

УДК 597.554.3.538

ДЕЙСТВИЕ ФЛУКТУАЦИЙ МАГНИТНОГО ПОЛЯ, ИМИТИРУЮЩИХ ГЕОМАГНИТНУЮ АКТИВНОСТЬ, ВО ВРЕМЯ ЭМБРИОГЕНЕЗА НА АМИЛОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ В КИШЕЧНИКЕ СЕГОЛЕТКОВ ПЛОТВЫ *RUTILUS RUTILUS* (L.)

**И. Л. Голованова, А. А. Филиппов, Ю. В. Чеботарева,
Ю. Г. Изюмов, В. В. Крылов**

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН

Исследованы отдаленные последствия действия флуктуаций магнитного поля, имитирующих главную фазу и начальный период фазы восстановления геомагнитной бури (ИГВФМБ) в диапазоне 0–0,001 Гц, на размерно-массовые показатели и амилолитическую активность в кишечнике сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* (L.). Эмбрионы были экспонированы в ИГВФМБ с интенсивностью 100, 300 и 500 нТл в периоды до (1–6 ч после оплодотворения) и после (33–39 ч после оплодотворения) гастрюляции. Контрольная группа находилась в условиях естественного магнитного поля. Длина и масса сеголетков, подвергшихся воздействию ИГВФМБ после гастрюляции, были ниже, а амилолитическая активность и значения константы Михаэлиса (K_m) гидролиза крахмала в кишечнике рыб опытных групп были выше, чем у рыб контрольной группы. У рыб опытных групп относительная активность ферментов в зоне температуры жизнедеятельности была выше, а температурный оптимум гидролиза крахмала шире и сдвинут к 40 °С по сравнению с контролем (50 °С). Максимальное влияние на изученные показатели выявлено при действии ИГВФМБ 100 нТл на эмбрионы после гастрюляции. Величина и направленность наблюдаемых эффектов зависели от интенсивности ИГВФМБ и стадии эмбриогенеза, когда проводилась экспозиция.

Ключевые слова: рыбы; плотва *Rutilus rutilus*; пищеварение; амилолитическая активность; магнитное поле; эмбриогенез.

**I. L. Golovanova, A. A. Filippov, Yu. V. Chebotareva, Yu. G. Izyumov,
V. V. Krylov. DIGESTIVE GLYCOSIDASE ACTIVITY IN ROACH *RUTILUS
RUTILUS* (L.) UNDERYEARLINGS AFTER THE ACTION OF SIMULATIONS
OF GEOMAGNETIC ACTIVITY ON EMBRYOS**

The delayed consequences of the impact of a simulation of the main phase and the initial period of the recovery phase of a typical geomagnetic storm (SMRGMS) in the range of 0–0.001 Hz on roach (*Rutilus rutilus* (L.)) embryos were studied. The embryos were exposed to SMRGMS with intensities of 100, 300 and 500 nT before (1–6 h post fertilization) and after (33–39 h post fertilization) gastrulation. The control group was under natural magnetic field. The length and weight of underyearlings exposed to SMRGMS after gastrulation were lower compared to the control. The amylolytic activity and the Michaelis constant (K_m) of starch hydrolysis in the intestine of fish from experimental groups were higher than in the control group. The relative enzyme activity in vital tem-

peratures was higher and the temperature optimum of starch hydrolysis was wider and shifted to 40 °C in fish from experimental groups as compared with the control (50 °C). Maximum effects were revealed after the exposure of embryos to SMRGMS 100 nT after gastrulation. The magnitude and direction of observed effects depended on the intensity of SMRGMS and time intervals in embryogenesis when the exposures were carried out.

Key words: fish, roach *Rutilus rutilus*; digestion; amylolytic activity; magnetic field; embryogenesis.

Введение

Жизнеспособность отдельных организмов и их сообществ в значительной мере зависит от эффективности питания. Пищеварение, занимающее центральное место в процессах экзотрофии, обеспечивает начальные этапы ассимиляции пищи. Рыбы обладают необходимым набором ферментов для эффективного гидролиза основных компонентов корма, и активность пищеварительных ферментов может меняться при действии природных и антропогенных факторов [Уголев, Кузьмина, 1993; Golovanova et al., 1994, 2013]. Отдаленные последствия действия различных агентов в эмбриональный период представляют особый интерес, поскольку ранний онтогенез является наиболее чувствительной стадией развития организма к действию внешних факторов.

Плотва *Rutilus rutilus* (L.) – широко распространенный вид, по типу питания бентофаг – факультативный фитофаг. Молодь плотвы питается фито- и зоопланктоном, и активность пищеварительных гликозидаз – ферментов, гидролизующих углеводы, в этот период у нее максимальна [Уголев, Кузьмина, 1993]. В настоящее время убедительно доказана высокая чувствительность пищеварительных гидролаз плотвы к действию физических (температура, электромагнитное поле) и химических агентов (медь, хлорофос, нитрозогуанидин) в эмбриональный период [Кузьмина, Таликина, 1998; Голованова, Таликина, 2006; Голованова и др., 2006, 2008, 2013]. В последние годы появились работы по влиянию естественных флуктуаций магнитного поля Земли – магнитных бурь (МБ) – на пищеварительные ферменты рыб [Krylov et al., 2014; Кузьмина и др., 2014, 2015; Голованова и др., 2015]. Установлено, что имитация сильной МБ в период эмбриогенеза впоследствии приводит к изменениям активности, температурных и кинетических характеристик кишечных гликозидаз и их чувствительности к действию тяжелых металлов (Cu, Zn) и органических загрязнителей (гербицид Раундап)

у сеголетков плотвы [Filippov et al., 2014, 2015; Голованова и др., 2015; Филиппов и др., 2015]. Воспроизведение сигналов естественной МБ, а также ее отдельных фаз и частотных диапазонов показало, что значимые биологические эффекты вызывают главным образом медленные изменения геомагнитного поля в диапазоне 0–0,001 Гц во время главной фазы и начальных этапов фазы восстановления МБ [Krylov et al., 2014]. Во время этого эффективного интервала наблюдается максимальный размах флуктуации геомагнитного поля.

