

На правах рукописи

СКОБЕЕВА Виктория Александровна

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ
ГАСТРУЛЯЦИИ АМФИБИЙ И ЕЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

03.03.05 – биология развития, эмбриология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва – 2011

Работа выполнена на кафедре биологической эволюции Биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор
Черданцев Владимир Георгиевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор
Белоусов Лев Владимирович
кафедра эмбриологии Биологического факультета
Московского Государственного Университета имени М.В.Ломоносова

доктор биологических наук
Самсонова Мария Георгиевна
отдел компьютерной биологии Центра Перспективных Исследований
Санкт-Петербургского Политехнического Университета

Ведущая организация

Институт биоорганической химии им.
академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН

Защита состоится «15» ноября 2011 г. в 15.:30 на заседании диссертационного совета

Д 501.001.52 в Московском Государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова, д.1 стр. 12, Биологический факультет, аудитория М-1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Автореферат разослан « » октября 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук
Е.Н.Калистратова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

По мере накопления данных об изменчивости количественно-морфологических признаков живых организмов все острее встает проблема их интерпретации. Общепринятое разложение фенотипической дисперсии на компоненты (Falconer, 1981) основывается на представлении, согласно которому изменчивость целиком обусловлена генотипом, средой и их взаимодействием. К средовой компоненте относят и различия в изменчивости повторяющихся частей организма, и единственным исключением считается дисперсия, возникающая в результате случайных «ошибок развития» (*developmental noise*, или *intangible variation*, см. Falconer, 1981). В рамках господствующей в современной биологии развития парадигмы однозначной детерминация развития структур совместными усилиями генотипа и среды, изменчивость, обусловленная «ошибками» развития, вообще не может иметь биологического значения и в лучшем случае является показателем качества условий, в которых находится и развивается зародыш. При такой каузальной установке «шум развития» ничем принципиально не отличается от теплового движения молекул, его источником служат случайные колебания, например, концентраций морфогенов, или случайная неравномерность клеточных делений в разных частях зародыша (Суле, 1984). Следовательно, в начале развития изменчивость должна быть минимальной, постепенно нарастая к его концу, поскольку чем дольше происходит процесс, тем больше времени на накопление случайных ошибок. Изменчивость признаков взрослого организма должна быть гораздо выше изменчивости признаков в начале формирования биологических структур, из-за того, что «совершенная» программа развития сталкивается с несовершенством реального мира. На фоне становления неравновесной термодинамики и открытия диссипативных структур, возникающих на основе случайных флуктуаций (Николис, Пригожин, 1979), такая концепция выглядит анахронизмом, точно таким же, как представление о разложимости развивающегося зачатка на потенциально бесконечное число блоков, каждый из которых может иметь собственную изменчивость (Суле, 1984).

А. Г. Гурвич (1911) был первым, кто обратил внимание на то, что морфологическая изменчивость эмбриональных структур *in status nascendi* может быть выше изменчивости этих структур в дефинитивном состоянии. В сравнительной эмбриологии накоплен огромный экспериментальный материал, показывающий возможность фиксации новых направлений развития структур на основе случайного выбора (Belousov, 1998; Черданцев, 2003) из-за потери устойчивости систем морфогенетических корреляций в процессе их перестройки при нормальном ходе развития. Поэтому возможно, что изменчивость морфогенеза нельзя считать только результатом накопления случайных ошибок, т. е., случайных отклонений развития от запрограммированного пути. Уровень изменчивости, неизбежно меняющийся в ходе нормального развития из-за разрушения исходных и возникновения новых морфогенетических корреляций, может иметь сигнальное значение, не менее важное, чем концентрация информационных молекул.

Интерес к этой проблеме особенно возрос в последнее десятилетие, когда изучение изменчивости зональной экспрессии генов в эмбриогенезе дрозофилы (Houchmandzadeh et al, 2002; Jaeger et al., 2004; Самсонова и др., 2008; Surkova et al., 2008) показало, что эта изменчивость максимальна на ранних этапах разметки пространственной структуры и снижается по мере ее завершения. Объяснение канализации генной экспрессии можно искать, не выходя за пределы собственно взаимодействия генов (Самсонова и др., 2008; Surkova et al., 2008), однако не менее продуктивным представляется изучение обратных связей между внутренней динамикой развития эмбриональных зачатков и их геометрической формой (Черданцев, 2003; Cherdantsev, 2006). Построению таких моделей мешает отсутствие количественных данных об организации и динамике нормальной изменчивости раннего морфогенеза, а также методов анализа изменчивости количественно-морфологических

признаков, учитывающих ее вклад в организацию нормального морфогенеза, прежде всего, коллективных морфогенетических движений клеток эмбриональных тканей.

Цели и задачи исследования.

Цель работы – на примере гастрюляции нескольких видов бесхвостых амфибий изучить, с помощью статистических методов анализа, причины и общие закономерности изменчивости количественно-морфологических признаков эмбриональных структур, связанной с процессом их формирования, и оценить роль этой изменчивости в нормальном формообразовании.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Минимизировать влияние внешних воздействий, а также генетических различий, на ход развития, обеспечив зародышам максимально комфортные условия и ограничившись изучением сибсов.
2. Адаптировать обычные методы корреляционного и факторного анализа к изучению изменчивости морфогенетических движений гастрюляции, так чтобы основные направления изменчивости анализируемых количественно-морфологических признаков имела ясную геометрическую и механическую интерпретацию
3. С помощью стандартного набора количественно-морфологических признаков исследовать динамику изменчивости формы и внутреннего строения зародышей на последовательных этапах гастрюляции, анализируя фиксированный материал и индивидуальные траектории развития живых зародышей.
4. Провести сравнительно-морфологический анализ организации изменчивости у двух видов рода *Rana* (*R. temporaria* и *R. arvalis*) и чесночницы (*Pelobates fuscus*), пытаясь проследить пути и закономерности перехода индивидуальной и внутри-индивидуальной изменчивости в таксономические различия.

Материалом для решения поставленных задач были взяты кладки бесхвостых амфибий рода *Rana* и рода *Pelobates*, развивающиеся в оптимальных условиях температуры и аэрации. В первую очередь изучалась изменчивость признаков дорсальной губы бластопора, как структуры, существующей только в период гастрюляции и являющейся организатором развития осевых структур зародыша, необходимых для его дальнейшего развития.

Научная новизна работы.

Впервые на уровне количественно-морфологического анализа стандартного набора признаков, характеризующих отдельные компоненты гастрюляционных движений и их взаимодействие, изучена нормальная изменчивость гастрюляции бесхвостых амфибий в максимально благоприятных условиях среды и при минимальном вкладе генетических различий. Показано, что и в таких условиях изменчивость структур в процессе их формирования на порядок выше их изменчивости в дефинитивном или стационарном состоянии.

Впервые установлена общая закономерность динамики нормальной морфологической изменчивости, единая для всех изученных признаков у всех изученных видов амфибий: изменчивость максимальна при инициации новых для данной стадии развития эмбриональных структур, а затем уменьшается. Установлена положительная связь между

уровнем изменчивости признаков на данной стадии гастрюляции и темпами их направленного изменения на ближайшей по времени стадии. В основе индивидуальной изменчивости лежат внутри-индивидуальные различия, возникающие в процессе формирования структуры и исчезающие по завершении ее морфогенеза.

С помощью статистического анализа индивидуальных траекторий гастрюляции впервые доказано их реальное существование и, в то же время, низкий уровень их устойчивости. Впервые показано отсутствие монотонности изменений формы дорсальной губы бластопора в процессе основного гастрюляционного движения.

