

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ВОПРОСЫ ИХТИОЛОГИИ

Журнал основан в январе
1961 года

Выходит 6 раз в год

Том 32

Выпуск 6

Ноябрь — Декабрь

«НАУКА»
МОСКВА · 1992

Институт
биологии морских рыб
БИБЛИОТЕКА

№ _____

**Основные статистические показатели изменчивости числа микропиле
в яйцах отдельных самок севрюги**

Показатель	Самки					
	1	2	3	4	5	6
lim	2—6	2—5	2—7	3—8	2—11	3—11
Mo	3	4	4	5	5	7
M	3,2	3,7	4,7	5,2	5,8	6,7
m	±0,09	±0,07	±0,12	±0,11	±0,16	±0,14
σ	0,92	0,68	1,18	1,09	1,55	1,37
CV	28,8	18,7	24,9	21,1	26,7	20,2
As	+0,7	+0,2	+0,3	+0,5	+0,2	+0,1
Ex	+0,4	-0,5	-0,6	-0,7	+0,4	+0,3
n	100	100	100	100	100	100

у отдельных самок (табл. 1) и в стаде (табл. 2) различаются. Показатели изменчивости в стаде (lim, σ , CV) несколько выше, чем у отдельных самок. Кроме того, коэффициенты эксцесса у всех и коэффициенты асимметрии у 5 из 6 исследованных рыб не отличаются достоверно от нуля, а вариационный ряд числа микропиле в стаде севрюги имеет статистически достоверные положительные асимметрию и эксцесс.

Сопоставление с литературными данными о числе микропиле в яйцах азовской (донской) севрюги (Гинзбург, 1968) показывает, что обе формы севрюги по этому признаку очень близки. У волжской севрюги вариационный ряд числа микропиле оказался лишь несколько шире, что, возможно, обусловлено небольшим количеством материала по азовской севрюге.

В заключение необходимо остановиться на вопросе о встречаемости яиц без микропиле. При обработке материала иногда бывали случаи, когда микропиле не обнаруживались. Однако, учитывая возможность ошибки в выборе полюса яйца, а также данные о нахождении микропиле не только на анимальном полюсе (Персов, 1954), в случае каких-либо причин для сомнений, такие препараты в расчет не принимали. Нами было учтено лишь одно безмикропильное яйцо, в котором были тщательно просмотрены препараты оболочек с обоих полушарий, но микропиле найдены не были.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гинзбург А. С. 1968. Оплодотворение у рыб и проблема полиспермии. М.: Наука, 358 с.
 Лакин Г. Ф. 1974. Биометрия. М.: Высш. шк. 343 с.
 Персов Г. М. 1954. Множественное проникновение спермиев у осетровых//Докл. АН СССР. Т. 97. № 6. С. 1093—1095.
 Садов А. И. 1956. Образование микропиле у ооцитов осетровых рыб//Докл. АН СССР. Т. 111. № 6. С. 1400—1402.

Центр международного сотрудничества
по проблемам окружающей среды АН России —
ИНЭНКО, Санкт-Петербург

Поступила
8.1.1992

УДК 597.08.591.3.5

© 1992 г. В. А. ТЕРЕЩЕНКО, Ю. Е. БИТЮКОВА, Н. К. ТКАЧЕНКО

ДВИЖЕНИЯ ЗАРОДЫШЕЙ КАМБАЛЫ КАЛКАНА *PSETTA MAEOTICA* И ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОБОЛОЧКИ ИКРЫ В ПЕРИОД ЭМБРИОГЕНЕЗА

Изменения механических свойств оболочки икры и характер движений зародыша рыб отражают особенности приспособления вида к условиям окружающей среды. От среды обитания зародыш отделен жидкостью перивителлинового пространства и оболочкой зона radiata.

Сквозь эту оболочку осуществляется поступление кислорода и воды в жидкость перивителлинового пространства, а также вывод продуктов метаболизма. Защитная и транспортная функция оболочки изменяются во времени, что можно установить, определяя механические свойства икры на разных этапах эмбрионального развития (Терещенко, Рубцов, 1987).

Механизм транспорта кислорода к поверхности зародыша рассматривался многими авторами. Обзор этих работ содержится в монографии Резниченко (1982). Из выработанных в процессе эволюции приспособлений активной диффузии кислорода и ионов через оболочку *zona radiata* и толщу жидкости перивителлинового пространства наибольшее значение имеют два типа движений зародышей (Резниченко, 1982). Первый тип движений связывают с движением протоплазмы, обусловленным сокращением кортикального слоя клеточной поверхности на ранних этапах развития. На поздних этапах у сформировавшихся эмбрионов возникают нервно-мышечные сокращения. Эмбриональная моторика способствует конвективной и нестационарной диффузии кислорода и ионов в перивителлиновой жидкости, омывающей поверхность зародыша.