Эмбриогенез рыб – это сложный этапный процесс, формирование различных систем и органов происходит в разные временные промежутки развития. Однако сведения об отдаленных последствиях действия флуктуаций магнитного поля, имитирующих естественные процессы, в разные периоды эмбриогенеза на пищеварительную функцию рыб единичны [Голованова и др., 2015]. В указанной работе был использован лишь один сигнал сильной МБ с размахом амплитуды флуктуаций магнитного поля около 300 нТл. Однако интенсивность природных МБ варьирует. Вполне вероятно, что действие разных по интенсивности МБ во время раннего развития будет вызывать разные биологические эффекты.

Цель работы – изучить отдаленные последствия имитации главной фазы и начального периода фазы восстановления геомагнитной бури (ИГВФМБ) с различной интенсивностью во время разных промежутков эмбриогенеза (до и после гастрюляции) на амилолитическую активность, кинетические и температурные характеристики гидролиза крахмала в кишечнике сеголетков плотвы.

Материалы и методы

Объектом действия ИГВФМБ были эмбрионы плотвы. Половые продукты получены от 4 самок и 8 самцов, отловленных на нерестилище Рыбинского водохранилища (58°30' с. ш., 38°20' в. д.) в мае 2013 г. Осемененную сухим

способом икру (по 2500–3000 экз.) поместили в семь одинаковых кристаллизаторов (диаметр 23 см, высота 7,5 см) с речной водой, которую меняли два раза в день. Средняя температура воды в кристаллизаторах во время экспериментов составила 18 °С. В качестве действующего фактора были использованы шестичасовые сигналы, имитирующие главную фазу и начальные этапы фазы восстановления типичных умеренной, сильной и экстремальной МБ в диапазоне 0–0,001 Гц. В первые три часа воздействия модельных сигналов компоненты геомагнитного поля в результате суперпозиции с генерируемым полем линейно отклонялись от невозмущенного состояния до максимальных значений, в последующие три часа линейно возвращались к невозмущенному состоянию. Шесть часов – это обычная продолжительность главной фазы и начальных этапов фазы восстановления МБ. Максимальное отклонение сигнала по каждой компоненте для сигналов, имитирующих умеренную, сильную и экстремальную бурю, составило соответственно около 100, 300 и 500 нТл. Генерация ИГВФМБ в направлении трех компонент геомагнитного поля происходила в системе из трех пар взаимно ортогональных колец Гельмгольца. Модельные сигналы подавали на систему через цифро-аналоговый преобразователь (LTR-EU-8, ЗАО «Л-кард», Москва). Детальное описание элементов экспериментальной установки дано в работе Крылова с соавторами [Krylov et al., 2014].

В экспериментах исследовано шесть вариантов воздействия. Эмбрионы трех экспериментальных групп были экспонированы в ИГВФМБ с размахом амплитуды колебаний около 100, 300 и 500 нТл в течение первых шести часов развития, то есть до гастрюляции. Эмбрионы из трех других групп были экспонированы в тех же условиях, но в течение 33–39 ч после оплодотворения, то есть после гастрюляции. Эмбрионы из контрольного варианта на протяжении всего эмбриогенеза находились в условиях естественного магнитного поля. опыты проводили во время спокойной геомагнитной обстановки.

Вылупление предличинок во всех вариантах произошло синхронно. Различия в количестве вылупившихся предличинок между контролем и экспериментальными вариантами были незначительны. После рассасывания желточного мешка по 400 личинок из каждого варианта опыта поместили в пруды с естественной кормовой базой на 4 мес. Смертность плотвы в прудах была минимальна и не зависела от примененного воздействия. Комплексную

оценку отдаленных последствий действия ИГВФМБ на эмбрионы плотвы проводили на основе анализа размерно-массовых показателей, а также амилолитической активности, температурных и кинетических характеристик гидролиза крахмала в кишечнике у 4-месячной молоди.

Для получения ферментативно-активных препаратов рыб обездвигивали, вскрывали брюшную полость, извлекали кишечника и помещали их на ледяную баню. Затем кишечник очищали от жира, освобождали от химуса и промывали охлажденным до 2–4 °С раствором Рингера для холоднокровных животных (110 мМ NaCl; 1,9 мМ KCl; 1,3 мМ CaCl₂; pH 7,4). Специальным скребком снимали слизистую оболочку с медиальной части кишечника и готовили суммарные гомогенаты (от 30 экз. рыб из каждой группы) при помощи стеклянного гомогенизатора, добавляя охлажденный раствор Рингера в соотношении 1 : 9. Раствор субстрата (картофельный крахмал в концентрации 18 г/л) готовили на таком же растворе Рингера. Инкубацию гомогената и субстрата проводили в течение 30 мин при температуре 20 °С, pH 7,4 при непрерывном перемешивании. При определении температурных и кинетических характеристик гидролиза крахмала был использован более широкий диапазон температуры (0–70 °С) и концентраций субстрата (4,5–72 ммоль/л).

Амилолитическую активность, отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал, – α-амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20, оценивали по приросту гексоз методом Нельсона [Nelson, 1944] в модификации Уголева, Иезуитовой [1969]. Активность ферментов определяли в пяти повторностях с учетом фона (количества конечных продуктов реакции в исходном гомогенате) и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани (мкмоль/(г·мин)). Кинетические характеристики гидролиза крахмала – значения кажущейся константы Михаэлиса (K_m) и максимальной скорости реакции (V) – определяли графическим методом Лайнуивера–Берка, строя графики зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в координатах двойных обратных величин. Средние значения K_m и V рассчитывали на основании данных пяти повторностей.

Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами [Коросов, Горбач, 2010]. Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок (M ± m). Все исследуемые показатели протестированы на

Морфометрические и физиолого-биохимические показатели сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* контрольной и опытных групп

Показатели	Контроль	Размах флуктуаций магнитного поля, нТл					
		До гастрюляции			После гастрюляции		
		100	300	500	100	300	500
Длина тела, см	7,52 ± 0,05 ^a	7,84 ± 0,06 ^a	7,68 ± 0,09 ^a	7,50 ± 0,07 ^a	6,16 ± 0,06 ^b	6,95 ± 0,06 ^b	7,11 ± 0,05 ^b
Масса тела, г	7,99 ± 0,20 ^a	8,79 ± 0,20 ^b	8,60 ± 0,26 ^b	8,06 ± 0,22 ^a	4,11 ± 0,11 ^a	5,89 ± 0,17 ^г	6,21 ± 0,13 ^г
Амилолитическая активность, мкмоль/г·мин	16,47 ± 0,39 ^a	17,93 ± 0,50 ^b	18,07 ± 0,16 ^b	20,33 ± 0,37 ^b	16,13 ± 0,25 ^a	18,47 ± 0,13 ^b	26,33 ± 0,41 ^г
<i>K_m</i> гидролиза крахмала, г/л	1,38 ± 0,06 ^a	2,18 ± 0,06 ^b	2,41 ± 0,09 ^b	2,33 ± 0,09 ^b	1,47 ± 0,11 ^{a, б}	2,12 ± 0,07 ^b	1,64 ± 0,09 ^b
<i>V</i> гидролиза крахмала, мкмоль/г·мин	18,35 ± 0,38 ^a	21,06 ± 0,43 ^b	22,43 ± 0,13 ^b	24,99 ± 0,26 ^b	17,12 ± 0,20 ^a	22,04 ± 0,31 ^b	27,04 ± 0,33 ^a

Примечание. $M \pm m$ – среднее значение показателя и его ошибка; разные индексы указывают на статистически достоверные различия показателей в строке (ANOVA, LSD-test), $p < 0,05$.

нормальность распределения (критерий Шапиро–Уилка) и гомогенность (критерий Левена). Значения амилолитической активности были приведены к нормальному распределению путем трансформации Бокса–Кокса [Sakia, 1992]. Достоверность различий показателей у рыб контрольной и экспериментальных групп оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест, $p \leq 0,05$). Двухфакторный дисперсионный анализ был использован для оценки влияния интенсивности ИГВФМБ и временных интервалов эмбриогенеза на исследуемые характеристики.

Результаты

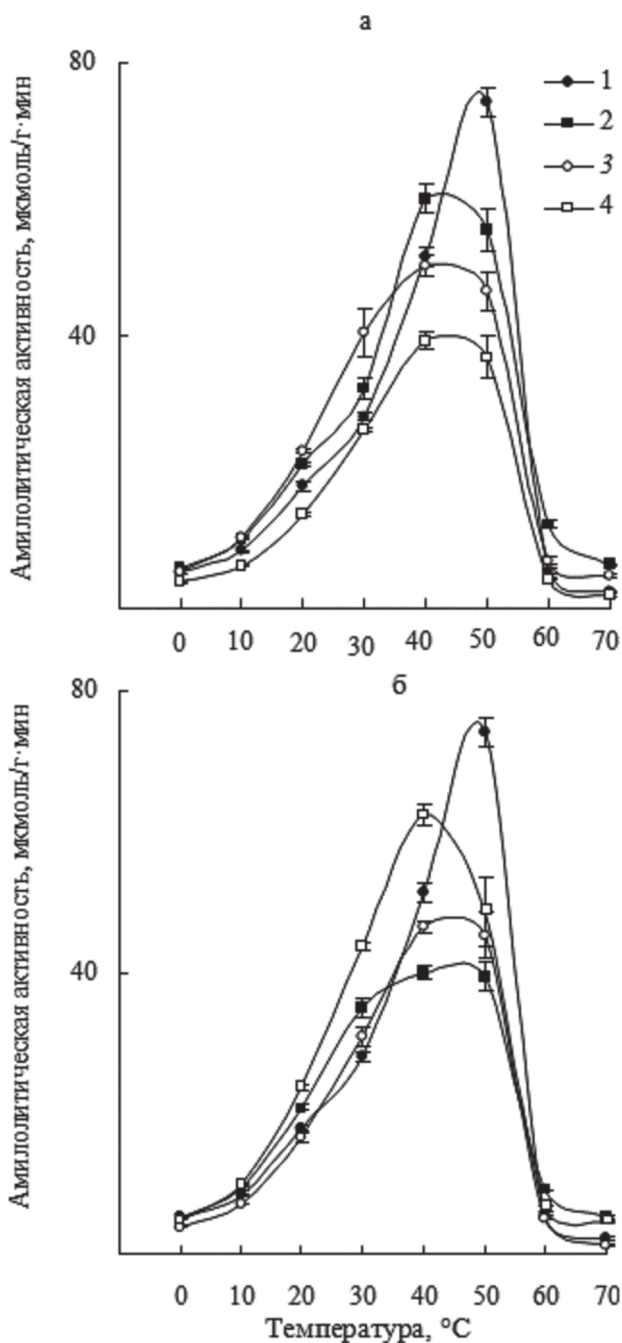
Длина сеголетков, подвергавшихся действию ИГВФМБ до гастрюляции, не изменилась, масса тела в вариантах ИГВФМБ 100 и 300 нТл была выше на 14 и 8 % по сравнению с контролем (табл.). У рыб, подвергавшихся действию ИГВФМБ после гастрюляции, эти характеристики были ниже, чем у контрольных особей. Самые низкие значения показателей отмечены после действия ИГВФМБ 100 нТл: длина тела ниже на 18 %, масса тела – на 49 % по сравнению с контролем.

Уровень амилолитической активности, измеренный при стандартной температуре 20 °С, у сеголетков опытных групп (исключая вариант ИГВФМБ 100 нТл после гастрюляции) был выше по сравнению с контрольной группой (табл.). Наибольшая активность ферментов, превышающая контроль соответственно на 23 и 60 %, отмечена в вариантах ИГВФМБ 500 нТл до и после гастрюляции. Значения *K_m* гидролиза крахмала были на 58–74 % выше по сравнению с контролем (сродство ферментов к субстрату ниже) после действия всех вариантов

ИГВФМБ на эмбрионы до гастрюляции. Этот показатель был также выше контрольного значения соответственно на 54 и 19 % в вариантах ИГВФМБ 300 и 500 нТл после гастрюляции (табл.). Значения *V* гидролиза крахмала изменялись в соответствии с уровнем ферментативной активности.

