

© И. И. РУДНЕВА, В. Г. ШАЙДА

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского
svg-41@mail.ru

УДК 577.3

**ВЛИЯНИЕ ВОДЫ, ПОДВЕРГНУТОЙ ДЕЙСТВИЮ ПОСТОЯННОГО
МАГНИТНОГО ПОЛЯ, НА ДИАПАУЗИРУЮЩИЕ ЦИСТЫ АРТЕМИИ**

**IMPACT OF WATER, EXPOSED TO A STATIC MAGNETIC FIELD,
ON THE DIAPAUSING ARTEMIA CYSTS**

Биологическим эффектам взаимодействия физических полей с биологическими объектами уделяется достаточно много внимания вследствие их широкого применения в различных областях деятельности человека. Исследовали влияние воды, подвергнутой действию постоянного магнитного поля (0,108 Тл и 0,208 Тл) с учетом северного (N-группа) и южного (S-группа) полюсов, на вылупление науплиев из цист артемии и хемилюминесценцию (ХЛ) их экстрактов. Не установлено существенных различий значений вылупления науплиев во всех опытных вариантах, за исключением достоверного увеличения этого показателя в намагниченной при большей индукции ПМП у северного полюса воде. Значения ХЛ экстрактов вылупившихся в намагниченной воде (0,108 Тл) науплиев были достоверно ниже контроля, тогда как при увеличении индукции ПМП до 0,208 Тл обнаружена противоположная зависимость. Обсуждаются возможные механизмы опосредованного влияния ПМП на активацию вылупления и ХЛ науплиев артемии.

Physical fields play an important role in human activity. The influence of water exposed to 0.108 T and 0.208 T static magnetic field (SMF), including north (N-group) and south (S-group) poles on Artemia cysts hatching rate and chemiluminescence (ChL) parameters of nauplia extracts was studied. No significant differences were observed in hatching rate values in all experimental groups with the exception of a considerable increase of this parameter in N-group exposed to a higher strength SMF. ChL values of the nauplia extracts in experimental groups with water exposed to 0.108 T were significantly lower as compared with the control, while at the higher SMF strength the ChL values were larger. Possible mechanisms of indirect impact of SMF on hatching stimulation and ChL of Artemia are discussed.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. Артемия, вылупление, постоянное магнитное поле, хемилюминесценция

KEY WORDS. Artemia, hatching rate, static magnetic field, chemiluminescence.

В настоящее время проблеме взаимодействия физических полей с биологическими объектами уделяется достаточно много внимания вследствие их широкого применения в различных областях деятельности человека, а также разнообразным модифицирующим эффектам, которые они оказывают на ор-

ганизмы. При этом физические поля могут непосредственно влиять на живые системы и опосредованно, в результате изменения свойств среды обитания. Проявление биологических эффектов постоянного магнитного поля (ПМП) зависит от его индукции, напряженности, градиента, вектора, экспозиции. При изменении этих параметров свойства тестируемых биологических объектов могут значительно различаться качественно и количественно. Существует несколько теорий, описывающих возможные механизмы действия ПМП на организм, а именно: взаимодействие с чувствительными к магнитному воздействию компонентами ткани, взаимодействие с органами и тканями, которые движутся в ПМП, нарушение потока ионов через мембранные каналы, изменение скорости химических реакций и пространственной ориентации фосфолипидов мембран, повышение уровня свободных радикалов [1-4].

В последние 20 лет исследования действия МП на организмы на разных уровнях их биологической организации интенсивно развиваются. Удобными объектами являются семена растений [5] и яйца беспозвоночных [6; 7]. Экспериментально было показано, что после экспозиции семян и яиц насекомых в ПМП различной индукции происходят изменения времени и количества проросших семян и вылупившихся из яиц личинок, проявляются особенности раннего онтогенеза и дальнейшего развития, отмечена специфичность некоторых метаболических процессов. При этом исследователи в качестве объектов в основном использовали яйца насекомых (дрозофилы, москитов), тогда как водным организмам было уделено меньше внимания.

