

УДК 597.554.3.116:537.3

РЕАКЦИЯ ЖИВОТНЫХ И РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ДЕЙСТВИЕ ТИПИЧНОЙ МАГНИТНОЙ БУРИ

© 2013 г. М.Г. Таликина, Ю.Г. Изюмов, В.В. Крылов

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, Россия

Воспроизведенные экспериментально флуктуации низкочастотного магнитного поля в нанотесловом диапазоне (магнитная буря) влияют на митоз животных и растительных клеток, приводя, в частности, в течение суток к достоверному усилению пролиферативной активности зародышевых клеток плотвы (*Rutilus rutilus L.*) и клеток меристемы корешков лука (*Allium cepa*). Кластогенный эффект, статистически подтвержденный только в *Allium*-тесте, отражает, возможно, видовую специфичность реакции и более высокую чувствительность клеточной ассоциации меристемы лука к испытанному нетепловому излучению.

Ключевые слова: магнитная буря, митоз, бластоциты плотвы, меристемные клетки лука, хромосомные аберрации.

PACS 94.30.Lr

Введение

Настоящая статья является частью комплексного экспериментального изучения влияния магнитных полей (МП), различных по частоте и величине индукции, на биологические системы [Крылов, Чеботарева, 2006; Крылов, 2008; Чеботарева и др., 2009; Krylov, 2010].

Воспроизведенная в лабораторных условиях магнитная буря (МБ) в направлении одной компоненты и переменное МП после действия на оплодотворенную икру плотвы (*Rutilus rutilus*) в период делений дробления вызывали отдаленный биологический эффект. В частности, отмечены ранние сроки вылупления свободных эмбрионов, снижение размерно-массовых показателей молоди в первые месяцы жизни и изменение числа позвонков [Крылов и др., 2010].

С учетом появившихся возможностей более полно и точно воспроизвести МБ в 2010 и 2011 гг. были поставлены новые эксперименты на эмбрионах плотвы. Поскольку воздействие планировалось начать с момента оплодотворения, когда еще не заложены структуры будущего организма, мы сочли целесообразным проанализировать ход митотического деления зародышевых клеток будущего организма и определить тем са-

мым эффект прямого воздействия на них внешнего фактора. Митоз – генетически детерминированный процесс, основная задача которого – равное распределение наследственного материала и субклеточных структур между двумя образующимися дочерними клетками; нарушение его чревато несбалансированными хромосомными наборами, дестабилизацией генома и онтогенетическими нарушениями на разных структурных уровнях [Ильинских, 1992].

Цель настоящей работы – оценить характер влияния воспроизведенной экспериментально типичной МБ на пролиферативную активность бластоцитов плотвы. Для сравнения порога чувствительности раннего эмбриогенеза плотвы к анализируемому нетепловому излучению использовали меристемные клетки корешков лука (*Allium cepa*). В генотоксикологической практике *Allium*-тест – один из традиционных способов оценки влияния внешних факторов среды, включая МП, на клеточном уровне [Rank, 2003; Aksoy et al., 2010].

Методы исследования

Эксперименты на плотве проводились в мае 2010 г. и в мае 2011 г., на луке – в марте–апреле 2011 г. Партия осемененной икры плотвы в 2010 г. получена от двух пар производителей из Рыбинского водохранилища, в 2011 г. – от одной пары, выращенной в прудовых условиях. Действие МБ на трехдневных корешках лука сорта «Центурион» испытано в трех средах: в обычной водопроводной воде – рН 7.2, в стандартной («синтетической») воде без органики для токсикологических исследований – рН 7.2 [Baird et al., 1989] и в дистилляте.