Впервые проведено сравнение устойчивости индивидуальных траекторий морфогенеза у двух близких видов амфибий (остромордой и травяной лягушки). Травяная лягушка оказывается производным видом, отделение которого от остромордой лягушки связано с дестабилизацией индивидуальных траекторий гастрюляции в результате отбора, направленного на акселерацию развития.

Теоретическое и практическое значение.

Результаты работы позволяют выделить собственную изменчивость морфогенеза как особую компоненту изменчивости, не сводящуюся ни к взаимодействию его генетической и средовой компоненты, ни к накоплению «ошибок развития». Уровень нормальной изменчивости морфогенеза следует рассматривать как важное звено в системе морфогенетических сигналов, информирующее развивающуюся систему о состоянии системы морфогенетических корреляций. Выявленные общие закономерности пространственно-временной динамики изменчивости морфогенеза позволяют объяснять многие общеизвестные, но не имевшие объяснения факты, такие как повышенная изменчивость структур, формирующихся в онтогенезе в последнюю очередь, правило Спалланцани, и, в более общем виде, связь между уровнем изменчивости сериально-гомологичных элементов структуры пространственно-временному порядку их формирования.

Результаты работы позволяют использовать методы статистического анализа, прежде всего, факторного анализа, для реконструкции структуры коллективных морфогенетических движений и могут быть применены в любых исследованиях, в которых стоит такая задача. По уровню нормальной изменчивости можно оценивать темпы формообразования, а также выделять процессы, имеющие на данной стадии развития собственную динамику, и отличать их от процессов, динамика которых зависит от предшествующих стадий развития.

Апробация работы и публикации.

Материалы и основные положения диссертации доложены на Шестой Международной Конференции по Биоинформатике Регуляции и Структуры Генома (Новосибирск, 2008), I, II и III конференциям Meeting of the European Society for Evolutionary Developmental biology (EED) (Прага, 2006, Гент, 2008, Париж 2010). По материалам работы опубликованы три статьи в рецензируемых журналах.

Структура и объем диссертации. Работа включает введение, 7 глав, выводы и список литературы. Диссертация изложена на 203 страницах, включает 78 рисунков и 44 таблиц. Список литературы состоит из источников, в том числе – на иностранных языках.

Введение

Сформулированы цели и задачи исследования, обоснованы актуальность темы, ее научная новизна, теоретическое и практическое значение.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Обзор начинается с изложения традиционного подхода к анализу изменчивости количественно-морфологических признаков и его применимости к анализу изменчивости развивающихся структур. Данные об изменчивости структур в процессе их формирования крайне скудны, а из огромного массива данных по изменчивости дефинитивных признаков ближе всего к проблемам развития данные по внутри-индивидуальной изменчивости структур с модульной организацией.

Обзор многочисленных работ по флюктуирующей лево-правой асимметрии билатерально симметричных структур показывает, что два самых важных вопроса остаются нерешенными. Не ясно, является ли такая асимметрия следствием внутренней дестабилизации морфогенеза, или же средового стресса. Не ясно также, к какой из компонент разложения фенотипической дисперсии принадлежит эта изменчивость. Если она относится к средовой компоненте, то как объяснить данные, свидетельствующие об эффективности отбора? Если же она имеет ненулевую аддитивную компоненту и адаптивную ценность, то загадкой становится ее высокий уровень, превышающий уровень изменчивости обычных фенотипических признаков.

Аналогичные проблемы возникают с внутри-индивидуальной изменчивостью признаков повторяющихся структур (метамеров или антимеров). Повторяемость таких структур в пределах особи является не пространственной, а пространственно-временной, так их расположение является следствием очередности их формирования. В количественной генетике внутри-индивидуальную изменчивость относят к средовой компоненте, но этому противоречат две группы фактов. Между уровнем изменчивости одинаковых признаков разных метамеров существуют устойчиво воспроизводимые различия, зависящие исключительно от порядка формирования метамеров в онтогенезе, а изменение уровня изменчивости часто оказывается косвенным следствием отбора по важным для приспособленности признакам. Еще больше проблем возникает в случаях, когда повторяющиеся структуры являются антимерами (например, зубные бугорки), а число этих структур варьирует. В обзоре доказывается несостоятельность попыток объяснения различий в уровне изменчивости «эффектом шкалы».

Более реалистичным и простым является объяснение, основанное на прямом участии механизма морфогенеза данной структуры в определении уровня и направлений ее изменчивости. В частности, зависимость уровня изменчивости элементов от порядка их формирования в онтогенезе может объясняться различием их биологического возраста. Это позволяет сформулировать более общую гипотезу, по которой изменчивость, возникающая в процессе развития структур, является не помехой, а фактором их нормального морфогенеза. По-видимому, эта изменчивость представляет собой нечто совершенно отличное от изменчивости структур в их дефинитивном состоянии и в принципе не укладывается в традиционную схему противоборства генетической программы развития со случайным шумом.

Это подчеркивает необходимость и актуальность прямого исследования изменчивости нормального морфогенеза и ее источников. В качестве объекта выбрана гастрюляция у трех видов бесхвостых амфибий, принадлежащих к двум разным родам, и во второй части обзора анализируются данные о механизме и механике гастрюляции амфибий, и данные об их генетической регуляции. Подчеркивается, что гастрюляционные движения складываются из нескольких относительно независимых, но при этом взаимодействующих друг с другом блоков, что позволяет использовать корреляционный и факторный анализ не только для изучения изменчивости, но и для реконструкции структуры морфогенетических движений

гастрюляции. По организации изменчивости можно судить о геометрии и механике формообразования, и наоборот, сама изменчивость может являться прямым следствием геометрии движения эмбриональных клеточных пластов.

В заключительной части обзора анализируется природа таксономических различий в гастрюляции бесхвостых амфибий и возможные факторы эволюции гастрюляции. Анализ сравнительного материала позволяет предполагать, что таксономические различия возникают из-за внутри-индивидуальных гетерохроний развития одних и тех же морфогенетических блоков гастрюляции, и для ее успешного завершения (эквивинальности) достаточно просто их наличия. Тем самым возникает возможность дивергенции таксонов на основе внутреннего резерва даже не индивидуальной, а внутри-индивидуальной изменчивости. Основными нерешенными проблемами являются причины возникновения таких гетерохроний, фиксация внутри-индивидуальных различий на генетическом уровне и их связь с приспособленностью.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.

