оказаться полезным для дальнейших прикладных исследований и разработок в области аквакультуры. Изучение специфики организации ЖСС модельных (*Danio rerio*, *Misgurnus fossilis*, *Gasterosteus aculeatus*) и экономически значимых костистых рыб (*Cyprinus carpio*, *Coregonus peled*, *Coregonus muksun*, *Coregonus nasus*, *Stenodus leucichthys nelma*) необходимо для лучшего понимания их физиологии и процессов развития.

Объекты, на которых было выполнено настоящее исследование, принадлежат к двум из четырех основных эволюционных линий Teleostei (Betancur-R. et al., 2013, 2014). Они характеризуются различным составом и консистенцией желтка яиц, особенностями анатомии личинок. Кроме того, следует учитывать различные природные условия их развития. Исследованные карпообразные – это представители видов с полиплазматическими яйцеклетками, желток которых состоит из пластинок. Для сиговых и трехиглой колюшки, напротив, характерны крупные яйцеклетки с жидким желтком и жировыми каплями.

Степень разработанности темы исследования. Большинство современных исследований ЖСС посвящено молекулярно-генетическим основам его функционирования у немногочисленных модельных объектов. При этом морфология этих модельных объектов, включая морфологию ЖСС, остается недостаточно изученной. Несмотря на крайне важную роль ЖСС в развитии костистых рыб, число работ, посвященных изучению строения ЖСС невелико, и они были выполнены главным образом на зародышах и личинках видов, имеющих рыбохозяйственное значение.

Цель работы: сравнительное исследование организации ЖСС в эмбриогенезе и в личиночном периоде костистых рыб.

Задачи работы:

1. Морфологическое исследование ЖСС *D. rerio*, *M. fossilis*, *C. muksun* от ранних эмбриональных до личиночных стадий, *G. aculeatus* на поздних эмбриональных и личиночных стадиях, а также *C. carpio*, *C. peled*, *C. nasus* и *S. leucichthys nelma* в личиночном периоде.

2. Характеристика морфологических признаков ядер ЖСС у представителей названных видов.
3. Выявление общих и специфических черт организации ЖСС в развитии представителей перечисленных видов.
4. Установление возможной связи между особенностями организации ЖСС, структурой желтка, анатомией зародышей и личинок, систематическим положением вида и условиями развития.

Научная новизна. В настоящей работе впервые на гистологическом уровне охарактеризована структура ЖСС в развитии одного представителя отряда Perciformes (Euteleosteiomorpha), четырёх представителей отряда Salmoniformes (Euteleosteiomorpha) и трех представителей отряда Cypriniformes (Otomorpha), два из которых относятся к семейству Cyprinidae, и один – к Cobitidae. Также впервые была описана ультраструктура ЖСС данио-рерио. Нами впервые выполнено сопоставление структуры ЖСС как у родственных, так и филогенетически отдаленных видов со стадии гастролы и кончая личиночными стадиями. При этом ЖСС зародышей начиная с ранних стадий сравнивается у 3 видов, личинок - у 8 видов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты диссертационного исследования вносят вклад в представления о морфофункциональной организации ЖСС Teleostei, в первую очередь модельных и экономически значимых объектов, и способствуют лучшему пониманию как организации провизорных систем, многие из которых имеют синцитиальную структуру и/или полиплоидные ядра, так и онтогенетического разнообразия Teleostei. Результаты данной работы имеют не только теоретическое значение для биологии развития, но и могут служить основанием для дальнейших прикладных исследований, которые, в свою очередь, могут использоваться при разработке биологических основ разведения костистых рыб в аквакультуре. Полученные результаты исследования ЖСС костистых рыб окажутся полезными для моделирования процессов, совершающихся в других синцитиальных провизорных структурах, например, в синцитиотрофобласте млекопитающих. Опубликованные данные работы могут быть использованы в материалах курсов по биологии развития, сравнительной эмбриологии, ихтиологии, гистологии и цитологии.

Материалы и методы исследования. Было выполнено исследование структуры ЖСС в развитии представителей названных восьми видов. Особое внимание уделено ЖСС в личиночный период. В исследовании использованы методы трансмиссионной электронной микроскопии и гистологические методы. Статистическая обработка количественных данных выполнена с использованием стандартных методов компьютерной техники.

Положения, выносимые на защиту.

1. Для ЖСС характерна структурная регионализация вдоль анимально-вегетативной, дорсо-вентральной и переднезадней осей. Она проявляется в том числе в различиях по концентрации желточных включений и особенностях органелл в разных участках ЖСС.

2. Ядра ЖСС многообразны по размерам и форме. Величина и сложность формы ядер возрастают на стадиях бластулы и гастролы.

3. Несмотря на фундаментальное единство в организации ЖСС как симпласта с полиморфными полиплоидными ядрами, расположенного на периферии желточного комплекса, вариации его строения имеются у филогенетически близких видов.

4. Наиболее сложная, дифференцированная и динамичная структура ЖСС характерна для групп, имеющих в составе желточного комплекса жировые капли, в первую очередь Coregonidae.

Личный вклад автора

Все процедуры, за исключением содержания карпа, вьюна и сиговых, а также получения и фиксации материала по развитию вьюна, сиговых и трехиглой колюшки, были выполнены автором самостоятельно. Материалы, вошедшие в совместные публикации, подробно обсуждались с соавторами и руководителем работы к.б.н. В.И. Ефремовым.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность полученных результатов подтверждается значительным количеством исследованных образцов, повторностью результатов и использованием классических методов

морфологических исследований. По теме диссертации опубликовано 21 печатная работа, из них 3 статьи, 1 – статья-материалы конференции, опубликованные в рецензируемых журналах. Основные положения работы докладывались и обсуждались на II Всероссийской конференции с международным участием к 105-летию со дня рождения академика А.В. Иванова (Санкт-Петербург, 2011), Всероссийской конференции с международным участием «Эмбриональное развитие, морфогенез и эволюция» (Санкт-Петербург, 2013), III, IV и V Конференции молодых ученых Института цитологии РАН (Санкт-Петербург, 2012, 2014 и 2016), международной конференции «Heart of Europe: Zebrafish Meeting» (Варшава, 2014), конференции «Современные решения для исследования природных, синтетических и биологических материалов» (Санкт-Петербург, 2014); конференции «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: устойчивость и вариабельность» (Москва, 2015), международной конференции «EMBO Workshop Embryonic-Extraembryonic Interfaces: Emphasis on Molecular Control of Embryonic Development in Amniotes» (Гёттинген, 2015), конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2016 г.), I Студенческой Научной сессии УНБ "Беломорская" СПбГУ (Санкт-Петербург, 2017 г.), международной конференции «Лососевые рыбы. Биология, охрана и воспроизводство» (Петрозаводск, 2017 г.), международной конференции «Современные проблемы биологической эволюции» (Москва, 2017 г.), конференции «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: онтогенез и формирование биологического разнообразия» (Москва, 2017 г.). Данные этой работы вошли в лекцию, прочитанную на Школе для молодых специалистов и студентов с международным участием «Современные проблемы эволюционной морфологии животных» (Санкт-Петербург, 2016 г.) Также результаты работы были опубликованы в сборнике тезисов Санкт-Петербургской Ассамблеи молодых ученых и специалистов (Санкт-Петербург, 2014 г.) и сборнике материалов совещания «Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2016 г.).

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на 137 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 363 источника. Работа иллюстрирована 41 рисунком и 3 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы.

