

СВЕРХСЛАБЫЕ ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗВИВАЮЩИХСЯ ЯЙЦЕКЛЕТОК И ЗАРОДЫШЕЙ ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ¹

© 2007 г. И. В. Володяев, Л. В. Белоусов

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

119899 Москва, ГСП-2, Ленинские горы

E-mail: morphogenesis@mail.ru

Поступила в редакцию 11.12.06 г.

Окончательный вариант получен 26.04.07 г.

Измеряли сверхслабые излучения яйцеклеток и зародышей шпорцовой лягушки в спектральном диапазоне 250–800 нм с помощью фотоэлектронного умножителя при нормальном развитии и воздействии стрессорных факторов. Регистрируемые излучения анализировали по нескольким базовым характеристикам: средняя интенсивность, гистограммы, куртозис, линейные тренды и спектры Фурье. Отслеживали связь между этими показателями и стадией развития особи, а также числом особей, находящихся в оптическом контакте друг с другом и под воздействием стрессорных факторов. По средней интенсивности сверхслабые излучения на всех стадиях развития не отличались от фона. Вместе с тем анализ Фурье выявил достоверное присутствие ряда спектральных линий сверхслабых излучений (в диапазоне 10^{-2} –50 Гц) у зародышей 2–11-й стадий развития. В первые 10 мин после активации и оплодотворения яйцеклеток, а также при оптическом взаимодействии групп зародышей отмечено достоверное снижение интенсивности сверхслабых излучений. Резкое охлаждение, повышение осмотического давления среды и помещение в среду, лишенную ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , вызывало кратковременное (~1–5 мин) повышение средней интенсивности сверхслабых излучений. Исследовали особенности сверхслабых излучений различных частей зародыша. Интенсивность излучения анимальной области ранней бластулы превышала таковую вегетативной области и целого зародыша. Отсепарованные фрагменты латеральной эктодермы на стадии нейрулы имели более высокую среднюю интенсивность сверхслабых излучений, чем интактные зародыши той же стадии развития.

Ключевые слова: сверхслабые излучения, оптические взаимодействия, *Xenopus laevis*, спектры Фурье.

Измерение сверхслабых излучений (ССИ) в видимой области спектра и их анализ в настоящее время широко используются для оценки физиологического состояния самых различных биологических объектов и патологических процессов в них – от микроорганизмов до человека (Slawinsky, 1990; Inaba, 1995; Scordino et al., 1996; Vogel, Sussmuth, 1998; Triglia et al., 1998; Niggli, 2003). Ранее (Grasso et al., 1991) показана связь средней интенсивности ССИ с клеточными циклами и ее повышение под действием стрессорных факторов (так называемое деградационное ССИ). На различных биологических объектах (микроорганизмы, культуры дафний, ткани млекопитающих) было показано, что при увеличении числа взаимодействующих объектов интенсивности ССИ падают до значений, ниже средней интенсивности ССИ среды (Galle, 1992; Van Wijk et al., 1993; Vogel, Sussmuth, 1998). Это явление было названо субрадиацией. Согласно утверждению некоторых исследователей (Popp, Klimek, 2006), субради-

ация не сводится к классическому поглощению объектами сверхслабой хемилюминесценции среды и имеет квантовую природу. По другим данным (Van Wijk et al., 1993), явление субрадиации наблюдается в культурах нормальных, но не малигнизированных клеток.

Во многих работах (Николаев, 1992; Бурлаков и др., 1999; Будаговский, 2004) широко обсуждается возможность взаимодействия биообъектов посредством ССИ. Получены данные о возможной связи этих явлений с субрадиацией, наблюдаемой уже в первые десятки минут после начала взаимодействия по падению средней интенсивности ССИ (Belousov et al., 2003).

Дальнейший прогресс в исследованиях ССИ в известной мере тормозится тем, что многие из них выполняются на объектах, редко используемых в международной лабораторной практике. В связи с этим мы задались целью провести комплексные исследования ССИ на одном из наиболее распространенных модельных объектов биологии развития – развивающихся яйцеклетках и зародышах

¹ Работа поддержана Международным научно-техническим центром (проект № 3360).

шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* Daudin. Были поставлены следующие задачи:

1. Выяснить, существует ли связь между базовыми характеристиками ССИ (средней интенсивностью, спектрами Фурье и др.) и стадией развития зародышей.

2. Определить, наблюдается ли явление субрадиации при оптических взаимодействиях групп зародышей *X. laevis* (в отсутствие химических контактов между ними).

3. Исследовать, как изменяются ССИ яйцеклеток и зародышей *X. laevis* под действием стрессорных факторов – резкого охлаждения, осмотического шока, помещения в среду без Ca^{2+} и Mg^{2+} и при нарушении целостности объекта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Получение и инкубация материала, процедура измерений ССИ. Работу проводили в лаборатории Международного института биофизики (International Institute of Biophysics: www.lifescientists.de) на яйцеклетках, зародышах и личинках шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* Daudin. Яйцеклетки получали методом гормональной стимуляции. Неактивированные яйцеклетки инкубировали в растворе MMR (0.1 M NaCl; по 2 mM KCl и CaCl_2 ; 1 mM MgSO_4 ; 0.1 mM ЭДТА; 0.1 mM NEPES, pH 7.8). Для активации, искусственного оплодотворения и последующего развития яйцеклетки помещали в 10%-ный MMR. Стадии развития определяли по таблицам нормального развития (Nieuwkoop, Faber, 1956).