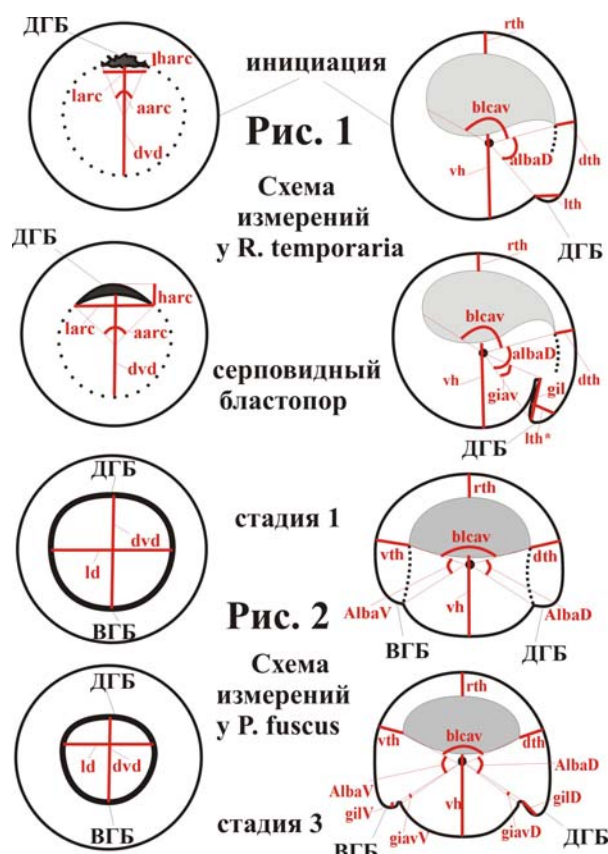
В работе использованы кладки икры бесхвостых амфибий *R. temporaria* (травяная лягушка), *Rana arvalis* (остромордая лягушка) и *Pelobates fuscus* (чесночница). Кладки *R. temporaria* и *R. arvalis* были собраны в водоемах Московской области, в естественный сезон размножения каждого вида а кладки икры *P. fuscus* – в Киевской области на естественных нерестилищах. Для минимизации влияния на изменчивость факторов, не связанных собственно с морфогенезом, в работе использовали икру, отложенную особями природных популяций в сезон размножения, причем зародыши каждой анализируемой группы были сибсами. Для выравнивания температурных условий и условий аэрации галлерты разрыхляли до образования монослоя, после чего икра развивалась в лаборатории при температуре 16-16,5° для *P. fuscus* и *R. temporaria*, и 18° для зародышей *R. arvalis*. В таких условиях гибель зародышей на эмбриональных стадиях развития (до начала вылупления) была меньше 1%. Изменчивость анализировали на фиксированном материале и у живых зародышей путем повторных прижизненных измерений.

Зародышей *R. temporaria* и *R. arvalis* фиксировали на последовательных стадиях дробления и гастрюляции, ориентируясь на «табличные» стадии нормального развития травяной лягушки (Дабаган, Слепцова, 1975): стадии 4 (8 бластомеров), 6 (32 бластомера), 11 (инициация гастрюляции), 12 (серповидный бластопор) и 13 (полукруглый бластопор). Во время гастрюляции фиксации производились через равные промежутки времени (2,5 – 3 часа при указанных выше температурах). Зародышей *P. fuscus* фиксировали во время гастрюляции на стадиях 1, 2, 3 и 4 через такие же промежутки времени, где стадия 1 соответствует стадии инициации гастрюляции у лягушек (Скобеева, Черданцев, 1999).

У фиксированных зародышей изучали наружную морфологию и внутреннее строение на анатомических срезах. Зародышей фиксировали вместе с галлертами 7,5% формальдегидом, приготовленным на стандартном растворе Гольфретера. Для приготовления анатомических срезов зародышей извлекали из галлерт и желточных оболочек, а затем бритвой разрезали в сагиттальной плоскости.

В выборе измеряемых признаков мы руководствовались следующими соображениями. Во-первых, реперные точки измеряемых признаков должны были соответствовать естественным геометрическим особенностям строения гастрюлы. Во-вторых, для каждого признака должно было быть известно основное направление его изменения при нормальном ходе гастрюляции. Схемы измерения признаков представлены на рис. 1 и 2. Линейные характеристики были измерены с помощью окуляр-микрометра и выражены в условных единицах (0,01мм), угловые характеристики – с помощью гониометра Wild-320, приспособленного к обычному бинокулярному микроскопу МБС-11. Для обозначения

морфологических признаков мы использовали буквенные обозначения, представляющие аббревиатуры английских названий соответствующих морфологических структур.



Для изучения индивидуальных траекторий развития зародышей в момент начала гаструляции помещали в индивидуальные пластиковые чашки Петри и фотографировали с помощью стереомикроскопа Zeiss Stemi SV 11 Apo (увеличение объектива 2 и окуляра 25) через каждые 30 минут на протяжении всего хода гаструляции. Зародыши развивались в галлертах и желточных оболочках. Перед каждой новой фотографией зародышей ориентировали с помощью препаровальных игл blastoporeм вверх и удерживали их в этой ориентации во время фотографирования. Дальнейший анализ полученных изображений производили с помощью пакета программ AxioVision. Всего в каждом опыте у 15 зародышей было сделано по шесть серий последовательных измерений величин *harc*, *aarc* и *larc*, характеризующих размер и форму «арки» дорсальной губы blastopora (см. рис. 1).

Методы статистического анализа.

Уровень изменчивости измеренных признаков оценивали по величине коэффициентов вариации (*CV*). Помимо изучения динамики частотных распределений измеренных признаков, задачей статистического анализа была реконструкция структуры морфогенетических движений на предгаструляционных и гаструляционных стадиях развития. Для этого использовали корреляционный и факторный анализ. Вычисленные корреляции признаков изображали в виде корреляционных графов, но из-за сложности их структуры для ее изучения использовали факторный анализ, где каждый фактор представляет собой линейную сумму взвешенных вкладов дисперсии отдельных признаков в общую дисперсию (Окунь, 1974; Джеффрис, 1981). Во всех случаях общая дисперсия распределялась между двумя (редко тремя) главными компонентами (ГК) изменчивости, и первые две ГК всегда имели однозначную морфогенетическую интерпретацию. ГК-1 соответствовала совместному изменению признаков в составе доминирующего на данной стадии морфогенетического движения, а ГК-2 – движению, доминировавшему на предыдущей стадии, или подготовке движения, которому предстоит доминировать на следующей стадии гаструляции. Отрицательная связь признаков в составе ГК-2 служила критерием циклических изменений, происходящих на фоне общего роста значений признаков. Изучение индивидуальных траекторий также было основано на корреляционном и факторном анализе. Помимо средних значений и дисперсии признаков в каждой серии измерений, были вычислены удельные скорости изменения признаков $V = (M_{n+1} - M_n)/M_n$, где M_n и M_{n+1} – средние значения признаков в последовательных сериях измерений. Числовые значения признаков нормировали по наименьшей величине значения данного признака в начальной серии измерений данного опыта. Наличие положительных корреляций между средними значениями признака в последовательных сериях измерений служило критерием наличия индивидуальных траекторий развития, а отрицательные корреляции между последовательными значениями величины V – критерием циклическости изменений.

Объем материала. Для *R. temporaria* на фиксированном материале изучены четыре кладки икры на стадиях раннего дробления (всего 240 зародышей), и четыре кладки на

последовательных стадиях гастрюляции. Одна кладка была использована в качестве модельной (всего 300 зародышей), и еще три – для сравнения с ней (по 60 зародышей каждой кладки). Изменчивость гастрюляции *R. arvalis* изучена на пяти кладках, по 100 зародышей в каждой. Изменчивость и морфогенез зародышей *P. fuscus* изучен на одной модельной кладке (всего 200 зародышей). Для прижизненного анализа гастрюляции были использованы зародыши 11 кладок *R. temporaria* (всего 159 зародышей) и 5 кладок *R. arvalis* (всего 70 зародышей).

ГЛАВА 3. АНАЛИЗ НОРМАЛЬНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГАСТРЮЛЯЦИИ АМФИБИЙ В ВЫБОРКАХ СИНХРОННО ФИКСИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ.

Выделенные признаки можно разделить на три группы. У лягушек признаки первой группы (harc, aarc и larc) характеризуют форму и размеры «арки» дорсальной губы бластопора (ДГБ), впервые появляющейся только при инициации гастрюляции. На стадии серповидного бластопора к

Таблица 1. Характеристики распределения значений признаков гастрюлы *Rana temporaria* на последовательных стадиях гастрюляции.