В этой главе изложена история исследования ЖСС костистых рыб, охарактеризованы образование ЖСС в онтогенезе, особенности ядер, его структура и функции. Проанализирован вопрос об эволюционном происхождении ЖСС. Рассмотрены аналоги ЖСС костистых рыб, разнообразие и общие характеристики ассимилирующих желток систем.

Материалы и методы

Работа проводилась, главным образом, на кафедре Эмбриологии Биологического факультета СПбГУ, однако некоторые её этапы были выполнены в лаборатории Онтогенеза, Лаборатории Ихтиологии кафедры Ихтиологии и Гидробиологии Биологического факультета СПбГУ, в ресурсных центрах СПбГУ «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий» (РМиКТ).

Получение материала

Danio rerio. Зародыши и личинки развивались при температуре 28,5°C. Гистологическими методами было изучено 20 стадий эмбрионального развития (Kimmel et al., 1995) и личинки в возрасте 3-8 дней после оплодотворения (n=290). Для исследования ультраструктуры ЖСС фиксировали личинок данио-рерио в возрасте 3-6 суток п/о (n=6).

Suprinus carpio koi. Развитие икры и личинок шло при температуре 23-26°C. Личинок фиксировали в возрасте 4-6 суток после оплодотворения один-два раза в сутки (n=26).

Misgurnus fossilis. Икра обыкновенного вьюна была получена и зафиксирована И.В. Неклюдовой и сотрудниками на кафедре Эмбриологии Биологического факультета МГУ. Зародыши развивались при температуре 19-20° С. Материал фиксировали на 13 последовательных стадиях эмбрионального и личиночного развития (Костомарова, 1975), (n=94).

Coregonus peled, *Coregonus muksun*, *Coregonus nasus* и *Stenodus leucichthys nelma*. Зародыши и личинки сиговых рыб были получены в рыбоводном хозяйстве на озере Суходольском (Ленинградская область). Был использован материал из трех партий икры. Инкубацию проводили в аппаратах Вейса. В 2015 году температура инкубации составляла от 0,7 до 2,8 °С. В 2013 и 2016 году основной период инкубации проходил при температуре 0,2 °С. В 2014 году личинок муксуна (n=10), чира (n=12) и нельмы (n=14) фиксировали дважды с интервалом в 10 суток. Личинки пеляди (n=14) были зафиксированы в день вылупления и 8 суток спустя. В 2015-16 годах были получены зародыши (n=12) и личинки (n=2) муксуна.

Gasterosteus aculeatus. Икра трехиглой колюшки была собрана В.В. Козиным в окрестностях МБС СПбГУ в конце июня, начале июля 2015 г. Икра и личинки развивались при температуре 10-18 °С. Фиксировали поздних зародышей (со стадии 22 (Swarup, 1958)) и личинок (n = 12).

Гистологическое исследование

Материал фиксировали в жидкостях Буэна или Бродского (личинки сиговых), обезвоживали и заливали в парапласт (Paraplast) по стандартной схеме. Серийные срезы толщиной 5-7 μm получали при помощи санных микротомов. Срезы окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну или гематоксилином Караччи с докраской эритрозинем или эозином. Препараты фотографировали в РЦ “Хромас” СПбГУ посредством микроскопа Leica DMPXA, оснащенного цифровой камерой Leica DC 500, либо в РЦ РМиКТ с помощью микроскопа Leica DMI6000, либо использовали микроскоп LeicaDM2500, оснащенный цифровой камерой Nikon DS-Fi1. Для обработки изображений применяли программу Adobe Photoshop 7.0.

Трансмиссионная электронная микроскопия

Было использовано две схемы фиксации раствором глутарового альдегида. Для постфиксации использовали 1% раствор OsO₄. Пришли к заключению, что фиксация 2-2,5% глутаровым альдегидом при температуре 4°С предпочтительней (Кондакова, Ефремов, 2014). Материал дегидратировали и заливали в эпон-аралдит. Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим или метиленовым синим. Ультратонкие (70-80 нм) срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Ультратонкие срезы изучали и фотографировали с помощью электронных микроскопов JEOL JEM 1400 и JEOL JEM 2100.

Морфометрия

Сагитальные и парасагитальные срезы фотографировали при помощи микроскопов Leica DMI6000 и Leica DM4000 в РЦ РМиКТ СПбГУ. Для измерений использовали программы Leica LAS Core и Fiji (Schindelin et al., 2012). Диаметр или длину ядер ЖСС и диплоидных ядер измеряли на стадиях гастролы и личинки (29-84 ядер ЖСС, 29-50 диплоидных ядер на зародыша или личинку). Все данные представлены как среднее±стандартная ошибка среднего. Различия между дорсальной и вентральной областями ЖСС гастрол, а также длинами ядер ЖСС гастрол и личинок муксуна оценивали при помощи критерия Манна-Уитни. Уровень значимости: $P < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Ультраструктура ЖСС *Danio rerio*

ЖСС личинок данио-рерио несет на своей наружной поверхности микроворсинки, удлиняющиеся в ходе развития. Микроворсинки апикальной поверхности ЖСС характерны для всех изученных видов костистых рыб (Jaroszewska, Dabrowski, 2009, 2011). У данио-рерио в возрасте 3 суток после оплодотворения микроворсинки длиннее и гуще расположены в области кювьеровых протоков, нежели в тех латеральных участках ЖСС, где контакта с сосудами нет. Распределение органелл ЖСС данио-рерио сходно вдоль дорсо-вентральной и переднезадней осей. Для него не характерна стратификация по распределению органелл: шЭПР и митохондрии расположены повсеместно, однако большинство митохондрий занимает апикальную часть ЖСС

(Рисунок 1). ЖСС данио-рерио содержит гетерогенные включения, окруженные концентрическими двойными мембранами, представляющие собой остатки желточных включений. Гликоген сконцентрирован преимущественно в базальной части ЖСС.

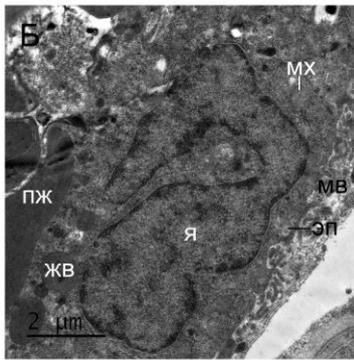
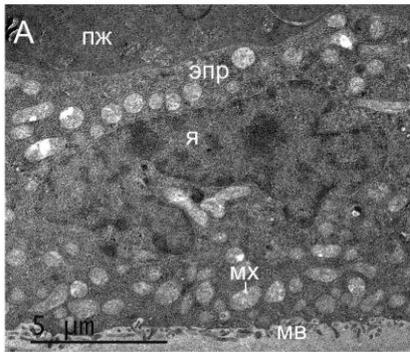


Рисунок 1. - Ультраструктура ЖСС личинок данио-рерио. Поперечные срезы. ТЭМ. (А) 4 сут. п/о. Митохондрии различной формы и шЭПР распределены по всей толщине ЖСС. Лопастное ядро. (Б) 5 сут. п/о. ЖСС во время активного усвоения желтка. Микроворсинки длиннее, ЖСС содержит больше желточных включений, чем у личинок более раннего возраста. Ядро сложной формы. жв - желточное включение; мв - микроворсинки; мх - митохондрия; пж - пластинка желтка; эп - экзоцитозный пузырек; эпр - шероховатый эндоплазматический ретикулум; я - ядро ЖСС.

