

УДК 574.6 57.042 57.043

**ВЛИЯНИЕ НА РАЧКОВ *DAPHNIA MAGNA* STRAUS
(DAPHNIDAE, CRUSTACEA)
ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ПОЛЕМ
С ЧАСТОТОЙ 30 МГц В РАЗНОМ ВОЗРАСТЕ**

**Г. К. Папоян¹, О. Ф. Филенко¹, В. И. Юсупов²,
О. В. Воробьева¹, К. В. Зотов², В. Н. Баграташвили²**

¹ *Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12*

² *Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН
Россия, 108840, Москва, Троцк, Пионерская, 2
E-mail: geval391@mail.ru*

Поступила в редакцию 14.05.17 г.

Влияние на рачков *Daphnia magna* Straus (Daphniidae, Crustacea) воздействия низкоинтенсивным электромагнитным полем с частотой 30 МГц в разном возрасте. – Папоян Г. К., Филенко О. Ф., Юсупов В. И., Воробьева О. В., Зотов К. В., Баграташвили В. Н. – Представлены результаты воздействия низкоинтенсивного электромагнитного поля с частотой 30 МГц в непрерывном режиме и режиме амплитудной модуляции с экспозицией 1000 с на ракообразных *Daphnia magna* Straus, 1820 из лабораторной культуры, односточных, а также в возрасте 5 – 7 или 7 – 9 суток. Наблюдение проводилось за облученным родительским (P) и тремя последующими поколениями ($F_1 - F_3$), облучения которых не проводили. Показано, что такое воздействие оказало влияние на суммарную плодовитость лишь в поколении F_1 при действии низкоинтенсивного электромагнитного поля в непрерывном режиме, при котором во всех трех возрастных группах было выявлено снижение этого показателя до 64 – 80% от контроля. Облучение влияло на качество рожденного потомства, приведя к появлению в потомстве всех поколений особей с дефектами плавательных антенн, карапакса, хвостовой иглы и зрительного аппарата. Нарушения в строении карапакса и плавательных антенн сопровождались снижением выживаемости.

Ключевые слова: *Daphnia magna*, электромагнитное поле, морфологические аномалии, плодовитость.

Effect of a low-intensity 30 MHz electromagnetic field on *Daphnia magna* Straus (Daphniidae, Crustacea) crustaceans of various ages. – Papoyan G. K., Filenko O. F., Yusupov V. I., Vorobyeva O. V., Zotov K. V., and Bagratashvili V. N. – The results of action of a low-intensity 30 MHz electromagnetic field (EMF) in continuous mode and when amplitude modulation with a 1000 s exposure on *Daphnia magna* Straus, 1820 crustaceans from a laboratory culture (newborn, 5 – 7 and 7 – 9 day aged) are presented. Observations were carried out of the irradiated parent generation and three subsequent ones ($F_1 - F_3$) with no exposure. This irradiation in continuous mode was shown to affect the overall fecundity in the F_1 generation only, a reduction of this index down to 64 – 80% in comparison with a reference was revealed in all the 3 age groups. The irradiation affected the quality of the posterity born, by causing the emergence of individuals with abnormalities in the swimming antennas, carapace, apical spine and vision apparatus in all the generations. These abnormalities in the carapace and swimming antennas structure were accompanied by a decreased survivability.

Key words: *Daphnia magna*, electromagnetic field, morphological anomalies, fertility.

DOI: 10.18500/1684-7318-2017-3-314-320

Антропогенные электромагнитные поля (ЭМП) стали невольным атрибутом цивилизации со времени освоения человеком электричества, и в последние десятилетия электромагнитный фон активно нарастает (Пресман, 1968; Готовский, Перов, 2003; Петин, 2006). Возможные биологические и экологические последствия воздействия ЭМП в полной мере еще предстоит исследовать и оперативным инструментом для оценки таких последствий может служить биотестирование с использованием гидробионтов, которое широко применяется при оценке химического загрязнения окружающей среды (Строганов и др., 1979; Методическое руководство..., 1991; Филенко, 2008). Такой прием позволяет в лабораторных условиях в относительно короткое время оценивать биологическое действие фактора окружающей среды в зависимости от его свойств и интенсивности, от возраста и состояния тест-объекта. Известно, что ЭМП влияют на активность размножение рачков, облученных в раннем возрасте (Крылов, 2007; Гапочка и др., 2012; Воробьева, 2013), вызывают появление в потомстве облученных рачков морфологических аномалий и нежизнеспособных особей (Воробьева и др., 2014; Vorob'yeva et al., 2016).

