

На правах рукописи

**КРЫЛОВ Вячеслав Владимирович**

ДЕЙСТВИЕ СЛАБЫХ НИЗКОЧАСТОТНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ  
ПОЛЕЙ НА МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГИДРОБИОНТОВ  
(НА ПРИМЕРЕ *DAPHNIA MAGNA STRAUS* И *RUTILUS RUTILUS L.*)

**03.00.16 – экология**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

БОРОК – 2008

Работа выполнена в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

**Научный руководитель:**

кандидат биологических наук Изюмов Юрий Глебович

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук Крылов Александр Витальевич

доктор биологических наук, профессор Мышкин Иван Юрьевич

**Ведущая организация:**

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

Защита состоится 10 ноября 2008 г. в 14<sup>30</sup> часов на заседании диссертационного совета ДМ  
002.036.01 при Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН по адресу:  
152742 Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок, тел/факс 8(48547)24042.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии внутренних вод им.  
И.Д. Папанина РАН.

Автореферат разослан « 3 » октября 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Корнева Л.Г.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Магнитное поле – важный экологический фактор, в присутствии которого протекала эволюция органического мира (Bion, 1998). Однако, за последний век, в связи с появлением антропогенных источников электромагнитных полей (ЭМП), на естественный фон накладываются поля искусственного происхождения. Остро встает вопрос о детальном исследовании воздействия ЭМП на живые организмы.

Актуальность работ в этой области подчеркивается медицинскими исследованиями, раскрывающими связь между онкологическими заболеваниями и хроническим воздействием ЭМП (Savitz et al., 1990; Gurney et al., 1996; Preston-Martin et al., 1996), сообщается об особой категории людей, испытывающих повышенную чувствительность к полям (Navas, 2006; Johansson, 2006). Кроме того, ещё в 1995 году Всемирной Организацией Здравоохранения был введен термин "глобальное электромагнитное загрязнение окружающей среды". Эта организация включает проблему электромагнитного загрязнения в перечень приоритетных для человечества.

Уже сейчас некоторые водные экосистемы подвержены действию антропогенных ЭМП. Прогноз на будущее характеризуется увеличением электромагнитного загрязнения. Однако, на сегодняшний момент среди всего обилия информации о действии ЭМП на биологические объекты, крайне мало сведений о влиянии этого фактора на гидробионтов. (Грефнер и др., 1998; Дувинг и др., 2000; Skauli et al., 2000).

**Цель исследования:** Оценить особенности действия слабых низкочастотных ЭМП на морфо-биологические показатели гидробионтов на примере *Daphnia magna* Straus и *Rutilus rutilus* L.

### Задачи исследования:

1. Установить характеристики эффективного слабого низкочастотного ЭМП.
2. Проследить зависимость характера и величины биологического эффекта от того этапа в онтогенезе *D. magna* и *R. rutilus* во время которого проходила экспозиция в ЭМП.
3. Оценить последствия действия ЭМП на *D. magna* и *R. rutilus* во время ранних этапов развития. Выяснить, возможность продленного биологического эффекта после действия ЭМП.
4. Оценить действие ЭМП на *R. rutilus* по принципу резонансных магнитобиологических моделей, сравнить его с действием раствора ионов тяжелых металлов. Оценить совместное действие двух факторов.
5. Выяснить возможность приспособительных реакций у *D. magna* в ответ на длительное непрерывное действие ЭМП.

**Научная новизна.** Впервые проведены комплексные исследования реакции ракообразных (*D. magna*) и рыб (*R. rutilus*) на воздействие слабых низкочастотных ЭМП во время различных промежутков онтогенеза. Апробирована новая чувствительная методика оценки действия различных факторов на развивающиеся *in vitro* партеногенетические яйца *D. magna*. Впервые прослежена и доказана возможность адаптивных преобразований у биологических систем в ответ на длительное непрерывное действие ЭМП в течение нескольких поколений.

**Практическая значимость.** Полученные данные могут быть использованы в сравнительно-биологических исследованиях. При экологической оценке последствий действия электромагнитных полей на ранние этапы развития гидробионтов и водные экосистемы в целом. Апробированная чувствительная и быстрая методика оценки действия слабых факторов по реакции развивающихся *in vitro* партеногенетических яиц *D. magna* может найти применение у широкого круга специалистов. Полученные данные могут быть также включены в учебные курсы по различным специальностям.

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались на отчетных лабораторных сессиях. Результаты исследований были представлены: на XII международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2005» (Москва, 2005); на всероссийской научно-практической конференции «Экологические проблемы уникальных природных и антропогенных ландшафтов» (Ярославль, 2006); на 2-ой научной конференции стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2007).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 7 работ, из них 3 в рецензируемых журналах, входящих в Перечень ВАК, 2 работы опубликованы в англоязычных версиях рецензируемых журналов.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов, благодарностей, списка литературы. Работа изложена на 103 страницах, содержит 25 таблиц и 13 рисунков. Список литературы включает 186 работ, из них 119 на иностранных языках.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе описывается природа ЭМП, рассматриваются современные модели действия ЭМП на живые системы. Анализируются имеющиеся в литературе данные о влиянии ЭМП на различные биологические объекты. Описываются особенности проведения магнитобиологических экспериментов и трудности связанные с изучением биологических эффектов действия ЭМП.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Объекты исследования.** В качестве объектов исследования были выбраны *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera) и плотва *Rutilus rutilus* L. (Cyprinidae, Cypriniformes).

**Генерация электромагнитного поля.** В опытах использовали синусоидальные ЭМП. Сигналы создавались в генераторах Г6-27 и Г3-102 и поступали на кольца Гельмгольца диаметром 30 см, в рабочем объеме которых проводились эксперименты. Кольца располагались в горизонтальной плоскости, эксперименты проводились на фоне геомагнитного поля. Пиковая величина сигнала во всех опытах, за исключением эксперимента, описанного в главе 6, соответствовала 75 мТ.

**Условия проведения экспериментов и учитываемые показатели.** Условия культивирования *D. magna* соответствовали условиям, описанным в стандартных методиках биотестирования (Методика..., 1999; Methods..., 1975).

В экспериментах с *D. magna* проводился учет смертности и плодовитости рачков. Учитывалась доля нежизнеспособного потомства. Определялось время наступления отдельных стадий в онтогенезе. В капле воды измерялись морфометрические показатели. По общепринятой формуле рассчитывалась масса рачков (Балушкина, Винберг, 1979).