Черты организации ЖСС, общие для всех изученных видов

ЖСС представителей всех изученных в нашей работе видов свойственна *структурная регионализация*, связанная, в том числе, с различной интенсивностью процессов ассимиляции желтка в разных областях и взаимодействием с прилежащими структурами (Рисунок 2), о чем свидетельствуют отличия по количеству желточных включений, густоте расположения микроворсинок ЖСС (данио-рерио), а также большое количество включений со слабо окрашенным содержимым в передней, задней и дорсальной областях ЖСС (карп). В ЖСС личинок сиговых и, в меньшей степени, поздних зародышей трехиглой колюшки, цитоплазма вокруг жировой капли выглядит исчерченной (Рисунок 2А, 2В). У сиговых цитоплазма, окружающая желток, различимо подразделяется на две-три зоны (Рисунок 2 Б, 2 Г). Толщина ЖСС вдоль дорсо-вентральной и переднезадней оси неодинакова на каждой исследованной стадии и меняется в ходе развития.

На стадиях бластулы и гастрюлы у данио-рерио и обыкновенного вьюна происходит последовательное увеличение размеров ядер (Рисунок 3), что соотносится с данными литературы об увеличении ploidy ядер ЖСС. Наименьшая средняя длина ядер ЖСС характерна для данио-рерио ($12,02 \pm 0,30 \mu\text{m}$ во время гастрюляции и $12,51 \pm 0,35 \mu\text{m}$ у личинки), наибольшая – для муксуна ($29,8 \pm 1,96 \mu\text{m}$ во время гастрюляции и $22,93 \pm 0,74 \mu\text{m}$ у личинки; различия статистически не значимы). В ходе гастрюляции у данио-рерио и у обыкновенного вьюна число ядер ЖСС неправильной формы возрастает (Корж и др., 1989, 1990; Kageyama, 1996; Kondakova, Efremov, 2014a; Кондакова и др., 2016г, Kondakova et al., 2017b).

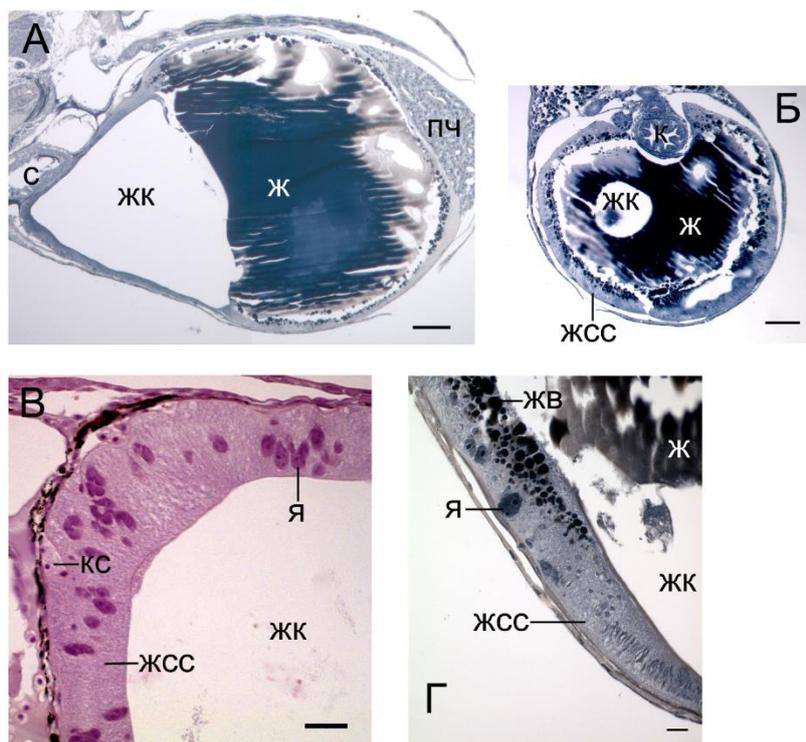


Рисунок 2. – Организация ЖСС личинок Coregonidae. (А) Желточный комплекс пеляди: форма, организация, положение спереди от печени. Парасагиттальный срез. (Б) Желточный комплекс пеляди. Поперечный срез на уровне неполной цитоплазматической прослойки. Показана неравномерность толщины ЖСС, увеличенные дорсолатеральные области, апико-базальная зональность. (В) Передняя область ЖСС чира. Видна исчерченность цитоплазмы. Фронтальный срез. (Г) ЖСС пеляди. Показаны различия структуры ЖСС в участках, окружающих желток и жировую каплю. Поперечный срез ж – желток, жв – желточное включение, жк – жировая капля, к – кишка, кс –

кровеносный сосуд, с – сердце, пч – печень, я – ядро. Масштаб: А, Б = 100 μ m; В, Г = 20 μ m.

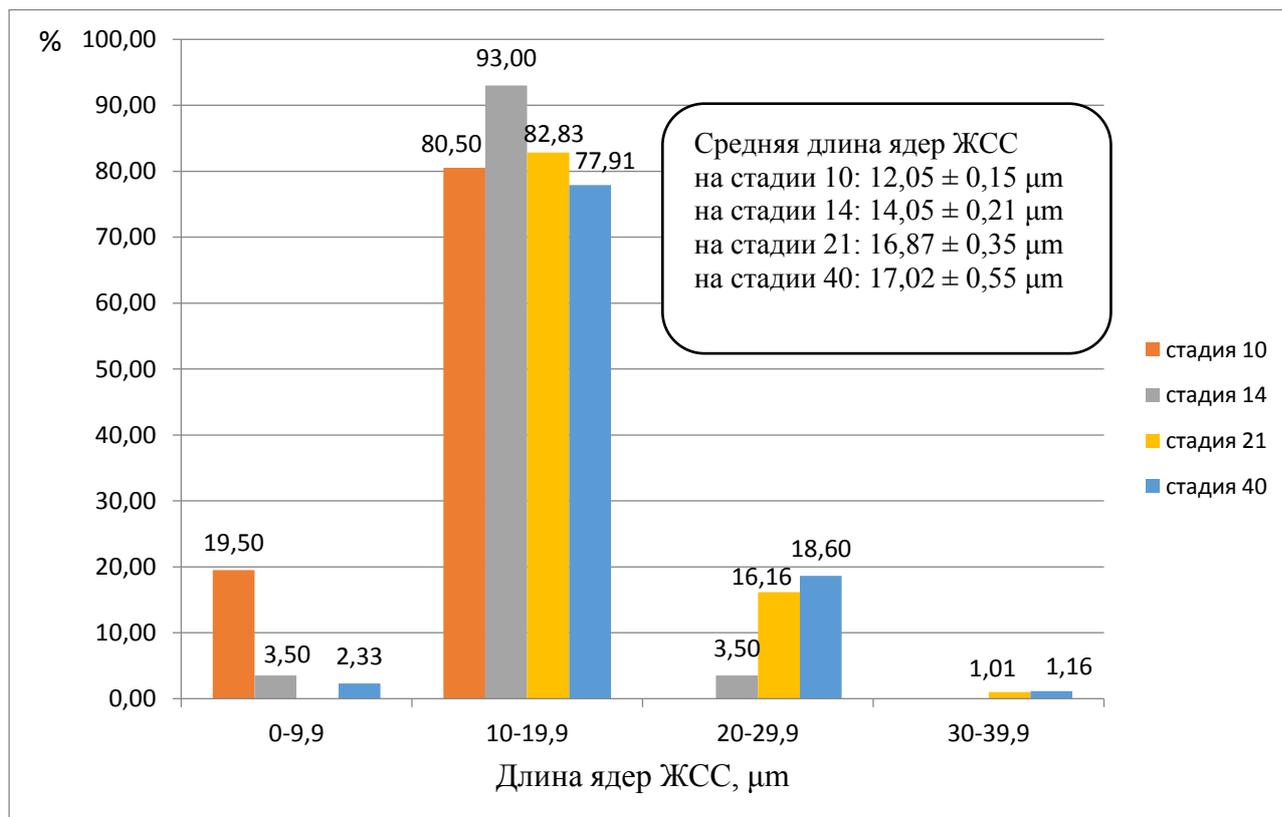


Рисунок 3. - Процент ядер ЖСС определенной длины (ось абсцисс) во время гастрюляции (стадии 10 и 14), раннего сомитогенеза (стадия 21) и личиночного периода (стадия 40) обыкновенного вьюна. Диаграмма отражает последовательное увеличение длины ядер ЖСС в ходе гастрюляции.

