Доклады Академии наук СССР
1955. Том 100, № 6

ЭМБРИОЛОГИЯ

Г. М. ИГНАТЬЕВА

ВЫДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТА ВЫЛУПЛЕНИЯ У ЗАРОДЫШЕЙ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 30 XI 1954)

В вылуплении зародышей костистых ([1]) и осетровых ([2]) рыб важную роль играет выделяемый специальными железами фермент, который частично разрушает яйцевые оболочки, резко снижая их прочность. Форма и локализация желез, способ и условия выделения фермента у разных видов рыб различны. У зародышей лососевых рыб фермент выделяется быстро и полностью, причем железы после этого сразу исчезают ([3]). У зародышей осетровых рыб фермент выделяется, повидимому, постепенно, небольшими порциями; у вылупившихся личинок в железе содержится еще некоторое количество фермента ([3]), причем железы после вылупления сохраняются довольно долго ([4]).

Изучение механизма выделения фермента имеет практическое значение для выяснения условий, обеспечивающих дружный выклев при искусственном разведении рыб. Получены данные, указывающие, что выделение фермента у осетровых зависит от внешних условий (скорость движения воды, толчки и т. д.) ([5]), однако эти условия изучены еще недостаточно. Показано также, что у зародышей лососевых рыб ([3]) для выделения фермента вылупления, кроме определенных внешних условий, необходимо присутствие оболочек. Если незадолго до вылупления снять с зародыша форели оболочки, то фермент не выделяется в окружающую среду, а железы сохраняются в течение 5 дней после вылупления контрольных зародышей из той же партии, постепенно дегенерируя и рассасываясь. На основании этих опытов выделение фермента рассматривается как реакция зародыша на присутствие оболочек, совершающаяся на определенной стадии его развития.

Роль оболочек в выделении фермента у зародышей осетровых рыб не изучена. Выяснение этого вопроса было целью описываемых ниже опытов, проводившихся весной 1954 г. на рыбоводном пункте Аздонрыбвода в хут. Рогожкино. В этих опытах определялась ферментативная активность воды, в которой жили зародыши осетровых, вынутые из оболочек незадолго до вылупления, но еще до того, как фермент начал выделяться в перивителлиновое пространство. Если у осетровых для выделения фермента необходимо присутствие оболочек, то вода, взятая из сосуда с такими зародышами, должна быть лишена ферментативной активности даже тогда, когда в чашках с контрольными зародышами (в оболочках) произойдет вылупление и фермент выделится в окружающую среду. И наоборот, если зародыши, вынутые из оболочек, будут выделять фермент так же, как и контрольные, нормально вылупляющиеся зародыши, это будет свидетельствовать о том, что у осетровых факторы, регулирующие процессы выделения фермента, иные, чем у лососевых.

Опыты проводились в лаборатории на трех партиях икры белуги и двух — черноморско-азовского осетра, инкубировавшихся в производственных условиях в аппаратах системы П. С. Ющенко. Из каждой партии бралось по 40 зародышей на стадии 34 + по Детлаф и Гинзбург, т. е.

до выделения фермента в перивителлиновое пространство ([5]). У 20 зародышей снимались оболочки, остальные 20 (контроль) оставлялись в оболочках. Тех и других помещали в две маленькие чашки Коха в одинаковый, небольшой (до 10 мл), объем воды. В последующие часы у контрольных зародышей наблюдалось растяжение оболочек, свидетельствующее о том, что фермент начал выделяться в перивителлиновое пространство. С этого момента можно было начинать испытание ферментативной активности воды, в которой жили опытные и контрольные зародыши. Испытания проводились в разных сериях опытов через разные промежутки времени (от 14 до 44 час.) — до начала выклева, во время выклева, или после того, как закончилось вылупление контрольных зародышей из оболочек.

Известно ([2]), что фермент вылупления у осетровых не обладает видовой специфичностью и способен снижать прочность оболочек яиц на всех стадиях развития. Поэтому, чтобы определить, имеется ли фермент в испытуемой жидкости, мы брали яйца осетровых любого вида на ранней стадии развития, когда оболочки обладают большой прочностью, и подвергали их действию этой жидкости. В дальнейшем такие яйца, служившие тест-объектом для определения ферментативной активности воды, для краткости называются нами яйцами-индикаторами.

Испытание ферментативной активности воды, в которой содержались опытные и контрольные зародыши, производилось следующим образом. Испытуемую жидкость помещали либо в маленькую чашку Коха, либо в небольшие лунки, сделанные на дне парафиновой ванночки. Для каждого определения бралось по 10—20 яиц-индикаторов. В первом случае их помещали всех вместе в чашку, во втором — поодиночке в каждую лунку. Одновременно такое же количество яиц-индикаторов помещалось, соответственно, в чашку Коха или в лунки с фильтрованной речной водой. Через некоторое время (разное в разных сериях опытов) сравнивали прочность оболочек яиц, находившихся в равных объемах речной воды и испытуемых жидкостей. Прочность оболочек определялась при помощи прибора, предложенного А. И. Зотиным ([6]), по величине груза (с точностью до 5 г), необходимого для раздавливания яйца. Обычно измерялась прочность оболочек 10 (реже 4—5) яиц и выводились средние величины для каждого ряда измерений. Оба метода испытания ферментативной активности воды — в чашках и в лунках — дали сходные результаты и поэтому по отдельности не рассматриваются.

В табл. 1 приведены результаты 8 серий опытов, в которых испытывалась ферментативная активность воды от опытных и контрольных зародышей. Для того чтобы проследить динамику накопления фермента в жидкости, в трех партиях икры ферментативная активность воды испытывалась дважды. При этом испытывалась повторно или та же самая вода (серия III и VII), или вода, смененная после первого испытания (серия V). Соответственно, в сериях III и VII показано время от начала опыта до второго испытания, а в серии V — время между первым и вторым испытанием.