Для регистрации ССИ материал содержали в кюветках двух типов: 1) стандартные кварцевые с внутренними поперечниками $48 \times 22 \times 2$ мм и $40 \times 10 \times 2$ мм, в которые помещали от 5 до 16 яйцеклеток или зародышей; 2) специально изготовленные в Институте биологического приборостроения РАН (Пуцдино) многоячейстые (64 ячейки) плоские стеклянные с изолированными лунками $3 \times 3 \times 3$ мм, разделенными стеклянными перегородками толщиной 1.1 мм. В каждую лунку помещали по одной яйцеклетке или зародышу. Всего в кюветках находилось от 1 до 10 зародышей.

Регистрацию ССИ проводили с помощью люменометра (катод фотоэлектронного умножителя (ФЭУ): ЕМ1 9558 QA, диапазон чувствительности 250–800 нм, ФЭУ в режиме счета фотонов (технические детали см.: Mieg et al., 1992)). Времена накопления фотонов – 10^{-3} , 10^{-2} и 10^{-1} с; длительность измерений – 1, 5, 20, 100 мин и 12 ч.

В камере люменометра в каждой отдельной серии измерений поддерживали температуру 22–25°C с точностью до 0.5°C. Вне камеры при той же тем-

пературе инкубировали часть той же кладки и контролировали ее развитие по времени.

Использовали следующие варианты опытов.

1. *Регистрация ССИ по ходу нормального развития.* Для измерений длительностью не более 100 мин использовали многоячейстые кюветы, в которые помещали от 1 до 5 яйцеклеток или зародышей. Для более длительных измерений зародыши помещали в стандартные кварцевые кюветы.

Регистрацию ССИ после активации или оплодотворения яйцеклетки начинали через 12–15 с после активации или оплодотворения (в той же кювете). Сигнал сравнивали с ССИ одиночных неактивированных яйцеклеток через те же сроки после их помещения в раствор MMR. Время накопления фотонов – 10^{-2} с, полное время измерений – 5 мин.

Для измерений ССИ в период синхронных делений дробления от одной до пяти яйцеклеток помещали в лунки многоячейстой кюветы через 1 ч после оплодотворения *in vitro*. Измерения проводили в течение 100 мин (время накопления фотонов – 10^{-1} с) и в течение 5 мин (время накопления фотонов – 10^{-2} с). Прохождение борозд дробления определяли по контрольной части той же кладки, находящейся при той же температуре вне камеры люменометра и по таблицам нормального развития (Nieuwkoop, Faber, 1956).

2. *Влияние оптических взаимодействий между зародышами ст. 19 или личинками ст. 37 на динамику их ССИ.* Опыты проводили в двух модификациях.

а. Перед катодом ФЭУ параллельно ему устанавливали две стандартные кварцевые кюветы: “переднюю” – у катода, и “заднюю”, полностью заслоненную передней от катода. Повторно сравнивали три следующих варианта: I. В передней кювете – пять зародышей, в задней (также заполненной равным объемом 10%-ного MMR) – ни одного. II. В обеих кюветках по пять зародышей (ожидаются оптические взаимодействия). III. В обеих кюветках – ни одного зародыша. Время накопления – 10^{-1} с, длительность сеанса измерений – 100 мин.

б. Зародыши ст. 19 (один, два или десять) или личинки ст. 37 (одну или пять) помещали в смежные лунки многоячейстой кюветы, которую устанавливали вертикально перед катодом ФЭУ (время накопления – 10^{-2} с, длительность сеанса измерений – 5 мин).

3. *Получение деградационного ССИ при обратимых стрессорных воздействиях* (время накопления – 10^{-1} с, длительность сеанса измерений – 20 мин). Применяли следующие типы воздействий:

а. **Холодовой шок** испытывали на зародышах ст. 19 и личинках ст. 37. В первом случае партию из

16 зародышей переносили из комнатной температуры (23°C) в стандартную кювету с 0.1%-ным MMR, предварительно охлажденную до 6°C, и через 20–30 с начинали измерения в камере ФЭУ (в которой по техническим условиям сохранялась температура 23°C). Аналогичные контрольные измерения проводили с охлажденной кюветой без зародышей. Во втором случае одну активно плавающую личинку помещали в лунку многоячейстой кюветы, которую устанавливали вертикально перед катодом ФЭУ. Проводили аналогичные процедуры.

б. Осмотический шок получали погружением партии из пяти зародышей ст. 11–12 (средняя гастрюла) в раствор 0.5–1 М сахарозы на основе 10%-ного MMR. Интенсивность ССИ сравнивали с таковой в 10%-ном MMR без сахарозы, а также с фоном (кювета с 10%-ным MMR без зародышей).

