УДК 595.324:591.5

ВЛИЯНИЕ ПРИБОРА, ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СВЕТОДИОДНОЕ ОБЛУЧЕНИЕ, НА РАЧКОВ *DAPHNIA MAGNA*

О. В. Воробьева

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12 E-mail: olvorobieva@rambler.ru

Поступила в редакцию 07.05.13 г.

Влияние прибора, генерирующего светодиодное облучение, на рачков *Daphnia magna*. – Воробьева О. В. – Описаны эффекты светового и электромагнитного полей прибора, генерирующего красное светодиодное излучение, на рачка *Daphnia magna* Straus, 1820.

Ключевые слова: Daphnia magna, светодиодное излучение, плодовитость, нарушение эмбриогенеза, гидробионты.

Effect of a device generating light-emitting diode radiation, on *Daphnia magna*. – Vorobyeva O. V. – The effects of both light and electromagnetic fields of a device producing red light by means of light-emitting diodes on the water crustacean *Daphnia magna* Straus, 1820 are described.

Key words: Daphnia magna, LED light, fecundity, embryogenesis disturbance, hydrobiont.

ВВЕЛЕНИЕ

Биотестирование, являясь методом контроля химического загрязнения, одновременно может найти применение при оценке вредоносного действия физических факторов, в частности электромагнитного излучения. Одними из возможных источников такого излучения являются лазеры и светоизлучающие диоды. Достижения лазерных и светодиодных технологий все чаще применяются в медицинской практике. Высокоэнергетические лазерные воздействия используются в качестве световых скальпелей, низкоэнергетические, в сочетании с фотосенсибилизаторами (такими, как гематопорфирин или фталоцианин), - применяют для разрушения раковых опухолей. Маломощные излучения гелий-неонового лазера используют при лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата, в стоматологии, пульмонологии, кардиологии (Чудновский и др., 2002). Поскольку лазерный луч при прохождении через оптоволокно и кожные покровы теряет свойство когерентности (Кару и др., 1982), решающими параметрами для облучения оказываются спектральная плотность и длина волны (Чудновский и др., 2002). Поэтому наряду с лазерным воздействием широкое применение находит и облучение с использованием светодиодных приборов. Наибольшее применение получили светодиодные и лазерные источники с излучением в красной и инфракрасной частях спектра.

Показано, что облучение красным и инфракрасным светом может оказывать позитивные эффекты при определенных дозах (Брилль и др., 2008; Tuner et al., 1999; Karu, 2007; Plavskii et al., 2008). Так, инфракрасное облучение увеличивало выживаемость икры рыб и стимулировало рост и размножение высших водных растений

(Крутик, 2006; Фельдман, Крутик, 2006). Несмотря на большое количество работ, описывающих положительные эффекты от облучения красным и инфракрасным светом, появляется все больше публикаций об отсутствии положительного результата, вплоть до развития побочных эффектов (Борисенко, 1997; Кару, 2000). В частности, показано, что действие низко интенсивного лазерного излучения зависит от стадии развития эмбриона рыб (Uzdensky et al., 2001). Облучение гелийнеоновым лазером увеличивало продуктивность при облучении икры на стадии гаструляции и эмбриональной моторики и негативно влияло при облучении на стадии органогенеза. По данным ряда авторов (Кару, 2000; Ding, 1988), применение неоптимальных параметров воздействия может не только не привести к желаемому позитивному эффекту, но и вызвать угнетение жизненно важных функций организма. При воздействии на целостные живые организмы наблюдаются плохая воспроизводимость результатов, различная чувствительность к облучению у разных особей и опасность передозировки (Владимиров, 1999).