У рыб разных таксономических и экологических групп функционирование протоплазматической моторики и уровень нервно-мышечных движений определяются условиями обитания. Наиболее полно исследованы движения зародышей у прикрепившейся икры пресноводных и некоторых морских рыб (Резниченко, 1982; Москалькова, 1979). На пелагической икре камбалы-калкана *Psetta maecotica*, одним из перспективных объектов маринкультуры, прямых наблюдений за процессами движения протоплазмы и нервно-мышечными сокращениями эмбриона ранее не проводили. Вскрытие механизмов, обеспечивающих поступление кислорода к дыхательным поверхностям тела зародышей и удаление продуктов жизнедеятельности, важно для отработки биологически обоснованных рекомендаций по рациональному режиму инкубации икры.

В настоящей работе исследовали характер движений икры и эмбриона калкана на основе прямых наблюдений, а также определяли механические параметры икры на разных этапах эмбрионального развития.

Икру оплодотворяли сухим способом в открытом море на месте лова производителей, в термостате доставляли в лабораторию и содержали в специальных инкубаторах, где поддерживали в заданных пределах параметры морской среды (соленость, температуру, освещенность, содержание кислорода, уровень pH и др.). Плотность посадки икры составляла 400—500 экз/л. Визуальный контроль и цейтраферную киносъемку развития икры проводили на микроскопе МБИ-13V.4.1. (частота съемки 1 кадр/мин). Объект съемки меняли каждый час. Одновременно проводили эксперименты по сжатию и раздавливанию икры на специальной установке. Обработку результатов экспериментов проводили на ЭВМ. В предположении, что объем икринки при сжатии не меняется и для ее поверхности, свободной от контакта с сжимающими плоскостями, выполняется условие постоянства средней кривизны. Этапы эмбрионального развития выделяли в соответствии с описанием Дехник (1973).

Пелагическая икра калкана прозрачная, имеет одну жировую каплю. После оплодотворения оболочка *zona radiata* отделяется от поверхности яйца с образованием небольшого по объему перивителлинового пространства. Продолжительность периода эмбрионального развития зависит от температуры и составляет от 84 ч ($T = 16^\circ$) до 220 ч ($T = 10^\circ$) (Битюков и др., 1984). Диаметр икринки 1,26 мм. Для растровой электронной микроскопии икру фиксировали в 2%-ном растворе глутаральдегида на морской воде. На поверхности оболочки *zona radiata* расположены в определенном порядке углубления (поры), плотность которых составляет 275 000 шт/мм². Наблюдаемые углубления образуют сквозные каналы со средним диаметром 0,4 мкм. Пористый материал оболочки *zona radiata* состоит (рис. 1) из шести слоев общей толщиной 3 мкм.

Движения икры и эмбриона (результаты киносъемки). На ранних этапах развития икра совершает сложное движение, которое состоит из вращения и поступательного перемещения в горизонтальной плоскости. Поскольку желток прозрачен и в нем не наблюдаются какие-либо включения (жировая капля одна), то судить о движении протоплазмы можно было только по движению центра масс свободноплавающей икринки. Икра располагается под поверхностной пленкой. Относительно жировой капли происходит вращение икринки со средней скоростью 6—10 рад/ч, что составляет 2—3 оборота/ч. Скорость поступательного перемещения определяли по смещению икры в кадрах киноплёнки. Средняя скорость такого смещения составила 100—150 мм/ч. На последующих этапах обращение желтка приводит к перераспределению масс в зародыше, центр масс смещается и икра постепенно переворачивается в вертикальной плоскости, совершая при этом полные обороты в горизонтальной плоскости. При завершении гастрюляции перед началом роста хвостового отдела характер движения в горизонтальной плоскости меняется, икринка перестает совершать полные обороты и переходит к колебаниям в этой плоскости. Частота и амплитуда этих колебаний постепенно падают. Это затухающие колебания, и они прекращаются на III этапе. После остановки икры до появления первых нервно-мышечных сокращений сформировавшегося эмбриона проходит от 8 до 16 ч. В это время у икры никаких движений не наблюдали. С ростом хвостового отдела появляются нервно-мышечные сокращения, характер (частота и амплитуда) которых меняется. В начале это непродолжительные, с малой амплитудой колебания (подрагивания). В дальнейшем они начинают чередоваться с большими по амплитуде одиночными сокращениями, частота и амплитуда которых постепенно нарастают. Увеличивается механическая нагрузка со стороны эмбриона на оболочку. На рис. 2 показано качественное изменение движений икры и эмбриона в период эмбрионального развития. По характеру движений зародыша калкана в эмбриогенезе следует выделить четыре фазы движений: 1) сложное движение; вращение и поступательное перемещение икры в горизонтальной плоскости; 2) переворачивание икры в вертикальной и затухающие колебания в горизонтальной плоскости; 3) нет движений; переходная зона от движений икры к подвижности эмбриона; 4) подвижность эмбриона, его нервно-мышечные сокращения.

