

**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ ДЕСЯТИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА
НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
Daphnia magna Straus**

© 2016 г. О.В. Воробьева*, О.Ф. Филенко*, Е.Ф. Исакова*, В.И. Юсупов** ***,
К.В. Зотов**, В.Н. Баграташвили**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1/12;

**Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН,
142092, Москва, Троицк, ул. Пионерская, 2;

***Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,
690041, Владивосток, ул. Балтийская, 43

E-mail: olvorobieva@rambler.ru

Поступила в редакцию 06.08.15 г.

После доработки 28.10.15 г.

Описаны эффекты облучения непрерывным и амплитудно-манипулированным низкоинтенсивным электромагнитным полем десятиметрового диапазона на плодовитость, качество потомства и линейные размеры тела планктонных ракообразных *Daphnia magna*. Показано, что однократное облучение односуточных рачков в широком диапазоне доз способно оказать влияние на репродуктивные характеристики дафний, в частности, вызывать эмбриональные нарушения у рожденной молодежи, а также оказывать влияние на линейные размеры облученных особей.

Ключевые слова: электромагнитные поля, низкоинтенсивное излучение, радиоволны, *Daphnia magna*, плодовитость, качество потомства, линейные размеры.

Электромагнитные поля (ЭМП), в том числе радиочастотного диапазона (3 кГц – 300 ГГц), способны оказывать воздействия *in vivo* и *in vitro* на различные биологические системы [1–3]. В настоящее время ЭМП антропогенного происхождения, как правило, значительно превышают естественный фон. В радиочастотном диапазоне излучают медицинские приборы (аппараты для диатермии (27–500 МГц), электрохирургии (0,3–5 МГц), магнитно-резонансной томографии (60 МГц), лазеры (27 МГц), телевизионные и радиотрансляционные станции (30 кГц – 500 МГц), аппараты дуговой сварки (2 – 20 МГц), промышленные установки (3 кГц – 300 ГГц), системы подвижной, в том числе сотовой радиосвязи (50 МГц – 3 ГГц) и др. [4,5,6,23]). В медицинских терапевтических приборах наиболее широко используется ЭМП с частотой ~27 МГц. Такая частота была разрешена комиссией по эфиру в 30-х годах XX века, как не имеющая важного телекоммуникационного значения. Широкое применение излучений определяет интерес к выявлению и

нормированию воздействий антропогенных ЭМП на биообъекты.

В настоящее время рассматриваются два основных механизма действия ЭМП на биологические объекты – тепловой, связанный с гипертермией, и нетепловой. Низкоинтенсивные ЭМП могут действовать только через нетепловой механизм, поскольку при их воздействии температура биологических систем практически не повышается [6]. Считается установленным, что при воздействии слабых ЭМП на клеточном уровне изменяются потоки Ca^{2+} , активность клеточных ферментов, скорости синтеза белков и РНК [7]. Под действием непрерывного или импульсного ЭМП поля частотой 1–100 МГц из-за наведенного дипольного момента коллоидные частицы собираются в цепочки – «жемчужные цепи», а одноклеточные организмы двигаются или ориентируются параллельно или перпендикулярно полю [8]. Биологический эффект от облучения существенным образом зависит от параметров ЭМП (частоты, интенсивности) и времени воздействия [7]. Положительный эффект связывают с ускорением пролиферации клеток. Например, воздействие низкоинтенсивным непрерывным ЭМП на клетки яичников китайского хомячка достоверно ускорило

Сокращение: ЭМП – электромагнитные поля.

клеточные циклы [9]. В то же время облучение биологических организмов большими дозами зачастую может приводить к гибели клеток и разрушению органов. Так, воздействие на крыс ЭМП 27 МГц с напряженностью магнитного поля 0,65 и 0,35 А/м в течение 6 мин приводило к появлению в их печени областей с некрозом и вакуолярной дегенерацией [10]. Особенно чувствительны к влиянию ЭМП несформировавшиеся организмы, при этом наиболее уязвимыми периодами являются ранние стадии развития зародыша [11].