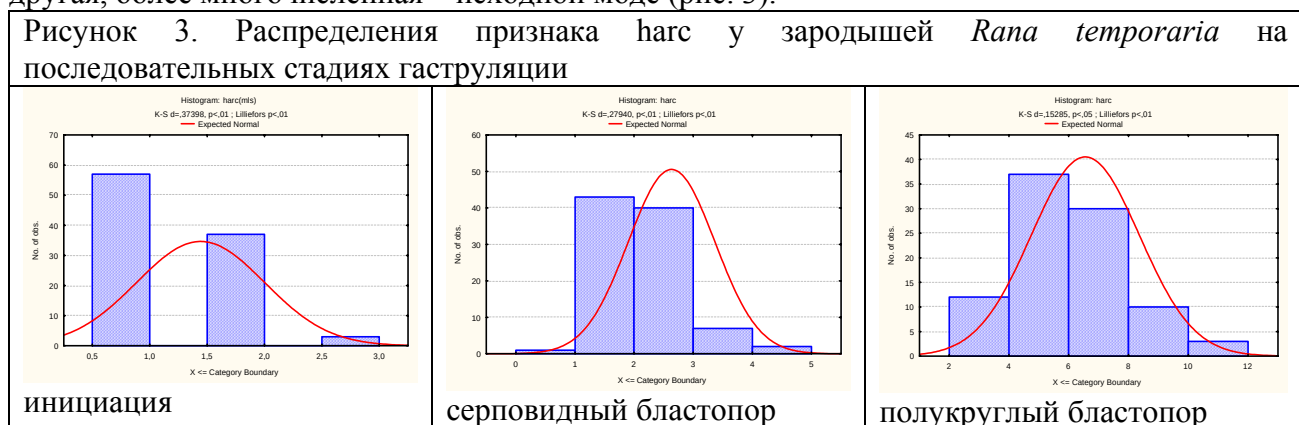
Признак	Величина	Инициация	Серповидный бластопор	Полукруглый бластопор
Aarc	M	30,7	60,5	148,6
	σ	11,8	19,1	24,8
	C_v	0,38	0,31	0,17
harc	M	1,4	2,6	6,6
	σ	0,6	0,7	1,8
	C_v	0,38	0,28	0,27
larc	M	6,4	12,0	17,0
	σ	2,4	2,9	1,4
	C_v	0,37	0,24	0,08
gil	M		3,5	9,5
	σ		1,4	2,3
	C_v		0,4	0,24
giav	M		4,7	39,6
	σ		2,9	11,9
	C_v		0,61	0,30
albaD	M	56,8	74,6	98,8
	σ	14,5	9,3	9,7
	C_v	0,25	0,12	0,11
blcav	M	129,5	118,3	104,9
	σ	24,3	16,6	14,1
	C_v	0,18	0,14	0,13

ним добавляются признаки gil и giav, характеризующие форму и размер крыши архентерона, а на стадии полукруглого бластопора новые признаки отсутствуют. Признаки второй группы (albaD, albaV, lth и dvd) характеризуют размер и форму краевой (супрабластопоральной) зоны гастрюлы, которая начинает формироваться еще во время бластуляции, но окончательно оформляется только с началом гастрюляции. Наконец, признаки blcav и vh относятся к третьей группе признаков, измерение которых не зависит от появления ДГБ и может быть сделано еще во время дробления. У чесночницы к признакам первой группы добавляются

характеристики вентральной губы бластопора (ВГБ), появляющейся одновременно с ДГБ на стадии 1, а признаки *gilD*, *gilV*, *giavD* и *giavV* впервые можно измерить на стадии 3.

У всех изученных видов наиболее высокие значения *CV* имеют признаки первой группы, а наиболее низкие – признаки второй и третьей групп, причем для признаков первой группы частотные распределения обычно отличаются от нормальных распределений (табл. 1). При логарифмировании ненормальных распределений они не нормализуются, что позволяет исключить влияние «эффекта шкалы». При сравнении зародышей разных кладок одного и того же вида, фиксированных на одной и той же табличной стадии развития, оказывается, что чем больше среднее значение признака в данной кладке (для признаков, значения которых при нормальном ходе гастрюляции увеличиваются), тем меньше величина *CV* и сильнее ненормальность частотных распределений. У лягушек частотные распределения полностью нормализуются только на стадии серповидного бластопора, а у чесночницы – на стадии 4, т. е., на стадиях, на которых признаки первой группы отсутствуют.

Таким образом, удастся вывести две общие закономерности. Во-первых, наиболее высокие величины *CV* (иногда больше 50%) имеют количественно-морфологические признаки структур, впервые появляющихся на данной стадии гастрюляции, а по мере формирования этих структур их изменчивость сокращается. Такая динамика прямо противоположна тому, что можно было бы ожидать при накоплении «ошибок развития». Увеличение масштабов изменчивости в начале формирования структуры, впервые возникающей у данного зародыша говорит о том, что эта структура, хотя ее появление предусмотрено генетической программой развития, возникает на основе самоорганизации. Значит, генетическая программа развития вовсе не исключает того, что новые гены включаются у порога естественной потери устойчивости действующей системы морфогенетических корреляций. Во-вторых, при возникновении новой структуры частотные распределения характеризующих ее признаков не нормальны, что исключает простейшую модель направленного изменения количественных признаков, основанную на сдвиге моды нормального распределения. Как правило, в начале формирования структуры выделяются две группы зародышей, одна из которых, менее многочисленная, соответствует будущей, а другая, более многочисленная – исходной моде (рис. 3).



ГЛАВА 4. НОРМАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАННЕГО ДРОБЛЕНИЯ ТРАВЯНОЙ ЛЯГУШКИ НА САГИТТАЛЬНЫХ АНАТОМИЧЕСКИХ СРЕЗАХ ЗАРОДЫШЕЙ.

Описанная изменчивость может быть следствием самой организации гастрюляции, но возможно, что это следствие различий в начальных условиях и истории развития зародышей. Чтобы исключить такую возможность, мы взяли период раннего дробления (стадии 8-16 бластомеров), контрастный периоду гастрюляции ввиду отсутствия коллективного движения клеток. При измерении на стадии 8 бластомеров углового размера анимального, вегетативного, дорсального и вентрального полушария, а также углового размера отдельных

бластомеров на сагиттальных анатомических срезах, оказалось, что угловой размер дорсального полушария достоверно ($p < 0.05$) меньше размера вентрального полушария. Значит, дорсовентральная полярность проявляется не только в неравномерном распределении компонент цитоплазмы, но и в различии геометрической формы полушарий. При этом величины CV для всех измеренных признаков варьируют в диапазоне 5-10%, т. е. на том же уровне, что и признаки сериально-гомологичных элементов дефинитивных структур. На стадии 16 бластомеров значения CV изменчивость углового размера бластомеров краевой зоны зародыша, т. е., контактирующих друг с другом бластомеров анимального и вегетативного полушария, возрастают до величины (30-40%), характерной для изменчивости первой группы признаков гастрюлы.

Низкий уровень изменчивости характеристик, имеющих прямое отношения к разметке морфогенеза на последующих стадиях развития – это, прежде всего, различие формы и размера дорсального и вентрального полушария зародыша – означает, что изменчивость гастрюляции не является следствием изменчивости разметки. Анализируя изменчивость дробления, мы сталкиваемся с теми же закономерностями, что и при анализе изменчивости гастрюляции. Изменчивость возрастает в экваториальной зоне зародыша, где клетки активнее всего изменяют свою форму, так как клетки разного размера (анимальные и вегетативные бластомеры) пытаются создать общую для них кривизну наружной поверхности. Очевидно, уровень изменчивости пропорционален уровню активности формообразования в данной зоне. При этом величины CV для углового размера контактирующих друг с другом анимальных (мелких) и вегетативных (крупных) бластомеров одинаковы, что, опять-таки, позволяет исключить влияние «эффекта шкалы» на оценку величины изменчивости. Нарастание изменчивости при переходе к формированию краевой зоны зародыша хорошо согласуется с изменчивостью генеалогии эмбриональных закладок у амфибий, когда вклад потомков данного бластомера в данную закладку варьирует в очень широких пределах (Moody, 1987).

