

SINH HỌC

PHÁT TRIỂN ĐỘNG VẬT

Chương 1

Khái niệm về sự phát triển

I. Nguyên lý của thuyết biểu sinh

Một trong những vấn đề trung tâm của sinh học phát triển là nguyên lý của thuyết biểu sinh (*epigenesis*). Theo đó thì phần lớn các loài sinh vật đều khởi đầu từ những tổ chức đơn giản sau đó mới trở thành những tổ chức cơ thể phức tạp. Thuyết biểu sinh biểu thị một phần chu kỳ sống của sinh vật. Hầu hết cá thể sinh vật bắt đầu sự sống khi trứng thụ tinh, trải qua quá trình phát triển phôi, giai đoạn con non, sau đó là giai đoạn trưởng thành. Đến lượt mình cá thể trưởng thành tạo ra trứng và tinh trùng kết hợp với nhau để cho ra chu kỳ sống của thế hệ con cái.

Khi một cơ thể phát triển từ một trứng thụ tinh rõ ràng là một quá trình phức tạp. Điều này cho thấy tổ chức của trứng không hề đơn giản. Một trứng có đầy đủ các bào quan và có cơ chế điều hòa tinh vi của một tế bào sống. Trứng cũng là một tế bào chuyên hóa, được cấu tạo để thực hiện vai trò trong phát triển. Nó được bảo vệ bởi một lớp vỏ chung quanh những cũng sẵn sàng đón nhận tinh trùng khi thụ tinh. Nó không những đón nhận những chất dinh dưỡng mà còn mang đầy đủ các thông tin cấu trúc xác định các cơ quan bộ phận trong tương lai.

Khả năng một trứng thụ tinh phát triển thành một cơ thể trưởng thành phức tạp là một kỳ công vĩ đại của thiên nhiên. Thuật ngữ dùng mô tả hiện tượng này là *thuyết biểu sinh*.

Nguyên lý thuyết biểu sinh đã được Aristotle (384-322 TCN) thừa nhận đầu tiên khi ông quan sát sự phát triển phôi gà và các con vật khác. Tuy nhiên, vào thế kỷ XVII, người ta lại đi theo thuyết tiên thành (*preformation*). Thuyết này cho rằng ngay trong tế bào mầm đã có một cơ thể nhỏ và cơ thể này gia tăng kích thước trong quá trình phát triển.

Về sau cùng với sự ra đời của kính hiển vi và bằng phương pháp luận mới, tính ưu việt của thuyết biểu sinh đã thống trị trong suốt thế kỷ XVIII. Nhà giải phẫu học người Đức K. F. Wolff (1733-1794) đã chỉ ra rằng nếu cơ thể được hình thành sớm trong tinh trùng hay trứng thì sự phát triển chỉ gia tăng về kích thước và như thể phôi sẽ trông giống như một cơ thể nhỏ. Tuy nhiên, các quan sát của Wolff cho thấy phôi gà đang phát triển không giống với con gà con mới nở. Hơn nữa, nhiều nhà khoa học đã khám phá sự khác nhau giữa phôi, giai đoạn con non và giai đoạn trưởng thành và vì vậy mà thuyết tân thành đã bị đi vào lãng quên.

Ngày nay thuyết biểu sinh được xem là nguyên lý chủ đạo của sự phát triển còn cơ chế phân tử và tế bào đóng vai trò kiến thức cơ sở của sự phát

triển. Axit nucleic trong trứng và tinh trùng mang vật chất di truyền được mã hóa bởi các nucleotit của ADN. Bộ gen của loài cung cấp các thông tin cần thiết cho sự tăng trưởng và phát triển cá thể trong suốt đời sống.

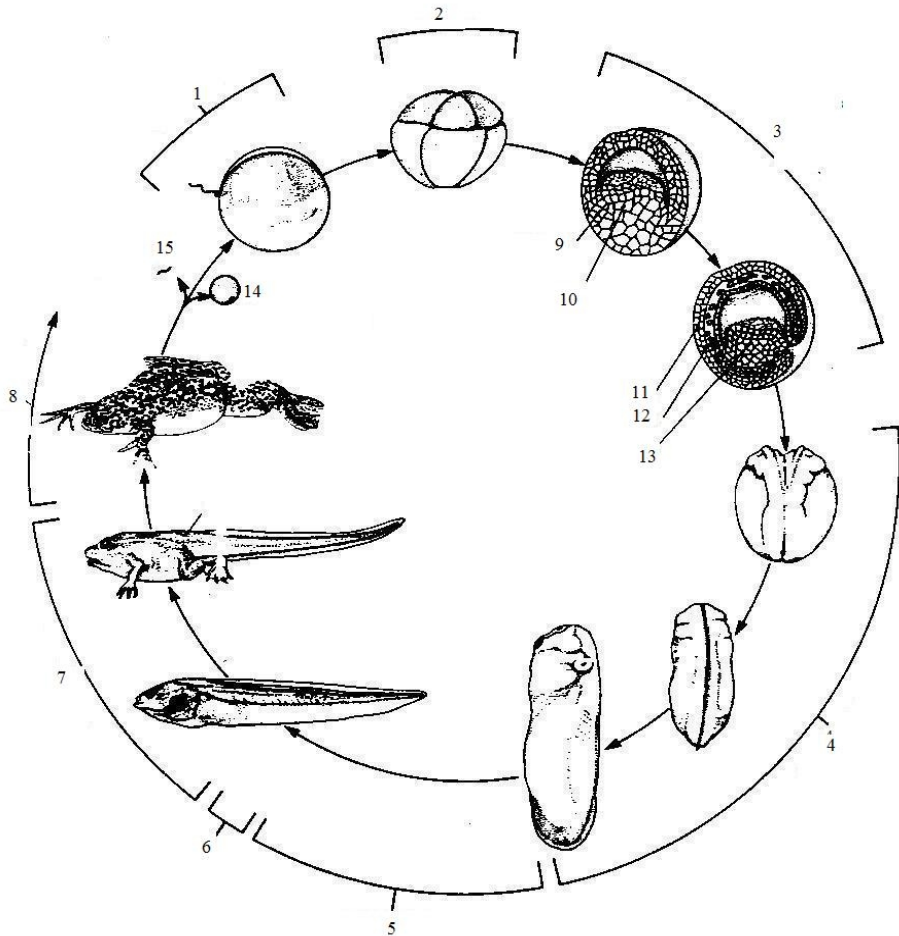
II. Các giai đoạn phát triển trong chu kỳ sống

Sự liên tục phát triển mở đầu bằng trứng thụ tinh cho đến giai đoạn trưởng thành rồi được lặp lại qua sự sinh sản được xem như là một chu kỳ sống. Các nhà sinh học phân chia chu kỳ sống ra làm ba thời kỳ: phát triển phôi, phát triển hậu phôi và trưởng thành. Mỗi thời kỳ lại phân chia ra nhiều giai đoạn. Để minh họa một chu kỳ sống của động vật, chúng ta xem xét sự phát triển của loài ếch *Xenopus laevis* ở Nam Phi, một đối tượng nghiên cứu tốt về sinh học phát triển hiện nay.

Thuật ngữ phôi được dùng chung để mô tả sự phát triển cá thể từ thụ tinh cho đến khi biệt hóa mô và cơ quan. Thời kỳ này được gọi là sự phát triển phôi được phân chia thành các giai đoạn: thụ tinh, phân cắt, tạo phôi vị (phôi vị hóa), phát sinh cơ quan và phát sinh mô. Sự thụ tinh là sự kết hợp trứng với tinh trùng. Trứng là một tế bào có kích thước lớn chứa đầy chất dinh dưỡng để giúp phôi phát triển cho đến khi con vật tự lấy thức ăn từ bên ngoài. Phần lớn trứng đều có một cực động vật và thực vật. Cực động vật là cực có chứa nhân còn cực đối diện là cực thực vật. Ở *Xenopus*, cực động vật chứa sắc tố trong khi cực thực vật sáng hơn vì chứa khối noãn hoàng lớn. Tinh trùng là một tế bào chuyên hóa cao với chức năng tìm và thụ tinh với trứng. Sau khi thụ tinh bởi một tinh trùng, trứng được gọi là hợp tử. Sự thụ tinh tạo ra và thúc đẩy mạnh các hoạt động biến dưỡng, chủ yếu là tổng hợp ADN và protein.

Trong quá trình phân cắt, hợp tử phân chia thành 2, 4, 8, 16, 32,... 2^n tế bào hay còn gọi là các phôi bào. Lúc đầu phôi là một tế bào đặc gọi là phôi dâu (*morula*), sau đó là một khối tế bào rỗng với một lớp tế bào gọi là phôi nang (*blastula*). Giai đoạn tiếp theo là sự phôi vị hóa. Trong toàn bộ phôi diễn ra một loạt các chuyển động tạo hình. Các phôi bào di nhập vào bên trong, sắp xếp lại tạo thành một lớp phôi bào thứ hai. Phôi ở giai đoạn này gọi là giai đoạn phôi vị. Lúc này phôi có hai lá phôi (lá phôi ngoài và lá phôi trong), ở giữa có ruột nguyên thủy và bên trên có một lỗ là phôi khẩu. Sau đó phôi chuyển sang giai đoạn tạo trung bì (lá phôi giữa) để hình thành một phôi có ba lá phôi gọi là các lớp tế bào mầm. Trong giai đoạn tiếp theo của sự phát triển phôi, các lớp tế bào mầm diễn ra mạnh mẽ các chuyển động tạo hình và tương tác với các phần khác tạo cơ sở hình thành các cơ quan ấu trùng. Ở quá trình được gọi là phát sinh cơ quan này, phôi thể hiện rõ hình dạng cơ bản của con vật. Cuối cùng là sự phát sinh mô, trong đó các tế bào sẽ chuyên hóa để đảm nhận các chức năng khác nhau.

Thời kỳ phát triển hậu phôi bắt đầu từ khi kết thúc phát triển phôi cho đến khi bắt đầu giai đoạn trưởng thành. Trong thời kỳ này con vật có dạng như



Hình 1.1 Chu kỳ sống của ếch (Theo K. Kalthoff, 1996)

1. Thụ tinh 2. Phân cắt 3. Tạo phôi vị 4. Phát sinh cơ quan 5. Phát sinh mô 6. Nở 7. Phát triển hậu phôi 8. Trưởng thành 9. Phôi nang 10. Vị trí của tế bào mầm

11. Ngoại bì 12. Trung bì 13. Nội bì 14. Trứng 15. Tinh trùng

một cơ thể trưởng thành thu nhỏ. Ở ếch nhái và nhiều loài động vật khác, trải qua giai đoạn trung gian gọi là ấu trùng. Nói chung thời kỳ ấu trùng bắt đầu từ khi con vật thoát ra khỏi vỏ trứng. Đặc trưng của ấu trùng là có khả năng di chuyển, dinh dưỡng, đồng thời gia tăng về khối lượng. Tuy nhiên, ấu trùng có hình dạng và lối sống khác với dạng trưởng thành và có tên khác, chẳng hạn như nòng nọc của ếch. Nòng nọc có những cơ quan như ếch trưởng thành là mắt, não bộ, tim,... nhưng cũng có những cơ quan đặc biệt như mang và đuôi. Sự biến đổi từ ấu trùng sang dạng trưởng thành gọi là biến thái.

Thời kỳ trưởng thành bắt đầu khi con vật thành thực sinh dục, tạo ra trứng và tinh trùng.

III. Tổ chức kiểu mẫu và trường phôi

Sau khi xem xét chu kỳ sống, chúng ta sẽ đề cập đến một khía cạnh cơ bản khác của sự phát triển gọi là tổ chức kiểu mẫu (*pattern formation*). Đây là sự phát triển một cách trật tự của các yếu tố khác nhau. Ví dụ điểm mắt trên cánh của các loài bướm. Chúng xuất hiện nhằm đánh lạc hướng kẻ thù. Điểm mắt được tạo nên do sự biệt hóa của các tế bào liên quan với các sắc tố khác nhau. Các tế bào có màu sáng xanh tạo thành một điểm ở chính giữa còn các tế bào với các sắc tố đen và nâu sáng tạo thành một vòng bao quanh. Như vậy tổ chức kiểu mẫu đòi hỏi tế bào phải có cách thể hiện khác nhau và đúng cách thì mới có hiệu quả trong việc đánh lạc hướng.

Tổ chức kiểu mẫu hình thành trong tất cả các giai đoạn của sự phát triển theo những tỷ lệ khác nhau từ sự sắp xếp của các cấu trúc hiển vi cho đến các cơ quan trong sơ đồ cấu tạo cơ thể. Đặc biệt là khi biệt hóa để hình thành mô. Mô sắp xếp đúng kiểu trong cơ quan. Cơ quan sắp xếp theo sơ đồ cơ bản của cơ thể. Chẳng hạn tim của động vật có xương sống nằm ở mặt bụng, cột sống phát triển ở mặt lưng và hệ thần kinh trung ương nằm trong cột sống và hộp sọ.

Một nhóm các tế bào kết hợp để tạo thành cơ quan hoặc cơ thể được gọi là trường phôi (*embryonic fields*). Sự thiết lập trường phôi và tổ chức kiểu mẫu là những hiện tượng cơ bản trong phát triển mặc dù đang còn ít được biết đến. Không phải chỉ có sự biệt hóa tế bào về mặt số lượng mà còn biệt hóa về sự sắp xếp các cơ quan trong cơ thể.

IV. Điều khiển di truyền của sự phát triển

Tất cả các thông tin quan trọng đối với việc tạo ra kiểu cơ thể của sinh vật, đối với sự biệt hóa tất cả các tế bào, đối với việc điều khiển chu kỳ sống đều nằm trong một tế bào duy nhất đó là hợp tử. Hợp tử mang cấu trúc để xây dựng và duy trì sinh vật toàn vẹn từ lần phân chia tế bào đầu tiên cho đến khi chết. Tất cả những thông tin đó nằm trong một vật chất di truyền đã được biết đến đó là ADN. Đơn vị chức năng của thông tin này gọi là gen.

Gen ảnh hưởng đến hình thái và hoạt động của tế bào trong một cơ thể ở tất cả các giai đoạn phát triển của chu kỳ sống. Thật ra, gen điều khiển việc tạo ra và các tính chất của phân tử dựa trên cơ sở của sự phát triển. Bởi gen được sao chép thành ARN và được phiên mã thành polypeptit. Sự phát triển của hợp tử bé nhỏ được hướng dẫn bởi các gen gốc. ARN và protein được mã hóa bởi các gen gốc đã được tổng hợp và xác định trong trứng trong quá trình tạo trứng. Gen của phôi hay là gen của hợp tử được di truyền từ cả bố và mẹ sẽ điều khiển sự phát triển. Gen trong tế bào gốc sẽ được nhân đôi trong quá trình phát triển. ADN và mRNA được tích lũy để đẩy nhanh sự phát triển và

được sử dụng bởi tất cả các phôi bào giống nhau. Các sản phẩm của các gen gốc khác phân bố không đều ở trong trứng. Vì vậy, số lượng của chúng không giống nhau trong các phôi bào khác nhau. Nếu các sản phẩm gen xác định bị biến đổi bởi sự đột biến khi các gen gốc mã hóa thì tổ chức cơ thể của phôi đang phát triển sẽ có một số xáo trộn. Ví dụ: *Drosophila* cái thiếu cả hai gen *bicaudal*⁺ sinh ra ruồi giấm con có phần sau thân gấp đôi trong khi phần đầu và phần ngực bị thiếu. Kiểu hình đặc biệt này phát triển độc lập với các alen *bicaudal* của cá thể đực. Các phân tích di truyền và phân tử cho thấy protein bicaudal được phiên mã từ mRNA trong buồng trứng. Phôi xuất phát từ các cá thể cái không có các alen *bicaudal* chức năng. Gen điều khiển tạo ra phần đầu và phần ngực không hoạt động và phần trước của cơ thể không được tạo nên.

Nhiều gen chỉ có một chức năng duy nhất trong phát triển và chỉ hoạt động trong một vài giai đoạn của sự phát triển hoặc trong một số nhóm tế bào. Các đột biến không bình thường khi biểu thị các gen này đã làm phong phú nguồn thông tin để phân tích sự phát triển. Các kiểu hình tạo ra do các đột biến đó đặc biệt tìm thấy trong thời kỳ đầu của chu kỳ sống cung cấp các đầu mối có giá trị về vai trò sinh học của các gen này trong phát triển.

Chương 2

Vai trò của tế bào trong sự phát triển

I. Nguyên lý tính liên tục của tế bào

Như chúng ta đã biết tất cả các sinh vật đều được cấu tạo bởi các tế bào. Học thuyết về tế bào đã được M. Schleiden và sau đó là T. Schwann đề ra lần đầu tiên năm 1838. Trong những thập niên sau đó, các nghiên cứu đã cho thấy rằng các tế bào đã tăng lên qua sự tồn tại và phân chia. Đây là một khám phá quan trọng bởi các nhà khoa học trước đó nghĩ rằng các tế bào cũng có thể tự sinh ra từ những vật chất không có tế bào. Tuy nhiên điều này không bao giờ tìm thấy xảy ra dưới các điều kiện hiện nay trên trái đất, mặc dù các tế bào chắc chắn được tạo ra từ sự kết hợp của các chất vô cơ đơn giản dưới các điều kiện môi trường khác nhau trong thời kỳ đầu của lịch sử hành tinh chúng ta. Tính liên tục của tế bào đã được R. Virchow tóm tắt một cách súc tích vào năm 1858 rằng tất cả các tế bào đều được sinh ra từ các tế bào.

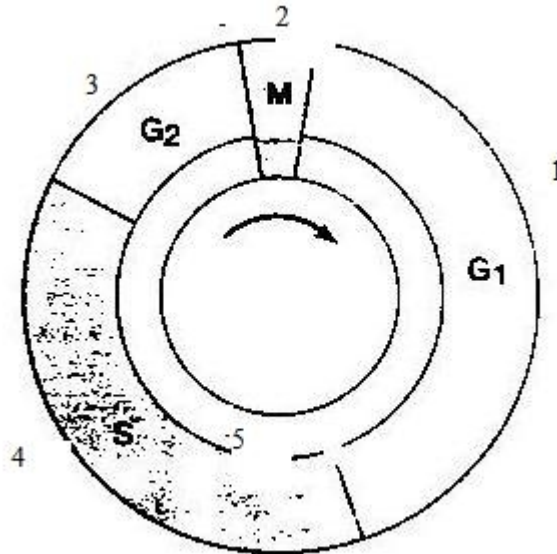
Thành tựu quan trọng khác trong học thuyết tế bào là việc khám phá ra trứng và tinh trùng là những tế bào chuyên hóa và chúng được sinh ra từ các tế bào ở trong buồng trứng và tinh hoàn. Vào năm 1841, R. A. Koelliker chỉ ra rằng tinh trùng là những tế bào đặc biệt có nguồn gốc trong các tinh hoàn chứ không như nhiều người nghĩ chúng là những động vật ký sinh trong chất dịch của ống sinh tinh. Tương tự như vậy, vào năm 1861, K. Gegenbauer đã thừa nhận trứng là một tế bào đơn. Một vài năm sau, năm 1875, O. Hertwig đã quan sát hai nhân trong trứng cầu gai đã thụ tinh, một có nguồn gốc từ trứng và một có nguồn gốc từ tinh trùng.

Các khám phá này đã thiết lập nguyên lý về tính liên tục của tế bào: tất cả các sinh vật đều được sinh ra do sự phân chia liên tục của tế bào. Điều này có nghĩa rằng các tế bào trong cơ thể chúng ta ngày nay là kết quả của một chuỗi tế bào được sinh ra từ bố mẹ, ông bà, tổ tiên của loài người, thú, chim, bò sát,... cho đến các sinh vật đơn bào nguyên thủy sinh ra cách đây hàng tỷ năm.

Sinh học hiện đại bắt đầu khi học thuyết tế bào đã được kết hợp với những quan sát về hoạt động của thể nhiễm sắc. Năm 1883, E. van Beneden chỉ ra rằng nhân của các giao tử tương đương với số lượng thể nhiễm sắc trong sự thụ tinh. Hoạt động thể nhiễm sắc trong việc tạo giao tử và sự thụ tinh đã cung cấp cơ sở khoa học cho định luật Mendel và các quan sát khác về di truyền. Vào những năm đầu của thế kỷ XX, học thuyết này đã dựa trên tính liên tục của sự phân chia tế bào, sự sao chép nguyên vẹn và sự phân bố của thể nhiễm sắc.

II. Chu kỳ tế bào và sự điều khiển chu kỳ tế bào

Chu kỳ tế bào là thời gian tồn tại của tế bào từ lúc được tạo thành do kết quả phân chia của tế bào mẹ cho tới lần phân chia của chính nó. Chu kỳ tế bào khác nhau trong từng loại tế bào và trong từng giai đoạn phát triển khác nhau. Ví dụ: chu kỳ tế bào của các sinh vật chưa có nhân chính thức (tiền nhân) kéo dài từ 20-30 phút, chu kỳ tế bào của sinh vật có nhân chính thức (nhân thật) kéo dài từ 10-12 giờ.



Hình 2.1 Sơ đồ biểu diễn chu kỳ tế bào (Theo K. Kalthoff, 1996)

1. Tổng hợp ARN 2. Nguyên phân 3. Tổng hợp ARN 4. Tổng hợp ADN 5. Gian kỳ

Ở các sinh vật chưa có nhân chính thức, chu kỳ tế bào gồm có hai giai đoạn chính là sự tách đôi của phân tử ADN và sự phân chia tế bào chất. ADN của sinh vật chưa có nhân chính thức là một mạch đơn có dạng vòng. Sự phân đôi ADN xảy ra trước lúc bắt đầu phân chia tế bào. Mỗi phân tử ADN con gắn với các vùng khác nhau của màng sinh chất và sau đó chúng tách nhau ra. Sự phân chia tế bào chất lúc màng sinh chất mới và vách ngăn mới được tổng hợp ở phần giữa tế bào. Vách ngăn này phân chia tế bào làm hai phần, mỗi phần trở thành một tế bào con. Các tế bào con sau khi được hình thành có thể vẫn dính liền với nhau như ở vi khuẩn dạng sợi hoặc tách ra thành cơ thể mới như ở các loài vi khuẩn khác.

Ở các sinh vật có nhân chính thức, chu kỳ tế bào gồm hai giai đoạn chính là gian kỳ và phân chia tế bào. Gian kỳ là thời kỳ chuẩn bị các điều kiện vật chất và năng lượng cho sự phân bào. Đây là thời kỳ tế bào tăng trưởng mạnh

nhất và chiếm 90% thời gian của chu kỳ tế bào. Gian kỳ được chia làm ba kỳ nhỏ là kỳ trước tổng hợp (G_1), kỳ tổng hợp (S) và kỳ sau tổng hợp (G_2).

Giai đoạn phân chia tế bào (M) bao gồm nguyên phân (*mitosis*) và phân chia tế bào chất (*cytokinesis*).

Thời kỳ nguyên phân bao gồm bốn kỳ:

- Kỳ trước (*prophase*) kéo dài từ 2-270 phút và diễn ra ở trong nhân. Ở kỳ này chất nhiễm sắc xoắn lại tạo thành thể nhiễm sắc. Mỗi thể nhiễm sắc gồm hai chromatid dính nhau ở tâm động. Sau đó thoi vô sắc xuất hiện và màng nhân biến mất.

- Kỳ giữa (*metaphase*) kéo dài từ 0,3-170 phút. Hình thành các thể nhiễm sắc kép tập trung trên mặt phẳng xích đạo của thoi vô sắc.

- Kỳ sau (*anaphase*) kéo dài từ 0,3-120 phút. Hai chromatid tách nhau ra ở tâm động thành các thể nhiễm sắc con. Các thể nhiễm sắc con trượt trên thoi vô sắc tiến về hai cực của tế bào.

- Kỳ cuối (*telophase*) kéo dài từ 1,5-150 phút. Hai nhân con được hình thành ở hai cực của tế bào. Thể nhiễm sắc tháo xoắn. Thoi vô sắc biến mất.

Thời kỳ phân chia tế bào chất diễn ra cùng lúc với sự hình thành nhân mới. Đầu tiên là việc hình thành rãnh phân cắt trên bề mặt tế bào, rãnh này thắt dần lại để tách ra thành hai tế bào con. Quá trình tách đôi tế bào động vật được thực hiện nhờ các sợi protein actin cực nhỏ có khả năng co rút tập trung dưới màng sinh chất ở vùng giữa của tế bào mẹ.

Quá trình giảm phân:

Giảm phân cũng gồm những giai đoạn cơ bản như nguyên phân. Tuy nhiên điểm khác biệt chính là các thể nhiễm sắc nhân đôi một lần nhưng lại chia đôi hai lần (giảm phân I và giảm phân II). Kết quả là tạo ra bốn tế bào con có bộ thể nhiễm sắc giảm đi một nửa so với tế bào mẹ.

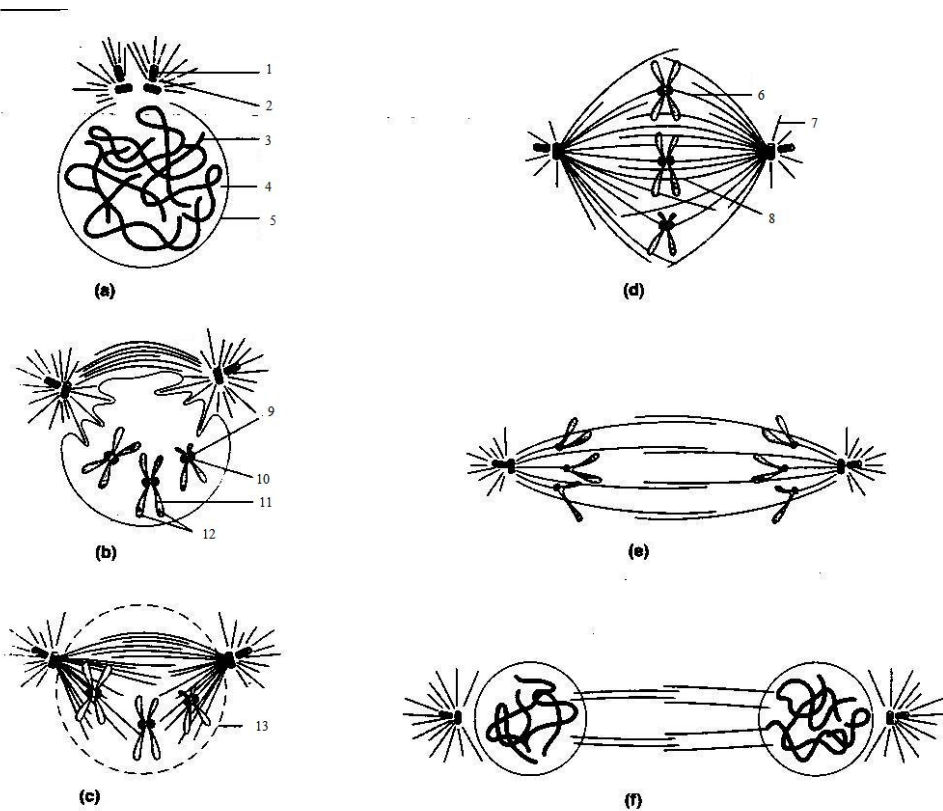
Giảm phân I: Đầu tiên thể nhiễm sắc tự nhân đôi. Mỗi thể nhiễm sắc gồm hai thể nhiễm sắc con tương đồng dính nhau ở tâm động. Giảm phân I chia làm bốn kỳ:

- Kỳ trước I chiếm 90% của giảm phân. Thể nhiễm sắc hình thành những sợi nhiễm sắc mảnh có một đầu dính vào màng nhân, sau đó các thể nhiễm sắc đồng dạng bắt cặp với nhau và xảy ra quá trình trao đổi chéo. Hai trung tử tách nhau ra và đi về hai cực của tế bào.

- Kỳ giữa: các cặp thể nhiễm sắc tương đồng tập trung ở mặt phẳng xích đạo của thoi vô sắc. Mỗi thể nhiễm sắc ngắn lại và dài lên đồng thời gắn vào một sợi của thoi vô sắc.

- Kỳ sau: mỗi thể nhiễm sắc kép trong cặp tương đồng di chuyển về một cực của tế bào.

- Kỳ cuối: đồng thời với sự phân chia nhân, tế bào chất cũng phân chia tạo ra hai tế bào con đơn bội.



Hình 2.2 Các giai đoạn của chu kỳ tế bào (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a) Kỳ trung gian (b) Kỳ trước (c) Trước kỳ giữa (d) Kỳ giữa (e) Kỳ sau (f) Kỳ cuối
 1. Hạt trung tâm 2. Trung thể 3. Sợi chromatin không cuộn lại 4. Nhân 5. Màng nhân
 6. Sợi chuyển động 7. Sợi ngoài 8. Sợi nối cực 9. Kinetochore 10. Tâm điểm
 11. Chromatid 12. Trung thể 13. Màng nhân bị tan rã

Giảm phân II:

- Kỳ trước: thoi vô sắc xuất hiện. Các thể nhiễm sắc di chuyển vào giữa tế bào.

- Kỳ giữa: các thể nhiễm sắc tập trung trên mặt phẳng xích đạo của thoi vô sắc. Mỗi thể nhiễm sắc của cặp thể nhiễm sắc tương đồng nối với một cực của tế bào nhờ thoi vô sắc.

- Kỳ sau: các tâm động của thể nhiễm sắc kép tách nhau ra. Mỗi thể nhiễm sắc con đi về một cực của tế bào.

- Kỳ cuối: Ở mỗi cực của tế bào hình thành một nhân mới và xảy ra sự phân chia tế bào chất. Như vậy từ một tế bào mẹ có bộ thể nhiễm sắc lưỡng bội tạo ra bốn tế bào con có bộ thể nhiễm sắc đơn bội.

Các tế bào ở các sinh vật đa bào phân chia theo những tốc độ khác nhau. Các tế bào phôi có thể phân chia từng mười phút một, các tế bào biểu bì hoàn tất chu kỳ tế bào trong một ngày. Sự khác biệt về thời gian trong chu kỳ tế bào chủ yếu là do sự thay đổi thời gian của pha G_1 . Phần lớn tế bào ngừng sự phân chia ở giai đoạn nghỉ của pha G_1 mà người ta gọi là pha G_0 .

Chu kỳ tế bào được điều hòa bởi một số enzym gọi là *cyclin-dependent kinases*. Các enzym này làm gia tăng các nhóm photphat đối với các protein khác. Chức năng này rất quan trọng ở trong tế bào vì sự gia tăng nhóm photphat làm thay đổi cấu trúc không gian ba chiều và hoạt động sinh học của protein. Hoạt động của *cyclin-dependent kinases* đòi hỏi sự kết hợp với cycline. Cyclin cũng là một loại protein vì sự đa dạng của chúng thay đổi trong chu kỳ tế bào. Chẳng hạn như cycline B tích lũy trong gian kỳ và giảm đi một cách đột ngột ở kỳ giữa. Sự kết hợp khác nhau giữa *cyclin-dependent kinases* với cycline điều hòa quá trình hình thành tế bào qua các pha khác nhau của chu kỳ tế bào.

Chương 3

Sự phát sinh giao tử

Giao tử là những tế bào chuyên hóa cao và rất khác với tế bào xôma. Đặc trưng của tế bào xôma là những tế bào lưỡng bội: chúng mang hai bộ thể nhiễm sắc một có nguồn gốc từ bố, một có nguồn gốc từ mẹ. Giao tử là những tế bào đơn bội: số lượng thể nhiễm sắc trong nhân là một nửa số lượng của tế bào lưỡng bội. Việc tạo ra thể nhiễm sắc xảy ra trong quá trình phát sinh giao tử khi các tế bào sinh dục nguyên thủy giảm phân để cho ra hai tế bào chuyên hóa. Khi thụ tinh, giao tử đực và giao tử cái kết hợp với nhau để cho ra một hợp tử lưỡng bội.

Mặc dù giao tử đực và giao tử cái đều là những tế bào đơn bội nhưng chúng có cấu tạo hoàn toàn khác nhau. Giao tử đực hay còn gọi là tinh trùng chuyên hóa cao với chức năng duy nhất là tìm gặp và thụ tinh với trứng. Một tinh trùng đặc trưng gồm có nhân với một bộ thể nhiễm sắc, một roi bơi hoặc đuôi để chuyển động và một bộ máy ty thể làm nhiệm vụ chuyển hóa cung cấp năng lượng cho hoạt động của tinh trùng. Ngoài ra, có một cấu trúc ở phần đầu gọi là thể đỉnh (*acrosome*) giúp cho tinh trùng chui qua vỏ trứng khi thụ tinh.