Поскольку при облучении организм подвергается не только воздействию света, но и действию электромагнитного поля (ЭМП), порождаемого прибором, целью настоящей работы стало выявление эффекта каждого из этих компонентов излучения прибора на выживаемость, плодовитость и качество потомства *Daphnia magna* Straus, 1820.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила лабораторная культура рачков *Daphnia magna* – стандартный тест-объект токсикологических исследований. Рачков выращивали согласно методике (Методические указания..., 1998). Температура в опытах составляла 20°С. Освещенность обеспечивалась люминесцентными лампами «Power-Glo» и «Sun-Glo» со сменой дня и ночи (12:12 часов). В ходе опытов воду меняли 3 раза в неделю, одновременно со сменой воды удаляли рожденную молодь. Рачков кормили суспензией зелёных водорослей *Chlorella vulgaris*.

Односуточных особей однократно облучали при помощи прибора СДМ-01, генерирующего светодиодное излучение и разработанного для исследования влияния светодиодного облучения на живые системы. Спектр излучения прибора представляет собой колоколообразную кривую с максимумом на длине волны 650 нм, ширина спектра по уровню 1/2 составляет 21 нм. Интегральная световая мощность светодиодной матрицы прибора – 8 мВт, интенсивность света на расстоянии 13.5 см от матрицы -0.04 MBT/cm^2 . Время воздействия составляло 0.1 и 300 с. После экспозиции подопытных и контрольных рачков помещали из расчета 5 особей на 250 мл воды, с 4-кратной повторностью каждого из вариантов согласно методике проведения хронических экспериментов (Лесников, Исакова, 1998). В качестве контроля служили рачки из того же помета, не подвергавшиеся воздействию прибора. Для выявления действия электромагнитного поля (ЭМП) прибора использовали рачков, помещенных под облучатель, но изолированных от действия света тонкой металлической пластиной. Таким образом, рачки во время облучения не подвергались действию света, но могли подвергаться воздействию ЭМП, создаваемых прибором.

Исследовались облученные родительские поколения (P), а также три последующих поколения потомства $(F_1 - F_3)$, экспонирование которых не проводилось.

Наблюдения за каждым поколением продолжались в режиме хронического опыта до 21 суток. Исследовались такие параметры, как выживаемость, плодовитость и качество потомства дафний в четырех поколениях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Облучение и действие ЭМП не оказали влияния на наступление половозрелости исследованных особей. Во всех четырех поколениях различия в выживаемости за 21 сутки наблюдений не были статистически достоверными.

На рисунке представлены графики суммарной плодовитости дафний в пересчете на 1 самку во всех исследованных поколениях. В родительском поколении действие только ЭМП прибора привело к снижению плодовитости по сравнению с контролем и облучением светом на 20% (табл. 1). Плодовитость особей, подвергшихся световому облучению, была близка к контрольным значениям. В первом поколении наибольшая плодовитость была отмечена при облучении с экспозицией 300 с (увеличение на 30% от контроля). Наименьшая плодовитость – при изолированном от света действии прибора (снижение плодовитости на 33% от контроля), плодовитость при облучении 0.1 с оказалась ниже контрольной. Во втором поколении плодовитость при действии ЭМП прибора и при облучении с экспозицией 300 с оказалась больше плодовитости в контроле и при экспозиции 0.1. К четвертому поколению данные по плодовитости оказались сходными во всех линиях. Плодовитость при облучении с экспозицией 0.1 с во всех исследуемых поколениях была близка к контрольным значениям. Плодовитость при облучении с экспозицией 300 с оказалась больше плодовитости при действии ЭМП прибора в родительском поколении на 37% ($t_d = 1.37$) и на 92% в первом поколении (статистически достоверное отличие, $t_d = 3.96$ при T-критическом 2.45). Во втором и третьем поколениях отличия от плодовитости при действии ЭМП прибора оказались незначительными.

