

УДК 621.391+317.532.783+535

ЭФФЕКТЫ ОБЛУЧЕНИЯ КУЛЬТУРЫ *DAPHNIA MAGNA* НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ПОЛЕМ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

Л.Д. Гапочка, М.Г. Гапочка*, Т.С. Дрожжина, Е.Ф. Исакова,
А.С. Павлова*, О.Б. Шавырина

(кафедра гидробиологии; e-mail: ludgar@phys.msu.ru)

Исследовано влияние электромагнитного излучения низкой интенсивности и кадмия на выживаемость и плодовитость дафний в процессе онтогенеза. Эффекты облучения четко выражены в токсикологических опытах при совместном действии облучения и кадмия и слабо проявляются при действии собственно облучения. На всех стадиях развития облучение, не влияя на выживаемость дафний, увеличивает их чувствительность к действию кадмия.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, интоксикация, культура дафний, выживаемость, плодовитость.

За последние десятилетия в связи с увеличением в тысячи раз [1, 2] антропогенной составляющей электромагнитного фона Земли возрос интерес к изучению влияния электромагнитного излучения (ЭМИ) на живые организмы. Количество публикаций по различным аспектам биологического действия электромагнитных полей превысило несколько тысяч [1]. Однако данных об изменении чувствительности организма в процессе его развития к действию облучения с использованием гидробионтов очень мало. Так, на культуре *Daphnia magna* было показано, что действие ЭМИ во время ювенильного периода может менять программу репродуктивной реализации в процессе развития [3].

В настоящей работе исследована чувствительность культуры *Daphnia magna* на разных стадиях онтогенеза к действию ЭМИ и влияние облучения на чувствительность рачков к токсическому действию кадмия.

Объект и методы исследования

Объектом исследования служила культура *Daphnia magna* Straus, являющаяся классическим тест-объектом в токсикологических исследованиях.

В экспериментах были использованы рачки *D. magna* из лабораторной культуры, выращенной в стандартных условиях [4]. В опытные стеклянные стаканы объемом 250 мл с отстоянной водопроводной водой при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$ помещали по 10 экземпляров суточных рачков.

В ходе опытов рачков ежедневно кормили суспензией клеток хлореллы (~350 тыс. кл/мл). Смену растворов в процессе эксперимента не проводили. Через 10 сут опыта доливали воду в стаканы

до исходного уровня. Стаканы накрывали стеклом для уменьшения испарения. По мере отрождения молодь подсчитывали и удаляли из экспериментальных стаканов.

Облучение проводили с донной стороны экспериментальных стаканов, в которых находились рачки. В качестве источника излучения использовали промышленный генератор Г4-141; экспериментальная частота ЭМИ — 42,25 ГГц. Продолжительность облучения составляла 45 мин.

В качестве токсиканта был использован хлорид кадмия (CdCl_2) в концентрации 0,03 мг/л в пересчете на металл, который вносили после облучения рачков, причем контролями в данном случае являлись как необлученные (К), так и облученные (К*) рачки без кадмия. Соответственно опытные варианты представляли собой облученных и необлученных рачков, росших в присутствии кадмия.

В опытах с гидробионтами вода является не только средой обитания объекта исследования (дафний), но и неотъемлемым участником эксперимента. При исследовании ЭМИ ее роль особенно важна, в частности потому, что 500-микронный слой воды почти полностью поглощает миллиметровое электромагнитное излучение. Поэтому в предварительных экспериментах было исследовано влияние объема воды на результат облучения. Было обнаружено, что облучение дафний в объеме воды от 10 до 200 мл не влияет на результаты опыта. Исходя из этого, в дальнейшем облучение дафний проводили непосредственно в экспериментальных стаканах с 200 мл воды.

Для исследования чувствительности дафний на разных стадиях онтогенеза к воздействию собственно ЭМИ и совместно с токсической нагрузкой по-

* Кафедра фотоники и физики микроволн физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Таблица 1

Схема постановки опытов

Варианты	Серии		
	I	II	III
	0-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
Контроль	К	К	К
1. Облучение (*)	I К*	II К*	III К*
2. Cd	I Cd	II Cd	III Cd
3. Облучение(*) + Cd	I *Cd	II *Cd	III *Cd

Примечание. Наблюдаемые показатели — выживаемость и плодовитость дафний. Повторность каждого варианта опыта — трехкратная.

следовательно облучали и подвергали интоксикации суточных, 7-суточных (на стадии половозрелости) и 14-суточных рачков (в период размножения) в условиях одного непрерывного эксперимента.