ГЛАВА 5. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ГАСТРЮЛЯЦИОННЫХ ДВИЖЕНИЙ.

При корреляционном и факторном анализе изменчивости в модельной кладке *R. temporaria* выделяются одни и те же сочетания признаков, характеризующие геометрию гастрюляционных движений. Это означает, что основной вклад в изменчивость данного блока признаков вносит их ковариация, что является одним из объяснений высокого уровня изменчивости. Выяснив это, в качестве основного метода мы выбрали факторный анализ, так как его результаты легче интерпретировать, минуя сложные промежуточные рассуждения, а признаки, входящие в ГК-1 и ГК-2, прямо соответствуют компонентам векторов коллективного движения клеток. На стадии инициации в ГК-1 входят (со знаком плюс) меридиональная длина краевой зоны (AlbaD) и высота желточной энтодермы (vh), а со знаком минус – угловой размер бластоцеля (blcav) (рис. 4). Это *предгастрюляционная эпибolia* – подъем желточной энтодермы, ведущий к редукции бластоцеля и обрастанию энтодермы эктодермой. В ГК-2 находятся признаки арки ДГБ, за исключением признака haгс, характеризующего кривизну арки. Это *гастрюляционная эпибolia*, когда движение арки ДГБ идет за счет планарной интеркаляции (Keller, Davidson, 2006), а собственная динамика формы арки еще отсутствует. На стадии серповидного бластопора гастрюляционная эпибolia становится доминирующим процессом (ГК-1), а предгастрюляционная эпибolia переходит в ГК-2. На стадии полукруглого бластопора к ГК-1 присоединяется признак haгс, характеризующий кривизну («высоту») арки ДГБ, и доминирующим процессом становится *планарная конвергенция* (Cherdantsev, 2006): механизмом движения арки ДГБ становится изменение ее собственной формы за счет конвергенции вовлекающихся в нее потоков клеток. Блок предгастрюляционной эпиболлии распадается, так как признак AlbaD переходит в состав ГК-1. Кроме того, начинается распад блока признаков арки, так как ее угловой (aaгс)

и линейный (*larc*) размер входят в разные ГК. Если на предыдущих стадиях можно было пренебречь ГК-3, куда входило менее 5% общей дисперсии, то теперь на ее долю приходится более 10%, но факторные нагрузки признаков в ГК-2 и ГК-3 статистически недостоверны. Распад блока арки связан с разобщением латерального распространения ДГБ и антеропостериорного вытяжения крыши архентерона (Cherdantsev, 2006). Снижение изменчивости на стадии полукруглого бластопора явно связано с уменьшением числа блоков ковариации, в которые входят одни и те же признаки.

Такая же последовательность возникновения и распада блоков морфогенетических корреляций наблюдалась в остальных кладках *R. temporaria*, а также во всех изученных кладках *R. arvalis*. Она оставалась неизменной и у *P. fuscus* – у вида с совершенно иным типом гастрюляции, начинающейся с замкнутого бластопора. Несмотря на его раннее замыкание, на стадиях 1 и 2 доминирует предгастрюляционная, а начиная со стадии 3 – гастрюляционная эпибolia, на которую накладывается планарная конвергенция. Межвидовые и межкладочные различия сводятся к обычным гетерохрониям: у лягушек планарная конвергенция часто начинается на стадии серповидного бластопора.

Морфогенетический цикл движения ДГБ. Цикличность основного гастрюляционного движения (планарной конвергенции) выявляется при факторном анализе признаков, характеризующих только ДГБ, на более коротких отрезках гастрюляции, начиная со стадии серповидного бластопора. Одни и те же признаки, положительно коррелирующие в составе ГК-1, связаны отрицательной корреляцией в составе ГК-2, причем всегда можно выделить отрезки, на которых отрицательная связь переходит в состав ГК-1. Это означает, что за непрерывным ростом размера арки ДГБ и размера архентерона стоит чередование противоположно направленных изменений формы, причем на определенных отрезках именно оно становится основным источником изменчивости. Такие отрезки удается выделить в гастрюляции всех изученных видов. Цикл состоит в чередовании накопления клеток в арке ДГБ с увеличением ее кривизны и задержкой развития архентерона, и проталкивания этих клеток в крышу архентерона с увеличением ее антеропостериорного размера и уменьшением кривизны арки.

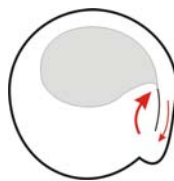
Источники изменчивости. Основным источником является перестройка системы морфогенетических корреляций. Новые блоки изменчивости формируются путем «собирания» признаков распадающихся исходных блоков, и максимальная изменчивость наблюдается тогда, когда одни и те же признаки одновременно входят в состав разных блоков. Обычная проблема количественно-морфологического подхода к описанию развития состоит в том, что измеряемые признаки являются условными характеристиками. В нашем случае дело обстоит иначе, так как главные компоненты изменчивости, выделяемые с помощью факторного анализа, совпадают с векторами коллективного движения клеток, а блоки изменчивости, которые при этом выделяются, точно соответствуют основным структурным блокам, из которых зародыш состоит на данной стадии гастрюляции.

Не менее важной причиной изменчивости является сама структура основного гастрюляционного движения. Из-за возникающей ввиду конвергенции обратной связи между вовлечением клеток в арку ДГБ и изменением ее формы, форма арки у разных зародышей различается из-за внутри-индивидуальных различий между кривизной медианных (старших по возрасту) и латеральных (младших по возрасту) участков арки. Например, величина *harc* в каждый момент времени складывается из двух компонент – величины прироста *harc* в медианной зоне за счет увеличения ее собственной кривизны (*harc1*), и величины прироста *harc* (*harc2*) за счет латерального распространения ДГБ (рис. 5). Тогда дисперсия величины *harc* равна сумме дисперсий *harc1* и *harc2*, плюс удвоенная величина ковариации *harc1* и *harc2*. До тех пор, пока рост кривизны медианной зоны и рост кривизны латеральных зон представляют собой последовательные стадии одного и того же изменения формы, ковариация положительна, а после разобщения движения и латерального распространения ДГБ она становится равной нулю, и изменчивость снижается.

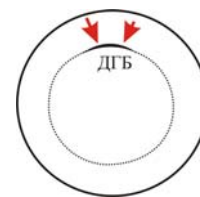
Рисунок 4. Анализ главных компонент

Стадия инициации

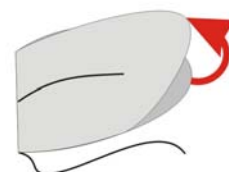
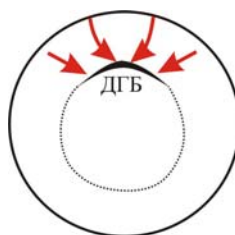
Признаки	Факторные нагрузки	
	ГК-1	ГК-2
aarc	-0,34	0,88
harc	-0,34	0,02
larc	-0,25	0,92
alba	0,83	0,33
blcav	-0,92	-0,21
vh	0,87	0,09
lth	0,18	0,06



Предгастрляционная
эпиболия



Гастрляционная
эпиболия



Планарная конвергенция (ГК-1 на стадии полукруглого бластопора): Тонкие стрелки – клеточные потоки, толстая – движение края ДГБ

Полукруглый бластопор

Признак	Факторные нагрузки	
	ГК-1	ГК-2
aarc	0,75	0,00
harc	0,67	0,28
larc	0,29	0,57
giav	0,80	-0,27
gil	0,80	-0,27
lth	-0,25	0,55
alba	0,69	0,14
blcav	-0,51	-0,39
dvd	-0,49	0,38
vh	0,14	0,73

Серповидный бластопор

Признак	Факторные нагрузки	
	ГК-1	ГК-2
aarc	0,81	-0,24
harc	0,26	-0,09
larc	0,81	-0,13
giav	0,72	0,00
gil	0,81	0,03
lth	0,36	0,04
alba	0,46	0,62
blcav	-0,26	-0,79
dvd	-0,29	0,61
vh	-0,05	0,74

Наконец, существенный вклад в изменчивость вносит цикличность основного гастреляционного движения, предполагающая циклическое чередование различий формы арки ДГБ и формы крыши архентерона у одного и того же зародыша. В основе всех перечисленных источников индивидуальной изменчивости лежит внутри-индивидуальная изменчивость.