Tế bào sinh dục cái còn được gọi là trứng hoàn toàn khác các giao tử cái về sự chuyên hóa. Ngoài việc cung cấp các thông tin di truyền, chúng giúp cho trứng phát triển cho đến khi cá thể mới có khả năng lấy được nguồn dinh dưỡng từ môi trường ngoài. Trứng thường có kích thước lớn có khi gấp hàng nghìn lần so với tế bào xôma. Một trứng điển hình chứa đầy chất dinh dưỡng có năng lượng cao như glycoprotein, carbohydrat và lipid tập hợp thành khối noãn hoàng.

I. Khái niệm về dòng mầm (tế bào sinh dục nguyên thủy)

Khoảng cuối thế kỷ XIX, Weismann đã đưa ra lý thuyết “bào tương mầm” là chất di truyền tồn tại dưới dạng các *nhân tố di truyền* hay các *quyết định tố (determinant)*. Theo lý thuyết này thì các bào tương mầm chỉ có trong các tế bào sinh dục còn trong các tế bào xôma chỉ có một bộ phận của bào tương mầm. Do trong quá trình phát triển xảy ra sự phân chia không đồng đều chất di truyền nên các tế bào con trở nên khác nhau. Qua nhiều lần phân chia mỗi loại tế bào của cơ thể trưởng thành chỉ chứa một loại quyết định tố xác định tính đặc hiệu của loại tế bào đó.

Lý thuyết này đã giải thích sự phát triển một cách khá lôgic. Nó cho thấy những dự đoán quan trọng về sự tập trung vật chất di truyền trong thể nhiễm sắc và giải thích sự phát triển bằng sự phân chia không đồng đều vật chất di truyền. Về sau này người ta mới biết sự phân chia không đều này chỉ xảy ra ở một số loài động vật và chỉ khi hình thành các tế bào sinh dục. Trong các nghiên cứu của mình vào các năm 1899-1910, Boveri đã theo dõi sự hình

thành các tế bào sinh dục ngay từ hợp tử của *Ascaris*. Ông ta phát hiện được trong tế bào chất của cực thực vật có những hạt đặc biệt gọi là *hạt nâu*. Trong lần phân chia thứ nhất chỉ có các tế bào cực thực vật là chứa hạt nâu. Vì vậy, ở những phôi bào này không có sự biến đổi thể nhiễm sắc còn những phôi bào khác không có hiện tượng này gọi là sự *bài chất nhiễm sắc*. Hiện tượng bài chất nhiễm sắc tiếp diễn ở các lần phân chia sau trong các tế bào không chứa hạt nâu. Cuối cùng chỉ có một số tế bào là không có bài chất nhiễm sắc. Qua theo dõi, Boveri cho rằng các tế bào này là thủy tổ của các tế bào sinh dục có trong cơ thể. Chúng có kích thước lớn hơn các tế bào khác và người ta gọi chúng là các tế bào sinh dục nguyên thủy. Các tế bào này sẽ phát triển thành các tế bào sinh dục.

II. Nguồn gốc của hai dòng tế bào xôma và sinh dục

Sự phân ly sớm hai dòng tế bào xôma và sinh dục thấy rõ trong nhiều loài côn trùng. Sự sai khác ở đây biểu hiện ở chỗ dòng sinh dục thì giữ nguyên số thể nhiễm sắc, còn dòng xôma thì xảy ra sự loại thải nhiều thể nhiễm sắc ra khỏi bộ gen. Khi nghiên cứu loài nhặng *Wachtliellia persicariae*, người ta nhận thấy ở vùng cực thực vật, đối diện với vị trí các thể cực, có vùng tế bào chất có cấu tạo dạng lưới, trong ô lưới có các hạt bắt màu hematoxin. Ở thời kỳ phân chia thứ tư, trong số 8 nhân, ở 7 nhân xôma xảy ra sự loại thải 30 thể nhiễm sắc ra khỏi nhân. Chỉ một nhân rơi vào vùng cực sẽ hình thành tế bào sinh dục là còn toàn vẹn 38 thể nhiễm sắc.

Đây là ví dụ điển hình về sự tách nhau sớm của hai dòng tế bào xôma và tế bào sinh dục. Chúng tách nhau ở lần phân chia thứ ba của hợp tử, tức là giai đoạn 8 nhân. Ở đây thấy sự khác biệt rõ rệt giữa hai dòng này.

Ở lưỡng cư, tế bào chất sinh dục hay còn gọi là quyết định tổ sinh dục phân bố ở vùng cực thực vật. Sau phân cắt, các tế bào nào chứa tế bào chất này sẽ là các tế bào sinh dục nguyên thủy. Các tế bào này tập trung ở nội bì đáy ruột. Về sau chúng di cư vào tuyến sinh dục và phát triển thành các giao tử.

Ở chim, các tế bào sinh dục sớm nhất được tìm thấy trong các tế bào nội bì ngoài phôi của đĩa phôi sát phần đầu của đĩa phôi. Sau đó chúng di cư theo các mạch máu vào tuyến sinh dục và phát triển thành giao tử.

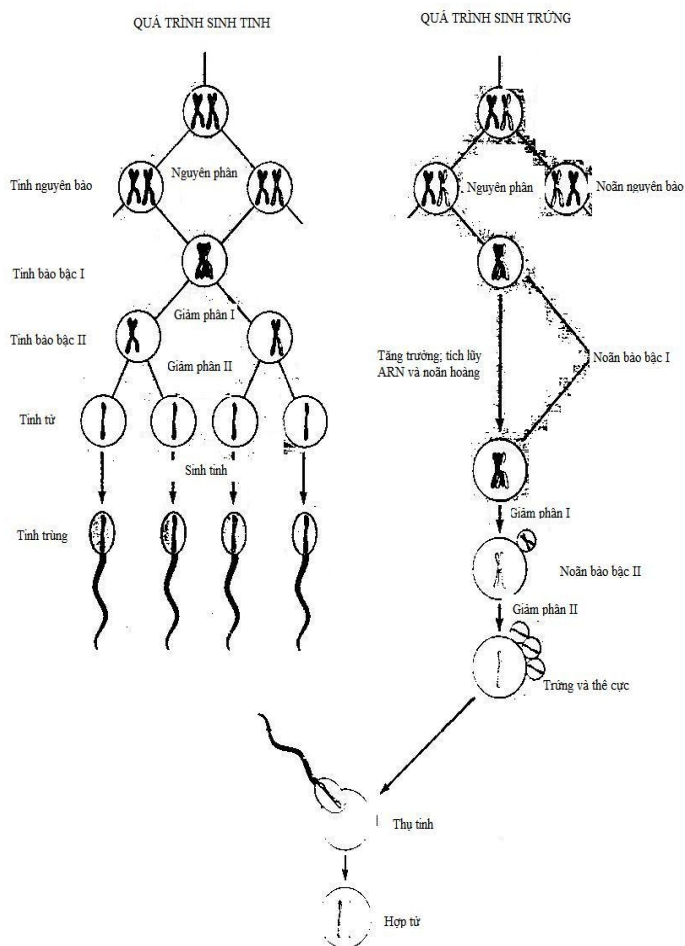
Ở động vật có vú người ta cũng phát hiện được các tế bào sinh dục nguyên thủy trong nội bì phía đuôi của phôi. Về sau chúng di cư qua mạc treo ruột vào tuyến sinh dục.

III. Quá trình sinh tinh

1. Sự tạo tinh trùng

Ở động vật, tinh trùng được tạo ra từ tuyến sinh dục đực nằm trong tinh hoàn. Ở đa số động vật có xương sống, tinh hoàn gồm những ống sinh tinh được bao bọc bởi mô liên kết dày xen kẽ với mô liên kết thưa gọi là mô kẽ.

Tinh trùng được tạo ra từ thành của ống sinh tinh. Các ống sinh tinh này chứa rất nhiều loại tế bào khác nhau mà quan trọng nhất là các tế bào mầm hay các tế bào sinh dục nguyên thủy lớn khoảng 10 micromet, nhân hình tròn hoặc êlip. Chúng nằm ở ngoại vi của ống trên suốt chiều dài khoảng 170m của ống sinh tinh trên mỗi tinh hoàn. (H 3.2)



Hình 3.1 So sánh quá trình sinh tinh và quá trình sinh trứng
(Theo K. Kalthoff, 1996)

Vào một thời điểm nào đó, tế bào sinh dục nguyên thủy bắt đầu tăng lên về kích thước, gia tăng hoạt tính, đồng thời di chuyển từ ngoại vi vào trung tâm của ống và trở nên ưa kiềm hơn. Sau đó các tế bào này bắt đầu phân chia nguyên nhiễm cho ra các tinh nguyên bào, tinh nguyên bào lại phân chia để cho các tinh bào bậc I có $2n$ thể nhiễm sắc và có kích thước 25 - 30 micromet. Các tinh bào I phân bào giảm nhiễm hai lần, lần đầu cho các tinh

bào bậc II, lần thứ hai cho bốn tinh tử đều có bộ thể nhiễm sắc đơn bội. Các tinh tử sẽ biệt hóa để cho ra bốn tinh trùng. Có thể thấy kỳ trước của giảm phân I gồm các giai đoạn sau:

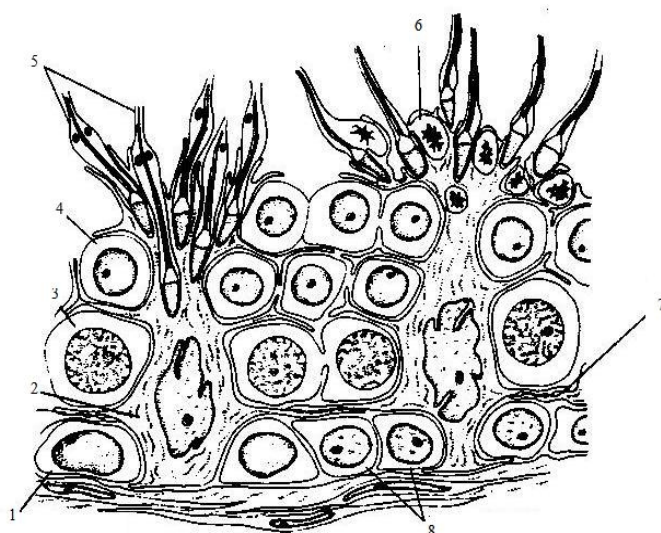
- Giai đoạn sợi mảnh (*leptonem*): trong nhân có các tơ rất mảnh cuộn thành bó. Một đầu của tơ nhiễm sắc tập trung hướng về trung thể.

- Giai đoạn sợi kép (*zigonem*): các cặp thể nhiễm sắc tương đồng bắt cặp với nhau. Các cặp thể nhiễm sắc tương đồng hoạt động như một thể thống nhất gọi là các lưỡng trị. Số lưỡng trị bằng 1/2 số thể nhiễm sắc lưỡng bội.

- Giai đoạn sợi to (*pakinem*): các thể nhiễm sắc co ngắn lại và trở nên to hơn. Các lưỡng trị thấy rõ gồm bốn nhiễm sắc tử. Hiện tượng quan trọng diễn ra ở giai đoạn này là sự trao đổi chéo của các cặp thể nhiễm sắc.

- Giai đoạn sợi to kép (*diplonem*): các thể nhiễm sắc tiếp tục co ngắn hơn và bắt đầu đẩy nhau ra.

- Giai đoạn *diakinese*: các bắt chéo trượt về các đầu mút. Màng nhân tan và tế bào chuyển sang kỳ giữa.



(c)

Sang kỳ sau, mỗi thể nhiễm sắc tương đồng đi về một cực của thoi phân chia. Sau kỳ cuối, tinh bào I chia thành hai tế bào nhỏ hơn là tinh bào II.

Hình 3.2 Tạo tinh trùng trong Ống dẫn tinh (Theo K. Kalthoff, 1996)

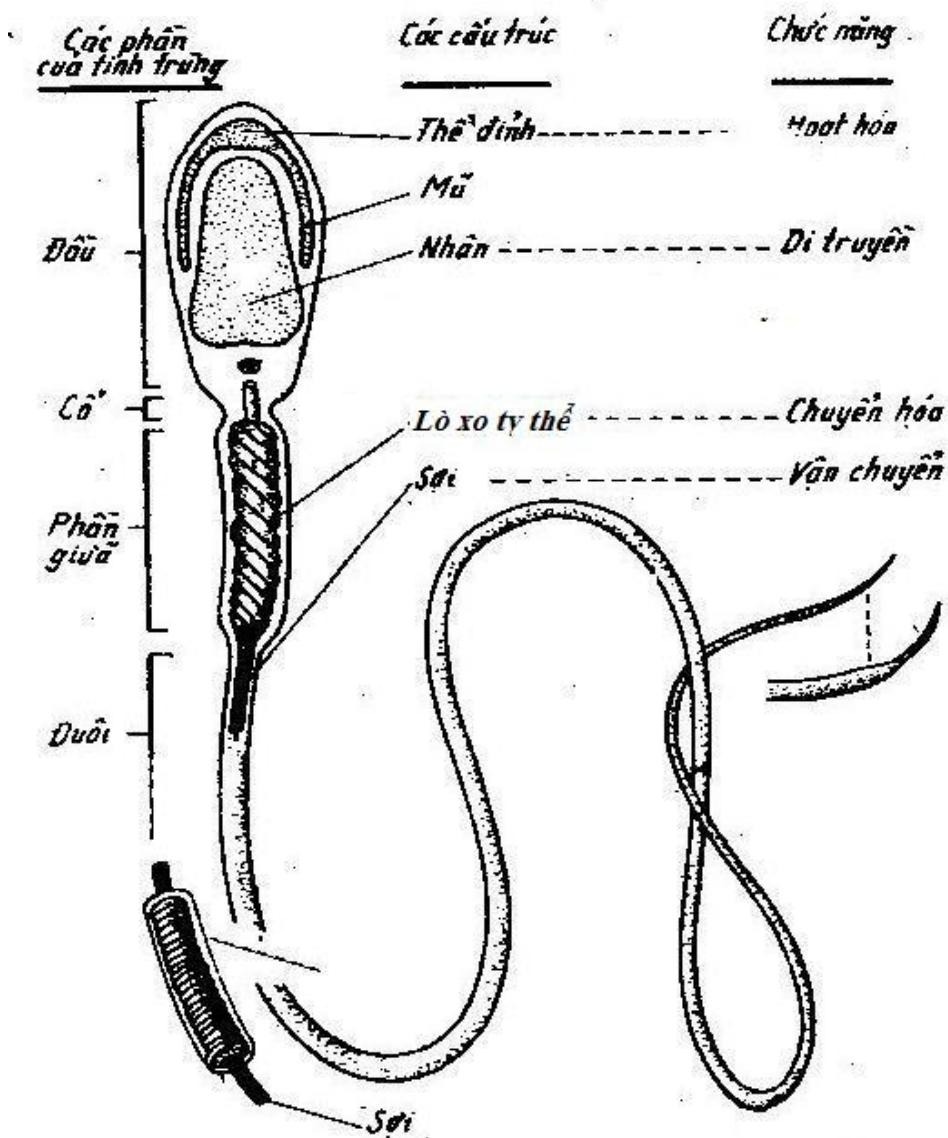
1. Tinh nguyên bào
2. Tế bào Sertoli

3. Tinh bào I 4. Tinh bào II 5. Tinh tử 6. Thể thừa 7. Màng chắn máu-tinh hoàn 8. Tế bào sinh dục nguyên thủy

2. Cấu tạo tinh trùng

Tinh trùng có cấu tạo khác nhau trong các nhóm động vật khác nhau. Tuy nhiên, chúng đều có những nét cấu tạo chung thích nghi với chức năng vận chuyển, thụ tinh và các chức năng sống khác. Các nghiên cứu bằng kính hiển

vi điển tử cho thấy tinh trùng cấu tạo gồm có bốn phần: đầu, cổ, phần giữa và đuôi.



Hình 3.3 Cấu tạo tinh trùng (Theo W. B. Charles, 1978)

Phần đầu có thể đỉnh, nhân, tế bào chất và các bào quan khác. Thể đỉnh có nguồn gốc từ bộ máy Golgi của tinh tử và bao gồm một khối đặc nằm trên nhân và bao trùm sang hai bên tạo thành mũ tinh trùng. Ở một số nhóm động vật không xương sống ở biển, thể đỉnh tạo thành sợi thể đỉnh để khoan thủng vỏ trứng. Còn ở các nhóm động vật khác, thể đỉnh có các enzym như phosphatasa, hyaluronidaza, esteraza,... có tác dụng phân hủy vỏ trứng. Nhờ

vậy mà thể đỉnh đóng vai trò quan trọng trong sự xâm nhập của tinh trùng vào trứng khi thụ tinh và kích thích trứng hoạt động tiếp tục khi thụ tinh. Nhân tinh trùng có kích thước lớn, chứa đầy vật chất di truyền là các deoxyribonucleoprotein với nồng độ cao.

Phần cổ của tinh trùng chủ yếu có các trung tử đầu và trung tử đuôi. Người ta giả định rằng trung tử đuôi đóng vai trò quan trọng trong quá trình phân chia trứng đã thụ tinh. Từ trung tử đuôi phát ra sợi trục nằm trong phần đuôi của tinh trùng.

Ngay sau phần cổ là phần giữa có tiết diện to hơn phần đuôi. Trong đó có ti thể dạng xoắn ốc choán gần hết phần giữa và bao quanh sợi trục. Ti thể chứa các enzym oxi hóa và oxyphosphoryl hóa và các chất khác tham gia vào quá trình chuyển hóa và dự trữ năng lượng quan trọng cho tinh trùng.

Phần đuôi cấu tạo chủ yếu là sợi trục. Đây là một phức hợp gồm 10 đôi vi ống (1 đôi trung tâm và 9 đôi chung quanh). Ở động vật có vú, sợi trục còn được bao quanh bởi những sợi mảnh hơn, ở cá còn được bao quanh bởi màng lượn sóng. Đuôi đảm bảo cho tinh trùng có thể chuyển động. Sự di chuyển được thực hiện nhờ chuyển động co - duỗi, lượn sóng và đập đuôi. Tuy nhiên, cũng có một số loài, tinh trùng không có đuôi. Tốc độ chuyển động khoảng từ 1,5 - 5 mm/phút

Khi phóng tinh, tinh trùng trộn lẫn với dịch lỏng (tinh dịch) của tuyến tiền liệt và tuyến Cowper. Trong tinh dịch của một lần phóng tinh của ngựa có thể chứa tới 12 tỉ tinh trùng, ở bò 9 - 10 tỉ. Ở người Việt Nam, một lần phóng tinh khoảng 2,68 mm³ và chứa 89,4 triệu tinh trùng/1mm³.

Tinh trùng dự trữ rất ít năng lượng, do đó tiêu hết năng lượng và mất khả năng chuyển động rất nhanh. Khả năng thụ tinh của tinh trùng của động vật có vú khi rơi vào đường sinh dục cái khá lâu. Ví dụ ở bò, cừu từ 1 - 2 ngày, ngựa từ 5 - 6 ngày, dơi từ 3 - 5 tháng, gà đến 30 ngày. Người ta có thể bảo quản vô thời hạn tinh trùng trong nitơ lỏng nhiệt độ - 196°C.

3. Cơ chế điều hòa quá trình sinh tinh

- Cơ chế bên trong (vai trò của thần kinh và thể dịch): Trong cơ chế này có sự tham gia của vùng dưới đồi, tuyến yên và tinh hoàn. Vùng dưới đồi tiết ra hormon GnRH tác động vào tuyến yên kích thích tuyến yên tiết ra LH và FSH. LH tác động vào tế bào Leibdig tiết ra testosterone, còn FSH tác động vào tế bào Sertoli làm sản sinh tinh trùng và tinh dịch. Các tế bào Sertoli còn tiết ra hormon inhibin có tác dụng điều hòa ngược đối với vùng dưới đồi và tuyến yên để điều chỉnh tiết các hormon của hai tuyến này, từ đó điều chỉnh quá trình tiết testosterone và tạo tinh trùng. Ngoài ra, hormon GH còn tham gia kiểm soát chức năng chuyển hóa của tinh hoàn và thúc đẩy sự phân chia các tinh nguyên bào.

- Cơ chế bên ngoài (vai trò của nhiệt độ và ánh sáng):

+ Nhiệt độ: tinh trùng được tạo ra ở môi trường có nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ của cơ thể từ 1-2°C. Cơ Dartos của bìu co giãn tùy thuộc nhiệt độ của môi trường nhằm đảm bảo nhiệt độ tối thích cho sự sản sinh tinh trùng. Do nhiệt độ trong ổ bụng cao hơn trong bìu nên những người bị chứng ản tinh hoàn thì không tạo được tinh trùng vì dòng tinh bị phá hủy. Nhiệt độ trong đường sinh dục nữ cao hơn trong bìu sẽ làm tăng chuyển hóa và tăng hoạt động của tinh trùng. Ngược lại nhiệt độ thấp, tinh trùng sẽ giảm chuyển hóa và giảm hoạt động.

+ Ánh sáng: Sự thay đổi độ dài ngày (tăng thời gian chiếu sáng) là một yếu tố quan trọng điều chỉnh hoạt tính của tuyến sinh dục đực. Để chứng minh điều này, Powen đã làm thí nghiệm trên loài chim có tên là *Junko* là một loài chim di cư sống ở Nhật. Ông ta đã bắt những con chim trống của loài chim này vào tháng 9 khi chúng sắp di cư về phương Nam, nơi có khí hậu ấm áp hơn và có độ dài ngày dài hơn. Sau đó dùng phương pháp chiếu sáng nhân tạo để tăng độ dài của ngày. Trong các điều kiện này, đến tháng 12 các tuyến sinh dục đã lớn tới kích thước mà bình thường chúng chỉ đạt được khi bắt đầu sinh sản vào tháng 5 năm sau. Người ta cũng đã thu được những kết quả tương tự cho nhiều loài động vật có xương sống khác và như vậy ánh sáng đã đóng vai trò quan trọng trong quá trình tạo và tiến tinh trùng.

IV. Quá trình sinh trứng

1. Sự tạo trứng (H 3.1)

Từ các tế bào sinh dục nguyên thủy hay các noãn bào nguyên thủy phân chia nguyên nhiễm nhiều lần cho ra các noãn bào nguyên bào. Các noãn bào sau một quá trình phân chia và tăng trưởng cho ra các noãn bào. Các noãn bào bắt đầu phân chia giảm nhiễm cho ra hai tế bào: tế bào to có thể tích bằng tế bào trứng nên gọi là tế bào trứng; tế bào nhỏ do cực động vật sinh ra nên gọi là cực cầu (thể cực). Tế bào trứng lại phân chia lần thứ hai thành tế bào trứng chín và thể cực thứ hai, cùng lúc đó thể cực thứ nhất cũng phân chia thành hai thể cực. Kết quả tạo ra bốn tế bào trong đó chỉ có một tế bào trứng có thể thụ tinh còn ba tế bào còn lại (ba thể cực) không có khả năng nói trên. Đây là sự khác biệt với quá trình sinh tinh.

2. Cấu tạo trứng (H 3.4)

Tất cả trứng đều được bao quanh bởi màng sinh chất. Trừ một số trường hợp, trứng còn được phủ một lớp màng nữa, tạo nên khi còn ở trong buồng trứng là màng noãn hoàng. Trứng còn được bao quanh bởi màng trứng thứ ba do các tế bào bao noãn tạo nên như màng chorion của côn trùng, hoặc do ống dẫn trứng tiết ra màng keo ở lưỡng cư, lòng trắng trứng gà, màng đá vôi của trứng gà hay vỏ dai của bò sát.

Tế bào chất của trứng có từ 1 - 2 nhân, có các bào quan, noãn hoàng và sắc tố. Trứng còn phân thành cực gọi là cực của trứng do tế bào chất và noãn hoàng phân bố không đều ở trong trứng. Bình thường cực đỉnh tế bào chất

nhiều, noãn hoàng ít gọi là cực động vật (cực sinh sản), ngược lại cực đày có ít tế bào chất, nhiều noãn hoàng nên gọi là cực thực vật (cực dinh dưỡng).

Noãn hoàng là một hình thức tích lũy các chất dinh dưỡng trong trứng. Noãn hoàng thường ở dạng hạt hoặc phiến, thành phần chủ yếu là protein, phospholipid và mỡ trung tính. Ví dụ trứng của ếch nhái, trong noãn hoàng có 45% protein, 2% lipid và 8% glycogen. Noãn hoàng có thể nằm trong tế bào chất như ở nhiều loài động vật không xương sống, dây sống thấp hoặc lưỡng cư hoặc tách riêng ra khỏi tế bào chất như ở cá xương, bò sát, chim. Tùy theo số lượng và sự phân bố của noãn hoàng trong trứng mà có thể phân chia ra các loại trứng sau:

- Trứng đồng noãn hoàng: lượng noãn hoàng ít, dạng hạt bé và phân tán đồng đều trong tế bào chất. Ví dụ: trứng của động vật không xương sống, dây sống thấp, động vật có vú.

- Trứng đoạn noãn hoàng: noãn hoàng nhiều, dạng hạt lớn, tập trung ở cực dinh dưỡng. Ví dụ: trứng cá, lưỡng cư, bò sát, chim.

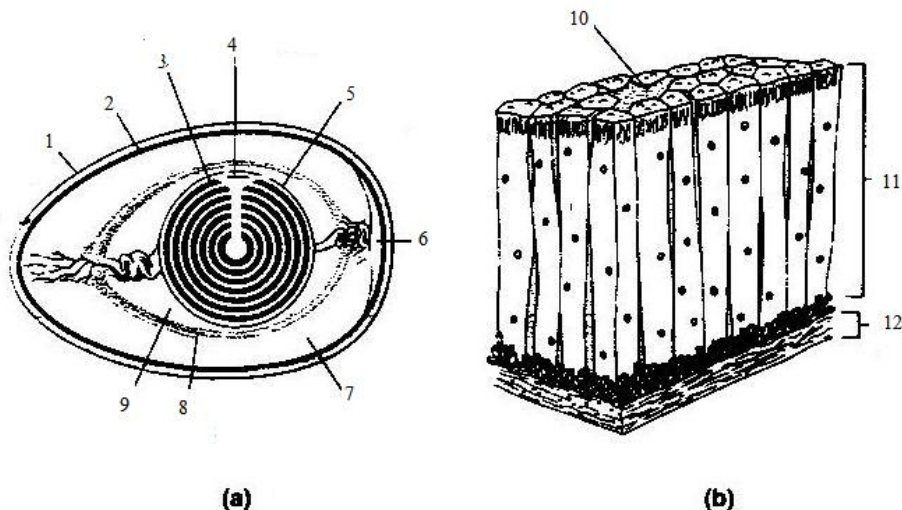
- Trứng trung noãn hoàng: noãn hoàng tập trung ở chính giữa tế bào, còn tế bào chất tạo thành xung quanh. Ngoài ra, ở trung tâm cũng có một ít tế bào chất chứa nhiều nhân. Ví dụ: trứng của các loài chân khớp, đặc biệt là côn trùng.

Khối lượng noãn hoàng trong trứng là nguồn năng lượng quan trọng, là những nguyên liệu ban đầu để tổng hợp các chất tế bào. Khối lượng noãn hoàng cũng quy định kích thước của trứng. Ở một số loài động vật có vú, trứng có thể lớn tới 200 mm, của ếch 2 mm và của chim tới 40 mm.

Khối lượng noãn hoàng trong trứng cũng quyết định cách phân cắt của trứng mà sẽ được đề cập đến trong quá trình phát triển phôi.

3. Sự rụng trứng

Sau khi trải qua quá trình thành thực cần thiết và đã tạo đủ toàn bộ số lượng noãn hoàng dự trữ, trứng chín và bắt đầu rụng. Thời gian rụng trứng có liên quan mật thiết với chu kỳ sinh sản của mỗi loài động vật và được điều khiển bởi hai yếu tố bên trong và bên ngoài. Có thể lấy ví dụ ở ếch để thấy quá trình rụng trứng và di chuyển của trứng trong đường sinh dục: buồng trứng của ếch chứa khoảng 2 000 trứng dính với vách xoang cơ thể. Trứng trong buồng trứng được bao quanh bởi màng bao noãn. Sau khi chín, trứng ra khỏi màng bao noãn và rơi vào thể xoang. Thể xoang được lót một lớp mỏng các tế bào phúc mạc có lông rung. Các lông rung chuyển động nhịp nhàng đẩy trứng tới phễu của ống dẫn trứng (vòi Fallop). Khi đi qua ống dẫn trứng, trứng được phủ một lớp màng keo và cuối cùng rơi vào tử cung. Trứng tập trung ở tử cung và được đẻ ra cùng một lúc.



Hình 3.4 Cấu tạo trứng gà (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a) Sơ đồ cắt dọc (b) Cấu tạo vỏ trứng

1. Vỏ 2. Màng dưới vỏ 3. Noãn hoàng 4. Bì phôi 5. Màng noãn hoàng 6. Khoảng chân không 7. Lòng trắng 8. Lớp sợi 9. Lớp trong lòng trắng 10. Lỗ lấp đầy sợi collagen 11. Cột calcium carbonat 12. Màng vỏ trứng

Một trong những yếu tố quan trọng nhất điều chỉnh chức năng của buồng trứng và rụng trứng là vùng dưới đồi và tuyến yên. Trong chu kỳ buồng trứng của động vật có vú, có hai quá trình khác nhau: một là bao noãn lớn lên và kết thúc bằng sự rụng trứng; hai là sự tạo thể vàng. Hai quá trình này được điều khiển bởi ba hormon kích thích sinh dục do tuyến yên tiết ra là hormon kích thích bao noãn (FSH), hormon tạo thể vàng (LH) và hormon tạo sữa (LTH). Ngoài ra tính hoạt động chu kỳ của buồng trứng còn chịu tác động của hai hormon của buồng trứng là estrogen và progesteron.

Yếu tố bên ngoài ảnh hưởng đến rụng trứng là những thay đổi của điều kiện khí hậu. Với thí nghiệm nuôi chuột cống và chuột nhắt được chiếu sáng suốt đêm và che tối suốt ngày thì thời gian rụng trứng của nhiều con vật này không phải giữa đêm mà vào buổi trưa. Ngoài ra độ dài của ngày và độ dài của sóng ánh sáng cũng đóng vai trò điều chỉnh rụng trứng. Chồn cái có thể hoạt động sinh dục trái mùa nếu được chiếu sáng 16 giờ/ngày với độ dài sóng 3650 - 6500 Å. Cũng như đối với sự sinh tinh, ánh sáng không tác động trực tiếp lên buồng trứng mà lên tuyến yên. Không thuộc hai yếu tố nói trên là hiện tượng xảy ra ở một số loài động vật khác: chồn, mèo và thỏ có thể rụng trứng ngay sau khi giao phối. Như vậy đây là yếu tố làm trứng rụng ra khỏi buồng trứng.

Chương 4

Sự thụ tinh

I. Sự tương tác trước khi kết hợp trứng và tinh trùng

Nhiều cơ chế đã được phát hiện cho thấy có sự đảm bảo để các tế bào sinh dục gặp nhau đúng lúc và đúng vị trí trong điều kiện thuận lợi khi thụ tinh ở động vật. Như vậy, có một sự sắp xếp hoàn hảo trong sự tương tác giữa cá thể đực và cá thể cái và giữa trứng và tinh trùng. Ở nhiều loài sinh vật, trứng tiết ra một chất hóa học nhằm thu hút tinh trùng về phía trứng. Ở động vật có vú và các loài động vật khác, tinh trùng phải xảy ra một loạt các biến đổi sinh hóa trước khi thụ tinh với trứng.

Tinh trùng muốn xuyên thủng màng sáng của trứng đòi hỏi phải trải qua quá trình biến đổi gọi là tiềm năng hóa (*capacitation*) (C. R. Austin, 1952). Quá trình tiềm năng hóa cũng xảy ra trong điều kiện *in vitro* khi tinh trùng được ủ trong chất dịch lấy ra từ tử cung hay ống dẫn trứng. Trước khi xảy ra quá trình này, tinh trùng động vật có vú ở trong tình trạng ít hoạt động mà chủ yếu là tích trữ năng lượng và chuẩn bị các điều kiện cho đến khi gặp trứng. Một tinh trùng có tiềm năng là tinh trùng có khả năng hoạt động và chuyển động của cơ quan vận chuyển. Cơ chế phân tử của quá trình tiềm năng hóa hiện chưa được biết nhiều. Người ta cho rằng chúng có thể làm thay đổi thành phần màng sinh chất của tế bào như làm giảm tỷ lệ photpholipid (B. K. Davis, 1981). Một quan điểm khác lại cho rằng kết quả của quá trình tiềm năng hóa là làm thay đổi tế bào chất trong phần đỉnh của tinh trùng.