Однако ядра исследованных представителей Cypriniformes и трехиглой колюшки не отличаются такой сложной формой, как, например, ядра ЖСС сиговых (Рисунок 4).

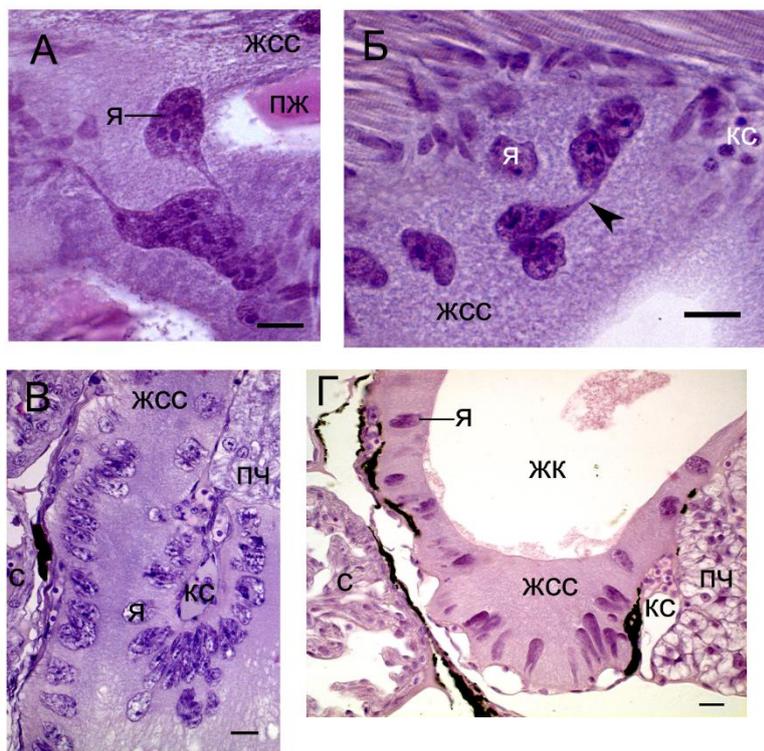


Рисунок 4. - Разнообразие форм ядер ЖСС Coregonidae. Парасагитальные срезы. (А, Б) Муксун. Ядра с длинными отростками и ядра, соединенные мостиками (на мостик указывает наконечник стрелки). (В) Чир. Передняя область ЖСС. «Кометовидные» ядра и ядра других форм. (Г) Нельма. Передняя область ЖСС. «Кометовидные» ядра и ядра других форм. жк – жировая капля, кс – кровеносный сосуд, с – сердце, пж – пластинка желтка, пч – печень, я – ядро ЖСС. Масштаб: 20µm.

Для ЖСС представителей всех изученных нами видов характерны как очень светлые ядра, так и ядра, содержащие большее количество гетерохроматиновых гранул (Kondakova, Efremov, 2014a; Kondakova et al., 2016, 2017ab, Кондакова и др., 2017вгд).

Диплоидные клетки зародышей содержат желточные включения до гаструляции включительно у данио-рерио и муксуна и до сомитогенеза включительно у вьюна (Thomas, 1968; Кондакова и др., 2016г, 2017б; Kondakova et al., 2017b). Питание за счет внутриклеточного желтка может продолжаться и на личиночных стадиях, например, у *S. gairdneri* (Sire et al., 1994).

Черты сходства ЖСС трех представителей Cypriniformes

Можно выделить следующие сходные характеристики желточного комплекса зародышей и личинок Cypriniformes. Желток представлен пластинками. Как показывает ТЭМ, пластинки желтка данио-рерио преимущественно гомогенные электроплотые, но встречаются и гетерогенные пластинки, содержащие электропрозрачный материал (Кондакова, Ефремов, 2013; Кондакова, 2014; Kondakova, Efremov, 2014b). Варьирование толщины ЖСС у всех трех видов в ЖМ, подразделившемся на шарообразную и вытянутую части, сходно. В вентральной и латеральной областях одиночные ядра или их небольшие группы располагаются на значительном расстоянии друг от друга. В каудальной области имеется скопление ядер. На заключительном этапе функционирования ЖСС можно видеть пикнотические ядра в ЖСС личинок данио-рерио и карпа и скопления клеток с крупной эозинофильной вакуолью, предположительно, фагоцитов возле остатка ЖСС (Kondakova, Efremov, 2014a; Кондакова и др., 2015, 2016б; Kondakova et al., 2015, 2016).

Видовые особенности ЖСС Cypriniformes

Собственные результаты и данные литературы позволяют предполагать отличия в процессе образования ЖСС обыкновенного вьюна и данио-рерио: у первого процесс образования ЖСС растянут (Розанова, Божкова, 1995; Kondakova et al., 2017b). Толщина ЖСС и распределение желточных включений в нем у данио-рерио и обыкновенного вьюна во время

гастрюляции существенно отличаются. У данио-рерио на стадии 75% эпиболии средняя толщина дорсальной стороны составляет $3,18 \pm 0,21 \mu\text{m}$, вентральной - $2,81 \pm 0,16 \mu\text{m}$. В развитии вьюна на стадии 16 средняя толщина дорсальной, анимальной и вентральной областей ЖСС - $14,65 \pm 0,28 \mu\text{m}$, $16,75 \pm 0,44 \mu\text{m}$ и $7,25 \pm 0,14 \mu\text{m}$. ЖСС обыкновенного вьюна содержит крупные желточные включения в наружной области, тогда как у данио-рерио количество желточных включений в наружной области ЖСС минимально (Thomas, 1968; Kimmel et al., 1995; Kondakova, Efremov, 2014a). ЖСС обыкновенного вьюна образует протуберанцы внутренней поверхности, в массе желтка встречаются островки цитоплазмы с крупными ядрами. У личинок трех видов происходит изменение формы передней области ЖСС, где наблюдаются скопления ядер. Однако, форма этой области у них разная. У данио-рерио она утолщается, у карпа образует вырост, прилежащий к расположенным впереди структурам. Кровеносные сосуды обыкновенного вьюна располагаются в углублениях, которые образует желточный комплекс. Вероятно, это позволяет увеличить площадь контакта ЖСС с прилежащими кровеносными сосудами и печенью. У карпа морфологические признаки апоптоза, такие как пикнотические ядра и апоптотические тельца, появляются в каудальной области ЖСС ещё при наличии желточной массы, тогда как у данио-рерио мы наблюдали их только после исчерпания запасов желтка (Kondakova, Efremov, 2014; Кондакова и др., 2015; Kondakova et al., 2015, 2016).