Одним из интересных и перспективных объектов для изучения механизмов действия ПМП на гидробионтов является артемия, различные жизненные стадии которой широко применяются для оценки влияния химических и физических факторов, в том числе антропогенного происхождения. Рачок, обитающий в гиперсоленых водоемах, благодаря своим уникальным качествам служит удобной моделью для выяснения механизмов ответных реакций организмов на разные воздействия и потому является популярным объектом экотоксикологии. В то же время артемия — один из самых эффективных кормов в аквакультуре, который применяется для выращивания более 85% культивируемых в искусственных условиях организмов [8]. Несмотря на то, что цисты артемии могут в течение длительного времени сохранять жизнеспособность и из них вылупляются личинки, используемые в качестве стартового корма, однако со временем при хранении качество цист снижается и показатели вылупления падают. В связи с этим существуют методы, способствующие поддержанию качества цист в течение длительного периода и получению из них достаточного количества науплиев: декапсуляция, стимулирование вылупления с помощью различных химических веществ и физических факторов, включая температуру, корпускулярное излучение, электромагнитные воздействия и др.

В то же время артемия — древний организм, и изучение ее адаптационных свойств представляет интерес с точки зрения эволюции жизни на планете. В этом отношении исследование влияния магнитного поля на развитие артемии может принести дополнительную информацию в решение этих проблем, т. к. постоянное магнитное поле модифицирует многие биологические процессы на разных уровнях организации живого, в том числе механизмы, задействованные в развитии. Исследования показали, что цисты артемии являются очень чув-

ствительными к действию слабых импульсных магнитных полей [9] и электромагнитных воздействий [10]. Вместе с тем вопросы влияния среды обитания, предварительно подвергнутой действию физических полей на живые объекты, рассмотрены недостаточно. На этом основании целью настоящей работы явилось исследование действия воды, предварительно обработанной постоянным магнитным полем, величина индукции которого составила 0,108 Тл и 0,208 Тл, на вылупление науплиев артемии и оценка в них интенсивности свободнорадикальных процессов.

Материалы и методы. Исследования проводили на цистах артемии, собранных в прудах-испарителях Сасык-Сивашского солепромысла (п-ов Крым) в 2014 г. Цисты отмывали и высушивали в соответствии со стандартной методикой [8], после чего сухие цисты подвергали исследованию. Стеклянные бюксы, заполненные стерилизованной морской водой соленостью 35‰, устанавливали непосредственно около стационарных магнитов с учетом расположения северного (N) и южного (S) полюсов. Индукция постоянного магнитного поля составила 0,108 Тл и 0,208 Тл. Через 24 ч в бюксы помещали цисты артемии, которые инкубировали в течение 48 ч, после чего проводили подсчет вылупившихся науплиев согласно стандартной методике [8] в четырех экспериментальных группах: в группах N₁ и N₂ инкубацию осуществляли в воде, экспонированной у северного полюса магнитов с индукцией поля 0,108 Тл и 0,208 Тл соответственно, S₁ и S₂ — то же у южного полюса магнитов.

Полученных науплиев отбирали с помощью сита, промывали дистиллированной водой и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с холодным 0,85%-м раствором NaCl, после чего центрифугировали 15 мин. при 5000 g. Показатели хемилюминесценции экстрактов науплиев артемии определяли на Хемилюминометре 2011 (LKB, Швеция), иницируя свечение 3%-й перекисью водорода в присутствии FeSO₄ [11]. Оценивали величину пика ХЛ в условных единицах, для чего регистрируемое значение интенсивности светосуммы максимума ХЛ делили на концентрацию белка в образце, которое определяли с помощью стандартного набора реагентов фирмы Филисит (Украина).

Эксперимент осуществляли в трех повторностях, в каждой группе проводили по 4-5 определений. Сравнительный анализ данных подопытных и контрольной групп проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если $p \leq 0,05$ [12].

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований не выявили достоверных различий показателей вылупления науплиев артемии в воде, подвергнутой в течение 24 часов действию ПМП, индукция которого составила 0,108 Тл, по отношению к контролю (рис. 1). Однако при увеличении индукции магнитного поля до 0,208 Тл процент вылупления науплиусов из цист достоверно превысил ($p < 0,05$) соответствующие значения в контроле. При сравнении числа вылупившихся науплиусов из двух экспериментальных групп было отмечено достоверное увеличение данного показателя ($p < 0,05$) в варианте опыта с северным полюсом магнита (N₂), индукция которого составила 0,208 Тл. Существенных различий между показателями вылупления науплиев в воде, намагниченной у южного полюса при обоих значениях индукции поля, не отмечено. Таким образом, наиболее выражен эффект вылупления науплиев при инкубации цист

артемии в воде, подвергнутой воздействию магнитного поля, индукция которого составила 0,208 Тл около северного полюса (группа N₂).