В наших предыдущих исследованиях с низкоинтенсивной светодиодной матрицей СДМ-01 (длина волны 650 нм, интенсивность облучения 0,04 мВт/см²) было показано, что паразитное ЭМП, возникающее при работе этой матрицы, способно приводить к аномалиям в потомстве облученных ракообразных как в выборках, непосредственно подвергавшихся их воздействию, так и в последующих поколениях, облучение которых не производилось [12]. Измерение паразитного ЭМП светодиодной матрицы СДМ-01 в радиочастотном диапазоне показало, что матрица излучает ЭМП в десятиметровом диапазоне (~30 МГц). Для оценки влияния ЭМП с такими параметрами на живые организмы был сконструирован оригинальный прибор, действие которого представлено в работе.

Целью нашей работы служило выявление эффектов действия непрерывного и амплитудно-манипулированного низкоинтенсивного ЭМП с частотой 30 МГц на ракообразных *Daphnia magna* Straus.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на лабораторной культуре пресноводных рачков *Daphnia magna* Straus (Anomopoda, Daphniidae), являющихся чувствительным тест-объектом для оценки влияния факторов физической и химической природы [13]. Партеногенетических самок культивировали в соответствии с методическими указаниями [14,15] в климатостате В3 компании «Энерголаб», с постоянной температурой, режимом и интенсивностью освещения.

Облучение дафний проводили с помощью оригинального генератора ЭМП (частота 30 МГц, напряженность магнитного поля $H = 0,44$ А/м, плотность потока энергии 73 Вт/м²), который работал в двух режимах – непрерывном и режиме амплитудной манипуляции выходного сигнала меандром с частотой 50 Гц, при котором периоды излучения ЭМП с постоянной амплитудой чередуются с такими же по длительности периодами без излучения.

Односуточных рачков в количестве по 20 особей однократно облучали в чашках Петри диаметром 8 см с высотой водяного столба

0,5 см. Время экспозиции составляло от 10⁻¹ до 10⁵ с (от 0,1 с до ~28 ч). Дозы непрерывного ЭМП определялись произведением плотности потока энергии на время воздействия в секундах и лежали в интервале 7,3–7,3·10⁶ Дж/м², а дозы амплитудно-манипулированного ЭМП были соответственно в два раза меньше. Для минимизации различий в условиях проведения эксперимента, особой из всех выборок после облучения изымали из рабочего поля прибора и далее инкубировали в чашках Петри таким образом, чтобы общее время, проведенное рачками в чашках Петри, включая время облучения, составляло 10⁵ с для всех выборок. В качестве контроля использовали рачков из того же помета, что и опытные выборки, но не подвергнутых облучению. Контрольные особи не подвергались воздействию прибора, но также находились в чашках Петри на протяжении того же срока (10⁵ с). После облучения дафний рассаживали в опытные стаканы по пять особей на 250 мл воды в четырехкратной повторности. Смену воды, кормление хлорококковыми водорослями *Chlorella vulgaris* и удаление вновь рожденной молодежи рачков производили через день. Наблюдения продолжали на протяжении 21 суток. Регулярно регистрировали выживаемость, плодовитость и качество потомства. Измерение линейных размеров тела от головы до основания хвостовой иглы проводили на 21-е сутки наблюдения. Полученные результаты проверяли на статистическую значимость отличий экспериментальных данных от контрольных с помощью критерия Стьюдента (уровень значимости 0,05). Наличие корреляции между дозой облучения и изменением исследуемых параметров проверяли с помощью критерия ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Облучение в исследованном диапазоне доз не оказало влияния на выживаемость рачков, а также на время наступления половой зрелости. Как в опытных, так и в контрольных выборках гибели рачков не отмечено, а половая зрелость наступала на 8-е сутки. Было показано влияние облучения на линейные размеры тела и плодовитость облученных самок, а также на качество рожденного потомства.

