

УДК 591.39:591.34:593:71

ИНДУКЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЗАДНЕГО КОНЦА ПЛАНУЛЫ МОРСКОГО ГИДРОИДА *Dynamena pumila*

© 2011 г. Ю. А. Краус

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет,
Кафедра биологической эволюции 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1/12

E-mail: yulia_kraus@hydrozoa.org

Поступила в редакцию 27.01.2010

Окончательный вариант получен 13.09.2010

Активность регионов-организаторов необходима для формирования плана строения развивающегося организма. Трансплантация фрагмента такого региона организму-реципиенту приводит к формированию вторичной оси тела, состоящей из тканей как донора, так и реципиента (Gerhart, 2001). Объект данной работы, представитель Cnidaria, беломорский гидроидный полип *Dynamena pumila* L. (Thecaphora, Sertulariidae), обладает высокоорганизованной колонией, которая формируется в ходе сложного метаморфоза личинки-планулы. Для выявления у личинки *Dynamena* региона-организатора, были выполнены эксперименты по трансплантации фрагментов тканей планулы-донора эмбрионам, находящимся на стадиях ранней и поздней гастрюлы, а также планулам. Только пересадка фрагмента заднего конца планулы-донора плануле-реципиенту того же возраста приводила к развитию в ходе метаморфоза вторичного побега, использующего для своего формирования до 50% тканей реципиента. При трансплантации фрагментов переднего конца и середины тела планулы, у реципиентов никогда не наблюдалось формирования каких-либо эктопических структур. Был сделан вывод о том, что задний конец планулы *Dynamena* обладает свойствами организатора.

Ключевые слова: Cnidaria, Hydrozoa, индукция, организатор, трансплантация, эмбриональное развитие, личинка, метаморфоз.

Формирование плана строения в онтогенезе любого организма – результат межклеточных и межтканевых взаимодействий. Эмбриональная индукция – наиболее важный класс таких взаимодействий – была описана Шпеманом и Мангольд в 1924 году (Sander, Faessler, 2001). В 1921–1923 гг. они обнаружили, что фрагмент дорзальной губы бластопора эмбриона амфибии, трансплантированный на вентральную сторону эмбриона-реципиента, индуцирует формирование вторичной оси тела, состоящей, в основном, из тканей реципиента (Spemann, Mangold, 1924). Этими авторами было введено в эмбриологию понятие “эмбриональный организатор”. В последующих экспериментах гомологи организатора амфибий были обнаружены и детально изучены у представителей всех классов позвоночных животных (DeRobertis et al., 2000; Gerhart, 2001; Stern, 2006). В современной биологии развития эмбриональный организатор определяется как “регион, фрагмент которого способен к индукции вторичной оси тела при эктопической трансплантации” (Stewart, Gerhart, 1990). Активность регионов-организаторов характерна для эмбрионального развития не только позвоночных, но и беспозвоночных животных. Например, в эмбриогенезе иглокожих (некоторых видов морских ежей) вегетативные микромеры дифференцируются в клетки скелето-

генной мезенхимы, но, кроме того, действуют как организационный центр, индуцирующий формирование архентерона и вторично-мезенхимных структур (Ransick, Davidson, 1993; McClay et al., 2000). У представителя низших хордовых, ланцетника *Branchiostoma belcheri*, дорзальная губа бластопора в экспериментах индуцирует формирование вторичной оси тела (Tung et al., 1962).

В последние годы было обнаружено, что индукционная активность регионов-организаторов основана на сходных молекулах и сигнальных путях даже у таких далеких друг от друга таксонов, как позвоночные, головохордовые, иглокожие, полухордовые, и, возможно, моллюски (Lowe et al., 2006; Yu et al., 2007; Garcia-Fernandez et al., 2007; Lambert, 2008). С биохимической точки зрения, организатор представляет собой сложный сигнальный центр, отвечающий за поддержание градиентов молекул, являющихся компонентами сигнальных каскадов, главным образом BMP- и Wnt-сигнальных путей (Garcia-Fernandez et al., 2007). Распространенность эмбриональных организаторов среди разных таксонов животных, а также их функциональная и биохимическая консервативность, заставляют задуматься о том, насколько рано в эволюции появились регионы-организаторы.

Cnidaria, низшие многоклеточные животные, обладают примитивным планом строения: их двухслойное тело не имеет дорзо-вентральной оси. В онтогенезе многих представителей этого типа наблюдается четкая преемственность полюсов и осей: анимальный полюс яйцеклетки соответствует полюсу эмбриона, где происходит интернализация презумптивной эндодермы, заднему концу личинки-планулы и оральному полюсу полипа (Freeman, 1981, 1983; Momose, Schmid, 2006; Momose, Houlliston, 2007; Fritzenwanker et al., 2007). Данные молекулярно-биологических исследований показывают, что в регионе полюса, где происходит гастрюляция, экспрессируются гены, специфичные для эмбриональных организмов высших Metazoa (Hayward et al., 2002; Lee et al., 2006; Rentzsch et al., 2006; Matus et al., 2006; Momose, Schmid, 2006; Momose, Houlliston, 2007; Momose et al., 2008; Saina et al., 2009). Можно предположить, что именно в этом регионе локализован эмбриональный организатор. К сожалению, проверка этой гипотезы была выполнена только для *Nematostella vectensis* (класс Anthozoa). Было показано, что способностью индуцировать формирование эктопической вторичной оси обладает фрагмент губы бластопора инвагинационной гастрюлы *Nematostella* (Kraus et al., 2007).