в. Зародыши различных стадий развития (от ст. 8 до ст. 19) помещали в 10%-ный MMR без Ca^{2+} , Mg^{2+} . Измерения начинали через 20–30 с.

г. Вырезание квадратных фрагментов эктодермы площадью ~1 мм² из латеральной области зародышей ст. 19–20. Регистрацию ССИ фрагментов начинали через 20–30 с после их вырезания и продолжали в течение 10 мин, сравнивая с ССИ тех же зародышей до вырезания. Период накопления – 10⁻¹ с.

Анализ полученных результатов и оценку их достоверности проводили в пакете программ STATISTICA и в среде MATLAB. Использовали следующие характеристики ССИ: 1) среднюю интенсивность; 2) куртозис – четвертый момент отклонения от среднего – показатель размеров и частоты наиболее выдающихся пиков сигнала; 3) тангенс угла наклона линейной аппроксимации ССИ в течение заданного периода как показатель линейного тренда; 4) гистограмму – зависимость частоты встречаемости заданного значения сигнала от значения сигнала; 5) спектр Фурье (спектр мощности) по методу периодограмм Уэлча (окно Хэмминга с шириной 25% длины файла, перекрытие окон 50%).

По сравнению с “простым” спектром Фурье использованная модификация имеет много меньшую дисперсию оценки (много меньше “шумовых спектральных линий”) и допускает расчет спектра, усредненного для выборки сигналов (т.е. сигналов, полученных от выборки объектов). Рассчитывали усредненную плотность мощности с ошибкой среднего (доверительный интервал 95%) для каждой спектральной линии. Далее рассчитывали разностные спектры мощности $\Delta P(\omega)$ (разность спектра мощности сигнала объекта и спектра мощности фона) и отбирали спектральные полосы, отличные от нуля с вероятностью $\geq 95\%$. В каждом опыте из-

мерения проводили от одной яйцеклетки или зародыша. Всего для каждой стадии развития сравнивали по семь пар яйцеклетка-зародыш – соответствующий контроль.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика ССИ при активации/оплодотворении яйцеклеток X. laevis. Единственной, но достоверной характеристикой ССИ как активированных без оплодотворения, так и оплодотворенных яйцеклеток оказался отрицательный линейный тренд сигнала (снижение средней интенсивности) – за время ~5 мин после активации и/или оплодотворения. Ни на одной из последующих стадий развития одиночных образцов устойчивых различий по средним трендам (по сравнению с соответствующими контролями) не наблюдали (рис. 1). Ниже представлены тангенсы ($\text{tg } \alpha$) углов наклона линейно аппроксимированных записей ССИ и коэффициента вариации (отношения средних квадратичных к средним) от одиночных образцов различных стадий развития (время накопления – 10⁻² с, длительность измерений – 5 мин; значения достоверны: $p_{3-2} = 0.049$; $p_{4-2} = 0.003$; выделены значения, достоверно отличающиеся от соответствующих контролей).

| Объекты исследования | ($\text{tg } \alpha$) $\times 10^{-7}$ | Коэффициент вариации |
|----------------------------|--|----------------------|
| Фон (кювета с 10%-ным MMR) | 1.72 ± 3.76 | 2.2 |
| Яйцеклетки: | | |
| – неактивированные | -1.25 ± 7.5 | 6 |
| – активированные | -19.80 ± 18.7 | 0.90 |
| – оплодотворенные | -28.50 ± 12.2 | 0.42 |
| Зародыши на стадиях: | | |
| – 2 | -7.70 ± 6.2 | 0.80 |
| – 9 | -7.06 ± 4.2 | 0.60 |
| – 12 | -4.00 ± 9.6 | 2.40 |
| – 19 | -5.70 ± 4.0 | 0.70 |

На ст. 11–12 регистрировали увеличение коэффициента вариации (отношения среднеквадратичного отклонения к среднему) угла наклона, что указывает на отсутствие направленных трендов ССИ в этот период.

Спонтанное ССИ при нормальном развитии. На всех исследованных стадиях развития средние значения ССИ объекта, а также их гистограммы не отличались от фона. Вместе с тем в период синхронных делений дробления значения куртозиса для ССИ яйцеклеток были достоверно выше фоновых ($p = 0.003$ для шести пар образцов яйцеклетка-фон). Записи, сделанные при малых временах накопления

