

ЗООПЛАНКТОН, ЗООБЕНТОС,  
ЗООПЕРИФИТОН

УДК 592:537.636

ВЛИЯНИЕ МЕДЛЕННЫХ МАГНИТНЫХ ФЛУКТУАЦИЙ  
И СВЕТОВОГО РЕЖИМА НА МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ  
ПОКАЗАТЕЛИ *Daphnia magna* Straus

© 2020 г. В. В. Крылов<sup>а, \*</sup>, Г. А. Папченкова<sup>а</sup>, А. А. Батракова<sup>а, b</sup>,  
О. М. Желтова<sup>а, b</sup>, Е. А. Осипова<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,  
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

<sup>b</sup>Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия

\*e-mail: kryloff@ibiw.yaroslavl.ru

Поступила в редакцию 16.11.2018 г.

После доработки 25.01.2019 г.

Принята к публикации 06.02.2019 г.

Исследовано влияние медленных магнитных флуктуаций с разным периодом, различных режимов освещения и сочетания этих факторов на созревание, продолжительность жизни, размер кладки и период между отрождением молоди у *Daphnia magna* Straus, а также на некоторые морфометрические показатели производителей и отрождаемого потомства. Показано, что период между отрождением молоди и продолжительность жизни рачков-производителей в большей степени зависят от режима освещения и в меньшей от взаимодействия этого фактора с магнитными условиями. Взаимодействие указанных факторов влияло на размеры производимой молоди на уровне статистической тенденции. Обсуждаются вероятные механизмы обнаруженных эффектов.

**Ключевые слова:** дафния, циркадный ритм, геомагнитная вариация, режим освещения

**DOI:** 10.31857/S032096522001012X

ВВЕДЕНИЕ

Периодически изменяющиеся параметры окружающей среды оказывают существенное влияние на жизнедеятельность гидробионтов. Один из ярких примеров такого влияния — суточные вертикальные миграции зоопланктонных ракообразных (Dobrynin, 2009; Семенченко, Разлуцкий, 2009). Оценка изменений в транскриптом и протеоме у представителей этой экологической группы свидетельствует о существенной модуляции экспрессии генов и физиолого-биохимических показателей в течение суток (Maas et al., 2018; Rund et al., 2016). Эти околосуточные (или циркадные) колебания интенсивности свойственны большинству биологических процессов, поскольку позволяют эффективно использовать ресурсы (Dibner, Schibler, 2015).

Смена дня и ночи — основной внешний фактор, прямо или опосредованно определяющий околосуточную ритмику поведенческих, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических показателей у подавляющего большинства живых существ, включая пресноводных ракообразных. Этот внешний водитель служит для точной настройки эндогенного циркадного осцил-

лятора (Dibner, Schibler, 2015). Однако в последние годы появились экспериментальные данные, указывающие на вероятность использования гидробионтами суточной геомагнитной вариации в качестве дополнительного внешнего водителя циркадных ритмов (Krylov et al., 2019). Данная вариация возникает за счет токовых процессов на солнечной стороне Е-слоя ионосферы на высоте ~90–150 км (Yamazaki, Maute, 2017). Размах суточной геомагнитной вариации составляет приблизительно от нескольких десятков нТл в средних широтах до ~200 нТл вблизи магнитного экватора (Chapman, Bartels, 1940). Ежедневные пики этой вариации хорошо заметны на магнитограммах в дни пониженной магнитной активности.

В связи с вышеизложенным весьма актуально изучение реакций представителей водных экосистем на изменения основного и предполагаемого дополнительного фактора биологических циркадных ритмов. Данные о влиянии магнитных флуктуаций с параметрами, близкими к суточной геомагнитной вариации, и сочетания магнитных и световых факторов на пресноводных ракообразных не найдены.