Определение амилолитической активности в широком диапазоне температуры инкубации выявило различия в форме кривых температурной зависимости скорости гидролиза крахмала у рыб исследованных групп (рис.). Температурный оптимум гидролиза крахмала у рыб из контрольного варианта был равен 50 °С, амилолитическая активность при этой температуре составляет 74,1 ± 2,1 мкмоль/(г·мин). Во всех экспериментальных вариантах он был более широк и сдвинут к 40 °С. При температуре 40 °С амилолитическая активность равнялась соответственно 60,0 ± 2,1; 50,1 ± 1,6 и 39,2 ± 1,2 мкмоль/(г·мин) в вариантах ИГВФМБ 100, 300 и 500 нТл до гастрюляции и 40,0 ± 0,9; 46,4 ± 0,8 и 62,4 ± 1,6 мкмоль/(г·мин) в вариантах ИГВФМБ 100, 300 и 500 нТл после гастрюляции. Относительная активность гликозидаз при температуре 0, 10 и 20 °С составляла соответственно 7, 11 и 24 % от максимальной активности (при 50 °С) у рыб из контрольной группы и 8–13, 16–24, 35–52 % от максимальной активности у рыб из экспериментальных групп. Наиболее широкий температурный оптимум гидролиза крахмала и наибольшая относительная активность отмечены у сеголетков плотвы из варианта ИГВФМБ 100 нТл в период после гастрюляции.

Дисперсионный анализ выявил достоверные эффекты влияния интенсивности ИГВФМБ во время эмбриогенеза на размеры сеголетков ($F_{2, 174} = 15,42$; $p < 0,001$; $\eta = 4,88$ %), а также на



Амилолитическая активность (мкмоль/г·мин) в кишечнике сеголетков плотвы в диапазоне температуры инкубации от 0 до 70 °С в контроле (1) и после экспозиции в ИГВФМБ в диапазоне 0–0,001 Гц с размахом флуктуаций 100 нТл (2), 300 нТл (3) и 500 нТл (4) в период (а) до гастрюляции (1–6 ч после оплодотворения), (б) после гастрюляции (33–39 ч с момента оплодотворения)

амилолитическую активность в их кишечнике ($F_{2,24} = 195,70$; $p < 0,001$; $\eta = 67,05$ %). Обнаруженные эффекты влияния интенсивности ИГВФМБ связаны со снижением длины и массы тела у рыб из вариантов 100 нТл относительно других и увеличением амилолитической активности с повышением интенсивности

ИГВФМБ. Экспонирование эмбрионов во время разных промежутков эмбриогенеза не повлияло на амилолитическую активность у сеголетков ($F_{1,24} = 0,02$; $p > 0,05$), однако сказались на их размерах ($F_{1,174} = 318,74$; $p < 0,001$; $\eta = 50,44$ %). Это проявилось в снижении размеров сеголетков, экспонированных в различных по интенсивности ИГВФМБ после гастрюляции, по сравнению с вариантами до гастрюляции. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверные эффекты влияния взаимодействия факторов (интенсивность ИГВФМБ, в которых экспонировались эмбрионы, и промежутки эмбриогенеза, на которые приходилась экспозиция) на размеры сеголетков ($F_{2,174} = 54,16$; $p < 0,001$; $\eta = 17,14$ %), а также на амилолитическую активность в их кишечнике ($F_{2,24} = 74,90$; $p < 0,001$; $\eta = 26,94$ %). В группах, подвергавшихся экспозиции до гастрюляции, размеры рыб уменьшались с увеличением интенсивности ИГВФМБ, в группах, подвергавшихся экспозиции после гастрюляции, наоборот, размеры росли с увеличением интенсивности ИГВФМБ. Амилолитическая активность увеличивалась с ростом интенсивности ИГВФМБ. Однако в группах, подвергавшихся экспозиции после гастрюляции, это увеличение было более интенсивным по сравнению с группами, экспонированными до гастрюляции.

Обсуждение

Более высокий уровень амилолитической активности и размерно-массовых показателей рыб контрольной группы по сравнению с одновозрастной молодью плотвы из Рыбинского водохранилища [Уголев, Кузьмина, 1993] свидетельствует об удовлетворительной кормовой базе выростных прудов и высокой функциональной активности пищеварительной системы плотвы в конце первого нагульного периода. Поскольку рыбы контрольной и экспериментальных групп в течение 4 мес. находились в разных прудах, на исследованные характеристики могли повлиять и такие неучтенные факторы, как различия в спектре и количестве кормовых объектов. Однако результаты наших многолетних экспериментов показали, что условия в конкретном пруду, по всей видимости, не оказывают значительного влияния на рост сеголетков по сравнению с другими прудами, расположенными на территории экспериментальной прудовой базы ИБВВ «Сунога» [Krylov et al., 2016]. Кроме того, активность гликозидаз в кишечнике молоди плотвы контрольных групп, развивавшихся в разных выростных прудах, на протяжении многих лет была близка [Голованова и др.,

2006; Голованова, Таликина, 2006; Filippov et al., 2014; Голованова и др., 2015].

Закладка органов пищеварительной системы у рыб происходит в эмбриональный период, ее формирование завершается в конце личиночного периода развития. К концу первых суток после оплодотворения зародыши карповых рыб достигают стадии гастрюляции, в течение вторых суток происходит закладка осевых структур и формирование кишечной трубки; в течение третьих и четвертых – дальнейшее разрастание кишечной трубки [Ланге и др., 1975; Попова, 1975]. Флуктуации магнитного поля во время эмбриогенеза рыб могли спровоцировать изменения в формировании и развитии различных структур организма, включая пищеварительную систему, и, как следствие, привести к изменениям размерно-массовых характеристик. Действительно, в экспериментах, проводимых на протяжении ряда лет, установлено значительное снижение стандартной длины и массы тела у сеголетков плотвы после действия переменного синусоидального магнитного поля на эмбрионы [Krylov et al., 2016]. В нашем эксперименте показано снижение морфометрических характеристик сеголетков, подвергшихся ИГВФМБ после гастрюляции по сравнению с контролем. При этом выявлена прямая зависимость между размерами рыб и интенсивностью ИГВФМБ (Spearman $R = 0,74$; $p < 0,001$; $n = 90$), что согласуется с результатами предыдущих работ [Krylov et al., 2016]. В наших предыдущих экспериментах экспозиция эмбрионов плотвы в имитации МБ с размахом амплитуды около 300 нТл с 1-го по 24-й час после оплодотворения вызвала уменьшение длины и массы тела, с 24-го по 48-й час – снижение массы тела сеголетков по сравнению с контрольной группой [Голованова и др., 2015]. Однако в настоящей работе действие ИГВФМБ с интенсивностью 300 нТл на эмбрионы плотвы в течение первых 6 ч после оплодотворения не привело к каким-либо существенным изменениям в размерно-массовых характеристиках. Это несоответствие может быть вызвано различиями в сигналах, используемых для моделирования геомагнитной активности или/и продолжительности воздействия.