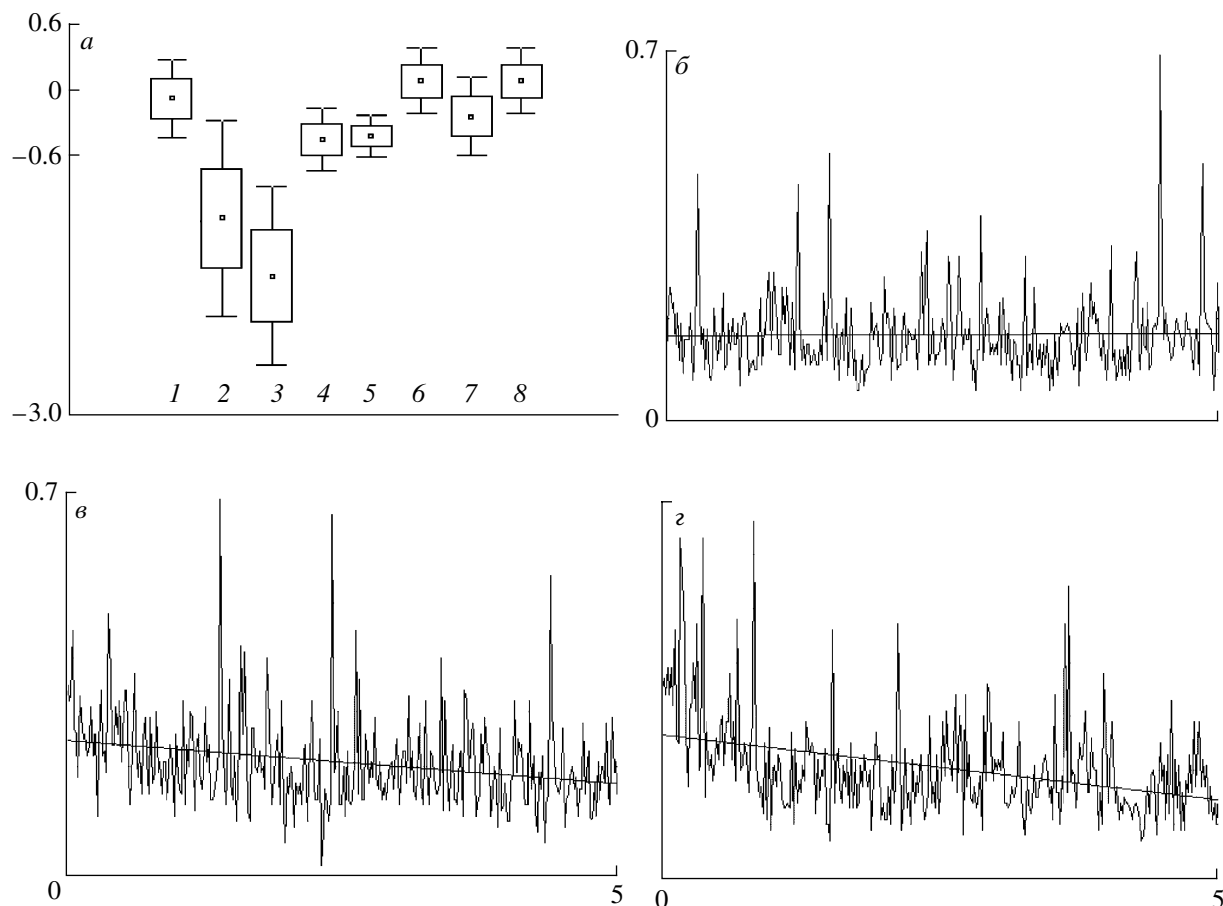


Рис. 1 Линейная аппроксимация записей ССИ. *a* – среднее значение тангенса угла наклона линейной аппроксимации (скорость падения интенсивности ССИ, квант/с/мин) для яйцеклеток *X. laevis*: 1 – неоплодотворенных, 2 – активированных, 3 – оплодотворенных; 4–8 – зародышей стадий 2, 9, 11, 12, 19 соответственно. Пример записи ССИ яйцеклетки (с линейной аппроксимацией) неоплодотворенной (*б*), активированной (*в*), оплодотворенной (*г*).

(10^{-2} и 10^{-3} с) показывают, что высокие значения куртозиса связаны с появлением редких и коротких ($\leq 10^{-3}$ с), но относительно высоких “пиков” ССИ. На более поздних стадиях развития значения куртозиса зародышей от фона достоверно не отличаются.

Анализ спектров Фурье выявил наличие в ССИ зародышей частот, достоверно превышающих фон ($\Delta P(\omega) > 0$) в диапазоне 10^2 –50 Гц на стадиях 2–11 (рис. 2), тогда как у неоплодотворенных яйцеклеток и на всех исследованных более поздних стадиях развития (14, 20 и 23-й) достоверных отличий от фона в этом частотном диапазоне не было. При этом особенно большой и практически шумовой набор частот отмечен для стадии 3 (4 бластомера). Затем, вплоть до стадии 8 (средняя бластула), набор достоверных частот снижался практически до нуля и снова возрастал на стадиях 8–9. Наиболее поздняя стадия, где достоверные частоты еще наблюдались, – средняя гастрюла (стадия 11). Чаще всего встречались частоты в диапазонах 0–5, 15–20 и 30–40 Гц. На некоторых стадиях (особенно на ста-

дии 6 – морула) отмечали большой набор “отрицательных” частот ($\Delta P(\omega) < 0$). Их возможная природа обсуждается ниже.

Оптические взаимодействия групп зародышей. В модификации опыта 2а (см. “Материал и методика”) средняя интенсивность ССИ при установлении одна за другой двух кювет с зародышами (вариант II) была достоверно ниже, чем интенсивность ССИ от одной группы зародышей (вариант I): разность (I) – (II) = 0.075 ± 0.015 ($p = 0.008$). В то же время различия по интенсивности ССИ между двумя оптически взаимодействующими группами зародышей и двумя контрольными (пустыми) кюветами были недостоверны. Это означает, что оптические взаимодействия снижают ССИ до уровня фона.