Цель работы — оценить влияние изменения частоты медленных флуктуаций магнитного поля

и режима освещения на созревание, продолжительность жизни, размер кладки и период между отрождением молоди у *Daphnia magna* Straus, а также на некоторые морфометрические показатели производителей и отрождаемого потомства.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования использовали культуру *D. magna*, синхронизированную в соответствии со стандартной методикой биотестирования (Методика..., 1999). Эксперименты проводили в жесткой аэрированной воде при температуре 22–23°C.

В работе использовали следующие условия: 16 ч свет–8 ч темнота в немодифицированном геомагнитном поле (вариант, приближенный к естественным условиям); 32 ч свет–16 ч темнота в немодифицированном геомагнитном поле; 16 ч свет–8 ч темнота в магнитных флуктуациях с размахом 300 нТл и периодом 48 ч; 32 ч свет–16 ч темнота в магнитных флуктуациях с размахом 300 нТл и периодом 48 ч. В двух последних вариантах магнитные воздействия имитировали двукратно замедленную суточную геомагнитную вариацию. Интенсивность флуктуаций была выше, чем у регулярной суточной вариации и соответствовала интенсивности сильной геомагнитной бури, при этом естественные геомагнитные флуктуации были скомпенсированы. Выбор указанных выше режимов был обусловлен тем, что помимо контрольных условий, период светового и магнитного воздействий увеличили до приблизительной продолжительности репродуктивного цикла у *D. magna* при данной температуре.

Для проведения экспериментов использовали две термостатируемые комнаты, в которых поддерживали упомянутые выше режимы освещения при помощи двух цифровых реле времени DH-48S-S (Omron, Япония). Магнитные флуктуации в каждой комнате воспроизводили при помощи экспериментальной установки, которая состояла из следующих элементов: 1) трехкомпонентный феррозондовый магнитометр (HB0302A, НПО “ЭНТ”, Санкт-Петербург), который служит для регистрации естественных флуктуаций геомагнитного поля в широтном, меридиональном и вертикальном направлении; 2) две системы из трех пар взаимно ортогональных колец Гельмгольца (диаметр 0.5 м, каждое кольцо имеет две обмотки по 700 витков медного провода диаметром 0.2 мм: одна обмотка поверх другой), имеющих одинаковые геометрические размеры и общий центр (куб, на сторонах которого размещены кольца Гельмгольца), одну обмотку использовали для компенсации флуктуаций геомагнитного поля в реальном времени в направлении трех компонент геомагнитного поля, другую – для создания магнитного поля с заданными параметрами; 3) аналого-цифровой и цифро-аналоговые пре-

образователи сигналов (крейтовая система, укомплектованная устройствами LTR11 и LTR34-4, ЗАО “Л-кард”, Москва). Согласование сигналов и управление экспериментальной установкой осуществляли при помощи программного обеспечения, разработанного специально для этих целей; визуализировали и анализировали регистрируемые и генерируемые сигналы посредством коммерческого программного обеспечения PowerGraph Pro (ДиСофт, Россия).

Молодь дафний в возрасте не старше одних суток помещали в 60 индивидуальных сосудов емкостью 100 см<sup>3</sup>, заполненных культивационной водой. По 15 сосудов были размещены в описанных выше условиях до момента естественной гибели всех рачков. Дафний ежедневно кормили суспензией клеток *Chlorella vulgaris* Beijerinck (3.0–3.5 × 10<sup>7</sup> кл./100 см<sup>3</sup>). Хлореллу культивировали на среде Тамия, для приготовления суспензии использовали центрифугу MLW K23D, 2500 об./мин (Лейпциг, Германия).