Воспроизведение МБ проводилось в экспериментальной установке, позволяющей компенсировать в рабочем объеме флуктуации геомагнитного поля и создавать заданные пользователем сложные трехкомпонентные магнитные поля. В состав экспериментальной установки входит трехкомпонентный феррозондовый магнитометр, регистрирующий локальное низкочастотное магнитное поле и его вариации (НВ0302А, НПО «ЭНТ», г. Санкт-Петербург), система из трех пар взаимно ортогональных колец Гельмгольца, в которой происходит компенсация трех компонент магнитного поля на основе регистрируемых сигналов и генерация заданных магнитных полей, оборудование для аналого-цифрового и цифро-аналогового преобразования сигналов (LTR-EU-8, ЗАО «Л-кард», г. Москва). Управление экспериментальной установкой осуществлялось при помощи компьютера со специальным программным обеспечением.

В экспериментах воспроизводились типичные МБ на основе трехкомпонентного сигнала реальных МБ, случившихся в октябре–ноябре 2003 г. и записанных ранее на широте проведения экспериментов (приведено на рис. 1). Бури были сходны между собой по продолжительности и амплитуде вариаций, но различались по общей картине. МБ, соответствующие картине сигнала, использованного в эксперименте 2011 г., встречаются чаще, чем бури, соответствующие картине сигнала, использованного в эксперименте 2010 г.

Схема эксперимента включала экспонирование в течение 24 ч кристаллизаторов с развивающейся икрой в МБ от оплодотворения до стадии поздней бластулы и боксов с луковицами. Контрольные варианты находились в условиях естественного магнитного поля.

По окончании экспозиции материал для цитоморфологии (2010 г. – зародыши плотвы) фиксировали в жидкости Серра или в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты – 3:1 (2011 г. – зародыши плотвы и корешки лука). Смену воды проводили дважды в сутки. Температура инкубации в 2010 г. колебалась в пределах 17.5–19.0 °С, в 2011 г. – 14.5–17 °С.