В постановке опыта 2б наблюдали достоверно больший отрицательный линейный тренд записи ССИ от группы зародышей ст. 19, включающей в себя два, пять и десять образцов, по сравнению с записями от одного зародыша. Ниже представлены тангенсы ($\text{tg } \alpha$) углов наклона линейно аппрок-

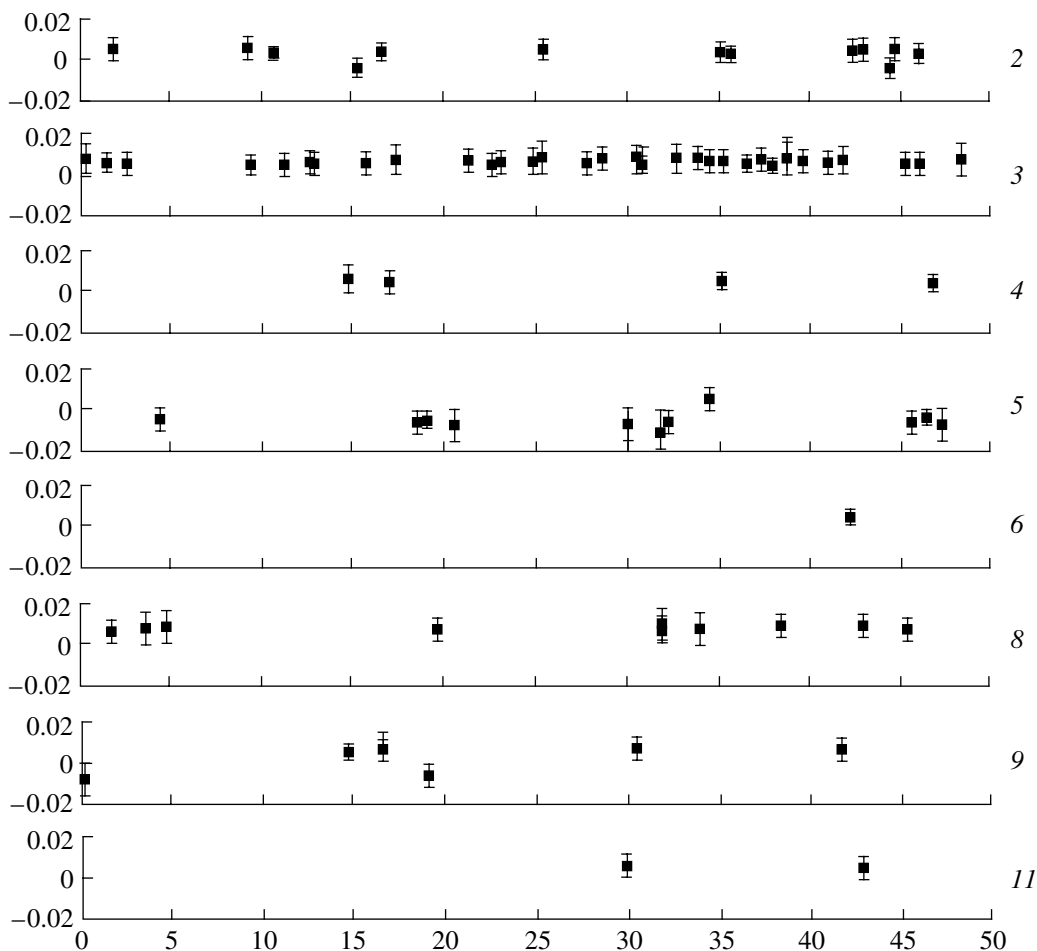


Рис. 2. Диаграммы достоверных различий по спектральным плотностям (по оси ординат, $\Delta P(\omega)$) на различных частотах спектров Фурье в диапазоне 10^{-2} –50 Гц (по оси абсцисс) между яйцеклетками/зародышами и фоном на 2–11-й стадиях развития (указаны справа). Положительные различия (выше нулевых значений) свидетельствуют о наличии у яйцеклеток частот ССИ, достоверно превышающих фоновые.

симированных записей ССИ, относящихся к оптическим взаимодействиям зародышей ст. 19. Времена накопления и длительность измерений указаны выше.

| | |
|---|--------------------------------------|
| Объекты исследования | $(\text{tg } \alpha) \times 10^{-7}$ |
| фон (кювета с 10%-ным MMR) ¹ | -2.2×10.3 |
| один зародыш ² | -5.7×0.4 |
| два–десять зародышей ³ | -14.7×0.7 |

Значения: $p_{2-3} = 0.003$, $p_{1-3} = 0.005$ – достоверны; $p_{1-2} = 0.313$ – недостоверны.

Это тоже указывает на тенденцию к снижению интенсивности ССИ при оптических взаимодействиях групп зародышей.