В экспериментах с *R. rutilus* объектом экспозиции в рабочем объеме колец Гельмгольца была икра. Половые продукты получали от самок и самцов, пойманных неводом на нерестилище во время нереста. Осеменение проводилось сухим способом, после чего икра рассеивалась в кристаллизаторы с водой или с испытываемым раствором, который меняли дважды в сутки. При смене воды подсчитывалось количество живых икринок. После рассасывания желточного мешка личинок помещали в пруды на стационаре «Сунога». Здесь контрольные и экспериментальные особи развивались в течение 4 месяцев. У сеголетков определялась масса тела и измерялась длина. Подсчитывалось общее число позвонков (Vert), число позвонков в грудном (Va), переходном (Vi) и хвостовом (Vc) отделах. Признаки осевого скелета рассматривались как независимо, так и в виде целостных морф (Va-Vi-Vc). Исследовалась изменчивость формулы глоточных зубов (D. ph.). Определялось число отверстий в каналах сейсмочувствительной системы в парных костях черепа – *dentale*, *frontale* и *praeoperculum*. Учитывалось наличие сращений позвонков в скелете.

**Использованные статистические показатели.** Достоверность различий средних значений оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента, малых долей – с помощью критерия ф (Плохинский, 1970), дисперсий – с помощью F-критерия Фишера. Разница в динамике отхода икры плотвы оценивалась с помощью критерия знаков.

Разнообразие морфологических признаков оценивалось с помощью показателей Шеннона (H) и Животовского (μ) (Животовский, 1991). Достоверность отличий характера распределений частот оценивалась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова (λ). Показателем стабильности развития у плотвы служила дисперсия флуктуирующей асимметрии,  $\sigma_d^2$  (Захаров, 1987). Также рассчитывалась обобщенная дисперсия, которая отражает изменчивость совокупности нескольких признаков с различной степенью зависимости (Животовский, 1991).

**Подробности проведения отдельных экспериментов.** Подробности проведения отдельных экспериментов приведены в соответствующих главах.

## ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭМП

Эксперименты проводились с *D. magna*. Были протестированы ЭМП с частотой 17 Гц, 50 Гц, 500 Гц, 5 кГц, 50 кГц и 200 кГц. Опыты продолжались 7 суток. Оценивалась смертность и сроки наступления половой зрелости у рачков. Сравнивалась доля самок с эмбрионами в контрольных и экспериментальных повторностях.

Суммарный биологический эффект оказался максимальным в ЭМП с частотой 500 Гц. Выживаемость дафний здесь была ниже, а созревание самок проходило медленнее, чем в контроле. Поле с такими характеристиками использовалось в дальнейших экспериментах.

## ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ПРОДЛЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ДЕЙСТВИЯ ЭМП

Эксперименты проводились с *D. magna*. Использовалось ЭМП с найденными в предварительных экспериментах эффективными параметрами. На начальном этапе эксперимента в контроле и в ЭМП развивались рачки с 24-х часового возраста. Перед выметом потомства оба варианта случайным образом были разделены на 2 группы. Одну группу интактных дафний помещали в рабочий объем колец Гельмгольца, другую же оставляли в контроле. Аналогично разделили и дафний, экспонировавшихся в ЭМП. Таким образом, перед началом продукции потомства рассматривалось уже 4 варианта, которые были названы КК (контроль-контроль), КП (контроль-поле), ПК (поле-контроль), ПП (поле-поле). Первая буква в сокращении показывает, в каких условиях происходило развитие и созревание дафний, вторая – соответствует условиям, в которых происходили выметы потомства (рис. 1).

На первой стадии опыта, перед разделением вариантов “ЭМП” и “контроль” на четыре экспериментальные линии смертность дафний была ниже 10%. Созревание самок в поле проходило медленнее, чем в контроле. Особи с эмбрионами появились там на 2 сут. позже, их количество было ниже по сравнению с контролем. После разделения созревших дафний на четыре линии первое потомство в вариантах КК и КП появилось практически

одновременно и раньше по сравнению с линиями, изначально развивавшимися в поле (табл. 1). Это свидетельствует о том, что ЭМП не влияло на запущенные в контрольной среде механизмы партеногенеза у дафний.

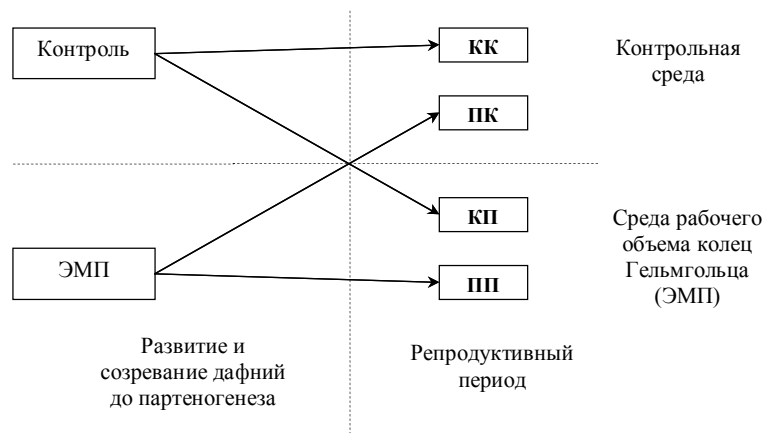


Рис. 1. Структура эксперимента.

В вариантах КК и ПК наблюдалось большее количество производимой молоди по сравнению с линиями, находившимися во время репродуктивного периода под воздействием ЭМП. Достоверных отличий от контроля в периодичности между выводками обнаружено не было. Т. е. продленного негативного действия ЭМП применительно к количеству производимого потомства у *D. magna* не выявлено. Вариант ПК, в котором это действие предположительно могло проявиться, напротив, дал достоверное максимальное число новорожденных. Уменьшение количественных показателей производимого

Таблица 1. Продукционные показатели дафний в исследуемых вариантах

Варианты	День появления первого потомства, в среднем	Количество молоди на одну взрослую особь за 21 сут, шт.	Период между выводками, сут
КК	13.80±0.51	96.07±10.60	2.99±0.08
КП	13.73±0.57	67.73±4.53*	2.96±0.03
ПК	15.07±0.07*	129.86±9.71*	2.80±0.06
ПП	14.40±0.16	62.64±3.55*	3.01±0.09

Примечание. Здесь и далее показатели приводятся как среднее значение ± ошибка среднего, «\*» – достоверные отличия от контроля.

потомства при действии ЭМП, могло быть вызвано ингибированием процессов, связанных с партеногенезом. При прекращении действия поля перед началом выметов потомства, как в случае с линией ПК, могло произойти резкое компенсаторное усиление этих процессов.

Размеры потомства, производимого в тех вариантах, где ювенильный период жизни производителей проходил при действии на них ЭМП, были меньше по сравнению с размерами новорожденных из тех вариантов, где созревание самок проходило в контрольной среде (табл. 2). Кроме того, в вариантах ПК и ПП заметно увеличивалась доля нежизнеспособного потомства. По-видимому, до производства потомства закладывалась программа репродуктивной реализации, которая определяла качество производимых особей в нескольких выводках, зачатки которых находились в зародышевом слое яичника. Можно заключить, что экспозиция дафний в ЭМП в дорепродуктивный период не влияла на количество производимого потомства, но сказалась на биологическом качестве новорожденных, что можно рассматривать как продленное действие поля.