Цель нашей работы – исследование эффекта однократного воздействия ЭМП с частотой 30 МГц в различающихся режимах на новорожденных и половозрелых рачков *Daphnia magna* Straus, 1820 как на непосредственно облученных, так и в последующих поколениях. Выбор частоты ЭМП 30 МГц, используемой нами в экспериментах, обусловлен ее широким распространением в антропогенной среде. Она находится на границе высоких и очень высоких частот, используется в радиосвязи, генерируется при работе бытовой и цифровой техники, активно используется в повседневной жизни (Оценка риска..., 2012).

Объектом исследования являлась лабораторная культура *D. magna*, которая служит классическим тест-объектом токсикологических исследований. Дафнии имеют короткий жизненный цикл (половая зрелость при благоприятных условиях наступает на 5 – 7-е сутки, вымет молоди на 7 – 9-е сутки), что позволяет за короткий срок получить несколько поколений. Дафнии являются чувствительным тест-объектом для определения токсичности вод, а также установления норм предельно допустимых концентраций (Строганов и др., 1979; Филенко, Михеева, 2007). Важное значение для исследователей имеют показатели жизнедеятельности рачков, к числу которых относятся смертность, плодовитость, появление аномалий в потомстве (Филенко, Михеева, 2007; Строганов и др., 1979).

Эксперименты проводили согласно стандартным методикам (Методическое руководство..., 1991). Культуру выращивали в климатостате при постоянной температуре 22°C, освещенности 0.2 мВт/см² с чередованием дня и ночи 12:12 ч. Культуру пересекали не реже трех раз в неделю, удаляя новорожденную молодежь.

Для выращивания культур и проведения экспериментов использовалась кондиционированная водопроводная вода. Для ее получения водопроводная вода отстаивалась и дехлорировалась в течение двух недель с принудительной аэрацией атмосферным воздухом, после чего поступала в аквариум с песчаным грунтом и высшей водной растительностью для насыщения метаболитами макрофитов («биологизации»).

В качестве корма использовали суспензию зелёных водорослей *Chlorella* sp. Водоросли выращивали на среде Тамия при постоянном освещении ($I = 17$ мкЭ м-2-с-1) и принудительной аэрации. Кормление рачков в культуре и в опыте осуществлялось из расчета 350 000 кл/мл 3 раза в неделю. Раз в неделю культуру подкармливали суспензией дрожжей.

Проводились эксперименты по изучению влияния на дафний однократного воздействия ЭМП с частотой 30 МГц. В качестве излучателя использовали оригинальный генератор ЭМП с напряженностью магнитного поля 0.44 А/м и плотностью потока энергии 73 Вт/м². Облучение рачков проводили в двух режимах - в непрерывном и в режиме амплитудной модуляции выходного сигнала меандром с частотой 50 Гц, при котором периоды излучения ЭМП с постоянной амплитудой чередуются с такими же по длительности периодами без излучения.

В эксперименте облучению подвергались рачки, находящиеся на различных стадиях развития: новорожденная молодь (1 – 2 сут.), особи, достигшие половой зрелости (5 – 7 суток) и рачки на стадии развития перед выметом молодки (7 – 9 суток).