Для пресноводного полипа *Hydra* (класс Hydrozoa) показано, что трансплантация фрагмента гипостомы (околоротовой области) полипу-реципиенту приводит к формированию вторичного тела, состоящего, в основном, из тканей реципиента (Browne, 1909; Broun et al., 2005). Таким образом, гипостом гидры является настоящим организатором, хотя его активность проявляется в постэмбриональном периоде. Поскольку вегетативное размножение (почкование) играет огромную роль в жизненном цикле гидры, формирование плана строения для нее – непрекращающийся процесс, а для его регуляции необходима постоянная активность региона-организатора (MacWilliams, 1983). Показано, что индукционная активность гипостомы гидры основана на взаимодействии тех же самых молекул и сигнальных путей, что и активность эмбриональных организаторов позвоночных животных (Broun et al., 2005; Rentzsch et al., 2007). Гипостомальный организатор интересен также и тем, что у многих кишечнополостных оральная часть первичного полипа формируется непосредственно из заднего конца личинки-планулы, а он, в свою очередь, соответствует области презумптивной эндодермы у видов с поляризованной гастрюляцией.

В наиболее яркой форме непрерывное формирование присутствует в жизненном цикле колониальных Hydrozoa, у которых постоянно формируются новые элементы (модули) колонии (Марфенин, 1993; Marfenin, Kossevitch, 2004). Обладают ли колониальные гидроиды регионами-организаторами?

Существуют данные об индукционной активности заднего конца тела личинки – планулы морского колониального гидроида *Hydractinia echinata*. При пересадках небольшого витально окрашенного фрагмента заднего конца планулы в тело первичного полипа или в среднюю область тела планулы-реципиента было обнаружено, что задний конец тела планулы *Hydractinia* обладает свойствами организатора: индуцирует развитие вторичной оси тела у планулы-реципиента и эктопических структур (щупалец) у полипа (Stumpf et al., 2010). Несмотря на то, что гастрюляция этого вида морфологически аполлярна, наблюдается строгая преемственность между анимальным полюсом яйцеклетки и задним концом планулы (Plickert et al., 2006). Было показано, что в регионе, который впоследствии становится задним концом личинки, на протяжении всего эмбрионального развития экспрессируются гены, продукты которых вовлечены в канонический сигнальный каскад Wnt/beta – catenin/Tcf (Plickert et al., 2006; Stumpf et al., 2010). Эти же гены экспрессируются и у зооидов *Hydractinia* в области гипостомы, причем гиперактивация Wnt-пути ведет к усилению почкования, подавлению роста столонов, формированию эктопических щупалец и гипостомов у зооидов колонии (Muller et al., 2007). Можно предположить, что для нормального формирования колонии *Hydractinia* необходима постоянная активность гипостомальных организаторов, которыми обладают взрослые зооиды и развивающиеся почки. Однако архитектура колонии у многих видов Hydrozoa значительно сложнее, чем у *Hydractinia* (Марфенин, 1993; Marfenin, Kossevitch, 2004). У них из осевшей личинки в ходе метаморфоза формируется не первичный полип, а первый модуль колонии, состоящий из нескольких зачатков, то есть не наблюдается непосредственной преемственности между задним концом планулы и гипостомами гидрантов первого модуля колонии. Новые модули колонии формируются за счет активности постоянно действующей верхушки роста, а ветви и побеги – за счет активности почек, образующихся на теле колонии и/или на столонах, обеспечивающих распространение колонии по субстрату. Обладают ли сложно устроенные колониальные гидроиды регионами-организаторами? И если обладают, то на какой стадии жизненного цикла они активны и где локализованы? Данная работа – первая попытка ответить на эти вопросы, используя в качестве объекта беломорского колониального гидроида *Dynamena pumila* (Thecaphora, Sertulariidae).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Dynamena pumila – массовый вид в районе Беломорской Биологической Станции МГУ им. Н.А. Перцова, где и выполнялась работа. Колонии *Dynamena* являются обычными компонентами обрастающих водорослей рода *Fucus* и легко до-

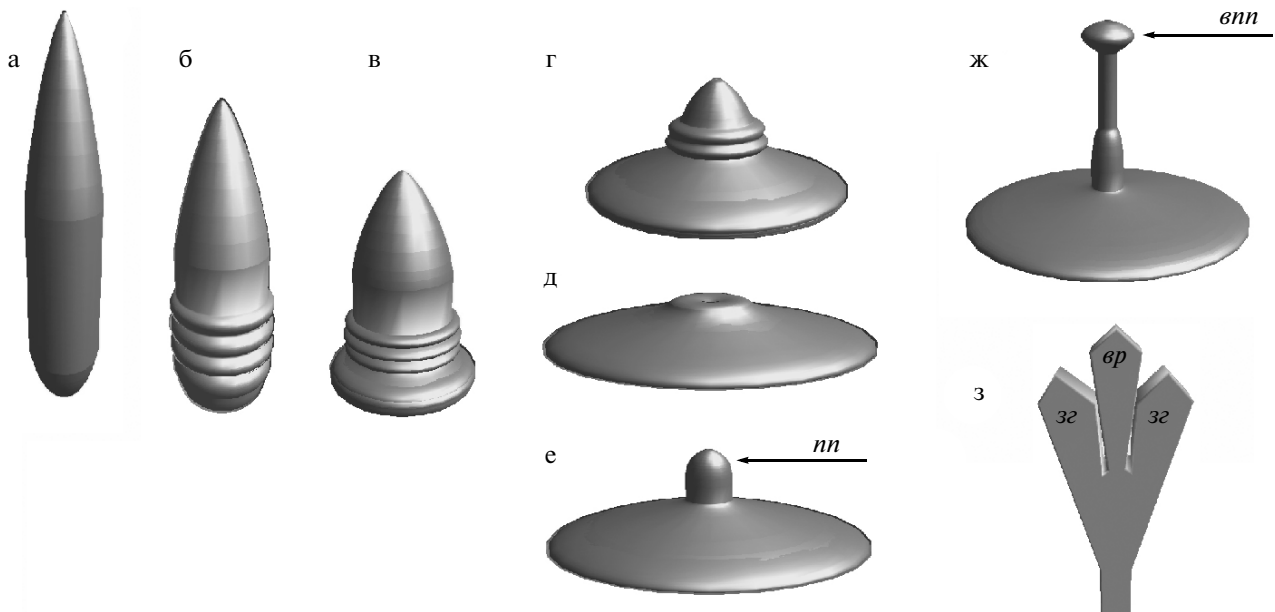


Рис. 1. Оседание и метаморфоз планулы *Dynamena pumila*: а–д – последовательные стадии оседания планулы, передний конец планулы обращен вниз; е–ж – прорастание первичного побега (*nn* – первичный побег, *vnn* – верхушка первичного побега); з – верхушка первичного побега, разделившаяся на 3 зачатка (*вр* – верхушка роста, *зг* – зачаток гидранта). Схема.

