

Е. С. РАЛЬНИКОВА

КРИТИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ РАЗВИТИЯ И РЕАКТИВНЫЕ ГРУППЫ БЕЛКОВЫХ ТЕЛ

(Представлено академиком А. И. Опариным 19 I 1954)

В эмбриональном развитии рыб и амфибий имеются периоды усиленного и ослабленного роста. Работами А. Н. Трифоновой и ее учеников установлено, что периоды ослабленного роста биологически характеризуются плохой приспособляемостью развивающегося эмбриона к изменяющимся условиям внешней среды. Поэтому они названы критическими периодами развития. Физиологически эмбрионы в критические периоды развития характеризуются сильным дыханием, сниженным анаэробным расщеплением и малым содержанием в цитоплазме нуклеопротеидов. В периоды интенсивного роста, наоборот, эмбрионы отличаются высокой стойкостью и хорошей приспособляемостью к действию внешних агентов. В стойкие периоды развития интенсивно идут анаэробные процессы расщепления, увеличивается содержание нуклеопротеидов⁽¹⁻¹²⁾.

Задачей данной работы является выяснить изменение количества сульфгидрильных групп в критические и стойкие периоды эмбрионального развития.

Исследования проводились на развивающейся икре рипуса *Coregonus albula infraspecies ladogensis* Pravdin из оз. Шарташ, Свердловской обл., и икре окуня *Perca fluviatilis*.

Сульфгидрильные группы определялись по ходу всего эмбрионального развития с начала дробления до роста сформировавшегося эмбриона. Развитие рипуса длится около 15 дней при температуре 4°. Для обнаружения сульфгидрильных групп применялся нитропруссидный метод, основанный на том, что в тканях с большим количеством сульфгидрильных групп красная окраска в нитропрussиде появляется уже после небольших сроков протравы в 5% уксуснокислом цинке. В тканях с меньшим количеством сульфгидрильных групп красная окраска той же яркости появляется после более продолжительных сроков протравы. В опытах с икрой рипуса мы производили для каждой стадии развития протраву в уксуснокислом цинке по 15, 30 и 60 сек. По интенсивности окрашивания при различных сроках протравы можно судить о содержании сульфгидрильных групп в тканях эмбриона (см. табл. 1). На основании проведенной нитропруссидной реакции на четырех сериях развивающейся икры рипуса можно дать характеристику изменения содержания сульфгидрильных групп по ходу эмбрионального развития.

На начальных стадиях дробления заметно увеличение количества сульфгидрильных групп (табл. 1). На стадии 2 бластомеров нитропруссидная реакция дает розовую окраску при протраве в течение 15 и 30 сек., тогда как при дальнейшем дроблении (морула крупных клеток) окраска становится яркокрасной уже при протраве в течение 30 сек. К концу дробления содержание сульфгидрильных групп резко снижается. Мы

видим полное отсутствие окраски при протраве в 15 сек. и появление лишь слабой розовой окраски при протраве в 30 сек.

Как только начинается гастрюляция, количество сульфгидрильных групп в ткани возрастает и остается высоким и в дальнейшем ходе гастрюляции, вплоть до начала формирования зародыша (яркокрасная окраска при протраве в 30 сек.).

Формирование эмбриона у рипуса начинается до закрытия бластопора. Развитие рипуса близко к развитию сига (¹³). Во время формирования эмбриона содержание сульфгидрильных групп вновь снижается, а сразу же после сформирования эмбриона и закрытия бластопора, т. е. после образования хвостовой почки, мы видим вновь увеличение количества сульфгидрильных групп (появление красной окраски даже при протраве в 15 сек.).

Таблица 1

Нитропруссидная реакция на сульфгидрильные группы по ходу эмбрионального развития икры рипуса

	Продолжит. протравы в сек.		
	15	30	60
Стадия 2 бластомеров	+	++	+++
Морула крупных клеток . . .	+	+++	
Конец дробления	o	+	
	o	—	+++
Гастрюляция	+	+++	
	+	++	+++
	+	+++	
		—	++
Формирование эмбриона . . .	+	+	+
	—	+	++
Закрытие бластопора	++	+++	++++
Рост сформированного эмбриона	+	+++	++++
	+	++	++++
	+	+++	++++
	—	++	++++
	+	++	++++
	++	++++	++++

o — отсутствие окраски, — слабая розовая, + розовая, ++ красная, ++++, +++++ яркокрасная.

На протяжении всего роста сформировавшегося эмбриона ткань его остается богатой сульфгидрильными группами.

Таким образом, количество сульфгидрильных групп по ходу эмбрионального развития меняется. Мы наблюдаем высокое содержание сульфгидрильных групп во время гастрюляции в период роста сформировавшегося эмбриона. Перед началом гастрюляции и в период формирования эмбриона количество сульфгидрильных групп в эмбриональной ткани снижается.

Данные, полученные с икрой рипуса, подтверждаются и на икре окуня. В опытах с икрой окуня мы применили несколько измененную методику, а именно: икру после фиксации и промывки помещали не в протраву, как и в опытах с рипусом, а в нитропруссид натрия и затем уже в уксуснокислый цинк (протрава) до появления яркокрасного окрашивания.

Время появления окраски является показателем количества сульфгидрильных групп на той или иной стадии эмбрионального развития. Чем больше сульфгидрильных групп в эмбриональной ткани, тем быстрее

появляется яркая окраска, и наоборот. Результаты, полученные на трех сериях икры окуня, представлены на рис. 1.