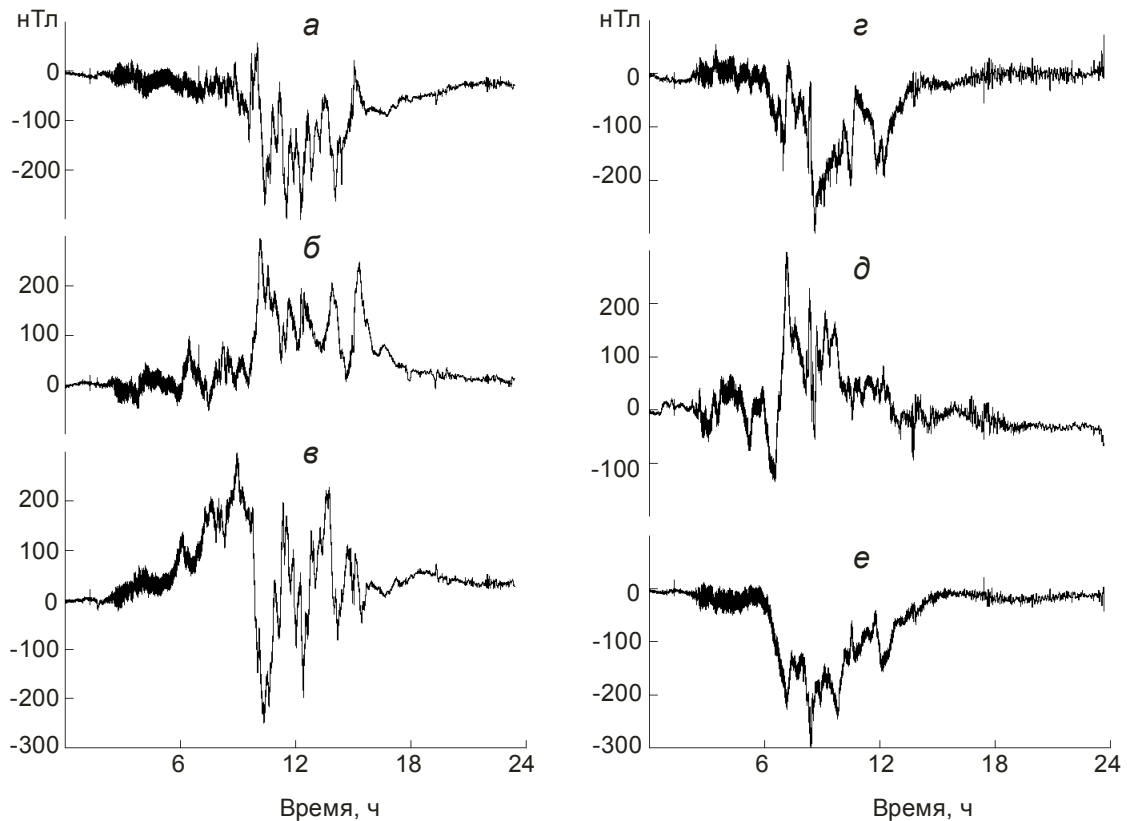


Рис. 1. Флуктуации геомагнитного поля (в нТл) в направлении x -компоненты ($a, з$), y -компоненты ($б, д$) и z -компоненты ($в, е$), использованные в качестве сигнала магнитной бури в 2010 ($a-в$) и 2011 ($з-е$) гг.

Цитогенетический анализ проводили на тотальных давленных препаратах, окрашенных ацетоорсеином [Методы..., 1974]. Схема его для обоих тест-объектов была одинаковой: учитывали общее число просматриваемых клеток, норму и видимые морфологические отклонения по стадиям митоза – метафазы, анафазы и телофазы. Критериями нарушений считалось наличие хромосомных и хроматидных мостов и полумостов, отставание хромосом при расхождении к полюсам и присутствие их фрагментов в цитоплазме [Алов, 1972; Изюмов, Таликина, 2007].

Для анализа использовали: у плотвы – в каждом из вариантов не менее 15 зародышей; у лука – по 4–5 корешков от 5 луковиц. Показателями митотической активности служило общее число делящихся клеток в промилле. Суммарную долю aberrантных анафаз и телофаз для обоих тест-объектов выражали в промилле от общего числа митозов в каждом из опытных вариантов. Достоверность различий оценивали при помощи LSD-теста [Sokal, Rohlf, 1995].

Результаты экспериментов

Зародыши плотвы (табл. 1). При выбранных режимах экспозиции в обеих партиях отмечено стимулирующее воздействие МБ на пролиферацию бластомеров. В проанализированных клетках опытных зародышей отмечено достоверное по сравнению с контролем увеличение числа отдельных стадий митоза и их общего числа в целом. Более низкие значения митотического индекса в 2010 г. обусловлены применением нестан-

дартной для этих целей фиксирующей смеси; на саму же тенденцию – увеличение числа митозов при воздействии МБ – это обстоятельство не повлияло.

Таблица 1. Показатели митотического деления зародышевых клеток плотвы в контроле и после экспозиции МБ в 2010 и 2011 гг.

Показатель	2010 г.		2011 г.	
	Контроль	МБ	Контроль	МБ
Все бластоциты	25 525	17 440	19 150	16 340
Все митозы	330	389	869	909
Митотический индекс, ‰	12.6±0.5	22.2±1.8*	45.8±1.9	56.7±2.4*
Стадии митоза, ‰:				
метафаза $\left(\frac{\text{норма}}{\text{абerrации}}\right)$	$\frac{6.3±0.4}{0.4±0.2}$	$\frac{9.3±1.2^*}{0.8±0.2}$	$\frac{18.3±1.1}{2.1±0.4}$	$\frac{23.4 \pm 1.1^*}{2.4±0.4}$
анафаза + телофаза $\left(\frac{\text{норма}}{\text{абerrации}}\right)$	$\frac{5.5±0.5}{0.4±0.2}$	$\frac{11.1±0.7^*}{1.1±0.4}$	$\frac{21.7±1.1}{3.7±0.5}$	$\frac{27.9±2.2^*}{2.9±0.5}$
Всего митозов, ‰:				
нормальных	11.8±0.3	20.3±1.7*	40.0±1.6	51.3±2.3*
абerrантных	0.8±0.3	1.9±0.5	5.8±0.8	5.4±0.8

* Здесь и далее, в табл. 2, 3, различия достоверны при $p < 0.05$.