Таблица 1 Суммарная плодовитость дафний в ряду поколений после однократного облучения светодиодом

	Воздействие / Поколения	P	F_1	F_2	F_3
Контроль	Суммарная плодовитость на 1 самку	43.3±13.4	20.0±2.5	33.8±3.4	14.5±0.6
	Суммарная плодовитость на 1 самку	35.5±12.2	13.4±4.7	49±10.8	15.3±1.7
	% от контроля	78.5	67.0	145.0	105.2
ЭМП	t_d	1.04	2.27	2.27	0.8
	Суммарная плодовитость на 1 самку	42.8±14.5	16.5±2.0	33.3±7.2	16.0±3.7
	% от контроля	94.5	82.5	98.5	110.3
	t_d	0.25	2.09	0.12	0.75
	% от ЭМП	121.0	122.2	67.86	104.9
0.1 c	t_d	0.78	1.13	2.31	0.36
·-	Суммарная плодовитость на 1 самку	47.3±11.4	26.0±4.2	46.8±8.9	14.3±1.5
	% от контроля	105.0	130.0	138.5	98.2
	t_d	0.22	2.3	2.35	0.3
	% от ЭМП	133.0	192.6	95.41	92.44
300 c	t_d	1.37	3.95	0.32	0.88

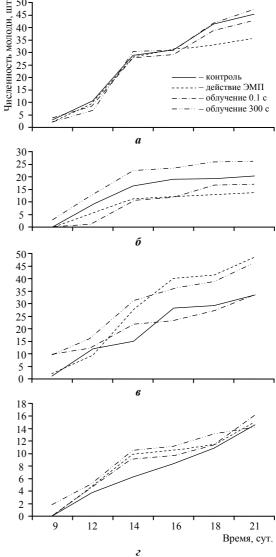
Примечание. Т-критическое для соответствующей величины выборки составляет 2.45, уровень значимости 0.05.

ВЛИЯНИЕ ПРИБОРА, ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СВЕТОДИОДНОЕ ОБЛУЧЕНИЕ

Как при облучении, так и при воздействии ЭМП прибора, наблюдалось рождение аномальной и быстро погибающей молоди во всех исследуемых поколениях.

В табл. 2 приведено количество патологий у молоди, рожденной облученными особями и их потомками в абсолютном значении и в процентном отношении к общему числу рожденной молоди. Морфологические аномалии молоди отмечены во всех четырех поколениях рачков, подвергнутых облучению длительностью 0.1 и 300 с и действию прибора. Наиболее распространенным видом аномалий было изменение строения плавательных антенн. Такие особи имели редуцированные щетинки на антеннах, меньше, по сравнению с нормальными особями, жировых капель и погибали через несколько суток после рождения, не доживая до половой зрелости.

Хотя приведенные данные не показывают достоверных отличий плодовитости от контроля, можно говорить о тенденции к снижению ЭМП суммарной плодовитости у дафний по сравнению с контрольными и облученными светом особями в родительском и первом дочернем поколениях. Во втором поколении наблюдается стимуляция множения под действием прибора. К третьему поколению, вероятно, плодовитость стабилизируется и оказывается сходной с контрольными значениями. Облучение с меньшей экспозиции (0.1 с) практически не отличалось от контроля, тогда как



Средняя суммарная плодовитость в пересчете на 1 самку D. magna: a – в поколении P, δ – в поколении F_1 , ϵ – в поколении F_2 , ϵ – в поколении F_3

большая экспозиция (300 с) приводила к повышению плодовитости в первом и втором поколениях.

Таблица 2 Количество молоди с патологиями в ряду поколений при облучении светодиодной матрицей с различной длительностью

Воздействия / Поколения	P	F_1	F_2	F_3
Контроль	0	0	0	0
ПМС	3 (0.42%)	2 (0.74%)	4 (0.4%)	2 (0.7%)
0.1 c	5 (0.6%)	8 (2.4%)	2 (0.3%)	1 (0.3%)
300 c	2 (0.22%)	4 (0.8%)	4 (0.4%)	4 (1.4%)

Примечание. В скобках указан процент молоди с патологиями относительно общего числа молоди, рожденной выборкой за период наблюдений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты дают основание заключить, что и светодиодное излучение, и электромагнитное поле прибора способны влиять на рачков как в выборках, непосредственно подвергавшихся их воздействию, так и в последующих поколениях. Вероятно, ЭМП, генерируемое прибором, оказывает негативное действие на дафний, что проявляется в снижении плодовитости и появлении аномального потомства на протяжении 4 поколений исследуемых дафний. Красный свет может оказывать частичное компенсаторное действие и стимулировать плодовитость облученных особей. При этом защитные свойства красного света не способны предотвратить появление аномальной молоди. Механизм отмеченного явления еще предстоит исследовать.