Облучение проводилось в чашках Петри, высота водяного столба в которых составляла 0.5 см. Чашки Петри с рачками помещались на антенну генератора ЭМП. Выборки из каждой возрастной категории облучались ЭМП с частотой 30 МГц в непрерывном режиме с постоянной амплитудой, или в режиме амплитудной модуляции выходного сигнала меандром. Период экспозиции в каждом из этих экспериментов составлял 1000 с. В качестве контроля выступали дафнии из того же помета что и опытные, но не подвергшиеся воздействию ЭМП. Затем подопытных и контрольных рачков помещали в стаканы из расчета 5 особей на 250 мл воды, в 4-х кратной повторности каждого из вариантов, согласно методике проведения хронических экспериментов (Лесников, Исакова, 1998).

Указанные исследования были проведены последовательно в октябре – декабре 2015 г. (непрерывный режим с постоянной амплитудой) и в январе – феврале 2016 г. (облучение в режиме амплитудной модуляции).

Для выявления отдаленных последствий облучения, помимо родительского поколения (P), проводили наблюдения за тремя последующими поколениями ($F_1 - F_3$), облучения которых не проводили. Из первого помета молодки, родившихся от облученных дафний, произвольно выбирали 20 особей и рассаживали их отдельно от материнских линий. Наблюдения за каждым поколением до 21 суток. Оценивали суммарную плодовитость в пересчете на одну самку (усредненное количество рачков, рожденных самкой за 21 день эксперимента), а также качество потомства.

Полученные результаты проверяли на статистическую значимость отличий усредненных экспериментальных данных от контрольных с помощью критерия Манна – Уитни (уровень значимости 0.05) из пакета программы STATISTICA 6.1.

В опыте при облучении с постоянной амплитудой установлены вариации суммарной плодовитости в пересчете на одну самку во всех поколениях, от 20 до 48 особей, как и в контроле, а в опыте с амплитудной модуляцией – от 34 до 54 особей во всех возрастных группах. Достоверные отличия от контроля отмечены лишь в поколении F_1 в эксперименте с ЭМП с постоянной амплитудой (табл. 1). Такие отличия были выявлены при облучении во всех трех сроках развития и со-

ВЛИЯНИЕ НА РАЧКОВ *DAPHNIA MAGNA* STRAUS

ставили 64% (у облученных в возрасте 1 – 2 суток), 80% (в возрасте 5 – 7 суток) и 73% (в возрасте 7 – 9 суток) от контроля.

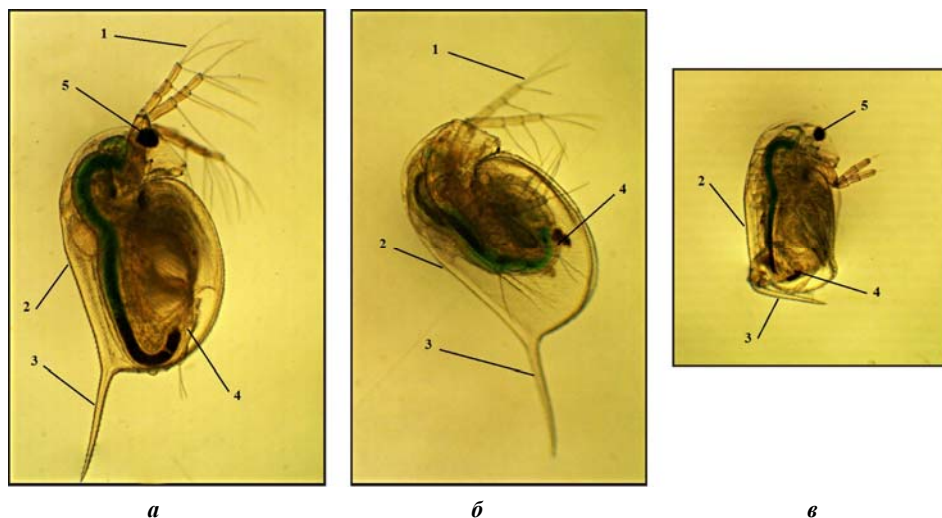
Таблица 1

Суммарная плодовитость *D. magna* в эксперименте с ЭМП
в режиме непрерывного действия