Черты сходства ЖСС четырех представителей Coregonidae, Salmoniformes

Организация ЖСС четырех видов Сиговых рыб, охарактеризованная нами, и таковая *S. alpinus*, описанная Кунц (1964, 2004), принципиально сходны, но имеются и видовые особенности. Желточный комплекс личинок располагается спереди от печени, но отделен от нее соединительной тканью. При этом выросты каудальной области ЖСС проникают между дольками печени. Желточный комплекс с двух сторон облегает кишку. К началу личиночного периода жировые капли сливаются в одну. Цитоплазматическая прослойка между массой желтка и жировой каплей, по всей вероятности, остается не замкнутой (Кондакова и др., 2016a, 2017a) (Рисунок 2А, 2Г). Для всех изученных сиговых можно отметить исключительную сложность формы ядер ЖСС (Рисунок 4). После исчезновения массы желтка в передней области желточного комплекса остается жировая капля, в цитоплазме могут также присутствовать жировые капли меньшего размера и многочисленные мелкие вакуоли, возможно, представляющие собой включения липидов. Последовательность утилизации питательного материала яйца, при которой расходуется сначала масса желтка, а затем жировая капля, характерна и для других групп Teleostei (Mani-Ponset et al, 1994, 1996; Poupard et al., 2000; Kunz, 1964, 2004).

Видовые особенности ЖСС представителей Coregonidae, Salmoniformes

ЖСС сиговых на эмбриональных стадиях в этой работе был рассмотрен на примере муксуна. Для ЖСС муксуна характерна значительная неравномерность по толщине и раннее приобретение ядрами крупных размеров и сложной формы. Средняя толщина ЖСС с дорсальной стороны в области контакта с жировой каплей $7,819 \pm 1,11 \mu\text{m}$, в области контакта с желтком - $32,32 \pm 1,73 \mu\text{m}$. В вентральной области эти значения составляют $11,09 \pm 1,81 \mu\text{m}$ и $26,7 \pm 2,51 \mu\text{m}$. Морфологические изменения ЖСС связаны с перемещениями жировых капель и оказываются значительнее, чем у зародышей и личинок видов Teleostei с яйцами без жировых капель. ЖСС муксуна имеет сложную, дифференцированную, динамичную структуру. Отличия ЖСС личинок касаются относительной толщины цитоплазматического слоя и конфигурации ядер. Так, особенностью муксуна является истончение ЖСС в области некоторых сосудов ЖМ. Ядра, соединенные мостиками, чаще всего встречаются у муксуна (Рисунок 4А, 4Б). «Кометовидные ядра» наиболее часто можно видеть у нельмы и чира на поздних стадиях (Рисунок 4В, 4Г). У нельмы значительная доля ядер имеет указанную форму (Кондакова и др, 2017a).

Особенности ЖСС трехиглой колюшки

В передней области желточного комплекса имеется несколько жировых капель, полностью окруженных ЖСС (Рисунок 5). Мелкие округлые фрагменты желтка, контактирующие с базальной поверхностью ЖСС, окрашиваются эозином очень слабо (Рисунок 5В). Вероятно, этапы лизиса желтка, которые у других видов рыб осуществляются в цитоплазме ЖСС, у колюшки совершаются в основном на границе желтка и ЖСС (Кондакова и др, 2017г).

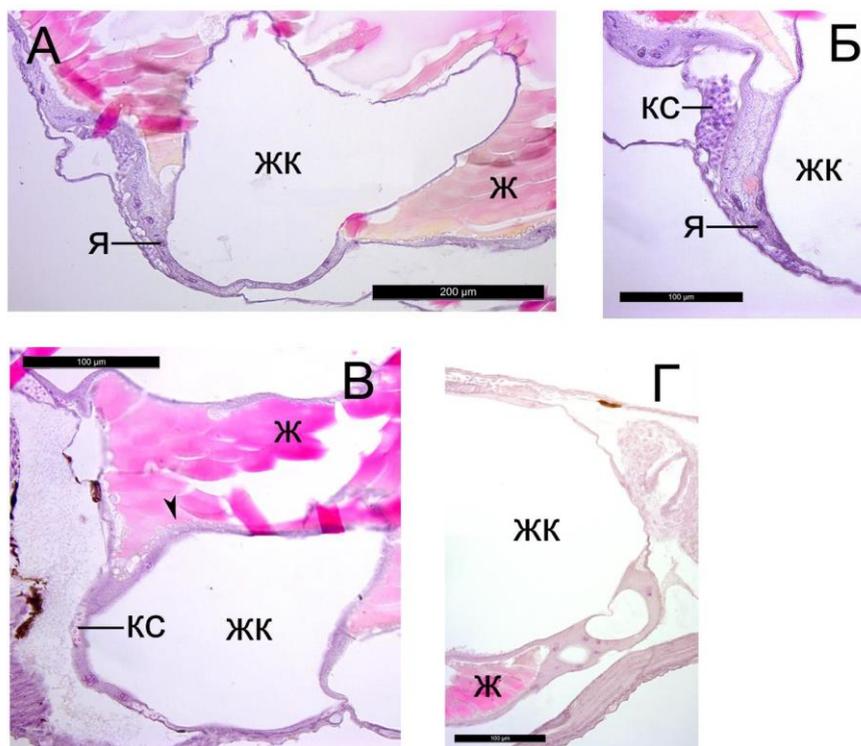


Рисунок 5. – Организация ЖСС трехиглой колюшки. (А, Б) Поздний зародыш. Жировая капля, отделенная ЖСС от желтка. Поперечная исчерченность цитоплазмы ЖСС. Поперечные срезы. (В) Передняя область желточного комплекса личинки. Жировые капли, отделенные от желтка. Слабо окрашенные фрагменты желтка показаны наконечником стрелки. Парасагитальный срез. (Г) Передняя область желточного комплекса личинки. Фронтальный срез. Жировые капли, окруженные ЖСС. ж – желток, жк – жировая капля, кс – кровеносный сосуд, я – ядро ЖСС.

Связь характеристик ЖСС с особенностями биологии исследованных видов

Среди объектов данного исследования относительно просто устроен ЖСС данио-рерио. Он развивается при наиболее высоких температурах и имеет самые мелкие яйца без жировой капли. Для данио-рерио характерен наименьший средний размер ядер ЖСС как во время гастрюляции, так и в ходе личиночного периода. Наиболее сложная организация ЖСС и самые крупные его ядра характерны для сиговых с их продолжительным развитием при низких температурах и крупными олигоплазматическими яйцами с жировой каплей (Рисунок 6) (Кондакова и др., 2016в).

Сравнение ЖСС данио-рерио, обыкновенного вьюна и муксуна от гастрюляции до личиночных стадий. Заключительные замечания

Сравним структуру ЖСС данио-рерио, обыкновенного вьюна и муксуна со стадии зародышевого щитка (гастрюляция) до личиночных стадий (период желточного питания). Особенности ЖСС муксуна в значительной степени связаны с крупным размером олигоплазматических яиц и наличием жировых капель. В развитии муксуна зародышевый щиток образуется на 25% обрастания, у данио-рерио – на 50% обрастания, у обыкновенного вьюна – менее 33%. Особенностью желточной сферы гаструл вьюна являются выросты ЖСС и энергиды в толще желтка. Во время гастрюляции у вьюна дорсальная область ЖСС увеличена по сравнению с вентральной, и различия между ними статистически значимы. У данио-рерио и муксуна эти отличия, напротив, статистически не значимы; толщина ЖСС последнего крайне неравномерна. Эти вариации могут быть связаны в том числе с характеристиками желтка и/или особенностями морфогенетических движений во время гастрюляции.