Таблица 2. Показатели производимого потомства в исследуемых вариантах

Вариант	Размеры новорожденных в пяти выводках, мм	Доля мертворожденных, %	Уровень значимости различий			
			КК	КП	ПК	ПП
КК	0.94±0.01	0.05	–	>0.05	<0.05	>0.05
КП	0.95±0.01	0.07	>0.05	–	<0.05	>0.05
ПК	0.92±0.01	0.51	<0.05	<0.05	–	>0.05
ПП	0.93±0.01	0.26	<0.05	<0.05	<0.05	–

Примечание. Над диагональю прочерков – уровень значимости различий для доли мертворожденных, ниже диагонали – для размеров новорожденных из пяти первых выводков.

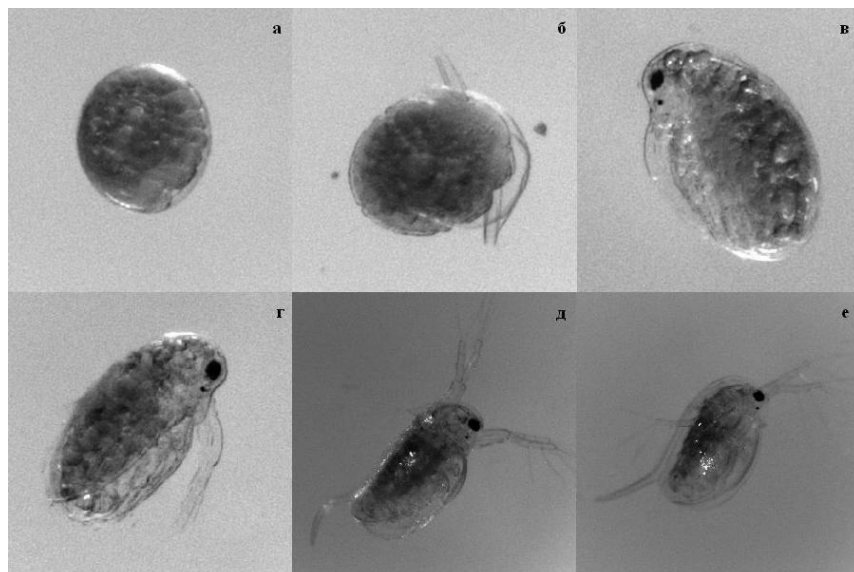
## ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭМП НА РАННИЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ГИДРОБИОНТОВ

**5.1 Эксперименты с *D. magna*.** Эксперименты проводились на развивающихся *in vitro* партеногенетических яйцах. Применялась новая чувствительная токсикологическая методика, не используемая, пока, на территории РФ (Sobral et al., 2001). В опытах оценивался ряд низких частот ЭМП – 45, 110, 175, 240, 305, 370, 435 и 500 Гц.

Момент перехода яиц самки-производителя из яичников в выводковую камеру рассматривался как «нулевое» время в развитии эмбрионов ( $t^0$ ). Яйца от одной самки, извлеченные из выводковой камеры, случайным образом разделялись на контрольный и

опытный варианты. Экспозиция яиц в ЭМП продолжалась со стадии поздней бластулы до начала ювенильного периода (рис 2д). Во время экспозиции оценивалось время (Т1) вылупления эмбрионов из первой (внешней) яичевой оболочки (рис 2б) и время (Т2) вылупления эмбрионов из второй (внутренней) яичевой оболочки (рис 2е). После экспозиции, ювенильные особи развивались индивидуально до вымета первого потомства.

Оценивая показатели, на которые ЭМП имело значимое влияние, в исследуемом диапазоне можно выделить два блока частот. Первый блок – 45, 110, 175 Гц характеризовался тем, что при действии ЭМП с такими параметрами на дафний во время раннего онтогенеза наблюдалось ускоренное вылупление из второй яичевой оболочки, уменьшение числа производимого потомства в первом выводке и увеличение доли нежизнеспособного потомства в первом выводке (табл. 3). Второй блок – 435 и 500 Гц. Действие ЭМП с такими частотами во время ранних этапов развития рачков приводило к ускорению вылупления из второй яичевой оболочки и уменьшению числа производимого потомства в первом выводке. Действие ЭМП с частотами 240, 305 и 370 Гц практически не приводило к значимым отличиям от контроля по исследуемым показателям.



**Рис. 2.** Стадии раннего развития *D. magna*: а – яйцо; б – вылупление из первой яичевой оболочки; в – развитие до вылупления из второй яичевой оболочки; г – вылупление из второй яичевой оболочки; д – отделение хвостовой иглы от карапакса; е – ювенильная особь.

**Таблица 3.** Созревание партогенетических яиц, морфологические и продукционные показатели развившихся из них самок

Частота ЭМП, Гц	Т 1, часы	Т 2, часы	Время созревания, сут.	Л взрослых рачков, мм	W взрослых рачков, мг	Численность 1-го выводка	Доля мертворожденных в 1-м выводке	Численность 2-го выводка
45	24.06±0.15	40.81±0.15 *	8.47±0.03	3.27±0.02	2.68±0.05	12.72±0.72 *	0.23 *	31.90±1.19
	24.30±0.21	43.95±0.46	8.56±0.04	3.28±0.03	2.70±0.06	16.21±0.69	0.02	32.62±0.93
110	25.31±0.44	43.70±0.30 *	7.83±0.08	3.24±0.03	2.61±0.06	12.71±0.74 *	0.20 *	30.10±0.81
	26.16±0.33	45.92±0.71	7.98±0.07	3.29±0.03	2.72±0.08	16.00±0.97	0.08	30.75±1.01
175	25.31±0.37	42.78±0.19 *	8.44±0.08	3.07±0.03 *	2.21±0.07 *	10.89±0.83 *	0.14 *	22.28±1.44 *
	25.60±0.39	43.83±0.17	8.25±0.07	3.23±0.04	2.57±0.09	16.12±0.63	0.04	28.00±1.68
240	23.47±0.25	42.55±0.25	8.31±0.06	3.01±0.03	2.10±0.06	14.89±0.66 *	0.00	21.68±1.31
	24.17±0.24	42.74±0.19	8.23±0.08	3.06±0.03	2.18±0.06	11.47±1.07	0.00	21.53±1.52
305	25.09±0.28	41.98±0.38	8.33±0.05	2.93±0.05	1.91±0.09	12.56±0.84	0.02	25.12±1.45
	24.86±0.36	42.36±0.26	8.42±0.07	3.02±0.04	2.09±0.07	12.23±0.71	0.07	24.32±0.79
370	24.62±0.31	43.12±0.43	8.16±0.09	2.86±0.03	1.77±0.06	12.03±0.46	0.00	20.03±1.01
	24.28±0.25	43.67±0.20	8.27±0.04	2.83±0.02	1.71±0.05	12.77±0.98	0.00	21.16±1.14
435	23.82±0.26	41.75±0.10 *	7.84±0.05	2.84±0.04	1.73±0.06	10.03±0.58 *	0.16	16.98±0.89
	24.33±0.28	42.41±0.11	7.92±0.06	2.88±0.03	1.82±0.05	12.27±0.42	0.12	18.59±1.18
500	23.22±0.25	40.03±0.15 *	7.98±0.07 *	2.78±0.03	1.65±0.06	8.11±0.39 *	0.01	13.11±0.68
	23.61±0.22	41.56±0.19	7.78±0.03	2.80±0.02	1.69±0.03	9.40±0.27	0.01	12.87±0.60