Возраст облучаемых рачков	Покोलения			
	<i>P</i>	<i>F</i> ₁	<i>F</i> ₂	<i>F</i> ₃
Контроль	43.8±6.8	33.8±3.2	31.5±1.9	33.6±5.1
1 суточные	43.4±3.8 (99)	21.8±2.8 (64)	31.8±0.4 (102)	30.0±5.1 (89)
5 – 7 суточные	42.5±2.4 (98)	27.0±2.1 (80)	32.5±1.9 (103)	36.2±8.2 (107)
7 – 9 суточные	41.4±4.6 (95)	24.8±2.8 (73)	31.5±1.8 (99)	36.8±3.0 (109)

Примечание. В скобках указан процент от контроля, жирным выделены достоверные отличия от контроля (критерий Манна – Уитни).

В обоих режимах эксперимента в полученных от облученных рачков пометах были выявлены различные нарушения в развитии, не встречавшиеся в помете контрольных групп дафний. Обнаружены мертворожденные и недоразвитые особи с дефектом хвостовой иглы, а также рачки с аномалиями плавательных антенн и зрительного аппарата, с измененной формой тела. Чаще других встречались деформации карапакса, которые в большинстве случаев приводили к гибели рачков. Указанные аномалии отмечены во всех исследованных возрастных группах при всех режимах облучения (рисунок).



Особи *D. magna*, обнаруженные в ходе экспериментов: *а* – особь без аномалий в строении; *б* – особь с отсутствующим зрительным органом и аномальным расположением внутренних органов внутри карапакса; *в* – особь с аномальной формой тела, изгибом хвостового шипа, а также с отсутствующими щетинками на плавательных антеннах: 1 – щетинки; 2 – карапакс; 3 – хвостовая игла; 4 – постабдомен; 5 – глаз

Доля таких особей с отклонениями в развитии от общей численности помета за весь период эксперимента в каждом из поколений в пометах различалась. Как следует из табл. 2, максимальные значения доли аномальных рачков от общей численности помета в поколениях в эксперименте с постоянной амплитудой более чем в 1.5 раза были выше, чем в опыте с облучением в режиме амплитудной модуляции, в то время как минимальные значения совпадали. При этом характер морфологических аномалий рачков в обоих экспериментах не различался. Кроме того, из табл. 2 видно, что характер распределения особей с дефектами в развитии в ряду поколений и возрастных групп в эксперименте с облучением в режиме амплитудной модуляции имеет более выравненный характер, чем при облучении с постоянной амплитудой.

Таблица 2

Процентная доля аномальных особей от общей численности молоди дафний

Поколения	Режим амплитудной модуляции			Непрерывный режим		
	1 – 2 сут.	5 – 7 сут.	7 – 9 сут.	1 – 2 сут.	5 – 7 сут.	7 – 9 сут.
<i>P</i>	0.6	0.3	0.6	1.0	0.5	0.9
<i>F</i> ₁	0.4	0.4	0.5	1.0	0.7	0.8
<i>F</i> ₂	0.5	0.4	0.6	0.5	0.5	0.5
<i>F</i> ₃	0.4	0.4	0.5	0.3	0.3	0.7

Эти результаты соответствуют результатам ранее проведенных аналогичных исследований других авторов, например Л. Д. Гапочки (Гапочка и др., 2012). В указанном исследовании, также проведенном на рачках разных возрастных групп, даже при дозах облучения, многократно превышающих те, что использованы в наших экспериментах (частота электромагнитных излучений – 42.25 ГГц, время экспозиции – 45 мин.), не было выявлено значимого влияния облучения дафний на их выживаемость и было обнаружено незначительное (до 20%) снижение плодовитости рачков. Однако эффекты, выразившиеся в снижении плодовитости дафнии, а также в увеличении смертности рачков, были выявлены при совместном действии облучения и токсиканта, в роли которого выступал хлорида кадмия (CdCl_2) (Гапочка и др., 2012).