Регистрировали продолжительность жизни рачков-производителей, возраст самок к моменту отрождения первого выводка, количество производимого потомства в семи первых выводках, размеры производителей к моменту окончания экспериментов. Рассчитывали период между отрождением молоди. У зафиксированных в 70%-ном растворе этанола новорожденных рачков пятого выводка также определяли размеры тела. Для этого дафний фотографировали при одном увеличении при помощи бинокулярного микроскопа МБС-8 и окуляр-камеры DCM-500 (Hangzhou Huaxin IC Technology, Китай). Затем на фотографиях с использованием программы “TourView” (TourTek, Китай) определяли длину тела от верхнего края головы до основания хвостовой иглы путем соотношения числа пикселей, соответствующих размерам тела, с заданным эталонным размером. У рачков-производителей дополнительно определяли высоту карапакса (расстояние между двумя точками на наибольшем перпендикуляре к длине тела) и длину хвостовой иглы.

Полученные данные, за исключением возраста самки к моменту отрождения первого выводка, имели нормальное распределение, поэтому для оценки значимости различий использовали однофакторный дисперсионный анализ и апостериорный критерий Тьюки. Значимость различий между двумя группами рачков оценивали при помощи критерия Стьюдента. Для оценки влияния светового режима и магнитных условий на исследуемые показатели использовали двухфакторный дисперсионный анализ. Различия ненормально распределенных данных оценивали при помощи критерия Краскела–Уоллиса.

**Таблица 1.** Биологические показатели самок *Daphnia magna* в эксперименте

| Режим освещения | Магнитные условия | Возраст самок к моменту отрождения первого выводка, сут | Среднее количество потомков в выводке | Период между выводками молоди, сут | Продолжительность жизни производителей, сут | <i>n</i> |
|-----------------|-------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------|----------|
| 16–8 (24 ч)     | ГМП               | 8 (6–8) <sup>a</sup>                                    | 22.88 ± 1.11 <sup>a</sup>             | 2.26 ± 0.11 <sup>ab</sup>          | 79.00 ± 4.02 <sup>a</sup>                   | 14       |
|                 | ФЛ                | 8 (8–8) <sup>a</sup>                                    | 22.87 ± 1.15 <sup>a</sup>             | 2.04 ± 0.12 <sup>a</sup>           | 74.54 ± 2.95 <sup>ab</sup>                  | 13       |
| 32–16 (48 ч)    | ГМП               | 7 (6–8) <sup>a</sup>                                    | 22.88 ± 1.11 <sup>a</sup>             | 2.27 ± 0.11 <sup>ab</sup>          | 66.50 ± 2.66 <sup>b</sup>                   | 16       |
|                 | ФЛ                | 8 (8–8) <sup>a</sup>                                    | 20.27 ± 1.15 <sup>a</sup>             | 2.53 ± 0.12 <sup>b</sup>           | 72.62 ± 2.95 <sup>ab</sup>                  | 13       |

Примечание. Возраст самок к моменту отрождения первого выводка представлен как медиана (верхний и нижний квартили), другие данные — как среднее значение показателя ± стандартная ошибка. Надстрочные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия показателей в столбце  $p < 0.05$  (критерий Краскела–Уоллиса или дисперсионный анализ, критерий Тьюки). Здесь и в табл. 2 ГМП — геомагнитное поле с естественной суточной вариацией (период 24 ч.), ФЛ — магнитные флуктуации с размахом 300 нТл и периодом 48 ч. *n* — число самок.

**Таблица 2.** Морфометрические показатели *Daphnia magna* в эксперименте

| Режим освещения | Магнитные условия | Самки          |                      |                          |          | Молодь         |          |
|-----------------|-------------------|----------------|----------------------|--------------------------|----------|----------------|----------|
|                 |                   | длина тела, мм | высота карапакса, мм | длина хвостовой иглы, мм | <i>n</i> | длина тела, мм | <i>n</i> |
| 16–8 (24 ч)     | ГМП               | 4.39 ± 0.07    | 2.93 ± 0.07          | 0.31 ± 0.03              | 12       | 0.827 ± 0.008  | 107      |
|                 | ФЛ                | 4.40 ± 0.07    | 3.00 ± 0.08          | 0.33 ± 0.04              | 10       | 0.838 ± 0.007  | 143      |
| 32–16 (48 ч)    | ГМП               | 4.41 ± 0.06    | 2.96 ± 0.06          | 0.37 ± 0.03              | 16       | 0.839 ± 0.006  | 161      |
|                 | ФЛ                | 4.46 ± 0.07    | 2.91 ± 0.07          | 0.37 ± 0.03              | 12       | 0.825 ± 0.007  | 138      |