ССИ при стрессорных воздействиях. Наблюдали статистически достоверные кратковременные подъемы интенсивности ССИ после холодово-

го шока ($p = 10^{-5}$; рис. 3, а), гиперосмотического шока ($p = 0.03$; рис. 3, б) и у свежеизолированного фрагмента зародыша (по сравнению с интактным зародышем до сепарирования этого фрагмента) ($p = 0.03$; рис. 3, в). Средние значения ССИ при холододовом деградационном излучении выглядят так.

| Объекты исследования | Стандартные отклонения | Куртозисы |
|--|------------------------|-----------|
| Фон (кювета с 10%-ным MMR при комнатной температуре) | 1.78 ± 2.47 | 120 |
| Зародыши в 10%-ном MMR: | | |
| – при комнатной температуре | 1.85 ± 2.73 | 138 |
| – при 6°C | 1.88 ± 2.76 | 163 |
| – то же через 20 мин (постепенное нагревание до комнатной температуры) | 2.04 ± 3.05 | 345 |
| – то же через 40 мин | 1.81 ± 2.91 | 466 |

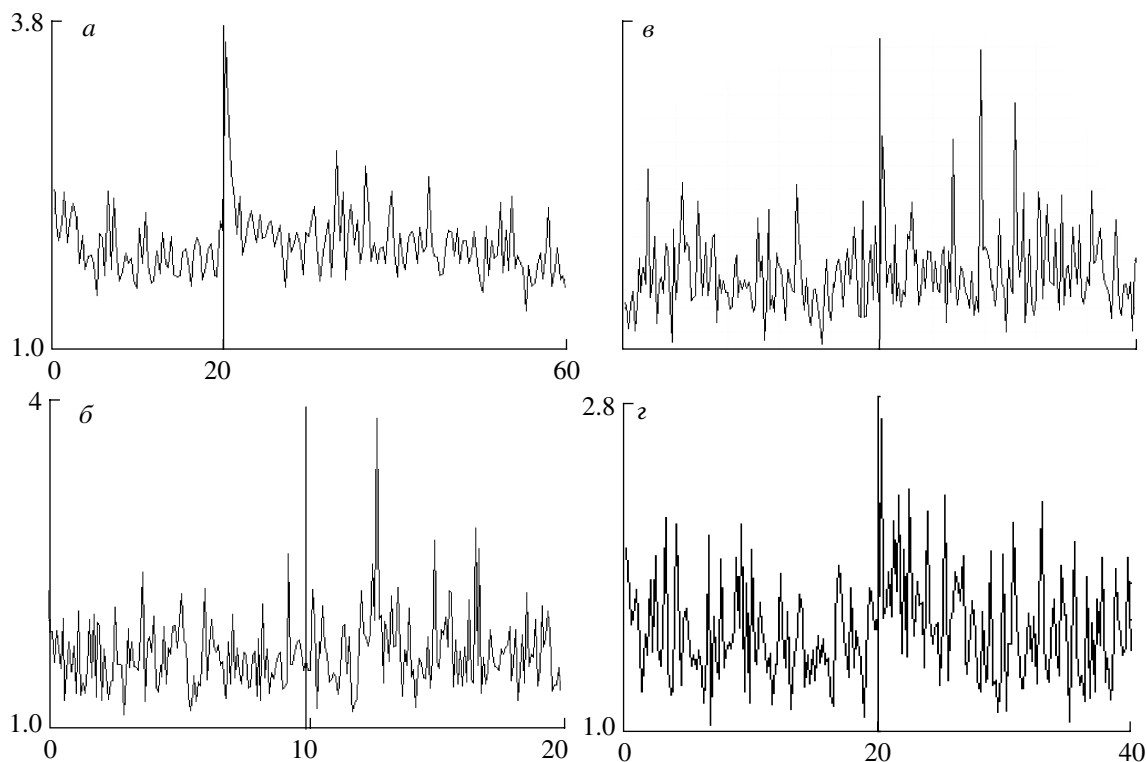


Рис. 3. Записи ССИ при холодном (*a*) и осмотическом (*б*) шоке, в среде без Ca^{2+} , Mg^{2+} (*в*) и у свежесрезанного фрагмента (*г*). Слева от вертикальной черты – интактные образцы, справа – немедленно после воздействий. *a*, *в*, *г* – зародыши ст. 19–20; *б* – зародыш ст. 12 (гаструла). Время накопления – 10^{-1} с. По оси абсцисс – время, мин; по оси ординат – интенсивность ССИ, квант/0.1 с.

Как правило, подъемы средних значений ССИ сопровождался увеличением куртозиса, что указывает на импульсный характер излучений. При этом через 20 мин после холодного шока среднее значение интенсивности ССИ возвращалось к контрольному, а куртозис оставался существенно выше. Гиперосмотический шок тоже сопровождался повышением куртозиса, но ввиду большого разброса этот подъем не достигал порога достоверности.