Установлено, что биологический эффект действия электромагнитных излучений (ЭМИ) на тест-объекты зависит от их физиологического состояния (Крылов, 2007), которое определяет их чувствительность к действию излучения, но однозначного представления о механизмах действия ЭМИ на живые объекты на сегодняшний день в научной литературе не сформировано (Sutherland, 2002). Одна из групп существующих в научной литературе гипотез объясняет такое влияние на живой организм прямым действием на него. Исследователями предполагается влияние ЭМИ на живые объекты главным образом через электрон-транспортную цепь митохондрий (Karu, 1999), а также на конфигурацию биополимеров (Лисиенко и др., 1989; Egorov et al., 1989). Другая группа гипотез предполагает опосредованное действие ЭМИ, например, через изменение электронной конфигурации молекулы воды и межмолекулярной структуры воды (Гапочка и др., 1994; Рогаткин, Черных, 1999; Чудновский и др., 2002; Egorov et al., 1989), а также через пре-

образование энергии ЭМИ в тепловую энергию (Доровских и др., 1998; Захаров и др., 1989). В нашем исследовании прямое воздействие может заключаться как в воздействии на материнский организм, так и непосредственном влиянии на яйцеклетку и развивающийся эмбрион. Из табл. 2 видно, что независимо от особенностей электромагнитного воздействия морфологические аномалии появлялись чаще в потомстве рачков, облученных новорожденными или накануне вымета молоди (7 – 9-суточные).

Полученные результаты исследования показали, что действие непрерывного и амплитудно-модулированного ЭМП с частотой 30 МГц напряженностью 0.4 А/м при экспозиции 1000 с практически не оказывает достоверного влияния на суммарную плодовитость ракообразных *D. magna*. Исключением стало лишь поколение F_1 в эксперименте с воздействием ЭМИ в непрерывном режиме, в котором во всех трех возрастных группах было выявлено снижение этого показателя от контроля и составило 64% у особей, облученных на первые сутки после рождения, 80% – облученных на 5 – 7-е сутки и 73% – облученных на 7 – 9-е сутки.

Воздействие ЭМП приводило к появлению в потомстве всех поколений особей с различными морфологическими дефектами, таких как аномалии в развитии плавательных антенн, карапакса, хвостовой иглы и зрительного аппарата. Нарушения в строении карапакса и плавательных антенн сопровождалось снижением выживаемости. Несколько повышенным была доля аномалий в потомстве рачков, облученных в первые сутки после рождения, и тех, что были облучены перед выходом первого помета (на 7-е – 9-е сутки). Однако полученные результаты не позволяют исключить ни воздействия на яйцеклетку, ни влияния на развивающийся эмбрион.

В целом же воздействие на материнский организм низкоинтенсивным ЭМИ может привести к изменению плодовитости рачков, тогда как действие на яйцеклетку или эмбрион может увеличить долю аномальных особей от общей ее численности.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-25-00055).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Воробьева О. В. Влияние прибора, генерирующего светодиодное облучение, на рачков *Daphnia magna* // Поволж. экол. журн. 2013. № 4 С. 374 – 379.

Воробьева О. В., Филенко О. Ф., Исакова Е. Ф., Юсупов В. И., Воробьева Н. Н. О влиянии электромагнитного излучения на показатели жизнедеятельности *Daphnia magna* Straus при проведении биотестирования // Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем : материалы Всерос. науч. конф. Киров : ВЕ-СИ, 2014. С. 240 – 242.

Гапочка Л. Д., Гапочка М. Г., Королев А. Ф., Костиенко А. И., Сухоруков А. П., Тимошкин И. В. Воздействие электромагнитного излучения КВЧ-и СВЧ-диапазонов на жидкую воду // Вестн. МГУ. Сер. 3. Физика, астрономия. 1994. Т. 35, № 4. С. 71 – 75.

Гапочка Л. Д., Гапочка М. Г., Дрожжина Т. С., Исакова Е. Ф., Павлова А. С., Шавырина О. Б. Эффекты облучения культуры *Daphnia magna* на разных стадиях развития электромагнитным полем миллиметрового диапазона низкой интенсивности // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биология. 2012. № 2. С. 43 – 48.