ГЛАВА 6. ДИНАМИКА ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ В ПРОЦЕССЕ ГАСТРУЛЯЦИИ ТРАВЯНОЙ ЛЯГУШКИ. *Динамика средних значений и изменчивости.* При всех преимуществах работы с фиксированным материалом, проследить реальный ход изменения количественно-морфологических признаков можно только с помощью многократных прижизненных измерений. В опытах с прижизненной регистрацией и последующим измерением морфологических характеристик арки ДГБ – признаков *larc*, *aarc* и *harc* – их средние значения непрерывно возрастали, а величина *CV* уменьшалась (рис. 6). Несмотря на все

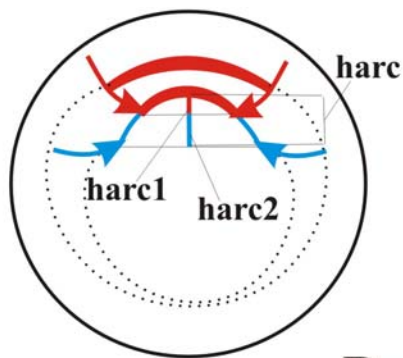


Рис. 5

Источниками изменчивости медианной кривизны (*harc*) арки ДГБ являются изменение ее формы (*harc1*), латеральное распространение (*harc2*), и их положительная ковариация. Стрелки - клеточные потоки.

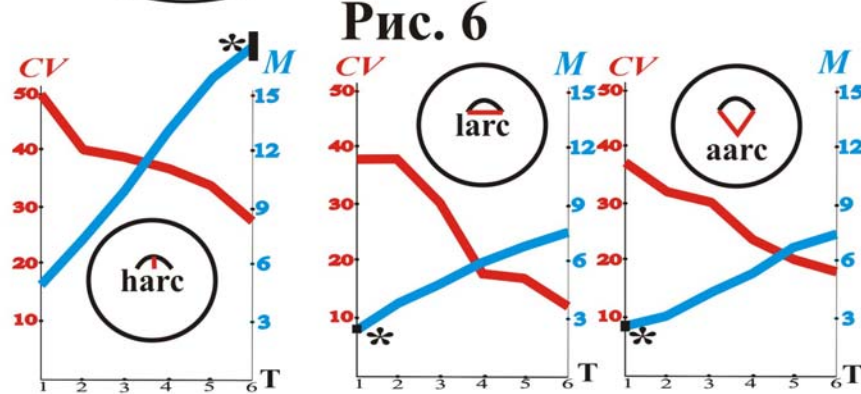


Рис. 6

Динамика изменчивости (*CV*) и средних значений (*M*) признаков в последовательных сериях измерений

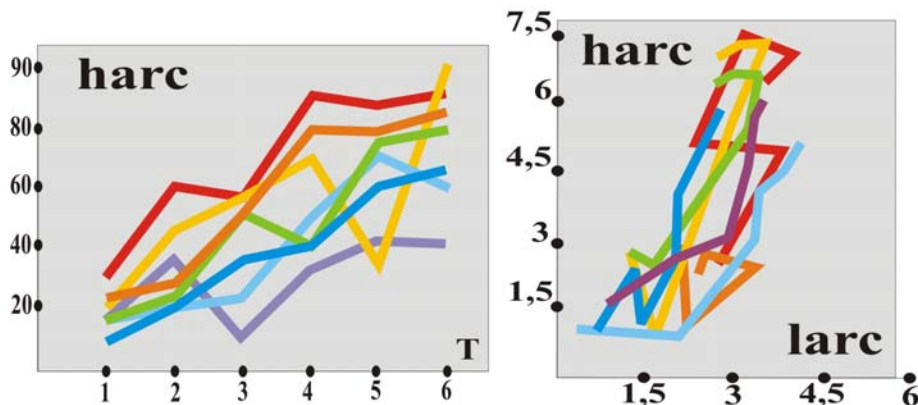


Рис. 7 Индивидуальные траектории гастрюляции (Т - номер серии измерений, цвет - один и тот же зародыш)

межкладочные различия, собственная кривизна арки ($harc$), формирующаяся в морфогенезе ДГБ в последнюю очередь, имеет наиболее высокий уровень изменчивости и наибольшую величину изменения за время регистрации. Если для каждой кладки вычислить среднее значение CV и среднее значение величины удельной скорости роста для каждого из признаков, то для всех признаков между этими величинами обнаруживается положительная корреляция, достоверная несмотря на малый объем выборки (всего 11 кладок). Изменчивость (внутрииндивидуальная изменчивость) играет роль аналога потенциальной энергии – чем больше ее запас, и чем медленнее он расходуется, тем больше величина изменения признака за данный промежуток времени. Форму арки ДГБ можно характеризовать величиной индекса $rellip = harc/larc$ (отношение кривизны арки ДГБ к ее линейному размеру). В начале гастрюляции величина индекса остается постоянной, но из-за огромных величин CV это означает не равномерный рост арки, а регуляцию ее формы. Величина $rellip$ растет, когда она слишком мала и падает, когда она слишком велика, поэтому среднее значение индекса не изменяется, его рост начинается после уменьшения изменчивости. Состояние, в котором бы арка ДГБ увеличивала свой размер равномерно во всех направлениях, просто отсутствует.

Индивидуальные траектории гастрюляции. Типичные индивидуальные зависимости значения признаков от времени и друг от друга приведены на рис. 7. Траектории с равномерным изменением значений признаков полностью отсутствуют. Большинство (80%) траекторий изменения признаков $harc$ и $larc$ складываются из одного или двух (редко трех) скачков, чередующихся с остановками изменения признака, или даже его изменением в обратном направлении. Скачки соответствуют коррелированному изменению признаков $harc$ и $larc$, остановки – разрыву корреляции. Такая динамика характерна для автоколебаний (Белинцев, 1990). Корреляционные графы в объединенной выборке кладок (для уменьшения влияния кладки данные измерений нормировали по средним значениям величины признаков в начальной серии измерений) представлены на рис. 8а для признака $harc$. Индивидуальные траектории действительно существуют, так как соседние по времени измерения связаны положительной корреляцией (за исключением начальных стадий гастрюляции), но они нестабильны, так как через одно или два измерения эта корреляция утрачивается. К аналогичным, но более точным выводам приводит факторный анализ последовательных измерений одного и того же признака. Факторный анализ выделяет две главные компоненты, где в ГК-2 входят значения признаков в первой серии измерений, а в ГК-1 – его значения во всех последующих сериях. Выпадение признаков в первой серии из общей изменчивости означает учитывая отсутствие корреляции с последующими измерениями, что индивидуальные траектории возникают только тогда, когда основное гастрюляционное движение начинает контролироваться геометрической формой арки.