Механические параметры икры (результаты сжатия и раздавливания отдельных икринок). Эксперименты проводили на специальной установке. Регистрировали силу сжатия N и степень сжатия Δz икринки. Обработку результатов проводили на ЭВМ. Предполагалось, что объем икринки при сжатии не меняется, а материал оболочки изотропен с одинаковой толщиной во всех точках поверхности. Это соответствует условию постоянства средней кривизны поверхности оболочки

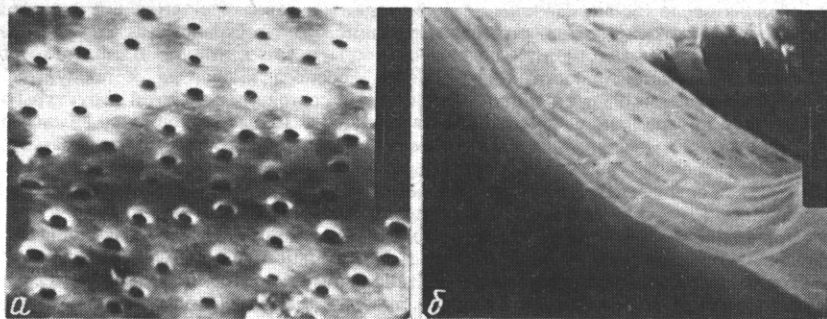


Рис. 1. Микроструктура оболочки зона радиата икры камбалы-калкана через 5 ч после оплодотворения: а — внешняя поверхность оболочки; б — разлом многослойного материала оболочки. На внешней и внутренней поверхностях видны каналцы, пронизывающие толщу материала оболочки зона радиата

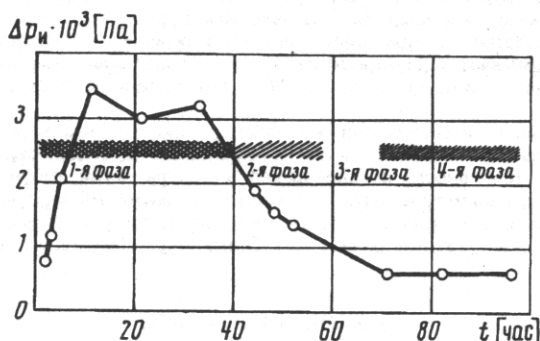


Рис. 2. Изменение давления в жидкости перивителлинового пространства и фазы движений икры и эмбриона в период эмбриогенеза камбалы-калкана

и изотропному растяжению материала оболочки с одинаковыми натяжениями в той части поверхности, которая не контактирует с сжимающими плоскостями (Терещенко, 1987). Эксперименты проводили на нормально развивающейся в инкубаторе икре и на икринках, которые имели очевидное отклонение от нормы. Всего на протяжении эмбриогенеза просмотрено 52 икринки. Зависимость силы сжатия N от степени сжатия Δz удобно представить в виде функции

$$N = B(t) \cdot \Delta z^{n(t)} \quad (t — \text{время}) \quad (1)$$

с переменным показателем степени n , который изменяется в пределах $1 \leq n(t) \leq 3$ и переменным коэффициентом $B(t) = 0,2 \cdot 10^{-2} - 2,8 \cdot 10^{-2} H$. Для нормально развивающейся икры разрушение происходит при степени сжатия $\sim 0,25$, которая остается неизменной на всех этапах развития. Что касается силы, то на этапах до завершения гаструляции разрушения происходили при $N_p = 55 \cdot 10^{-5} - 65 \cdot 10^{-5} H$, а на V—VI этапе и перед выклевом — при $N_p = 40 \cdot 10^{-5} - 20 \cdot 10^{-5} H$.

Перепад давления Δp_n в жидкости перивителлинового пространства находили по формуле

$$\Delta p_n = N / \pi r^2,$$

где r — радиус пятна контакта икринки при сжатии. На этапе дробления и ранней бластулы давление возрастало от значений $0,6 \cdot 10^3$ до $3 \cdot 10^3$ Па. Такое высокое значение сохраняется до завершения гаструляции ($\Delta p_n = 3 - 3,5 \cdot 10^3$ Па). Значения приводятся для степени сжатия $\Delta \bar{z} = 0,08$. На поздних этапах давление падает до $1 \cdot 10^3$ Па и перед выклевом составляет $0,3 - 0,6 \cdot 10^3$ Па.