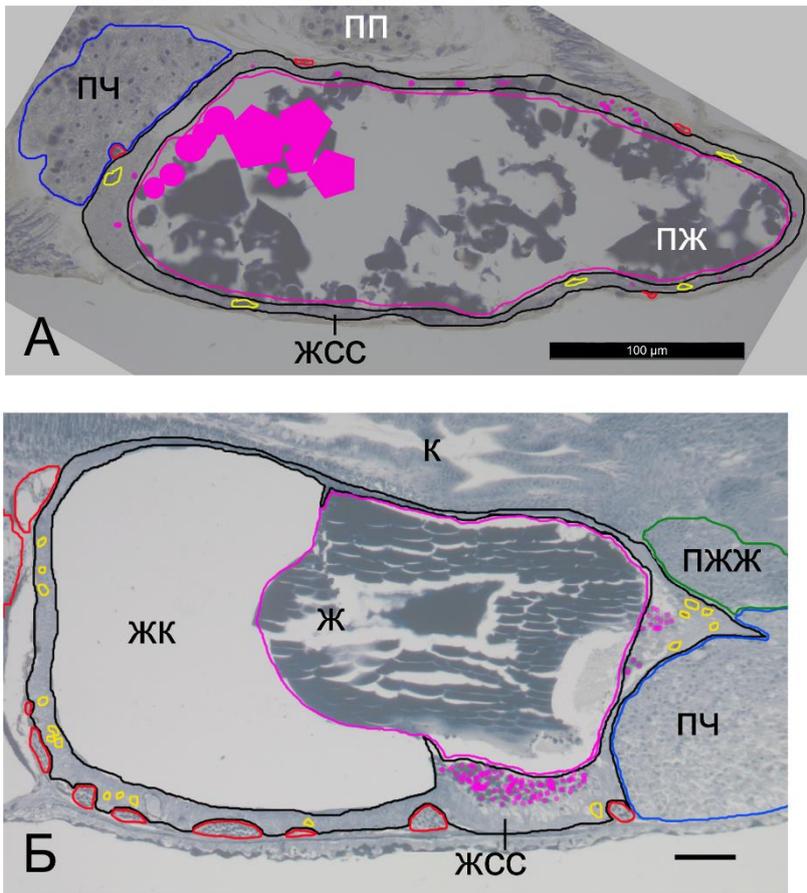


Рисунок 6. – Сравнение организации и анатомического положения желточного комплекса личинок данио-рерио и нельмы как представителя сиговых. (А) Данио-рерио. Желточный комплекс расположен позади печени, желток представлен пластинками (эллипсы и пятиугольники), отсутствует жировая капля. ЖСС не образует выростов или углублений. (Б) Нельма. Желточный комплекс, включающий жировую каплю, имеет сложную форму, расположен спереди от печени. Развита сосудистая сеть ЖМ. ЖСС прорисован черными линиями, ядра ЖСС – желтыми, желток – розовыми, кровеносные сосуды – красными, печень – синими, поджелудочная железа – зеленой линией. ж – желток, жк – жировая капля, к – кишка, пж – пластинка желтка, пжж – поджелудочная железа, пп – плавательный пузырь, пч – печень. Масштаб: Б = 100μm.

железа, пп – плавательный пузырь, пч – печень. Масштаб: Б = 100μm.

Можно предположить, что примитивным, первичным вариантом организации является ЖСС без выростов и энергид в массе желтка, с не выраженными отличиями по толщине вдоль дорсо-вентральной оси. У данио-рерио и выюна завершение эпиболлии совпадает с завершением гастрюляции. У муксуна на момент замыкания желточной пробки у зародыша есть две пары сомитов, глазные пузыри с хрусталиками и слуховые пузыри (Костомарова, 1975; Лебедева, 1982; Kimmel et al., 1995).

При завершении обрастания цитоплазма ЖСС и полиморфные ядра скапливаются в области закрытия желточной пробки. На стадиях сомитогенеза ЖСС у описанных видов становится относительно тонким, за исключением каудальной области. Образование вытянутой части ЖМ у данио-рерио происходит на стадии 14 пар сомитов, у выюна – 25-26 пар сомитов. Начиная с этих стадий и до личиночного периода сходство организации ЖСС карпообразных максимально. В развитии сиговых вытянутая часть ЖМ не формируется. Во время сомитогенеза жировые капли располагаются в массе желтка, и, в случае, когда они прилежат к ЖСС, он окружает их. К личиночным стадиям большинство жировых капель сливается в одну. В ходе личиночного периода снова возникают заметные морфологические различия, в т.ч. между ЖСС представителей одного семейства. В это время желточный комплекс претерпевает ряд изменений: усложнение формы, увеличение толщины синцития, количества желточных включений и длины микроворсинок. У карпообразных изменяется форма передней области желточного комплекса. Эти изменения, по всей вероятности, отражают интенсификацию метаболизма желтка и проявление взаимодействия с прилежащими органами и тканями, включая печень и сосуды ЖМ. Особенности организации этих структур и положение желточного комплекса в полости тела может обуславливать характерные изменения его морфологии (Kondakova, Efremov, 2014; Kondakova et al., 2017ab; Кондакова и др., 2017д). Таким образом, была отмечена следующая тенденция. Разнообразие в организации ЖСС проявляется в

наибольшей степени на ранних эмбриональных стадиях, затем организация ЖСС становится более сходной, а на личиночных стадиях в структуре ЖСС снова возникают вариации (Рисунок 7).