В частоте встречаемости хромосомных абerrаций в делящихся бластоцитах между контрольным и опытным вариантами достоверно значимые различия не выявлены ни в 2010, ни в 2011 г., хотя число клеток с патологией митоза после экспозиции МБ имеет тенденцию к увеличению.

Allium-тест (табл. 2). Направленность ответов клеток корешков лука на примененное воздействие МБ имеет в целом сходный с зародышами плотвы характер. Отмечено достоверное усиление митотического процесса меристемных клеток корешков лука и

Таблица 2. Показатели митотического деления клеток меристемы корешков лука в водопроводной и «синтетической» воде в контроле и после экспозиции МБ

Показатель	Вода водопроводная (15.03.2011 г.)		Вода «синтетическая» (11.04.2011 г.)	
	Контроль	МБ	Контроль	МБ
Все клетки	21 400	23 600	20 900	27 900
Все митозы	432	773	503	899
Митотический индекс, ‰	20.1±2.6	32.8±2.3*	24.2±0.9	32.6±2.3*
Стадии митоза, ‰:				
метафаза $\left(\frac{\text{норма}}{\text{абerrации}}\right)$	$\frac{7.4±1.5}{1.7±0.3}$	$\frac{10.6±1.5}{2.9±0.4^*}$	$\frac{10.5±0.4}{0.9±0.1}$	$\frac{13.8±1.4^*}{1.6±0.2^*}$
анафаза + телофаза $\left(\frac{\text{норма}}{\text{абerrации}}\right)$	$\frac{9.1±1.2}{1.8±0.5}$	$\frac{11.5±0.8}{7.7±0.6^*}$	$\frac{9.1±0.7}{3.8±0.3}$	$\frac{8.0±0.9}{9.1±0.7^*}$
Всего митозов, ‰:				
нормальных	16.5±2.1	22.1±2.0*	19.6±0.8	21.9±2.2
абerrантных	3.5±0.6	10.7±0.7*	4.6±0.4	10.7±0.8*

генотоксической реакции. Обращает внимание, что в общем числе вовлеченных в процесс размножения растительных клеток значительную и статистически подтвержденную долю составляют клетки с абберрантными митозами.

В дистиллированной воде после экспозиции МБ большинство анализируемых показателей митотического деления меристемных клеток лука сохранило уровень, близкий к контрольным значениям (табл. 3).

Таблица 3. Показатели митотического деления клеток меристемы корешков лука в дистиллированной воде в контроле и после экспозиции МБ

Показатель	Вариант 1 (15.03.2011 г.)		Вариант 2 (11.04.2011 г.)	
	Контроль	МБ	Контроль	МБ
Все клетки	29 500	34 250	25 700	45 100
Все митозы	533	562	503	791
Митотический индекс, ‰	16.8±2.0	16.1±2.0	19.6±2.0	18.1±1.2
Стадии митоза, ‰ :				
метафаза $\left(\frac{\text{норма}}{\text{абберрации}} \right)$	$\frac{7.6±0.9}{2.1±0.5}$	$\frac{6.6±1.2}{2.3±0.5}$	$\frac{8.7±0.9}{1.1±0.2}$	$\frac{8.9±0.5}{0.5±0.1^*}$
анафаза+телофаза $\left(\frac{\text{норма}}{\text{абберрации}} \right)$	$\frac{3.7±0.9}{3.4±0.6}$	$\frac{4.1±0.6}{3.1±0.5}$	$\frac{4.3±0.7}{5.5±0.8}$	$\frac{4.4±0.5}{4.2±0.4}$
Всего митозов, ‰:				
нормальных	11.3±1.7	10.7±1.7	13.1±1.4	13.3±0.9
абберрантных	5.5±0.9	5.4±0.8	6.6±0.9	4.7±0.5

Обсуждение результатов

Увеличение митотической активности клеток в обеих анализируемых тест-системах демонстрирует чувствительность к испытанному физическому фактору каких-то определенных клеточных структур. Конкретизация их в рамках настоящей статьи вряд ли возможна и мы можем лишь констатировать сам факт индуцированной МБ инициации непрямого деления клеток.