Следует отметить существенное отличие зависимости (1) у икры с отклонениями в развитии от аналогичных зависимостей нормально развивающейся икры. Как правило, у такой икры показатель степени n имеет значение

$$2,5 \leq n \leq 3$$

и разрушение происходит при степени сжатия $\Delta \bar{z} \geq 0,5$. При этом отмечается последовательность разрушения вначале оболочки зона радиата, а затем зародыша. Разрушение такой икры происходит силой (на этапе гаструляции) $N_p = 70 \cdot 10^{-5} H$ и выше.

В период эмбрионального развития у икры калкана существенно изменяются такие механические параметры, как давление в перивителлиновом пространстве, состояние пористой структуры материала

и прочность оболочки зона radiata. Изменения происходят и в характере движения икры и эмбриона. До завершения гаструляции в жидкости перивителлинового пространства удерживается высокое давление, что показано в экспериментах по сжатию икры на этих этапах. Движение протоплазмы зародыша способствует интенсивности конвективного переноса кислорода и продуктов обмена с жидкостью перивителлинового пространства. Изменения в состоянии пористой структуры материала оболочки совпадают по времени с изменениями в движении икры и эмбриона. После завершения гаструляции при сжатии икры давление в жидкости перивителлинового пространства остается низким, что указывает на свободный выход жидкости через открытые поры оболочки. Обмен с внешней средой на этих этапах осуществляется за счет нарастающей подвижности сформировавшегося эмбриона, который периодически растягивает материал оболочки, изменяя объем икринки.

Можно предположить, что икра калкана обладает устойчивостью к изменению факторов внешней среды на первых трех этапах периода эмбрионального развития, что проявляется через защитную и транспортную функцию оболочки. Интенсивному поступлению кислорода к поверхности зародыша способствуют локальные сокращения поверхностного слоя протоплазмы зародыша и движение протоплазмы (массы желтка). Повышенный контроль за состоянием среды в инкубаторах следует проводить на IV и в начале V этапа развития икры, когда защитная и транспортная функции оболочки ослабевают, а затем частично или полностью утрачиваются, уступая место пассивному обмену через открытые поры оболочки. Пассивность обменных процессов с внешней средой может приводить к скрытым нарушениям у развивающихся зародышей и значительной гибели икры, в последствии и выклюнувшихся личинок, что, очевидно, связано с длительностью такого застойного положения зародышей. С появлением нервно-мышечных сокращений зародыша восстанавливается конвективный транспорт продуктов обмена с жидкостью перивителлинового пространства, которая омывает тело зародыша. На этих этапах выживаемость эмбрионов зависит от интенсивности их движений, которые способствуют интенсификации обменных процессов с внешней средой.

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что мероприятия по управлению процессов инкубации икры должны способствовать сокращению длительности застойной зоны (III—IV этапы) и достаточной интенсивности нервно-мышечных сокращений эмбриона (V—VI этапы).

Анализ механических параметров икры и особенностей движений зародыша позволили объяснить различия в чувствительности, а также выживаемости икры на различных этапах эмбрионального развития и выработать рациональный режим инкубации икры (Битюкова и др., 1982; Битюкова и др., 1984).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Битюкова Ю. Е., Терещенко В. А., Ткаченко Н. К., Чепурнов А. В. 1982. Температурная адаптация черноморской камбалы-калкана *Psetta maeotica* (Pallas) в период эмбрионального развития// V Всесоюз. конф: по экологической физиологии и биохимии рыб. Киев: Ч. 3. С. 14—15.
- Битюкова Ю. Е., Ткаченко Н. К., Чепурнов А. В. 1984. Термочувствительность калкана *Psetta maeotica* Pallas (Scophthalmidae) в период эмбрионального развития при искусственном выращивании//Вопр. ихтиологии. Т. 24. Вып. 3. С. 459—463.
- Дехник Т. В. 1973. Ихтиопланктон Черного моря. Киев: Наук. думка, 243 с.
- Резниченко П. Н. 1982. Преобразование и смена механизмов функций в онтогенезе низших позвоночных животных. М.: Наука, 216 с.
- Терещенко В. А. 1987. О напряженном состоянии поверхности немышечных клеток//Статика и динамика гибких систем. М.: Наука, С. 121—139.
- Терещенко В. А., Рубцов В. В. 1987. Процесс растяжения и возможный механизм функционирования оболочки зона radiata икринок сазана в период эмбрионального развития//Биомеханика мягких тканей. Казань. С. 153—161.

Севастопольский приборостроительный институт и Институт биологии южных морей АН Украины, Севастополь

Поступила
15.X.1991