Суточных дафний рассадил в экспериментальные стаканы и распределили их на 3 параллельные серии. В I серии опыта испытаниям подвергали суточных рачков, разделив их на 3 группы (варианты опытов): одних рачков подвергали только облучению, на других воздействовали только кадмием, а на третьих влияли и облучением и кадмием. При этом кадмий вносили после облучения рачков. Аналогичные действия провели с рачками из II серии опыта в возрасте 7 сут, а с III серией — на 14-е сут от начала эксперимента.

Таким образом, варианты опыта получили следующие обозначения (табл. 1).

Результаты

В условиях данного эксперимента облучение не сказывалось на выживаемости интактных дафний. Как видно из рис. 1, а, б, в, облучение на разных стадиях развития не приводит к снижению выживаемости рачков.

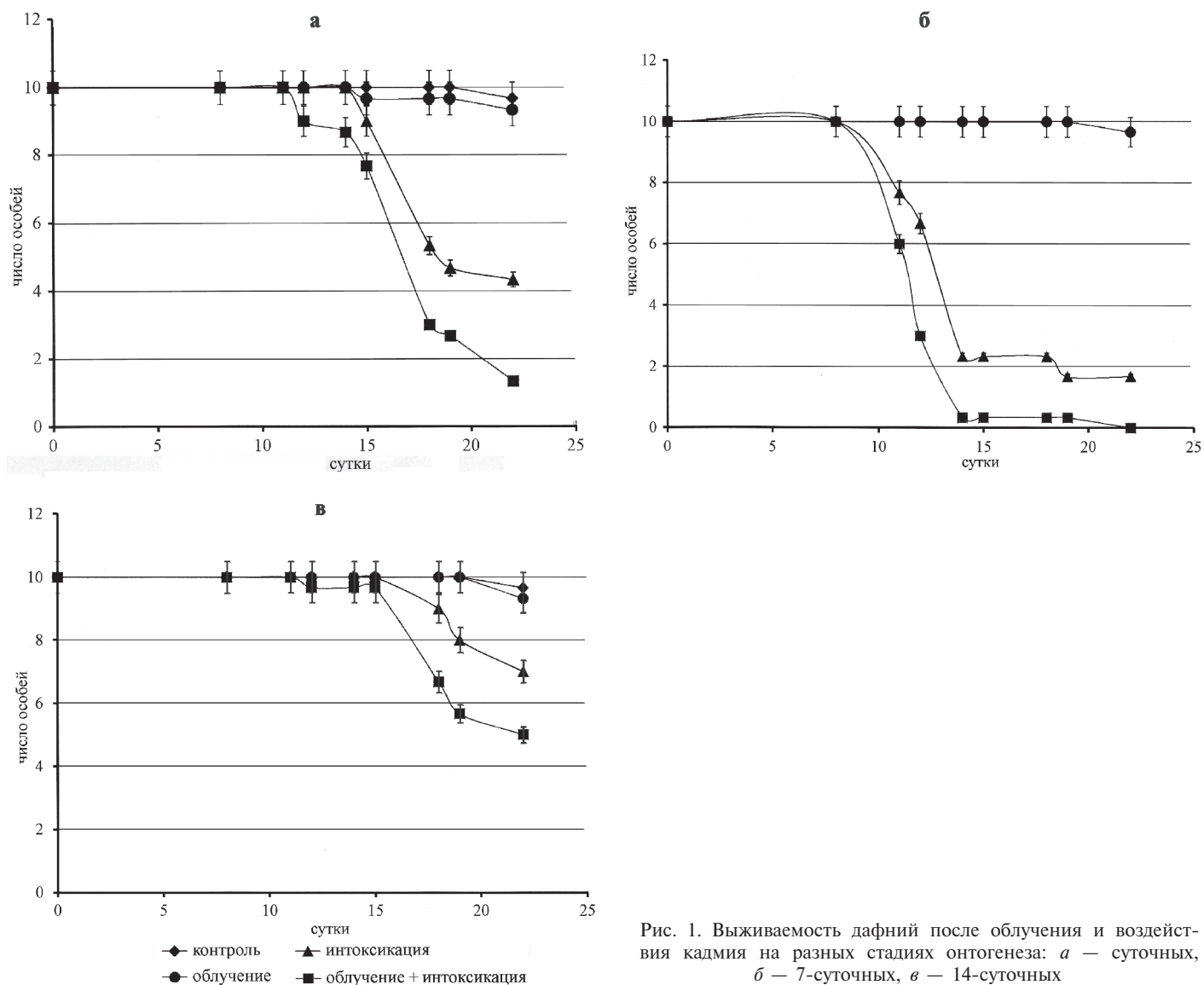


Рис. 1. Выживаемость дафний после облучения и воздействия кадмия на разных стадиях онтогенеза: а — суточных, б — 7-суточных, в — 14-суточных