Переход клетки к митотическому делению и его успешная реализация осуществляется только по завершении синтеза ДНК и обеспечивается так называемым фактором, стимулирующим митоз, который синтезируется в цитоплазме в конце интерфазы. Известна биохимическая структура входящих в него компонентов, включающая циклин, зависимую от циклина неактивную протеинкиназу и активный фактор стимуляции митоза [Ченцов, 2004]. Вполне возможно, что исследованные МБ способствовали усилению белково-синтетической функции клеток. По мнению В.М. Бинги (2002), физические условия реализуемости биологических эффектов магнитных полей наиболее вероятны на молекулярном уровне.

При воздействии внешнего сигнала на метаболизм клетки, вне зависимости от его природы, большое значение также придается ионному гомеостазу клетки и особой роли в его обеспечении заряженных двухвалентных ионов. В частности, отмечают значительную роль полифункциональных ионов Ca^{2+} , участвующих в работе многих фер-

ментных систем, реализации процессов оплодотворения, дроблении и сохранении структуры и функции клеточных мембран [Маленков, Медянова, 2006; Бродский, 2009].

Есть мнение, что магнитные поля разного происхождения и с разной частотой и величиной индукции способствуют увеличению проницаемости поверхностной мембраны к ионам Ca^{2+} и утечкой их в цитозоль. Этот эффект действует как метаболический стимулятор процессов роста и изменения сроков митоза [Goodman et al., 1993; Levin, Ernst, 1995; Goldsworthy, 2007]. В контексте этих соображений нельзя не отметить, что в нашем эксперименте с корешками лука в бессолевой среде (см. табл. 3) реакция анализируемых показателей митоза на МБ отсутствовала. В магнитобиологии также поддерживается гипотеза о том, что первичной мишенью действия МП являются ионкофакторы различных белков [Lednev, 1991; Леднев и др., 2003].

Более высокий и достоверно значимый уровень частоты встречаемости хромосомных aberrаций после воздействия МБ выявлен только на меристемных клетках лука, что свидетельствует об их повышенной, по сравнению с клетками зародышей плотвы, чувствительности к этому физическому агенту.

Заключение

Таким образом, воспроизведенные экспериментально флуктуации низкочастотного магнитного поля в нанотесловом диапазоне – магнитная буря – влияют на митоз животных и растительных клеток. Воздействие тестируемого физического фактора в течение суток приводит к достоверному усилению пролиферативной активности зародышевых клеток плотвы и клеток меристемы корешков лука. Кластогенный эффект, статистически подтвержденный только в *Allium*-тесте, отражает, возможно, видовую специфичность реакции и более высокую чувствительность клеточной ассоциации меристемы лука к испытанному нетепловому излучению.

Литература

- Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. М.: Медицина, 1972. 263 с.
- Бинги В.Н. Магнитобиология: Эксперименты и модели. М.: МИЛТА, 2002. 592 с.
- Божкова В.П., Чайлахян Л.Н. Специфическая роль ионов в предзародышевом и зародышевом развитии // Внешняя среда и развивающийся организм. М.: Наука, 1977. С. 300–447.
- Бродский В.Я. Клеточная теория: Развитие в исследованиях межклеточных взаимодействий // Онтогенез. 2009. Т. 40, № 5. С. 323–333.
- Изюмов Ю.Г., Таликина М.Г. Влияние сверхмалых концентраций N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина на ранний онтогенез плотвы *Rutilus rutilus*: характеристика митозов в клетках зародышей, динамика вылупления и морфология личинок // Вопр. ихтиологии. 2007. Т. 47, № 5. С. 700–706.
- Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск: Наука, 1992. 272 с.
- Крылов В.В. Действие слабых низкочастотных электромагнитных полей на морфобиологические показатели гидробионтов (на примере *Daphnia magna* Straus и *Rutilus rutilus*): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Борок, 2008. 24 с.
- Крылов В.В., Чеботарева Ю.В. Инкубация икры плотвы *Rutilus rutilus* (L.) в переменном электромагнитном поле частотой 500 Гц вызывает аномалии осевого скелета у сеголеток //