ступны во время отлива. Развитие эмбрионов *Dynamena pumila* происходит внутри слизистого мешка, т.н. акроцисты, формирующейся на гонозооиде (половом гидранте). В каждой акроцисте находится в среднем 14 эмбрионов. Эмбриональное развитие продолжается примерно 72 часа при температуре 16°C и завершается выходом из акроцисты личинок-планул. Акроцисты, содержавшие эмбрионов, отделяли от собранных колоний и помещали в чашки Петри с профильтрованной морской водой. Воду заменяли один-два раза в сутки. Планул, вышедших из акроцист, немедленно переносили в чистые чашки Петри.

Для трансплантаций использовали планул в возрасте 8–10 часов после выхода из акроцисты. Эмбрионов-реципиентов извлекали из акроцист непосредственно перед экспериментом с помощью препаровальных игл. Оперированных эмбрионов содержали в чашках Петри, дно которых было покрыто пленкой Parafilm, в профильтрованной морской воде.

Фрагменты ткани планулы-донора размером 30 мкм вырезались с помощью микрохирургического скальпеля (MICRO FEATHER, P-715), пересадку фрагментов эмбриону или плануле-реципиенту осуществляли с помощью акупунктурных игл. Метаморфоз планул-реципиентов индуцировался 15–30-минутной инкубацией в 0.5 мМ растворе CsCl по стандартной методике (Seipp et al., 2006) и (или) с помощью осушения планул в течение 15–30 минут.

Результаты экспериментов регистрировали прижизненно с помощью моторизованного стереомикроскопа Leica M205 A, оснащенного цифровой 10 Мп камерой и программным обеспечением той же фирмы (модуль Leica LAS Multifocus).

Эмбриональное развитие и метаморфоз D. pumila. Эмбриогенез, формирование планулы и метаморфоз у этого вида подробно изучены (Teissier, 1923, 1931; Краус, Черданцев, 1999, 2003; Kraus, 2006; Пятаева, 2007). Яйцеклетки *D. pumila* очень богаты желтком, что, по-видимому, обуславливает высокую изменчивость дробления. В результате дробления образуется морула, представляющая собой рыхлую массу клеток. В начале гастрюляции клетки морулы формируют небольшие фрагменты эпителиального пласта, число и расположение которых на этой стадии очень изменчиво. Позже эти фрагменты объединяются друг с другом, формируя замкнутый эктобласт. Дальнейшее развитие приводит к формированию базальной мембраны, разделяющей экто- и эндобласт, эпителизации эндобласта, удлинению передне-задней оси планулы и дифференцировке ее полюсов, а также к процессам клеточной дифференцировки.

Свободноживущая планула имеет длину примерно 600 мкм, отношение ее длины к ширине равно примерно 4 : 1. Передний конец планулы округлый, задний – заостренный (рис. 1а). От выхода планулы из акроцисты до начала оседания проходит 24–36 часов. Оседание планулы начинается с прикрепления переднего конца к субстрату и формирования многочисленных складок (рис. 1б). Следующие

ший этап метаморфоза – постепенное расширение и распластывание по субстрату переднего конца планулы (рис. 1б–г), вплоть до уплощения планулы (рис. 1д), превратившейся в прикрепительный диск будущего первичного побега колонии. На этой стадии эктодерма планулы уже покрыта перисарком (наружным хитиновым скелетом). В центре прикрепительного диска начинает прорастать первичный побег (рис. 1е, 2а). У него формируется верхушка (рис. 1ж), которая впоследствии разделяется на три зачатка: боковые зачатки гидрантов и центральная верхушка роста (рис. 1з). Таким образом формируется первый модуль колонии (рис. 2б), а следующие модули колонии формируются за счет активности верхушки роста (рис. 2в). Таким образом, в результате метаморфоза *Dynatena* сразу формируется первичный модуль колонии, а не первичный полип, как у одиночных кишечнополостных, или у кишечнополостных, имеющих просто устроенную колонию. Задний конец планулы, как показали результаты опытов с меткой, состоящей из частиц кармина, соответствует верхушке роста первичного побега в начале его прорастания (Краус, неопубликованные данные). При разделении верхушки на три зачатка материал заднего конца планулы оказывается, в основном, в верхушке роста первого модуля колонии.