Влияние облучения на линейные размеры тела. ЭМП с амплитудной манипуляцией оказало в целом негативное влияние на размеры облученных дафний. При этом низкие дозы не оказывали статистически значимого влияния, но при увеличении времени воздействия до 10²–10⁴ с было выявлено достоверное снижение линейных размеров тела на 3–5% (табл. 1).

Наибольшая из исследованных экспозиций 10⁵ с также не оказала влияния на размеры тела рачков, что может свидетельствовать о

Таблица 1. Влияние облучения на линейные размеры тела облученных дафний (21 сутки)

Время воздействия, с	Амплитудно-манипулированное ЭМП			Непрерывное ЭМП		
	Размеры, мм	% от контроля	<i>td</i>	Размеры, мм	% от контроля	<i>td</i>
0 (контроль)	3,50 ± 0,04	100		3,48 ± 0,05	100	
1	3,52 ± 0,03	100,43	0,5	3,64 ± 0,05	104,45	3,89*
10	3,51 ± 0,04	100,32	0,33	3,61 ± 0,05	103,68	3,39*
100	3,37 ± 0,02	96,29	4,96*	3,35 ± 0,08	96,29	3,37*
1 000	3,36 ± 0,06	96,24	3,15*	Не измеряли		
10 000	3,32 ± 0,05	94,93	5,12*	3,30 ± 0,05	94,93	4,36*
100 000	3,52 ± 0,04	100,59	0,69	3,65 ± 0,05	104,75	4,04*

Примечание. * – Отмечены достоверные отличия от контроля (*T*-критерий Стьюдента).

Таблица 2. Влияние облучения на среднюю суммарную потенциальную плодовитость дафний за 21 сутки

Время воздействия, с	Амплитудно-манипулированное ЭМП			Непрерывное ЭМП		
	Плодовитость, особи	% от контроля	<i>td</i>	Плодовитость, особи	% от контроля	<i>td</i>
0 (контроль)	57,15 ± 4,77	100		43,4 ± 10,3		
1	59,50 ± 2,59	104,1	0,83	47,6 ± 6,9	109,61	0,65
10	55,50 ± 1,88	97,1	0,61	46,4 ± 3,6	106,74	0,52
100	57,25 ± 4,83	100,2	0,03	46,1 ± 4,8	106,16	0,46
1 000	60,00 ± 9,30	105	0,53	не определяли		
10 000	54,00 ± 2,88	94,5	1,09	46,3 ± 12,6	106,66	0,34
100 000	45,25 ± 6,27	79,2	2,9*	51,9 ± 5,3	119,58	1,44

Примечание. * – Отмечены достоверные отличия от контроля (*T*-критерий Стьюдента).

включении неких компенсаторных реакций организма при достижении определенного времени воздействия.

При действии непрерывного ЭМП линейные размеры тела отличались от контрольных значений во всем выбранном диапазоне доз. Увеличение размеров тела наблюдалось при низких дозах облучения (10^{-1} – 10 с). Средние дозы облучения, (10^2 – 10^4 с), так же как и при действии амплитудно-манипулированного ЭМП, вызывали снижение размеров дафний на 4–5% (табл. 1). При дальнейшем увеличении дозы вновь наблюдалось стимулирующее действие облучения.

Влияние облучения на плодовитость дафний.

Еще одним исследуемым параметром при выявлении эффектов от облучения дафний ЭМП была потенциальная плодовитость в пересчете на одну самку за 21 сутки эксперимента. Облучение не оказало влияние на указанную плодовитость рачков, за исключением максимальной из использованных доз при исследовании ЭМП с амплитудной манипуляцией, где наблюдалось снижение плодовитости на 21% по сравнению с контрольными выборками (табл. 2).