Данные по действию среды без Ca^{2+} , Mg^{2+} были менее однозначны и в совокупности недостоверны. Мы объясняем это разной индивидуальной чувствительностью зародышей к действию данного фактора. В тех случаях, когда через несколько часов после 20-минутной инкубации в среде без Ca^{2+} , Mg^{2+} наблюдали сильные повреждения зародышей (рассыпание на отдельные клетки), в период инкубации были зарегистрированы “вспышки” ССИ, сопоставимые с таковыми при других стрессорных воздействиях (рис. 3, *в*).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы обнаружили, что ССИ нормально развивающихся зародышей *X. laevis* ни на одной из стадий

развития не превышают по своим средним значениям фонового (ССИ кюветы с инкубационной средой). Однако более тонкий анализ ССИ такие различия выявляет. Они проявляются: 1) в достоверных отрицательных трендах (т.е. в тенденции к падению интенсивности ССИ), регистрируемых в короткие (5-минутные) отрезки времени у активированных и нормально оплодотворенных яйцеклеток; 2) в “избыточном” куртозисе (наличии “вспышек” ССИ, каждая из которых имеет длительность не более 10^{-3} с) в период делений дробления; 3) в присутствии в спектрах Фурье ССИ зародышей 2–12-й стадий развития (но не более поздних или более ранних стадий), достоверно отличающихся от фона частот в области 10–50 Гц, особенно 10–20 и 30–40 Гц.

При этом помимо “появления” спектральных линий ($\Delta P(\omega) > 0$) наблюдается и их “исчезновение” ($\Delta P(\omega) < 0$). Последнее может быть вызвано несколькими причинами:

1. Сдвиг линии в спектре объекта относительно спектра фона. При этом в разностном спектре $\Delta P(\omega)$ появляется пара “сестринских” линий: $\Delta P(\omega) > 0$ и $\Delta P(\omega) < 0$ (рис. 2: см., например, линии в области 44 Гц в спектре ССИ стадии 2).

2. Появление аperiodических импульсов в ССИ объекта, меняющих результирующий спектр Фурье. При этом может наблюдаться как появление новых артефактных линий в спектре, так и их артефактное исчезновение. Однако существование ССИ объекта и его импульсный характер остаются истинными и в этом случае, артефактными являются лишь выявляемые частоты.

3. Явление субрадиации.

Выбор между этими причинами является предметом дальнейшего изучения.

Данные по высокому куртозису и характерным частотам, выявляемым анализом Фурье, несомненно связаны друг с другом. По-видимому, выявляемые частотные спектры основаны на генерации в зародышах 2–11-й стадий коротких (порядка миллисекунд) индивидуальных всплесков ССИ, каждая из которых содержит несколько десятков импульсов и которые отстоят друг от друга на периоды от 0.1 с и выше. Заметим, что данные о высокочастотной (импульсной) природе биологических излучений приводились еще в работах школы Гурвича (Гурвич А., Гурвич Л., 1945). В наших опытах такой частотный режим ССИ связан, прежде всего, с делениями дробления, а также коррелирует с высокой активностью зародышей данных стадий в качестве партнеров оптических взаимодействий (Бурлаков и др., 1999). Было бы привлекательным связать возрастание числа достоверных частот ССИ к стадии 8 с массовой активацией генов зародыша на этой стадии. Для подтверждения этой гипотезы требуются дополнительные исследования, в частности в области более высоких частот. Соответствующие результаты обрабатываются.

Другая группа данных связана с оптическими взаимодействиями групп зародышей, приводящими к снижению их суммарного ССИ до уровня фона. Напомним, что такое снижение регистрировали при установлении кюветы с зародышами *сзади* (относительно окна ФЭУ) от первой кюветы, причем между кюветами отсутствовали химические контакты. В этих условиях падение интенсивности ССИ нельзя объяснить поглощением света из передней кюветы или подавлением ее излучения какими-либо химическими продуктами: наблюдаемый эффект, несомненно, связан исключительно с оптическими взаимодействиями групп образцов. Не обсуждая здесь гипотезу Поппа с соавт. (Popp, Klimek, 2006) о квантовой природе данного эффекта, отметим, что наши данные, по крайней мере, не противоречат ей. Можно также предположить, что отрицательные тренды, наблюдаемые в активированных и естественно оплодотворенных яйцеклетках, имеют ту же природу, что и описанные при взаимодействии групп зародышей. Иными словами, при оплодотворении или активации яйцеклеток в

них пробуждаются тенденции к снижению уровня собственного ССИ.

Третья группа данных относится к регистрации всплесков ССИ после стрессорных воздействий на зародыши (резкое охлаждение, гипертоническая среда, вырезание фрагмента ткани). Эти явления могут быть отнесены к категории “деградационных” излучений (Гурвич А., Гурвич Л., 1945; Slawinski, 1990). Новым в наших опытах является надежная регистрация деградационных излучений с помощью люменометра (школа Гурвича использовала дрожжевые детекторы), а также получение эффектов в условиях гипертонии и в свежесрезанных фрагментах ткани. Эти результаты свидетельствуют о широкой распространенности деградационных излучений и неспецифичности факторов, их вызывающих.