Для того, чтобы проверить, обладает ли задний конец планулы *Dynatena*, соответствующий верхушке первичного побега колонии, индукционной активностью, было выполнено несколько серий трансплантационных экспериментов (рис. 3). Длительное развитие (от начала эмбриогенеза до конца метаморфоза проходит до 10 дней) не позволяло использовать мечение пересаживаемых тканей витальными красителями. Однако поскольку окраска яйцеклеток, формирующихся у разных колоний, варьирует от белой до темно-желтой, для экспериментов подбирали пары, в которых ткани донора и реципиента отличались друг от друга по цвету. Для пересадки использовался фрагмент заднего конца планулы размером 30 мкм, состоящий преимущественно из клеток эктодермы (рис. 3а). Фрагмент вставлялся в разрез, сделанный на поверхности донора (эмбрион на стадии средней гастролы или поздней гастролы, планула) и на 1–2 минуты прижимался к раневой поверхности концом иглы. В контрольных экспериментах пересаживали фрагмент ткани размером 30 мкм, вырезанный из середины тела или из переднего конца планулы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пересадка фрагмента заднего конца планулы эмбрионам, находящимся на стадии средней гастролы (рис. 3а, е–з, л). Всего было выполнено 20 пересадок. Во всех случаях эмбрионы дожили до стадии планулы, но пересаженный фрагмент либо отторгался во время развития (8 случаев), либо на стадии поздней гастролы – препланулы оказывался под

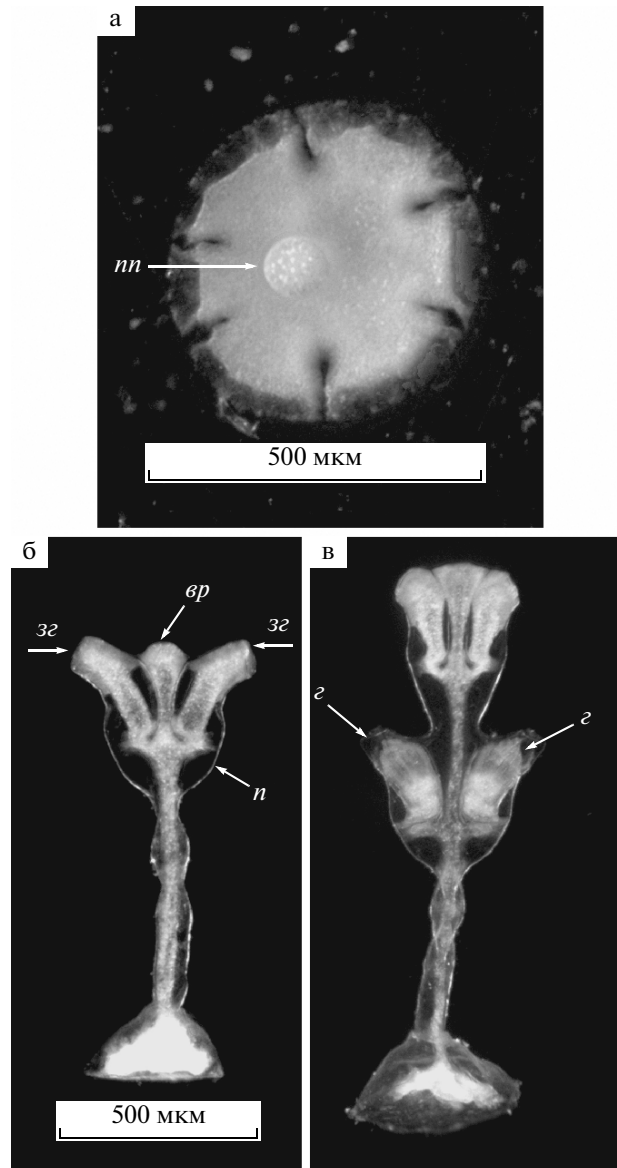


Рис. 2. Прорастающий первичный побег (а), первый модуль молодой колонии (б) и колония, состоящая из двух модулей (в) (n – перисарк, г – гидрант).

поверхностью эктобласта. Все 12 планул, сохранивших в теле пересаженную ткань, имели нормальную морфологию. Пересаженный фрагмент располагался в средней части тела планулы (9 случаев) или вблизи одного из ее концов (3 случая). У этих 12 планул был индуцирован метаморфоз, но только 7 из них начали метаморфоз и успешно его закончили, сформировав нормальный первичный побег.

Пересадка фрагмента заднего конца планулы эмбрионам, находящимся на стадии поздней гастролы (рис. 3а, е–л, 4). Пересадки выполнялись точно так же, как и в предыдущем эксперименте. Пересаженная ткань хорошо приживалась, но между пересаженным фрагментом и тканью реципиента сохра-