У облученных особей фактическая плодовитость, т.е. количество рожденных жизнеспособных особей, была несколько ниже потенциальной, т.е. общего количества рожденной молодежи, при всех исследованных сроках воздействия за счет аномальных и быстро погибающих особей в потомстве. Аномалии носили единичный характер и существенно не влияли на общее суммарное значение плодовитости рачков, так как их доля в потомстве не превышала 2,5%.

Аномалии в потомстве облученных особей.

И непрерывное и амплитудно-манипулированное ЭМП, значительно не изменяя плодовитость облученных особей, оказали влияние на качество рожденного потомства. Было выявлено несколько типов аномалий: 1) особи без видимых патологий развития, погибающие через несколько часов после рождения; 2) особи с видимыми аномалиями развития, которые не доживали до половой зрелости и умирали, как правило, в течение одних–трех суток после рождения; 3) особи с деформированной раковиной, которые в процессе линек могли восстанавливать нормальную форму раковины, однако их плодовитость была существенно ниже

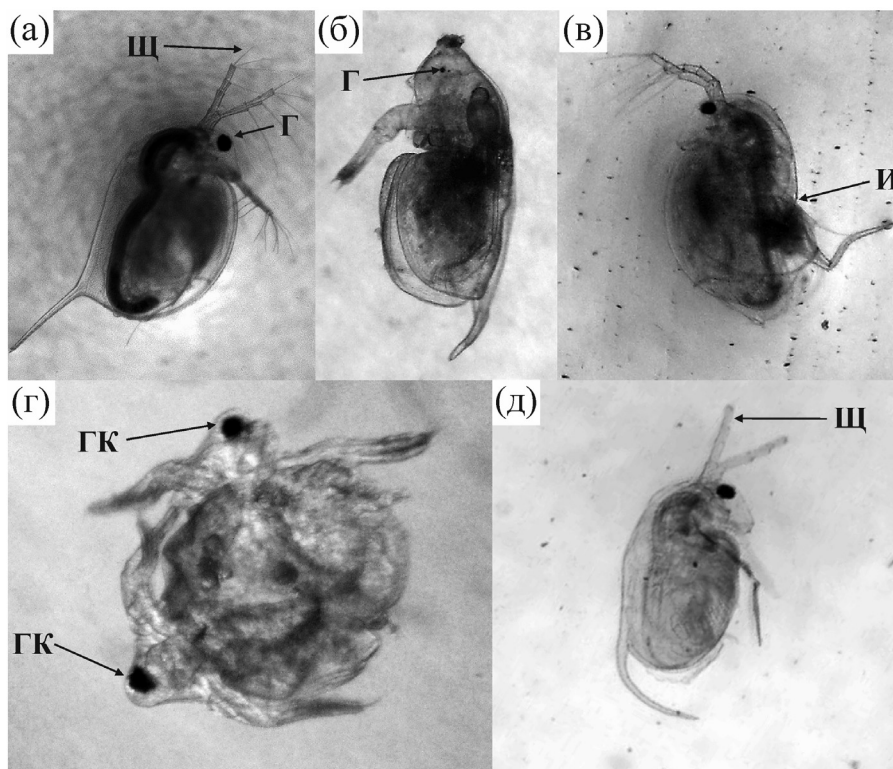


Рис. 1. Аномалии в потомстве облученных особей: (а) – особь без патологий; (б) – эмбрион с недоразвитым сложным глазом; (в) – особь с деформированной раковиной; (г) – бикапитальный эмбрион; (д) – эмбрион с недоразвитыми плавательными антеннами. Обозначения: Г – сложный глаз; Щ – щетинки на плавательных антеннах; ГК – головной конец; И – инвагинация карапакса.