Полученные результаты позволяют надеяться, что анализ ССИ при нормальном развитии и под действием стрессорных факторов может быть использован для тонкой, экспрессной и неинвазивной оценки биологического состояния зародышей и их популяционных взаимодействий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Будаговский А.В.* Дистанционное межклеточное взаимодействие. М.: НПЛЦ “Техника”, 2004. 103 с.
- Бурлаков А.Б., Бурлакова О.В., Голиченков В.А.* Дистантные взаимодействия разновозрастных эмбрионов вьюна // ДАН. 1999. Т. 368. № 4. С. 562–564.
- Гурвич А.Г., Гурвич Л.Д.* Митогенетическое излучение. Физико-химические основы и приложения в биологии и медицине. М.: Медгиз, 1945. 284 с.
- Николаев Ю.А.* Дистантные взаимодействия клеток бактерий // Микробиология. 1992. Т. 61. № 6. С. 1065–1071.
- Belousov L.V., Burlakov A.B., Louchinskaia N.N.* Biophotonic patterns of optical interactions between fish eggs and embryos // Indian J. Exp. Biol. 2003. V. 41. P. 424–430.
- Galle M.* Population density-dependence of biophoton emission from *Daphnia* // Recent advances in biophoton research and its applications / Eds Popp F.-A. et al. Singapore et al.: World Scientific, 1992. P. 345–356.
- Grasso F., Musumeci F., Triglia A. et al.* Self-irradiation effect on yeast cells // J. Photochem. Photobiol. 1991. V. 54. P. 147–149.
- Inaba H.* Ultraweak biophoton imaging and information characterization // Ultrafast and ultra-parallel optoelectronics / Eds Sueta T., Okoshi T. Tokyo: Ohmsa/John Wiley & Sons, 1995. P. 570–580.
- Mieg C., Mei W.P., Popp F.-A.* Technical notes to biophoton emission // Recent advances in biophoton research and its applications / Eds Popp F.-A. et al. Singapore et al.: World Scientific, 1992. P. 197–206.
- Nieuwkoop P.D., Faber J.* Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). Amsterdam: North Nolland, 1956. 243 p.

- Niggli H.J.* Temperature dependence of ultraweak photon emission in fibroblastic differentiation after irradiation with artificial sunlight // *Indian J. Exp. Biol.* 2003. V. 41. P. 419–423.
- Popp F.-A., Klimek W.* Photon sucking as an essential principle of biological regulation // *Biophotonics and coherent systems in biology* / Eds Belousov L.V. et al. Springer, 2006. P. 17–32.
- Scordino A., Triglia A., Musumeci F. et al.* Influence of the presence of atrazine in water on *in vivo* delayed luminescence of *Acetabularia acetabulum* // *J. Photochem. Photobiol. B.* 1996. V. 32. P. 11–17.
- Slawinski J.* Necrotic photon emission in stress and lethal interactions // *Curr. Topics Biophys.* 1990. V. 19. P. 8–27.
- Triglia A., La Malfa G., Musumeci F. et al.* Delayed luminescence as an indicator of tomato fruit quality // *J. Food Sci.* 1998. V. 63. P. 512–515.
- Van Wijk R., Van Aken H., Mei W.P., Popp F.-A.* Light-induced photon emission by mammalian cells // *J. Photochem. Photobiol. B.* 1993. V. 18. P. 75–79.
- Vogel R., Sussmuth R.* Weak light emission from bacteria and their interaction with culture media // *Biophotons* / Eds Jiin-Ju Chang et al. Dordrecht et al.: Kluwer Acad. Publ., 1998. P. 19–46.

Ultraweak Emissions of Developing *Xenopus laevis* Eggs and Embryos

© 2007 г. I. V. Volodyaev and L. V. Belousov

Moscow State University, Leninskie gory, Moscow 119899 Russia

E-mail: morphogenesis@mail.ru

Received December 11, 2006; in final form, April 26, 2007

Abstract—We measured ultraweak emissions of the *Xenopus laevis* eggs and embryos during normal development and under the influence of stress factors in a spectral range of 250 to 800 nm using a photomultiplier. The registered emissions were analyzed by several basic characteristics: mean intensity, histograms, kurtosis, linear trends, and Fourier spectra. We followed relationships between these parameters and developmental stage, as well as the number of individuals in optic contact with each other. The ultraweak emissions did not differ from the background at all developmental stages according to the mean intensity. But Fourier analysis revealed the reliable presence of a number of spectral lines of ultraweak emission, predominantly in the ranges of 10–20 and 30–40 Hz, in the embryos at developmental stages 2 to 11. The intensity of ultraweak emissions reliably decreased within the first 10 min after egg activation and fertilization, as well as in the case of optic interaction between groups of embryos. Sharp cooling, increase in osmotic medium pressure, and transfer in a Ca²⁺- and Mg²⁺-free medium induced a short term (~1–5 min) increase in the mean intensity of ultraweak emission. We studied specific features of ultraweak emissions from different parts of the embryo. The intensity of emission from the animal part of early blastula exceeded those from the vegetal area and entire embryo. Separated fragments of the lateral ectoderm at the neurula stage had higher mean intensities of ultraweak emission than intact embryos at the same developmental stages.

Key words: ultraweak emissions, optic interactions, *Xenopus laevis*, Fourier spectra.