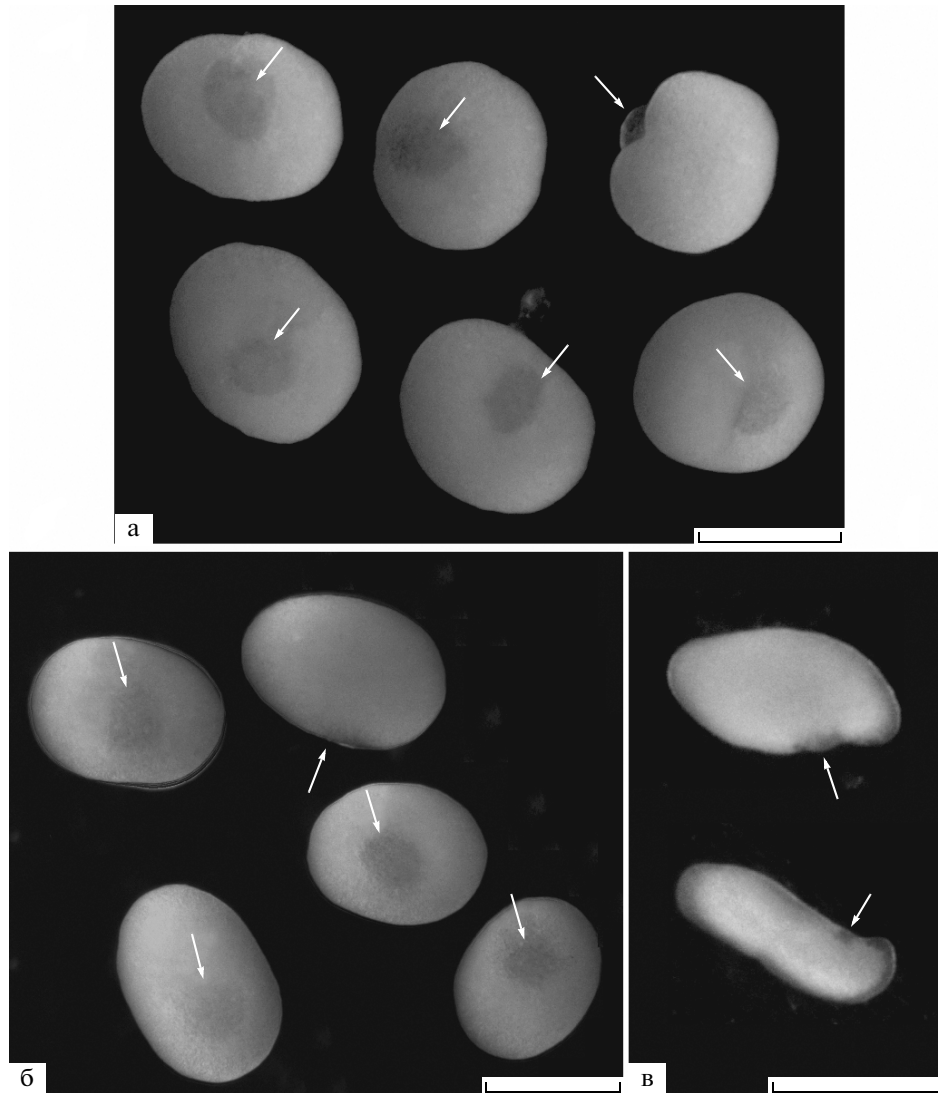


Рис. 4. Пересадка фрагмента заднего конца планулы эмбрионам на стадии поздней гастролы: а – 2 часа после трансплантации (стрелки указывают на пересаженный фрагмент, масштабная линейка – 200 мкм); б – 24 часа после трансплантации, стадия препланулы; в – планулы-реципиенты, у которых пересаженный фрагмент оказался в области заднего конца.

Поскольку вторичный побег формировался позже первичного, он на протяжении всего развития находился на более ранней стадии, чем первичный, и имел меньшие размеры (рис. 5е, ж). По приблизительной оценке, он составлял до 2/3 от объема тканей планулы-реципиента. Однако в 2-х случаях из 8-ми прорастание первичного и вторичного побега началось практически одновременно (разница во времени прорастания составила около 3-х часов). В этих случаях вторичный побег формировался за счет примерно 50% тканей планулы-реципиента. Развитие вторичных побегов проходило нормально, на их верхушках дифференцировались два боковых гидранта и центральная зона роста.

В качестве контроля было выполнено 10 пересадок фрагмента переднего конца планулы-донора в среднюю часть тела планулы-реципиента. Переса-

женный фрагмент оставался плоским, т.е. не приобретал форму конца планулы. Планулы-реципиенты были индуцированы, и 6 из них осели и прошли метаморфоз. Вторичный побег или какие-то другие этопические структуры не были сформированы ни в одном из случаев.

ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование вторичной оси тела (вторичного этопического побега) наблюдалось только в одной серии экспериментов: при трансплантации в среднюю часть тела планулы-реципиента небольшого фрагмента заднего конца тела планулы-донора того же возраста. Причем вторичная ось тела формировалась не у подвижной планулы, а после ее оседания, в ходе метаморфоза. Единственным транс-