особей без аномалий и составляла 5–15 особей за 21 сутки наблюдения (рис. 1). Особи с деформированной раковиной встречались только при воздействии ЭМП с амплитудной манипуляцией, которое приводило в целом к появлению более широкого спектра аномалий. Так, помимо особей с деформированной раковиной (рис. 1в), были выявлены особи с патологией зрительной системы (рис. 1б), бикапитальный эмбрион, имеющий два сформированных головных конца (рис. 1г), а также недоразвитые эмбрионы без плавательных щетинок на антеннах (рис. 1д). Последний тип аномалий (рис. 1д) встречался после облучения не только амплитудно-манипулированным, но и непрерывным ЭМП. Большая часть аномальных особей погибала. Особи, родившиеся в потомстве дафний с деформированной раковиной (рис. 1в), не имели морфологических отклонений. В контрольных выборках аномальных особей не отмечено.

Максимальное число аномальных особей, полученных от 20-ти облученных рачков, составляющих каждую выборку, не превышало 25-ти особей, при средней численности молоди, родившейся от этих выборок за 21 день, в 400–600 особей. Наибольшее число аномальных особей (как в абсолютном, так и в относитель-

ном значении) было выявлено при действии наибольшей из исследованных доз облучения при обоих режимах ЭМП (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты дают основание сделать заключение о влиянии ЭМП в десятиметровом диапазоне на морфофункциональные параметры дафний, что выражается в изменении линейных размеров тела и плодовитости облученных особей, а также качества рожденного от них потомства.

Влияние некоторых диапазонов ЭМП на облученных дафний описано в литературе. Так, воздействие магнитным полем с частотой 240 Гц приводило к снижению линейных размеров тела и биомассы облученных рачков на протяжении пяти исследованных поколений [16]. По нашим данным, в зависимости от времени экспозиции, наблюдается фазность эффекта облучения, т.е. сменяющие друг друга стимулирующее и угнетающее действия ЭМП. Так, при низких дозах воздействия может иметь место эффект гормезиса, т.е. стимулирующий эффект, который сменяется угнетающим действием, или эффектом истощения. В результате гормезиса включаются компенсаторные реакции

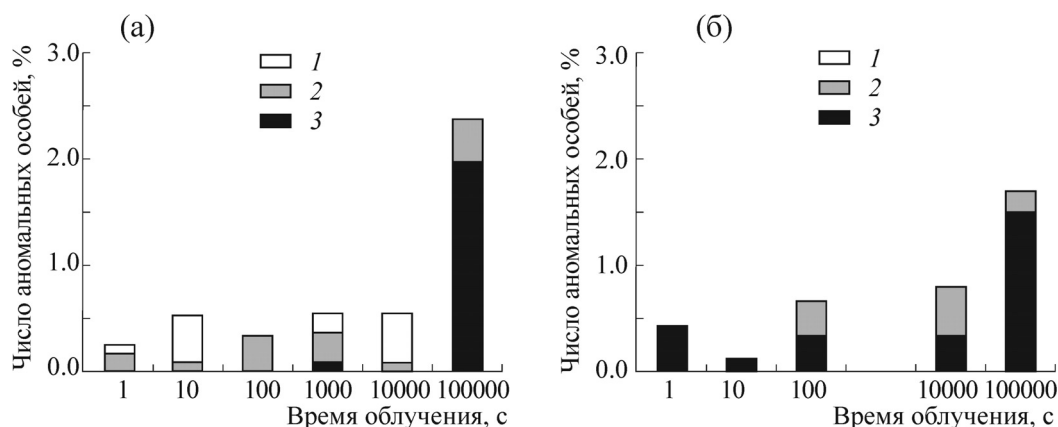


Рис. 2. Появление аномалий в потомстве облученных дафний, % от общего числа рожденной молодежи: (а) – при действии ЭМП с амплитудной манипуляцией; (б) – при действии непрерывного ЭМП. Обозначения: 1 – особи с деформированной раковиной; 2 – особи с морфологическими аномалиями развития; 3 – быстро погибающие особи.

организма, что проявляется в снижении негативного действия облучения (в случае ЭМП с манипуляцией), или стимуляции исследованной тест-функции (непрерывное ЭМП).