Ở nhiều loài động vật, tinh trùng phải trải qua một cuộc hành trình bằng cách di chuyển từ âm đạo dọc theo ống dẫn trứng đến nơi thụ tinh ở phần trên của ống dẫn trứng. Sự co rút của cơ tử cung và ống dẫn trứng hỗ trợ cho tinh trùng trong quá trình di chuyển. Tuy nhiên, với số lượng lớn tinh trùng trong âm đạo (100 triệu đến 500 triệu ở người) chỉ còn lại vài trăm ở nơi thụ tinh. Sự giảm sút đáng kể về mặt số lượng này được giải thích như một sự chọn lọc để loại đi những tinh trùng không bình thường.

Việc lôi kéo tinh trùng được điều khiển bởi một chất dẫn dụ do tế bào trứng tiết ra. Việc định hướng di chuyển do một tín hiệu hóa học bên ngoài được gọi là tính hướng động hóa học (*chemotaxis*). Tính chất hoạt động này ở tinh trùng đã được quan sát ở các nhóm động vật như ruột khoang, thân mềm, da gai, có bao và động vật có vú bao gồm cả người (R. Miller, 1985; Eisenbach và Ralt, 1992). Ở loài ruột khoang thuộc giống *Campanularia*, trứng phát triển trong một cấu trúc giống trứng gọi là *gonangium* có một đường rãnh để tinh trùng có thể chui vào trứng. Một số chất hấp dẫn tinh trùng đã được phân lập từ trứng của cầu gai. Một trong những chất đó gọi là *resact* - một peptid nhỏ chứa 14 amino axit tìm thấy trong tầng trung giao của loài *Arbacia punctulata* (G. E. Ward et al., 1985).

Bằng chứng đầu tiên về chất dẫn dụ hóa học ở động vật có vú là tinh trùng tập trung ở gần nơi thụ tinh trong trạng thái bất động nhiều giờ trước khi trứng rụng. Sau đó tinh trùng trở nên hoạt động và bị ngưng kết trên bề mặt trứng do chất hóa học của trứng tiết ra.

II. Sự kết hợp các tế bào sinh dục

Sau khi tinh trùng dính chặt vào trứng, tinh trùng xuyên thủng vỏ trứng nhờ một loại men phân giải vỏ trứng gọi là enzym *lytic* nằm trên lớp vỏ của thể đỉnh (Colwin và Colwin, 1960). Màng sinh chất của tinh trùng tiếp xúc với màng sinh chất của trứng. Sau khi màng sinh chất tiếp xúc xảy ra, trứng và tinh trùng kết hợp nhau tạo màng sinh chất hỗn hợp là một hiện tượng của sự thụ tinh. Ở trứng cầu gai, màng sinh chất hỗn hợp xảy ra ở đầu mút của sợi thể đỉnh. (H 4.1)

Thành phần hóa học của màng sinh chất hỗn hợp là một loại protein có tên gọi là PH-30 đã phân lập được từ tinh trùng của một loài lợn (Myles, 1993). Trước tiên, kháng thể kháng PH-30 ngăn cản sự thụ tinh. Sau đó, PH-30 phân tán trên toàn bộ phần đầu của tinh trùng và tồn tại ở đó cho đến khi thể đỉnh hoạt động khi tiếp xúc với trứng. Cuối cùng, PH-30 có tính chất hóa học của protein hỗn hợp giống như của virus để xuyên thủng màng sinh chất của tế bào vật chủ (Global et al., 1992).

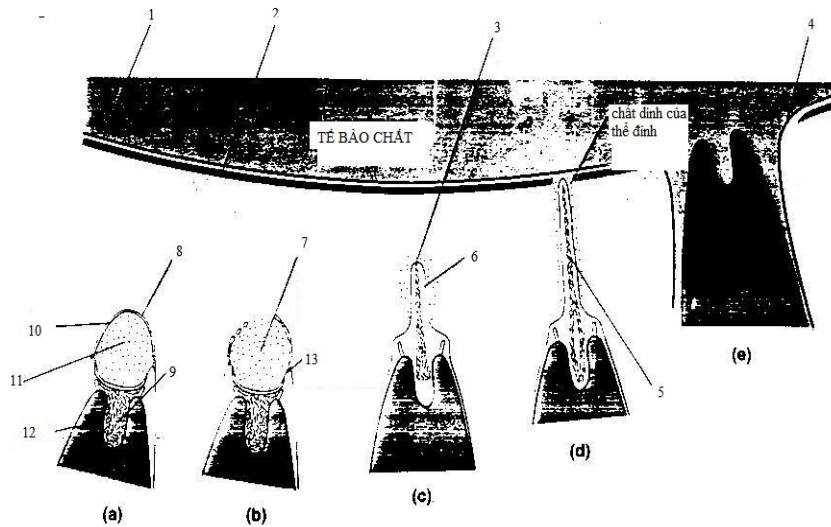
Tại vị trí của màng sinh chất, trứng thụ tinh tạo nên một mẫu lõi gọi là mẫu thụ tinh. Mẫu thụ tinh nhấn chìm tinh trùng vào sâu trong trứng. Quá trình này tạo ra một chuyển động của tế bào chất của trứng bao quanh nhân tinh trùng (Longo, 1989). Mẫu thụ tinh phát triển vài phút sau khi tinh trùng xâm nhập, sau đó thoái hóa.

Dưới ảnh hưởng tế bào chất của trứng, nhân tinh trùng có một vài thay đổi để chuẩn bị tham gia vào việc tạo nhân hợp tử. Màng nhân tinh trùng tan ra từng mảnh nhỏ để lộ thể nhiễm sắc của tinh trùng ra trong tế bào chất của trứng. Nhân tinh trùng lúc đó gọi là tiền nhân đực. Nhân của trứng đã hoàn thành quá trình giảm phân gọi là tiền nhân cái. Cả hai nhân cùng di chuyển và tập trung ở giữa trứng sau đó là hiện tượng kết hợp hai bộ thể nhiễm sắc của tinh trùng và trứng. (H 4.2)

III. Sự hoạt hóa của trứng

Những phản ứng của trứng do sự xâm nhập của tinh trùng hay một kích thích nào đó là sự hoạt hóa trứng.

Dấu hiệu đầu tiên của sự hoạt hóa là phản ứng vỏ và sự tạo nên màng thụ tinh. Trong lớp vỏ của trứng cầu gai có những cấu trúc hạt. Bắt đầu từ vị trí màng tinh trùng đã xâm nhập, các hạt của lớp vỏ vỡ ra và lan đi về mọi phía. Đồng thời màng noãn hoàng nâng lên khỏi bề mặt trứng và tạo nên xung quanh noãn. Còn cấu trúc hạt của lớp vỏ nói trên tích tụ thành một lớp nguyên liệu đặc, ở dạng phiến. Màng noãn hoàng trên giờ đây đạt được tới độ



Hình 4.1 Sự xâm nhập của tinh trùng vào trứng trong thụ tinh (Theo K. Kalthoff, 1996)

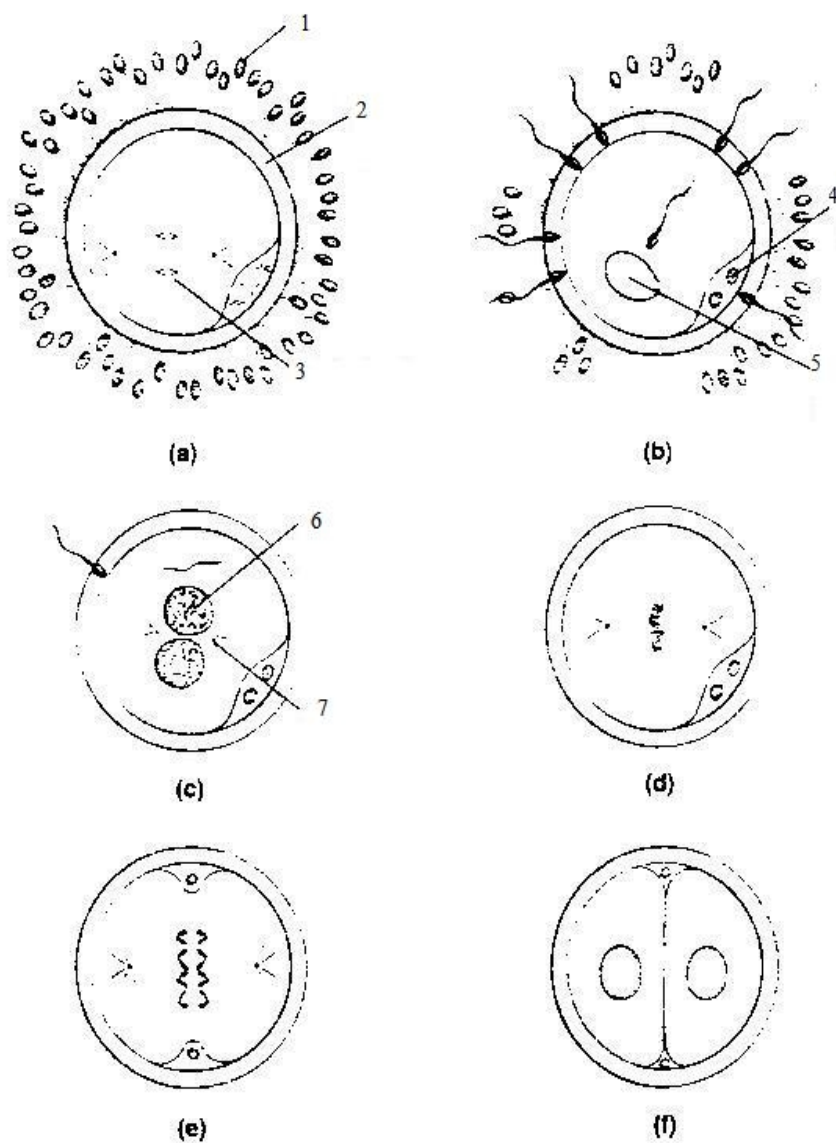
(a) Phần đầu tinh trùng khi chưa có phản ứng (b) Khi tinh trùng tiếp xúc vỏ trứng (c) Kéo dài sợi thể đỉnh, tiết chất dinh với màng noãn hoàng (d) Màng sinh chất tinh trùng và trứng tiếp xúc nhau (e) Màng sinh chất hòa lẫn và tinh trùng chui vào trứng
 1. Màng sinh chất trứng 2. Màng noãn hoàng 3. Màng túi thể đỉnh 4. Màng sinh chất hòa lẫn 5. Vi sợi 6. Sợi thể đỉnh 7. Enzym tiết ra từ thể đỉnh 8. Màng sinh chất tinh trùng 9. Actin G 10. Màng thể đỉnh 11. Chất thể đỉnh 12. Màng nhân

dày 500 - 900Å và được gọi là màng thụ tinh. Hiện tượng trên gọi là phản ứng vỏ, hoàn thành từ 1 - 3 phút sau khi thụ tinh.

Phản ứng vỏ mà kết quả là tạo thành màng thụ tinh là đặc trưng cho một số loài động vật như da gai, cá, ếch nhái. Đối với các loài này, hiện tượng nói trên được xem như đóng vai trò trong việc “phong bế đa tinh”. Tuy nhiên, đối với một số loài khác (côn trùng, chuột đồng) không có hiện tượng trên. Do đó người ta chưa tán thành vai trò nói trên của phản ứng vỏ, mà chỉ xem như một trong những biến đổi của sự hoạt hóa trứng. (H 4.3)

Kèm theo phản ứng vỏ còn có nhiều hiện tượng khác nhau sau khi thụ tinh như tính lưỡng chiết của lớp vỏ, độ nhớt và sự thẩm thấu qua lớp vỏ, đồng thời với sự thay đổi điện thế của màng (ở cầu gai từ - 60mV → +20mV) trong vài phút được gọi là cơ chế ngăn cản tức thời.

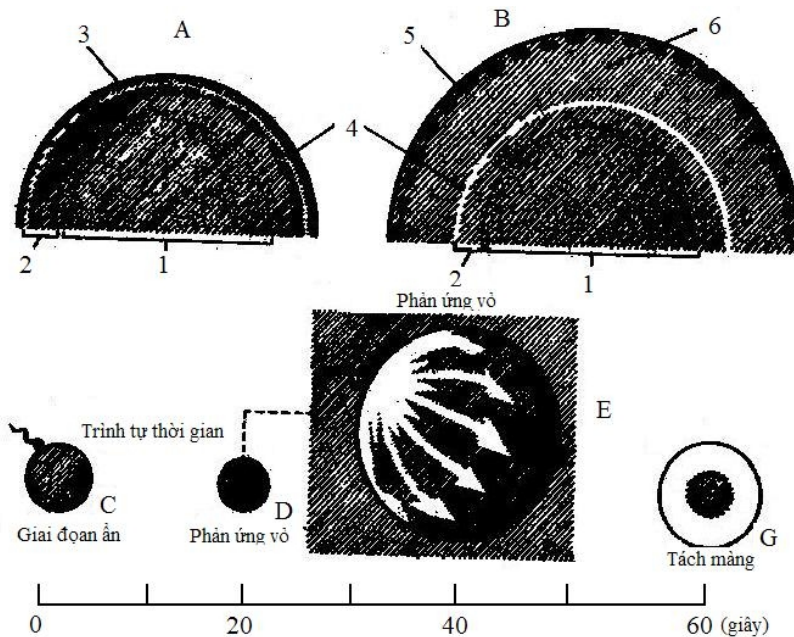
Sự hoạt hóa của trứng đưa tới những thay đổi sâu sắc về trao đổi chất của trứng. Ví dụ: sự tiêu thụ oxy tăng vọt và sự sinh nhiệt được đẩy mạnh. Ngoài ra, sự tiêu thụ photpho, sự sử dụng glycogen, sự xâm nhập amino axit và sự tổng hợp protein đều tăng lên.



Hình 4.2 Sự thụ tinh ở người (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a) Trứng ở giữa (b) Một tinh trùng đã đi vào trứng (c) Tạo tiền nhân đực (d) Màng nhân tan ra (e) Kỳ cuối với phân cắt đầu tiên (f) Phôi ở giai đoạn hai phôi bào
 1. Tế bào hạt 2. Vùng sáng 3. Giâm phân 4. Thể cực 5. Tiền nhân cái 6. Tiền nhân đực 7. Trung thể

Tóm lại, ngoài những thay đổi vật lý còn có sự thúc đẩy mạnh hoạt tính chuyển hóa của trứng.



Hình 4.3 Phản ứng vỏ và sự tạo màng thụ tinh (Theo W. B. Charles, 1978)
 A. Trứng trước thụ tinh B. Sau thụ tinh C-G. Diễn tiến theo thời gian của phản ứng vỏ và tạo màng thụ tinh
 1. Chất nội bào 2. Lớp vỏ 3. Màng noãn hoàng 4. Màng tế bào 5. Màng thụ tinh 6. Xoang quanh noãn

IV. Sự trình sinh

Trình sinh hay đơn tính sinh là một hình thức sinh sản mà một trứng không qua thụ tinh phát triển thành một cá thể mới. Hiện tượng này có thể gặp ở nhiều loài động vật không xương sống như trùng bánh xe, rệp, ong, tò vò, kiến). Ví dụ ở ong, các ong đực trong đàn ong là kết quả của sự phát triển từ trứng không thụ tinh của ong chúa. Ở trùng bánh xe, trứng lớn vỏ mỏng không qua thụ tinh cho ra toàn cá thể cái, còn trứng bé vỏ mỏng không thụ tinh cho ra toàn cá thể đực. Trình sinh cũng đã được mô tả ở các loài động vật có xương sống. Ở gà tây, 40% trứng phát triển thành các gà trống hay ở loài nhông thuộc giống *Leiolepis* cũng trình sinh cho ra toàn cá thể cái.

Bằng kích thích cơ học hoặc hóa học cũng làm cho trứng phát triển không qua thụ tinh gọi là trình sinh nhân tạo. Có thể gây phản ứng vỏ và tạo màng thụ tinh khi xử lý trứng chưa thụ tinh bằng những tác nhân rất khác nhau. Chẳng hạn, nếu nhúng trứng cầu gai vài phút vào nước biển ưu trương và sau đó lại đưa về nước biển bình thường thì chúng thường phát triển thành những ấu thể bình thường. Cũng có thể châm kim có bôi máu vào trứng ếch chưa thụ tinh, trứng này cũng có thể phát triển.

Cần nhận xét rằng, các trứng phát triển không phải luôn ở trạng thái đơn bội. Trong một số trường hợp trình sinh nhân tạo hay tự nhiên xảy ra sự nhân đôi thể nhiễm sắc và kết quả là tạo nên cá thể lưỡng thành lưỡng bội.

Cũng cần lưu ý là qua hiện tượng trình sinh cho thấy một sự thực là trong trứng có tất cả các nhân tố cần thiết cho phát triển. Do đó có thể xem trứng như là một hệ thống phản ứng sẵn sàng hoạt động chỉ cần có một kích thích bên ngoài nào đó không phải là tinh trùng

Chương 5

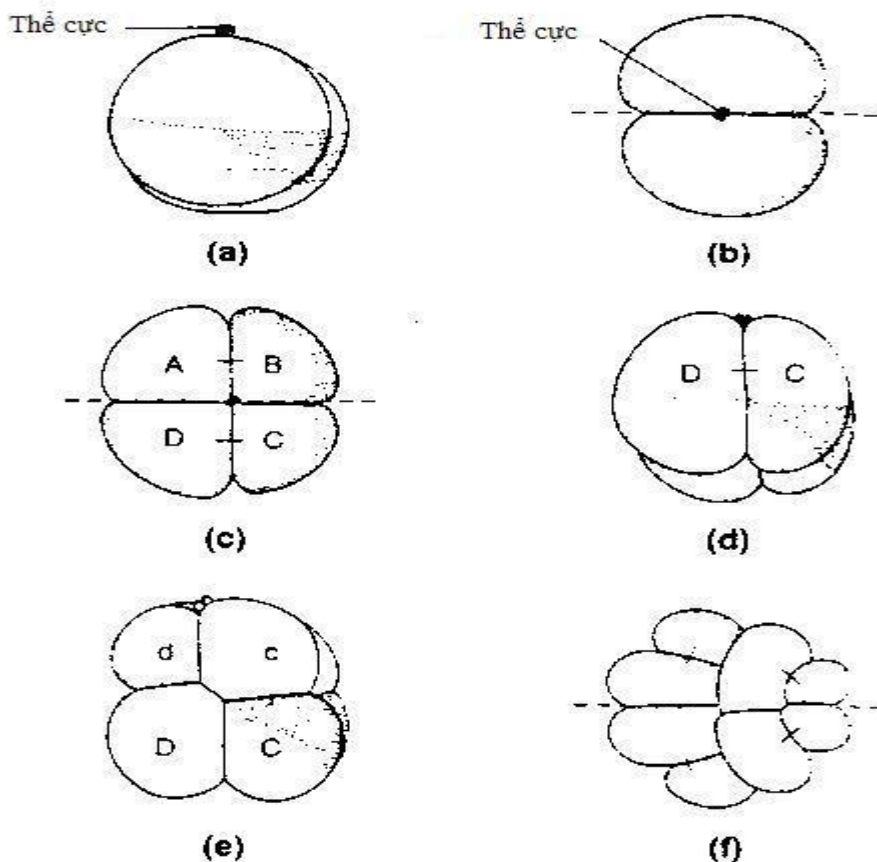
Sự phân cắt trứng

I. Sự phân bố noãn hoàng và các kiểu phân cắt

Dựa vào sơ đồ phân bố các phôi bào, người ta chia ra mấy kiểu phân cắt khác nhau:

1. *Phân cắt tán xạ*: Đặc trưng cho động vật có xương sống, da gai, hải miên. Trong phân cắt tán xạ, những mặt phẳng của các phân cắt kế tiếp đi qua trứng một cách trực giao với nhau và các phôi bào phân bố đối xứng nhau qua bất kỳ mặt phẳng nào đi qua trục động - thực vật của trứng. Ví dụ: cầu gai.

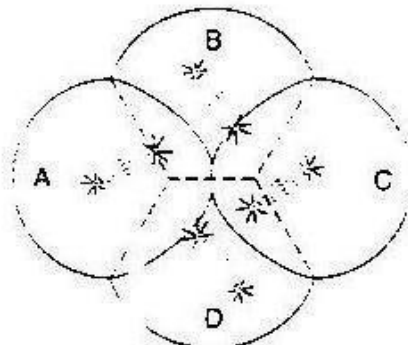
2. *Phân cắt đối xứng hai bên*: thấy ở sứa lược, có bao và không sọ. Trong quá trình phân cắt các phôi bào sắp xếp đối xứng hai bên.



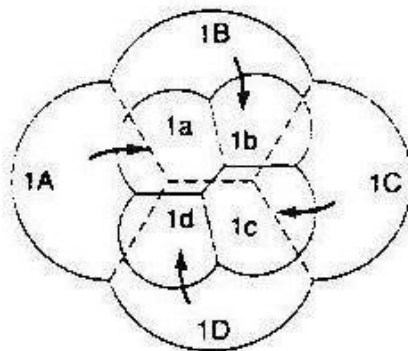
Hình 5.1 Phân cắt đối xứng hai bên (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a) Giai đoạn hai tế bào nhìn bên, lưu ý cực động vật có thể cực (b) Giai đoạn 2 tế bào nhìn từ cực động vật (c,d) Giai đoạn 4 tế bào nhìn từ cực động vật và nhìn bên (e) Giai đoạn 8 tế bào nhìn bên (f) Giai đoạn 16 tế bào nhìn từ cực thực vật

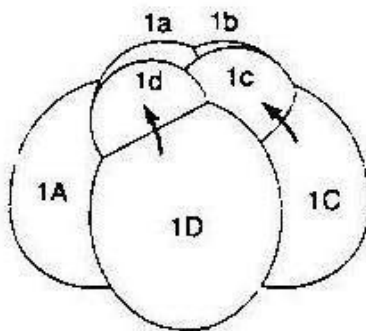
3. Phân cắt xoắn ốc: thấy ở trứng giun vòi, giun đốt và đa số thân mềm.



(a)



(b)



(c)

Hình 5.2 Phân cắt xoắn ốc (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a) Giai đoạn 4 phôi bào (b) Giai đoạn 8 phôi bào (c) Giai đoạn 8 phôi bào nhìn bên

Trong phân cắt xoắn ốc có sự chuyển dịch các tế bào theo một vị trí tương đối so với trục của chúng. Mặt phẳng phân cắt không đi qua trục động - thực vật mà lệch đi một góc so với mặt phẳng xích đạo của trứng. Các phôi bào phân bố không cân xứng mà ít nhiều lần lượt luân phiên nhau.

Cũng có thể căn cứ vào số lượng và sự phân bố của noãn hoàng để phân chia các kiểu phân cắt sau:

1. *Phân cắt hoàn toàn*: thấy ở cá lưỡng tiêm và lưỡng cư. Rãnh phân cắt phân chia toàn bộ trứng, có nghĩa là toàn bộ trứng đều phân cắt.

2. *Phân cắt không hoàn toàn*: chỉ có các tế bào ở cực động vật phân cắt còn toàn bộ khối noãn hoàng ở cực thực vật không phân cắt.

Nếu chỉ có đĩa tế bào chất ở cực động vật phân cắt, kiểu phân

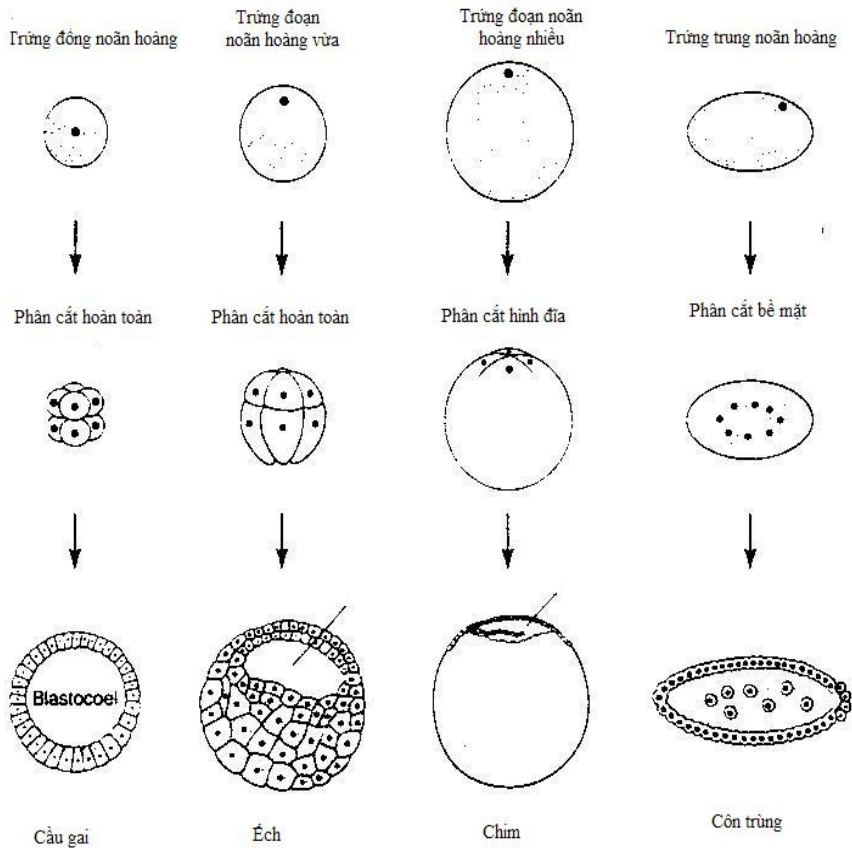
cắt được gọi là phân cắt không hoàn toàn hình đĩa. Ví dụ: cá xương, chim.

Nếu các tế bào ở phần trung tâm của trứng phân cắt sau đó di chuyển ra bề mặt của trứng thì gọi là phân cắt không hoàn toàn bề mặt. Ví dụ: côn trùng (H 5.3).

Đặc điểm sự phân cắt:

- Cơ thể phôi không lớn lên. Số lượng tế bào tăng lên không ngừng nên kích thước tế bào liên tục nhỏ đi.

- Số lượng nhân tăng lên theo cấp số nhân. Lượng ADN tăng gấp đôi qua mỗi lần phân cắt, do đó lượng ADN tổng số tăng lên rất nhanh.



Hình 5.3 Các kiểu phân cắt trứng (Theo P. Cassier et al, 1998)

- Sự tăng lên không ngừng tương quan nhân/tế bào chất. Trong tạo noãn, khối lượng nhân trở nên rất nhỏ bé so với khối lượng khổng lồ của trứng. Ví dụ: trứng chín của cầu gai có tương quan nhân/tế bào chất giảm tới 1/550, ở Cyslops: 1/1260, ở cá, lưỡng cư, bò sát tương quan này rất nhỏ. Tuy nhiên, khi phân cắt, tương quan này tăng lên rất nhanh và dần dần trở lại bình thường đặc trưng cho các tế bào xôma (vào khoảng 1/7).

- Ở các lần phân cắt đầu tiên, tất cả tế bào thường phân chia đồng thời với nhau, có nghĩa là trong một thời điểm tất cả tế bào nằm cùng một giai đoạn phân chia.

- Sự phân cắt của trứng có lệ thuộc vào sự phân bố của khối noãn hoàng. Sự phụ thuộc này được phát triển trong hai quy luật của Hertwig:

+Quy luật 1: nhân bào giờ cũng nằm ở trung tâm của vùng tế bào chất hoạt động. Trong trứng trung noãn hoàng hoặc đồng noãn hoàng, nhân nằm ở trung tâm hoặc gần trung tâm của trứng. Trong trứng đoạn noãn hoàng nhân nằm ở trung tâm của đĩa tế bào chất hoạt động.

+Quy luật 2: thoi phân chia phân bố dọc theo hướng dài nhất của tế bào chất hoạt động.

Các yếu tố ảnh hưởng đến sự phân cắt:

- Số lượng và sự phân bố noãn hoàng tất nhiên có ảnh hưởng đến tính chất phân cắt và hình dạng của phôi nang. Tuy nhiên, nó không cho phép giải thích đầy đủ các kiểu phân cắt khác nhau. Ví dụ: ở lưỡng cư thì thấy rõ vai trò của noãn hoàng, nhưng khi xét sự sai khác về kích thước của các phôi bào giun đốt thì không thể do noãn hoàng được. Mặt khác sự phân cắt xoắn ốc ở thân mềm chắc chắn không do noãn hoàng quyết định.

- Theo dẫn liệu của các nhà nghiên cứu khác nhau, trước khi phân cắt, sức căng của lớp vỏ tăng lên và rãnh phân cắt xuất hiện dưới dạng một chỗ dày lên của lớp vỏ. Trong thời gian phân cắt tế bào hầu như không lớn lên, nhưng số lượng tế bào và tổng diện tích bề mặt tế bào tăng lên rất nhiều. Mặt khác, tổng hàm lượng và sự tổng hợp ADN tăng lên theo cấp số nhân, vì vậy số lượng tế bào và tế bào chất cũng phải tăng lên tương ứng.

Hình dạng phôi nang cũng biến đổi như các kiểu phân cắt, tuy nhiên vẫn có những nét cấu tạo chung. Mỗi phôi nang gồm nhiều tế bào quanh xoang phân cắt (nằm ở chính giữa hoặc lệch về một bên) thường gọi là xoang phôi nang.

Ở một số động vật, phôi nang là một quả cầu rỗng, thành của nó gồm những tế bào liên kết chặt chẽ với nhau. Ở những động vật khác các tế bào phân bố tương đối thưa.

Người ta phân biệt các loại phôi nang như sau:

- Phôi nang rỗng: có dạng hình cầu, xoang phôi nang lớn, thành mỏng và có một lớp tế bào. Ví dụ: thân mềm, giun vòi và động vật có vú.

- Phôi nang lệch: xoang phôi nang nhỏ và nằm lệch về cực động vật, thành ở cực động vật mỏng, tế bào nhỏ, thành cực thực vật dày, tế bào lớn. Ví dụ: cá tầm, lưỡng cư.

- Phôi nang đĩa: xoang phôi nang có dạng một khe hẹp, thành gồm một số lớp tế bào như cái đĩa nằm trên khối noãn hoàng không phân chia. Ví dụ: cá xương, chim.

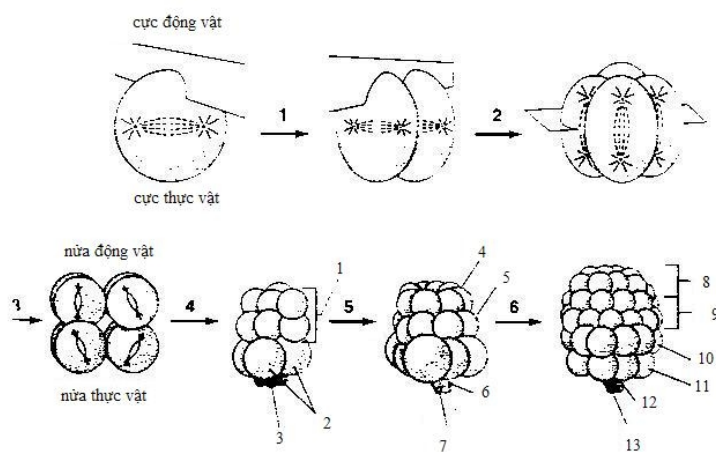
- Phôi nang bề mặt: xoang phôi nang nằm dưới lớp tế bào do kết quả của sự phân cắt bề mặt ở côn trùng và một số chân khớp.

Các yếu tố ảnh hưởng đến hình dạng phôi nang là lớp hyalin hay lớp vỏ bên ngoài trứng, cầu nối chất tế bào giữa các tế bào, các di tích của thoi vô sắc sau khi phân chia và chất dính giữa các khoảng gian bào.

II. Kiểu phân cắt của các nhóm động vật tiêu biểu

1. Phân cắt hoàn toàn của trứng đồng noãn hoàng ở cầu gai

Phần lớn trứng cầu gai là trứng đồng noãn hoàng và phân cắt hoàn toàn. Sự phân cắt bắt đầu bởi lần nguyên phân đầu tiên mà hướng phân cắt thẳng góc với trục động-thực vật. Sau nguyên phân, sự phân bào xuất hiện mặt phẳng phân cắt thẳng góc với trục của thoi vô sắc, kết quả là tạo ra hai phôi bào có kích thước bằng nhau. Lần phân cắt thứ hai diễn ra đồng thời trên cả hai phôi bào và trục phân cắt cũng thẳng góc với trục động thực vật và với thoi phân bào đầu tiên. Kết quả lần phân cắt này cho ra bốn phôi bào bằng nhau. Đối với lần phân cắt thứ ba, hướng phân cắt song song với trục động - thực vật tạo nên bốn phôi bào ở cực động và bốn phôi bào ở cực thực vật.



Hình 5.4 Phân cắt trứng cầu gai (Theo K. Kalthoff, 1996)

1.Phôi bào vừa 2.Phôi bào lớn 3.Phôi bào nhỏ 4,5.Phôi bào cực động vật 6,12.Phôi bào nhỏ 7,13.Phôi bào cực nhỏ 8,9.Phôi bào cực động vật phân chia 10,11Phôi bào cực thực vật.