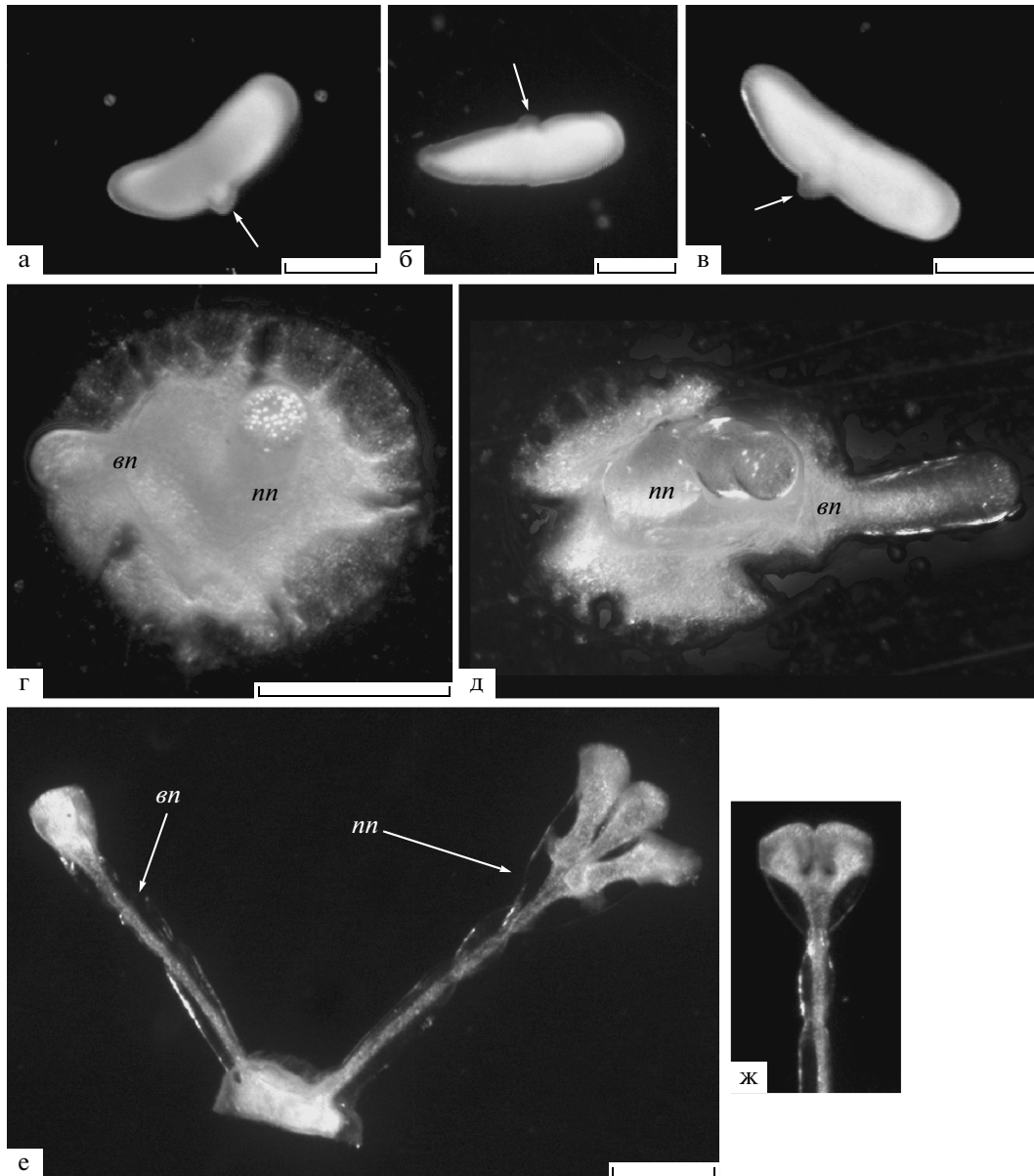


Рис. 5. Пересадка фрагмента заднего конца планулы планулам того же возраста: а–в – 6 часов после трансплантации, короткие стрелки указывают на пересаженный фрагмент; г, д – прорастание побегов в ходе метаморфоза планулы-реципиента (*nn* – первичный (нормальный) и *вп* – вторичный, включающий в себя пересаженный фрагмент, побеги); е – более поздняя стадия формирования первичного и вторичного побегов; ж – верхушка вторичного побега, изображенного на е.

плантационным экспериментом, выполненным на личинках кишечнополостных, является тот, объектом которого был морской колониальный гидроид *Hydractinia echinata* (Stumpf et al., 2010). Авторы этой работы пересаживали неиндуцированным к метаморфозу планулам-реципиентам фрагменты заднего конца тела индуцированных к метаморфозу личинок-доноров. При пересадках тканей неиндуцированных личинок-доноров формирование вторичной оси тела не происходило. Это свидетельствует о том, что задний конец тела личинки *Hydractinia* приобретает свойства организатора только с началом метамор-

фоза. Авторы этого исследования отмечают, что регион-организатор, локализованный в заднем конце тела начавшей метаморфоз личинки, скорее всего близок по свойствам к хорошо изученному гипостомальному организатору одиночного полипа *Hydra* (гипостом первичного полипа *Hydractinia* формируется непосредственно из заднего конца планулы). Из экспериментов, проведенных на личинках *Dynamena*, можно сделать вывод о том, что у данного вида задний конец тела приобретает свойства организатора еще в ходе эмбрионального развития, до начала метаморфоза.

Несмотря на это, в экспериментах, где в качестве реципиентов использовали эмбрионов на стадии ранней и поздней гастролы, ни разу не наблюдалось формирование вторичной оси тела или каких-то эктопических структур. Одно из возможных объяснений такого результата – отсутствие у эмбрионов данного вида региона, обладающего свойствами эмбрионального организатора, что обуславливает неспособность тканей эмбриона воспринимать индукционные сигналы, получаемые от пересаженного организатора. В этом случае можно предположить, что задний конец эмбриона *Dynamena* приобретает свойства организатора только на стадии препланулы – ранней планулы. Однако нельзя исключить и другую возможность. Фрагмент заднего конца планулы-донора мог приобрести свойства организатора после пересадки. Дело в том, что планула-реципиент после пересадки была индуцирована к метаморфозу, а вместе с ней мог быть индуцирован и пересаженный фрагмент. В этом случае время появления региона-организатора в онтогенезе *Dynamena* и *Hydractinia* совпадает.

Интересно, что в экспериментах, выполненных на планулах *Hydractinia*, вторичная ось тела у реципиента формировалась не в ходе метаморфоза (как у *Dynamena*), а еще на стадии планулы (Stumpf et al., 2010). Эта вторичная ось была представлена длинным отростком, напоминающим по форме задний конец планулы и состоящим, в основном, из тканей реципиента. Такой результат не был получен ни в одном из экспериментов, выполненных на планулах *Dynamena*. Таким образом, уже первые трансплантационные эксперименты показали, что свойства регионов-организаторов, локализованных в заднем конце тела, в значительной степени различаются у двух изученных видов гидроидов.

В интерпретации нуждаются также результаты экспериментов с эмбрионами-реципиентами, находившимися на стадии поздней гастролы. Несмотря на то, что никакие эктопические структуры у реципиентов не формировались, в 12 из 19 случаев развивались планулы с нарушенной морфологией (рис. 3и, 4в). Пересаженный фрагмент у таких планул всегда располагался вблизи искривленного заднего конца тела. Этот результат нельзя интерпретировать как проявление специфической индукционной активности пересаженного фрагмента, так как подобные результаты мы наблюдали и в других экспериментах с эмбрионами *Dynamena*, находившимися на стадии поздней гастролы (Краус, Черданцев, 2003). На этой стадии в эмбриогенезе данного вида происходит завершение эпителизации эктобласта и начало морфологической дифференцировки передне-задней оси тела. Если формирование замкнутого эктобласта нарушить, например нанести эмбриону широкую рану или подсадить в эктобласт кусочек ткани от эмбриона, находящегося на более ранней стадии развития, то будет нарушен и морфогенез планулы. Оставшийся после заживле-