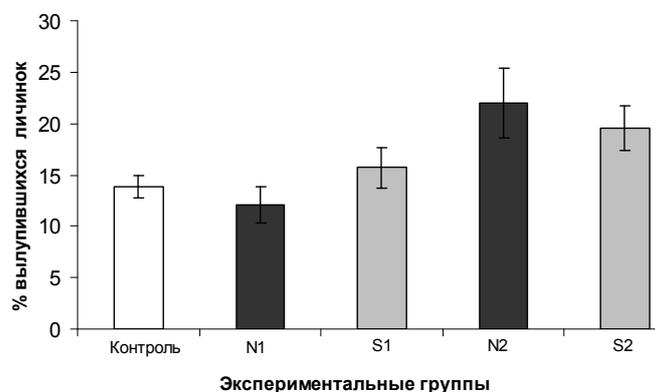


Рис. 1. Вылупление науплиев артемии в воде, предварительно подвергнутой в течение 24 ч действию постоянного магнитного поля

Примечание: S₁ и S₂ — южный полюс магнитов, N₁ и N₂ — северный полюс магнитов (индукция 0,108 Тл и 0,208 Тл соответственно).

На рис. 2 приведены показатели ХЛ экстрактов науплиев артемии, вылупившихся в воде, предварительно подвергнутой действию ПМП. Изменение показателей ХЛ были неоднозначны в различных опытных вариантах. В варианте опыта с водой, экспонированной в ПМП, индукция которого 0,108 Тл, свечение экстрактов науплиев достоверно снижалось по отношению к величинам контроля, при усилении индукции магнитного поля до 0,208 Тл — достоверно увеличивалось. В обоих случаях эффект в большей степени был выражен в опытных вариантах, где вода подвергалась воздействию северного полюса магнитного поля (группы N₁ и N₂, $p < 0,001$) по сравнению с результатами ХЛ экстрактов науплиев, полученных из цист, инкубированных в воде, намагниченной у южного полюса (группы S₁ и S₂, $p < 0,05$). Таким образом, результаты исследований позволили обнаружить противоположную направленность значений ХЛ экстрактов науплиев, выклюнувшихся из цист в воде, подвергнутой действию ПМП разной интенсивности: снижение свечения при меньшей индукции поля и увеличение — при повышенной.

Таким образом, во всех опытных группах отмечено достоверное изменение показателей ХЛ по отношению к контролю, что особенно выражено при более высокой индукции магнитного поля у северного полюса.

Установленные в наших исследованиях изменения интенсивности вылупления науплиев из цист артемии в предварительно намагниченной воде, а также возрастание параметров ХЛ экстрактов личинок, полученных из этих цист, свидетельствует о том, что вода оказала стимулирующее действие на процесс вылупления. Известно, что вода, экспонированная в магнитном поле разной интенсивности, изменяет свои физические и химические свойства. В частности, возрастает ее энергия, изменяются поверхностное натяжение, поглощение света, дзета-потенциал, рН, скорость протекающих в ней химических реакций, увеличивается способность осаждать различные химические компоненты, в том числе тяжелые металлы [13; 14].