Наличие рефрактерного периода в динамике изменения признаков доказывается наличием отрицательных корреляций между скоростями роста величин $harc$, $larc$ и $aarc$. Последовательные измерения величины признаков $harc$, $larc$ и $aarc$ позволяют для каждого зародыша вычислить скорость роста каждого признака $V = (M_{n+1} - M_n)/M_n$, где M_n и M_{n+1} – значения признаков в данном и следующем за ним измерении. Для всех признаков корреляции скоростей роста на соседних отрезках развития либо статистически недостоверны, либо отрицательны: это означает, что быстрое изменение величины признака у данного зародыша на данном отрезке гастрюляции вызывает замедление или остановку его роста на последующем отрезке, и наоборот. Для признаков $larc$ и $aarc$ отрицательная связь величин V_n и V_{n+1} наблюдается между первым и вторым, вторым и третьим, и третьим и четвертым отрезками развития, для признака $harc$ статистически достоверная отрицательная связь между третьим и четвертым отрезком отсутствует, но она есть между третьим и пятым отрезком. Таким образом, движение губы связано с квазиритмическими пульсациями ее формы, число которых варьирует от одного до трех.

Модель геометрической регуляции динамики основного гастрюляционного движения. Индивидуальные траектории развития появляются только с возникновением геометрического контроля основного гастрюляционного движения, т. е., вовлечения клеток в состав арки ДГБ

и их перехода в состав крыши архентерона за счет изменения формы арки. Это пространственно распределенное движение, но мы попытались найти его точечный аналог в виде простого уравнения с помощью следующего геометрического построения (рис. 9). Программа AxioVision позволяет разделить арку ДГБ, независимо от ее формы, на три участка одинакового углового размера, один медианный, и два латеральных участка. После этого с помощью той же программы мы строили окружность с радиусом R_D , максимально приближенным к радиусу кривизны медианного участка, и окружность с радиусом R_L , максимально приближенным к радиусу одного из латеральных участков. Поскольку изменчивость формы губы по мере ее развития сокращается за счет уменьшения внутрииндивидуальной изменчивости, в качестве динамической переменной естественно взять величину X , равную расстоянию между центрами двух построенных окружностей (см. рис. 9).

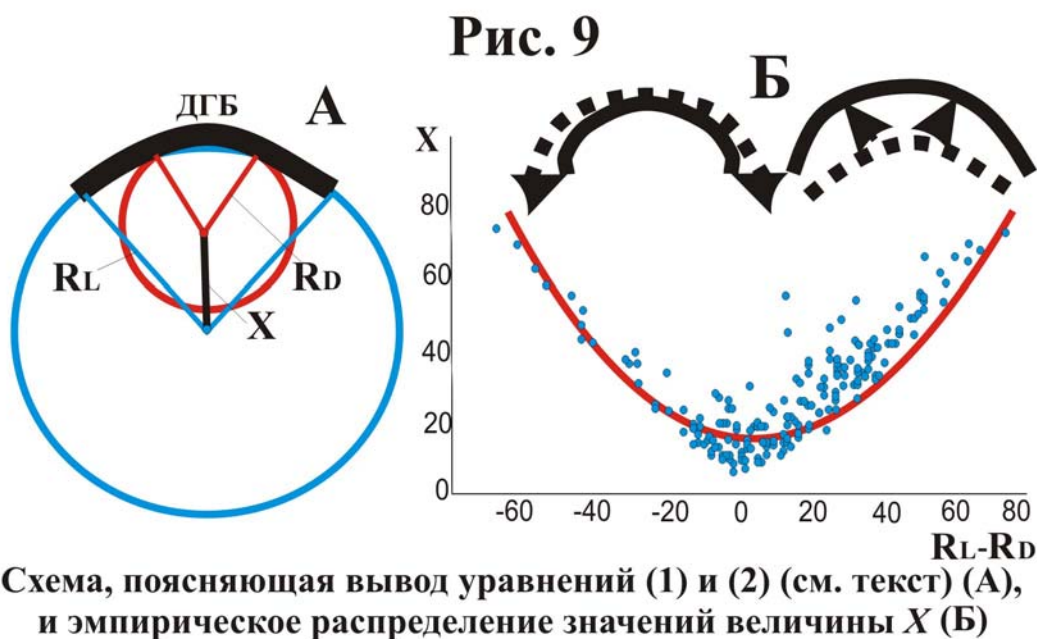
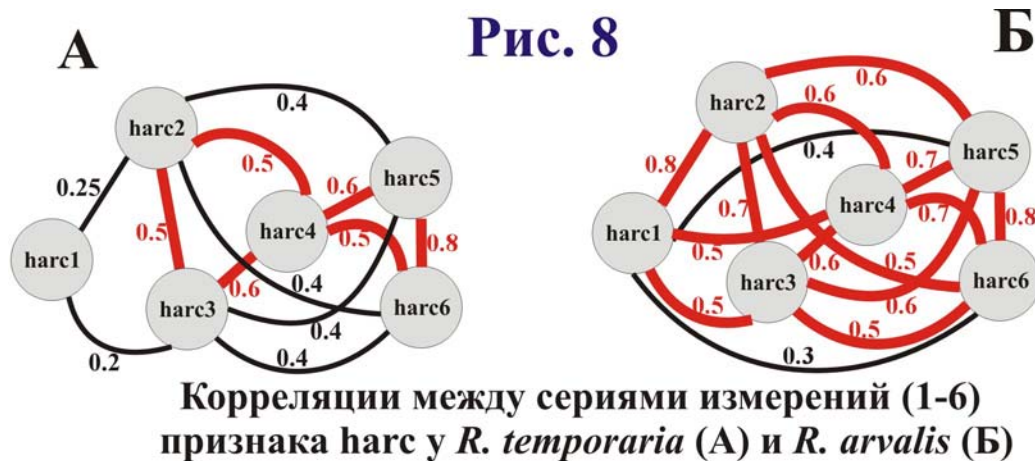
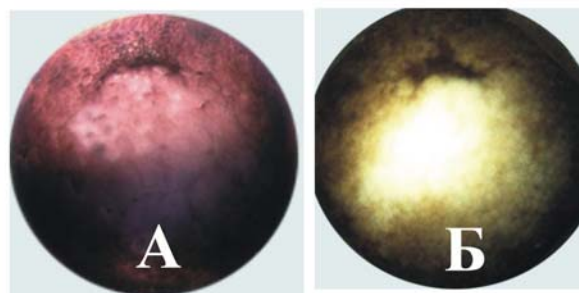


Рис. 10

У *R. arvalis* (А) ДГБ сначала идет по границе краевой зоны, а у *R. temporaria* (Б) сразу начинает формировать собственную кривизну



Эмпирические точки зависимости величины X от разности радиусов латеральной и медианной зоны $R_L - R_D$ ложатся на параболу, минимуму которой соответствует нулевая величина этой разности, т. е. пространственно однородная форма арки, близкая к фрагменту окружности (рис. 9). Чем ближе к минимуму, тем выше концентрация эмпирических точек, из чего следует, что ветви параболы соответствуют серии отображений контуров ДГБ друг в друга, в каждый момент времени совпадающих с траекториями коллективного движения клеток.