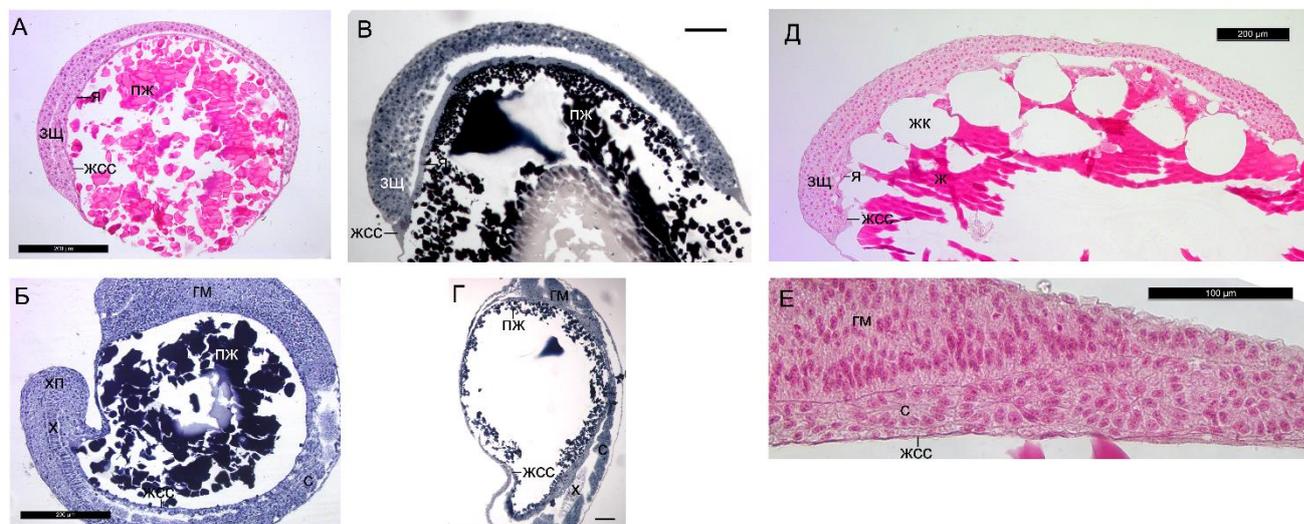


Рисунок 7. – Сравнение зародышей данио-рерио, обыкновенного вьюна и муксуна во время гастрюляции и сомитогенеза. Парасагитальные срезы. (А) Гастрюла данио-рерио. (Б) Зародыш данио-рерио на стадии 14 пар сомитов. (В) Гастрюла обыкновенного вьюна. (Г) Зародыш обыкновенного вьюна на стадии 33. (Д) Гастрюла муксуна. (Е) Дорсальная область зародыша муксуна во время сомитогенеза. гм – головной мозг, – желток, жк – жировая капля, зщ – зародышевый щиток, пж – пластинка желтка, с – сомит, х – хорда, хп – хвостовая почка. Масштаб: А, Б, Д = 200 μm; В, Г, Е = 100 μm.

Отмеченная тенденция соотносится с «моделью песочных часов» (Irie, Kuratani, 2014).

Распространенность организации провизорной системы, утилизирующей желток, в виде симпласта с полиморфными полиплоидными ядрами, свидетельствует о ее высокой эффективности. Несмотря на фундаментальное сходство организации желточного комплекса большинства изученных костистых рыб, вариации строения ЖСС наблюдаются у филогенетически близких видов, принадлежащих к одному семейству и роду.

Заключение

Провизорные структуры имеют большое значение для развития представителей многих групп Metazoa и характеризуются значительным разнообразием. При этом, несмотря на различное эволюционное происхождение и способы образования, для многих из них характерны общие черты, такие как синцитиальная организация и полиплоидные ядра. ЖСС - это временное многофункциональное симпластическое образование животных с меробластическим типом развития. ЖСС костистых рыб играет важнейшую роль в их эмбриогенезе и личиночном развитии. Детальное изучение структуры ЖСС в развитии костистых рыб вносит вклад в представления как о строении, многообразии и эволюции провизорных систем, так и об онтогенетическом разнообразии костистых рыб.

Нами было выполнено сравнительно-гистологическое исследование ЖСС зародышей данио-рерио, обыкновенного вьюна и муксуна, а также личинок карпа, обыкновенного вьюна, пеляди, муксуна, чира, нельмы и трехиглой колюшки, принадлежащих к двум из четырех основных групп костистых рыб. Была описана ультраструктура ЖСС личинок данио-рерио.

Гистологическое и электронно-микроскопическое исследования показали общие и специфические черты организации ЖСС исследованных видов. Для ЖСС всех исследованных нами костистых рыб характерна структурная регионализация, но ее проявления различны. Она

связана с разделением функций между участками симпласта и обусловлена организацией яиц (в частности, наличием жировых капель) и взаимодействием с прилежащими к ЖСС структурами. Структурная регионализация наблюдается, начиная с ранних стадий развития (бластула). Толщина ЖСС неравномерна.

В ходе раннего эмбриогенеза происходит усложнение формы и увеличение линейных размеров ядер ЖСС. На средних и поздних эмбриональных стадиях плоидность ядер ЖСС, предположительно, не увеличивается.

Показано принципиальное единство организации ЖСС костистых рыб: это симпласт с полиморфными крупными ядрами, расположенный на периферии желточного комплекса. Тем не менее, вариации его строения были отмечены у представителей одного рода (*Coregonus*) и состоят в частоте встречаемости ядер определенной формы и относительной толщине отдельных участков ЖСС. На ранних эмбриональных стадиях в организации ЖСС наблюдается больше вариаций, чем на средних и поздних эмбриональных стадиях. В ходе личиночного периода в организации ЖСС снова возникают различия. Нами впервые были получены сведения о программированной гибели ЖСС данио-рерио и карпа.

Наиболее сложная форма желточного комплекса, выраженная специализация участков ЖСС и значительные изменения морфологии в ходе развития характерны для *Coregonidae*, тогда как желточный комплекс данио-рерио устроен относительно менее сложно, чем у других видов. Это наблюдение указывает на связь между организацией ЖСС и наличием жировых капель в составе желточного комплекса, продолжительностью и условиями развития.

Полученные результаты могут стать основой дальнейших исследований ультраструктуры ЖСС, механизмов образования ЖСС в разных группах *Teleostei*, динамики полиплоидизации ядер, эмбрионального нуклеогенеза, специфических функций генов, экспрессия которых выявлена в ЖСС.

Выводы

1. Структурная регионализация желточного синцитиального слоя характерна для всех видов, описанных в настоящей работе. Она отмечается уже на ранних стадиях эмбриогенеза и обусловлена как организацией яйца, так и взаимодействием с прилежащими к желточному синцитиальному слою структурами.
2. Увеличение размеров ядер желточного синцитиального слоя и приобретение ими разнообразных форм приурочены к раннему эмбриогенезу (бластула, гастрюла).
3. Показано принципиальное единство организации желточного синцитиального слоя у костистых рыб. При этом у филогенетически близких видов, принадлежащих к одному семейству и роду (*Coregonus*) наблюдаются вариации строения желточного синцитиального слоя, в частности, проявляющиеся в различиях по толщине и форме отдельных участков и встречаемости ядер определенной конфигурации.
4. Отмечена следующая тенденция: на ранних эмбриональных стадиях в организации желточного синцитиального слоя наблюдается больше вариаций, чем на средних и поздних. На личиночных стадиях строение желточного синцитиального слоя снова становится более разнообразным.
5. Организация желточного синцитиального слоя определяется в том числе наличием жировых капель в составе желточного комплекса, продолжительностью и температурными условиями развития. Наиболее сложная, дифференцированная, динамичная структура и наиболее крупные ядра желточного синцитиального слоя свойственны *Coregonidae*. Наименее сложная организация желточного синцитиального слоя характерна для данио-рерио.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, материалы конференций и тезисы в журналах, рекомендованных ВАК

1. Кондакова, Е.А. Гистологическое исследование желточного синцитиального слоя *Danio rerio* (Teleostei). / Е.А. Кондакова // Цитология. - 2012. - Т. 54. - N. 4. - С. 344.
2. Кондакова, Е.А. Ультраструктура желточного синцитиального слоя личинок *Danio rerio* (Teleostei). / Е.А. Кондакова // Цитология. - 2014. - Т. 56. - N 5. - С. 369.
3. Кондакова, Е.А. Структура желточного синцитиального слоя костистых рыб и аналогичных структур у животных с меробластическим типом развития / Е.А. Кондакова, В.И. Ефремов, В.А. Назаров // Известия РАН. Серия биологическая. - 2016б. - №. 3. - С. 256-264. (перевод: Kondakova, E.A. Structure of the yolk syncytial layer in Teleostei and analogous structures in animals of the meroblastic type of development / E.A. Kondakova, V.I. Efremov, V.A. Nazarov // Biology Bulletin. - 2016. - V. 43. - N 3. - P. 208-215).
4. Кондакова, Е. А. Структура желточного синцитиального слоя личинок сиговых рыб, гистологическое исследование / Е. А. Кондакова, В. А. Богданова, В. И. Ефремов // Онтогенез. - 2017а. - Т. 48. - N. 3. - С. 211-219. (перевод: Kondakova, E. A. Structure of the yolk syncytial layer in the larvae of whitefishes: A histological study / E. A. Kondakova, V. I. Efremov, V. A. Bogdanova // Russian Journal of Developmental Biology. - 2017а. - V. 48. - N 3. - P. 176-184).
5. Kondakova, E.A. Morphofunctional transformations of the yolk syncytial layer during zebrafish development / E.A. Kondakova, V.I. Efremov // Journal of morphology. - 2014. - V. 275. - N 2. - P. 206-216.
6. Kondakova, E. The yolk syncytial layer of loach, *Misgurnus fossilis* (Teleostei) during early development / E. Kondakova, I. Neklyudova, V. Efremov // Zygote. - 2017b. - V. 25. - N. 4. - P. 489-497.