Данные о воздействии кадмия на выживаемость молоди свидетельствуют о том, что интоксикация (I, 2) приводит к снижению численности рачков всего на 10% и только через 2 недели после внесения кадмия в среду. Однако в дальнейшем скорость снижения численности у них увеличивается (рис. 1, а), что приводит к гибели 50% особей к концу эксперимента (22-е сут).

Внесение металла в среду на 7-е (II, 2) и 14-е (III, 2) сутки роста культуры снижает численность дафний на 20 и 10% соответственно уже через 3 дня контакта с кадмием. К концу опыта у 7-суточных рачков погибает 80% особей, а у 14-суточных — 30% (рис. 1, б, в).

Таким образом, по возрастанию чувствительности к действию кадмия дафнии располагаются следующим образом: 14 → 1 → 7-суточные рачки, т.е. III → I → II серии опыта.

При облучении численность рачков, интоксигированных в возрасте 1 сут, снижается почти на 70%

по сравнению с интоксигированными, но необлученными рачками (рис. 1, а). Дафнии, облученные и интоксигированные в возрасте 7 сут (половозрелые рачки), погибают уже через неделю (рис. 1, б). Численность облученных и интоксигированных на 14-е сутки роста рачков снижается к концу опыта почти на 30% по сравнению с просто интоксигированными (рис. 1, в).

Облучение усиливает эффект токсического воздействия на дафний кадмия, хотя общая динамика численности повторяет таковую у необлученных вариантов, и по возрастанию чувствительности к кадмию облученные дафнии, так же как и необлученные, располагаются следующим образом: 14-суточные — 1-суточные — 7-суточные.

При исследовании влияния кадмия на плодовитость дафний было обнаружено, что кадмий резко снижает суммарную (за весь опыт) плодовитость дафний, особенно если его воздействию подвергались рачки в возрасте 1 и 7 сут (рис. 2, а, б). Их