Автор выражает благодарность профессору О. Ф. Филенко, профессору В. Н. Баграташвили, кандидату биологических наук Е. Ф. Исаковой, кандидату физико-математических наук В. И. Юсупову, Н. Н. Воробьевой за помощь в работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 10-02-00672 и 12-02-31782).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Борисенко Г. Г., *Осипов А. Н.*, *Казаринов К. Д.*, *Владимиров Ю. А.* Фотохимические реакции нитрозильных комплексов гемоглобина под действием низкоинтенсивного лазерного излучения в видимом диапазоне // Биохимия. 1997. Т. 62, № 6. С. 774 - 780.

Брилль Г. Е., Романова Т. П., Прошина О. В., Беспалова Т. А. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в качестве физического адаптогена при действии на организм стрессорных факторов : пособ. для врачей и научных работников. Саратов : Изд-во Сарат. мед. ун-та, 1998. 31 с.

Владимиров Ю. А. Лазерная терапия : настоящее и будущее // Соросовский образоват. журн.1999. Т. 12. С. 2 – 8.

Кару Т. Й., Календо Г. С., Летохов В. С., Лобко В. В. Зависимость биологического действия низкоинтенсивного видимого света на клетки HeLa от когерентности, длины волны, дозы и режима освещения // Квантовая электроника. 1982. Т. 9. С. 1761 – 1767.

Кару Т. И. Первичные и вторичные механизмы лазерной терапии // Низкоинтенсивная лазерная терапия / под общ. ред. С. В. Москвина, В. А. Буйлина. М.: Техника, 2000. С. 71 – 94.

Крутик С. Ю., *Фельдман М. Г.* Влияние когерентного инфракрасного излучения с вариациями экспозиционной дозы и частоты импульсов на рост и развитие ряски малой (*Lemna minor*) // Объединенный науч. журн. 2006. № 14. С. 61 – 66.

ВЛИЯНИЕ ПРИБОРА, ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СВЕТОДИОДНОЕ ОБЛУЧЕНИЕ

Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение / под ред. О. Ф. Филенко, С. А. Соколовой. М.: ВНИРО, 1998. 147 с.

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 водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998. С. 48-65.

Фельдман М. Г., Крутик С. Ю. Лазерная стимуляция как способ повышения производительности инкубационных цехов рыбоводных заводов // Рыбное хозяйство. 2006. № 5. С. 78-79.

Чудновский В. М., Леонова Г. Н., Скопинов С. А., Дроздов А. Л., Юсупов В. Н. Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии. Владивосток : Дальнаука, 2002. 157 с

Ding A. H., Nathan C. F., Stuehr D. J. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages// J. Immunol. 1988. Vol. 141, No. 7. P. 2407 – 2412.

Karu T. Ten lectures on basic science of laser phototherapy. Grangesberg, Sweden: Prima Books, 2007. 414 p.

Plavskii V. Yu., *Barulin N. V.* Effect of exposure of sturgeon roe to low-intensity laser radiation on the hardiness of juvenile sturgeon // J. Applied Spectroscopy. 2008. Vol. 75. P. 241 – 250.

Tuner J., *Hode L.* Low level laser therapy – clinical practice and scientific background. Spjutvagen: Prima Books, 1999. 403 p.

Uzdensky A. B., Gorbacheva L. T., Vorob'eva O. A., Son C. Helium-neon laser radiation effect on some teratogenic processes in fish embryos // Proc. SPIE. 2001. Vol. 4515. P. 32 – 35.