Воздействие ЭМП с частотой 42,25 ГГц вызывало снижение плодовитости и увеличивало чувствительность дафний к действию токсиантов [17]. В нашем случае не было выявлено существенного влияния на плодовитость дафний, хотя из-за появления аномалий в потомстве облученных особей фактическая плодовитость несколько снижалась.

Наибольший интерес представляет появление аномальных особей в потомстве облученных рачков. Так, облучение затронуло развитие зрительной системы дафний, а именно формирование сложного глаза. Дафнии без сложного глаза были обнаружены в природных популяциях [18]. Показано, что лишение сложного глаза не влияет на их вертикальную миграцию.

Наиболее часто встречающейся аномалией было появление недоразвитых эмбрионов с не полностью сформированными плавательными антеннами. В норме плавательные антенны дафнии двуветвистые, состоят из основания – базиподита и расположенных на нем двух ветвей – четырехчленного экзоподита и трехчленного эндоподита. Обе ветви каждой из антенн снабжены щетинками, их число и расположение на каждом членике описывается формулой 0–0–1–3 и 1–1–3. У аномальных особей наблюдалась недоразвитость или редукция щетинок на плавательных антеннах. Подобное нарушение строения могло сопровождаться спиральной деформацией антенн. В некоторых случаях аномальной была только одна антенна, а вторая антенна могла иметь нормальное строение с хорошо различимыми щетинками нормальной длины. Хвостовая игла у таких особей часто была подогнута под вентральный край

створки панциря. Особи с аномалиями антенн не могли свободно перемещаться в толще воды. В течение одних-трех суток после рождения они, как правило, погибали. В редких случаях происходили линьки, после которых дафнии частично восстанавливали нормальное строение плавательных антенн. Подобные аномалии антенн были зафиксированы при облучении дафний красным некогерентным светом светодиодной матрицы с длиной волны 650 нм в диапазоне доз от 0,09 до 270 мДж/см² [19], при действии гелий-неонового лазера (неопубликованные данные), а также после действия различных химических веществ: пестицидов – атразина [20] и сульфата имазалила [21], ионов хрома и меди [22].

Облучение затронуло и процессы дробления у дафний, что привело к появлению бикапитального рачка, который имел два сформированных головных конца со сложным глазом и парой двуветвистых антенн с недоразвитыми щетинками на них. Пищеварительная система была отдельной, с двумя довольно хорошо развитыми кишечниками. Плавательные антенны эмбрионов были подвижны, но двигались не синхронно, что не позволяло ему свободно перемещаться в толще воды. Имобилизация рачка наступила через 5–6 ч после рождения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлено действие однократного облучения низкоинтенсивными электромагнитными полями радиочастотного диапазона на лабораторную культуру пресноводных рачков *Daphnia magna*. Однократное облучение неполовозрелых особей способно изменять не только такие интегральные морфофункциональные показатели, как плодовитость и размеры тела облученных рачков, но и влиять