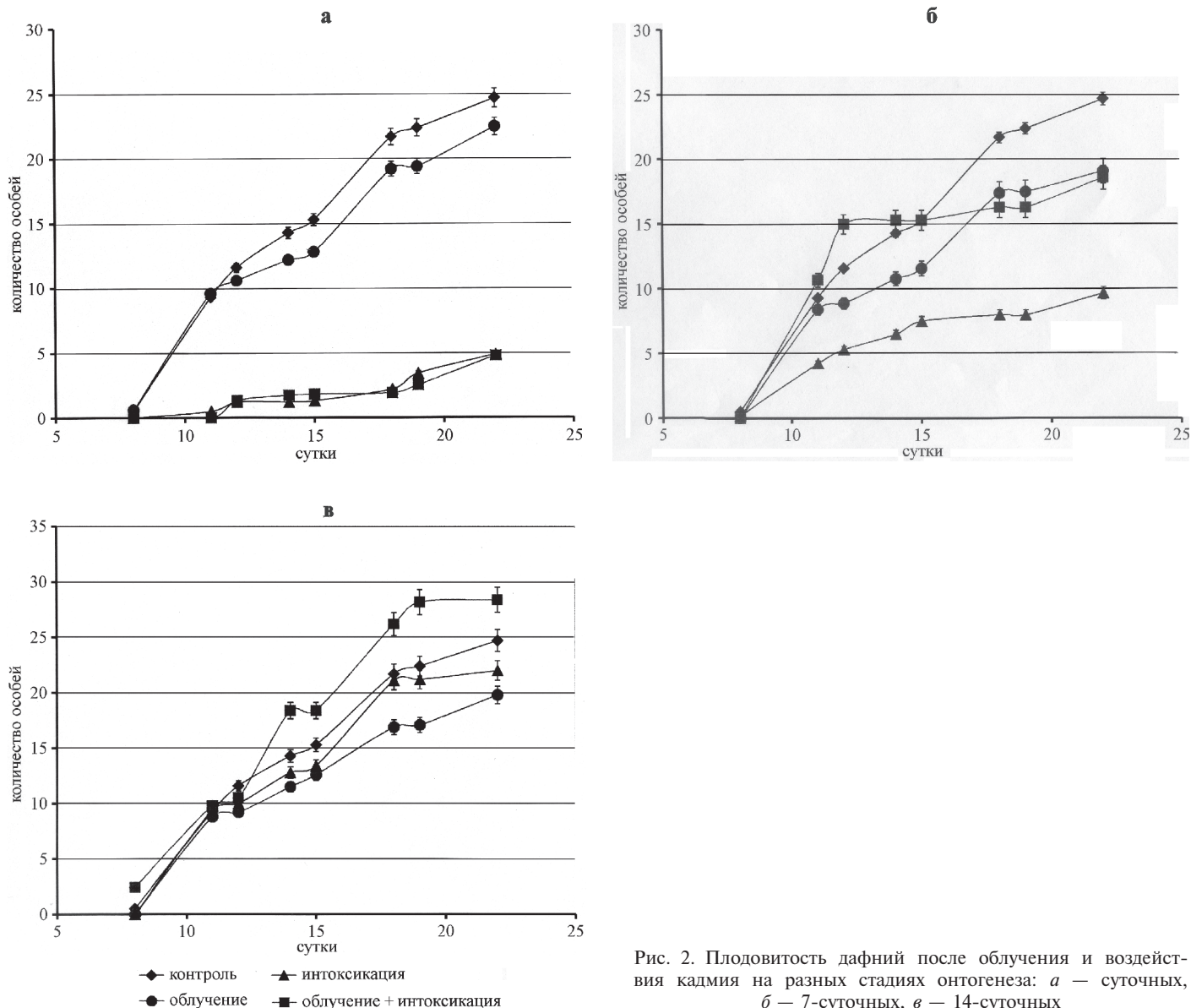


Рис. 2. Плодовитость дафний после облучения и воздействия кадмия на разных стадиях онтогенеза: а — суточных, б — 7-суточных, в — 14-суточных

плодовитость составляет 20 и 40% от контрольного уровня соответственно. Воздействие кадмия на 14-суточных рачков практически не влияет на их плодовитость (рис. 2, в).

По снижению плодовитости под действием кадмия дафнии располагаются следующим образом: 14 → 7 → 1-суточные рачки, то есть III → II → I серии опыта.

Облучение intactных рачков в условиях данного эксперимента слабо сказывается на их плодовитости: снижение плодовитости составило максимум 20% от контрольного уровня (рис. 2, а, б, в).

При воздействии кадмия на облученных суточных рачков отрождение молоди начинается с задержкой на 5 дней по сравнению с контролем. Однако в итоге плодовитость рачков, интоксигированных в возрасте 1 сут, одинакова, независимо от наличия или отсутствия облучения (рис. 2, а).

В то же время суммарная плодовитость дафний при совместном воздействии кадмия и облучения на 7- и 14-суточных рачков превосходит необлученный вариант в два раза и приближается к контрольному.

При воздействии кадмия на 14-суточных облученных рачков их суммарная плодовитость возрастает на 30% по сравнению с необлученными рачками и достоверно превосходит контрольный уровень.

Однако более детальное рассмотрение динамики отрождения молоди и его сопоставление с графиком облучения и интоксигации привело к необходимости разделить весь период размножения дафний на две фазы, для того чтобы учитывать и сравнивать только ту молодь, которая отрождалась непосредственно после облучения:

первая фаза — от 7 сут (половозрелость) до 14 сут;

вторая фаза — от 14 до 21 сут (окончание опыта).

Исходя из этого, данные по плодовитости выглядят следующим образом (табл. 2).

Таблица 2

Плодовитость дафний после облучения

Фаза	Серия					
	I		II		III	
	1	2	1	2		2
Контроль	14,3	10,4	14,3	10,4		10,4
1. Облучение (*)	12,2	10,3	10,8	8,3		8,3
2. Cd	1,2	3,7	6,5	3,2		9,2
3. Облучение(*) + Cd	1,7	3,1	15,3	3,3		10,0

На основании этих данных можно сделать вывод, что наиболее губительно воздействие кадмия сказывается на плодовитости необлученных дафний на ранней стадии их развития (внесение его в среду в 1-й день опыта). Облученные дафнии реагируют

на токсикант сходным образом: их плодовитость составляет около 20% от К.

Во II серии опытов в результате интоксигации 7-суточных рачков их плодовитость сначала (за первую неделю) составляет около 50% от контроля, а затем снижается до 30% от контроля, но в 2 раза превосходит плодовитость, наблюдаемую после интоксигации суточных рачков. Однако она крайне неравномерна по времени: в первую неделю после затравки металла она почти в 5 раз выше, чем у суточных рачков, а в последнюю неделю опыта рождаемость в сравниваемых вариантах одинакова.