Примечание. Даны средние значения показателя ± стандартная ошибка.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Смертность рачков во всех группах на 21-ые сутки опытов не превышала 20%, что соответствует естественной смертности дафний в контрольных вариантах при проведении стандартных тестов для определения хронической токсичности (US EPA..., 1996). Между исследуемыми группами не было обнаружено значимых различий в размерах рачков-производителей, количестве и размерах отрождаемого ими потомства, а также в возрасте самок к моменту отрождения первого выводка (табл. 1, 2). В то же время, средний период между отрождением молоди и продолжительность жизни рачков-производителей заметно варьировали при экспозиции в разных условиях. Так, период между отрождением молоди у дафний, находившихся в магнитных флуктуациях длительностью 48 ч и в световом режиме 32–16 ч, был почти на половину суток продолжительнее этого показателя в группе рачков, экспонированных в магнитных флуктуациях длительностью 48 ч и в световом режиме 16–8 ч. Продолжительность жизни рачков-производителей, находившихся в немодифицированном геомагнитном поле и в световом режиме 32–16 ч, была на >10 сут короче, чем в группе рачков, экспонированных в тех же магнитных условиях и в световом режиме 16–8 ч. В обоих случаях различия были статистически значимы (табл. 1). Если рассматривать только рач-

ков, развивавшихся при световом режиме 32–16 ч, то статистически значимые различия в продолжительности жизни ( $t = 2.12$ ,  $p < 0.05$ ,  $df = 27$ ) наблюдали между группами, экспонированными в немодифицированном геомагнитном поле ( $66.50 \pm 2.66$  сут) и в магнитных флуктуациях длительностью 48 ч ( $72.62 \pm 2.95$  сут).

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил статистически значимую зависимость продолжительности периода между отрождением молоди у дафний от режима освещения ( $F = 4.76$ ,  $\eta = 9.14\%$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 56$ ) и от взаимодействия режима освещения и магнитных условий ( $F = 4.58$ ,  $\eta = 8.80\%$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 56$ ). Режим освещения также значимо влиял на продолжительность жизни рачков-производителей ( $F = 7.38$ ,  $\eta = 14.18\%$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 56$ ). Кроме этого, продолжительность жизни рачков-производителей ( $F = 3.97$ ,  $\eta = 7.63\%$ ,  $0.05 < p < 0.01$ ,  $n = 56$ ) и размеры производимой молоди ( $F = 3.26$ ,  $\eta = 5.97\%$ ,  $0.05 < p < 0.01$ ,  $n = 549$ ) на уровне статистической тенденции зависели от взаимодействия режима освещения и магнитных условий.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что комбинированное воздействие факторов — режима освещения и медленных магнитных флук-

туаций — способно повлиять на жизнедеятельность *D. magna*. Причем режим освещения играет основную роль, поскольку сила влияния только этого фактора на исследуемые показатели заметно превышала силу влияния исследованного сочетания воздействий. Изменение периода медленных магнитных флуктуаций как отдельный фактор не оказывало воздействия на оцениваемые параметры жизнедеятельности рачков в данном эксперименте. Однако следует отметить, что различные биологические процессы в разной степени зависят от магнитных условий и освещения. Так, при исследовании пролиферации зародышевых клеток плотвы в условиях световой депривации, депривации естественного магнитного поля и комбинации этих факторов, установлено, что показатели митотического деления в большей степени зависят от магнитных условий и в меньшей от освещения (Talikina et al., 2017).