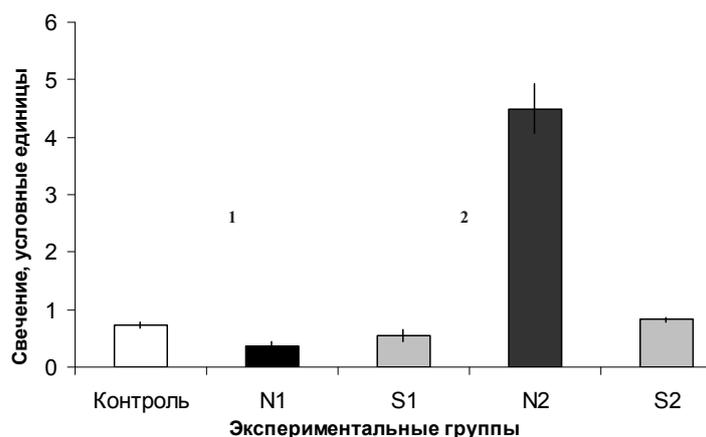


Рис. 2. Показатели ХЛ экстрактов науплиев артемии, вылупившихся в воде, предварительно подвергнутой в течение 24 ч действию постоянного магнитного поля (остальные обозначения те же, что на рис. 1)

Под действием магнитного поля в среде могут образовываться свободные радикалы, избыток которых способен существенным образом модифицировать метаболические процессы животных и растений [15]. Кроме того, сигналы, исходящие от магнитных частиц, оказывают непосредственное влияние на клетки и жизненные функции организмов [16]. В связи с этим отмеченное в нашем исследовании увеличение количества вылупившихся науплиев в воде, подвергнутой действию ПМП интенсивностью 0,208 Тл у северного полюса, может быть обусловлено стимулирующим действием инкубационной среды, изменившей свои свойства после воздействия. Это привело к активной гидратации и поглощению кислорода цистами, ускорению метаболических процессов развивающихся эмбрионов и возрастанию количества вылупившихся науплиев. Сходные эффекты были отмечены при инкубации диапаузирующих цист артемии в среде, предварительно обработанной слабыми импульсными магнитными полями (СИМП) [9]. Кроме того, можно предположить, что повышение в намагниченной среде уровня свободных радикалов также оказывает стимулирующий эффект на процессы развития цист артемии, выполняя при этом роль своеобразного «триггера». Совершенно очевидно, что наблюдаемые эффекты зависят от индукции поля и влияния полюсов, что отмечают и другие исследователи [7; 17].

Усиление под действием ПМП свободнорадикальных реакций как в среде, так и в организме, способно нарушить соотношение существующего в системе баланса прооксидантных и антиоксидантных процессов [1-4; 7]. Одним из эффективных индикаторов интенсивности свободнорадикального окисления (СРО) является ХЛ, при этом чем выше показатели свечения, тем больше свободных радикалов присутствует в анализируемом объекте, и тем активнее происходят процессы СРО [11]. В наших исследованиях установлено снижение показателей ХЛ экстрактов науплиев артемии, полученных после инкубации цист в экспонированной при индукции 0,108 Тл ПМП среде. При увеличении индукции магнитного поля отмечена противоположная зависимость, особенно четко проявившаяся в варианте, где вода была экспонирована у северного по-

люса магнита (N_2). Можно заключить, что при меньшей индукции ПМП среда инкубации способствовала снижению уровня свободнорадикальных процессов и усилению антиоксидантных защитных механизмов в развивающихся науплиусах, тогда как при повышении индукции поля происходила обратная реакция, что еще раз подтверждает неоднозначность биологических эффектов ПМП у живых организмов. Особо следует отметить различия, которые обнаружены в экспериментальных группах, отнесенных к разным полюсам ПМП. Наиболее высокие показатели свечения были отмечены в группе N_2 , что свидетельствует о сдвиге проокислительно-антиоксидантного баланса в сторону процессов усиления свободнорадикальных реакций и, вероятно, развитии окислительного стресса. Сходные эффекты обнаружены при исследовании активности антиоксидантных ферментов дрозофилы *D. subobscura*, яйца которой были подвергнуты воздействию ПМП с величиной индукции 2,4 Тл у северного и южного полюсов [7]. При этом у мушек, полученных из яиц, экспонированных у северного полюса магнита, отмечено уменьшение активности супероксиддисмутазы (СОД) и содержания глутатиона, что может быть связано со снижением эффективности защитной антиоксидантной системы у опытных насекомых по отношению к контрольным.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о модифицирующем действии намагниченной воды на вылупление и обменные процессы науплиев артемии, полученных из цист, инкубированных в этой среде. Исследования действия физических полей на водные организмы представляют интерес не только в плане решения проблем эволюции и раскрытия механизмов адаптаций организмов к действию природных и антропогенных физических факторов, но и могут иметь практическое значение, обусловленное использованием магнитных воздействий для улучшения экологического состояния среды обитания и повышения резистентности гидробионтов к неблагоприятным воздействиям.