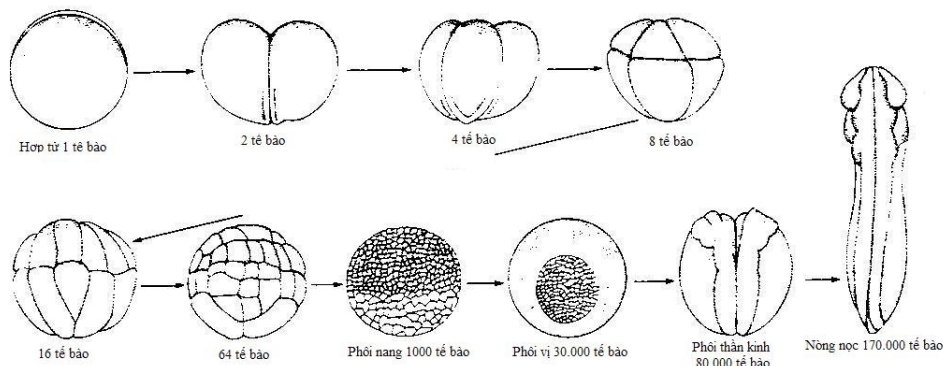
Ở lần phân cắt thứ ba các phôi bào cực động vật phân chia tạo thành tám phôi bào ở 2/3 phía trên. Đồng thời ở cực thực vật cũng phân chia cho ra bốn phôi bào lớn và bốn phôi bào nhỏ. Khối tế bào lúc này được gọi là phôi dâu (*morula*). Lần phân cắt thứ năm sẽ tạo ra 16 phôi bào ở cực động vật và 16 phôi bào ở cực thực vật trong đó có tám phôi bào nhỏ. Ở giai đoạn 32 phôi bào, phôi có một xoang chứa đầy dịch lỏng bên trong gọi là xoang phôi nang và phôi gọi là phôi nang (*blastula*).

Sự phân cắt của cầu gai được gọi là phân cắt tán xạ vì các phôi bào sắp xếp đối xứng phóng xạ quanh trục động - thực vật.

2. Phân cắt hoàn toàn của trứng đoạn noãn hoàng ở lưỡng cư

Sự phân cắt của phôi lưỡng cư vừa hoàn toàn vừa tán xạ như cầu gai. Một giờ sau khi tinh trùng xâm nhập, trứng lưỡng cư bắt đầu có những chuyển động tế bào chất cực bộ, diễn ra sự tái phân bố trong trứng, đưa đến sự xuất hiện của *liềm xám* ở phía đối diện với nơi xâm nhập của tinh trùng. Liềm xám là biểu hiện của sự biệt hóa sớm ở khu vực tương lai môi lưng của

phôi khẫu. Qua khoảng hai giờ sau thụ tinh, trên bề mặt cực động vật của trứng xuất hiện một đường lõm là rãnh phân cắt. Rãnh này lan xuống phía dưới, đi qua liềm xám rồi cực thực vật để phân chia trứng thành hai nửa- hai phôi bào đầu tiên có kích thước bằng nhau.



Hình 5.5 Phát triển của *Xenopus laevis* từ thụ tinh đến chồi đuôi (Theo K. Kalthoff, 1996)

Rãnh phân cắt thứ hai thẳng góc với rãnh phân cắt thứ nhất và cũng đi qua cực động vật. Phân cắt thứ ba nằm ngang song song với mặt phẳng xích đạo của trứng. Kết quả tạo nên tám phôi bào: bốn ở cực động vật; bốn ở cực thực vật lớn hơn. Rãnh phân cắt thứ tư lại đi qua trục động - thực vật theo mặt phẳng kinh tuyến của trứng. Kết quả tạo tám phôi bào nhỏ ở cực động vật và tám phôi bào lớn ở cực thực vật.

Hàng loạt các thay đổi tiếp theo là vào giờ thứ sáu đến giờ thứ 28 của sự phát triển. Sự phân cắt tiếp tục cho đến giờ thứ 16. Lúc đó các phôi bào rất nhỏ nhưng các phôi bào cực thực vật vẫn lớn hơn các phôi bào cực động vật. Ở giai đoạn này trong phôi xuất hiện xoang phôi nang.

3. Sự phân cắt xoắn ốc của trứng đồng noãn hoàng ở ốc

Phân cắt xoắn ốc đặc trưng cho giun đốt, đa số thân mềm và một số giun dẹp. Trong kiểu phân cắt này, ở lần phân cắt thứ ba thoi phân chia nằm lệch với phương thẳng đứng một góc 45°. Do đó, sau khi phân chia, bốn phôi bào bên trên không xếp thẳng với các phôi bào bên dưới mà nằm lệch giữa ranh giới hai phôi bào. Nếu nhìn vào cực động vật, phôi bào bên trên nằm lệch về bên trái thì sẽ có phân cắt xoắn trái và nếu lệch bên phải thì có phân cắt xoắn phải.

Do số lượng phôi bào xác định, số lần phân chia có hạn nên người ta đánh dấu các phôi bào để theo dõi số phận của chúng trong quá trình phát triển. Bốn phôi bào đầu tiên được ký hiệu là A, B, C, D. Các phôi bào này phân chia cho bốn phôi bào nhỏ ở cực động vật là 1a, 1b, 1c và 1d, đồng thời cho ra bốn phôi bào lớn ở cực thực vật là 1A, 1B, 1C và 1D. Trong lần phân chia thứ tư, các phôi bào lớn cho ra các phôi bào 2A, 2B, 2C, 2D và 2a, 2b,

2c, 2d. Các phôi bào nhỏ cho ra các phôi bào $1a^1$, $1b^1$, $1c^1$, $1d^1$ và $1b^2$, $1c^2$, $1d^2$... Thường ở phân cắt xoắn ốc chỉ có 7-8 lần phân chia và ấu trùng thường có số lượng tế bào xác định.

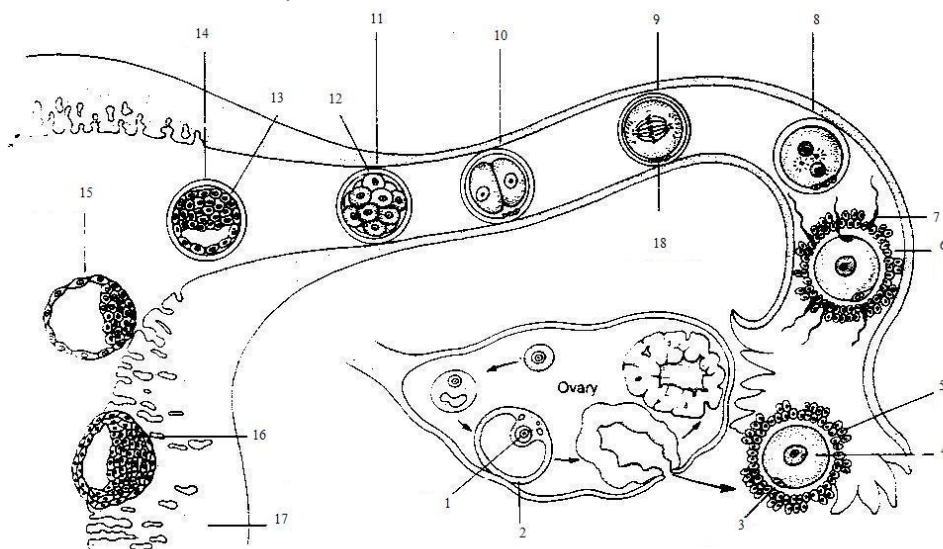
Người ta đã biết được số phận các phôi bào đã được đánh dấu: các phôi bào nhỏ thứ nhất tạo phần ngoài miệng ấu trùng, các phôi bào nhỏ thứ hai tạo thành vành tiêm mao. Các phôi bào nhỏ thứ ba tạo trung bì và một phần ngoài bì. Các phôi bào nhỏ thứ tư tạo ruột. Đặc biệt các phôi bào 2d (*thể bào*) tạo ngoài bì và phần sau ấu trùng và sau này bao phủ toàn bộ cơ thể con vật trưởng thành. Phôi bào 4d (*trung bì bào*) tạo trung bì về sau thành thể xoang của cơ thể trưởng thành. (H 5.2)

4. Phân cắt đối xứng hai bên ở giun tròn

Giun tròn có một số đặc điểm gần với động vật có xương sống về sự phát triển phôi và giai đoạn ấu trùng. Ngoài ra, đối với cực động - thực vật, trứng giun tròn có cực trước sau do sự phân bố không đối xứng của thành phần tế bào chất. Hiện tượng đối xứng hai bên được tạo nên do sự phân cắt của hợp tử. Mặt phẳng phân cắt thứ nhất đi ngang qua trục động - thực vật và phân chia hai nửa tế bào không đều nhau. Mặt phẳng phân cắt thứ hai song song với trục động - thực vật nhưng hơi lệch về phía sau. Nó phân ra hai phôi bào lớn ở phía trước từ đó cho ra hai phôi bào nhỏ ở phía sau có thành phần tế bào chất khác nhau. Thành phần tế bào chất khác nhau đưa đến sự phát triển khác nhau của các phôi bào trước và sau. Tại thời điểm này, kiểu phân cắt chỉ có một mặt phẳng đối xứng và vì vậy được gọi là phân cắt đối xứng hai bên. Trong các phân cắt tiếp theo, sự khác nhau về hình dạng của phôi bào làm tăng thêm tính chất đối xứng hai bên của quá trình phát triển.

5. Sự phân cắt luân phiên ở động vật có vú

Sự phân cắt trứng động vật có vú diễn ra vài ngày khi di chuyển dọc theo ống dẫn trứng. Sự phân cắt kéo dài khoảng 12 giờ. Sự phân cắt diễn ra không đồng bộ. Tất cả các phôi bào không diễn ra cùng một lúc. Vì vậy, phôi không phân cắt theo quy luật từ hai đến bốn rồi tám phôi bào mà có thể bao gồm một số lượng tế bào lẻ.



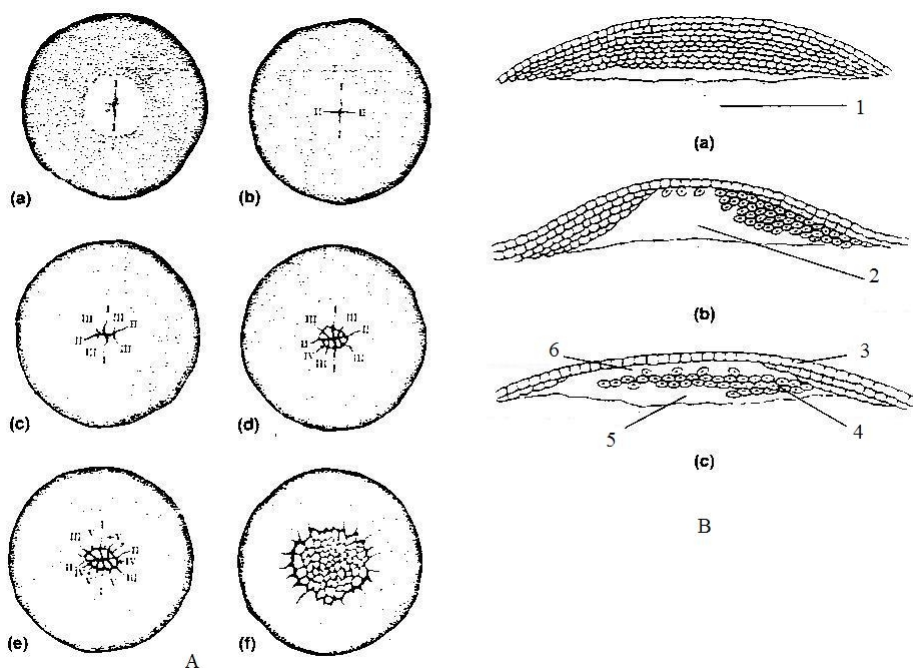
Hình 5.6 Phát triển phôi người tuần thứ nhất (Theo K. Kalthoff, 1996)

1.Trứng 2.Nang trứng 3.Vùng sáng 4.Trứng chứa thụ tinh 5.Tế bào nang trứng
6.Thụ tinh 7.Tinh trùng 8.Hợp tử 9.Nguyên phân lần đầu 10,2 phôi bào (1,5 ngày)
11.Phôi dâu 16 phôi bào (3 ngày) 12,13.Vùng sáng 14.Phôi nang 58 phôi bào (4 ngày)
15.Phôi nang nữ (4,5 ngày) 16.Phôi nang (6 ngày) 17.Tử cung 18.Thể cực

Phân cắt đầu tiên đi qua trục động - thực vật như kiểu phân cắt hoàn toàn. Tuy nhiên, phân cắt thứ hai được xem như kiểu phân cắt luân phiên vì hai phôi bào phân chia trong các mặt phẳng khác nhau: một đi qua mặt phẳng xích đạo; một đi qua mặt phẳng kinh tuyến. Kết quả tạo nên một rãnh phân cắt chéo tạo nên các phôi bào đặc trưng của động vật có vú.

Ở giai đoạn tám phôi bào, các phôi bào sắp xếp lỏng lẻo. Các tế bào cạnh nhau chỉ dính nhau một ít trên bề mặt. Sau đó, các phôi bào dính lại thành một khối tế bào đặc. Ở giai đoạn này, các phôi bào xảy ra quá trình phân cực như trong phát triển phôi của lưỡng cư.

Mỗi phôi bào có mặt ngoài mở ra môi trường ngoài như phần nhọn của tế bào biểu bì. Mặt kia nằm bên trong tiếp xúc với các tế bào khác. Trong khi tạo thành khối tế bào đặc, các phôi bào bên ngoài kết nối chặt, còn các phôi bào bên trong kết nối với nhau lỏng lẻo hơn. Hiện tượng phân cực và việc tạo các kết nối chặt làm cho môi trường bên trong và bên ngoài phôi khác nhau. Giai đoạn phôi dâu xảy ra khi phôi có 16 phôi bào. Ở người, giai đoạn này xảy ra 3 - 4 ngày sau khi thụ tinh và phôi tử ống dẫn trứng vào tử cung. Phôi dâu 16 phôi bào gồm 9 - 14 phôi bào phân cực ở bên ngoài và 2 - 7 phôi bào



Hình 5.7 Phát triển phôi chim (Theo K. Kalthoff, 1996)

A. Sự phân cắt của trứng gà nhìn từ cực động vật B. Phát triển phôi chim (a). Giai đoạn phôi bì (b), (c). Tạo lớp phôi bì dưới

1.Noãn hoàn 2,5.Khoảng trống dưới lớp tế bào mầm 3.Phôi bì trên 4.Phôi bì dưới 6.Xoan phôi nang

không phân cực ở bên trong. Cả hai nhóm tế bào tiếp tục phân chia, các phôi bào bên ngoài bơm dịch lỏng từ tử cung vào phôi. Đây là quá trình mà kết quả tạo thành một xoang chứa đầy dịch trong phôi được xem là quá trình phôi nang hóa hình thành túi phôi.

Cũng vào ngày thứ tư, ở một cực của túi phôi, một nhóm tế bào được tách ra có tên là khối tế bào trong. Từ những tế bào này sẽ tạo thành phôi, màng ối và túi noãn hoàng. Lớp ngoài mỏng của túi phôi là màng đệm hay dưỡng bào; về sau chúng tạo thành nhau thai. Trong thời kỳ phân cắt và tạo túi phôi trứng còn được bao bởi vùng sáng. Khoảng ngày thứ sáu thì vùng sáng tiêu biến, túi phôi dính vào biểu mô tử cung, ăn sâu vào lớp nội mạc để bắt đầu quá trình làm tổ của phôi.

6. Phân cắt hình đĩa của trứng đoạn noãn hoàng ở bò sát, chim và nhiều loài cá (H 5.7)

Như đã đề cập ở trên, khối lượng và sự phân bố của noãn hoàng trong trứng có liên quan đến các kiểu phân cắt. Trứng có ít noãn hoàng sự phân cắt xảy ra trên toàn bộ trứng. Trứng có nhiều noãn hoàng, do khối noãn hoàng

không phân chia nên trứng phân cắt không hoàn toàn. Có hai kiểu phân cắt không hoàn toàn là phân cắt hình đĩa và bề mặt.

Phân cắt hình đĩa là đặc trưng cho các loài cá, chim và bò sát. Kiểu phân cắt của loài cá *Brachidanio rerio* không khác xa kiểu phân cắt hoàn toàn của lưỡng cư. Ở trứng chưa thụ tinh, tế bào chất phân bố thành lớp mỏng bao quanh khối noãn hoàng trung tâm. Trong quá trình thụ tinh, tế bào chất bao phủ cực động vật tạo thành đĩa phôi. Lần phân cắt thứ nhất chia đĩa phôi thành hai nửa, mặt phân cắt thẳng góc với mặt phẳng của trứng. Rãnh phân cắt đi qua cực động vật như ở lưỡng cư nhưng không đi qua toàn bộ trứng mà dừng lại trên khối noãn hoàng. Lần phân cắt thứ hai thẳng góc với lần phân cắt thứ nhất và với bề mặt trứng. Sự phân chia lại không hoàn toàn và kết quả tạo thành bốn phôi bào nằm bên trên khối noãn hoàng. Các phân cắt tiếp theo tạo thành những rãnh phân cắt nông qua đĩa phôi. Các tế bào sau khi hoàn thành từ mặt phẳng phân cắt song song với bề mặt gần trung tâm đĩa phôi được bao bọc bên ngoài bởi màng sinh chất. Sự phân cắt tiếp tạo thành đĩa phôi nằm trên đỉnh của khối noãn hoàng không phân chia.

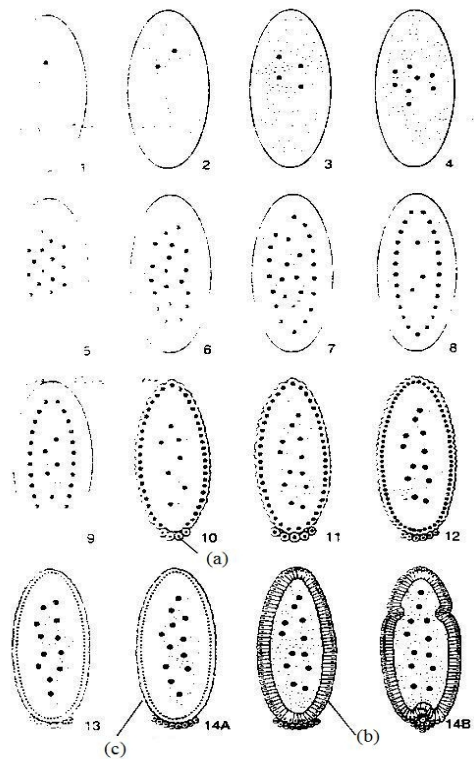
Ở phần lớn trứng bò sát và chim sự phân cắt hình đĩa gần như theo một phương thức như nhau. Ở gà, trong lần phân cắt đầu tiên đường kính của đĩa phôi khoảng 3 mm. Vùng ngoài cùng của đĩa rộng 0,5mm gọi là vùng mờ. Phân cắt bắt đầu từ phần trung tâm của đĩa phôi và các rãnh phân cắt dần dần phân chia vùng này ra các tế bào. Tuy nhiên, các rãnh phân cắt này không tách mép dưới của đĩa phôi ra khỏi noãn hoàng. Ở các giai đoạn tiếp theo, các rãnh phân cắt đi theo hình phóng xạ ra ngoài vi của đĩa phôi và tạo các tế bào rìa cho ra vùng rìa. Ở giai đoạn 16 phôi bào, mặt dưới của những tế bào ở trung tâm đĩa phôi bắt đầu tách khỏi khối noãn hoàng tạo thành một xoang rộng gọi là xoang dưới phôi, tương ứng với xoang phôi nang.

Vào lúc trứng đẻ ra ngoài, đĩa phôi xuất hiện hai vùng phân biệt rõ là vùng sáng và vùng mờ. Sau đó đĩa phôi lan nhanh bao phủ lên khối noãn hoàng và kết thúc khi toàn bộ khối noãn hoàng được bọc trong túi noãn hoàng.

7. Sự phân cắt bề mặt của trứng trung noãn hoàng ở côn trùng

Ở phần lớn trứng côn trùng sự phân cắt bị giới hạn ở trên lớp mặt của khối sinh chất bên ngoài. Khối sinh chất nằm ở trung tâm giàu noãn hoàng được gọi là khối sinh chất ở bên trong không phân cắt. Đối với phôi của côn trùng, thuật ngữ phân cắt đôi khi không được dùng bởi vì sự phân cắt bị trì hoãn cho đến khi có sự phân bào xảy ra. Sự phân chia của nhân hợp tử nằm sâu ở bên lớp sinh chất bên trong.

Việc nhân lên của các nhân cùng nguồn được bao bọc bởi các màng sinh chất xung quanh sẽ di chuyển dần ra lớp sinh chất bên ngoài. Ở đây cũng xảy ra các sự phân bào tiếp theo nhưng vẫn không được bao bọc bởi màng sinh chất.



Hình 5.8 Phân cắt bề mặt của ruồi dấm (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a). Tế bào cực (b). Tế bào phôi bì (c). Phôi bì hỗn hợp

Một số nhân nằm ở phía sau và trở thành các tế bào “thực bào noãn hoàng” (*vitellophages*) điều hòa các mảnh vỡ của khối noãn hoàng.

Sự phân cắt ở ruồi dấm *Drosophila* (H 5.8) là một ví dụ cho sự phân cắt bề mặt của côn trùng. Nhân hợp tử và các thế hệ tiếp theo của chúng trải qua tám lần nguyên phân ở trong khối sinh chất bên trong giàu noãn hoàng trước khi một số nhân di chuyển ra ở trên khối sinh chất bên ngoài nằm ở cực sau của trứng. Ở đây, chúng bắt đầu được bao bọc bởi màng sinh chất để tạo nên các tế bào mầm được xem như là các tế bào phân cực. Sau các lần phân bào khác, phần lớn nhân tập trung ở trên khối sinh chất bên ngoài. Giai đoạn này được xem như giai đoạn phôi bì hỗn hợp (*syncytial blastoderm*) vì nhân vẫn nằm trong khối sinh chất chung trên bề mặt. Trong các lần phân bào tiếp theo, các bước của chu kỳ tế bào dần dần chậm lại.

Sau 13 lần phân bào, có khoảng 5000 nhân tập trung thành lớp nguyên sinh chất bên ngoài của phôi ruồi dấm tạo thành khối hình sáu cạnh. Trước khi các nhân dinh dưỡng được bao phủ bởi màng sinh chất, màng noãn hoàng mỏng tăng lên khi khối noãn hoàng di chuyển lấp đầy trung tâm của trứng.

Lúc này các tế bào đã hình thành và tập trung trên toàn bộ bề mặt của phôi gọi là giai đoạn phôi bì tế bào (*cellular blastoderm*). Giai đoạn này tương ứng với giai đoạn phôi nang của các phôi khác mặc dù phôi nang không lấp đầy chất dịch lỏng mà chứa nội chất giàu noãn hoàng.

Chương 6

Sự tạo phôi vị

Trong sự phân cắt, trứng thụ tinh phân chia ra hàng trăm hay hàng ngàn tế bào tạo thành một khối cầu chứa đầy chất dịch là phôi nang. Để trở thành một sinh vật có đầy đủ các chức năng, phôi phải sắp xếp lại các tế bào phôi nang theo một sơ đồ cơ thể đặc trưng cho loài. Thời kỳ đầu tiên của quá trình này là sự tạo phôi vị. Sự phôi vị hóa biến đổi phôi nang hình cầu thành một cấu trúc phức tạp gồm có ba lớp tế bào. Lớp ngoài cùng tiếp xúc trực tiếp với môi trường là ngoại bì (lá phôi thứ nhất). Ở phần lớn sinh vật nó cho ra biểu bì và hệ thần kinh. Lớp tế bào bên trong là nội bì (lá phôi thứ hai) tạo thành ruột nguyên thủy. Nhiều cấu trúc đa bào phát triển từ lớp tế bào ở giữa là trung bì (lá phôi giữa).

Đặc trưng của phôi vị sớm là hình thành phôi khẩu là một lỗ trên phôi mà từ đó các tế bào di chuyển vào bên trong để tạo thành nội bì và trung bì. Sự phát triển của phôi khẩu về sau được dùng làm cơ sở để phân loại thành hai nhóm động vật. Những động vật có phôi khẩu hình thành lỗ miệng, còn lỗ hậu môn xuất hiện sau ở vị trí đối diện với phôi khẩu là những Động vật có miệng sinh trước (Động vật có miệng nguyên sinh - *Protostomia*). Những động vật có phôi khẩu cho ra lỗ hậu môn trước khi hình thành lỗ miệng ở vị trí đối diện là những Động vật có miệng sinh sau (Động vật có miệng thứ sinh - *Deuterostomia*). Động vật có miệng thứ sinh bao gồm động vật có xương sống và da gai, Động vật có miệng sinh trước là những loài động vật khác. Động vật có miệng thứ sinh và Động vật có miệng nguyên sinh khác nhau về sự chuyển động tế bào và hình thành các lá phôi.

I. Phân tích sự phát sinh hình thái

Phôi vị hóa đánh dấu bước khởi đầu của sự chuyển động tế bào mà từ các cơ quan chưa đầy đủ của phôi cho ra tất cả các phần của một sơ đồ cơ thể. Sự chuyển động này liên quan với cái gọi là chuyển động hình thái hay sự phát sinh hình thái (*morphogenesis*).

Trong phát sinh hình thái, các tế bào riêng lẻ di cư một khoảng cách xa tạo nên lớp biểu mô lan phủ, lõm vào, uốn cong hay cuộn lại. Sự chuyển động này mang lại hiện tượng phôi vị hóa và tiếp sau là sự phát sinh cơ quan (*organogenesis*).

Chuyển động phát sinh hình thái là chuyển động mạnh mẽ để phức tạp hóa và trật tự hóa cơ thể. Mỗi bước hoàn thiện tạo thành một cơ quan mới đồng thời gia tăng dần sự phức tạp. Một khi các mầm cơ quan được tạo nên đòi hỏi phôi phải sắp xếp theo sơ đồ cơ bản của cơ thể. Sự tạo thành phôi ở giai đoạn này thường đặc trưng cho một nhóm phát sinh chủng loại. Sự phát sinh sơ đồ cơ thể cơ bản bằng chuyển động phát sinh hình thái tìm thấy ở tất cả các sinh vật đang phát triển và gây ra nhiều lý thú khi quan sát.

II. Chuyển động tế bào và các hoạt động khác diễn ra trong phát sinh hình thái

Các kiểu phối vị hóa và phát sinh cơ quan rất khác nhau trong các nhóm sinh vật khác nhau. Tuy nhiên, có thể tóm lại trong một số kiểu chuyển động tế bào cơ bản. Hai trong số các chuyển động này là lồm vào và di cư được thực hiện bởi các tế bào riêng lẻ hay bởi các nhóm nhỏ tế bào, ngược lại các chuyển động khác được thực hiện bởi toàn bộ lớp biểu mô hay lớp tế bào.

- **Di cư:** Sự chuyển động của từng tế bào đi qua đáy của các tế bào khác hay qua các vật chất ngoại bào.

- **Đi vào:** Sự di chuyển của từng tế bào hay một nhóm tế bào từ biểu mô vào bên trong xoang phôi.

- **Lồm vào:** Một vùng của biểu mô lồm vào bên trong như khi ấn một quả bóng quần vợt.

- **Cuốn vào:** Chuyển động lồm vào của một lớp tế bào bao quanh một điểm hay một khe.

- **Hội tụ:** Sự kéo dài lớp tế bào ở chỗ này và thu ngắn ở chỗ khác.

- **Bao phủ:** Chuyển động bao phủ của lớp tế bào bề mặt trùm lấy khối noãn hoàng và lớp tế bào ở sâu bên dưới.

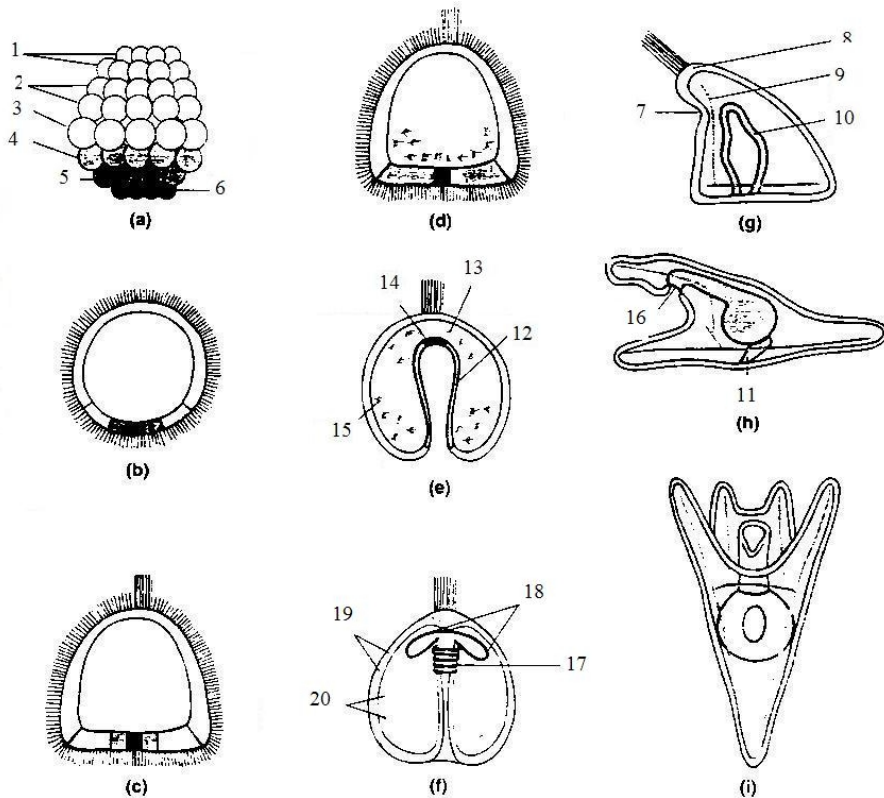
- **Tách lớp:** Tách một lớp tế bào thành hai lớp song song.

- **Chuyển động thụ động:** Các tế bào bị kéo dọc theo các tế bào khác.

III. Tạo phôi vị ở cầu gai

Phôi nang cầu gai là một phôi nang rỗng điển hình với thành phần là một lớp tế bào dạng biểu mô. Tạo phôi vị theo phương thức lồm điển hình. Toàn bộ phần đáy (cực thực vật) lồm vào xoang phôi nang. Đồng thời với quá trình lồm, các tế bào trung bì cũng bị tách khỏi nội bì và đi vào xoang phôi nang để tạo các tế bào trung bì. Các tế bào này phân bố thưa thớt trong xoang phôi nang giống như các tế bào trung mô ở phôi động vật có xương sống. Người ta thấy chúng phát các chồi và sau kéo dài thành các sợi tế bào chất bám vào mặt trong của các tế bào ngoại bì, giả định rằng sự co các tế bào chất này tạo nên lực kéo hỗ trợ cho việc lồm cực thực vật đi sâu vào xoang phôi nang. Như vậy, ở cầu gai, sự tách trung bì xảy ra đồng thời với quá trình lồm vào để tạo nội bì. Về sau nội bì sẽ hình thành biểu mô ruột, phôi khẩu sẽ hình thành hậu môn còn miêng sẽ tạo mới.