Если принять, что особая точка параболической кривой является аттрактором динамической системы, движение которой направлено на уменьшение пространственной дисперсии кривизны арки ДГБ, то мы получаем уравнение $dX/dt = X (R_L - R_D)$ (1). Величина $(R_L - R_D)$ в уравнении (1) пропорциональна величине изменчивости, т. е., величине зональных различий по любым количественным характеристикам формы ДГБ, стремящейся к нулю, когда губа приближается к пространственно однородной форме. Если принять что дорсальный полюс бластопора не обязательно совпадает с точкой инициации гастрюляции, то получается уравнение $dX/dt = X (R - R^*)$, где величина R является радиусом любого данного участка губы, а величина R^* – средним радиусом всей губы. Из уравнения (2) следует, что морфогенетическая система движется в сторону минимизации пространственной неоднородности со скоростью, в каждый момент времени равной величине этой неоднородности. Математически это эквивалентно основному утверждению фундаментальной теоремы отбора (теоремы Фишера), согласно которому система движется в сторону максимизации приспособленности со скоростью, равной величине изменчивости приспособленности в данный момент времени. Аналогом приспособленности является способность участка вовлекать окружающие участки в собственное движение.

Уравнение (2) описывает только отдельные отрезки изменения формы ДГБ, так как ни на одной из стадий гастрюляции арка ДГБ не является фрагментом окружности. В диссертации предлагается модель автоколебательного движения ДГБ, представляющая плоскостную (в плоскости бластопора) версию морфогенетического цикла, описанного в Главе 5.

ГЛАВА 7. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ В ОРГАНИЗАЦИИ ГАСТРЮЛЯЦИИ У ИЗУЧЕННЫХ ВИДОВ АМФИБИЙ.

Травяная и остромордая лягушка являются близкими видами одного рода. Судя по морфологии, гастрюляция остромордой лягушки теснее связана с предгастрюляционной разметкой. У травяной лягушки геометрическая связь между формой границы бластопора и арки ДГБ гораздо слабее и ограничена точкой касания обеих кривых на дорсальном полюсе бластопора (рис. 10). Такие различия не являются видовыми, так как для каждого вида можно подобрать кладки, которые будут различаться примерно так же, но статус этих различий повышается из-за того, что для индивидуальных траекторий гастрюляции остромордой лягушки величины корреляций между последовательными измерениями зародышей гораздо выше (рис.8б). Повышение устойчивости траекторий делает связь хода гастрюляции с предгастрюляционной разметкой более тесной, а платой за это является снижение способности к изменению темпов гастрюляции. Учитывая, что травяная лягушка является, скорее всего более молодым (эволюционно более поздним) видом, «детерминированное» развитие остромордой лягушки следует считать эволюционно исходным, а «развитие с метаморфозом» у травяной лягушки – производным состоянием. Различие в организации изменчивости может быть следствием действующего у травяной лягушки отбора на акселерацию развития (Северцов, 2004). Учитывая положительную связь между уровнем изменчивости признаков и скоростью их направленного изменения, такому отбору может способствовать дестабилизация индивидуальных траекторий развития, если она не ведет к снижению приспособленности. С другой стороны, перемещение закладки ДГБ

на более ранние этапы предгастрюляционной эпиболии может быть чисто морфогенетическим следствием увеличения относительного объема желтка.

Гораздо меньше с действием отбора связаны макроэволюционные различия между ранними стадиями гастрюляции у чесночницы и лягушек. Количественно морфологический анализ показывает, что до появления настоящей губы бластопора (до стадии 3) у чесночницы отсутствуют достоверные различия между гомологичными характеристиками дорсальной и вентральной стороны, которые у обоих видов лягушки есть уже на стадии инициации гастрюляции. У лягушек доминирование дорсального сектора супрабластопоральной зоны ведет к стягиванию клеток на дорсальную сторону еще до начала гастрюляции, поэтому развитие ВГБ задерживается вплоть до полного замыкания бластопора. При этом, если говорить собственно о морфогенезе, то различия совершенно разного эволюционного и таксономического масштаба укладываются в единый эволюционный ряд: гастрюляция травяной лягушки отличается от гастрюляции остромордой лягушки в том же направлении, в каком гастрюляция остромордой лягушки отличается от гастрюляции чесночницы. У чесночницы вся окружность бластопора участвует в морфогенетическом цикле основного гастрюляционного движения, у остромордой лягушки окружность бластопора направляет латеральное распространение ДГБ, а у травяной лягушки от формы этой окружности зависит только положение точки инициации гастрюляции. Таким образом, общий эволюционный тренд состоит в усилении доминирования ДГБ независимо от конкретных направлений отбора.

ВЫВОДЫ

1. Для трех изученных видов бесхвостых амфибий установлена положительная связь между уровнем изменчивости количественно-морфологических характеристик зародыша в процессе гастрюляции и на догастрюляционных стадиях развития, и активностью формообразования.
2. Изменчивость количественно-морфологических характеристик максимальна при инициации новых для данной стадии развития эмбриональных структур (например, губы бластопора), а затем уменьшается по мере завершения их морфогенеза.
3. В основе индивидуальной изменчивости гастрюляции лежат внутри-индивидуальные (зональные) различия, возникающие в процессе формирования структуры и исчезающие по завершении ее морфогенеза.
4. Основным источником дисперсии количественно-морфологических признаков является дисперсия их взаимодействия: изменчивость нарастает при разрушении исходной системы морфогенетических корреляций и возникновении новых обратных связей между движением областей и их геометрией.
5. Дополнительной причиной высокого уровня изменчивости является низкая устойчивость индивидуальных траекторий развития – низкие (часто нулевые) корреляции между последовательными измерениями признаков у одних и тех же зародышей.
6. Морфогенез дорсальной губы бластопора у всех изученных видов амфибий связан с циклическим чередованием пространственно однородной и пространственно неоднородной формы губы, причем уровень изменчивости служит контрольным параметром основного гастрюляционного движения.
7. На основе сравнительно-морфологического анализа изменчивости гастрюляции остромордой и травяной лягушки показано, что эволюционно исходным типом является гастрюляция остромордой лягушки, а его изменение у травяной лягушки является следствием дестабилизации индивидуальных траекторий гастрюляции в результате отбора, направленного на акселерацию развития.

8. В морфологическом ряду чесночница → остромордая лягушка → травяная лягушка показано усиление доминирования дорсальной губы blastopore как организатора гастрюляционных движений, являющееся, по-видимому, основным трендом эволюции морфогенеза амфибий.

±

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. Cherdantsev V.G., Scobeyeva V.A. The morphological basis of self-organization: developmental and evolutionary aspects.// *Rivista di Biologia (Biology Forum)* 1994, V. 87, P. 57-85.
2. Скобеева В.А., Черданцев В.Г. Дорсовентральная поляризация гастрюляционных движений у зародышей чесночницы (*Pelobates fuscus* L.): реконструкция механизма на основе анализа индивидуальной изменчивости.// *Онтогенез*, 1999, т.30, N 6, с. 436-447.
3. Scobeyeva V. A. The natural variability of morphogenesis: a tool for exploring the mechanics of gastrulation movements in amphibian embryos, // *International Journal of Developmental Biology*, 2006, V.50, P.315-322
4. Cherdantsev V. G., Scobeyeva V. A. The within-individual basis of between-individual differences. // *Информационный Вестник ВОГиС*, 2009, Т. 13, с. 144-150

Тезисы докладов

1. Scobeyeva V. A. The natural variability of metric morphological characters in amphibian gastrulation, // 1-st Meeting of The European society for Evolutionary Developmental biology, 2006, P.60
2. Scobeyeva V. A., Cherdantsev V. G. The within-individual basis of between-individual differences// 2-nd Meeting of The European society for Evolutionary Developmental biology, 2008, P.182
3. Scobeyeva V. A, Cherdantsev V. G. The genetic influence on the variability of amphibian gastrulation – dorsal is more robust, than ventral // 3-rd Meeting of The European society for Evolutionary Developmental biology, 2010, P.254