ния раны шрам будет препятствовать нормальному ходу планарной интеркаляции клеток эктобласта. В результате получаются планулы с укороченным телом и искривленным задним концом. Шрам от раны у таких планул располагается вблизи заднего конца. Такое положение шрама можно интерпретировать как результат изменение ориентации передне-задней оси эмбриона (Краус, Черданцев, 2003) или как побочный результат нарушения процесса интеркаляции клеток эктобласта при удлинении тела планулы. В любом случае морфогенез эмбрионов, участвовавших в трансплантационных экспериментах, был нарушен пересаженным фрагментом, который не интегрировался в эктобласт реципиента. Надо отметить, что именно фрагмент заднего конца планулы хуже всего встраивается в ткань реципиента. При пересадках фрагментов переднего конца и середины тела планулы-донора никаких нарушений морфологии реципиента не наблюдалось, пересаженный фрагмент встраивался в эктобласт реципиента и менял форму вместе с телом хозяина.

Данная работа – только начало исследования индукционной активности в развитии гидроида, обладающего высокоорганизованной колонией и сложным метаморфозом, связанным с полной реорганизацией плана строения личинки. В дальнейшем необходимо более детально исследовать временные рамки активности региона-организатора и выявить биохимические основы этой активности.

БЛАГОДАРНОСТИ

Я очень благодарна администрации ББС МГУ и сотрудникам кафедры Зоологии беспозвоночных Биологического факультета МГУ проф. Н.Н. Марфенину и снс И.А. Косевичу за поддержку и помощь во время работы. Исследование поддержано грантом РФФИ №09-04-01487, грантом “Ведущие научные школы” НШ-4813.2010.4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иванова-Казас О.М. Эволюционная эмбриология животных. СПб.: Наука, 1995. 565 с.
- Краус Ю.А., Черданцев В.Г. Изменчивость и эквивалентность в раннем морфогенезе морского гидроида *Dynamena pumila* // Онтогенез. 1999. Т. 30. № 2. С. 118–129.
- Краус Ю.А., Черданцев В.Г. Экспериментальное изучение формирования передне-задней полярности в раннем развитии морского гидроида *Dynamena pumila* // Там же. 2003. Т. 34. № 6. С. 438–452.
- Марфенин Н.Н. Функциональная морфология колониальных гидроидов. СПб.: РАН, Зоол. ин-т, 1993, 150 с.
- Пятаева С.В. Перестройки анатомо-морфологической организации в онтогенезе колониальных гидроидных (Hydrozoa): Автореферат дисс. ... канд. биол. наук. М.: 2007, 24 стр.