Rất đặc biệt ở cầu gai là ngay từ giai đoạn 16 phôi bào người ta đã có thể phân biệt ba loại phôi bào theo kích thước, phân bố theo ba tầng dọc theo trục động-thực vật. Trên bán cầu động vật là các phôi bào có kích thước trung bình, tầng dưới xích đạo là các phôi bào lớn và ở chỏm đáy là các phôi bào nhỏ. Mỗi loại đã có số phận xác định. Loại trung bình cho ngoại bì. Loại lớn



Hình 6.1 Phôi vị cầu gai (Theo K. Kalthoff, 1996)

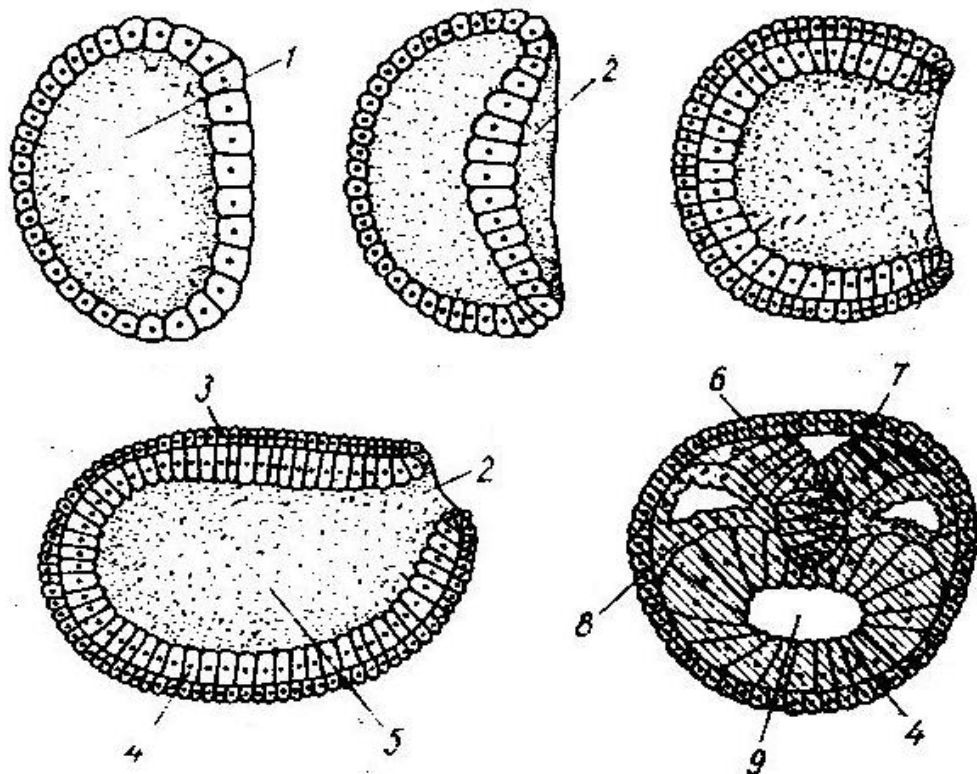
(a)Phôi nang sớm (b,c)Phôi nang giữa và muộn (d)Phôi vị sớm (e)Phôi vị giữa
(f)Phôi vị muộn (g)Giai đoạn ấu trùng lắng trụ(h,i)Ấu trùng Pluteus

1.Phôi bào động vật I 2.Phôi bào động vật II 3.Phôi bào thực vật I 4.Phôi bào thực vật II 5.Phôi bào nhỏ 6.Phôi bào cực nhỏ 7.Ổng miệng 8.Ngoại bì 9.Chôi xương
10.Ruột 11.Hầu môn 12.Ruột nguyên thủy 13.Phôi bào trung bì thứ cấp 14.Phôi bào nhỏ di chuyển xuống dưới 15.Phôi bào trung bì sơ cấp 16. Miệng 17.Cơ 18.Túi thể xoang 19.Tế bào sắc tố 20. Tế bào xoang phôi nang

và loại nhỏ sẽ lõm vào trong, loại nhỏ lõm trước, đi sâu hơn và sau tách ra di cư để tạo trung bì. Loại lớn sẽ là nội bì

IV.Tạo phôi vị ở cá lưỡng tiêm

Phôi nang cá lưỡng tiêm cũng là một phôi nang rộng điển hình với thành là một lá đơn các tế bào biểu mô trụ. Trên quả cầu rộng đó người ta cũng phân biệt được các khu vực khác nhau. Hầu hết bán cầu động vật gồm các tế bào có kích thước trung bình, chúng sẽ ở lại bên ngoài và hình thành ngoại bì. Chòm cầu thực vật bao gồm các tế bào có kích thước lớn, nó sẽ đi vào trong và cho nội bì. Nguyên liệu dây sống-trung bì gồm các tế bào nhỏ, nó



Hình 6.2 Tạo phôi vị lưỡng tiêm (Theo W. B. Charles, 1978)

1,5. Xoang phôi nang 2. Phôi khâu 3. Ngoại bì 4. Nội bì 6. Ống thần kinh đang hình thành 7. Dây sống 8. Thể tiết 9. Ruột nguyên thủy

tạo một vành đai phía trên bán cầu thực vật ngay dưới xích đạo. Vành đai phân bố không cân đối: phần chứa nguyên liệu dây sống là phần lồi rộng hơn phần bụng, lan cả lên vĩ độ động vật và xuống dưới cả vĩ độ 30° động vật. Tạo phôi vị theo phương thức lõm điển hình, tuy nhiên các phần khác nhau lõm vào với tốc độ khác nhau. Phần lồi có hoạt tính mạnh, đi vào nhanh hơn và sau chiếm một dải trên nóc ruột nguyên thủy, đó là nguyên liệu dây sống. Theo quá trình lõm, trung bì được kéo theo và nằm hai bên dây sống. Nội bì nằm ở đáy ruột nguyên thủy. Nếu cắt ngang phôi vị ở giai đoạn này sẽ có sơ đồ sau: lá ngoài là ngoại bì, lá trong là nội bì. Trung bì gồm có dải chính giữa lưng là dây sống, hai dải hai bên dây sống là trung bì, còn phần bụng là nội bì.

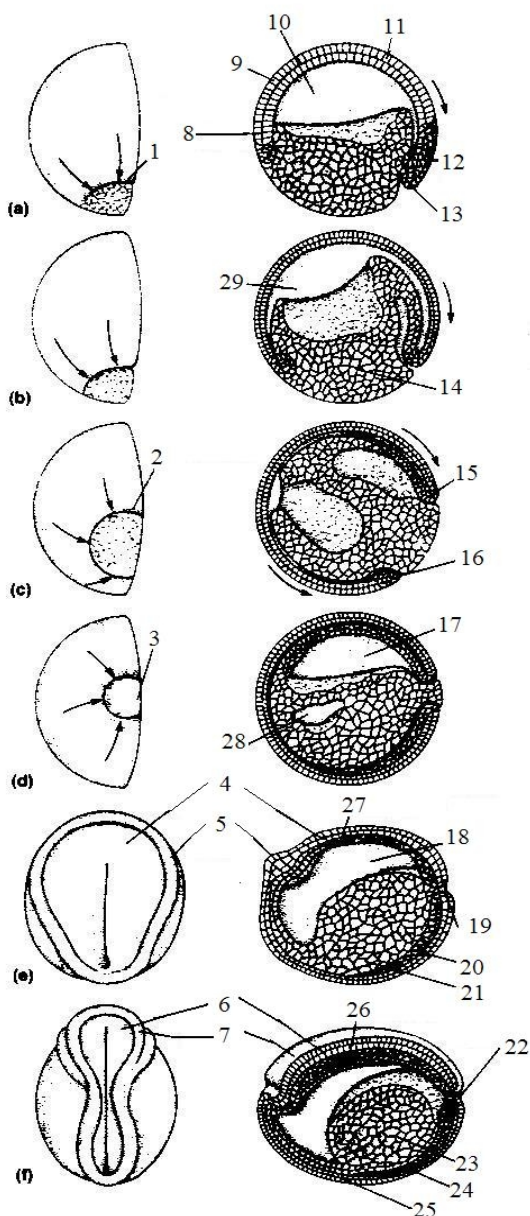
Từ phôi hai lá sẽ diễn ra các diễn biến để tách trung bì. Phương thức tạo trung bì theo kiểu thắt túi điển hình. Hai dải trung bì hai bên sẽ lồi vào xoang phôi nang thành hai túi dọc và cắt thành hai túi trung bì, mỗi túi có một xoang, sau sẽ hình thành xoang thứ sinh của cơ thể. Dây sống cũng cuộn thành một dây hình trụ dọc theo hướng đầu đuôi của cơ thể và phôi cũng dài

dẫn theo hướng này. Lúc này đã hình thành một phôi với ba lá phôi hoàn chỉnh.

V. Tạo phôi vị ở lưỡng cư

Sau phân cắt hình thành nên một phôi nang lệch. Thành dày gồm một số lớp tế bào. Thành phôi nang thuộc bán cầu động vật gồm một số lớp tế bào nhỏ. Xoang phôi nang nhỏ và nằm lệch ở bán cầu động vật. Toàn bộ bán cầu thực vật là thành phôi nang rất dày gồm nhiều lớp tế bào rất lớn chứa đầy noãn hoàng. Giữa hai vùng tế bào nhỏ và lớn có một vành đai chuyển tiếp với sự thay đổi từ từ về kích thước tế bào. Ở lưỡng cư không có tương quan chặt chẽ giữa kích thước phôi bào và số phận tương lai của chúng. Để nhận biết người ta phải dùng phương thức đánh dấu, ví dụ như bằng các thuốc nhuộm sống, các khu vực khác nhau và sau đó theo dõi ở các giai đoạn tiếp theo. Kết

quả theo dõi cho biết sự phân bố các khu vực nội, ngoại, trung bì và dây sống cũng gần giống với ở cá lưỡng tiêm.



Hình 6.3 Tạo phôi vị và tạo tằm thần kinh ở ếch (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a-d) Giai đoạn phôi vị (e,f) Giai đoạn tằm thần kinh

1,2,13,15. Môi lưng của phôi
khẩu 3. Nút noãn hoàn 4,6. Tằm
thần kinh 5,7. Nếp thần kinh
8,16. Môi bụng 9. Biểu bì tương
lai 10,28,29. Xoang phôi nang
11. Tằm thần kinh tương lai
12, Trung bì tương lai 14. Nội bì
17,18. Ruột nguyên
thủy 19,22. Phôi khẩu 20,23. Trung
bì 21,24. Nội bì 25. Ngoại bì
26. Dây sống 27. Dây sống tương
lai

Khu vực liềm xám tương ứng với phần lưng và cho nguyên liệu dây sống. Tạo phôi vị nói chung diễn ra theo kiểu ở cá lưỡng tiêm. Sự khác nhau biểu hiện ở chỗ cực thực

vật của phôi ếch gồm các tế bào lớn, rất giàu noãn hoàng nên có sức ỳ lớn, chúng không thể tự lồm vào xoang phôi nang mà gần như bị đẩy vào do hoạt động cuộn vào của môi lưng, do sự lan phủ của lá tế bào nhỏ của bán cầu động vật và do sự cuộn vào của môi bên và môi bụng. Sự lồm vào kèm theo sự tăng sinh mạnh ở bán cầu động vật, đặc biệt mạnh ở vùng môi lưng. Phôi khấu xuất hiện như một khe lõm ở bán cầu thực vật ngay dưới liềm xám. Nguyên liệu liềm xám qua môi lưng đi vào trong rất nhanh tạo phần nóc của xoang phôi vị. Xoang phôi nang bị chen lấn dần. Hai bên mép lưng của phôi khấu lan dần sang hai bên cùng với sự lan phủ của bán cầu động vật và tạo hai khe môi bên. Cung khe lan dần và bán kính cung cũng nhỏ dần, khi xuất hiện môi bụng thì cung khe khép kín hình thành vòng tròn phôi khấu. Tuy nhiên, khối noãn hoàng vẫn chưa vào hết và trông như cái nút, nút lấy miệng phôi khấu. Nút đó gọi là nút noãn hoàng. Lực kéo vào của thành xoang phôi vị và lực đẩy của các môi làm khối noãn hoàng dần cuộn vào trong để tạo nên thành đáy của ruột nguyên thủy. Phôi khấu nhỏ dần rồi khép kín lại. Các khu vực trên phôi nang mà ta đã đánh dấu như trung bì và nội bì đều lộn cả vào trong. Phôi lúc này gồm hai lá tế bào, là ngoài là ngoại bì, là trong chứa nguyên liệu của cả nội bì, trung bì và dây sống. Nếu ta tưởng tượng phôi lúc này như một quả dưa, phôi khấu là phía sau phôi, vỏ cứng là ngoại bì, phần cùi là lá trong thì nội bì chiếm bán cầu phía dưới còn trung bì và dây sống chiếm bán cầu phía trên. Dây sống như một dải chạy dọc theo hướng đầu-đuôi, còn hai dải trung bì nằm hai bên.

VI. Tạo phôi vị ở chim

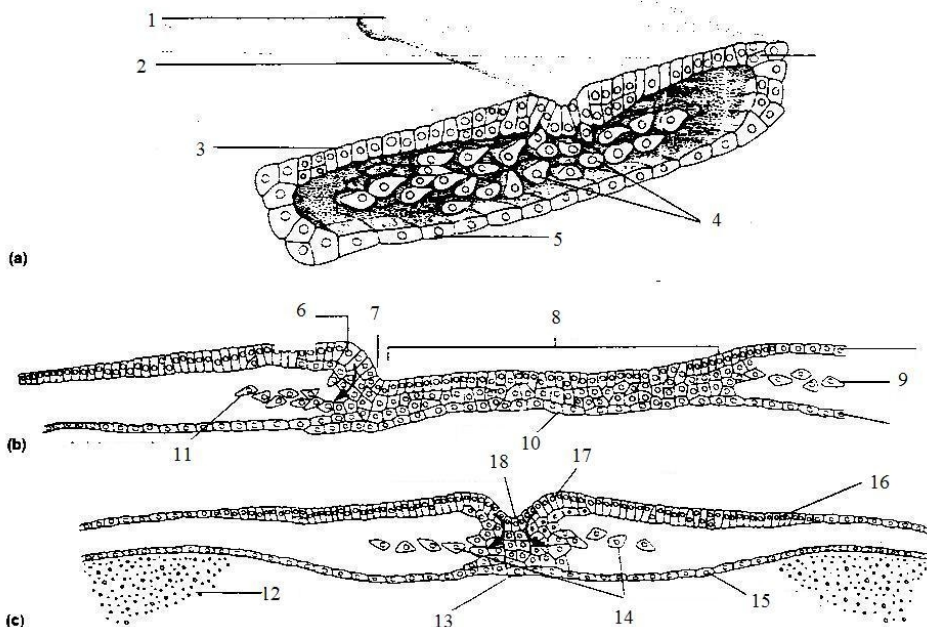
Lúc trứng được đẻ ra, phôi bị đang chuẩn bị bước vào tạo phôi vị hoặc quá trình tạo phôi vị đã bắt đầu. Ở gà, phôi vị diễn ra rất lâu và chỉ kết thúc vào cuối ngày thứ hai. Đầu tiên xảy ra sự tách lớp giữa lá phôi trong và lá phôi ngoài gần phía sau vùng rìa. Đồng thời xảy ra sự tạo trung bì từ lá phôi ngoài qua dải nguyên thủy. Nội bì và trung bì lan ra ngoại vi của đĩa phôi.

Bên dưới khu vực dày ở rìa sau của vùng sáng có nhiều lớp tế bào, lớp dưới gồm những tế bào lớn lúc đầu còn rời rạc và chứa đầy noãn hoàng. Lớp tế bào này tách khỏi lớp trên bằng cách tách lớp. Gần với giới hạn phía sau, giữa vùng sáng và vùng mờ có một vùng tương đối nhỏ nhưng có đặc điểm tăng sinh cao và mật độ tế bào lớn gọi là trung tâm tăng trưởng. Trung tâm này bắt đầu những chuyển động tế bào phức tạp, có liên quan tới việc tạo lá phôi trong. Các tế bào di cư theo kiểu phóng xạ từ trung tâm này và cuối cùng tạo nên một lớp lá phôi trong liên tục ra ngoại vi vùng sáng.

Những chuyển động như thế ở lớp trong có thể thấy ở các giai đoạn của sự tạo dải nguyên thủy. Tuy nhiên khi dải nguyên thủy hình thành hoàn toàn, các tế bào di chuyển mạnh và nhanh sang hai bên và về phía sau. Kết quả của những chuyển động tế bào lớp trong ở giai đoạn phôi vị sớm ngoài việc tạo lá

phôi trong liên tục, còn thiết lập trục nguyên thủy rõ rệt của phôi và sự đối xứng hai bên của đĩa phôi.

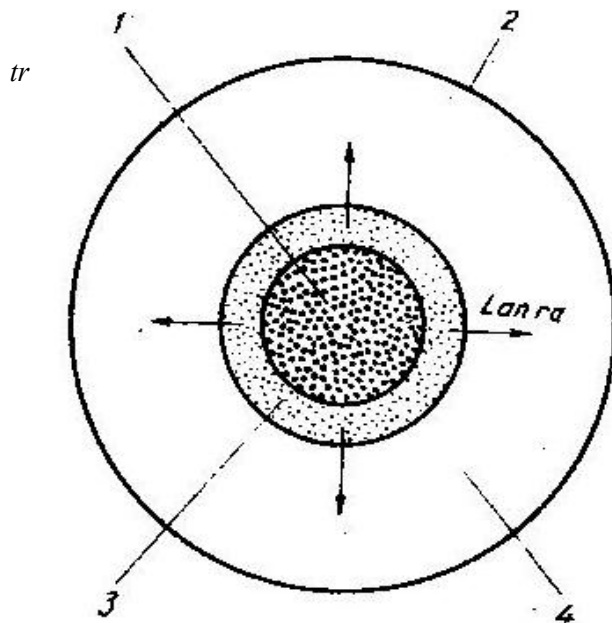
Trong lúc lá phôi trong xếp chặt lại và lan ra ngoài vi của đĩa phôi, lá phôi ngoài ở khu vực sau vùng sáng cũng dày lên tạo dải nguyên thủy. Mút trước của dải nguyên thủy nằm trong vùng sáng có tên là nút Hensen. (H 6.5). Trục của dải nguyên thủy trùng với trục của đĩa phôi.



Hình 6.4 Phôi vị chim (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a)Cắt ngang khoảng 1/3 (b)Cắt ngang ở giữa

1,6.Nút Hensen 2,8,18.Dải nguyên thủy 3,9,16.Bì phôi 4.Các tế bào di cư 5,15.Phôi bì dưới 7.Hõm nguyên thủy 10,13.Nội bì 11.Trung bì 12.Noãn hoàng 14.Trung bì bên 17.Nếp nguyên thủy



Hình 6.5 Đĩa phôi bì trứng gà (Theo W. B. Charles, 1978)

1.Vùng sáng 2.Màng noãn hoàng 3.Vùng mờ 4.Noãn hoàng

Dải nguyên thủy trở nên hẹp hơn và dọc theo giữa nó xuất hiện rãnh nguyên thủy. Sự tạo dải nguyên thủy có thể so sánh với sự tạo các môi bên của phôi khẫu khi tạo phôi vị ở lưỡng cư. Trong phát triển của phôi gà, nút Hensen tương ứng với môi lưng của phôi khẫu của lưỡng cư, nơi xảy ra sự lộn vào của dây sống và trung bì trực. Quá trình này diễn ra bằng cách như sau: phía trước nút có một lưới tế bào lộn vào dưới ngoại bì và hướng về phía trước gọi là chồi đầu. Dây sống tạo nên ở đây và hai bên dây sống là trung bì trực.

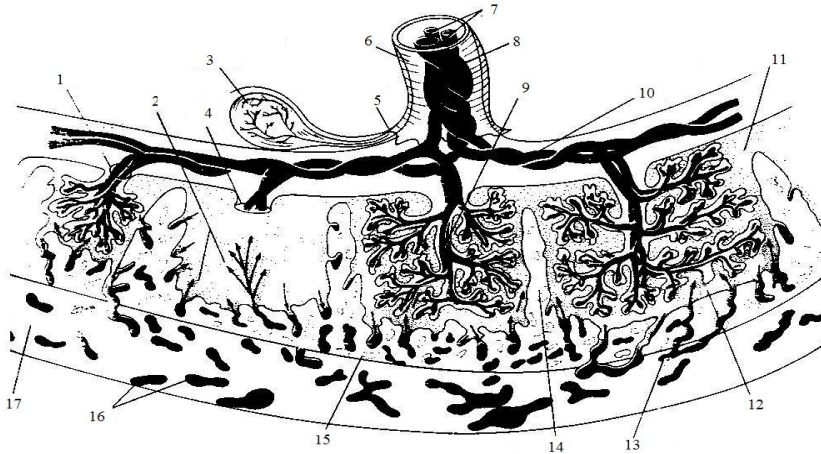
VII. Tạo phôi vị ở động vật có vú

Vào cuối giai đoạn phân cắt, phôi có hai lớp tế bào: dưỡng bào ở ngoài và nút phôi ở bên trong. Nút phôi sẽ tạo thân phôi và tham gia tạo các cơ quan ngoài phôi. Cũng vào thời kỳ này, trong phôi xuất hiện một xoang lớn và phôi lúc này gọi là túi phôi. Bắt đầu giai đoạn tạo phôi vị, nút phôi bám vào một cực của thành xoang. Các tế bào nút phôi phân hóa thành hai lớp là lớp dưới tiếp xúc với xoang túi phôi và ngăn cách với lớp trên. Lớp dưới thường chỉ có một lớp tế bào sẽ cho ra nội bì phôi và nội bì ngoài phôi. Lá dưới lan theo mặt trong của dưỡng bào và bao lấy một phần xoang túi phôi để tạo túi noãn hoàng.

Các tế bào bên trên lá dưới đầu tiên có dạng một khối tế bào. Ở đa số động vật có vú, trong khối tế bào xuất hiện xoang, xoang to dần và trở thành xoang ối. phần đáy của xoang chính là lớp trên của đĩa phôi. Như vậy ở đây ta có túi dưỡng bào bao quanh toàn bộ phôi và tương đồng với túi đệm (màng đệm) ở chim. Túi ối và túi noãn hoàng cũng tương đồng với các cấu trúc này ở chim. Ở người ngay từ giai đoạn này, trong xoang giữa màng đệm, túi ối và túi noãn hoàng đã có các tế bào trung bì phân tán thưa thớt. Túi ối và túi noãn hoàng tiếp xúc với nhau bằng một khu vực hình đĩa. Đó chính là đĩa phôi. Giống như ở chim, tạo phôi vị bắt đầu bằng sự di chuyển tế bào ở lớp trên để tạo nút Hensen và dải nguyên thủy. Tất cả các quá trình tiếp theo của tạo phôi vị đều giống với chim. Túi ối tạo môi trường nước cho phôi phát triển. Túi noãn hoàng ở giai đoạn sớm có chức năng hô hấp. Các chức năng này nhanh chóng chuyển sang một cơ quan có tầm quan trọng đặc biệt trong phát triển của động vật có vú, đó là nhau thai.

Sự tạo nhau thai: Khi vào xoang tử cung, phôi chuyển sang giai đoạn túi phôi, lớp dưỡng bào phôi dính vào biểu mô tử cung. Các dưỡng bào phá hủy thành tử cung để xâm nhập vào trong niêm mạc của tử cung. Lớp dưỡng bào phân chia rất mạnh tạo thành nhiều lớp nhưng chỉ có một lớp ở gần phía phôi là có cấu tạo tế bào gọi là lớp dưỡng bào tế bào. Phía ngoài lớp dưỡng bào tế bào có các khối dưỡng bào ăn sâu vào niêm mạc tử cung và không có giới hạn tế bào, đó là các khối dưỡng bào hợp bào. Khối dưỡng bào hoạt động phân hủy rất mạnh. Chúng phá hủy cả mạch máu của tử cung và tạo ra các xoang máu. Các chất dinh dưỡng từ máu mẹ lúc này được đưa vào nuôi phôi bằng cách thẩm thấu. Cùng với sự phát triển phôi, lớp dưỡng bào hình thành

các lông nhung cắm sâu vào niêm mạc tử cung. Đó là các lông nhung sơ cấp nhanh chóng được cung cấp các tế bào trung bì đầu tiên từ trung bì ngoài phôi và sau đó là trung bì của túi niệu. Trung bì túi niệu phát triển mạnh thành cuống phôi. Các tế bào trung bì nhanh chóng hình thành các mạch máu và nối với hệ mạch của phôi để hình thành vòng tuần hoàn nhau thai. (H 6.6)



Hình 6.6 Nhau thai người (Theo K.Kalthoff,1996)

1.Màng nhung 2.Máu mẹ 3.Túi noãn hoàng 4.Màng nhung bị cắt 5.Nếp màng ối
6.Dây rốn 7.Động mạch rốn 8.Tĩnh mạch rốn 9.Gốc chính của màng nhung
10.Nhánh động mạch rốn 11.Khe hồng 12.Đào máu trong khe hồng 13.Động mạch
xoắn 14.Vách ngăn 15.Tuyến 16.Động và tĩnh mạchtiểu niệu 17.Cơ

Nhau thai có hai chức năng chính là trao đổi khí và dinh dưỡng cho phôi, ngoài ra nó còn có hàng loạt chức năng khác như bảo vệ, khử độc và đặc biệt là chức năng nội tiết. Nhau thai tiết các hormon bảo đảm cho sự phát triển bình thường của thai.

Chương 7

Sự hình thành hệ thần kinh

Sau khi hoàn thành quá trình tạo phôi vị, phôi chuyển sang giai đoạn phát triển quan trọng. Các lớp tế bào mầm sắp xếp vào đúng vị trí sơ đồ cấu tạo cơ thể. Trong giai đoạn tiếp theo của quá trình phát sinh cơ quan, các lớp tế bào mầm tương tác lẫn nhau để tạo cơ quan của cơ thể. Ở động vật có xương sống, hoạt động quan trọng nhất của sự phát sinh cơ quan là quá trình tạo thần kinh để hình thành não bộ và tủy sống. Cả não bộ và tủy sống đều có nguồn gốc từ các tế bào ngoại bì ở mặt lưng gọi là tấm thần kinh về sau cho ra ống thần kinh. Việc tạo thần kinh bắt đầu ngay sau sự tạo phôi vị. Kết thúc quá trình phát sinh cơ quan khó xác định, vì chúng hòa lẫn với thời kỳ dài của sự biệt hóa tế bào và mô theo đó các cơ quan chưa hoàn thiện biến đổi thành các cơ quan có chức năng xác định. Một số cơ quan như tim và thận bắt đầu hoạt động ở giai đoạn phôi nhưng vẫn hoàn thiện dần cho đến khi trưởng thành. Ở người, quá trình phát sinh cơ quan kéo dài từ 6 - 8 tuần.

Khi một mầm cơ quan đạt đến hình dạng và vị trí như trong sơ đồ cơ bản của cơ thể thì chúng không những đặc trưng cho từng loài mà còn cho nhóm phát sinh chủng loại. Chẳng hạn, phôi người 5 tuần tuổi có đầu với não bộ, mắt và mầm tai; phần thân phân đốt ở mặt lưng với đuôi và mầm chi. Cấu tạo bên trong của phôi còn có mầm tim, ruột, phổi, thận và phần lớn cơ quan khác đã được tạo thành. Hình thể của các mầm cơ quan này và vị trí của chúng có liên quan đến đặc điểm của động vật có vú và tổ chức cơ thể động vật có xương sống nói chung.

Nhiều quá trình phát sinh cơ quan xảy ra ở bên trong phôi nên rất khó quan sát và thực hiện các thực nghiệm. Tuy nhiên, đối với quá trình tạo tấm thần kinh thì khác, vì não bộ và tủy sống nằm ở mặt lưng có thể tiếp cận dễ hơn nên đã được nghiên cứu tương đối kỹ. Nhiều sự kiện trong sự phát sinh cơ quan được điều khiển bởi sự tương tác cảm ứng. Ví dụ: sự tạo thần kinh được tạo nên trong ngoại bì lưng và trung bì kế cận. Quá trình này được gọi là sự cảm ứng thần kinh (*neural induction*) đã được trình bày trong các thực nghiệm của H. Spemann và H. Mangold (1924). Các tác giả này đã cấy chuyển trung bì lưng của phôi axolotl đến ngoại bì bụng của phôi chủ ở giai đoạn phôi vị. Việc cấy chuyển đã gây cảm ứng quanh mô chủ để tạo ra một phôi phụ gắn vào phôi chủ. Với thí nghiệm này, H. Spemann đã nhận Giải Nobel về y học năm 1935 và là một điển hình của phôi sinh học thực nghiệm cổ điển.

I. Dẫn xuất của ba lá phôi

Khi đã hình thành ba lá phôi, sự phát triển đi tiếp sang một giai đoạn mới là phát sinh cơ quan. Trong quá trình này diễn ra sự tương tác mật thiết của ba lá phôi và nhiều cơ quan tạo nên với sự tham gia của hai hoặc ba lá phôi. Tuy nhiên, vai trò chủ đạo của một lá nào đó cũng xác định được.

đầu xoang miệng và hậu môn cũng có nguồn gốc từ ngoại bì. Mang của cá xương cũng có nguồn gốc ngoại bì.

- Dẫn xuất nội bì: Từ nội bì sẽ phát triển thành lớp biểu mô ống tiêu hóa và các tuyến tiêu hóa. Mang của cá miệng tròn và biểu mô lót cơ quan hô hấp của động vật có xương sống cũng có nguồn gốc từ lá phôi này.

- Dẫn xuất trung bì: Tất cả các phần còn lại phát triển từ trung bì. Tất cả các mô cơ, mô liên kết, mô sụn, mô xương, mạc treo ruột, màng lót xoang thân (lá thành), hệ tuần hoàn, hệ bài tiết, hệ sinh dục (trừ các tế bào sinh dục có nguồn gốc đặc biệt).

II. Sự tạo thần kinh - một ví dụ về sự phát sinh cơ quan

Tạo thần kinh là một chuyển động hình thái đáng chú ý trong việc hình thành hệ thần kinh trung ương. Chủ yếu là từ một vùng của ngoại bì lưng biến đổi thành một khối tế bào nhô cao gọi là tấm thần kinh. Sau đó, tấm thần kinh uốn lại thành dạng ống với một xoang bên trong, từ đó phát triển thành não bộ và tủy sống.

Sự tạo thần kinh có tầm quan trọng lớn về mặt khoa học vì tấm thần kinh có kích thước lớn và có khả năng tiếp cận nên có thể quan sát dễ dàng và gợi ý cho việc nghiên cứu sự phát triển các cơ quan khác. Ngoài ra, những hiểu biết sâu về sự tạo thần kinh có ý nghĩa về mặt y học. Những khuyết tật và chậm trễ trong việc tạo ống thần kinh đều ảnh hưởng đến hệ xương, cơ, và mô bao quanh não bộ và tủy sống. Ví dụ: những sai sót trong phần đầu của ống thần kinh gây ra bệnh thiếu não (*anencephaly*) (ở người, tỷ lệ mắc bệnh này chiếm 0,1 - 6,7/ 1000 trẻ sơ sinh).

Quá trình tạo thần kinh giống nhau ở động vật có xương sống, nhưng được nghiên cứu nhiều ở chim và lưỡng cư. Ở phôi lưỡng cư, sự tạo thần kinh phân làm hai thời kỳ. Thời kỳ thứ nhất là thời kỳ tạo tấm thần kinh. Thời kỳ thứ hai là thời kỳ tạo ống thần kinh. Thời kỳ thứ nhất bắt đầu bằng sự biến đổi hoạt động của các tế bào ngoại bì thần kinh nằm ở mặt lưng của phôi vị muộn. Trong tạo phôi vị, các tế bào này di chuyển về phía sau ngang qua phôi khâu dọc theo ngoại bì. Chuyển động biểu mô chậm dứt sau khi sự tạo phôi vị hoàn thành. Sau đó, các tế bào ngoại bì thần kinh di chuyển qua phần giữa và trước mặt lưng. Đồng thời các tế bào dài ra và nhô lên thành tấm thần kinh. Trên tấm thần kinh xuất hiện rãnh thần kinh và nếp thần kinh bao quanh biểu bì.

Thời kỳ thứ hai bắt đầu khi tấm thần kinh lõm xuống theo chiều dọc, cuối cùng hai mép của tấm thần kinh nối liền với nhau ở phía trên để thành một cấu trúc dạng ống gọi là ống thần kinh. Các tế bào còn lại của tấm thần kinh tách khỏi ống thần kinh thành mào thần kinh. Ống thần kinh sẽ phát triển thành não bộ và tủy sống, còn mào thần kinh cho ra hệ thần kinh ngoại biên gồm các dây thần kinh não và các dây thần kinh tủy.

Việc tạo ống thần kinh khác nhau ở động vật có xương sống. Ở lưỡng cư, mép ống thần kinh khép lại cùng lúc theo chiều dài. Trong khi ở chim, ống

thần kinh bắt đầu khép lại ở phía trước rồi tiến dần về phía sau. Kiểu này cũng được quan sát ở động vật có vú. Tuy nhiên, ở động vật có vú, phần trước của ống thần kinh lớn nên khó khép lại. Vì vậy, phần giữa ống khép trước tiên, kết quả tạo ra hai lỗ thần kinh phía trước và lỗ thần kinh phía sau.

III. Cơ chế tạo thần kinh

1. Sự tạo thần kinh độc lập với biểu bì xung quanh nhưng lệ thuộc vào trung bì trực

Trong nghiên cứu sớm nhất về sự tạo thần kinh, W. His (1874) đã cho rằng biểu bì bên nén lại để tạo tấm thần kinh sau đó thành ống thần kinh. Tuy nhiên, quan niệm biểu bì bên dồn nén cho tấm thần kinh đã bị W. Roux (1885) bác bỏ khi ông ta tiến hành phân lập tấm thần kinh từ biểu bì gần kề và quan sát hoạt động của chúng trong nuôi cấy mô. Ông đã quan sát thấy tấm thần kinh phân lập khép lại nhanh hơn bình thường. Roux kết luận rằng động lực tạo thần kinh nằm ngay trong tấm thần kinh, còn biểu mô bao quanh ngăn cản sự tạo thần kinh hơn là giúp cho quá trình này.