Наибольший период между отрождением молоди наблюдался в магнитных флуктуациях длительностью 48 ч при световом режиме 32—16 ч, т.е. при увеличении периода основного (свет) и вероятного дополнительно (суточная геомагнитная вариация) внешних водителей циркадных биологических ритмов. При этом продолжительность жизни рачков, зависящая от циркадной ритмичности биологических процессов, была минимальной в условиях пролонгированного периода освещения при немодифицированных геомагнитных флуктуациях. В условиях синхронизации частоты магнитных колебаний с “длительным” световым режимом 32—16 ч продолжительность жизни дафний была близка к контрольному значению. Это еще раз подчеркивает ведущую роль смены дня и ночи в модуляции процессов, зависящих от циркадных биологических ритмов. В то же время, результаты указывают на вероятность использования суточной геомагнитной вариации для тонкой коррекции циркадных ритмов организма.

Известно, что ежедневные вертикальные миграции и некоторые другие феномены с околосоутчным периодом у кладоцер в естественной среде связывают с избеганием хищников и доступностью пищи в разное время суток, со сложными конкурентными отношениями и другими биотическими и абиотическими факторами, имеющими околосоутчную ритмичность (Семенченко, Разлуцкий, 2009). В нашем эксперименте эти факторы были исключены. Таким образом, сравнение полученных результатов с данными, зарегистрированными в естественных условиях, было бы некорректным. Настоящая работа описывает биологические эффекты первичных водителей ритма, обнаруженные на модельном гидробиологическом объекте, что позволяет рассуждать об их вероятных биофизических механизмах.

Известно, что информация о фотопериоде используется биологическими объектами для синхронизации эндогенного циркадного осциллятора, представляющего собой сложную сеть циклической экспрессии генов, с суточными изменениями окружающей среды. Огромную роль здесь играют криптохром-1 (CRY1) и криптохром-2 (CRY2) (Sanca, 2003). Эти белки выступают в роли репрессоров транскрипции факторов молекулярной циркадной системы (Hunt, Sassone-Corsi, 2007). В цитоплазме криптохромы связываются с белковыми продуктами циркадных генов (PER). Образующиеся димеры проникают в ядро и при достижении высоких концентраций ингибируют экспрессию комплекса циркадных генов, включая свои собственные. Это приводит к снижению концентрации криптохромов и белков циркадных генов, а затем к возобновлению транскрипции факторов молекулярной циркадной системы за счет деградации димеров. Периодичность работы описанной системы с обратной связью — один из нескольких механизмов поддержания околосуточной ритмичности сложной молекулярной циркадной системы (Schibler, Sassone-Corsi, 2002). В то же время, криптохромы рассматриваются сегодня как наиболее вероятные биологические магнитодетекторы (Hore, Mouritsen, 2016). Предполагается, что внешнее магнитное поле может влиять на спиновое состояние бирадикалов, образующихся в криптохромах при переносе электронных дырок с кофактора флавинадениндинуклеотида на остатки триптофана (Solov'yov et al., 2007). Вероятно, тонкая коррекция циркадных ритмов организма с суточной геомагнитной вариацией происходит с участием криптохромов.

Для подтверждения или опровержения этих предположений необходимы дополнительные эксперименты, направленные на исследование вовлеченности криптохромов в процессы синхронизации биологических циркадных ритмов с суточной геомагнитной вариацией. Не менее актуальной может стать оценка зависимых от циркадных ритмов параметров у рачков после длительной экспозиции в течение нескольких поколений.

**Выводы.** Режим освещения оказался наиболее значимым среди исследованных факторов, повлиявшим на продолжительность жизни рачков и продолжительность периода между отрождением молоди. Взаимодействие режима освещения и магнитных условий также оказывало действие на исследованные показатели, но сила влияния взаимодействия факторов была невысока. Полученные данные позволяют предположить, что суточная геомагнитная вариация может использоваться дафниями для тонкой коррекции циркадных ритмов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания (тема № АААА-А18-118012690222-4).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости дафний. 1999. Москва: Акварос.

Семенченко В.П., Разлуцкий В.И. 2009. Факторы, определяющие суточное распределение и перемещения зоопланктона в литоральной зоне пресноводных озер // Журнал Сибирского федерального университета: серия биология. Т. 2. № 2. С. 191.

Chapman S., Bartels J. 1940. Geomagnetism. London: Oxford University Press.

Dibner C., Schibler U. 2015. Circadian timing of metabolism in animal models and humans // J. Intern. Med. V. 277. № 5. P. 513.

Dobrynin A.E. 2009. Diurnal dynamics of the vertical distribution of zooplankton in an oligotrophic lake // Inland Water Biology. V. 2. № 2. P. 162.

Hore P.J., Mouritsen H. 2016. The radical-pair mechanism of magnetoreception // Annu. Rev. Biophys. V. 45. P. 299.

Hunt T., Sassone-Corsi P. 2007. Riding tandem: circadian clocks and the cell cycle // Cell. V. 129. P. 461.

Krylov V.V., Kantserova N.P., Lysenko L.A., Osipova E.A. 2019. A simulated geomagnetic storm unsynchronizes with diurnal geomagnetic variation affecting calpain activity in roach and great pond snail // Int. J. Biometeorol. V. 63. P. 241.

Maas A.E., Blanco-Bercial L., Lo A., Tarrant A.M., Timmins-Schiffman E. 2018. Variations in copepod proteome and respiration rate in association with diel vertical migration and circadian cycle // Biol. Bull. V. 235. № 1. P. 30.

Rund S.S., Yoo B., Alam C. et al. 2016. Genome-wide profiling of 24 hr diel rhythmicity in the water flea, *Daphnia pulex*: network analysis reveals rhythmic gene expression and enhances functional gene annotation // BMC Genomics. V. 17: 653. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2998-2>

Sancar A. 2003. Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors // Chem. Rev. V. 103. P. 2203.

Schibler U., Sassone-Corsi P. 2002. A web of circadian pace-makers // Cell. V. 111. P. 919.

Solov'yov I.A., Chandler D.E., Schulten K. 2007. Magnetic field effects in *Arabidopsis thaliana* cryptochrome-1 // Biophys. J. V. 92. P. 2711.

Talikina M.G., Izyumov Y.G., Krylov V.V. 2017. The impact of hypomagnetic conditions and light deprivation on mitosis of germ cells and body length of prelarvae in roach (*Rutilus rutilus* L.) // Inland Water Biology. V. 10. № 2. P. 243.

US EPA Ecological effects test guidelines. 1996. OPPTS 850.1300 Daphnid chronic toxicity test. Washington: US EPA, 10 p. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/850-1300.pdf>.

Yamazaki Y., Maute A. 2017. Sq and EEJ — a review on the daily variation of the geomagnetic field caused by ionospheric dynamo currents // Space Sci. Rev. V. 206. P. 299.

## The Influence of Slow Magnetic Fluctuations and Lighting Modes on Morpho-biological Parameters of *Daphnia magna* Straus

V. V. Krylov<sup>1, \*</sup>, G. A. Papchenkova<sup>1</sup>, A. A. Batrakova<sup>1, 2</sup>, O. M. Zheltova<sup>1, 2</sup>, and E. A. Osipova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia

<sup>2</sup>Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia

\*e-mail: kryloff@ibiw.yaroslavl.ru

The effect of slow magnetic fluctuations, lighting modes, and the interaction of these factors on the maturation, lifespan, brood size and the period between hatching of juveniles in *Daphnia magna* Straus, as well as on some morphometric parameters of the producers and offspring was studied. The lighting modes had an influence on the period between broods and the life span of crustaceans. The interaction of magnetic fluctuations and lighting modes influenced these parameters in a less extend. Sizes of produced offspring depended on the interaction of magnetic and lighting conditions as a marginal trend toward significance. Possible mechanisms of the observed effects are discussed.

**Keywords:** daphnia, circadian rhythm, geomagnetic variation, lighting mode