Установлено, что магнитные поля могут изменять активность пищеварительных гидролаз в кишечнике рыб [Голованова и др., 2006, 2013, 2015; Кузьмина и др., 2014, 2015; Krylov et al., 2014; Li et al., 2015]. Пребывание карася *Carassius carassius* (L.) в течение 1 ч в комбинированном магнитном поле с параметрами резонанса для ионов Са снижало амилолитическую и протеолитическую активность в кишечнике,

с параметрами резонанса для ионов К приводило к снижению лишь амилолитической активности [Кузьмина и др., 2015]. Пребывание карпа *Cyprinus carpio* (L.) и карася в условиях сильной МБ продолжительностью 20 ч вызвало значительное снижение активности кишечных гликозидаз, особенно у голодных рыб, и слабо влияло на активность протеиназ [Кузьмина и др., 2014]. Также показано, что активность кишечной протеазы у молоди тилляпии *Oreochromis niloticus* (L.) после экспозиции в магнитном поле с частотой 50 Гц и интенсивностью 30, 100, 150 и 200 мкТл в течение 30 дней была ниже по сравнению с контрольной группой [Li et al., 2015]. При этом активность протеазы восстанавливалась спустя 20 дней после прекращения действия магнитного поля. Воздействие магнитного поля (500 Гц, 150 мкТл или 72,5 Гц, 150 мкТл) на плотву во время эмбриогенеза (в течение первых 48 или 60 ч после оплодотворения) приводило к изменениям амилолитической и сахаразной активности в кишечнике сеголетков [Голованова и др., 2006, 2013]. Имитация сильной МБ (0–5 Гц; 300 нТл) во время разных промежутков раннего развития плотвы вызвала разнонаправленные изменения активности гликозидаз (мальтазы, сахаразы, амилолитической активности) и кинетических характеристик гидролиза углеводов у сеголетков [Голованова и др., 2015]. Если воздействие продолжалось в течение 0–24 ч после оплодотворения, амилолитическая активность и активность сахаразы в кишечнике сеголетков снижалась (активность мальтазы повышалась), в течение 24–48 ч – активность всех исследованных гликозидаз и сродства ферментов к субстрату повышалась. Несмотря на отсутствие изменений уровня ферментативной активности у сеголетков после действия имитации сильной МБ на эмбрионы в интервале 48–72 ч после оплодотворения, было выявлено изменение чувствительности гликозидаз к действию ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} и гербицида Раундап *in vitro* [Филиппов и др., 2015]. Чувствительность ферментов, гидролизующих крахмал, усиливалась в большей мере по сравнению с собственно мембранным ферментом мальтазой. Действие имитации сильной МБ на эмбрионы в отрезок 72–96 ч. после оплодотворения снижало амилолитическую активность и активность мальтазы у сеголетков, однако температурные характеристики гликозидаз у рыб опытной и контрольной групп были сходны [Filippov et al., 2014].

Снижение величины температурного оптимума у рыб опытных групп может рассматриваться как снижение термоустойчивости

ферментов после действия ИГВФМБ в период эмбриогенеза. Однако расширение зоны температурного оптимума, наряду с более высокой относительной амилолитической активностью в зоне физиологических температур, свидетельствует об адаптивных изменениях ферментов, гидролизующих крахмал, у рыб опытных групп. Поскольку амилолитическая активность отражает суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал (панкреатической α -амилазы и мембранных глюкоамилазы и мальтазы), изменение характеристик гидролиза крахмала у рыб, подвергнутых во время эмбриогенеза действию ИГВФМБ, может быть обусловлено не только изменением свойств ферментов, но и их соотношения.

Результаты дисперсионного анализа подтвердили зависимость эффектов от интенсивности ИГВФМБ и того промежутка в эмбриогенезе, на который приходилось воздействие. Снижение размерно-массовых показателей, более низкий уровень амилолитической активности по сравнению с другими экспериментальными вариантами, а также более широкий температурный оптимум и наибольшая относительная активность ферментов, гидролизующих крахмал, выявлены у сеголетков, экспонированных в ИГВФМБ 100 нТл после гастрюляции. Именно в этот отрезок эмбриогенеза происходит формирование системы пищеварения [Ланге и др., 1975; Попова, 1975], и проявление максимального эффекта было вполне ожидаемым. Вариант ИГВФМБ 100 нТл по своей интенсивности соответствует умеренной МБ. Есть данные о том, что некоторые медико-биологические эффекты более выражены в дни умеренной геомагнитной активности, чем в дни сильных МБ [StoupeI и др., 2004]. Суточная вариация геомагнитного поля рассматривается как вторичный синхронизатор для биологических циркадных ритмов [Weydahl и др., 2001; Krylov et al., 2014]. Амплитуда флуктуаций геомагнитного поля во время умеренных МБ ближе к амплитуде суточной геомагнитной вариации по сравнению с более интенсивными МБ. По этой причине ИГВФМБ 100 нТл, вероятно, чаще воспринималась эмбрионами как изменение суточной геомагнитной вариации, что в свою очередь приводило к несогласованности биологических циркадных ритмов.

Заключение

Действие ИГВФМБ в диапазоне 0–0,001 Гц с размахом амплитуды 100, 300 и 500 нТл на эмбрионы плотвы в промежутки эмбриогенеза до (1–6 ч после оплодотворения) и после

(33–39 ч после оплодотворения) гастрюляции приводило к изменениям размерно-массовых и физиолого-биохимических показателей сеголетков. Масса и длина тела сеголетков, развившихся из эмбрионов, подвергнутых действию ИГВФМБ после гастрюляции, была ниже по сравнению с контрольной группой. Амилолитическая активность в кишечнике сеголетков опытных групп (исключая вариант ИГВФМБ 100 нТл после гастрюляции) была, как правило, выше, чем в контроле. Температурный оптимум гидролиза крахмала у рыб опытных групп был более широк и сдвинут к 40 °С (у рыб контрольной группы равен 50 °С), относительная активность ферментов в зоне жизнедеятельности была выше по сравнению с контролем. Наиболее низкие размерно-массовые показатели, уровень амилолитической активности, а также более широкий температурный оптимум и наибольшая относительная активность ферментов, гидролизующих крахмал, выявлены у сеголетков, подвергнутых экспозиции ИГВФМБ 100 нТл после гастрюляции. Величина наблюдаемых эффектов и их направленность зависит от интенсивности ИГВФМБ и тех промежутков в эмбриогенезе, на которые пришлось воздействие.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 14–04–31170–мол_а) и Совета по грантам Президента РФ (проект МК-4737.2016.4).

Литература

Голованова И. Л., Изюмов Ю. Г., Чеботарева Ю. В., Таликина М. Г. Отдаленные последствия раздельного и сочетанного влияния хлорофоса и переменного электромагнитного поля в период эмбриогенеза на эффективность гидролиза углеводов у сеголетков плотвы // Токсикологический вестник. 2006. № 5. С. 34–38.

Голованова И. Л., Таликина М. Г. Влияние низких концентраций хлорофоса в период раннего индивидуального развития на пищеварительные карбогидразы сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии. 2006. Т. 46, № 3. С. 412–416.

Голованова И. Л., Таликина М. Г., Филиппов А. А. и др. Влияние сверхмалых концентраций N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина на ранний онтогенез плотвы *Rutilus rutilus*: Активность карбогидраз и кинетические характеристики гидролиза углеводов в кишечнике сеголетков // Вопр. ихтиологии. 2008. Т. 48, № 2. С. 276–283.

Голованова И. Л., Филиппов А. А., Крылов В. В. и др. Действие магнитного поля и меди на активность гидролитических ферментов у сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии. 2013. Т. 53, № 2. С. 227–232.

Голованова И. Л., Филиппов А. А., Чеботарева Ю. В. и др. Влияние флуктуаций магнитного поля, имитирующих магнитную бурю, на активность пищеварительных гликозидаз у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* // Вопросы ихтиологии. 2015. Т. 54, № 4. С. 476–481.

Коросов А. В., Горбач В. В. Компьютерная обработка биологических данных: метод. пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 2010. 84 с.

Кузьмина В. В., Таликина М. Г. Влияние экстремальных воздействий в период раннего индивидуального развития на пищеварительные гидролазы сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии. 1998. Т. 38, № 4. С. 524–529.

Кузьмина В. В., Ушакова Н. В., Крылов В. В. Влияние магнитных полей на активность протеиназ и гликозидаз кишечника карася *Carassius carassius* // Известия РАН. Серия биологическая. 2015. № 1. С. 70–76.

Кузьмина В. В., Ушакова Н. В., Крылов В. В., Петров Д. В. Влияние магнитной бури на активность протеиназ и гликозидаз слизистой оболочки кишечника рыб // Известия РАН. Сер. биологическая. 2014. № 2. С. 161–167.

Ланге Н. О., Дмитриева Е. Н., Исламгазиева Р. Б. Особенности развития жереха *Aspius aspius* (L.) нижнего течения р. Урал // Особенности развития рыб в различных естественных и экспериментальных условиях. М.: Наука, 1975. С. 3–33.

Полова К. С. Некоторые особенности развития краснопёрки *Scardinius erithroptalmus* L. Самурского озера (Дагестанская АССР) и дельты Волги // Особенности развития рыб в различных естественных и экспериментальных условиях. М.: Наука, 1975. С. 33–55.

Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Обзор современных методов. Л.: Наука, 1969. С. 192–196.

Уголев А. М., Кузьмина В. В. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПб.: Гидрометеоздат, 1993. 238 с.

Филиппов А. А., Крылов В. В., Голованова И. Л. Влияние флуктуаций локального магнитного поля во время эмбриогенеза на чувствительность пищеварительных гликозидаз сеголеток плотвы к *in vitro* действию меди, цинка и гербицида Раундап // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2015. № 3. С. 119–125.

Filippov A. A., Aminov A. I., Golovanova I. L. et al. Effect of magnetic storm on the sensitivity of juvenile roach intestinal glycosidase to heavy metals (Cu,

Zn) and the herbicide Roundup // Inland Water Biology. 2015. Vol. 8, no. 4. P. 417–420. doi: 10.1134/S1995082915040070

Filippov A. A., Krylov V. V., Golovanova I. L. Effect of magnetic storms on the temperature characteristics of digestive glycosidase in roach fingerlings // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2014. No. 2. С. 101–105.

Golovanova I. L., Chuiko G. M., Pavlov D. F. Effects of cadmium, Naphthalene and DDVP on Gut Carbohydrases Activity in Bream (*Abramis brama* L.) and Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) // Bull. Envir. Contam. Toxicol. 1994. Vol. 52, no. 3. P. 338–345.

Golovanova I. L., Golovanov V. K., Smirnov A. K., Pavlov D. D. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amylolytic activity in freshwater fish // Fish Physiol. Biochem. 2013. Vol. 39, no. 6. P. 1497–1504. doi: 10.1007/s10695-013-9803-9

Krylov V. V., Chebotareva Yu. V., Izyumov Yu. G. Delayed consequences of extremely low-frequency magnetic fields and the influence of adverse environmental conditions on roach *Rutilus rutilus* embryos // J. Fish Biol. 2016. doi: 10.1111/jfb.12869

Krylov V. V., Zotov O. D., Klain B. I. et al. An experimental study of the biological effects of geomagnetic disturbances: The impact of a typical geomagnetic storm and its constituents on plants and animals // J. Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics. 2014. Vol. 110–111. P. 28–36.

Li Y., Ru B., Miao W. et al. Effects of extremely low frequency alternating-current magnetic fields on the growth performance and digestive enzyme activity of tilapia *Oreochromis niloticus* // Environ. Biol. Fish. 2015. Vol. 98. P. 337–343. doi: 10.1007/s10641-014-0263-6

Nelson N. J. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose // J. Biol. Chem. 1944. Vol. 153. P. 375–381.

Sakia R. M. The Box-Cox Transformation Technique: A Review // Journal of the Royal Statistical Society. Series D (The Statistician). 1992. Vol. 41, no. 2. P. 169–178.

Stoupele E., Domarkiene S., Radishauskas R. et al. Link between monthly rates of four subtypes of acute myocardial infarction and their corresponding cosmophysical activity parameters // J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol. 2004. Vol. 15. P. 175–184.

Weydahl A., Sothorn R. B., Cornelissen G., Wetterberg L. Geomagnetic activity influences the melatonin secretion at latitude 70 N // Biomed. Pharmacother. 2001. Vol. 55. P. 57–62.

Поступила в редакцию 31.03.2016

References

Filippov A. A., Krylov V. V., Golovanova I. L. Vliyaniye fluktuatsii lokal'nogo magnitnogo polya vo vremya embriogeneza na chuvstvitel'nost' pishchevaritel'nykh glikozidaz segoletok plotvy k *in vitro* deistviyu medi, tsinka i gerbitsida Raundap [Influence of changes of the local magnetic field during embryogenesis on the

sensitivity of roach's digestive glycosidases to heavy metals (copper, zinc) and Roundup herbicide]. *Vestnik AGTU. Seriya: Rybnoe khozyaistvo* [Vestnik ASTU. Series: fishing industry]. 2015. No. 3. P. 119–125.

Golovanova I. L., Izyumov Yu. G., Chebotareva Yu. V., Talikina M. G. Otdalennye posledstviya razdel'nogo

i sochetannogo vliyaniya khlorofosa i peremennogo elektromagnitnogo polya v period embriogeneza na effektivnost' gidroliza uglevodov u segoletkov plotvy [Delayed effects of separate and joined impact of trichlorofon and alternating electromagnetic field on effectiveness of hydrocarbon hydrolysis during embryogenesis in *Rutilus rutilus* (L.)]. *Toksikologicheskii vestnik [Toxicological Review]*. 2006. No. 5. P. 34–38.

Golovanova I. L., Talikina M. G. Vliyanie nizkikh kontsentratsii khlorofosa v period rannego individual'nogo razvitiya na pishchevaritel'nye karbogidrazy segoletkov plotvy *Rutilus rutilus* [On the impact of low concentrations of chlorophos in the period of early ontogenesis on digestive carbohydrases of underyearlings of roach *Rutilus rutilus*]. *Vopr. Ikhtiologii [Journal of Ichthyology]*. 2006. Vol. 46, no. 3. P. 412–416.

Golovanova I. L., Talikina M. G., Filippov A. A. et al. Vliyanie sverkhmalykh kontsentratsii N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidina na rannii ontogenez plotvy *Rutilus rutilus*: Aktivnost' karbogidraz i kineticheskie kharakteristiki gidroliza uglevodov v kishechnike segoletkov [Effect of ultralow concentrations of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine upon early development in roach (*Rutilus rutilus*): Intestine carbohydrase activities and kinetic characteristics of carbohydrate hydrolysis in the intestine of underyearlings]. *Vopr. Ikhtiologii [Journal of Ichthyology]*. 2008. Vol. 48, no. 2. P. 276–283.

Golovanova I. L., Filippov A. A., Krylov V. V. et al. Deistvie magnitnogo polya i medi na aktivnost' gidroliticheskikh fermentov u segoletok plotvy *Rutilus rutilus* [Effect of magnetic field and copper upon activity of hydrolytic enzymes in roach (*Rutilus rutilus*) underyearling]. *Vopr. Ikhtiologii [Journal of Ichthyology]*. 2013. Vol. 53, no. 2. P. 227–232.

Golovanova I. L., Filippov A. A., Chebotareva Yu. V. et al. Vliyanie fluktuatsii magnitnogo polya, imitiruyushchikh magnitnyu buriu, na aktivnost' pishchevaritel'nykh glikozidaz u segoletok plotvy *Rutilus rutilus* [Impact of simulated geomagnetic storm on activity of digestive glycosidases in roach *Rutilus rutilus* underyearlings]. *Voprosy ikhtiologii [Journal of Ichthyology]*. 2015. Vol. 54, no. 4. P. 476–481.

Korosov A. V., Gorbach V. V. Komp'yuternaya obrabotka biologicheskikh dannyykh: metod. Posobie [Computer-aided processing of biological data: manual]. Petrozavodsk: PetrGU, 2010. 84 p.

Kuz'mina V. V., Talikina M. G. Vliyanie ekstremal'nykh vozdeistvii v period rannego individual'nogo razvitiya na pishchevaritel'nye gidrolazy segoletok plotvy *Rutilus rutilus* [Extreme effects on digestive hydrolases during early individual development in fingerlings of roach *Rutilus rutilus*]. *Vopr. Ikhtiologii [Journal of Ichthyology]*. 1998. Vol. 38, no. 4. P. 524–529.

Kuz'mina V. V., Ushakova N. V., Krylov V. V. Vliyanie magnitnykh polei na aktivnost' proteinaz i glikozidaz kishechnika karasya *Carassius carassius* [The effect of magnetic fields on the activity of proteinases and glycosidases in the intestine of the crucian carp *Carassius carassius*]. *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya [Biology Bulletin]*. 2015. No. 1. P. 70–76.

Kuz'mina V. V., Ushakova N. V., Krylov V. V., Petrov D. V. Vliyanie magnitnoi buri na aktivnost' proteinaz i glikozidaz slizistoi obolochki kishechnika ryb [The effects

of geomagnetic storms on proteinase and glycosidase activities in fish intestinal mucosa]. *Izvestiya RAN. Ser. Biologicheskaya [Biology Bulletin]*. 2014. No. 2. P. 161–167.

Lange N. O., Dmitrieva E. N., Islamgaziya R. B. Osobennosti razvitiya zhrekha *Aspius aspius* (L.) nizhnego techeniya r. Ural [Peculiarities of *Aspius aspius* (L.) ontogeny in downstream of the Ural River]. Osobennosti razvitiya ryb v razlichnykh estestvennykh i eksperimental'nykh usloviyakh [Peculiarities of fish ontogeny under different natural and experimental conditions]. Moscow: Nauka, 1975. P. 3–33.