Облучение intactных 7- и 14-суточных рачков снижает их плодовитость по сравнению с контролем на 20%, и это снижение равномерно по обозначенным периодам.

Однако облучение совместно с кадмием иначе влияет на плодовитость дафний. Так, в первую неделю после облучения и внесения металла в 7-суточную культуру (II, 3) их плодовитость находится на контрольном уровне и более чем в 2 раза превышает плодовитость просто интоксигированных дафний. В течение следующей недели плодовитость резко падает, и различий между облученными и необлученными рачками не обнаруживается.

В итоге плодовитость при интоксигации облученных 7-суточных рачков несколько ниже, чем в К, причем в основном за счет резкого снижения плодовитости в конце эксперимента.

При рассмотрении результатов III серии опытов, а именно воздействия на дафний в возрасте 14 сут, информативными являются данные по плодовитости только за 2-й период опыта (с 14 до 21 сут), т.е. после облучения и интоксигации. Обнаружено, что кадмий не влияет на плодовитость как необлученных, так и облученных дафний, хотя, как было сказано выше, само облучение несколько снижает плодовитость у intactных дафний (~ на 20%).

Обсуждение

Известно, что эффекты ЭМИ проявляются при совпадении определенных параметров ЭМИ и физиологического состояния живой системы, определяющего ее чувствительность к действию излучения [3].

В условиях данного эксперимента не выявлено значимого влияния облучения дафний на разных стадиях онтогенеза на их выживаемость. При этом плодовитость дафний под действием ЭМИ незначительно снижается (максимально на 20%).

Однако эффекты облучения четко выявлены в токсикологических опытах, при совместном действии облучения и кадмия на всех стадиях развития дафний: облученные рачки при добавлении кадмия гибнут быстрее, чем необлученные. При этом наиболее чувствительными оказались дафнии на стадии половозрелости: время гибели 50% необлученных особей составляет 5 сут, а облученных — 3 сут. Наиболее устойчивы к действию кадмия дафнии в воз-

расте 14 сут. Но и в этом варианте предварительное облучение существенно (в два раза) снижает их выживаемость к концу эксперимента ($LT_{50} = 8$ сут).

Таким образом, облучение, не влияя на выживаемость дафний, увеличивает их чувствительность к действию кадмия.

По данным другого показателя — плодовитости — изменение чувствительности дафний к действию кадмия зависит от стадии онтогенеза. Предварительное облучение суточных рачков не влияет на их чувствительность к действию кадмия.

Интоксикация и облучение дафний на стадии половозрелости (II серия опытов) приводит к иным результатам. Так, несмотря на низкую выживаемость, эти дафнии по плодовитости превосходят рачков, интоксигированных в возрасте 1 сут. Кроме того, в облученном варианте их плодовитость увеличивается вдвое по сравнению с необлученным вариантом. Следовательно, облучение перед интоксикацией, с одной стороны, снижает и без того низкую выживаемость дафний, а с другой — увеличивает их плодовитость. Причем такой всплеск плодовитости наблюдается только в первую неделю отрождения молоди. В дальнейшем плодовитость облученных и необлученных рачков выравнивается и остается ниже контрольного уровня.

В III серии экспериментов облучение и интоксикация рачков проводились на 14-е сут опыта, когда дафнии приступили к размножению и часть молоди уже отродилась. Поэтому в данном случае для сопоставления результатов опыта учитывали только ту молодь, которая отродилась после 14-х сут. Оказалось, что по плодовитости эти дафнии не уступают контрольным, причем как в необлученном, так и в облученном варианте, хотя выживаемость у них по сравнению с контрольными дафниями на 30% ниже.

Таким образом, репродуктивная программа на ранних стадиях онтогенеза весьма уязвима для кадмия, а облучение не влияет на изменение этой программы (I серия опытов). Если развитие дафний на ранних стадиях онтогенеза проходит в нормальных условиях, то при дальнейшем облучении и токсическом воздействии их плодовитость возрастает

по сравнению с необлученными почти в два раза, приближаясь к контролю (II серия опытов). На стадии половозрелости облучение приводит к кратковременному увеличению плодовитости дафний (III серия опытов).

Изменение чувствительности облученных дафний к действию кадмия только в токсикологических экспериментах может, на наш взгляд, свидетельствовать о скрытом снижении устойчивости рачков под влиянием облучения, проявляющемся при неблагоприятном внешнем воздействии — интоксикации среды.

Есть и другая точка зрения на проявление эффекта облучения у живых организмов: влияние ЭМИ наиболее заметно на фоне нарушения и снижения резистентности организма [6]. В нашем случае это означает, что добавление кадмия в культуру дафний снижает их устойчивость и поэтому проявляется эффект предшествующего облучения.

Как бы там ни было, но факты говорят о том, что нельзя не принимать во внимание скрытое действие ЭМИ на развитие дафний и его отдаленные проявления, так как это несет угрозу для живых организмов и особенно для гидробионтов.

Следует добавить, что скрытые эффекты облучения были получены нами в таких же токсикологических экспериментах с использованием культуры микроводорослей [7].

Выводы

1. Облучение дафний незначительно снижает (максимально на 20%) плодовитость рачков и не оказывает значимого влияния на их выживаемость на всех стадиях развития рачков.

2. Эффекты облучения культуры дафний четко выявлены в процессе онтогенеза в токсикологических опытах при совместном действии облучения и кадмия.

3. Обнаружено увеличение чувствительности дафний после их облучения к действию кадмия, зависящее от стадии развития рачков.

4. В токсикологических опытах обнаружено скрытое действие ЭМИ на развитие дафний и его отдаленные проявления.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Готовский Ю.В., Перов Ю.Ф. Особенности биологического действия физических и химических факторов малых и сверхмалых интенсивностей и доз. М.: ИМЕДИС, 2003. 376 с.
2. Петин В.Г. Биофизика неионизирующих физических факторов окружающей среды. Обнинск, 2006. 265 с.
3. Крылов В.В. Непосредственный и продленный эффекты действия переменного электромагнитного поля низкой частоты на продукционные показатели *Daphnia Magna* // Гидробиологический журнал. 2007. Т. 43. № 4. С. 76—88.

4. 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 воды, водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998. С. 47—67.
5. Бинги В.Н. Биологические эффекты электромагнитных полей нетеплового уровня. Проблема понимания и социальные последствия // Физика взаимодействия живых объектов с окружающей средой / Под ред. В.Н. Бинги. М.: МИЛТА, 2004. С. 43—69.

6. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Шихлярова А.И., Кузьменко Т.С., Барсукова Л.П., Марьяновская Г.Я., Шейко Е.Я., Евстратова О.Ф., Жукова Г.В. // Магнитные поля, адаптационные реакции и самоорганизация живых систем // Биофизика. 1996. Т. 41. № 4. С. 898—905.

7. Гапочка Л.Д., Гапочка М.Г., Дроzhzhina Т.С., Шавырина О.Б. Скрытый эффект облучения в экспериментах с микроводорослями // IV науч. симпоз. "Автотрофные микроорганизмы". М., 2010.

Поступила в редакцию
2.06.11

**IRRADIATION EFFECTS OF THE *DAPHNIA MAGNA* CULTURE
AT THE DIFFERENT STAGES OF DEVELOPMENT BY THE LOW-INTENSITY
ELECTROMAGNETIC FIELD OF THE MILLIMETRIC RANGE**

*L.D. Gapochka, M.G. Gapochka, T.S. Drozhzhina, E.F. Isakova,
A.S. Pavlova, O.B. Shavyrina*

The influence of low-intensity electromagnetic radiation and cadmium on survival rate and fruitfulness of daphnia in the process of ontogenesis is investigated. The effects of the irradiation are clearly defined in toxicological experiments at coactions of the irradiation and cadmium and weakly exhibit at action of the irradiation proper. At all stages of development the irradiation not influencing on survival rate of daphnia increases their sensitivity to cadmium action.

Key words: *electromagnetic radiation, intoxication, daphnia culture, survival rate, fruitfulness.*

Сведения об авторах

Гапочка Людмила Дмитриевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-72; e-mail: ludgap@phys.msu.ru

Гапочка Михаил Германович — канд. физ.-мат. наук, доц. кафедры фотоники и физики микроволн физического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-29-64; e-mail: gapochka@physics.msu.ru

Дроzhzhina Татьяна Сергеевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-72.

Исакова Евгения Филипповна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-11-48.

Павлова Александра Сергеевна — студентка 6-го курса кафедры фотоники и физики микроволн физического факультета МГУ. Тел.: 8-926-592-43-34.

Шавырина Ольга Борисовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-72; e-mail: A-Sha@rambler.ru