Тезисы, опубликованные в материалах конференций

1. Ефремов, В.И. Морфофункциональные характеристики желточного синцитиального слоя в развитии *Danio rerio* (Teleostei). / В.И. Ефремов, Е.А. Кондакова // Современные проблемы эволюционной морфологии животных (Материалы II Всероссийской конференции с международным участием) к 105-летию со дня рождения академика А.В. Иванова, 17-19 октября 2011 г. СПб: ЗИН РАН. - 2011. - С. 134-137.
2. Кондакова, Е.А. Некоторые особенности ультраструктуры желточного синцитиального слоя личинок *Danio rerio* (Teleostei). / Е.А. Кондакова, В.И. Ефремов // Эмбриональное развитие, морфогенез и эволюция. Тезисы докладов Всероссийской конференции с международным участием. К 135-летию со дня рождения П.П. Иванова. Санкт-Петербург, 22-24 октября 2013 г. - СПб: Изд-во ВВМ. - 2013. - С. 134-136.
3. Кондакова, Е.А. Исследование ультраструктуры желточного синцитиального слоя личинок *Danio rerio* (Teleostei). / Е.А.Кондакова, В.И. Ефремов // 1-я междисциплинарная конференция «Современные решения для исследования природных, синтетических и биологических материалов». Санкт-Петербург, Россия. 20–22 октября 2014. Сборник тезисов. - 2014.- С. 108.
4. Кондакова, Е.А. Исследование ультраструктуры желточного синцитиального слоя *Danio rerio* (Teleostei) на личиночных стадиях развития. / Е.А. Кондакова // XIX Санкт-Петербургская Ассамблея молодых ученых и специалистов. Сборник тезисов. - 2014. - С. 100-101.
5. Кондакова, Е.А. Структура желточного синцитиального слоя костистых рыб на примере *Danio rerio* и *Suyprius carpio koi* и организация аналогичных структур у животных с меробластическим типом развития. / Е.А. Кондакова, В.И. Ефремов, В. А. Назаров // Конференция «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: устойчивость и вариабельность». Москва 21-23 апреля 2015. Тезисы. - 2015. - С. 29-30.
6. Кондакова, Е.А. Желточный синцитиальный слой костистых рыб: функции и разнообразие организации. / Е.А. Кондакова, В.И. Ефремов; под ред. О.В. Зайцевой, А.А. Петрова

// Современные проблемы эволюционной морфологии животных. Материалы школы для молодых специалистов и студентов с международным участием «Современные проблемы эволюционной морфологии животных» к 110-летию со дня рождения академика А.В. Иванова (29 сентября – 1 октября 2016 г.). – СПб: ЗИН РАН. 2016. - С. 22-24.

7. Кондакова, Е.А. Сравнительное исследование желточного синцитиального слоя личинок четырех видов сиговых рыб. / Е.А. Кондакова, В.И. Ефремов, В.А. Богданова // «Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге». Материалы совещания. - СПб: СПбНЦ РАН, Изд-во «Арт-Экспресс» - 2016а. - С. 172-175.

8. Кондакова, Е.А. Сравнительное исследование ЖСС личинок костистых рыб. / Е.А. Кондакова, В.И. Ефремов, В.А. Назаров, И.В. Неклюдова, В.А. Богданова // Сборник тезисов V молодежной конференции по молекулярной и клеточной биологии Института цитологии РАН. СПб. – 2016в.- С. 31-32.

9. Кондакова, Е.А. Структура желточного синцитиального слоя в эмбриональном и постэмбриональном развитии костистых рыб. / Е.А. Кондакова, И.В. Неклюдова, В.И. Ефремов // Сборник научных трудов международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». - М.: Группа МДВ, 2016г. - 228 с. - С. 80-81.

10. Кондакова, Е. А. Структура желточного синцитиального слоя *Coregonus muksun* на эмбриональных и личиночных стадиях развития / Е. А. Кондакова, В. А. Богданова, В. И. Ефремов // Лососевые рыбы. Биология, охрана и воспроизводство. Материалы международной конференции 18-22 сентября 2017 года. Петрозаводск, Карелия, Россия – 2017б. – С. 85.

11. Кондакова, Е. А. Структура желточного синцитиального слоя *Gasterosteus aculeatus* на поздних эмбриональных и личиночных стадиях / Е. А. Кондакова, Ю. Е. Гладышева, В. В. Козин, В. И. Ефремов // I Студенческая Научная сессия УНБ "Беломорская" СПбГУ Санкт-Петербург, 10 февраля 2017. Тезисы докладов. – 2017в. - С. 24.

12. Кондакова, Е. А. Структура желточного синцитиального слоя *Gasterosteus aculeatus*. Общие и специфические черты организации желточного синцитиального слоя Teleostei / Е. А. Кондакова, В.И. Ефремов, В.В. Козин // Конференция «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: онтогенез и формирование биологического разнообразия. 22-24 ноября 2017 г. Тезисы. – М:2017г. – С. 27 – 28.

13. Кондакова, Е. А. Желточный синцитиальный слой — провизорная структура животных с меробластическим типом развития. / Е. А. Кондакова, В. И. Ефремов, В. В. Козин, В. А. Назаров, И. В. Неклюдова, В. А. Богданова // Материалы III Международной конференции «Современные проблемы биологической эволюции» к 130-летию со дня рождения Н. И. Вавилова и 110-летию со дня основания Государственного Дарвиновского музея 16–20 октября 2017 года. – 2017д. – С. 351-353.

14. Kondakova, E. A. The ultrastructure of the larval zebrafish YSL. / E.A. Kondakova, V.I. Efremov // Heart of Europe: Zebrafish Meeting. 17-19 September 2014, Warsaw (abstract book). Warsaw: International institute of molecular and cell biology. – 2014b. - P. 25

15. Kondakova, E. A. The structure of the larval yolk syncytial layer of *Danio rerio* and *Cyprinus carpio koi* (Teleostei). / E.A. Kondakova, V.I. Efremov, V.A. Nazarov // EMBO Workshop Embryonic-Extraembryonic Interfaces: Emphasis on Molecular Control of Embryonic Development in Amniotes. Göttingen, 6 – 9 May 2015. Abstract book. - 2015. - P. 35, 69.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю, к.б.н. В. И. Ефремову, соавторам и коллегам. Мы благодарим С.А. Карпова, И.Р. Позднякова и А.Е. Королева, А.Г. Селюкова и О.В. Зеленникова. Автор благодарит ресурсные центры СПбГУ «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий». Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00391 и грантом СПбГУ (Мероприятие 4) "Модернизация материально-технического оснащения кафедры эмбриологии для изучения клеточных и молекулярных основ эмбрионального и постэмбрионального развития животных".