на качество рожденного потомства, приводя к аномалиям в развитии молоди. Причины эмбрионального нарушения развития молоди пока не известны и требуют дальнейших исследований, в том числе на генетическом уровне. ЭМП с амплитудной манипуляцией оказывало более выраженный негативный эффект, что проявлялось в снижении как размеров тела, так и плодovitости, а также в большем числе и разнообразии аномалий в потомстве, по сравнению с ЭМП без манипуляции.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. A. Pilla and M. S. Markov, *Rev. Environ. Health* **10** (3–4), 155 (1994).
2. G. Cao, L. M. Liu, and S. Cleary, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **37** (2), 131 (1995).
3. S. Kottou, D. Nikolopoulos, E. Vogiannis, et al., *J. Phys. Chem. Biophys.* **4** (146), 2161 (2014).
4. A. S. Presman, *Electromagnetic Fields and Life*, Ed. by F. A. Brown (Plenum Press, New York–London, 1970).
5. О. А. Григорьев, Е. П. Бичелдей, А. В. Меркулов и др., в сб. *Ежегодник Российского национального комитета по защите от неионизирующих излучений* (Изд-во РУДН, М., 2003), с. 46–74.
6. В. М. Чудновский, Г. Н. Леонова, С. А. Скопинов и др., *Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии* (Дальнаука, Владивосток, 2002).
7. W. Grundler, F. Kaiser, F. Keilmann, and J. Walleczek, *Naturwissenschaften* **79**, 551 (1992).
8. А. С. Пресман, *Успехи физ. наук* **86** (2), 263 (1965).
9. S. Engels, N. L. Schneider, N. Lefeldt, et al., *Nature* **509**, 353 (2014).
10. A. Gökçimen, F. Özgüner, E. Karaözet, et al., *Okajimas Folia Anatom. Japon.* **79** (1), 25 (2002).
11. М. Е. О'Коннор, *Proc. IEEE* **68** (1), 56 (1980).
12. О. В. Воробьева, *Поволжский экологич. журн.* **4**, 374 (2013).
13. О. Ф. Филенко и И. В. Михеева, *Основы водной токсикологии* (Колос, М., 2007).
14. *Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение*, под ред. О. Ф. Филенко и С. А. Соколовой (ВНИРО, М., 1998).
15. Н. С. Жмур, *Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости дафний*, 2-е изд., испр. и доп. (АКВАРОС, М., 2007).
16. V. V. Krylov and E. A. Osipova, *Ecotoxicol. Environ. Safety* **96**, 213 (2013).
17. Л. Д. Гапочка, М. Г. Гапочка, Т. С. Дрожжина и др., *Вестн. МГУ. Сер. 16, Биология*, № 2, 43 (2012).
18. G. Fryer, *Naturalist* **118**, (1953).
19. О. В. Воробьева, *Экологические системы и приборы*, № 10, 61 (2013).
20. P. Palma and I. R. Barbosa, *Global J. Environ. Sci. Technol.* **1** (12), 1714 (2011).
21. О. Ф. Филенко, А. Г. Дмитриева и Е. Ф. Исакова, в сб. *Антропогенные влияния на водные экосистемы (По материалам конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Н.С. Строгонова)*, под ред. О. Ф. Филенко (Т-во научных изданий КМК, М., 2005).
22. Е. Ф. Исакова и Е. Е. Коломенская, *Экологические системы и приборы*, № 7, 31 (2002).
23. W. D. Kimmel and D. Gerke, *Electromagnetic compatibility in medical equipment: a guide for designers and installers* (IEEE Press; Buffalo Grove, E: Interpharm Press, Inc, New York, 1995).

Effects of Low Intensity Electromagnetic Radiation within a 10 Meter Range on Morpho-Functional Indicators of *Daphnia magna* Straus

O.V. Vorob'eva*, O.F. Filenko*, E.F. Isakova*, V.I. Yusupov** ***,
K.V. Zotov**, and V.N. Bagratashvili**

*Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia

**Institute of Photon Technologies, Research Center of Crystallography and Photonics, Russian Academy of Sciences, ul. Pionerskaya 2, Troitsk, Moscow Region, 142092 Russia

***Ilichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Baltiiskaya 43, Vladivostok, 690041 Russia

This paper describes the effects of continuous exposure to low intensity electromagnetic field within a 10 meter range using on-off keying on fertility, quality of offspring and the linear body size of the planktonic crustacean *Daphnia magna*. It has been shown that single exposure of one-day crustaceans in a wide range of doses can affect the reproductive characteristics of daphnia, particularly, cause fetal abnormalities in offspring, as well as influence linear dimensions of the exposed species.

Key words: electromagnetic fields, low intensity radiation, radio waves, Daphnia magna, fertility, quality of offspring, linear body size