Авторы выражают благодарность зав. кафедрой физики Таврического федерального университета им. В. И. Вернадского доктору физико-математических наук В. Н. Добжанскому и сотруднику кафедры А. И. Горбованову за помощь в калибровке используемых в эксперименте магнитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чехун В. Ф., Демаш Д. В., Налескина Л. А. Оценка биологических эффектов и возможных механизмов действия постоянного магнитного поля // Физиологический журнал. 2012. Т. 58. № 3. С. 85-94.
2. Miyakoshi J. Effects of static magnetic fields at the cellular level // Prog. Biophys. Molecula Biol. 2005. Vol. 87. Pp. 212-223.
3. Rosen A. D. Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems // Cell Biochemistry and Biophysics. 2003. Vol 39. Pp. 163-173.
4. Rosen A. D. Studies on the effect of static magnetic fields on biological systems // PIERS Online. 2010. Vol. 6. № 2. Pp. 133-136.
5. Shine M. B., Guruprasad K. N., Anand A. Effect of stationary magnetic field strengths of 150 and 200mT on reactive oxygen species production in soybean // Bioelectromagnetics. 2012. Vol. 33. № 5. Pp. 428-437.
6. Pan H., Liu X. Apparent biological effect of strong magnetic field on mosquito egg hatching // Bioelectromagnetics. 2004. Vol 25. Pp. 84-91.
7. Todorovich D., Peric-Mataruga V., Mircic D., Ristic-Djurovic J., Prolic Z., Petkovic D., Savie T. Estimation of changes in fitness components and antioxidant defense of *Drosophila*

subobscura (Insecta, Diptera) after exposure to 2.4 T strong magnetic field // Environ. Sci. Pollut. Res. 2015. Vol. 27. № 7. Pp. 5305-5314.

8. Van Stappen G. Use of cysts // FAO Fisheries Technical Paper. 1996. № 36. Pp. 102-123.

9. Селюков А. Г., Солодилов А. И., Елькин В. П. Слабые взаимодействия и гомеостаз живых систем. Тюмень: Изд-во Тюменского государственного университета, 2008. 191 с.

10. Shckorbatov Yu., Rudneva I. I., Pasiuga V., Grabina V., Kolchigin N., Ivanchenko D., Kazanskiy O., Shaida V., Dumin O. Electromagnetic field effects on *Artemia* hatching and chromatin state // Central European Journal of Biology. 2010. Vol. 5. № 6. Pp. 785-790.

11. Владимиров Ю. А. Активированная хемилюминесценция и биолюминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7. С. 16-20.

12. Халафян А. А. Статистика. Статистический анализ данных. Глава 8. Анализ вариаций. М.: Бином, 2008. С. 133-152.

13. Alkhazan M. M. K., Saddiq A. A. N. The effect of magnetic field on the physical, chemical and microbiological properties of the lake water in Saudi Arabia // Journal of Evolutionary Biology Research. 2010. Vol. 2(1). Pp. 7-14

14. Zeilinski M., Debowski M., Krzymieniewski M., Dudek M., Grala A. Effect of constant magnetic field (CMF) with various values of magnetic induction on effectiveness of dairy wastewater treatment under anaerobic conditions // Pol. J. Environ. Stud. 2014. Vol. 23. № 1. Pp. 255-261.

15. Lesser M. P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology // Ann. Rev. Physiol. 2006. Vol. 68. Pp. 253-278.

16. Smirnov J. V. BioMagnetic hydrology. The Effect of a Specially Modified Electromagnetic Field on the Molecular Structure of Liquid Water // Global Quantec. Inc. U. S. A. 2003. Pp. 122-125.

17. Moon J. D., Chung H. S. Acceleration of germination of tomato seed by applying an electric and magnetic field // J. Electro-Statistics. 2000. Vol. 48. Pp. 103-114.