Kết luận này đã được củng cố bởi thí nghiệm thực hiện bởi A. Jacobson và R. Gordon (1976). Khi tạo một đường rạch trên biểu mô bao quanh tấm thần kinh, người ta thấy vết rạch này mở rộng không theo một hướng nào cả. Các tác giả này đã kết luận rằng biểu mô dưới áp lực mạnh trong sự định hướng không có khả năng lôi kéo nếp thần kinh khi tấm thần kinh khép lại thành ống.

Một loại mô khác cũng có thể gây ra sự tạo thần kinh là trung bì nằm dưới tấm thần kinh khi tấm thần kinh bị tách ra. Chúng sẽ sẵn sàng phát triển từ trung bì nằm bên dưới, ngoại trừ trung bì trực ở giữa. Mô này là tiền thân của dây sống gắn vào tấm thần kinh và được xem như phần không di chuyển trong thực nghiệm phân lập của Roux.

Kết quả này đã chỉ ra rằng các tế bào tấm thần kinh tương tác với các tế bào dây sống nằm bên dưới để thực hiện quá trình tạo thần kinh một cách bình thường.

2. Hiện tượng xếp cột của các tế bào tấm thần kinh

Trong quá trình tạo thần kinh, các tế bào tấm thần kinh có sự thay đổi về hình dạng nhưng vẫn giữ nguyên về thể tích. Các tế bào tấm thần kinh dài ra và xếp thẳng góc với bề mặt của phôi trong khi đỉnh và đáy của chúng thì co lại. Quá trình này gọi là hiện tượng tạo cột tế bào thường thấy ở vùng biểu bì nơi bắt đầu chuyển động phát sinh hình thái.

Hiện tượng tạo cột của tế bào biểu bì thường liên quan tới sự sắp xếp của các vi ống. Vào lúc bắt đầu sự tạo thần kinh, các vi ống của các tế bào tấm thần kinh định hướng song song với trục dọc của tế bào. Hiện tượng tạo cột của các tế bào tấm thần kinh làm giảm diện tích bề mặt của tấm thần kinh.

3. Sự khép ống thần kinh

Trong giai đoạn hai của sự tạo thần kinh khi tấm thần kinh khép lại thành ống, bề mặt tế bào đỉnh tiếp tục quá trình co lại. Quá trình kết hợp làm

cho tấm thần kinh có dạng tấm uốn cong thành dạng ống. B. Burnside (1971) cho rằng sự thay đổi hình dạng này có thể gây ra bởi hiện tượng nén chặt phần đỉnh. Ở đó, việc nén chặt của dải các vi sợi nằm dưới phần đỉnh. Theo giả thiết này thì các bó vi sợi sẽ dày lên và bện xoắn lại. Tuy nhiên, người ta không biết làm thế nào mà các tế bào phần đỉnh sinh ra các tế bào dạng kim tự tháp hay hình chóp nón để cuối cùng tạo thành chỗ lõm vào trên tấm thần kinh.

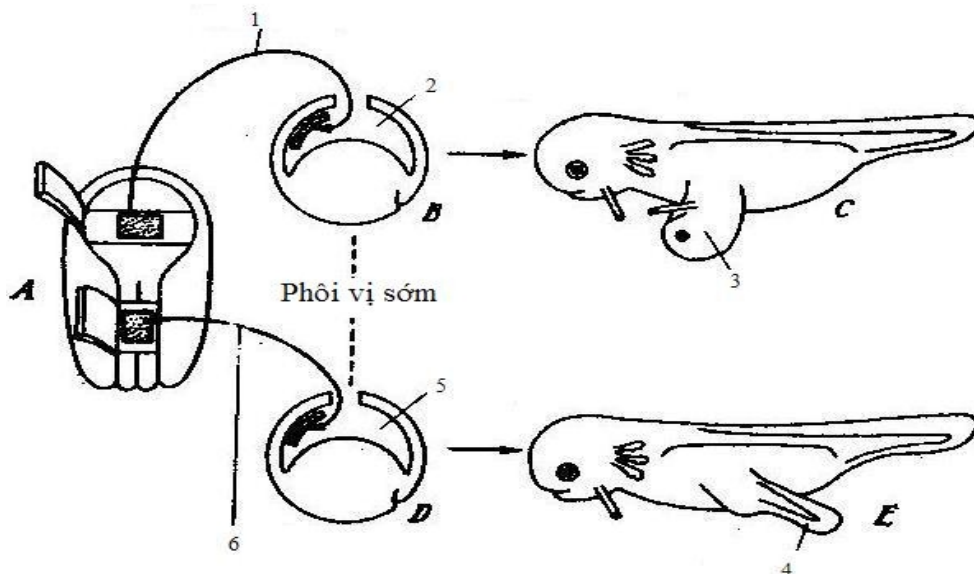
IV. Sự cảm ứng thần kinh

Người ta gọi tiềm năng của một phần nào đó của phôi là khả năng của nó biệt hóa thành các kiểu cấu trúc khác nhau trong những điều kiện bên ngoài khác nhau. Khi nói đến tiềm năng của ngoại bì, người ta thường xem xét thí nghiệm cấy môi lưng của phôi khẫu và vai trò của chúng trong việc tạo hệ thần kinh. Bình thường vùng này phát triển thành dây sống và trung bì, nên người ta gọi nó là *dây sống trung bì đoán trước*. Nếu đem cấy nó vào xoang phôi nang của phôi vị nguyên vẹn khác sao cho nó tiếp xúc với biểu bì đoán trước thì nó tạo nên tấm thần kinh. Sự tạo tấm thần kinh thứ sinh dưới ảnh hưởng của miếng dây sống trung bì cấy vào nói lên một trong những hiện tượng cơ bản trong phát triển - *sự cảm ứng phôi*. Người ta cũng đã theo dõi sự phát triển của liềm xám (cấu trúc xuất hiện sớm trong phát triển phôi ếch) khi mang một mẫu liềm xám này cấy vào trứng chưa phân cắt sao cho nó đối diện với liềm xám kia. Sau khi phôi vị được tạo thành thì hệ thần kinh thứ sinh cũng được tạo nên. (H 7.2)

Nhờ có tính chất tổ chức được hệ thần kinh từ ngoại bì mà người ta thường gọi khu vực nằm ngay trên môi lưng của phôi khẫu là nhân tố tổ chức của trứng.

Không nên hiểu lý thuyết về nhân tố tổ chức là tác động của dây sống trung bì. Cảm ứng phôi như là một quá trình mà nhờ đó một nhóm tế bào này kích thích nhóm khác biệt hóa.

Bản chất của cảm ứng thần kinh: Người ta cho rằng nóc ruột nguyên thủy kích thích ngoại bì nằm trên nó phát triển thành mô thần kinh, có nghĩa là nóc ruột nguyên thủy tác động trực tiếp lên các tế bào ngoại bì. Trong đó có thể tồn tại một số phương thức mà qua đó các tác động này có thể thực hiện được. Một trong số đó là *tương tác bề mặt* của các tế bào ở chỗ mà các tế bào của hệ cảm ứng tiếp xúc trực tiếp với nhau. Ví dụ như khi có tiếp



Hình 7.2 Thí nghiệm về cảm ứng thần kinh (Theo K. Kalthoff, 1996)

*A. Bóc tấm thần kinh B. Cắt một phần óc ruột cấy vào xoang phôi nang C. Phôi có đầu phụ D. Cấy vào xoang phôi vị sớm E. Phôi có thân phụ
1,6. Nhân tố tổ chức đầu đem cấy 2,5. Xoang phôi nang 3. Đầu tạo nên do cảm ứng
4. Thân tạo nên do cảm ứng*

xúc giữa hai lớp tế bào: ngoại bì và dây sống - trung bì; dây sống - trung bì có thể gây thay đổi về cấu tạo, hình dạng hoặc hoạt động của màng tế bào ngoại bì. Như thế, cấu trúc không gian của màng tế bào dây sống - trung bì có thể gây cảm ứng làm thay đổi về hình dạng màng tế bào ngoại bì, thay đổi này lại dẫn tới những biến đổi trong tế bào và quyết định nó phát triển thành tấm thần kinh.

V. Nguồn gốc và phát triển các tế bào thần kinh

Các tế bào thần kinh nguyên thủy hay các nguyên bào thần kinh có một số nguồn gốc khác nhau. Ống thần kinh là nguồn gốc chủ yếu của các nguyên bào thần kinh. Nó chứa những nguyên bào thần kinh to, tròn, tạo nên đại bộ phận các tế bào thần kinh và sợi thần kinh của não bộ và tủy sống cũng như các dây thần kinh vận động. Ngoài ra, các nguyên bào thần kinh còn có nguồn gốc từ các mào thần kinh.

Để xem xét sự phát triển của tế bào thần kinh, Harrison (1907) đem cấy một đoạn ống thần kinh ở giai đoạn phôi sớm khi chưa có dây thần kinh. Ông ta có thể theo dõi sự phát triển của tế bào nhỏ bé có chồi đi xa thân tế bào tới 60 - 90 cm. Quan sát nguyên bào thần kinh trong nuôi cấy cho thấy thoát đầu từ một phía thân tế bào phát ra một dây chất tế bào mảnh. Ở đó hình thành một chồi giống chân giả và vẫn nối vào tế bào gọi là chóp tăng trưởng. Khi chóp đi xa khỏi tế bào, dây chất tế bào giữa chúng dài ra và tạo nên sợi thần

kinh. Sợi thần kinh có thể phân nhánh và có hai chóp tăng trưởng. Trong thân tế bào tạo nên chất tế bào mới, và chất tế bào mới này di chuyển ra xa theo lõi của sợi thần kinh.

VI. Mào thần kinh và những dẫn xuất của mào thần kinh

Ở những giai đoạn phát triển sớm, các tế bào của mào thần kinh di cư theo hai hướng so với Ống thần kinh. Một phần tế bào của mào thần kinh di cư vào vùng động mạch chủ lưng và tạo các hạch thần kinh cạnh đốt sống (các hạch giao cảm), các hạch này tạo thành thân giao cảm. Các hạch thần kinh bên và tận cùng của hệ thần kinh thực vật liên quan chặt chẽ với cơ quan nội tạng, có lẽ cũng bắt nguồn từ các tế bào của mào thần kinh.

Dùng phương pháp đánh dấu tế bào mào thần kinh bằng chất timidin cho thấy những tế bào di cư theo hướng lưng - bên so với Ống thần kinh sẽ đi vào ngoại bì bề mặt tạo các nguyên bào thần kinh ở da. Thực nghiệm bằng phương pháp phóng xạ hoặc cắt bỏ mào thần kinh sẽ đưa đến kết quả là các tế bào Schwann không hình thành bao và màng myelin. Cuối cùng, đa số các tế bào mào thần kinh tạo nên các hạch thần kinh tủy và các sợi cảm giác của dây thần kinh tủy.

VII. Phát triển tủy sống và não bộ

1. Phát triển tủy sống

Ống thần kinh lúc đầu tương đối đồng nhất về cấu trúc. Thành của nó gồm những tế bào biểu mô thần kinh, về sau cho các nguyên bào thần kinh, tạo các sợi thần kinh, các nguyên bào xốp hay các tế bào đỡ và các tế bào lót Ống nội tủy lót xoang trung tâm. Trong Ống thần kinh của phôi gà ấp bốn ngày có thể phân biệt ba vùng:

- Lớp dày các nguyên bào thần kinh chưa biệt hóa về cấu trúc lót lòng Ống,
- Vùng áo nằm xa trung tâm hơn và gồm các thân tế bào đang biệt hóa,
- Vùng rìa ngoài, trong đó là các sợi thần kinh đang biệt hóa

Trong Ống thần kinh ở giai đoạn sớm, phân lập ra vùng mầm có các tế bào phân chia dọc theo xoang trung tâm. Các tế bào mầm có khả năng biệt hóa thành các nguyên bào thần kinh, nguyên bào xốp và các tế bào lót Ống nội tủy. Qua một hai ngày sau khi Ống thần kinh khép kín, một phần tế bào tạo ra ở vùng mầm biệt hóa thành nguyên bào thần kinh và di cư đi xa xoang trung tâm, tạo nên lớp áo đầu tiên. Sự tăng sinh cực đại vùng mầm làm cho xoang trung tâm hẹp lại. Khi xoang trung tâm gần như bị lấp kín thì một số tế bào của vùng mầm di chuyển từ lòng Ống tới lớp áo và biệt hóa thành các tế bào nặng đỡ. Các tế bào còn lại ở vùng mầm tạo nên lớp lót Ống nội tủy ổn định. Ở những giai đoạn tiếp theo lòng xoang trung tâm tiếp tục nhỏ đi và trong xoang chứa dịch tủy.

2. Phát triển não bộ

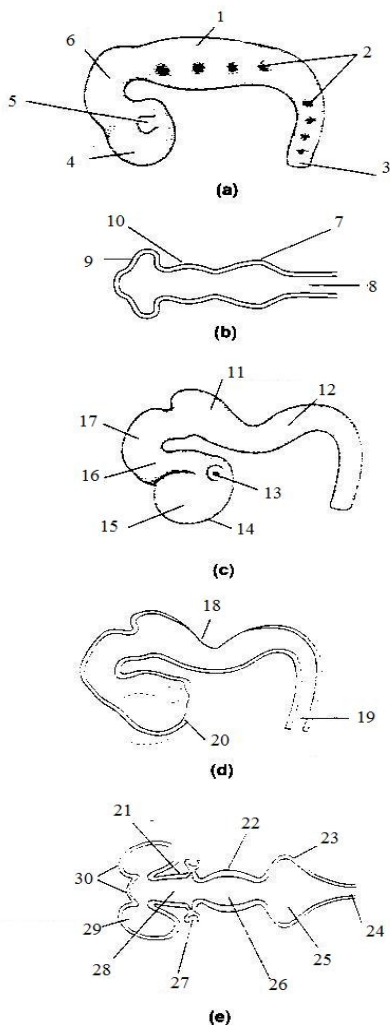
Phát triển não bộ từ phần trước của tủy thần kinh là một quá trình phức tạp nhất. Tuy nhiên, những nguyên tắc chủ yếu của phát triển hệ thần kinh

trung ương giống với nguyên tắc xác định sự biệt hóa các dây thần kinh tủy và tủy sống. Đó là sự di cư có định hướng và tương tác cảm ứng của các tế bào và sợi.

Sau khi các bờ thần kinh khép lại, trong não có thể phân biệt ba bộ phận lớn: não trước nguyên thủy, não giữa và não sau nguyên thủy. Đồng thời với việc xuất hiện các dấu hiệu biệt hóa cục bộ thành não, lần đầu tiên xuất hiện sự phân chia não thành năm phần đặc trưng cho cơ thể trưởng thành. Sự biệt hóa này của các thành não bao gồm sự tạo các chỗ lồi, dày lên và một vài chỗ thành mỏng đi. Các vòng thắt tạo nên thành não cũng là giới hạn giữa các phần.

Trên các giai đoạn phát triển sớm, trong số các cơ quan nằm trong phần đầu, ống thần kinh to ra nhanh hơn cả do tăng sinh tế bào, do khối lượng và thể tích dịch não thất tăng lên. Sự tăng sinh biệt hóa tế bào và có thể sự tăng áp suất trong não thất là những nhân tố tạo hình quan trọng nhất để tạo nên các chỗ uốn của não.

Bóng não thứ nhất tức não trước giới hạn với các phần khác của não bằng eo thắt phía lưng - màng máng ngang và chỗ lõm phía bụng hố thị giác. Từ thành não trước phát triển thành các bán cầu đại não, các bán cầu vẫn nối với nhau theo đường giữa nhờ cầu nối. Xoang não trước chia làm hai tạo nên não thất I và II.



Hình 7.3 Phát triển não bộ phôi người (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a) 4 tuần, nhìn bên (b) 4 tuần, cắt theo mặt phẳng ngang (c) 5 tuần, nhìn bên (d) 5 tuần cắt dọc theo mặt phẳng thẳng đứng (e) Cắt dọc theo mặt phẳng ngang 1,7,23. Não sau 2. Hạch cảm giác tủy sống và não 3. Tủy sống 4,9. Não trước 5,13. Túi thị giác 6,10. Não giữa 8,19,24. Rãnh trung tâm 11,22. Tiểu não 12. Hành tủy 14. Não trước 15. Bán cầu não nguyên thủy 16,21. Não trung gian 17. Não giữa 18. Nóc của não sau 20. Thành não trước 25. Não thất IV 26. Rãnh Sylvius tương lai 27. Cốc thị giác 28. Não thất III 29. Não thất bên 30. Não trước

Não trung gian giới hạn bởi đường đi từ mẫu sau tới phía sau

cuống tuyến yên có bắt chéo thị giác ở thành bụng. Tuyến yên có nguồn gốc từ biểu bì và thần kinh được tạo nên do túi lồi của đáy não trung gian với túi lồi của nóc miêng nguyên thủy hay túi Rathke. Tuyến tùng thì lại xuất hiện dưới dạng túi lồi của thành lưng não trung gian. Các thành bên của não trung gian tạo nên đồi thị. Từ thành của não trung gian cũng tạo nên vùng dưới đồi. Xoang của não trung gian trở thành não thất III. Thành lưng của bóng não giữa sẽ tạo các thùy thị giác. Tiểu não được tạo nên từ thành lưng của não sau. Ở đáy não sau có các đường dẫn truyền nối tiểu não với các phần khác của hệ thần kinh trung ương. Phần khác của não sau nguyên thủy tạo nên hành tủy, chứa các đường dẫn truyền nối thân não với tủy sống. Xoang hành tủy tạo não thất IV thông với xoang trung tâm của tủy sống.

Chương 8

Các cơ quan nội bì và trung bì

I. Các dẫn xuất nội bì

1. Ống tiêu hóa

Lớp biểu mô lót toàn bộ hệ tiêu hóa (ví dụ ở gà) có nguồn gốc từ lá nội bì dẹt. Ống ruột khép lại là do sự tạo các nếp thân trước và sau và do các mép của lá ban đầu cùng với trung bì sát nó. Đầu tiên ở dạng túi có ruột trước được tạo nên, và sau là ruột sau, sau nữa các lớp bên kết hợp các mép của nội bì. Về quan điểm chức năng, nội bì là thành phần quan trọng nhất của hệ tiêu hóa, vì nó cho các kiểu biểu mô có chức năng khác nhau, trong số đó có biểu mô hấp thu, biểu mô hô hấp và các tế bào sản sinh ra các enzym tiêu hóa, cũng như các tế bào tiết ra một số hormon.

1.1 Sự phát triển của ruột trước:

Ruột trước được tạo nên từ phần kéo dài của nội bì. Phần phía trước to ra tạo nên túi họng, đồng thời nội bì dính với ngoại bì để tạo tấm miệng, dưới tấm này là xoang miệng. Phần sau của ruột chưa biệt hóa và ruột giữa còn thông với noãn hoàng.

Ở giai đoạn 38 thể tiết có bốn đôi túi tạng được tạo nên dưới dạng các túi lồi từ thành bên của họng. Phía trước tấm miệng thủng ra và họng thông với xoang miệng. Giữa xoang miệng và họng nổi lên cung hàm. Túi lồi giữa đáy họng, giữa các túi tạng thứ nhất và thứ hai sẽ tạo nên mầm tuyến giáp. Ở phần sau của đáy họng, sau đôi túi tạng thứ tư, có một cấu trúc hình máng tạo nên rãnh thanh - khí quản, về sau tạo khí quản. Các mầm phổi đầu tiên xuất hiện dưới dạng hai chỗ phình ở mút cuối của rãnh thanh - khí quản. Phần lớn mầm phổi được tạo nên từ trung bì dưới đáy họng phôi. Các cơ trong phổi có nguồn gốc từ các đôi thể tiết thứ hai, thứ tư và được điều khiển bằng dây thần kinh dưới phổi. Lớp lót biểu mô phổi có nguồn gốc nội bì. Về phía lưng - bên so với mầm phổi, và tuyến giáp, có các túi tạng nội bì. Một số túi xuất hiện các lỗ thông xoang họng với môi trường bên ngoài là các khe mang.

Cung tạng thứ nhất là cơ sở của sụn hàm và do đó được gọi là cung hàm. Túi tạng thứ nhất là nguồn gốc của xoang tai giữa, xoang này sau vẫn nối với họng là Ống Eutachi. Chỉ có một túi tạng thứ nhất vẫn giữ được mối liên hệ với họng, điều đó đảm bảo duy trì áp suất trong xoang tai giữa ở mức không đổi.

Trong ngày phát triển thứ tư, các rìa của rãnh thanh phế quản khép lại ở phía lưng chỉ còn nối với họng ở mút đầu. Đó là khí quản, ở mút trước của nó có khe thanh âm. Phần ruột trước nằm trên khí quản và sau khe thanh quản sẽ phát triển thành thực quản.

1.2 Sự phát triển của ruột giữa:

Sự phát triển của ruột giữa chủ yếu là sự phát triển của các tuyến tiêu hóa. Gan phát triển từ biểu mô nội bì thành bụng của ruột. Mầm gan xuất

hiện dưới dạng túi lồi. Khi ruột khép thành một ống kín, gan càng chuyển xa hơn về phía trước, đồng thời các mầm gan tăng sinh tạo nên hai túi lồi hình ống, phủ lên ống tĩnh mạch trong vùng ngay sau tim. Sau đó gan tiếp tục phát triển rất nhanh, ống tĩnh mạch tạo các tĩnh mạch gan lớn hơn, trong khi trên khối noãn hoàng cũng phân ra thành nhiều mạch nhỏ hơn gọi là mạch xoang nhỏ cho ra các tĩnh mạch gan. Khi nở, ống tĩnh mạch đóng kín lại; mút phía trước nó trở thành một phần của tĩnh mạch chủ sau. Một trong các nhánh của tĩnh mạch noãn hoàng (tĩnh mạch mạc treo ruột) trở thành một phần của tĩnh mạch cửa gan.

Các ống mật và túi mật phát triển từ vùng gần tâm của túi lồi gan ban đầu. Túi mật thông với tất cả các bộ phận của gan bằng những ống rất nhỏ. Mật được tích lũy trong túi mật và đi qua ống mật vào tá tràng.

Tuyến tụy có nguồn gốc phức tạp. Ba túi lồi nội bì hợp lại tạo tuyến tụy, nối với tá tràng bằng ba ống tụy nhỏ. Điều đáng lưu ý là để biệt hóa biểu mô tuyến tụy cần có sự tương tác cảm ứng của các tế bào biểu mô với trung mô.

1.3 Sự phát triển của ruột sau:

Ruột sau được phát triển từ mầm ở phần sau của phôi ở các giai đoạn phát triển sớm dưới dạng túi từ nội bì và trung bì tạng bằng cách hình thành nếp đuôi. Ruột sau biệt hóa thành lỗ huyết có ống thận nguyên thủy (ống Wolff) của phôi đổ vào. Ở giai đoạn muộn hơn ống dẫn niệu cũng nối với lỗ huyết. Túi lồi nội bì phía bụng của ruột sau tạo túi niệu, thành của túi niệu gồm nội bì và lá tạng của tấm bên. Túi niệu mọc ra ngoài đi qua xoang ngoài phôi và lót dưới màng đệm sát ngay dưới vỏ trứng.

II. Các dẫn xuất trung bì

Trung bì không phải là một lớp tế bào liên tục như ngoại bì và nội bì. Các thành phần của nó có thể di cư và tạo nên các đám tế bào thừa gọi là trung mô. Trung mô bao quanh các cấu trúc khác và tạo mô nâng đỡ và mô liên kết, sụn, xương và cơ.

1. Sự phát triển các thể tiết

Ở các giai đoạn phát triển sớm của phôi gà, trung bì phân ra ba cụm tế bào chính: thể tiết, đốt nguyên thân và tấm bên. Thể tiết lại cho ba nhóm tế bào khác nhau: đốt nguyên cốt, đốt nguyên bì và đốt nguyên cơ.

Ngay sau khi thể tiết được tạo nên, một số tế bào di cư hướng tới dây sống và ống thần kinh. Các tế bào này tạo nên những đám trung mô dày đặc được gọi là đốt nguyên cốt. Cuối cùng các tế bào của đốt nguyên cốt bao quanh dây sống, ống thần kinh và biệt hóa thành cột sống.

Phần bề mặt của thể tiết tạo nên lớp tế bào tách biệt là đốt nguyên bì. Các tế bào này tạo các tế bào trung mô di cư, lót mặt trong của biểu bì là lớp bì của vỏ da.

Phần còn lại của thể tiết là đốt nguyên cơ. Đây là lớp tế bào phát triển thành mô cơ. Tuy nhiên, không phải tất cả các cơ của thân đều có nguồn gốc từ đốt nguyên cơ. Ví dụ cơ tim phát triển từ các tế bào lá tạng của tấm bên và

cơ chi từ trung mô lá thành của tằm bên. Như vậy đốt nguyên cơ của thể tiết chủ yếu biệt hóa thành các cơ vân của lưng.

2. Sự biệt hóa mô liên kết, mô xương và mô sụn

Đốt nguyên cốt hình thành nên các kiểu tế bào khác nhau có những chức năng khác nhau: các sợi nguyên bào, sụn nguyên bào và cốt nguyên bào. Các sợi nguyên bào tạo mô lưới, gân, dây chằng và mô liên kết thưa. Sụn nguyên bào tạo nên sụn còn cốt nguyên bào tạo xương.

Quá trình tạo sụn bắt đầu khi có sự nở to của các bào quan của các tế bào trung mô chưa biệt hóa và sự tăng hoạt động trao đổi chất của nó. Sụn nguyên bào còn tiết ra quanh mình khuôn sụn. Khi sụn cứng lại, các sụn nguyên bào bị nhốt trong các khoang và tiếp tục tồn tại như các tế bào sụn của sụn ổn định.

Có hai hình thức tạo xương: xương gốc bì (phát triển không qua giai đoạn sụn) và xương gốc sụn (phát triển có qua giai đoạn sụn). Đối với xương gốc bì thì các cốt nguyên bào bám vào một màng nào đó sẽ tạo các tơ mảnh trong khuôn. Đồng thời bắt đầu xuất hiện các gai xương, bị xi măng hóa và tạo một tấm cứng trong màng. Khuôn xương bao quanh một phần cốt nguyên bào và chúng biến thành các tế bào xương. Đối với xương gốc sụn, xương được tạo nên dưới dạng của một cụm sụn nguyên bào. Sau đó, các tế bào sụn trưởng phòng lên và nằm theo hàng dọc. Trong mô sụn lắng đọng các muối canxi và các tế bào sụn bị phá hủy. Tiếp đến, các tế bào xương tạo một lớp xương mỏng bên trên sụn gọi là màng xương. Đồng thời với sự tăng trưởng theo chiều dài, xương cũng lớn lên về bề ngang. Các cốt nguyên bào trong màng xương của thân xương tiếp tục tạo các lớp mô xương chắc trên bề mặt và do đó làm tăng tiết diện xương. Trong khi ở bề mặt xương tiếp tục tăng trưởng thì ở trong lòng xương vẫn rỗng do có các tế bào hoạt động hòa tan sụn và xương trong đó. Kết quả là mô xốp ở trung tâm xương bị phá hủy và cuối cùng được thay thế bởi tủy xương.

3. Sự tạo cơ

Sau khi xuất hiện, các tế bào đốt nguyên cơ di chuyển tới vùng bụng hoặc vùng bên của thân. Trong quá trình biệt hóa thành các cơ của thân, các nhóm cơ nguyên bào riêng biệt có thể kết hợp với nhau, tách ra và thậm chí có thể thoái hóa.

Sau khi đốt nguyên cơ tách khỏi đốt nguyên bì, các cơ nguyên bào riêng lẻ bắt đầu phân bố các tế bào sao cho trục dài song song với nhau và kéo dài thành các tế bào hình thoi. Các sợi nguyên bào này tham gia tạo các yếu tố mô liên kết của cơ. Trong các biến đổi này, các hạt tế bào chất trong cơ nguyên bào nằm theo dãy song song với trục dài của tế bào. Sau đó xuất hiện các tơ cơ xếp dọc theo tế bào, số lượng tơ cơ tiếp tục tăng lên cho tới khi choán toàn bộ tế bào, đẩy nhân ra ngoài biên. Tiếp theo phát triển các vân ngang đặc trưng cho các cơ xương.

4. Sự biệt hóa đốt nguyên thân

Một bộ phận khác có nguồn gốc từ trung bì thân là đốt nguyên thân. Các tế bào của chúng trải qua hàng loạt các biến đổi phức tạp để tạo nên tiền thân, sau đó là trung thân chỉ hoạt động vài ngày và cuối cùng là hậu thân. Các ống tiền thân phát triển từ các ống thân giữa các tiết thứ 5 và thứ 16. Ống tiền thân không có lòng ống, mọc về phía sau và chuyển sang ống thân nguyên thủy. Tiền thân là một cấu trúc tạm thời và mút trước của nó bắt đầu bị phá hủy nhanh chóng sau khi được tạo thành. Vai trò chủ yếu của tiền thân là tạo ống thân nguyên thủy (ống Wolff). Các tiểu quản thân đổ vào ống thân nguyên thủy, trên đỉnh của chúng có các bao tiểu cầu thân. Bao tiểu cầu thân nhanh chóng chứa đầy các mao mạch máu và tạo nên tiểu cầu thân nối với động mạch chủ lưng.

Thân nguyên thủy hoạt động một thời gian sau đó được thay thế bởi hậu thân phát triển từ các đoạn sau của đốt nguyên thân khoảng thể tiết thứ 30 - 33. Từ ống thân nguyên thủy, ở chỗ đổ vào lỗ huyết, phát ra một túi lồi, túi này tạo ra ống dẫn nước tiểu.

Những yếu tố thoái hóa của thân nguyên thủy được sử dụng trong quá trình phát triển hệ sinh dục. Một phần mô của thân nguyên thủy biến thành phần phụ tinh hoàn và ống dẫn tinh. Ở cá thể cái, thân nguyên thủy teo lại và biến đi.

Sự phát triển của thượng thân có hai nguồn gốc. Vỏ thượng thân có nguồn gốc từ đốt nguyên thân ở vùng thân nguyên thủy. Lớp tủy của thượng thân được tạo nên từ nhóm tế bào mào thần kinh.

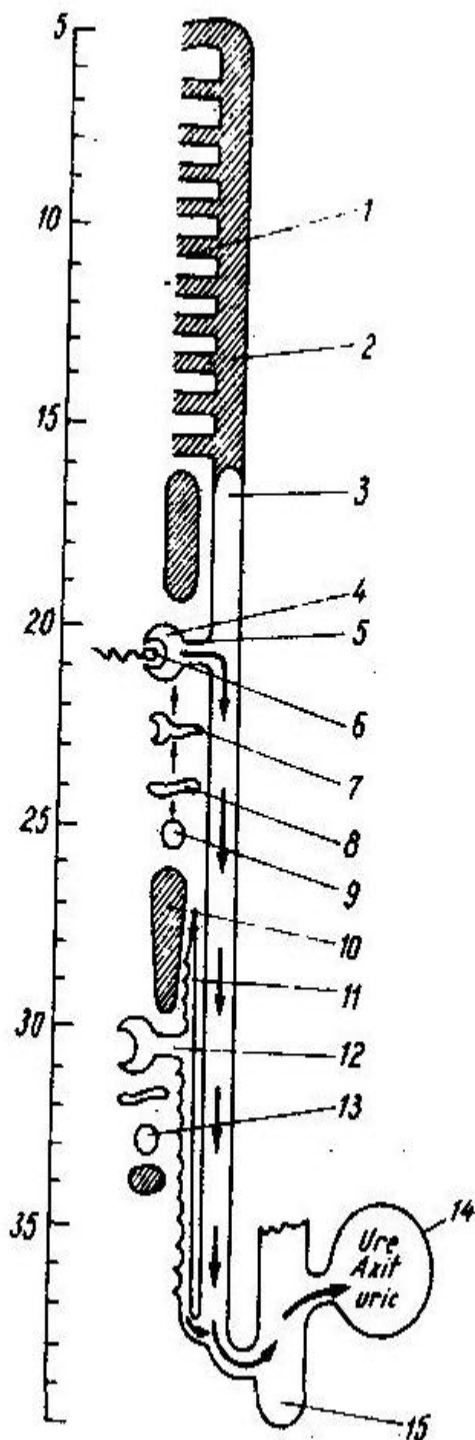
5. Sự biệt hóa giới tính

Các tuyến sinh dục được tạo nên từ chỗ dày của trung bì tạng và từ đốt nguyên thân. Tuyến sinh dục đầu tiên xuất hiện như một chỗ dày của nếp sinh dục nằm dọc theo bề mặt giữa của thân nguyên thủy. Các tế bào sinh dục nguyên thủy nhanh chóng di cư vào biểu mô màng bụng tạo nên biểu mô mầm. Biểu mô này biệt hóa, trung mô dưới tập trung lại tạo nên chất đệm của tuyến sinh dục đang phát triển. Các sợi sinh dục của biểu mô mầm ăn sâu vào chất đệm này tạo nên tuyến sinh dục nguyên thủy với lớp tủy bên trong và lớp vỏ bên ngoài. Các tuyến sinh dục đực và cái thường bao gồm các lớp vỏ và tủy, với giới tính con vật tùy thuộc vào lớp nào phát triển mạnh hơn. Trong quá trình phát triển buồng trứng, lớp vỏ biệt hóa và biến thành chính mô buồng trứng, lớp tủy bị thoái hóa. Khi tạo tinh hoàn, lớp tủy tăng sinh và biệt hóa, trong khi đó lớp vỏ thường tiêu biến đi. Trước lúc biệt hóa này ít lâu, tuyến sinh dục của một giới tính bắt đầu tiết hormon. Người ta giả định rằng cá thể bào vỏ tiết các hormon cái; cá thể bào lớp tủy tiết hormon đực.