Popova K. S. Nekotorye osobennosti razvitiya krasnoperki *Scardinius erythrophthalmus* L. Samurskogo ozera (Dagestanskaya ASSR) i del'ty Volgi [Some features of *Scardinius erythrophthalmus* L. ontogeny in Samurskoe Lake (Dagestan ASSR) and the Volga River delta]. Osobennosti razvitiya ryb v razlichnykh estestvennykh i eksperimental'nykh usloviyakh [Peculiarities of fish ontogeny under different natural and experimental conditions]. Moscow: Nauka, 1975. P. 33–55.

Ugolev A. M., Iezuitova N. N. Opredelenie aktivnosti invertazy i drugikh disakharidaz [Determination of the activity of invertase and other disaccharidases]. Issledovanie pishchevaritel'nogo apparata u cheloveka. Obzor sovremennykh metodov [Study of digestive tract of humans: a review of modern methods]. Leningrad: Nauka, 1969. P. 192–196.

Ugolev A. M., Kuz'mina V. V. Pishchevaritel'nye protsessy i adaptatsii u ryb [Digestive processes and adaptations in fish]. St. Petersburg: Gidrometeoizdat, 1993. 238 p.

Filippov A. A., Aminov A. I., Golovanova I. L. et al. Effect of magnetic storm on the sensitivity of juvenile roach intestinal glycosidase to heavy metals (Cu, Zn) and the herbicide Roundup. *Inland Water Biology*. 2015. Vol. 8, no. 4. P. 417–420. doi: 10.1134/S1995082915040070

Filippov A. A., Krylov V. V., Golovanova I. L. Effect of magnetic storms on the temperature characteristics of digestive glycosidase in roach fingerlings // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2014. No. 2. С. 101–105.

Golovanova I. L., Chuiko G. M., Pavlov D. F. Effects of cadmium, Naphthalene and DDVP on Gut Carbohydrases Activity in Bream (*Abramis brama* L.) and Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters). *Bull. Envir. Contam. Toxicol.* 1994. Vol. 52, no. 3. P. 338–345.

Golovanova I. L., Golovanov V. K., Smirnov A. K., Pavlov D. D. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amylolytic activity in freshwater fish. *Fish Physiol. Biochem.* 2013. Vol. 39, no. 6. P. 1497–1504. doi: 10.1007/s10695-013-9803-9

Krylov V. V., Chebotareva Yu. V., Izyumov Yu. G. Delayed consequences of extremely low-frequency magnetic fields and the influence of adverse environmental conditions on roach *Rutilus rutilus* embryos. *J. Fish Biol.* 2016. doi: 10.1111/jfb.12869

Krylov V. V., Zotov O. D., Klain B. I. et al. An experimental study of the biological effects of geomagnetic disturbances: The impact of a typical geomagnetic storm and its constituents on plants and animals. *J. Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics*. 2014. Vol. 110–111. P. 28–36.

Li Y., Ru B., Miao W. et al. Effects of extremely low frequency alternating-current magnetic fields on the growth performance and digestive enzyme activity of tilapia *Oreochromis niloticus*. *Environ. Biol. Fish.* 2015. Vol. 98. P. 337–343. doi: 10.1007/s10641-014-0263-6

Nelson N. J. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 1944. Vol. 153. P. 375–381.

Sakia R. M. The Box-Cox Transformation Technique: A Review. *Journal of the Royal Statistical Society. Series D (The Statistician)* 1992. Vol. 41, no. 2. P. 169–178.

Stoupele E., Domarkiene S., Radishauskas R. et al. Link between monthly rates of four subtypes of acute myocardial infarction and their corresponding cosmophysical activity parameters. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 2004. Vol. 15. P. 175–184.

Weydahl A., Sothorn R. B., Cornelissen G., Wetterberg L. Geomagnetic activity influences the melatonin secretion at latitude 70 N. *Biomed. Pharmacother.* 2001. Vol. 55. P. 57–62.

Received March 31, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Голованова Ирина Леонидовна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии внутренних вод РАН
Борок, Ярославская обл.,
Некоузский р-н, Россия, 152742
эл. почта: golovanova5353@mail.ru
тел.: (485) 4724484

Филиппов Андрей Андреевич

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии внутренних вод РАН
Борок, Ярославская обл.,
Некоузский р-н, Россия, 152742
эл. почта: andron@ibiw.yaroslavl.ru
тел.: (485) 4724526

Чеботарева Юлия Владимировна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии внутренних вод РАН
Борок, Ярославская обл.,
Некоузский р-н, Россия, 152742
эл. почта: julia@ibiw.yaroslavl.ru
тел.: (485) 4724214

Изюмов Юрий Глебович

заведующий лабораторией популяционной биологии
и генетики, к. б. н.
Институт биологии внутренних вод РАН
Борок, Ярославская обл.,
Некоузский р-н, Россия, 152742
эл. почта: izum@ibiw.yaroslavl.ru
тел.: (485) 4724214

Крылов Вячеслав Владимирович

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии внутренних вод РАН
Борок, Ярославская обл.,
Некоузский р-н, Россия, 152742
эл. почта: kryloff@ibiw.yaroslavl.ru
тел.: (485) 4724214

CONTRIBUTORS:

Golovanova, Irina

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters
Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Yaroslavl Region, Russia
e-mail: golovanova5353@mail.ru
tel.: (485) 4724484

Filippov, Andrey

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters
Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Yaroslavl Region, Russia
e-mail: andron@ibiw.yaroslavl.ru
tel.: (485) 4724526

Chebotareva, Yulia

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters,
Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Yaroslavl Region, Russia
e-mail: julia@ibiw.yaroslavl.ru
tel.: (485) 4724214

Izyumov, Yuri

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters,
Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Yaroslavl Region, Russia
e-mail: izum@ibiw.yaroslavl.ru
tel.: (485) 4724214

Krylov, Viacheslav

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters,
Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Yaroslavl Region, Russia
e-mail: kryloff@ibiw.yaroslavl.ru
tel.: (485) 4724214