REFERENCES

1. Chekhun, V. F., Demash, D. V., Naleskina, L. A. Evaluation of biological effects and possible mechanisms of action of static magnetic fields // Physiological Journal. 2012. Vol. 58. № 3. Pp. 85-94. (in Ukrainian)

2. Miyakoshi, J. Effects of static magnetic fields at the cellular level // Progress in Biophysics and Molecular Biology. 2005. Vol. 87. Pp. 212-223.

3. Rosen, A. D. Mechanism of Action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems // Cell Biochemistry and Biophysics. 2003. Vol. 39. Pp. 163-173.

4. Rosen, A. D. Studies on the effect of static magnetic fields on biological systems // PIERS Online. 2010. Vol. 6. № 2. Pp. 133-136.

5. Shine, M. B., Guruprasad, K. N., Anand, A. Effect of stationary magnetic field strengths of 150 and 200mT on reactive oxygen species production in soybean // Bioelectromagnetics. 2012. Vol. 33. № 5. Pp. 428-437.

6. Pan, H., Liu, X. Apparent biological effect of strong magnetic field on mosquito egg hatching // Bioelectromagnetics. 2004. Vol. 25. Pp. 84-91.

7. Todorovich, D., Peric-Mataruga, V., Mircic, D., Ristic-Djurovic, J., Prolic, Z., Petkovic, D., Savie, T. Estimation of changes in fitness components and antioxidant defense of *Drosophila subobscura* (Insecta, Diptera) after exposure to 2.4 T strong magnetic field // Environmental Science and Pollution Research. 2015. Vol. 27. № 7. Pp. 5305-5314.

8. Van Stappen G. Use of cysts // FAO Fisheries Technical Paper 1996. № 36. Pp. 102-123.

9. Selyukov, A. G., Solodilov, A. I., Elkin, V. P. Low intensity interactions and regomeostasis of living systems. Tyumen: Publishing house of TSU, 2008. 191 p. (in Russian).
10. Shckorbatov, Yu., Rudneva, I. I., Pasiuga, V., Grabina, V., Kolchigin, N., Ivanchenko, D., Kazanskiy, O., Shaïda, V., Dumin, O. Electro-magnetic field effects on *Artemia* hatching and chromatin state // Central European Journal of Biology. 2010. Vol. 5. № 6. Pp. 785-790.
11. Vladimirov, J. A. Activated chemiluminescence and bioluminescence as a tool in medical — biological investigations // Soros Educational Journal. 2001. Vol. 7. Pp. 16-20 (in Russian).
12. Halafyan, A. A. STATISTICA. Data statistic processing. Chapter 8. Analysis of Variance. Moscow, Binom, 2008, pp. 133-152 (in Russian).
13. Alkhazan, M. M. K., Saddiq, A. A. N. The effect of magnetic field on the physical, chemical and microbiological properties of the lake water in Saudi Arabia // Journal of Evolutionary Biology Research. 2010. Vol. 2. № 1. Pp. 7-14.
14. Zeilinski, M., Debowski, M., Krzmienski, M., Dudek, M., Grala, A. Effect of constant magnetic field (CMF) with various values of magnetic induction on effectiveness of dairy wastewater treatment under anaerobic conditions // Polish Journal of Environmental Studies. 2014. Vol. 23. № 1. Pp. 255-261.
15. Lesser, M. P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology // Annual Review of Physiology. 2006. Vol. 68. Pp. 253-278.
16. Smirnov, J. V. Biomagnetic hydrology. The effect of a specially modified electromagnetic field on the molecular structure of liquid water // Global Quantec, Inc., USA. 2003. Pp. 122-125.
17. Moon, J. D., Chung, H. S. (2000). Acceleration of germination of tomato seed by applying an electric and magnetic field // Journal of Electro-Statistics. 2000. Vol. 48. Pp. 103-114.

Авторы публикации

Ирина Ивановна Руднева — ведущий научный сотрудник Института биологии южных морей им. А. О. Ковалевского, г. Севастополь, профессор, доктор биологических наук

Валентин Григорьевич Шайда — инженер, зав. отделом связи и передачи информации Института биологии южных морей им. А. О. Ковалевского, г. Севастополь

Authors of the publication

Irina I. Rudneva — Dr. Biol. Sci., Professor, Leading Researcher, A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas

Valentin G. Shaida — Engineer, Head of the Department of Communication and Information Transfer, A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas