

УДК 535.513:621.378+544.77

КИНЕТИКА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА СРЕДЫ ИНКУБАЦИИ В ПЕРИОД РАННЕГО РАЗВИТИЯ ВЬЮНА *Misgurnus fossilis*

© 2017 г. А. Б. Бурлаков^а, В. И. Кузьмин^б, А. Ф. Гадзаов^б, Д. Л. Тытик^{с,*},
В. Э. Касаткин^с, Л. А. Слепцова^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет
119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

^бМосковский технологический университет (МИРЭА)
119454 г. Москва, проспект Вернадского, д. 78

^сИнститут физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН
119991 г. Москва, Ленинский пр., д. 31

*E-mail: dtytik@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.08.2016 г.

Проведен анализ кинетической кривой изменения окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) водной среды в процессе развития популяции эмбрионов вьюна при температуре 17°C. С помощью новых методов обработки нелинейных сигналов на кинетической кривой ОВП на временном интервале до τ_0 выделена система критических точек, являющихся маркерами периодизации основных рубежей развития эмбрионов. Показано, что τ_0 является естественным параметром периодизации основных морфологических изменений эмбриона, известным в биологии развития.

Ключевые слова: окислительно-восстановительный потенциал, вьюн, эмбриональное развитие

DOI: 10.7868/S0475145017010049

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных проблем биологии является установление взаимосвязей организма со средой. Как правило, большинство работ посвящено исследованию механизмов влияния среды на развитие организма (Светлов, 1954). В настоящее время исследованию фундаментальных механизмов биологии развития посвящены многочисленные работы, поскольку изменения, происходящие от момента оплодотворения яйцеклетки до взрослого многоклеточного организма, ставят вопросы, связанные с формированием постоянно усложняющейся многоуровневой системы. В динамике она проходит ряд стадий: появление многоклеточности в процессе дробления, сложные клеточные перемещения, дифференцировку и взаимодействие разных типов клеток с межклеточными структурами и между собой, что приводит к созданию отдельных органов, объединенных в разные функциональные системы организма. Эмбрион постоянно взаимодействует с окружающей средой через оболочку, как на физическом, так и на химическом уровне (Нейфах, Лозовская, 1984; Бурлаков и др., 2010, 2014; Бурлаков, Лебедева, 2015). Для животных, эмбриональное развитие которых проходит в воде, наи-

более перспективными методами исследования таких процессов являются способы измерения в воде различных параметров, которые напрямую отражали бы функциональное состояние развивающейся системы.

Согласно Н.К. Кольцову (Кольцов, 1936), процесс развития связан с изменением силового поля, создаваемого растущим организмом, и определяется рядом химических, биохимических, электрических, электрохимических взаимодействий между его развивающимися подсистемами. При этом известны стадии развития вьюна, связанные с изменением, как морфологии, так и системы взаимодействий между частями организма (Костомарова, 1976; Белоусов и др., 1990). На границах стадий фиксируется, например, повышенная чувствительность к изменениям характеристик внешней среды. Целью исследования является применение современных электрохимических методов для регистрации изменений окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) водной среды в процессе развития в ней эмбрионов вьюна и использование полученной кинетической зависимости для определения отдельных стадий процесса и точного положения их границ во времени (Бурлаков и др., 2016). Следует отметить, что про-

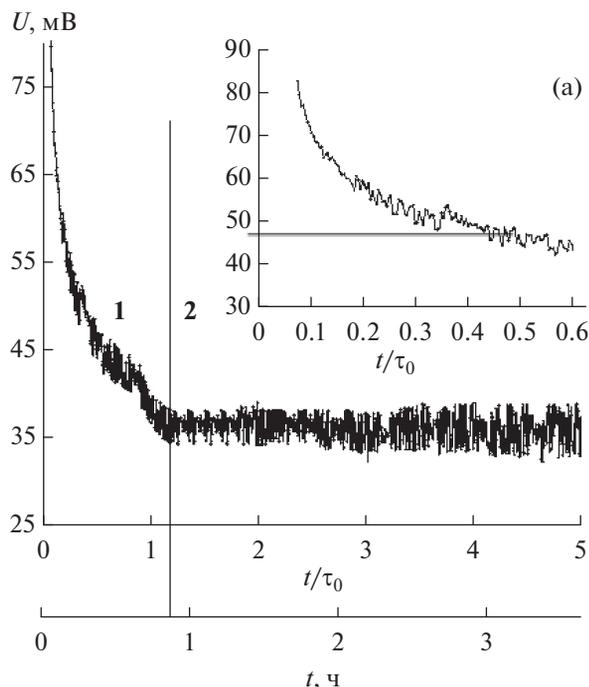


Рис. 1. Кинетика изменения ОВП для ранних стадий эмбрионального развития вьюна.

цессы развития реализуются в разных временных масштабах, что приводит к необходимости использования регулярных методов для выделения соответствующих им компонентов. Как правило, при обработке результатов измерений выделяются характеристики основных тенденций процесса, а все отклонения от них считаются шумами. В (Кузьмин и др., 2014; Касаткин и др., 2015) показано, что шумовая компонента может содержать периодические составляющие, непосредственно связанные с характеристиками общей тенденции процесса.

Современные электрохимические приборы с цифровой регистрацией сделали возможным непрерывный мониторинг окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) водной среды с высокой точностью. Характер изменения ОВП обусловлен изменением физико-химических свойств водной среды разными метаболитами, связанными с динамикой иерархии обменных процессов, происходящих на разных уровнях организации эмбриона. При этом возможность записи, хранения и обработки значений ОВП на длительных временных интервалах позволяет связать его малейшие изменения с различными стадиями развития биологических систем. Анализу таких характеристик и будет посвящена статья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на популяции вьюна *Misgurnus fossilis*, классическом объекте биологии развития. Самок, отловленных из природы, содержали в холодильнике при 4–5°C. Ускоренное созревание самок осуществляли гормональной стимуляцией хорионическим гонадотропином (ХГ) при комнатной температуре, получение половых продуктов и искусственное осеменение проводили по стандартной методике (Костомарова, 1975). Оплодотворенные яйцеклетки тщательно промывали двумя порциями свежей воды. После этого часть зародышей (50 шт.) помещали в электрохимическую ячейку, заливали свежей водой, и устанавливали в термостат с температурой 17°C. При этом включали регистрацию ОВП водной среды в ячейке. Таким образом, регистрация ОВП начиналась через 150–180 с после оплодотворения. Визуальный контроль темпов развития осуществляли, периодически регистрируя стадии развития двух групп эмбрионов той же кладки, содержащихся в условиях, аналогичных экспериментальным (температура, плотность посадки, площадь соприкосновения среды инкубации с воздухом).

Для регистрации ОВП применяли потенциостат ПРС-Місго с выходом на компьютер, обеспечивающий непрерывную запись потенциала индикаторного платинового электрода с интервалом 1 с. В качестве электрода сравнения использовался хлорсеребряный электрод с солевым мостиком для обеспечения электрической связи в изотермической ячейке. При этом были приняты специальные меры для исключения проникновения хлоридов из солевого мостика в водную среду электрохимической ячейки. Всего проведено шесть экспериментов продолжительностью около 4 сут (до стадии вылупления). Все полученные результаты обработаны статистически с использованием определенных приемов (Кузьмин и др., 2014).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кинетика изменения ОВП водной среды во время начальных стадий развития зародышей вьюна

Общая тенденция изменения ОВП свидетельствует о снижении интегральной концентрации окислителей и/или росте концентрации восстановителей в среде в процессе развития эмбрионов. Кинетическая кривая (рис. 1) естественным образом делится по оси времени на две части (вертикальная линия на рис. 1), на одной из которых происходит уменьшение ОВП, а на другой – колебания относительно постоянного уровня. Обращает на себя внимание тот факт, что продолжительность первой стадии в кинетике ОВП согласуется с промежутком времени между двумя митозами в период синхронных делений дробления вьюна (42 мин при температуре инкубации 17°C), опре-

деляющим периодизацию стадий его эмбрионального развития (Игнатъева, 1979; Детлаф, Детлаф, 1982; Белоусов и др., 1990; Детлаф, 2001). Отметим, что большая часть развивающихся эмбрионов в группах, оставленных для визуального контроля, демонстрировала темп развития, соответствующий литературным данным для этой температуры ($\tau_0 = 40\text{--}43$ мин) (Игнатъева, 1979). По данным Г.М. Игнатъевой (Игнатъева, 1979) этому времени соответствует завершение стадии оплодотворения и начала стадий деления клеток. Кроме того, видна нерегулярность в диапазоне $0.8\text{--}0.9 t/\tau_0$, которая приходится на завершение стадии оплодотворения.

Структура данных на первом временном интервале неоднородна и включает несколько стадий. В качестве примера на рис. 1 (сверху) приведен увеличенный фрагмент данных ОВП, относящийся к началу процесса развития эмбрионов и соответствующий модели химической реакции первого порядка (экспонента от уровня).

Рассмотрим способ анализа начального участка ОВП до времени τ_0 (рис. 1а). Для определения точного положения временных границ стадий были использованы методы обработки нелинейных сигналов (Кузьмин и др., 2014, 2015). В их основе лежит исключение колебаний и преобразование нелинейных участков кинетической кривой в линейную форму с определением границ стадий по максимуму коэффициента достоверности (R^2)¹ для каждого участка. Если преобразовать экспериментальные данные в подходящих функциональных координатах, то они укладываются на линейный участок (рис. 2), параметры которого легко определяются (линия регрессии).

Границу линейной тенденции можно уточнить, добавляя/исключая на графике по одной экспериментальной точке, и рассчитывая всякий раз коэффициент достоверности для линии регрессии (R^2). Как только он достигнет максимального значения, эта точка принимается за границу линейного участка.

Аналогичная процедура может быть проведена для поиска значения уровня (горизонтальная линия на рис. 1а), к которому стремятся со временем точки на графике (рис. 1; экспоненциальная зависимость). После максимизации коэффициента достоверности R^2 для экспериментальных данных определено наилучшее приближение для линии уровня, составившее 48 мВ.

$$^1 R^2 = 1 - \frac{SSE}{SST}, \quad SSE = \sum (Y_j - U_j)^2 \quad \text{и} \quad SST = \sum Y_j^2 - \frac{(\sum Y_j)^2}{n}, \quad \text{где } Y_j - \text{исходные данные, } U_j - \text{прогнозные значения (значения аппроксимации).}$$

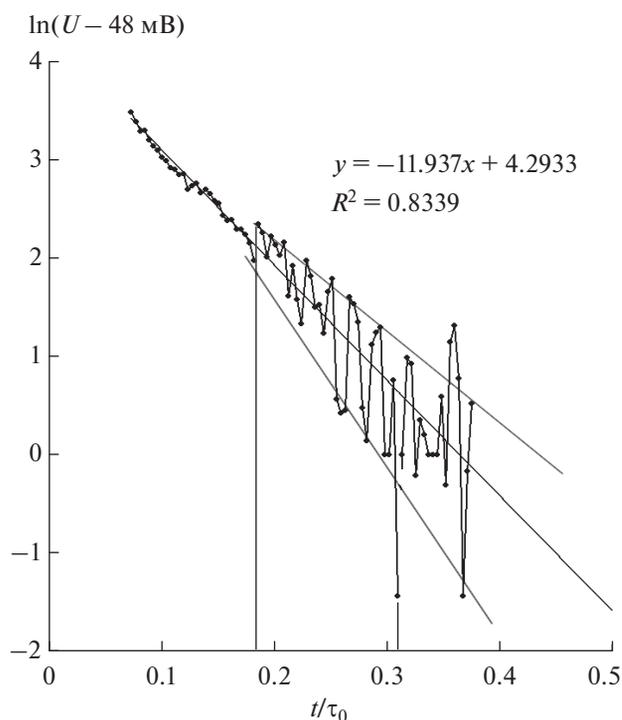


Рис. 2. Анаморфоза начального участка как экспоненты от уровня, приведена формула линии регрессии и коэффициент достоверности R^2 .

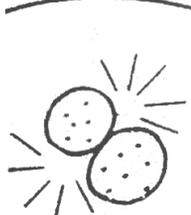
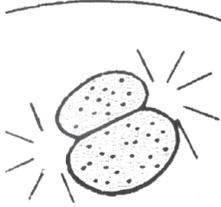
Вычитая значение постоянного уровня из экспериментальных данных, получаем для них в полулгарифмических координатах линию регрессии с коэффициентом достоверности $R^2 \approx 0.83$ (рис. 2). Низкий уровень этого коэффициента указывает на наличие отдельных стадий внутри выбранного временного диапазона. Уточнение границ этих стадий должно привести к увеличению значения R^2 для соответствующих групп точек. Действительно, начальный участок зависимости, представленной на рис. 2 (до $0.1 t/\tau_0$), отклоняется от общего тренда. Правая граница линейного участка данных ОВП маркирует критическую точку (некоторый значимый рубеж развития для эмбрионов выюна).

Прежде чем перейти к детальному анализу кинетической кривой ОВП, остановимся на существующей периодизации начальных этапов развития эмбрионов выюна (Белоусов и др., 1990), представленной в таблице.

Гистологическая иллюстрация ряда процессов, происходящих после оплодотворения яйцеклетки выюна, представлена на рис. 3.

Таким образом, в первые 40–60 минут после осеменения происходят серьезные цитологические преобразования в зародыше, которые в определенной степени могут быть связаны с кинетикой ОВП. Для выявления таких тонких корреляций необходима более глубокая детализация

Периодизации начальных этапов развития эмбрионов вьюна

0.12 t/τ_0 ; 0.18 t/τ_0	При 17°C через 5 минут после осеменения яйцеклетка вступает в анафазу-II деления мейоза. Головка сперматозоида превращается в компактный мужской пронуклеус со слабой лучистостью на стороне, обращенной к поверхности яйца (рис. 3а, 3б). При этой температуре (Белоусов и др., 1990) $\tau_0 = 36$ мин. В результате 5 минутам соответствуют 0.14 τ_0	
0.32 t/τ_0	На 10-й минуте (0.28 τ_0) после осеменения начинается погружение мужского нуклеуса вглубь цитоплазмы яйца, а около пронуклеуса наблюдается интенсивная лучистость. При этом яйцеклетка проходит стадии анафазы и телофазы. Смещение на 1.5 минуты этих значений относительно представленных на рис. 5 рубежей может быть связано с инерционностью процесса диффузии генерируемых эмбрионами веществ до электродов, измеряющих электролитический потенциал	
0.45 t/τ_0	На 20-й минуте (0.56 τ_0) мужской и женский пронуклеусы находятся на очень близком расстоянии друг от друга (рис. 3в, 3г), скорость их погружения одинакова, при этом в цитоплазме происходят активные сократительные движения, из-за чего цитоплазматический бугорок может временно терять свою правильную форму и пронуклеусы могут быть расположены эксцентрично	
0.8 t/τ_0	На 30-й минуте (0.83 τ_0) пронуклеусы приходят в соприкосновение	
1.1 t/τ_0	К 40-й минуте (1.1 τ_0) размеры пронуклеусов достигают максимума, а центросомы обнаруживаются по обе стороны от контактирующих пронуклеусов на уровне границы между ними	

временных интервалов развития с использованием как общего алгоритма обработки дискретных функций (рядов), так и моделей и алгоритмов анализа нелинейных колебаний с трендом.

Отметим, что кроме критических точек, выявляемых в тренде (уровень, к которому стремится экспонента), есть еще колебательная компонента данных, которую, после корректного исключения тренда, также необходимо подвергнуть анализу. В основе обработки данных эксперимента лежит, как правило, сглаживание регистрируемого сигнала и представление его в некотором базисе функций (тригонометрические функции, полиномы). Такой способ часто не отражает во всей

полноте реальную физико-химическую картину исследуемого процесса. Кроме того, с появлением приборов высокого разрешения может быть утрачена важная информация, заключенная в шумовой компоненте сигнала. Для детального анализа трендовых характеристик изменения ОВП (“медленные движения”) и определения периодических компонент в его колебательной составляющей (“быстрые движения”) необходимо корректно решить математическую задачу, которая получила название “задача о разделении быстрых и медленных движений” или “анализ нелинейных колебаний с трендом”.

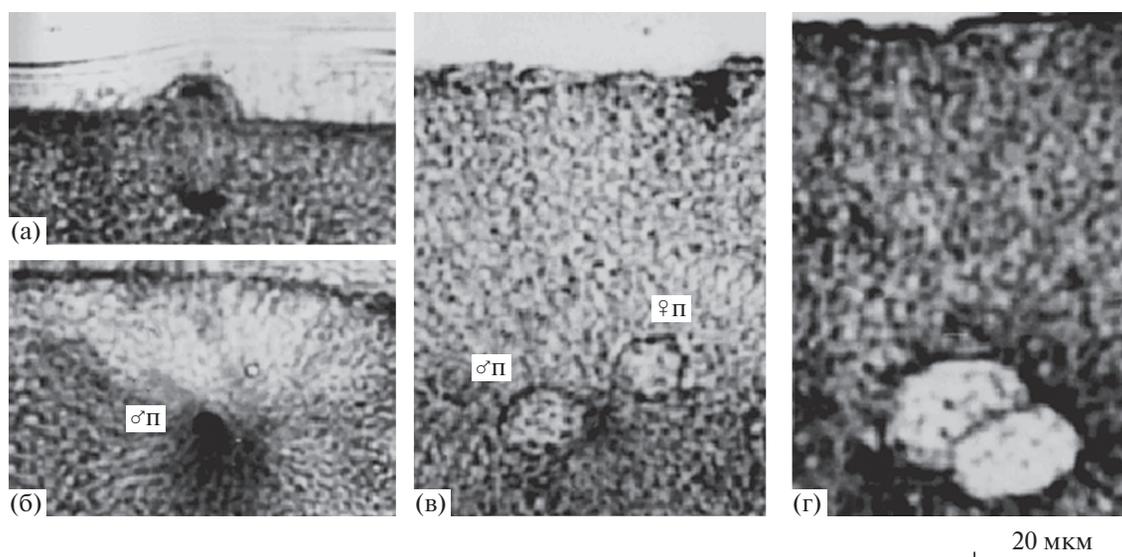


Рис. 3. Гистологическая иллюстрация процессов, происходящих после оплодотворения яйцеклетки вьюна (Дабагян и др., 1981). а – анафаза II мейоза; б – головка сперматозоида с “сиянием”; в, г – сближение пронуклеусов. ♀п – пронуклеус ♀; ♂п – пронуклеус ♂.

Общий алгоритм обработки дискретных функций (рядов). Модели и алгоритмы анализа нелинейных колебаний с трендом

Новый метод решения классической задачи о разделении быстрых и медленных движений был предложен В.И. Кузьминым (Кузьмин и др., 2014), на основе которого был разработан регулярный алгоритм анализа нелинейных сигналов (Кузьмин, Самохин, 2015; Кузьмин, Гадзаов, 2015).

Алгоритм анализа нелинейных колебаний с трендом:

- 1) исключение тренда из исходных данных;
- 2) проверка принадлежности полученного в результате исключения тренда ряда к классу почти-периодических функций;
- 3) построение обобщенной сдвиговой функции для согласования характеристик алгоритмов исключения трендов и получаемых значений почти-периодов;
- 4) сглаживание по почти-периодам для определения характеристик “медленных” движений;
- 5) построение модели тренда;
- 6) анализ связей характеристик на микро- и макро-уровнях и прогнозирование динамики систем по начальным стадиям их развития.

Подробно все эти пункты изложены и обоснованы ранее (Кузьмин и др., 2014), а здесь кратко отметим особенности обработки измерений окислительно-восстановительного потенциала. В зависимости от цели исследования анализ ряда можно начинать с исключения тренда и анализа его колебательной составляющей (быстрая компонента), либо с подбора модели для описания тренда (медленная компонента). Следует отметить определенную условность при выборе при-

ритета в обработке данных, поскольку характеристики процессов на микро- (быстрая компонента) и макро- (медленная компонента) уровне взаимосвязаны и отражают релаксационные характеристики системы, которые, в свою очередь, определяют долгосрочную тенденцию ее развития.

Обычно границы применимости модели устанавливаются преобразованием данных в подхо-

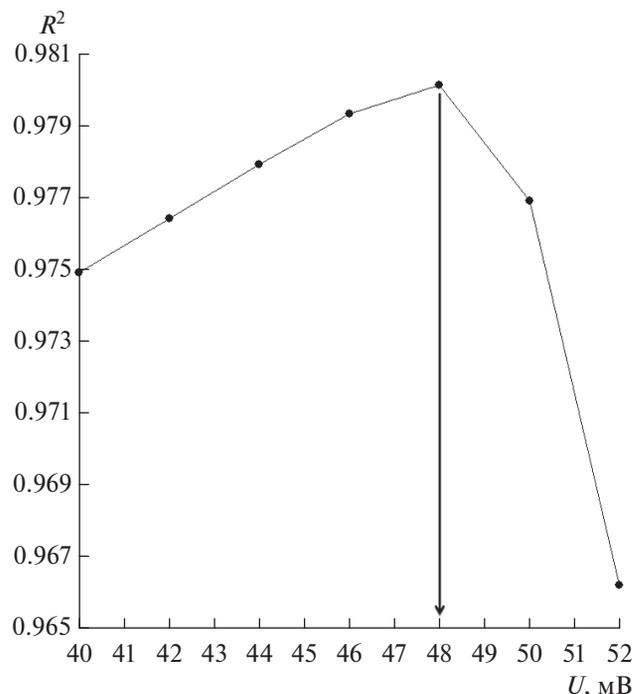


Рис. 4. Зависимость между значением R^2 и пробным уровнем для экспоненты на интервале до $0.32 t/\tau_0$.

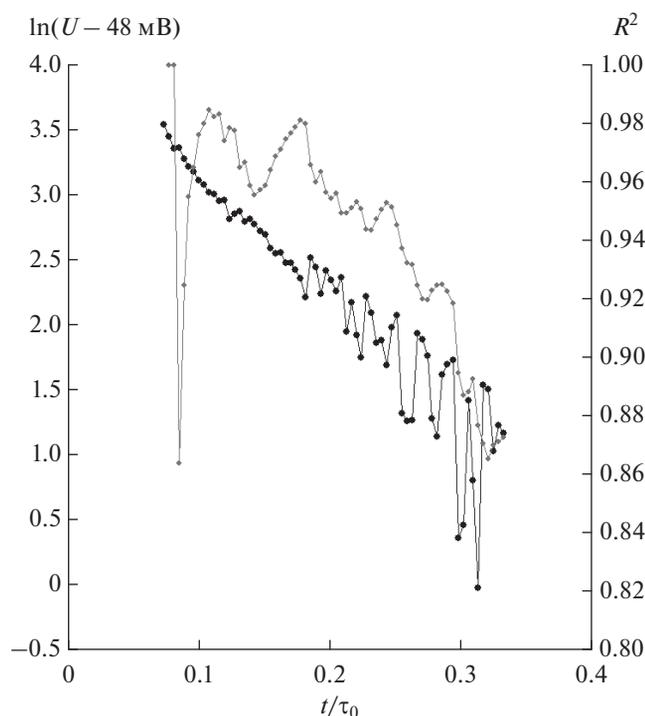


Рис. 5. Зависимость между R^2 и возрастом, выраженным в τ_0 для начального участка данных в сопоставлении с данными рис. 2.

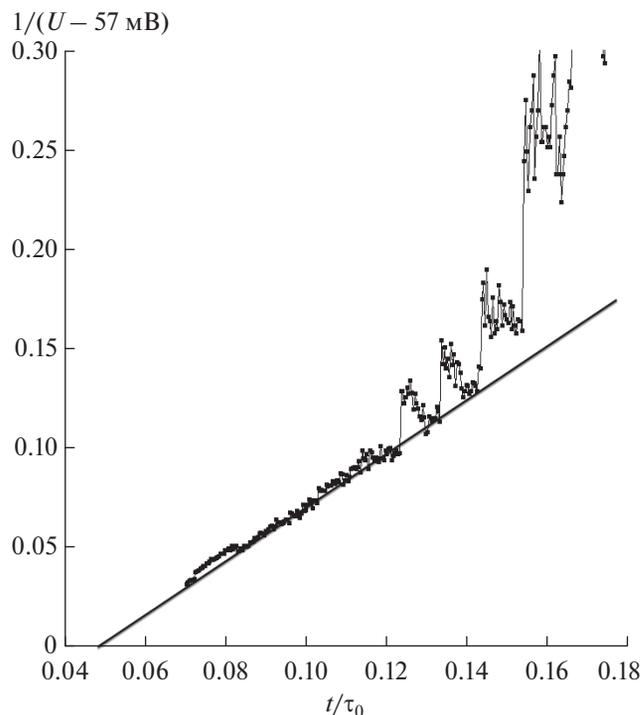


Рис. 6. Начальный участок кинетической кривой изменения ОВП водной среды инкубации.

дящих функциональных координатах, в которых они выравниваются (построение линии регрессии). При этом на графике величина отклонения экспериментальных точек от линии регрессии служит простым критерием их близости к выбранной модели. Этот критерий можно сделать эффективнее максимизацией коэффициента достоверности R^2 , при поточечном расширении (сужении) обрабатываемого ряда (рис. 4). Достаточно сильное отклонение значения R^2 от 1 может указывать на неоднородность данных на выбранном интервале (рис. 1), что требует более детального их анализа (рис. 5).

Выше на рис. 2 представлена анаморфоза, соответствующая линеаризации начального участка для данных измерения ОВП, но прежде чем ее построить, необходимо определить положение линии уровня, то есть уровня, к которому стремится экспонента на временном интервале до $0.32 t/\tau_0$. На рис. 4 приведена иллюстрация процедуры максимизации значения R^2 при определении наиболее достоверного значения этого уровня (48 мВ).

Однако более детальный анализ начального участка кинетической кривой ОВП показывает наличие двух максимумов значений R^2 на графике $R^2 = f\left(\frac{t}{\tau_0}\right)$ (рис. 5) на участке от $0.08 t/\tau_0$ до $0.2 t/\tau_0$, соответствующих $0.12 t/\tau_0$ и $0.18 t/\tau_0$. Вто-

рое из этих значений соответствует выделенной выше величине, как совпадающей со временем смены характера колебаний на рис. 2. Таким образом, детальная максимизация значения R^2 выделяет дополнительный временной диапазон до $0.12 t/\tau_0$, что подтверждается сменой наклона тренда после этого значения (рис. 2).

Проведенный анализ показывает, что участок до $0.15 t/\tau_0$, где на рис. 5 по R^2 отмечается переход между доминирующими механизмами описания кинетики, надо рассматривать самостоятельно.

На участке кинетики ОВП до $0.12 \tau_0$ процесс определяется как гипербола от фиксированного по ОВП значения уровня, равного 57 мВ (эта величина определяется так же, как в случае, представленном на рис. 5).

$$U - U_0 = \frac{1}{a(t/\tau_0) + b},$$

где t – время после оплодотворения (рис. 2). Отметим, что, получив модель начального участка кинетической кривой изменения ОВП, можно оценить начальную точку этого процесса, которая определяется пересечением линии регрессии с осью абсцисс и составляет $0.045 t/\tau_0$ (рис. 6).

Перейдем к анализу колебательной компоненты ОВП. Данные до $1 \tau_0$ представляют собой тренд и колебания относительно него. Для дета-

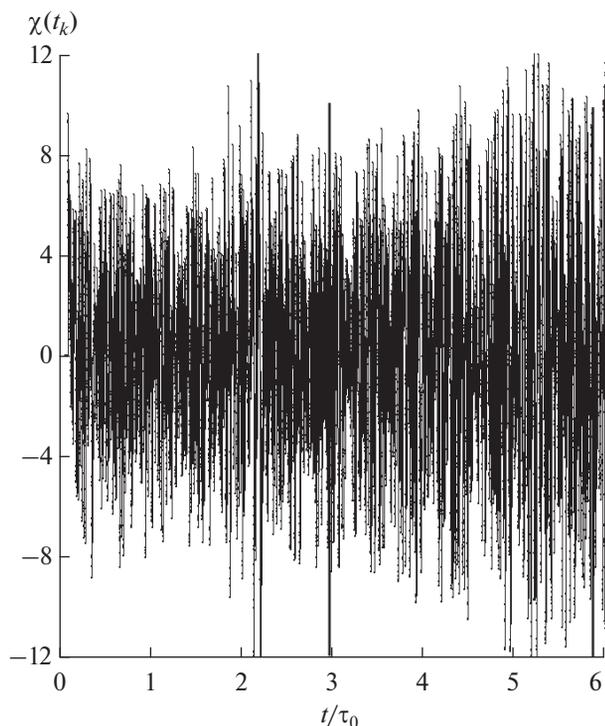


Рис. 7. Результат исключения тренда из исходных данных ОВП (рис. 1).

лизации характеристик периодических компонент колебаний относительно тренда требуется из исходных результатов измерений исключить тренд.

Периодические компоненты в данных о динамике $U(t_k)$ (где t_k – моменты регистрации ОВП)

можно определить, воспользовавшись преобразованием исходного ряда в новый ряд по формуле

$$\chi(t_k) = \ln \frac{U(t_k - \Delta t_m)U(t_k + \Delta t_m)}{U(t_k)^2}, \quad (1)$$

где $U(t_k - \Delta t_m)$, $U(t_k)$, $U(t_k + \Delta t_m)$ – значения ОВП в соответствующие моменты времени, Δt_m – фиксированный пробный временной интервал. Результатом преобразования является ряд $\chi(t_k)$ с близким к нулю значением математического ожидания. Результат исключения тренда в соответствии с преобразованием (1) представлен на рис. 7.

Таким образом, исходная зависимость ОВП (рис. 1) преобразована к виду, содержащему только колебательную компоненту с нулевой средней величиной, для которой вычисляется сдвиговая функция (Кузьмин и др., 2014) по формуле

$$a(\tau_k) = \frac{1}{n-k} \sum_{j=1}^{n-k} |\chi(t_j + \tau_k) - \chi(t_j)|. \quad (2)$$

Приведенная формула (2) используется для дискретного временного ряда $\chi(t_j)$ на интервале длительностью T (исходного ряда данных). Интервал дискретизации равен $\frac{T}{n-1}$ (где n – общее число отсчетов функции) и определяет точность измерений динамики ОВП по времени. Здесь $\tau_k = k \frac{T}{n-1}$ пробный период, $1 \leq k \leq \frac{3}{4}n$. Минимумы этой функции определяют наиболее близкие к

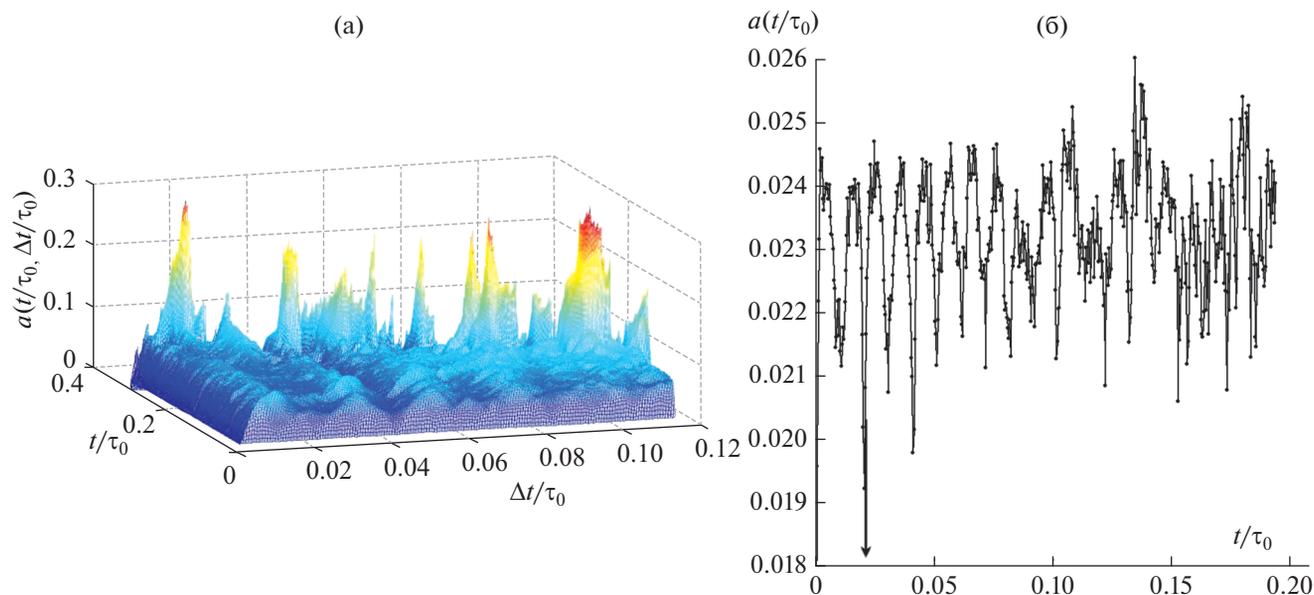


Рис. 8. Обобщенная сдвиговая функция участка от 0 до $0.3 t/\tau_0$ (а); фрагмент (разрез) обобщенной сдвиговой функции участка от 0 до $0.3 t/\tau_0$ (б).

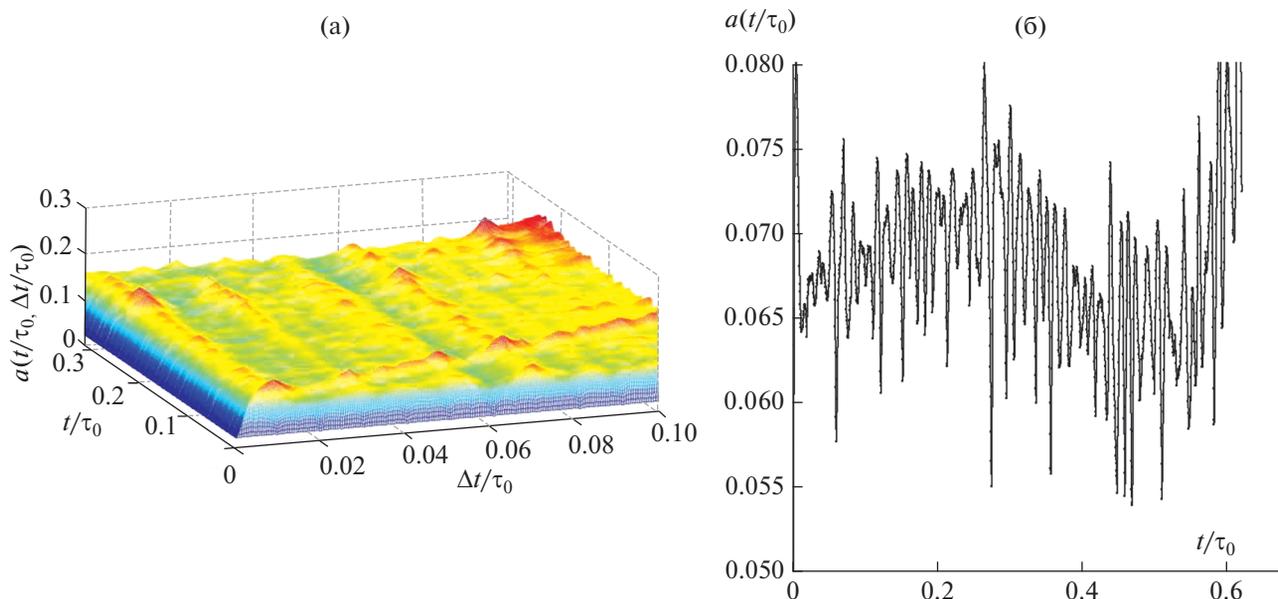


Рис. 9. Обобщенная сдвиговая функция участка от 0.32 до 0.9 t/τ_0 (а); фрагмент (разрез) обобщенной сдвиговой функции участка от 0.3 до 1 t/τ_0 (б).

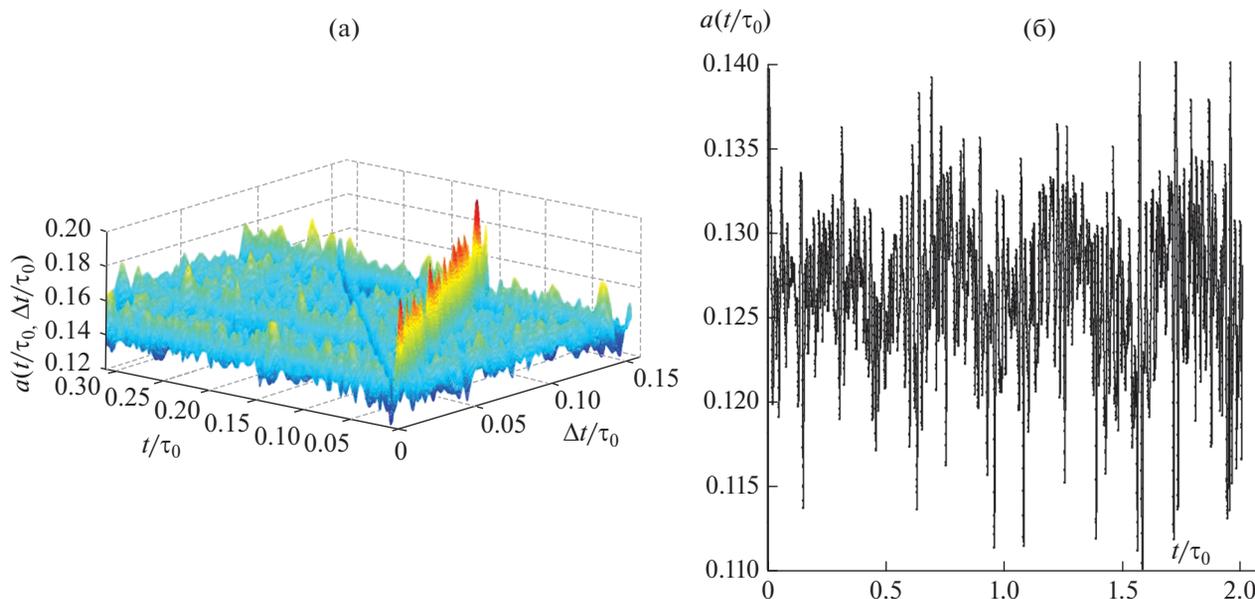


Рис. 10. Обобщенная сдвиговая функция участка от 3 до 6 t/τ_0 (а); фрагмент (разрез) обобщенной сдвиговой функции участка от 3 до 6 t/τ_0 (б).

периодам временные интервалы, называемые почти-периодами (Кузьмин и др., 2014).

Для согласования алгоритмов исключения тренда и определения наиболее близких к периодам компонент целесообразно рассматривать обобщенную сдвиговую функцию $a(\tau_k, \Delta t_m)$, наиболее глубокие минимумы которой и определяют значения наиболее близкие к периодам временных интервалов.

Для данных в интервале значений до 0.32 τ_0 обобщенная сдвиговая функция представлена на рис. 8а. На рис. 8б представлен срез обобщенной сдвиговой функции $a(\tau_k, \Delta t_m)$, откуда видно, что почти-период равен 52 с.

На данных рис. 1 видна нерегулярность в диапазоне 0.8–0.9 t/τ_0 , которая приходится на завершение стадии оплодотворения. Здесь по данным (Нейфах, Лозовская, 1984) активация яйца во время

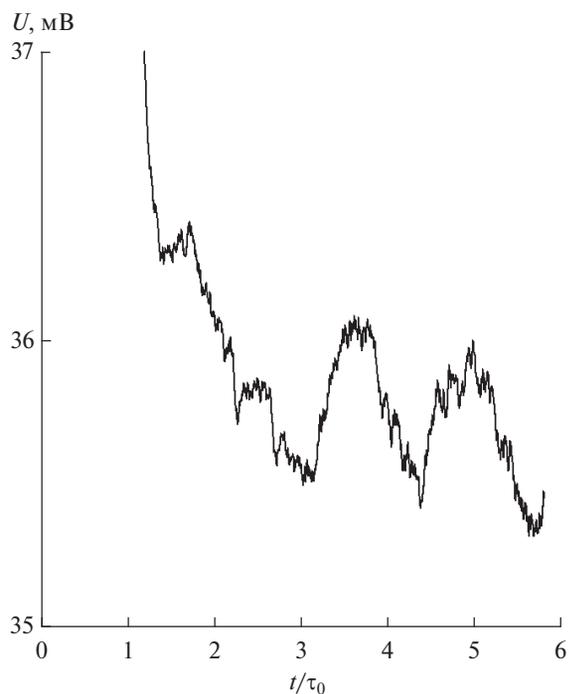


Рис. 11. Сглаженные исходные данные ОВП по интервалу t/τ_0 .

осеменения приводит к выделению им в воду ионов кислорода (O^-), инактивирующих другие сперматозоиды. Обработка результатов измерений ОВП для временного диапазона от 0.32 до $0.9 t/\tau_0$ показы-

вает реализацию модели реакции первого порядка при уровне, к которому стремится экспонента, равному 27 мВ.

На рис. 9а представлена обобщенная сдвиговая функция для временного диапазона от 0.32 до $0.9 t/\tau_0$ и ее разрез (рис. 9б) при минимальном значении Δt .

Для стационарного участка (рис. 1, область 2) обобщенная сдвиговая функция на временном интервале от 3 до $6 t/\tau_0$ представлена на рис. 10а.

На рис. 10б выделяются почти-периоды длительностью около τ_0 и $1.5 \tau_0$. Для определения трендовых характеристик процесса проведем сглаживание по почти-периоду τ_0 , результаты которого представлены на рис. 11. Действительно, после сглаживания выделяются регулярные колебания длительностью около τ_0 , что и показывает наличие трендовых составляющих характеристик процесса на интервале стационарных колебаний (рис. 1, область 2). Отметим, что период синхронных делений дроблений τ_0 , как основная характеристика, лежащая в основе периодизации эмбрионального развития (Доронин, Голиченков, 2006), воспроизводится в результатах измерений ОВП.

Рассмотрим структуру колебаний с периодом τ_0 (рис. 11). Для этого сместим их по уровню на 35.4 мВ (рис. 12а), чтобы детально исследовать первую полуволну. На рис. 12б проведена идентификация модели Гомперца, что соответствует

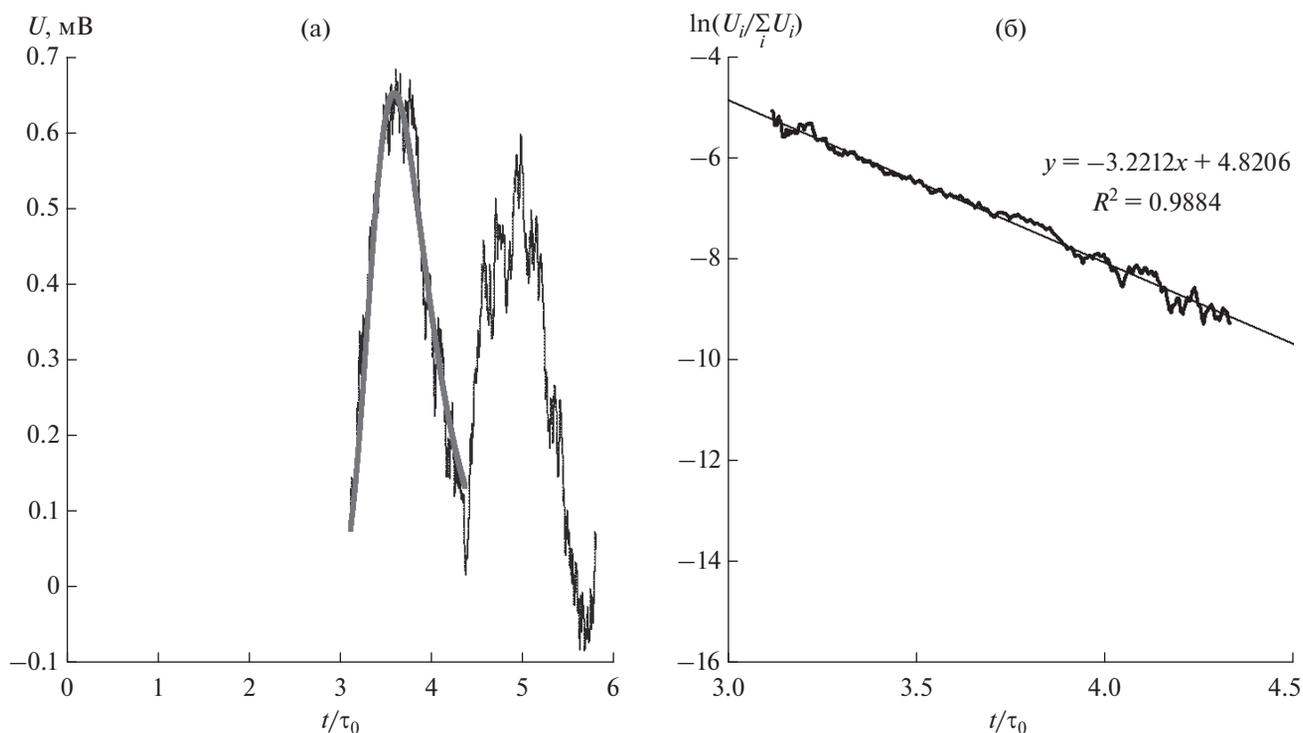


Рис. 12. Сглаженные исходные данные ОВП по интервалу t/τ_0 . Сравнение первой полуволны с моделью Гомперца (а); анаморфоза данных с рис. 12а. Ось ординат — логарифм отношения текущего значения ОВП к накопленному значению ОВП (б).

классическому процессу ограниченного роста. Вторая полуволна полностью воспроизводит параметры этого процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что первая стадия развития эмбрионов выюна соответствует переходному режиму, предшествующему реализации стационарных механизмов функционирования системы эмбриона. При этом естественная периодизация процессов, происходящих при развитии эмбрионов, может быть проведена формально на основе методов обработки нелинейного сигнала ОВП. Отметим также, что выделение точных границ стадий развития эмбрионов выюна существенно для определения типа органических реакций, сопровождающих их развитие.

Детализация результатов измерения ОВП водной среды в процессе развития эмбрионов приводит к выделению последовательности рубежей, которые качественно соответствуют значимым границам ранних стадий в развитии эмбрионов выюна. Например, отмечено, что в процессе развития эмбрионов происходит потребление растворенного кислорода из водной среды и выделение в нее продуктов их метаболизма. Так, в (Нейфах, Лозовская, 1984) отмечается, что “активация яйца приводит к выделению им в воду ионов кислорода (O^-), инактивирующих другие сперматозоиды”. Следовательно, окислительно-восстановительное равновесие в системе неизбежно должно изменяться и отражаться на величине ОВП водной среды. Именно поэтому измерения ОВП и были использованы для анализа развития эмбрионов с момента оплодотворения до образования 16 бластомеров. Цитология процессов, происходящих с момента оплодотворения до образования 2-х бластомеров, подробно исследована в (Дабагян и др., 1981; Белоусов и др., 1990), а последующих стадий развития в (Костомарова, 1975).

Самостоятельного анализа требуют данные, соответствующие колебаниям в измерениях ОВП относительно постоянного уровня в области 2 (рис. 1). Сглаживание этих данных по почти-периоду (рис. 11) показывает наличие колебаний с длительностью близкой к τ_0 , что подтверждает значимость этого показателя, как базовой характеристики периодизации стадий эмбрионального развития выюнов. В результате приведенной в статье обработки временного ряда измерений ОВП водной среды, в которой происходило развитие популяции эмбрионов выюна, получена последовательность критических точек, совпадающих с границами основных стадий развития выюна (Костомарова, 1975; Дабагян и др., 1981; Белоусов и др., 1990).

Полученная в эксперименте кинетическая кривая изменения ОВП водной среды представ-

ляет собой суперпозицию процессов, происходящих в разных временных масштабах (быстрые и медленные процессы). Медленные процессы являются как последовательность нелинейных участков кривой с нечеткими границами между стадиями. Быстрые процессы представлены колебаниями около основной тенденции. Существует глубокая связь между параметром модели, описывающей однородный участок кинетической кривой и параметром колебательного процесса около основной тенденции (почти-период) (Кузьмин, Самохин, 2015). Обратная величина значения основного почти-периода колебательного процесса (быстрый процесс) является параметром модели основной тенденции (медленный процесс) (Кузьмин, Гадзаов и др., 2015).

Таким образом, проведенные исследования показали, что измерения ОВП водной среды, в которой идет развитие эмбрионов, могут использоваться для определения точных положений ряда границ важных стадий развития, как основы для дальнейших детальных биохимических экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 16-03-00665 и Минобрнауки, грант № 3481 “Фильтр”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белоусов Л.В., Дабагян Н.В., Чунаева М.З. Пособие к большому практикуму по эмбриологии. Ч. 1. М.: Изд-во МГУ, 1990. 104 с.
- Бурлаков А.Б., Капранов Ю.С., Куфаль Г.Э. и др. К вопросу о механизме взаимодействия биологических объектов // Электромагнитные волны и электронные системы. 2010. Т. 15. № 11. С. 44–53.
- Бурлаков А.Б., Лебедева Н.Е. Адекватность биологических моделей при исследовании влияния сверхмалых доз воздействий химической и физической природы // Научные труды VII Международного конгресса “Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине”. С.-Петербург 7–11 сентября 2015. Санкт-Петербург, “Оккервиль”. С. 21–22.
- Бурлаков А.Б., Бурлакова О.В., Голиченков В.А. Роль оболочек зародышей амфибий в адаптации организма к внешним воздействиям // Сложные системы 2014. № 3. С. 32–47.
- Бурлаков А.Б., Кузьмин В.И., Гадзаов А.Ф. и др. Окислительно-восстановительный потенциал водной среды как индикатор стадий развития эмбрионов выюна // Вопросы образования и науки. Сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции 31 мая 2016 г. 2016. Ч. 1. С. 23–25.
- Дабагян Н.В., Слепцова Л.А., Балданова Д.Р. и др. Оплодотворение и раннее дробление яйцеклеток выюна (*Misgurnus fossilis* L.) // Журн. общ. биол. 1981. Т. 242. № 3. С. 440–447.

- Детлаф Т.А.* Температурно-временные закономерности развития пойкилотермных животных. М.: Наука, 2001. 211 с.
- Детлаф Т.А., Детлаф А.А.* Безразмерные критерии как метод количественной характеристики развития животных // В сб.: Математическая биология развития. М.: Наука, 1982. С. 25–39.
- Доронин Ю.К., Голиченков В.А.* Временной модуль онтогенеза. М.: МГУ, 2006. 116 с.
- Игнатъева Г.М.* Ранний эмбриогенез рыб и амфибий. М.: Наука, 1979. 175 с.
- Касаткин В.Э., Тытик Д.Л., Ревина А.А. и др.* Электрохимический синтез наночастиц железа и платины в деионизованной воде // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2015. Т. 51. № 6. С. 618–624.
- Кольцов Н.К.* Организация клетки. М.-Л.: БИОМЕДГИЗ, 1936. 652 с.
- Костомарова А.А.* Вьюн *Misgurnus fossilis* L. // В кн. Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 309–323.
- Кузьмин В.И., Тытик Д.Л., Гадзаов А.Ф. и др.* Дискретность и непрерывность в свойствах физико-химических систем. М.: Наука, ФИЗМАТЛИТ, 2014. 176 с.
- Кузьмин В.И., Гадзаов А.Ф., Тытик Д.Л. и др.* Кинетика образования наночастиц серебра в обратных мицеллах. 1. Интегральные модели и связь их параметров с процессами на микроуровне // Коллоидный журнал. 2015. Т. 77. № 4. С. 477–491.
- Кузьмин В.И., Гадзаов А.Ф.* Математические методы анализа периодических компонент нелинейных процессов и прогнозирование динамики ограниченного роста на их основе // Вестник МГТУ МИРЭА. 2015. Т. II. № 4. С. 94–104.
- Кузьмин В.И., Самохин А.Б.* Почти-периодические функции с трендом // Вестник МГТУ МИРЭА. 2015. Т. II. № 4. С. 105–107.
- Нейфах А.А., Лозовская Е.Р.* Гены и развитие организма. М.: Наука, 1984. 192 с.
- Светлов П.Г.* Теория критических периодов развития и ее значение для понимания принципов действия среды на онтогенез // В сб.: Вопросы цитологии и общей физиологии. Л., 1954. С. 253–285.

Dynamics of the Incubation Medium Redox Potential during Early Development Stages of *Misgurnus fossilis* Loach

A. B. Burlakov^a, V. I. Kuzmin^b, A. F. Gadzaov^b, D. L. Tytik^{c,*}, V. E. Kasatkin^c, and L. A. Sleptsova^a

^aDepartment of Biology, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

^bMoscow Technological University (MIREA), Moscow, 119454 Russia

^cFrumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: dtytik@yandex.ru

Received August 29, 2016

The analysis of kinetic curve of the changes of redox potential (ORP) of aqueous medium in the process of loach embryo population development at 17°C was conducted. The system of critical points defining periodization of the major stages of embryo development was identified on the ORP curve in the time interval up to τ_0 using novel methods for processing of nonlinear signals. It was shown that τ_0 was a natural periodization parameter of main morphological changes in an embryo known in the developmental biology.

Keywords: redox potential, loach, embryonic development