Ở các giai đoạn sớm, hệ sinh dục của cá thể đực và cái đều phát triển như nhau. Trong vòng một số ngày, hệ thống sinh dục đực và cái của phôi gà bao gồm những cấu trúc như nhau và chỉ về sau các gen mới biệt hóa theo hướng đực hay cái. Trong quá trình biệt hóa giới tính, các tế bào sinh dục nguyên

thủy hoặc biệt hóa thành noãn nguyên bào hay tinh nguyên bào. Các thể nhiễm sắc của cá thể đực (XY) khác thể nhiễm sắc của cá thể cái (XX).

Một vài nghiên cứu tế bào học và di truyền học cho biết là có thể nhận biết được các thể nhiễm sắc này ở giai đoạn phát triển phôi sớm.



Hình 8.1 Sự phát triển thận (Theo W. B. Charles, 1978)

1. Tiểu quản 2. Ống 3. Ống thận nguyên thủy 4. Bao tiểu cầu 5. Tiểu cầu thận 6. Búi mạch máu 7, 8. Bao tiểu cầu rương lai 9. Bóng thận nguyên thủy 10. Mô thận nguyên thủy 11. Ống dẫn nước tiểu 12. Tiểu cầu thận thứ sinh 13. Bóng thận thứ sinh 14. Túi niêu 15. Lỗ huyệt

(Cột bên trái là các thể tiết trung bì từ thứ 5-35)

Sự biệt hóa giới tính không có tính bền vững. Có thể gây ảnh hưởng lên biệt hóa giới tính hoặc bằng cách tiêm một hormon sinh dục nào đó vào trứng hoặc bằng cách cấy ghép tuyến sinh dục đang có hoạt động tiết và xoang cơ thể. Tiêm oestrogen vào phôi gà 48 giờ tuổi gây nên những thay đổi mạnh trong phát triển tuyến sinh dục. Tiêm oestrogen có thể biến đổi tinh hoàn trái của con trống di truyền thành một tuyến lưỡng tính. Một phần của tuyến sẽ có dấu hiệu buồng trứng còn phần khác sẽ có dấu hiệu tinh hoàn. Ở cá thể đực di truyền đó sẽ có bộ máy sinh dục phụ của cá thể cái (như ống dẫn trứng), trong khi đó ở cá thể đực bình thường, ống dẫn trứng thường tiêu biến. Đảo lộn giới tính có thể giữ lâu hoặc mau. Trong một số trường hợp sau khi

nở, gà con khôi phục lại giới tính ban đầu. Trong các trường hợp khác, sự đảo lộn giới tính có thể duy trì lâu tới hai năm hoặc hơn. Ở lưỡng cư, sự đảo lộn giới tính có thể lâu dài và đầy đủ tới mức có thể lai hai cá thể có cùng một giới tính di truyền và thu nhận các đời con cháu từ chúng.

Những nhân tố của môi trường bên ngoài cũng ảnh hưởng tới biệt hóa giới tính. Nuôi nòng nọc ếch *Rana sylvatica* trong nhiệt độ 32°C (giới hạn trên của nhiệt độ phát triển phôi *Rana sylvatica*), tinh hoàn sẽ phát triển bình thường, nhưng buồng trứng sẽ biến thành tinh hoàn. Như vậy, nhiệt độ cao làm chuyển dịch sự biệt hóa ở ếch, lớp túy biệt hóa thay cho lớp vỏ và làm cho sự biệt hóa giới tính với một mức độ nào đó trở nên không phụ thuộc vào thể nhiễm sắc. Mô của buồng trứng bị phá hủy đi và các tế bào sinh dục nguyên thủy biến thành tinh bào chứ không phải là noãn bào.

Đảo lộn giới tính có thể xảy ra thậm chí cả sau khi biệt hóa đã diễn ra nếu như trong tuyến sinh dục có chứa một miếng mô đặc trưng cho giới tính khác. Có thể dễ dàng quan sát điều đó nếu thiến đi một buồng trứng trái bình thường của gà mái thì buồng trứng thô sơ bên phải trong trường hợp này hoặc thành tinh hoàn hoặc thành buồng trứng hoặc thành tuyến sinh dục lưỡng tính. Nếu tuyến sinh dục thô sơ bên phải phát triển thành tinh hoàn, bộ lông của gà mái sẽ thành bộ lông của gà trống và gà mái bắt đầu gáy. Ở nó sẽ phát triển các dấu hiệu sinh dục thứ sinh của con đực và trong buồng trứng di truyền, tinh bào sẽ phát triển thành tinh trùng. Như vậy con cái đã hoàn toàn biến thành con đực. Kết quả này hoàn toàn có thể giải thích được: buồng trứng phải bình thường không hoạt động, nhưng có thể chứa một ít lớp vỏ và lớp túy. Nếu cắt bỏ buồng trứng trái, buồng trứng phải sẵn tính không ổn định có thể phát triển theo bất kỳ hướng nào.

Bằng phẫu thuật có thể làm đảo lộn giới tính ở cóc. Mút trước tinh hoàn của cóc có một cấu trúc gọi là cơ quan *Bidder*. Ở cóc trưởng thành, nếu cắt tinh hoàn thì có thể kích thích cơ quan *Bidder* phát triển thành buồng trứng với những trứng lớn điển hình. Đó là ví dụ về cá thể trưởng thành có tiềm năng lưỡng tính.

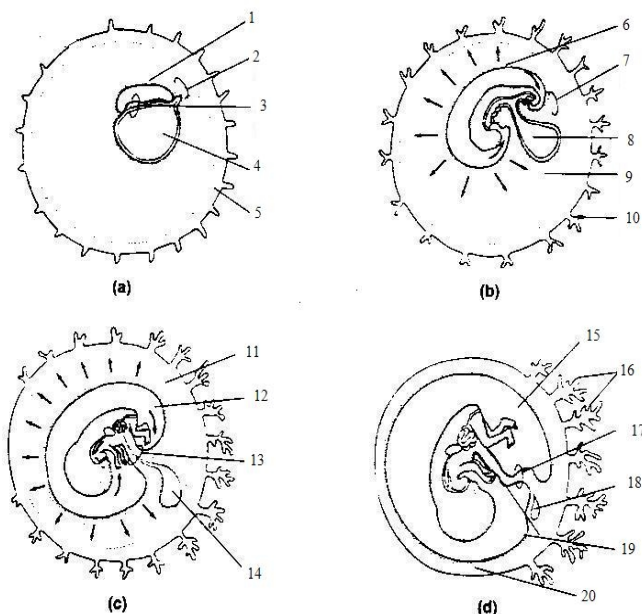
6. Các màng ngoài phôi và hệ tuần hoàn

6.1 Các màng ngoài phôi: Ở phôi gà và các lớp động vật có xương sống từ bò sát trở lên có bốn màng ngoài phôi được tạo nên: màng ối bao quanh phôi, bảo vệ phôi khỏi các tác động gây hại cơ học và tạo môi trường nước cho phôi phát triển; màng đệm (màng nhung, chorion hay màng serosa) là màng ngoài cùng bao quanh phôi và tất cả các màng phôi khác; túi noãn hoàng chứa đầy noãn hoàng không phân cắt và đóng vai trò cơ quan hô hấp đầu tiên và cơ quan tiêu hóa của phôi; túi niệu nối với ruột sau và là nơi tích tụ các sản phẩm trao đổi chất của phôi. Khi nở, mối liên hệ giữa túi niệu và phôi mất đi, các màng phôi khô đi và cùng với các sản phẩm trao đổi chất, chủ yếu là axit uric, được giữ lại ở ngoài vỏ.

Màng ối bắt đầu xuất hiện sớm. Nếp ngoài bì và lá thành ngoài phôi, tạo nên ở phần đầu, bắt đầu phủ lên phôi. Đó là nếp đầu của màng ối. Đi về phía sau, các rìa của nếp đầu chuyển sang nếp bên của màng ối phủ lên thân phôi từ hai phía. Ở phía sau đuôi có nếp ối đuôi, nó cũng chuyển sang nếp bên. Nếp đuôi có lẽ là trung tâm tạo ối độc lập vì nó xuất hiện cả trong trường hợp khi sự phát triển nếp đầu bị ức chế bằng cách đốt nóng. Các nếp đầu và đuôi mọc hướng tới nhau bên trên thân phôi còn các nếp bên đi lên từ hai phía. Sau đó tất cả các lớp liền lại với nhau và chỗ dính đó đồng thời sẽ là chỗ nối màng ối với màng đệm. Lúc đó phôi nằm trong một cái túi là bọc ối. Từ trung bì của màng ối sau này tạo nên các tế bào cơ, chúng co rút nhịp nhàng và làm dịch ối lưu thông quanh phôi.

Túi niệu xuất hiện như một túi lồi từ thành bụng của ruột sau, thành của nó được tạo nên từ nội bì và lá tạng của tấm bên. Trong trung bì của túi niệu có các động mạch và tĩnh mạch nối liền hệ với lưới mạch máu của màng đệm. Ở động vật có vú, mạch máu và trung bì của túi niệu hợp với thành trong của màng đệm, tạo nên một cơ quan giúp phôi bám vào thành của dạ con. (H 8.2)

6.2 Sự hình thành mạch máu và tim: Một trong những quá trình đáng kể nhất trong phát triển là sự hình thành tim. Ở các giai đoạn sớm, khi phôi bị lan phủ lên noãn hoàng, trong lá tạng của tấm bên biệt hóa nên các đảo máu. Các tế bào trung bì của chúng tạo nên máu và lớp lót các mạch máu. Các tế bào trong đảo máu biệt hóa thành các tế bào máu, trong khi đó, những tế bào lớp ngoài tạo nên các túi nội mạc. Rất nhiều các túi này hợp lại với nhau, lớn lên



Hình 8.2 Màng ngoài phôi người (Theo K. Kalthoff, 1996)

(a) 3 tuần tuổi (b) 4 tuần tuổi (c) 10 tuần tuổi (d) 20 tuần tuổi

1, 6, 19. Màng ối
2, 7. Cuống liên kết
3. Đĩa mầm hai lớp
4, 8, 14. Túi noãn hoàn
5. Màng đệm
9, 11. Xoang màng đệm
10, 16. Màng nhùng
12, 15. Xoang ối
13, 17. Dây rốn 18. Túi noãn hoàn thừa
20. Màng nhùng trỡn

và dài ra để thành các mạch máu. Quá trình này tạo nên một mạng lưới phức tạp các mạch máu ở vùng quanh phôi và người ta thường gọi là vùng mạch máu. Trong vòng ngày phát triển đầu tiên, trong phôi bì, ở hai bên đầu mút phía trước của dải nguyên thủy có hai cụm trung bì được tạo nên. Thực nghiệm đã chứng tỏ rằng, đó là hai mầm trung bì của tim. Trong vòng 24 giờ đầu tiên, cơ tim đoán trước đã có những tính chất hóa sinh đặc hiệu và đã có khả năng tự biệt hóa. Các vùng trung bì từ hai bên có thể biệt hóa thành cơ tim co rút. Sự tạo các nếp ngoại bì và nội bì trong quá trình tạo ruột trước của phôi làm cho hai mầm tim hợp làm một theo đường giữa và tạo nên một ống chính giữa có hai thành. Màng trong tim cấu tạo từ nội mô điển hình, tạo nên lớp lót tim. Từ lá tạng của tấm bên, bên ngoài màng trong tim, xuất hiện màng bao - cơ tim. Nó tạo nên lớp cơ tim dày là cơ tim và một lớp mỏng phủ bên ngoài không có cơ đó là màng ngoài tim.

Chương 9

Cơ chế của sự phát triển

I. Sự biệt hóa tế bào

Trong chu kỳ sống, một cá thể phát triển từ trứng thụ tinh cơ thể trưởng thành. Số lượng tế bào trong cơ thể có thể từ hàng trăm như ở loài *Caenorhabditis elegans* cho đến hàng chục tỉ ở các loài động vật có xương sống lớn. Trong mỗi cơ thể có nhiều loại tế bào khác nhau. Mỗi loại tế bào được xác định bởi đặc điểm hình thái và đặc điểm phân tử của chúng và cũng có thể được bảo vệ bằng kháng thể và các phản ứng tế bào. Phần lớn các tế bào được tạo nên như tế bào thần kinh hay tế bào cơ đều đạt đến mức độ thành thực và chuyên hóa vào giai đoạn cuối của sự phát triển. Giai đoạn sinh vật xuất hiện các loại tế bào thành thực khác nhau được gọi là tình trạng biệt hóa. Quá trình dẫn đến tình trạng này được gọi là sự biệt hóa tế bào. Quá trình này bắt đầu xảy ra khi có sự phát sinh mô, khi mô sẵn sàng đảm nhận chức năng riêng ở giai đoạn ấu trùng hay giai đoạn trưởng thành. Các công trình nghiên cứu gần đây cho thấy nhiều cơ chế phân tử đưa đến sự biệt hóa tế bào. Các cơ chế này cung cấp cơ sở cho những hiểu biết hai đặc tính cổ điển của sự biệt hóa tế bào là số lượng giới hạn của giai đoạn biệt hóa tế bào và tính ổn định tương đối của chúng.

1. Nguyên lý của sự biệt hóa tế bào

Các nhà nghiên cứu về sinh học phát triển trong một thời gian dài đã nghiên cứu các loại tế bào đã biến đổi như thế nào để đạt đến tình trạng biệt hóa. Đặc điểm chung của quá trình này đã được tóm tắt trong nguyên lý biệt hóa tế bào. Nguyên lý này cho rằng các sinh vật đa bào phát triển cho ra nhiều loại tế bào khác nhau và các tế bào đó đạt đến trạng thái ổn định khi chúng đã thành thực. Nguyên lý này nghiệm đúng đối với tất cả các sinh vật đa bào và cơ sở của sự phát triển.

1.1 Mỗi sinh vật có số lượng giới hạn đối với từng loại tế bào:

Số lượng các loại tế bào ít hơn tổng số tế bào của cơ thể. Chẳng hạn, dạng sống cố định của thủy tức nước ngọt có một vạn tế bào nhưng chỉ có bảy loại tế bào. Người và các động vật có xương sống lớn có tỉ tỉ tế bào nhưng chỉ có 200 loại tế bào. Các loại tế bào của động vật có xương sống bao gồm các tế bào biểu bì, tế bào thần kinh, tế bào máu, tế bào cơ,... Mỗi loại tế bào này lại phân ra thành các loại tế bào khác. Ví dụ tế bào cơ gồm sợi cơ xương, tế bào cơ tim, tế bào cơ trơn và tế bào biểu bì cơ. Sợi cơ xương lại chia ra các sợi đỏ, sợi trắng, sợi trung gian,...

Mỗi loại tế bào lại phân biệt nhau về cấu tạo và chức năng. Mỗi loại tế bào đều hoàn toàn khác biệt nhau, không có dạng trung gian. Tên gọi của một vài tế bào như tế bào biểu mô cơ gợi lên tính chất trung gian. Tuy nhiên,

tế bào biểu mô cơ là những tế bào phân nhánh mang các sợi cơ bao quanh các tế bào tuyến. Như vậy, tế bào biểu mô cơ là một loại tế bào riêng lẻ, không mang tính chất trung gian giữa tế bào cơ và tế bào biểu bì. Tính chất trung gian chỉ tồn tại trong quá trình phát triển. Chúng dần dần biến đổi và khi đạt đến tình trạng thành thực thì chúng sẽ trở thành các tế bào chuyên biệt.

1.2 Sự ổn định của trạng thái biệt hóa:

Phần lớn các tế bào biệt hóa không chuyển đổi thành loại tế bào khác khi phát triển bình thường. Tế bào xương không trở thành tế bào cơ và tế bào cơ không trở thành tế bào biểu bì. Trong điều kiện thực nghiệm, người ta có thể quan sát sự ngoại lệ của quy luật này. Chẳng hạn, một tế bào thực vật đã biệt hóa được phân lập có thể tạo ra toàn bộ tế bào mới với tất cả các tế bào được biệt hóa mang các đặc điểm của loài. Mống mắt của kỳ giông có thể trở thành nhân mắt. Đặc biệt sự tái tạo gây ra các pha của sự biệt hóa, khi đó các tế bào mất đi tính chất biệt hóa và gia tăng nhanh chóng về số lượng trước khi chúng biệt hóa trở lại theo cách mới. Cuối cùng nhiều tế bào như tế bào nang trứng của côn trùng cho thấy sự đa hình liên tục. Các tế bào này có cấu trúc và chức năng khác nhau ở các giai đoạn kế tiếp của sự phát triển. Tuy nhiên, tất cả đó chỉ là những trường hợp ngoại lệ không theo quy luật chung.

1.2 Sự biệt hóa tế bào diễn ra từng bước và tùy thuộc vào các tế bào khác:

Sự biệt hóa tế bào diễn ra từng bước và có thể bắt đầu trong phát triển phôi sớm. Vào giai đoạn phôi dậu của phôi động vật có vú, các tế bào bên ngoài phân cực và tạo nên sự liên kết nhẹ, trong khi đó các tế bào bên trong không phân cực và có liên kết mạnh.

Khái niệm các loại tế bào có liên quan đến cấu trúc cuối cùng của tế bào bất kể chúng ở vị trí nào trong cơ thể. Chẳng hạn, một số loại tế bào cơ xương ở đầu, thân, cánh tay và đùi. Như vậy, hai tế bào có thể cùng loại nhưng có lịch sử phát triển khác nhau. Các tế bào có thể cùng đạt đến một trạng thái biệt hóa theo các cơ chế khác nhau của sự biệt hóa tế bào. Ví dụ: cùng là tế bào cơ đuôi của giun tròn sinh ra từ tế bào cơ nguyên thủy chứa cơ tương hay từ các tế bào cơ thứ cấp không có cơ tương.

Nhiều tế bào đã được chuyên hóa cao và tùy thuộc vào các tế bào khác nhờ sự hỗ trợ của chúng và phát triển đồng thời. Chẳng hạn như tế bào thần kinh trong hệ thần kinh trung ương lệ thuộc nhiều vào hệ tiêu hóa và hô hấp về mặt dinh dưỡng và trao đổi khí.

2. Quyết định và biệt hóa ở giai đoạn phát triển phôi sớm

Người ta có thể làm các thí nghiệm làm sai lệch quá trình phát triển để xem khả năng điều chỉnh của phôi, tức là để tìm hiểu thời điểm xảy ra quyết định. Ở giai đoạn chưa phân cắt, người ta hút bớt hoặc cắt bớt đi một phần tế

bào chất. Ở giai đoạn phân cắt, người ta có thể tách riêng các phôi bào, phối hợp các phôi bào từ các vị trí khác nhau. Tùy theo khả năng tự điều chỉnh như vậy, W. Roux phân biệt hai loại trứng: trứng điều hòa và trứng khảm. Trứng điều hòa là loại trứng có khả năng điều chỉnh cao, còn trứng khảm gồm các khu vực tế bào chất đã có số phận chắc chắn, không thay đổi được hướng phát triển, do đó không có khả năng điều chỉnh.

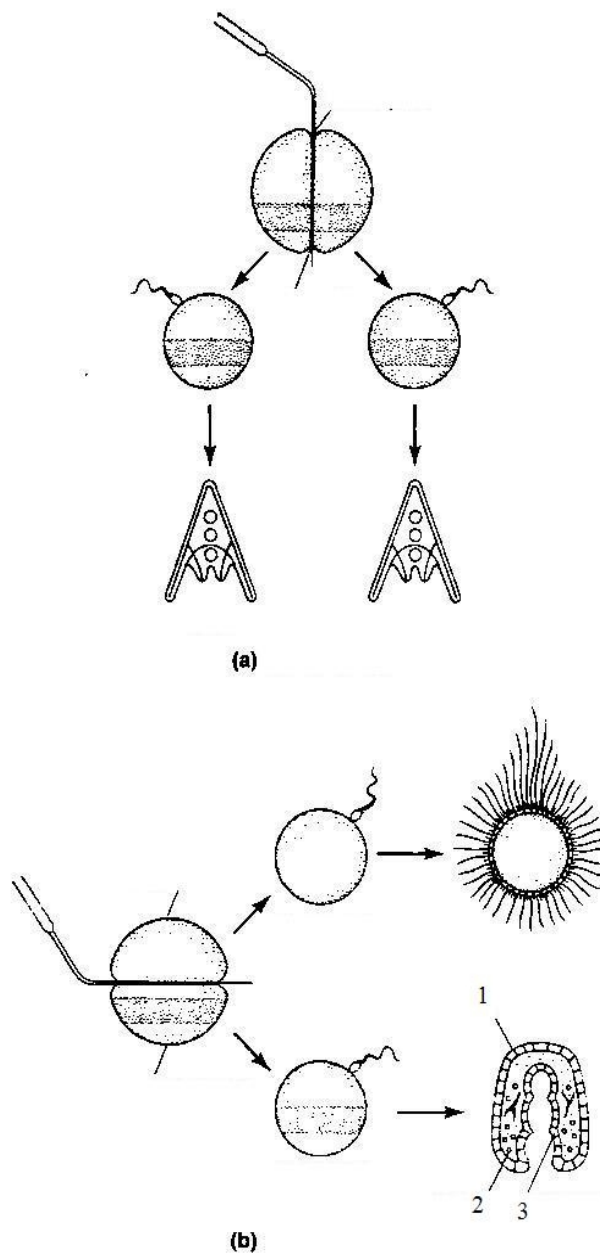
Trứng có khả năng điều chỉnh cao nhất là trứng thủy tức *Aegineta*. Mỗi một phôi bào ở giai đoạn 32 phôi bào khi tách riêng đều có thể phát triển thành một cơ thể bình thường.

Thí nghiệm rõ ràng nhất về vấn đề này đã được thực hiện trên trứng cầu gai (H 9.1). Bằng một kim thủy tinh rất mảnh, người ta cắt trứng cầu gai chứa thụ tinh ra làm hai phần tương ứng với hai nửa động vật và thực vật của trứng. Sau đó tiến hành thụ tinh cho mỗi nửa trứng. Kết quả là nửa động vật phân cắt và phát triển thành phôi nang vĩnh viễn. Nửa thực vật cũng phân cắt và tạo ấu thể có đường tiêu hóa cấu tạo từ các nội bì, một số ngoại bì và khung xương do các trung bì tạo nên. Ngoại bì có các lông rung bao phủ, nhưng ấu thể không phát triển qua được giai đoạn trưởng thành. Cả hai dạng đều không có khả năng sống. Mỗi dạng đều thiếu một cấu trúc nào đó. Có điều rất thú vị là vị trí của nhân trong trứng không ảnh hưởng gì tới kết quả của phẫu thuật. Nhân có thể nằm ở nửa động vật hoặc thực vật.

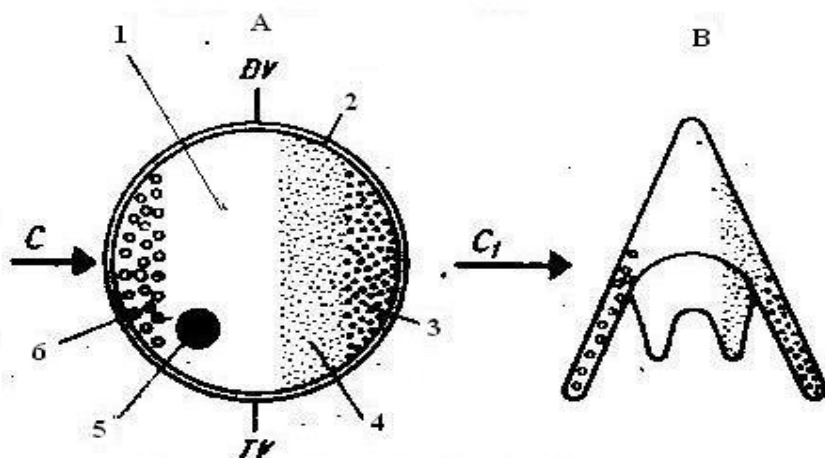
Trong thí nghiệm thứ hai, người ta cắt trứng theo mặt phẳng đi qua trục động - thực vật để cho hai nửa trứng có đầy đủ cả hai phần này rồi cho thụ tinh. Kết quả hai nửa trứng cho ra hai phôi nguyên vẹn.

Những kết quả của thí nghiệm này khẳng định các dẫn liệu về vai trò của đai sắc tố trong sự phát triển của trứng nguyên vẹn và chỉ rõ rằng từ nửa động vật tạo nên ngoại bì; từ nửa thực vật tạo nên chủ yếu trung bì, nội bì và một ít ngoại bì.

Do những dẫn liệu nêu trên mà nảy sinh thắc mắc là sự tổ chức có liên quan với sự tạo thành ba lá phôi được thiết lập trong trứng như thế nào và những phần nào của trứng chịu trách nhiệm về sự tổ chức này. Để tìm hiểu vấn đề người ta đã ly tâm trứng với tốc độ lớn. Khi đó trứng sẽ bị xáo trộn lớn: các thành phần khác nhau trong trứng sẽ được sắp xếp thành từng lớp tùy tỷ trọng của chúng. Nhờ ly tâm có thể thay đổi vị trí ban đầu của đa số thành phần hiển vi của trứng. Nếu thực các phần này chịu trách nhiệm về sự tổ chức của trứng thì từ trứng đã ly tâm sẽ thu được một ấu thể quái hình. Trên thực tế, trứng cầu gai đã bị ly tâm mạnh, sau khi thụ tinh đã phát triển thành ấu trùng hoàn toàn bình thường. Như vậy, sự tổ chức của trứng, có lẽ phụ thuộc vào một cấu trúc tinh vi hơn nào đó của chất tế bào mà không bị ly tâm phá hủy (H 9.2).



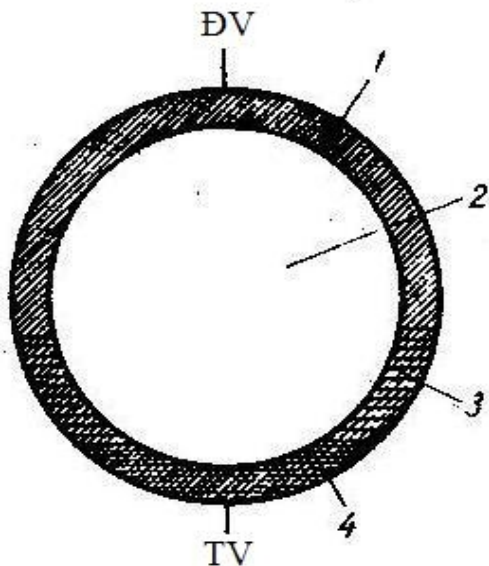
Hình 9.1 Thí nghiệm tách trứng câu gai (Theo W. B. Charles, 1978)
 (a) Cắt theo mặt phẳng kinh tuyến (b) Cắt theo mặt phẳng vĩ tuyến
 1. Ngoại bì 2. Trung bì 3. Nội bì



Hình 9.2 Thí nghiệm ly tâm trứng cầu gai (Theo W. B. Charles, 1978)

A. Phôi đã ly tâm B. Phôi phát triển sau khi ly tâm

1. Chất tế bào trong suốt 2. Lớp vỏ 3. Sắc tố 4. Các hạt 5. Nhân 6. Các lipid



Hình 9.3 Giả thiết về sự tập trung nội bì, ngoại bì và trung bì trong vỏ trứng cầu gai (Theo W. B. Charles, 1978)

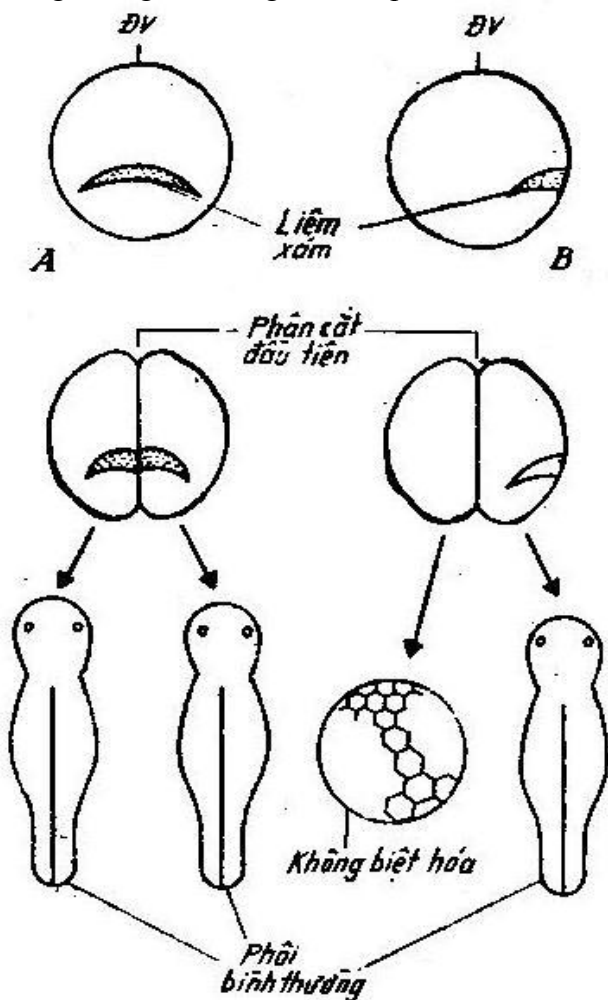
1. Ngoại bì 2. Chất nội bào 3. Nội bì 4. Trung bì

Ngày càng có nhiều dẫn liệu chứng tỏ lớp vỏ chịu trách nhiệm về sự tổ chức của trứng.

Lớp này cấu tạo bởi các chất tương đối đặc, có độ nhớt cao vì vậy chúng không bị hư hại. Giả thuyết được nêu ra là lớp vỏ chịu trách nhiệm về sự tổ chức của trứng và phân bố các chất tiền thân của ba lá phôi. Từ đó người ta có thể hình dung một sơ đồ sau: lớp ngoài của cực động vật chứa các yếu tố chịu trách nhiệm về việc tạo ngoại bì; ở vùng ngay dưới xích đạo của trứng, lớp vỏ chứa các yếu tố đảm bảo việc tạo nội bì còn ở cực thực vật lớp sinh chất vỏ quyết định việc tạo trung bì (H 9.3).

Các thí nghiệm trên chứng tỏ sự quyết định và biệt hóa đã diễn ra trong các giai đoạn đầu của phát triển phôi. Điều này còn được khẳng định thêm trong thí nghiệm khác trên trứng ếch ở giai đoạn mới hình thành liềm xám - một cấu trúc xuất hiện 30 phút sau khi thụ tinh ở vị trí đối diện với nơi xâm nhập của tinh trùng.

Các thí nghiệm của Roux và Spemann lần đầu tiên đã phát hiện vai trò của liềm xám trong sự phát triển của lưỡng cư. Điều đó thể hiện rõ từ kết quả của thí nghiệm tách rời trứng thành hai nửa. Nếu mặt phẳng đi qua liềm xám thì mỗi trong số hai phôi bào chứa hai nửa liềm xám và mỗi nửa sẽ phát triển thành phôi nguyên vẹn. Nếu đường cắt không đi qua liềm xám thì chỉ có một nửa chứa liềm xám còn nửa kia thì không. Kết quả chỉ có nửa có liềm xám cho ra phôi bình thường, còn nửa kia không có liềm xám thì chỉ tạo nên một bọc ngoài bì chứa nội bì và không biệt hóa. Cũng thu được kết quả tương tự nếu dùng phẫu thuật lấy đi liềm xám thì trứng sẽ có phân cắt nhưng không đạt đến giai đoạn phôi vị.