В бластодиске до дробления и на стадии двух бластомеров сульфгидрильных групп много (окраска наступает быстро через 70—75 сек. в серии А и 75—85 сек. в серии С). По ходу дробления мы видим сначала резкое, а затем, после кратковременного подъема, более плавное уменьшение времени появления окраски: в сер. А — снижение со 100—минимального количества к концу дробления (началу гаструляции) (время появления окраски 100—120 сек. в сер. А, 120—135 сек. в сер. В,

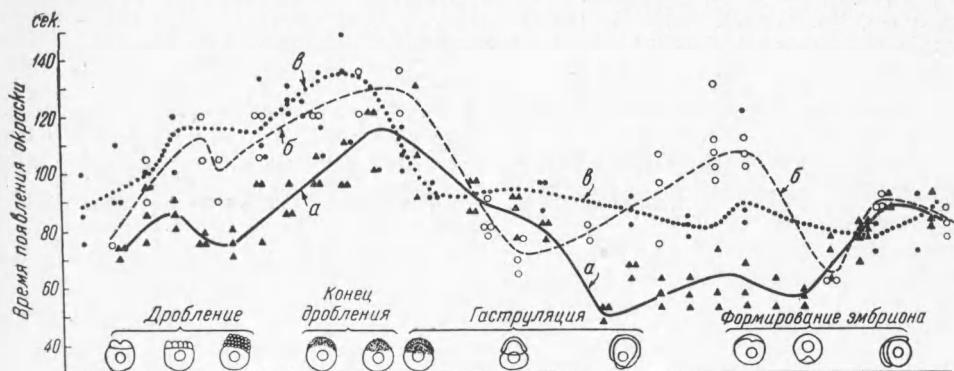


Рис. 1. Нитропруссидная реакция на сульфгидрильные группы по ходу эмбрионального развития икры окуня. а — серия А, б — серия В, в — серия С

140 сек. в сер. С). Как только начинается гаструляция и в дальнейшем ее ходе количество сульфгидрильных групп увеличивается (на кривых уменьшение времени проявления окраски: в сер. А — снижение со 100—120 до 50 сек.; в сер. С со 140 до 80 сек.; в сер. В со 120—135 до 70 сек.).

Во время формирования эмбриона наблюдается вновь снижение сульфгидрильных групп, причем снижение наблюдается дважды — в начале формирования (время появления окраски 100—110 сек. в сер. В; 60—70 сек. в сер. А; 80—85 сек. в сер. С) и в конце формирования (80—90 сек. в сер. А и В; 70—90 сек. в сер. С).

Таким образом, нитропруссидная реакция, проведенная на развивающейся икре рипуса и окуня, показывает, что уменьшение количества сульфгидрильных групп совпадает с периодами: конец дробления (начало гаструляции) и формирование эмбриона.

Работами А. Н. Трифионовой, Т. И. Привольнева, М. Ф. Вернидуб и Н. Д. Никифорова установлено, что икра рыб чувствительна к отклонению от оптимума различных факторов внешней среды (удушие, высокая и низкая температура, тряска и ряд других агентов) на стадиях: начало дробления, начало гаструляции и формирование эмбриона. Эти периоды и названы критическими. Из экспериментальных данных нашей работы следует, что в тканях эмбриона в критические периоды развития икры рипуса и окуня сульфгидрильных групп мало, в стойкие периоды количество сульфгидрильных групп возрастает — особенно резко во время гаструляции.

Согласно работам Х. С. Коштоянца сульфгидрильные группы являются реактивными или функциональными группами белка. Связывание сульфгидрильных групп приводит к выключению раздражимости живого вещества, восстановление нормальной структуры белковых тел ведет к восстановлению реактивности (14).

Таким образом, еще до начала функционирования нервной системы можно, повидимому, говорить о различной реактивности развивающегося эмбриона рыб. Возможно, что одной из причин плохой приспособляемости

эмбриона рыб к изменяющимся факторам внешней среды на критических стадиях развития является плохая реактивность их живого вещества вследствие малого содержания сульфгидрильных групп.

Свердловский государственный
медицинский институт

Поступило
15 X 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Н. Трифонова, Бюлл. БИЭМ, **57** (1933). ² А. Н. Трифонова, Арх. биол. наук, **37**, 3 (1935). ³ Т. И. Привольнев, Тр. Петергоф. биолог. инст., **13**, 4 (1935). ⁴ А. Н. Трифонова, Биол. журн., **6**, 2 (1937). ⁵ Н. Д. Никифоров, Уч. зап. ЛГУ, **15**, 353 (1937). ⁶ Н. Д. Никифоров, Влияние температур и механических воздействий на эмбриональное развитие рыб, изд. ЛГУ, 1939. ⁷ Т. И. Привольнев, А. Разумовский, ДАН, **23**, № 6 (1939). ⁸ Т. И. Привольнев, Арх. анат., гист. и эмбр., **22**, 1 (1939). ⁹ М. Ф. Вернидуб, ДАН, **32**, № 4 (1941). ¹⁰ А. Н. Трифонова, Я. Ф. Макарская, Л. М. Соловьев, ДАН, **60**, № 3, 529 (1948). ¹¹ А. Н. Трифонова, Е. Н. Борисовская, М. Х. Закиян, ДАН, **66**, № 5 (1949). ¹² А. Н. Трифонова, Усп. совр. биол., **28**, 4 (1949). ¹³ Н. Д. Никифоров, Уч. зап. ЛГУ, **15**, 361 (1937). ¹⁴ Х. С. Коштоянц, Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция, Изд. АН СССР, 1951.