- Broun M., Gee L., Reinhardt B., Bode H.R. Formation of the head organizer in hydra involves the canonical Wnt pathway // *Development*. 2005. V. 132. P. 2907–2916.
- Browne E.N. The production of new hydranths in hydra by the insertion of small grafts // *J. Exp. Zool.* 1909. V. 8. P. 1–33.
- DeRobertis E.M., Larrain J., Oelgeschlager M., Wessely O. The establishment of Spemann's organizer and patterning of the embryo // *Nat. Rev.* 2000. V. 1. P. 171–181.
- Freeman G. The role of polarity in the development of the hydrozoan planula larva // *Wilhelm Roux's Archives*. 1981. V. 190. P. 168–184.
- Freeman G. Experimental studies on embryogenesis in hydrozoans (Trachylina and Syphonophora) with direct development // *Biol. Bull.* 1983. V. 165. P. 591–618.
- Fritzenwanker J.H., Genikhovich G., Kraus Yu., Technau U. Early development and axis specification in the sea anemone *Nematostella vectensis* // *Dev. Biol.* 2007. V. 310. P. 264–279.
- Garcia-Fernandez J., D'Aniello S., Escriva H. Organizing chordates with an organizer // *BioEssays*. 2007. V. 29. P. 619–624.
- Gerhart J. Evolution of the organizer and the chordate body plan // *Int. J. Dev. Biol.* 2001. V. 45. P. 133–153.
- Hayward D.C., Samuel G., Pontynen P.C., Catmull J., Saint R., Miller D.J., Ball E.E. Localized expression of a dpp/BMP2/4 ortholog in a coral embryo // *PNAS*. 2002. V. 99. P. 8106–8111.
- Kraus Y., Fritzenwanker J.H., Genikhovich G., Technau U. The blastoporal organiser of a sea anemone // *Curr. Biol.* 2007. V. 17. № 20. P. R874–R876.
- Kraus Yu.A. Morphomechanical programming of morphogenesis in cnidarian embryos // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 267–275.
- Lambert J.D. Mesoderm in spiralian: the organizer and the 4d cell // *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*. 2008. V. 310B. P. 15–23.
- Lee P.N., Pang K., Matus D.Q., Martindale M.Q. A WNT of things to come: evolution of Wnt signaling and polarity in cnidarians // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2006. V. 17. P. 157–167.
- Lowe C.J., Terasaki M., Wu M., Freeman R.M., Runft L. Dorsal-ventral patterning in hemichordates: insights into early chordate evolution // *PLoS Biol.* 2006. № 4. e291.
- MacWilliams H.K. Hydra transplantation phenomena and the mechanism of hydra head regeneration. Properties of the head activation // *Dev. Biol.* 1983. V. 96. P. 239–257.
- Matus D.Q., Pang K., Marlow H., Dunn C.W., Thomsen G.H., Martindale M.Q. Molecular evidence for deep evolutionary roots of bilaterality in animal development // *PNAS*. 2006. V. 103. P. 11195–11200.
- Marfenin N.N., Kossevitch I.A. Morphogenetic evolution of hydroid colony pattern // *Coelenterate Biology 2003: Trends in research on Cnidaria and Ctenophora*. Eds. Fautin D.G., Westfall J.A., Cartwright P., Daly M., Wyttenbach C.R. // *Hydrobiologia*. 2004. P. 319–327.
- McClay D.R., Peterson R.E., Range R.C., Winter-Vann A.M., Ferkowicz M.J. A micromere induction signal is activated by b-catenin and acts through Notch to initiate specification of secondary mesenchyme cells in the sea urchin embryo // *Development*. 2000. V. 127. P. 5113–5122.
- Momose T., Derelle R., Houliston E. A maternally localised Wnt ligand required for axial patterning in the cnidarian *Clytia hemisphaerica* // *Development*. 2008. V. 135. P. 2105–2113.
- Momose T., Schmid V. Animal pole determinants define oral-aboral axis polarity and endodermal cell-fate in hydrozoan jellyfish *Podocoryne carnea* // *Dev. Biol.* 2006. V. 292. P. 371–380.
- Momose T., Houliston E. Two oppositely localised Frizzled RNAs as axis determinants in a cnidarian embryo // *PLoS Biol.* 2007. V. 5. № 4. e70.
- Muller W.A., Frank U., Teo R., Mokady O., Guette C., Plickert G. Wnt signaling in hydroid development: ectopic heads and giant buds induced by GSK-3b inhibitors // *Int. J. Dev. Biol.* 2007. V. 51. P. 211–220.
- Plickert G., Jacoby V., Frank U., Muller W.A., Mokady O. Wnt signaling in hydroid development: Formation of the primary body axis in embryogenesis and its subsequent patterning // *Dev. Biol.* 2006. V. 298. P. 368–378.
- Ransick A., Davidson E.H. A complete second gut induced by transplanted micromeres in the sea urchin embryo // *Science*. 1993. V. 259. P. 1134–1138.
- Rentzsch F., Anton R., Saina M., Hammerschmidt M., Holstein T.W., Technau U. Asymmetric expression of the BMP antagonists chordin and gremlin in the sea anemone *Nematostella vectensis*: implications for the evolution of axial patterning // *Dev. Biol.* 2006. V. 29. P. 375–387.
- Rentzsch F., Guder C., Vocke D., Hobmayer B., Holstein Th.W. An ancient chordin-like gene in organizer formation of *Hydra* // *PNAS*. 2007. V. 104. № 9. P. 3249–3254.
- Saina M., Genikhovich G., Renfer E., Technau U. BMPs and Chordin regulate patterning of the directive axis in a sea anemone // *PNAS*. 2009. V. 106. № 44. P. 18592–18597.
- Sander K., Faessler P.E. Introducing the Spemann-Mangold organizer: experiments and insights that generated a key concept in developmental biology // *Int. J. Dev. Biol.* 2001. V. 45. P. 1–11.
- Seipp S., Wittig K., Stiening B., Bottger A., Leitz T. Metamorphosis of *Hydractinia echinata* (Cnidaria) is caspase-dependent // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 63–70.
- Spemann H., Mangold H. Über Induktion von Embryonalanlagen durch Implantation artfremder Organisatoren // *W. Roux's Arch. Entwicklungsmech. Organ.* 1924. V. 100. P. 599–638.
- Stern, C.D. Evolution of the mechanisms that establish the embryonic axes // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2006. V. 4. P. 413–418.
- Stewart R.M., Gerhart J.C. The anterior extent of dorsal development of the *Xenopus* embryonic axis depends on the quantity of organizer in the late blastula. *Development*. 1990. V. 109. P. 363–372.
- Stumpf M., Will B., Wittig K., Kasper J., Fischer B., Schmich J., Seipp S., Leitz T. An organizing region in metamorphosing hydrozoan planula larvae – stimulation of axis formation in both larval and in adult tissue // *Int. J. Dev. Biol.* 2010. V. 54. P. 795–802.
- Teissier G. Recherches sur *Dynamena pumila* (L.) // *Trav. Stat. Biol. Roskoff*. 1923. V. 1. P. 2–52.
- Teissier G. Etude expérimentale du développement de quelques Hydraries // *Ann. Sci. Natur. Zool. Ser. 10*. 1931. T. 14. P. 5–60.
- Tung T.C., Wu S.C., Tung Y.Y.F. Experimental studies on the neural induction in amphioxus // *Sci. Sin.* 1962. V. 11. P. 805–820.

Yu Jr.-K., Satou Y., Holland N.D., Shin-I T., Kohara Y.,
Satoh N., Bronner-Fraser M., Holland L.Z. Axial patterning

in cephalochordates and the evolution of the organizer //
Nature. 2007. V. 447. P. 613–617.

Inductive Activity of the Posterior Tip of Planula in the Marine Hydroid *Dynamena pumila*

Yu. A. Kraus

Department of Evolutionary Biology, Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, 119992 Russia
e-mail: yulia_kraus@hydrozoa.org

Abstract—Activity of organizer regions is required for body plan formation in the developing organism. Transplanting a fragment of such a region to a host organism leads to the formation of a secondary body axis that consists of both the donor's and the host's tissues (Gerhart, 2001). The subject of this study, the White Sea hydroid cnidarian *Dynamena pumila* L. (Thecophora, Sertulariidae), forms morphologically advanced colonies in the course of complex metamorphosis of the planula larva. To reveal an organizer region, a series of experiments has been performed in which small fragments of donor planula tissues were transplanted to embryos at the early and late gastrula stage, as well as to planulae. Only transplantations of a posterior tip fragment of a donor planula to a host planula of the same age led, in the course of metamorphosis, to the formation of a secondary shoot, which involved up to 50% of the host's tissues. After transplantations of tissue fragments of the anterior tip and the middle of the planula body, the formation of any ectopic structures was never observed. It was concluded that the posterior tip of the planula has organizer properties in *Dynamena*.

Keywords: Cnidaria, Hydrozoa, induction, organizer, transplantation, embryonic development, larva, metamorphosis