Готовский Ю. В., Перов Ю. Ф. Особенности биологического действия физических и химических факторов малых и сверхмалых интенсивностей и доз. М. : ИМЕДИС, 2003. 387 с.

Доровских В. А., Бородин Е. А., Бородина Г. П., Целуйко С. С., Штарберг М. А., Штарберг С. А. Влияние низкоэнергетических лазеров на свободнорадикальное окисление липидов в микросомах печени и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и каталазы эритроцитов // Лазерная медицина. 1998. Т. 2, № 2 – 3. С. 16 – 20.

Захаров С. Д., Скопионов С. А., Чудновский В. М. Первичные механизмы воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения в биологических системах : слабо поглощающие фотоакцепторы и структурное усиление локального фотовоздействия в биологических жидкостях // Лазеры и медицина : тез. междунар. конф. М., 1989. С. 81 – 82.

Крылов В. В. Непосредственный и продленный эффекты действия переменного электромагнитного поля низкой частоты на продукционные показатели *Daphnia magna* // Гидробиол. журн. 2007. Т. 43, № 4. С. 76 – 88.

Лесников Л. А., Исакова Е. Ф. Установление максимально допустимой концентрации для ракообразных // Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М. : ВНИРО, 1998. С. 48 – 65.

Лисиенко В. М., Минц Г. И., Скопионов С. А. Альтерация биологических жидкостей при лазеротерапии у хирургических больных // Применение лазеров в хирургии и медицине : тез. докл. междунар. симпоз. / НИИ лазерной хирургии Минздрава СССР. М., 1989. С. 529 – 530.

Методическое руководство по биотестированию воды РД 118-02-90. М. : Госкомприрода СССР, 1991. 48 с.

Оценка риска для здоровья населения при воздействии переменных электромагнитных полей (до 300 ГГц) в условиях населенных мест. Методические рекомендации (МР 2.1.10.0061- 12). М., 2012. 29 с.

Петин В. Г. Биофизика неионизирующих физических факторов окружающей среды. Обнинск : МРНЦ РАМН, 2006. 265 с.

Пресман А. С. Электромагнитные поля и живая природа. М. : Наука, 1968. 288 с.

Рогаткин Д. А., Черных В. В. Низкоинтенсивная лазерная терапия. Взгляд физика на механизмы действия и опыт применения // Взаимодействие излучения с веществом : материалы 2-й Байкальской шк. по фундаментальной физике. Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 1999. С. 366 – 378.

Строганов Н. С., Путинцев А. И., Исакова Е. Ф., Шигин В. И. Метод токсикологического контроля сточных вод // Биол. науки. 1979. № 2. С. 90 – 96.

Филенко О. Ф. Биологические методы в контроле качества окружающей среды // Экологические системы и приборы. 2008. № 3. С. 5 – 7.

Филенко О. Ф., Михеева И. В. Основы водной токсикологии. М. : Колос, 2007. 144 с.

Чудновский В. М., Леонова Г. Н., Скопионов С. А., Дроздов А. Л., Юсупов В. И. Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии. Владивосток : Дальнаука, 2002. 157 с.

Egorov S. Yu., Tauber A. Yu., Krasnovskii A. A., Nizhnik A. N., Nokel' A. Yu., Mironov A. F. Photogeneration of singlet molecular oxygen by components of hematoporphyrin IX derivative // Bull. Experimental Biology and Medicine. 1989. Vol. 108, № 4. P. 1429 – 1432.

Karu T. I. Primary and secondary mechanisms of action of visible and near-IR radiation on cells // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 1999. Vol. 49, iss. 1. P. 1 – 17.

Sutherland J. C. Biological effects of polychromatic light // Photochemistry and Photobiology. 2002. Vol. 76, iss. 2. P. 164 – 170.

Vorob'yeva O. V., Filenko O. F., Isakova E. F., Yusupov V. I., Zotov K. V., Bagratashvili V. N. The Influence of Low-Intensity Electromagnetic Radiation of the 10-Meter Range on Morphological and Functional Indices on *Daphnia magna* Straus // Biophysics. 2016. Vol. 61, № 6. P. 996 – 1001.