Hình 9.4 Thí nghiệm tách đôi trứng ếch giai đoạn liềm xám (Theo W. B. Charles, 1978)

A.Nhìn trên B.Nhìn bên

Những thí nghiệm gần đây cho thấy các hoạt tính sinh lý của liềm xám tập trung ở lớp vỏ của liềm xám. Lấy đi lớp vỏ từ vùng liềm xám của trứng *Xenopus* đã thụ tinh không ảnh hưởng tới phân cắt nhưng tạo phôi vị không xây ra được. Tầm quan trọng của nguyên liệu vỏ này biểu hiện còn rõ rệt hơn, nếu lấy lớp vỏ từ trứng *Xenopus* đã thụ tinh và chứa phân cắt đem ghép lên phía đối

lập của trứng khác thì trứng được ghép này tạo nên hai liềm xám và phát triển nên hai hệ thần kinh trung ương. Như vậy, những yếu tố cần thiết cho sự tạo phôi vị và phát triển phôi bình thường tập trung ở lớp tế bào chất vỏ của vùng liềm xám hoặc gần đó.

Đối với động vật có vú, các thí nghiệm tách 2 hay 4 phôi bào cũng cho thấy khả năng điều chỉnh hoàn toàn ở giai đoạn này. Thậm chí có thể ghép 2, 3 hay 4 phôi bào làm một và phôi hỗn hợp này vẫn cho một cá thể bình thường.

Thuộc loại trứng khảm là trứng của hải tiêu, sứa lược, giun tròn và các dạng phân cắt xoắn. Ở các loài nói trên, các phôi bào tách riêng chỉ cho những cấu trúc mà trong phôi bình thường chúng vẫn cho. Ví dụ như hải tiêu, sau khi thụ tinh đã có thể đã có thể phân biệt các trục đầu-đuôi và phải-trái. Một trong bốn phôi bào tách riêng sẽ chỉ cho 1/4 cơ thể, nửa đầu phải, nửa đầu trái, nửa đuôi phải hoặc nửa đuôi trái.

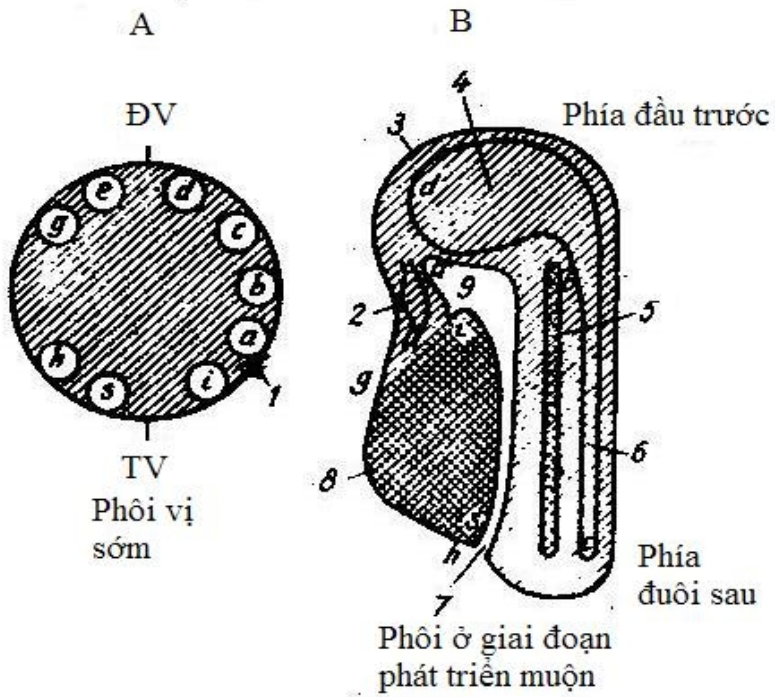
Các ví dụ trình bày trên cho thấy sự phân biệt hai loại trứng điều hòa và trứng khảm chỉ là tương đối, tùy thuộc bắt đầu sự quyết định. Sự quyết định sớm nhất là theo hai hướng: động vật cho ngoại bì và thực vật cho nội bì, hướng thứ ba là trung bì xuất hiện muộn hơn một chút. Sự quyết định ở các trứng khảm lại sớm hơn.

Về cơ chế, sự phân hai vùng động, thực vật có giả thuyết của C. M. Child (1936). Ông cho rằng sự xác định hai cực động vật, thực vật do đặc tính phân bố mạch máu xung quanh nang trứng gây nên. Phần máu ở gần gốc mạch nhiều oxi hơn sẽ cho ra phần động vật, phần thực vật sẽ hình thành ở phần mạch xa hơn và ít oxi hơn.

3. Giá trị đoán trước của các khu vực trên phôi sớm- Bản đồ phôi

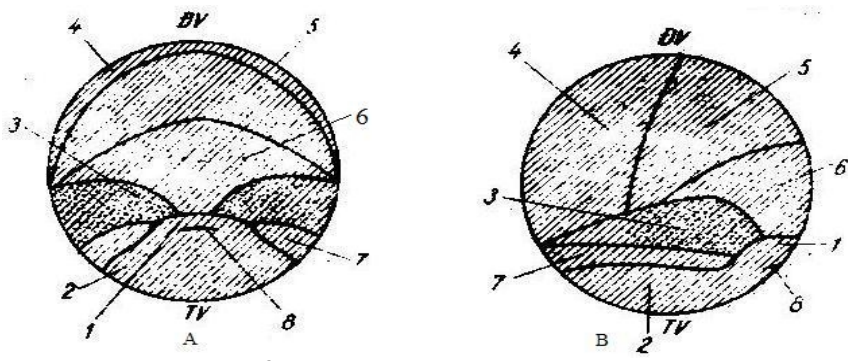
Bằng cách nhuộm sống hoặc dùng chất đông vị phóng xạ chúng ta có thể đánh dấu các phôi bào và theo dõi số phận của chúng trong quá trình phát triển. Vị trí của khu vực nhuộm cho biết rằng môi trường của phôi khẫu được tạo thành từ chính liềm xám khi từ phôi vị hình thành nên phôi. Nguyên liệu liềm xám nằm ở khu vực đầu của nội bì tạo nên nóc ruột nguyên thủy. Các khu vực đánh dấu khác như khu vực a nằm ngay trên môi trường của phôi khẫu tạo nên nội bì đầu; từ khu vực b tạo nên dây sống; khu vực c phát triển thành đoạn sau của hệ thần kinh; khu vực d nằm gần cực động vật tạo nên phần lớn não bộ; còn từ phần e, g, h, i phát triển thành biểu bì thuộc các phần khác nhau của cơ thể và ruột sau. (H 9.5)

Bằng cách như thế, người ta có thể tìm hiểu số phận của tất cả các khu vực trên phôi và biết được giá trị tương lai của chúng. Căn cứ vào các kết quả này người ta đã vẽ được một bản đồ các giá trị đoán trước của phôi lưỡng cư gọi là bản đồ phôi. (H 9.6)



Hình 9.5 Giá trị đoán trước của các khu vực trên phôi
(Theo W. B. Charles, 1978)

A.Phôi vị sớm B.Phôi ở giai đoạn đã xác định cấu trúc
1.Môi lưng của phôi khẫu 2.Tim 3.Biểu bì đầu 4.Não bộ 5.Dây sống 6.Tủy sống
7.Lỗ ruột 8.Biểu bì bụng 9.Xoang ruột



Hình 9.6 Bản đồ phôi (Theo W. B. Charles, 1978)

1.Nội bì đầu 2.Nội bì 3.Thể tiết 4.Biểu bì 5.Tấm thần kinh 6.Dây sống 7.Trung bì bên 8. Môi lưng của phôi khẫu

II. Sự tương tác giữa nhân và tế bào chất trong phát triển

Sự kết hợp tế bào sinh dục của hai cá thể bố mẹ đưa tới việc tạo thành thế hệ con có những dấu hiệu của hai bố mẹ. Vì tinh trùng chỉ đóng góp nhân, nên chắc là nguyên liệu di truyền của nó có sự tương tác với các thành phần tế bào chất của trứng để tạo nên cá thể trưởng thành.

Phân tích vai trò của nhân và tế bào chất và mối tương tác giữa chúng là hướng chủ yếu nhưng không phải là duy nhất của những nghiên cứu hiện nay. Đặc trưng cho những nghiên cứu này là tiến hành thí nghiệm trên các tế bào sinh dục sống hoặc phôi sống. Spemann thắt trứng thụ tinh của con *Triton* và tách nó làm hai nửa, một nửa có chứa nhân, phân cắt chỉ xảy ra ở nửa có nhân và phát triển thành một cá thể nguyên vẹn.

1. Vai trò của nhân

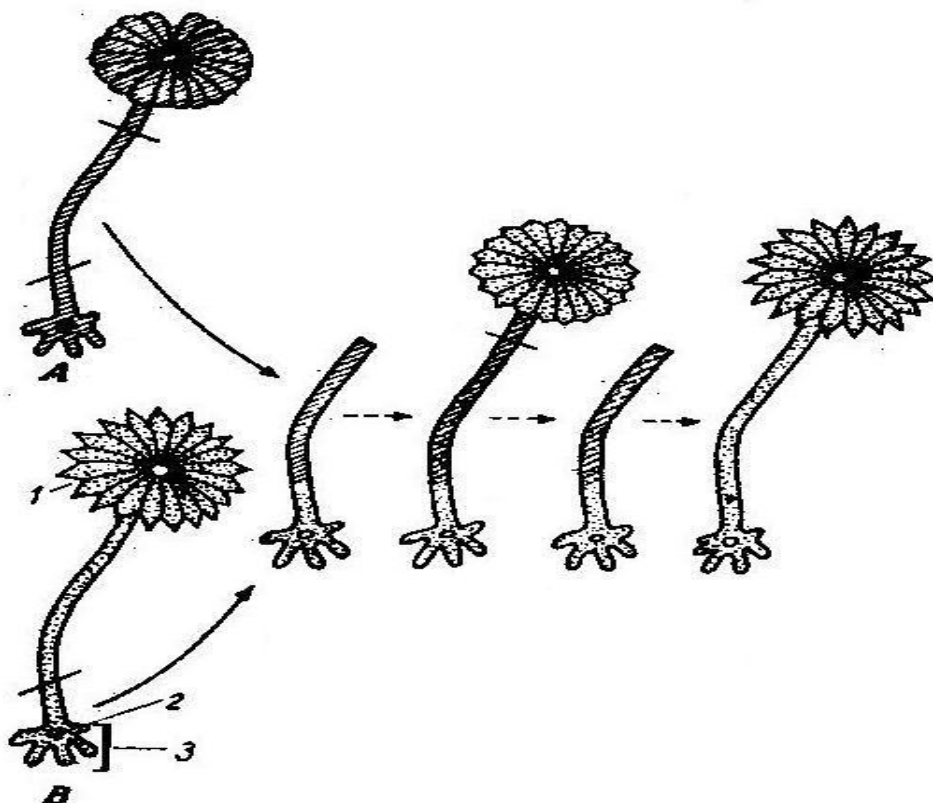
Cả nhân lẫn tế bào chất đều cần thiết cho phát triển. Hoạt động chức năng của tế bào chất bị hạn chế khi không có nhân. Điều đó đã được chứng minh bằng thực nghiệm khi làm mất nhân và cấy nhân ở amip. Amip mất nhân có thể sống được đến hai tuần, nhưng hoạt động sống của nó yếu đi chút ít và cuối cùng thì chết. Nếu trong vòng mấy ngày đầu lại được cấy nhân trở lại thì nó phục hồi hoạt động sống bình thường. Những dẫn liệu này chứng tỏ nhân cần thiết để duy trì hoạt động sống bình thường của tế bào đã thành thực.

Có thể tiến hành những thí nghiệm tương tự trên trứng đang phát triển. Các thí nghiệm trên trứng lưỡng cư cho thấy khi không có nhân sự phân cắt sẽ diễn ra không điển hình và có thể phát triển thành những phôi nang không hoàn toàn, không biệt hóa, sau đó thì chết. Tất cả những thí nghiệm trên trứng không nhân xác nhận một điều tổng quát rằng muốn cho các quá trình tổng hợp, phân chia và biệt hóa thực hiện được trong phôi đang phát triển thì cần thiết phải có nhân.

2. Nhân và quá trình tạo hình

Các thí nghiệm kinh điển của Hammerling với loài tảo đơn bào *Acetabularia* đã chỉ rõ mối liên hệ trực tiếp giữa nhân và quá trình tạo hình. Tế bào tảo đã hoàn toàn phát triển gồm có một mũ lớn, thân và rễ gốc hay rễ giả. Nhân nằm trong rễ giả và loài tảo này có khả năng tái sinh thân và mũ. Nhân cần thiết cho sự tái sinh mũ. Thân không nhân có thể tái sinh mũ mới chỉ một lần và sau vài tháng thì tế bào chết. Tuy nhiên, các khúc thân chứa nhân có thể tái sinh mũ mới.

Những nghiên cứu trên *Acetabularia* còn phát hiện một khía cạnh nữa của hoạt động nhân. Đó là giám sát hình dạng đặc hiệu của mũ. Ví dụ: nếu đem rễ giả chứa nhân của một loài B ghép vào thân của một loài khác (A), thì có thể phát hiện hoạt động tạo hình của nhân bằng cách cắt mũ đi và theo



Hình 9.7 Thí nghiệm chứng minh vai trò của nhân ở tảo *Acetabularia*
(Theo W. B. Charles, 1978)

1. Mũ 2. Thân 3. Rễ giả

đôi tái sinh. Mũ tái sinh thứ nhất, có hình dạng trung gian giữa các dạng của loài A và B. Nhưng các mũ tiếp sau đặc trưng cho loài B.

Những thí nghiệm này cho phép kết luận rằng: Nhân kiểm soát hoạt tính tạo hình ở *Acetabularia* có lẽ bằng cách tổng hợp các chất đặc hiệu xác định đặc điểm của mũ tái sinh.

3. Vai trò của thể nhiễm sắc

Ảnh hưởng của những thể nhiễm sắc lạ lên phát triển trứng của động vật có xương sống được nghiên cứu đầy đủ trên lưỡng cư. Chúng ta có thể thu được những cá thể lai lưỡng bội giữa hai loài khác nhau. Ví dụ: *Triturus taeniatus* x *Triturus cristatus* hoặc *Rana pipiens* x *Rana sylvatica*. Tuy nhiên, ngoài những trường hợp lai xa nói trên, nếu đưa thể nhiễm sắc lạ vào thì sẽ gây nên những tác động khác nhau, từ hoàn toàn không có hiệu quả đến chết phôi ở giai đoạn phôi nang hoặc phôi vị sớm.

Những phôi chỉ chứa một nửa bộ thể nhiễm sắc bình thường (phôi đơn bội) đạt tới những giai đoạn phát triển muộn hơn so với các phôi lưỡng bội.

Thừa bộ thể nhiễm sắc cũng đưa đến những kết quả khác nhau. Người ta đã mô tả sự phát triển bình thường của phôi tam bội, tứ bội, ngũ bội và thấy rằng thể đa bội cân bằng không làm rối loạn phát triển phôi. Tuy nhiên, ở phôi, thể đa bội không cân bằng (lệch bội) mà nhân của chúng chứa những số lượng thể nhiễm sắc không phải là bội số của số thể nhiễm sắc bình thường trong bộ gen thì sẽ có sự rối loạn phát triển. Ví dụ về rối loạn kiểu đó có thể thấy ở bệnh Đào ở người.

Sự biểu hiện của các gen đột biến cũng chứng tỏ vai trò quan trọng của nguyên liệu di truyền trong phát triển. Bất kỳ bộ phận nào cũng thể bị thay đổi dưới ảnh hưởng của các gen đột biến. Ví dụ phôi gà không cánh ở giai đoạn phát triển muộn. Khi mới phát triển, chồi cánh ở phôi này có tạo nên, nhưng sau đó lớp biểu bì bên ngoài thoái hóa đi, do lớp này điều khiển tạo hình và tăng trưởng của lớp trung bì bên trong nên sự phát triển cánh bị ngừng lại và không tiếp tục được nữa. Trong trường hợp này, gen đột biến mang trách nhiệm ức chế quá trình cảm ứng trong tổ hợp ngoại bì-trung bì của gà.

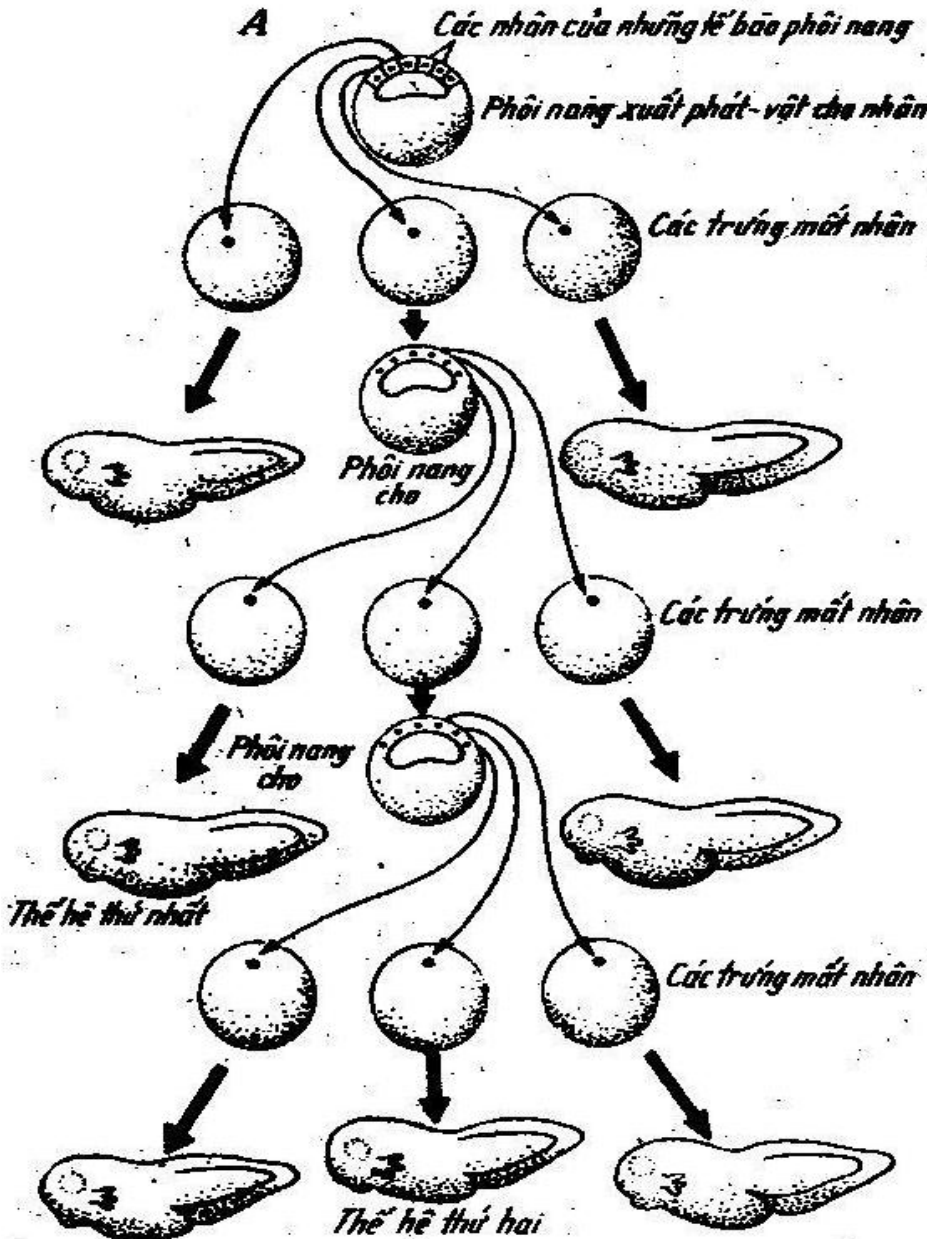
4. Tính bền vững của cơ cấu nhân

Cây nhân ở tế bào xoma có thể dùng làm một trong những phương pháp phát hiện những thay đổi về hoạt động gen trong những tế bào xoma và đánh giá sự bền vững của cơ cấu nhân. Những thay đổi tính chất của nhân trong quá trình phát triển đã được R. Brigg và T. King thực nghiệm cấy nhân của tế bào phôi ếch ở giai đoạn phát triển muộn vào trứng đã bị mất nhân và đã được hoạt hóa bằng cách châm kim. Nếu dùng nhân của những tế bào cực động vật ở giai đoạn phôi nang muộn thì 40-80% trứng được cấy bắt đầu phân cắt bình thường và đa số đạt tới giai đoạn ấu thể, đôi khi tới các giai đoạn muộn hơn. Những thí nghiệm này cho thấy ở giai đoạn phôi nang muộn, nhân không có những biến đổi đáng kể so với nhân của những giai đoạn phát triển đầu tiên.

Người ta cũng tiến hành những thí nghiệm như thế với các nhân lấy từ các khu vực khác nhau của phôi ở giai đoạn phôi vị sớm. Nhân để cấy được lấy từ các phần sau đây của phôi: bán cầu động vật, môi lưng của phôi khẩu, nội bì. Kết quả cho thấy giữa các nhân lấy từ những khu vực khác nhau của phôi vị không có những sai khác rõ rệt. Điều đó chứng tỏ các nhân của phôi ở giai đoạn phôi vị sớm có giá trị như nhau.

Những thí nghiệm cấy hàng loạt nhân cũng chỉ ra sự hạn chế lũy tiến khả năng của nhân các tế bào nội bì, khả năng bảo đảm sự biệt hóa phối hợp của các phần của phôi cần thiết cho sự phát triển bình thường. Nếu các nhân lấy từ tế bào phôi nang đem cấy vào trứng mất nhân. Các trứng này phát triển thành những phôi nang. Một trong số phôi nang này được dùng làm nguồn nhân cho loạt cấy tiếp theo vào các trứng mất nhân khác thì những phôi nang

tiếp tục phát triển thành phôi. Như vậy, tất cả các phôi thu được trong thí nghiệm đều là con cháu của một nhân đầu tiên. Phân tích các phôi này cho ta khái niệm về tính bền vững của nhân.



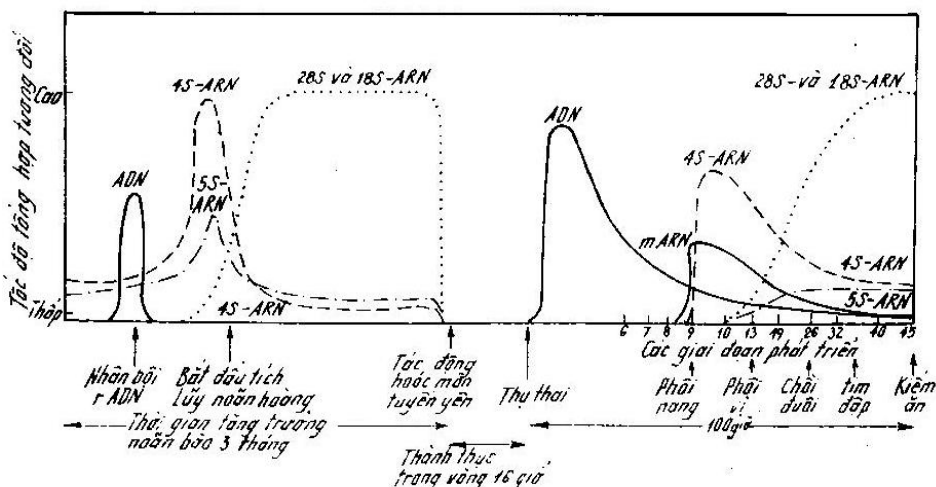
Hình 9.8 Sơ đồ thí nghiệm cấy nhân của phôi nang chưa biệt hóa
(Theo W. B. Charles, 1978)

III. Hoạt động tái bản và phiên mã trong sự phát triển

Sau khi thụ tinh, sự tái bản ADN và phân bào xảy ra liên tiếp. Ví dụ ở cá và lưỡng cư, chu kỳ tế bào chiếm khoảng 30 phút. Sự tổng hợp ADN, tức là pha S chiếm 15 phút. Như vậy chu kỳ tế bào chỉ gồm có hai pha là S và M, đồng nghĩa với việc chỉ có tổng hợp ADN và phân chia, không có các pha chuẩn bị G_1 và G_2 . Tóm lại trong suốt giai đoạn phân cắt không có hoạt động phiên mã. Người ta thấy có một sự liên hệ giữa kích thước trứng và thời điểm bắt đầu hoạt động gen. Trứng càng lớn có nghĩa là lượng chất dự trữ càng lớn thì hoạt động gen bắt đầu càng muộn. Ở các trứng nhỏ dưới 200 micromet như ở động vật có vú, sự tổng hợp ARN bắt đầu rất sớm, ngay từ giai đoạn hai đến bốn phân bào.

Chúng ta có thể xem động thái của quá trình tổng hợp ADN và ARN trong tạo noãn và trong phát triển phôi sớm ở lưỡng cư. Trong thời kỳ đầu của tạo noãn ADN được tổng hợp mạnh trong thời gian ngắn và không được tổng hợp trong suốt thời kỳ còn lại kể cả thời kỳ thành thực. Sau khi thụ tinh, ở giai đoạn phân cắt, ADN lại được tổng hợp với tốc độ rất cao. Tốc độ đó giảm dần theo sự gia tăng của tương quan nhân/tế bào chất và ổn định vào giai đoạn phôi nang.

Trong giai đoạn tạo noãn sau thời kỳ tổng hợp ADN, tốc độ tổng hợp ARN cũng tăng lên cao nhưng không giống nhau trong từng loại ARN. Rất đặc biệt là trong gần suốt quá trình phân cắt không có hoạt động phiên mã các gen (biểu hiện bằng sự tổng hợp mARN). Vào cuối giai đoạn phân cắt mới bắt đầu có sự hoạt hóa làm cho tốc độ tổng hợp mARN tăng lên và tốc độ này cũng không giống nhau ở các loại ARN khác nhau.



Hình 9.9 Tốc độ tổng hợp tương đối các axit nucleic trong phát triển ếch (Theo Nguyễn Mộng Hùng, 1993)

IV. Lý thuyết về tế bào gốc trong phát triển

Trong cơ thể con vật trưởng thành có một số loại tế bào hoàn toàn không phân chia, ví dụ như tế bào thần kinh. Một số khác thì luôn luôn tạo ra các tế bào mới để thay thế cho những tế bào bị già và chết như tế bào biểu bì hoặc tế bào máu... Việc duy trì tính ổn định số lượng các tế bào này là do sự phân chia các tế bào ít biệt hóa luôn có trong mô. Từ các tế bào này chúng sẽ phân chia cho ra nhiều thể hệ khác nhau. Do đó tế bào này được gọi là tế bào gốc. Ví dụ như biểu bì: Các tế bào gốc luôn luôn nằm ở lớp đáy. Một tế bào gốc phân chia vài lần và tạo một nhóm từ tám đến mười tế bào. Một trong số tế bào này vẫn ở lại ở lớp đáy và vẫn là tế bào gốc, các tế bào khác chuyển dần lên phía trên, tích lũy keratin và hóa sừng.

Người ta có thể sử dụng các tế bào gốc để tạo ra một loạt các tế bào khác qua nhiều lần phân chia. Ví dụ có thể lấy tế bào tủy xương làm tế bào gốc để tạo ra các loại tế bào máu khác nhau ở chuột. Ngày nay, người ta đã tìm ra một số phương pháp để dự đoán khá chính xác số tế bào gốc đầu tiên, khi chúng được quyết định theo một hướng xác định. Ví dụ như để hình thành tế bào máu.

Có thể nuôi *in vitro* các phôi động vật có vú ở giai đoạn phân cắt. Sau khi tiêu hủy màng sáng bao quanh phôi có thể hỗn hợp hai, ba phôi làm một. Từ khối tế bào hỗn hợp này sẽ phát triển thành một phôi và sau khi đưa vào tử cung sẽ phát triển thành một con chuột hỗn hợp. Những cơ thể như vậy được gọi là những cơ thể khảm hay *Chimera*. Ví dụ: ghép phôi của dòng chuột trắng với phôi của dòng chuột đen thì sẽ thu được một con chuột vằn, có các vạch đen trắng luân phiên nhau từ đầu tới đuôi. Người ta có thể giải thích hiện tượng này là do ở giai đoạn quyết định tạo màu sắc, có 34 tế bào gốc phân bố cách đều nhau dọc theo chiều dài cơ thể. Mỗi tế bào phát triển cho một màu vạch đặc trưng của chuột khảm.

V. Sự bền vững của trạng thái biệt hóa và di truyền siêu gen

Như ta đã biết, trong cơ thể có hàng trăm loại tế bào khác nhau phát triển từ một tế bào hợp tử. Khi các tế bào đã biệt hóa thì trạng thái biệt hóa này được duy trì lâu dài. Ví dụ tế bào thần kinh xuất hiện ở giai đoạn phát triển phôi sớm và các tế bào thần kinh giữ nguyên gần như không đổi trong suốt cuộc đời. Một ví dụ khác là các tế bào gan. Gan cũng biệt hóa như là một cơ quan ngay từ giai đoạn rất sớm. Chúng đã trải qua nhiều lần phân chia nhưng chúng vẫn là những tế bào gan.

Khi so sánh các tế bào đã biệt hóa khác nhau của cơ thể, người ta thấy mỗi loại tế bào đều có các sản phẩm protein đặc trưng (sản phẩm hoạt động gen) mà các tế bào khác không có. Như vậy, mỗi loại tế bào có một trạng thái hoạt động gen đặc trưng, trạng thái hoạt động gen đó rất ổn định và

được truyền từ thể hệ tế bào này sang thể hệ tế bào khác. Rõ ràng ở đây tồn tại một dạng di truyền khác gọi là di truyền siêu gen.

Có hai nhóm giả thuyết về di truyền siêu gen: nhóm giả thuyết thứ nhất nhấn mạnh vai trò của các chất chuyển hóa và nhóm giả thuyết thứ hai nhấn mạnh vai trò của các biến đổi của các cấu trúc ADN.

Nhóm các giả thuyết chuyển hóa cho rằng bản chất sự ổn định của biệt hóa là do tồn tại các chất chuyển hóa hoạt hóa một nhóm gen. Chất đó có thể là ARN hoặc protein. Theo giả thuyết này, trong tế bào xuất hiện một vòng kín: ARN thông tin phiên từ gen đặc biệt, ARN thông tin dịch ra protein, protein này hoạt hóa gen của chính nó và tất cả các gen đặc trưng cho kiểu biệt hóa này.

Nhóm giả thuyết về biến đổi cấu trúc ADN giả định rằng những biến đổi về cấu trúc của vật chất di truyền và những biến đổi này duy trì được qua tái bản và có thể truyền qua một loạt thế hệ tế bào. Những biến đổi của vật chất di truyền có thể là những biến đổi về cấu trúc bậc một hoặc là những biến đổi qua methyl hóa.

Trong cơ chế cấu trúc của di truyền siêu gen người ta cũng cho rằng những thay đổi về độ xoắn của các sợi ADN, về các cấu trúc khác nhau của nucleoxom, về sự sắp xếp khác nhau của ADN trong thể nhiễm sắc. Tuy nhiên hiện nay, các giả thuyết nói trên đều chưa được chứng minh một cách chắc chắn.

Tài liệu tham khảo

I. Tài liệu tiếng Việt

1. Nguyễn Tường Anh. 1996. Sinh học đại cương - Sự đa dạng, sự sinh sản và phát triển của động vật. NXB Đại học Khoa học tự nhiên Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh.
2. Charles W. B. 1978. Phôi sinh học hiện đại. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
3. Nguyễn Mộng Hùng. 1993. Bài giảng Sinh học phát triển. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
4. Mai Văn Hưng. 2003. Sinh học phát triển cá thể động vật. NXB Đại học Sư phạm Hà Nội, Hà Nội.

II. Tài liệu tiếng Anh

1. Barnes R.S.K. et al. 1999. The Invertebrates - A New Synthesis. Blackwell Science Ltd., London.
2. Cassier P. et al. 1997. La reproduction des invertébrés. Masson, Paris
3. Dorit R. et al. 1991. Zoology (Vol.2). Saunders College Publishing. New York.
4. Jurd R.D. 1998. Instant Notes in Animal Biology. BIOS Scientific Publisher Limited, Springer-Verlag.
5. Kalthoff K. 1996. Analysis of Biological Development. McGraw-Hill, INC., New York.
6. Kardong K.V. 1998. Vertebrates-Comparative Anatomy, Function, Evolution (Tom 1). McGraw-Hill, Boston.
7. Linzey D. 2001. Vertebrate-Biology (Tom 1). McGraw-Hill, Boston.
8. Pough F.H. 1999. Vertebrate Life. Prentice Hall, New Jersey.
9. Subramoniam T. 2002. Developmental Biology. Alpha Science, Madras.