Для наглядности в таблице даются не абсолютные величины прочности, а цифры, показывающие снижение средней прочности оболочек яиц-индикаторов под действием испытуемых жидкостей по сравнению с их прочностью в обычной воде (практически равной исходной прочности оболочек этих яиц).

Из табл. 1 видно, что прочность оболочек яиц-индикаторов под действием воды от опытных и контрольных зародышей снижалась почти во всех сериях опытов, за исключением двух, в которых отмечено повышение прочности под действием испытуемой воды. Статистическая обработка показала, что все случаи понижения прочности оболочек под действием испытуемых жидкостей вполне достоверны, тогда как повышение прочности (в таблице отмеченное знаком минус) не имеет реального значения.

Таблица 1

Испытание ферментативной активности воды от зародышей, вынутых из оболочек (опытных) и в оболочках (контрольных)

Вид и № самки	Серии	Время пребывания зародышей в воде до испытания ее фермент. активности, часы	Состояние зародышей в контрольн. чашке к моменту испытания ферментативной активности воды	Время действия испытуемой воды на яйца-индикаторы, часы	Снижение прочности (в %) оболочек в воде *	
					с опыт. зародышами	с контр. зародышами
Белуга № 1	I	14	Вылупилось 40% зародышей, у остальных растянуты оболочки	9	68	90
Белуга № 4	II	10	Вылупилась 1 личинка, у остальных растянуты оболочки	4	30	26
	III	34	Вылупились все	5	100**	100**
Белуга № 7	IV	44	„ „	6	100**	100**
	V	24	„ „	2	0	0
				4	20	21
Осетр № 24	VI	20	Оболочки растянуты у одного, выклева нет	16	—11	—11
	VII	38	У 40% зародышей растянуты оболочки, выклева нет	3	—20	—16
				10	35	0
Осетр № 34	VIII	19	У всех растянуты оболочки, выклева нет	8	35	55

* В сериях I, IV и V определялась прочность оболочек 4—5, в остальных — 10 яиц.

** Яйца не выдерживали груза в 5 г.

Полученные данные прежде всего позволяют сделать вывод, что у зародышей осетровых рыб, в отличие от лососевых, присутствие оболочек не является обязательным условием для выделения фермента. Во всех случаях, когда наблюдалось выделение фермента контрольными зародышами, его можно было обнаружить и в воде, взятой от зародышей, вынутых из оболочек. Правда, сравнение активности воды от опытных и контрольных зародышей в сериях I и VIII как будто свидетельствует о более интенсивном выделении фермента в присутствии оболочек. Однако для решения этого вопроса необходимы дополнительные исследования, так как в I серии материал был недостаточно велик (всего по 4—5 измерений в опыте и в контроле), а в VIII серии различие между опытом и контролем превышает вероятную ошибку измерений только в 2,8 раза и потому его нельзя считать вполне достоверным.

Выделение фермента в воду зародышами, вынутыми из оболочек, не может рассматриваться как реакция на акт удаления оболочек, ибо фермент выделяется в воду и в опыте и в контроле постепенно. Так, после 10-часового пребывания в воде зародыши, вынутые из оболочек, выделили в нее фермент в концентрации, понижающей за 4 часа прочность оболочек яиц-индикаторов на 30% (серия II), а еще через 34 часа в той же воде накопилось фермента столько, что он почти за такой же срок действия полностью ослабил оболочки яиц-индикаторов (серия III). Фермент продолжал выделяться и после перенесения зародышей в свежую воду (серия V): за сутки в ней накопилось фермента достаточно, чтобы понизить прочность оболочек яиц-индикаторов за 4 часа на 20% (вполне достоверная величина, превышающая вероятную ошибку измерений в

3,5 раза). В контрольных чашках, содержащих нормально вылупляющихся зародышей,наблюдалось такое же постепенное накопление фермента. Следовательно, это явление вообще характерно для зародышей осетровых рыб и не связано с удалением у них оболочек. Таким образом, в настоящей работе получены иным путем новые доказательства правильности утверждения, что фермент вылупления у зародышей осетровых рыб выделяется постепенно, сделанного на основании анализа снижения прочности оболочек зародышей на стадии вылупления ([3]).

Фермент вылупления, повидимому, может проходить через оболочки в окружающую воду. Так, в серии VIII фермент был обнаружен в воде, взятой от контрольных зародышей до их вылупления из оболочек. Правда, такое прохождение фермента через оболочки наблюдалось только в одной серии опытов. В серии VII в воде, взятой из чашки с зародышами, не вылупившимися из оболочек, фермента не было, хотя он имелся в перивителлиновом пространстве этих зародышей еще при первом испытании активности воды в серии VI (в таблице результаты испытаний активности перивителлиновой жидкости не приведены). Поэтому необходимы дополнительные исследования для выяснения условий прохождения фермента через оболочки и механизма этого явления.

Институт морфологии животных им. А. Н. Северцова
Академии наук СССР

Поступило
29 XI 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] P. Wintrebert, C. R. Soc. Biol., 72, 724 (1912). [2] А. И. Зотин, ДАН, 92, № 3 (1953). [3] А. И. Зотин, ДАН, 95, № 5 (1954). [4] Н. И. Драгомиров, Тр. Инст. морф. животных АН СССР, в. 10 (1953). [5] Т. А. Детлаф, А. С. Гинзбург, Зародышевое развитие осетровых рыб, М., 1954. [6] А. И. Зотин, ДАН, 92, № 2 (1953).