- Экология пресноводных экосистем и состояние здоровья населения. Оренбург: Печ. дом «Димур», 2006. С. 80–86.
- Крылов В.В., Чеботарева Ю.В., Изюмов Ю.Г., Зотов О.Д., Осипова Е.А. Действие типичной магнитной бури на ранний онтогенез плотвы *Rutilus rutilus* (L.) // Биология внутр. вод. 2010. № 4. С. 67–70.
- Леднев В.В., Белова Н.А., Рождественская З.Е., Тирас Х.П. Биоэффекты слабых переменных полей и биологические предвестники землетрясений // Геофизические процессы и биосфера. 2003. Т. 2, № 1. С. 3–11.
- Методы биологии развития. М.: Наука, 1974. 619 с.
- Маленков А.Г., Медянова Е.А. Биологические основы профилактики нетоксической терапии рака. М.: Mageric, 376 с.
- Чеботарева Ю.В., Изюмов Ю.Г., Крылов В.В. Влияние переменного электромагнитного поля на раннее развитие плотвы *Rutilus rutilus* (Cyprinidae, Cypriniformes) // Вопр. ихтиологии. 2009. Т. 49, № 3. С. 422–428.
- Aksoy H., Unal F., Ozcan S. Genotoxic effects of electromagnetic fields from high voltage power lines on some plants // Inter. J. Environ. Res. 2010. V. 4, N 45. P. 595–606.
- Baird D.J., Barber I., Barber M.C., Calow P., Soares A.M. The *Daphnia* bioassay: a critique // Hydrobiologia. 1989. V. 188/189. P. 403–406.
- Goodman R., Chizmadzhev Yu., Shirley-Henderson A. Electromagnetic fields and cells // J. of Cell. Biochemistry. 1993. V. 51. P. 436–441.
- Krulov V.V. Effects of electromagnetic fields on parthenogenic eggs of *Daphnia magna* Straus // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2010. V. 73, Is. 1. P. 62–66.
- Lednev V.V. Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems // Bioelectromagnetics. 1991. V. 12, N 2. P. 71–75.
- Levin M., Ernst S.G. Applied AC and DC magnetic fields cause alterations in the mitotic cycle of early sea urchin embryos // Bioelectromagnetics. 1995. V. 16. P. 231–240.
- Rank J. The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay // Ecologija (Vilnius). 2003. N 1. P. 38–42.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. N.Y.: Freeman and Co, 1995. 887 p.

Сведения об авторах

ТАЛИКИНА Мелания Гордеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник, Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок. Тел.: (48-547) 24-214. E-mail: talykina@ibiw.yaroslavl.ru

ИЗЮМОВ Юрий Глебович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией, Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок. Тел.: (48-547) 24-214. E-mail: izum@ibiw.yaroslavl.ru

КРЫЛОВ Вячеслав Владимирович – кандидат биологических наук, научный сотрудник, Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок. Тел.: (48-547) 24-214. E-mail: kryloff@ibiw.yaroslavl.ru

THE RESPONSE OF ANIMALS AND VEGETATIVE CELLS TO THE EFFECT OF A TYPICAL MAGNETIC STORM

M.G. Talikina, Yu.G. Izyumov, V.V. Krylov

Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Russia

Abstract. Experimentally induced fluctuations of a low-frequency magnetic field in a nanotesla range, the so-called magnetic storm, influence the mitosis of the studied animals and vegetative cells. A twenty-four hours action of this factor caused a significant increase in the proliferative activity of the roach embryo cells and of the meristem cells of the onion rootlets. The clastogenic effect supported statistically only in the *Allium*-test reflects probably the species specificity of the response and higher sensitivity of the cell association of the onion meristem to nonthermal radiation.

Keywords: magnetic storm, mitosis, blastocytes of roach, meristem cells of onion, chromosomal aberrations.