Примечание: В числителе – значение показателя в эксперименте, в знаменателе – контрольное значение.

Можно заключить, что в отношении суммарного эффекта действие на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna* ЭМП частотного блока 435 и 500 Гц отличалось, хоть и в малой степени, от действия ЭМП с частотами 45, 110 или 175 Гц. Однако, мы наблюдали негативные эффекты сходные в своем проявлении при действии различных по своим характеристикам ЭМП. Такие результаты не всегда говорят об идентичных механизмах первичного действия фактора на живую систему.

Действие слабых низкочастотных ЭМП на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna* было относительно незначительным. Ускорение развития во время эмбриогенеза не приводило к разнице в сроках созревания самок, за исключением экспериментов с ЭМП с частотой 500 Гц. Уменьшение количества производимого потомства наблюдалось только в 1-м выводке, и в большинстве экспериментов количество яиц, соответствующих второму выводу, не отличалось от контроля. Развивающийся организм отвечал на слабое воздействие во время эмбриогенеза модификацией некоторых процессов, что нам и удалось зафиксировать, но впоследствии возвращался к нормальному физиологическому состоянию.

В исследованном спектре можно выделить ЭМП с частотой 175 Гц, оказавшее наибольший суммарный эффект на развивающиеся партеногенетические яйца *D. magna*.

**5.2 Эксперименты с *R. rutilus*.** Эксперименты были проведены в ЭМП с определенными ранее эффективными параметрами в 2004 и 2005 гг.

В 2004 г. экспозиция икры в поле продолжалась от оплодотворения до вылупления предличинок. В 2005 г. действие на объект ЭМП приходилось на время, соответствующее определенному промежутку раннего онтогенеза (1-й вариант – от оплодотворения до гастрюляции; 2-й вариант – от гастрюляции до вылупления предличинок; 3-й вариант – от вылупления предличинок до образования плавательного пузыря).

При инкубации разница в выживаемости икры между контролем и опытом в обоих экспериментах была незначима. Вылупление предличинок проходило синхронно с контролем. Смертность предличинок во всех вариантах была минимальной. При осушении прудов число выловленных рыб практически совпадало с числом посаженных личинок. Перечисленные факты позволяют сравнивать данные, полученные в ходе двух экспериментов.

Анализ полученных результатов показал, что действие ЭМП на икру плотвы от оплодотворения до гастрюляции приводило впоследствии к уменьшению длины и массы у сеголетков (табл. 4).

В обоих экспериментах при действии ЭМП наблюдалось достоверное изменение среднего числа позвонков в хвостовом отделе позвоночника у сеголетков, вследствие чего

менялось общее число позвонков. В эксперименте 2005 г. влияние ЭМП на изменение общего количества позвонков проявилось только во втором варианте. Действие поля на осевой скелет было наиболее эффективным в период с гастрюляции до вылупления предличинок, во время формирования эмбриона.

**Таблица 4.** Длина, масса и число позвонков у сеголетков плотвы в контрольных и опытных вариантах

Вариант	Длина, мм	Масса, г	Число позвонков			
			Va	Vi	Vc	Vert
Эксперимент 2004 г.						
Контроль	71.13±0.57	4.98±0.13	16.16±0.06	2.91±0.05	15.05±0.05	41.12±0.07
ЭМП	59.29±0.54*	2.75±0.10*	16.12±0.07	2.98±0.05	15.25±0.08*	41.35±0.10*
Эксперимент 2005 г.						
Контроль	76.55±0.37	8.04±0.24	16.96±0.07	2.62±0.07	15.17±0.05	41.75±0.07
Вариант 1	66.40±0.29*	5.05±0.14*	16.73±0.09	2.86±0.06*	15.12±0.07	41.72±0.10
Вариант 2	75.45±0.45	8.44±0.21	16.69±0.13	2.80±0.07	14.90±0.09*	41.41±0.13*
Вариант 3	75.58±0.32	7.63±0.19	16.84±0.07	2.51±0.05	15.20±0.07	41.56±0.07

Обнаруженные эффекты были разнонаправленными. Однако, важно отметить факт изменения общего числа позвонков при действии ЭМП вследствие изменения их числа именно в хвостовом отделе позвоночника. Вероятно, морфология одних элементов скелета в большей степени генетически детерминирована и остается относительно неизменной при воздействии определенных факторов среды, другие же элементы, в нашем случае хвостовой отдел позвоночника, более подвержены влиянию. Можно предположить, что действие ЭМП на мишень, связанную, по-видимому, с хвостовым центром окостенения в наших экспериментах носило сигнальный характер. Экспозиция в ЭМП могла оказывать ненаправленное влияние на смещение равновесия, а система переходила в отличное от нормы состояние за счет внутренних ресурсов.

Показатели разнообразия рассматриваемых признаков в эксперименте 2004 г. были выше контрольных (табл. 5). В эксперименте 2005 г. морфологическое разнообразие глоточных зубов в вариантах 1 и 2 заметно превышало разнообразие этого признака в контроле и варианте 3. Разнообразие морф в различных отделах позвоночника при действии ЭМП во время раннего развития было связано с общей тенденцией, заметной при сравнении показателей разнообразия для целостных морф позвоночника и общего числа

позвонков: разнообразие полученных морфотипов в целом было тем выше, чем раньше в онтогенезе проходила экспозиция плотвы в ЭМП.

**Таблица 5.** Оценка разнообразия признаков сегментов плотвы по индексу Животовского ( $\mu \pm$  стандартная ошибка)

Вариант	Va-Vi-Vc	Va	Vi	Vc	Vert	D Ph
Эксперимент 2004 г.						
Контроль	9.21±0.74	2.55±0.21	2.32±0.14	2.39±0.13	2.98±0.19	1.81±0.16
ЭМП	15.06±1.06*	3.34±0.26*	2.40±0.13	3.39±0.26*	4.21±0.31*	1.96±0.16
Эксперимент 2005 г.						
Контроль	15.35±0.95	3.35±0.15	3.13±0.17	2.75±0.19	3.25±0.16	1.58±0.08
Вариант 1	23.78±1.19*	4.54±0.25*	3.08±0.17	3.76±0.28*	5.14±0.30*	2.33±0.19*
Вариант 2	18.49±1.03*	4.67±0.32*	2.60±0.13*	3.19±0.21	4.82±0.31*	2.84±0.22*
Вариант 3	16.91±0.99	3.45±0.23	2.37±0.19*	3.60±0.22*	3.65±0.22	1.73±0.07

Внутрипопуляционное морфологическое разнообразие отражает адаптивную пластичность. С точки зрения микроэволюционных процессов повышенное разнообразие может быть результатом изменения привычных параметров среды. Для адаптации к этим изменениям повышается ресурс изменчивости, чтобы затем, из более широкого круга вариантов оставить наиболее приемлемые (Шмальгаузен, 1982). Общий эффект увеличения внутрипопуляционного разнообразия при действии слабых факторов во время эмбриогенеза можно рассматривать как эпигенетический механизм, регулирующий проявление вариантов изменчивости во время изменения параметров среды.

Число отверстий в каналах сейсмодатчиковой системы в нижнечелюстных костях у сегментов плотвы, раннее развитие которых прошло в ЭМП, было достоверно выше, чем у контрольных особей (табл. 6). Вероятно, действие ЭМП во время раннего онтогенеза ускоряло развитие органов сейсмодатчиковой системы в нижнечелюстных костях.

Стабильность развития сегментов оценивалась величиной дисперсии флуктуирующей асимметрии и числом сращений позвонков в осевом скелете. В отношении дисперсии асимметрии четких тенденций замечено не было. Число аномалий в развитии осевого скелета в эксперименте 2004 г. значительно превышало контрольные значения (табл. 7). Доля рыб со сращениями в опыте также была достоверно выше, чем в контроле. В эксперименте 2005 г. довольно большое число сращений наблюдалось у рыб из контрольного варианта. Следует сказать, что в 2005 г. эксперимент проходил на фоне

**Таблица 6.** Число отверстий в каналах сейсмодатчиковой системы в костях черепа у сегментов плотвы в контрольных и опытных вариантах

Вариант	frontale	dentale	praeoperculum
Эксперимент 2004 г.			
Контроль	5.40±0.04	2.73±0.07	8.13±0.07
ЭМП	5.57±0.05*	3.46±0.06*	7.73±0.07*
Эксперимент 2005 г.			
Контроль	5.35±0.05	3.16±0.06	8.14±0.06
Вариант 1	5.46±0.04	3.66±0.05*	8.18±0.06
Вариант 2	5.33±0.06	3.61±0.06*	8.24±0.07
Вариант 3	5.50±0.04*	3.80±0.05*	8.27±0.06

высокой температуры ( $t 21^{\circ}\text{C}$ ). В этом случае температура была доминирующим фактором, отвечающим за проявление скелетных аномалий. Достоверное увеличение числа сращений позвонков по отношению к контролю наблюдалось в грудном отделе позвоночника у рыб из варианта 2.

**Таблица 7.** Сращения позвонков в позвоночнике у сегментов плотвы и связи между числом позвонков и показателями стабильности развития

Вариант	Доля рыб со сращениями	Число позвонков в сращениях	Число сращений на одну особь в выборке	Корреляции между показателями стабильности и числом позвонков		
				$\sigma_d^2$ – число аномалий	Число сращений – число позвонков	$\sigma_d^2$ – число позвонков
Эксперимент 2004 г.						
Контроль	0.08	2.29±0.36	0.09±0.04	-0.14	-0.21	0.12
ЭМП	0.22*	2.44±0.09	0.43±0.10*	-0.12	0.58*	-0.18
Эксперимент 2005 г.						
Контроль	0.56	2.34±0.07	0.97±0.11	-0.11	0.39*	0.09
Вариант 1	0.52	2.35±0.09	1.01±0.12	0.06	0.35*	0.01
Вариант 2	0.64	2.34±0.07	1.34±0.17	0.04	0.36*	0.19
Вариант 3	0.41*	2.51±0.11	0.69±0.10	-0.12	0.35*	-0.17

Заметна достоверная положительная связь между числом сращений в позвоночнике и числом позвонков. Отсутствие такой корреляции в контрольном варианте в эксперименте 2004 г. объясняется небольшой долей сеголетков со сращениями позвонков в выборке. Можно заключить, что проявление аномалий в позвоночнике увеличивалось с ростом числа позвонков. Замедление раннего развития сопровождалось ошибками формирования позвоночника. Отсутствие корреляций между числом сращений в позвоночнике и значениями дисперсии флуктуирующей асимметрии говорит о том, что дестабилизация развития билатеральных структур и образование аномалий осевого скелета в наших экспериментах были не связанными процессами, которые проходили различными путями.

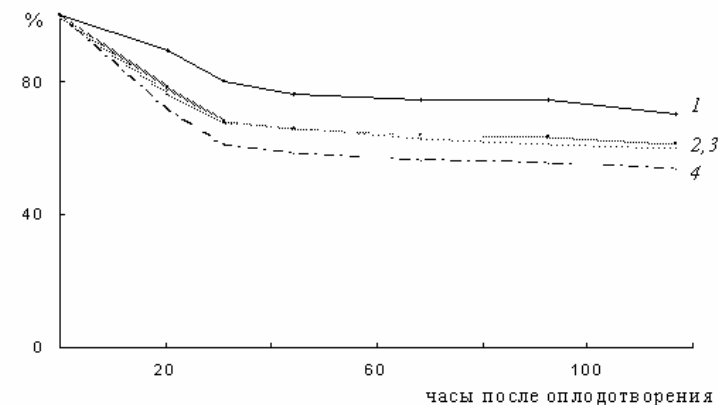
#### ГЛАВА 6. ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ $\text{Cu}^{2+}$ И ЭМП С ЦИКЛОТРОННОЙ ЧАСТОТОЙ ДЛЯ ИОНОВ $\text{Cu}^{2+}$ НА *R. RUTILUS* ВО ВРЕМЯ РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА

В некоторых магнитобиологических моделях большое внимание уделяется влиянию на заряженные частицы ЭМП с характеристиками, формально соответствующими условиям циклотронного резонанса (Liboff, 1985; Lednev, 1991, Jenrow et al., 1996). Предполагается, что ионы, участвующие в биохимических реакциях могут быть мишенями действия ЭМП. Большой интерес представляет воздействие на биологические системы в условиях электромагнитного загрязнения ионов меди, которые необходимы организмам для осуществления ряда биохимических процессов. В то же время этот элемент является тяжелым металлом и в значительных концентрациях рассматривается как токсикант.

В эксперименте оценивалось действие на икру плотвы раствора ионов меди в природной воде с концентрацией 0.01 мг/л, ЭМП с циклотронной частотой для ионов меди – 72.5 Гц при величине индукции 150  $\mu\text{T}$ , а также совместное действие этих факторов. Работа проводилась в 2007 году. Действие опытных факторов на развивающуюся икру продолжалось от оплодотворения до гастрულიции.

Критерий знаков показал ( $p < 0.01$ ), что при инкубации наиболее высокая смертность икры наблюдалась при совместном действии ЭМП и раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$  (рис. 3). Экспозиция в ЭМП или растворе ионов  $\text{Cu}^{2+}$  по отдельности также приводила к снижению выживаемости икры относительно контроля. Наблюдаемые эффекты при этом имели сходный характер.

У сеголетков плотвы, на которых в раннем онтогенезе действовали сочетанием факторов, наблюдалось достоверное уменьшение длины и массы относительно контроля (табл. 8). Действие ЭМП или раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$  по отдельности, напротив, приводило к достоверному увеличению размерно-весовых показателей.



**Рис. 3.** Динамика выживаемости икры в эксперименте: 1 – контроль; 2 – экспозиция икры в ЭМП с циклотронной частотой для ионов  $\text{Cu}^{2+}$ ; 3 – экспозиция икры в растворе ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в концентрации 0.01 мг/л; 4 – экспозиция икры в условиях совместного действия ЭМП и раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$ .

Снижение общего числа позвонков у сеголетков вследствие снижения этого показателя в грудном отделе позвоночника наблюдалось после совместного действия на икру ЭМП и раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . Полученные эффекты отличались от эффектов, наблюдавшихся при действии на икру ЭМП (500 Гц, 75  $\mu\text{T}$ ) в предыдущих экспериментах. Вероятной причиной этому могли быть различия в механизмах или мишенях действия полей.

**Таблица 8.** Длина, масса и число позвонков у сеголетков плотвы в контроле и в опытных вариантах

Вариант	Длина, мм	Масса, г	Число позвонков			
			Va	Vi	Vc	Vert
Контроль	69.92±0.48	6.12±0.14	16.66±0.08	3.07±0.06	15.26±0.07	41.98±0.10
ЭМП	75.05±0.44*	7.95±0.14*	16.53±0.07	3.09±0.06	15.36±0.06	41.98±0.09
$\text{Cu}^{2+}$	78.72±0.46*	9.19±0.17*	16.43±0.06*	3.11±0.05	15.21±0.06	41.74±0.08
ЭМП + $\text{Cu}^{2+}$	59.90±0.33*	3.63±0.07*	16.40±0.05*	3.03±0.05	15.18±0.05	41.61±0.06*



Значения показателей разнообразия рассматриваемых признаков при действии исследуемых факторов были близки к контрольным значениям. В отношении дисперсии асимметрии четких тенденций замечено не было.

Число отверстий в каналах сейсмодатчика системы в нижнечелюстных костях у сеголетков, раннее развитие которых прошло под влиянием ЭМП или раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , было выше, чем у контрольных особей (табл. 10). При действии этих факторов совместно число отверстий в нижнечелюстных костях, напротив, было ниже контрольных значений.

Выживаемость икры, размерно-весовые показатели сеголетков и количество отверстий сейсмодатчика системы в нижнечелюстных костях свидетельствуют о том, что совместное действие ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , растворенных в воде в концентрации 0.01 мг/л, и ЭМП, с циклотронной частотой для ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , оказывало иной эффект, нежели действие этих факторов по отдельности. В этом случае можно говорить о комбинированном действии факторов. Воздействие же на развивающуюся икру ЭМП или раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$  по отдельности оказывало практически одинаковое влияние. Наблюдалась схожесть в действии ЭМП и ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , привнесенных в среду. Подобные эффекты описаны в литературе для других ионов (McLeod et al., 1987; Smith et al., 1987). Вероятно, в случае действия ЭМП с циклотронной частотой для ионов  $\text{Cu}^{2+}$  модифицировались ионы, уже содержащиеся в организме. Эта модификация могла сказаться на  $\text{Cu}^{2+}$ -зависимых процессах и привести к эффектам, подобным тем, что возникают при увеличении концентрации меди.

**Таблица 10.** Число отверстий в каналах сейсмодатчика системы в костях черепа у сеголетков плотвы

Вариант	frontale	dentale	praeperculum
Контроль	5.27±0.05	2.87±0.07	8.14±0.07
ЭМП	5.17±0.05	3.43±0.05*	8.04±0.06
$\text{Cu}^{2+}$	5.15±0.04	3.12±0.05*	8.05±0.06
ЭМП + $\text{Cu}^{2+}$	5.27±0.04	2.40±0.07*	7.86±0.07*

Действие на плотву во время раннего онтогенеза только ЭМП привело к увеличению доли рыб со сращениями позвонков и среднего числа сращений в выборке и по сравнению с контролем (табл. 11). Действие раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и совместное действие ЭМП и раствора ионов  $\text{Cu}^{2+}$  во время раннего развития привело снижению доли рыб со сращениями и среднего числа сращений в выборке. Возможно, наличие ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в концентрации 0.01 мг/л выполняло некую протекторную функцию в процессе развития

аномалий в позвоночнике в данном эксперименте, либо же такие результаты явились следствием других неконтролируемых процессов.

Как и в предыдущем эксперименте, во всех вариантах была обнаружена достоверная положительная связь между числом сращений в позвоночнике и числом позвонков, и отсутствие связи между числом сращений и дисперсией флуктуирующей асимметрии.

**Таблица 11.** Сращения позвонков в позвоночнике у сеголетков плотвы и связи между числом позвонков и показателями стабильности развития

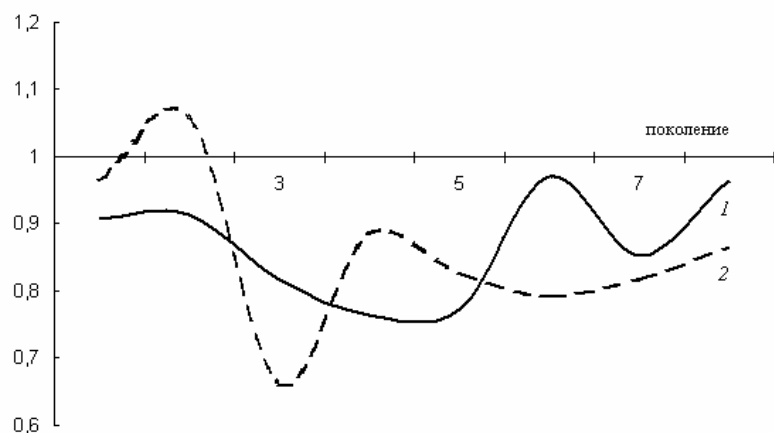
Вариант	Доля рыб со сращениями	Число позвонков в сращениях	Число сращений на одну особь в выборке	Корреляции между показателями стабильности и числом позвонков		
				$\sigma_d^2$ – число аномалий	Число сращений – число позвонков	$\sigma_d^2$ – число позвонков
Контроль	0.45	2.51±0.09	0.83±0.12	0.03	0.37*	-0.05
ЭМП	0.61*	2.53±0.06	1.18±0.12*	-0.14	0.36*	-0.17
$\text{Cu}^{2+}$	0.27*	2.41±0.09	0.46±0.09*	0.14	0.55*	0.05
ЭМП + $\text{Cu}^{2+}$	0.18*	2.17±0.19	0.25±0.06*	-0.11	0.35*	0.03

## ГЛАВА 7. ОЦЕНКА ДЛИТЕЛЬНОГО НЕПРЕРЫВНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭМП НА *D. MAGNA*

В экспериментах использовалось ЭМП с частотой 240 Гц, которое не оказало значительного эффекта при действии на развивающиеся эмбрионы *D. magna*. Исследования проводились по следующей схеме. Потомство от одного рачка помещалось в две одинаковые емкости. Одна емкость перемещалась в рабочий объем колец Гельмгольца, другая оставалась в контрольных условиях. Линии в обеих емкостях развивались 10-12 суток до вымета второго выводка. После этого из обеих линий одновременно и случайно изымалось по 10 одноразмерных новорожденных особей. Представители следующего поколения помещались в такие же емкости и в те же условия, что производители. Таким образом была произведена смена 8-и поколений. Каждый раз, после смены поколений в эксперименте, анализировались предшествующие генерации.

Динамика изменения общей численности и биомассы в исследуемых линиях на протяжении эксперимента была схожа. Рассматривая динамику изменения общей численности и биомассы в экспериментальной линии относительно контроля, следует сказать, что на протяжении пяти первых поколений общая численность была заметно ниже (рис. 4). В 6-8 поколениях начинались флуктуации этого показателя с приближением к

контрольным значениям. Биомасса напротив колебалась в 1-3 поколениях, а с 4-го по 8-е поколение стабилизировалась ниже контрольных значений.

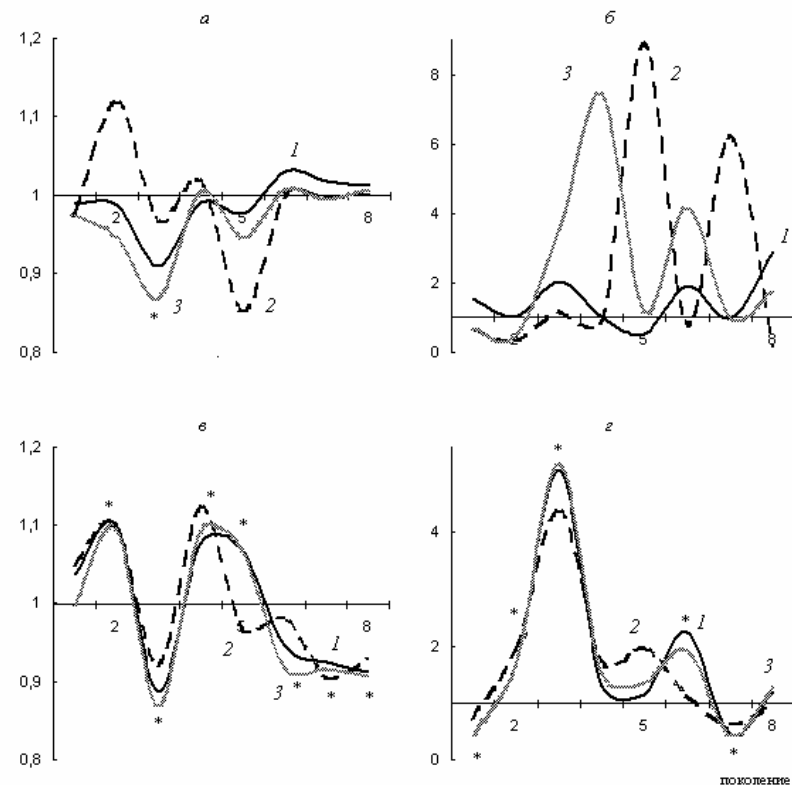


**Рис. 4.** Динамика изменения общей численности (1) и биомассы (2) дафний в ЭМП относительно контрольных значений.

Рассматривалось изменение значений морфологических признаков и их дисперсий для рачков из экспериментальной линии относительно контроля в ряду поколений (рис. 6). У производителей в линии подверженной действию ЭМП значения рассматриваемых признаков на уровне 6-8 поколения приближались к контрольным. Динамика изменений дисперсий признаков в поколениях для этой группы была непоказательна вследствие малых объемов выборок.

Изменения значений морфологических признаков у рачков из 1-го выводка в экспериментальной линии характеризовались заметными флуктуациями на уровне 1-5 поколений и выравнивались к 6-8 поколению. Размерные показатели здесь к 8-у поколению были стабильно ниже контрольных значений.

Следует сказать, что производители за время пребывания в поле успевали достичь максимальных размеров в данных условиях. Первый выводок на момент фиксации активно развивался и набирал биомассу. Тенденция к снижению размерных характеристик к 6-8 поколениям здесь может говорить о снижении под действием ЭМП скорости развития рачков или о более поздних сроках выметов потомства в экспериментальной линии. По этой же причине, по-видимому, происходило и снижение общей биомассы (см. рис. 5).



**Рис. 6.** Динамика изменения средних значений признаков (а) и их дисперсий (б) у производителей в поколениях и динамика изменения средних значений признаков (в) и их дисперсий (г) у рачков из 1-го выводка в поколениях относительно контроля; 1 – L, 2 – L<sub>2</sub>, 3 – h. Достоверность отличий показателя L от контроля обозначена «\*» выше или ниже линий.

Дисперсии признаков у рачков из 1-го выводка в линии, находившейся под влиянием ЭМП, со 2-го по 6-е поколение были выше контрольных значений. На уровне 7, 8 поколений разброс признаков здесь был приближен к контролю. Значения обобщенной дисперсии и индекса Животовского для этой группы вели себя тем же образом.

Описанные выше изменения вписываются в общие представления об адаптивных процессах в биологических системах (Лежачичюс, 1986). Можно предположить, что экспериментальная линия дафний под влиянием ЭМП проходила этап неких приспособительных преобразований. Эти преобразования характеризовались увеличением разнородности по сравнению с контролем на начальном этапе. Затем, вероятно, уже качественно преобразованная линия, на уровне 6-8 поколений характеризовалась сходными с контролем значениями дисперсий признаков и  $\mu$ . При этом размерные показатели рачков, а, следовательно, и общая биомасса были стабильно ниже контрольных при несущественной разнице в численности. Происходило своеобразное смещение оптимумов экспериментальной линии в сторону замедления скорости развития. Поскольку все рачки были потомками одной особи и размножались исключительно партеногенезом, речь идет о негенетической адаптации; имеются в виду перестройки в пределах тех возможностей, которые дозволены генотипом.

**Таблица 12.** Размеры новорожденных потомков в пяти первых выводках и доля нежизнеспособного потомства в вариантах на момент окончания эксперимента

Вариант	Размеры рачков в экспериментальной линии, мм	Размеры рачков в контрольной линии, мм	Мертворожденные в экспериментальной линии, %	Мертворожденные в контрольной линии, %
КК	0.90±0.01	0.86±0.01	1.64	0.78
КП	0.92±0.01	0.83±0.01*	1.17	1.65
ПК	0.88±0.01*	0.84±0.01*	2.09	0.38
ПП	0.93±0.01*	0.83±0.01*	0.58*	2.31*

Для того чтобы оценить адаптивную ценность изменений, с рачками из контроля и из линии, развивавшейся в ЭМП в течение 8-и поколений, были проведены отдельные опыты по принципу, описанному в главе 4 (см. рис 1). Чувствительными оказались лишь некоторые признаки. Так, размеры новорожденных особей в пяти первых выводках были достоверно меньше при действии ЭМП на производителей из контрольной линии, как до репродуктивного периода, так и во время него (табл. 12). В эксперименте с линией, которая на протяжении 8-и поколений находилась под действием ЭМП, размеры новорожденных у

самок, пребывавших в поле во время репродуктивного периода были значительно выше, чем у производителей, перемещенных в контрольную среду.

Действие ЭМП на производителей из контрольной линии во время репродуктивного периода приводило к увеличению числа мертворожденных потомков. В линии, которая на протяжении 8-и поколений находилась под действием ЭМП, число мертворожденных особей напротив увеличивалось в тех вариантах, где производители во время репродуктивного периода находились в контрольной среде.

Таким образом, более качественное потомство рождалось у дафний тогда, когда его производство проходило в той среде, где рачки жили на протяжении нескольких последних поколений. Можно предположить, что длительное непрерывное действие ЭМП на *D. magna* приводило к некоторым изменениям, по всей видимости, приспособительного характера.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованные ЭМП являются слабым экологическим фактором. Эффекты их действия наиболее выражены при экспозиции объектов в поле на ранних стадиях развития, могут проявляться уже после экспозиции и носить отдаленный характер. Однако даже такой слабый фактор может влиять на популяционные процессы и иметь эволюционное значение.

### ВЫВОДЫ

1. Слабые низкочастотные ЭМП с величиной индукции 75  $\mu$ T и 150  $\mu$ T способны вызывать биологические эффекты у гидробионтов. Величина и направление этих эффектов зависят от частоты ЭМП и стадии онтогенеза организма, подвергнутого действию поля.
2. Действие ЭМП на *D. magna* во время ювенильного периода онтогенеза вызывает сбой в закладываемойся программе репродукции. Это выражается в увеличении доли нежизнеспособного потомства и снижении размеров новорожденных особей в четырех первых выводках, то есть имеет место продленное действие поля.
3. При действии различных ЭМП на яйца *D. magna in vitro* ускоряются темпы эмбрионального развития и ухудшаются продукционные показатели рачков в первом выводке.
4. Характер и величина биологических эффектов при действии ЭМП на *R. rutilus* во время раннего онтогенеза тем выше, чем раньше проходит экспозиция объекта в ЭМП
5. Действие на *R. rutilus* различных по своей природе факторов, ЭМП с циклотронной частотой для ионов меди и раствора ионов меди в концентрации 0.01 мг/л, может приводить к сходным эффектам. Комбинированное действие этих факторов может приводить к более выраженным эффектам.

6. Дестабилизация развития билатеральных структур и нарушения в развитии осевого скелета у плотвы при действии описанных факторов во время раннего онтогенеза представляют собой не связанные процессы. Проявление аномалий в позвоночнике увеличивается с ростом числа позвонков.
7. При непрерывном действии ЭМП на *D. magna* на протяжении 8 поколений могут проходить изменения приспособительного характера, состоящие в сокращении колебаний разнообразия морфологических признаков в ряду поколений. Адаптивная ценность изменений в модифицированной линии *D. magna* проявляется в том, что самки производят более качественное потомство в условиях действия поля по сравнению с контрольной линией.

### СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Крылов В.В. Действие переменного электромагнитного поля сверхнизкой частоты на плотву *Rutilus rutilus* L // Сборник тезисов докладов XII международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2005». М.: Изд-во «МАКС Пресс». 2005. С. 114.
2. 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.
3. Крылов В.В. Влияние переменного электромагнитного поля низкой частоты на продукционные показатели *Daphnia magna*, Straus // материалы Всероссийской научно-практической конференции «Экологические проблемы уникальных природных и антропогенных ландшафтов». Ярославль: ЯрГУ. 2006. С. 160-166.
4. Крылов В.В. Непосредственный и продленный эффекты действия переменного электромагнитного поля низкой частоты на продукционные показатели *Daphnia magna* // Гидробиологический журнал. 2007. том. 43. № 4. С. 76-87 (Krylov V.V. Direct and Prolonged Effects of the Action of Low Frequency Alternating Electromagnetic Fields on Reproduction Parameters of *Daphnia magna* // Hydrobiological Journal. 2007. V. 43. Iss. 6. P. 71-82).

5. Крылов В.В. Влияние переменного электромагнитного поля на *Daphnia magna*, Straus // материалы 2-ой научной конференции с участием стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов». Петрозаводск: КарНЦ РАН. 2007. С. 77-78.
6. Крылов В.В., Непомнящих В.А., Извеков Е.И., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. Асимметрия реакции избегания у плотвы *Rutilus rutilus* (Cyprinidae): корреляция с морфологической асимметрией // Зоологический журнал. 2008. т. 87. № 5. С. 573-577.
7. Крылов В. В. Действие переменного электромагнитного поля сверхнизкой и низкой частоты на выживаемость, развитие и продукционные показатели *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera) // Биология внутренних вод. 2008. № 2. С. 33-39 (Krylov V. V. Impact of alternating electromagnetic field of ultralow and low frequencies upon survival, development, and production parameters in *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera) // Inland Water Biology. 2008. V. 1. Iss. 2. P. 134–140).