

УДК 575:599.323.4

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕМЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НИЗКИХ ЧАСТОТ НА МИТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЫ ALLIUM CEPА L.

Балкарова М.М., Хандохов Т.Х., Каширгова С.Х., Боготова З.И., Гидова Э.М., Урусбиева М.Х., Ситников М.Н.

ГОУ ВПО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик, e-mail: handohovv@mail.ru

Проведен анализ митотической активности клеток корневой меристемы проростков Allium cepa L., подвергшихся облучению переменным магнитным полем низких частот. На клетках корневой меристемы Allium cepa L. была изучена митотическая активность и продолжительность отдельных фаз митоза под влиянием изучаемого фактора. В ходе исследования выявлено подавляющее действие магнитного поля с частотой 50 Гц на пролиферативную активность корешков лука. В то же время статистически значимое увеличение митотического индекса в корневой меристеме при воздействии магнитного поля с частотой в 100 Гц свидетельствует о стимулирующем эффекте. Полученные результаты убеждают в необходимости учитывать параметры магнитных полей при разработке предельно допустимых норм воздействия на человека и окружающую среду.

Ключевые слова: митоз, магнитное поле, митотический индекс, Allium cepa L.

THE EFFECTS OF ALTERNATING MAGNETIC FIELDS OF LOW FREQUENCIES ON MITOTIC EFFICIENCY OF ROOT MERISTEM CELLS OF ALLIUM CEPА L.

Balkarova M.M., Handohov T.H., Kashirgova S.H., Bogotova Z.I., Gidova E.M., Urusbieva M.H., Sitnikov M.N.

Kabardino-Balkarian State University n.a. H.M. Berbekov, Nalchik, e-mail: handohovv@mail.ru

The analysis of mitotic activity of root meristem cells of allium CEPА L. seedlings irradiated by an alternating magnetic field of low frequencies. On the root meristem cells of allium CEPА L. was studied mitotic activity and duration of the individual phases of mitosis under the influence of the studied factor. The study revealed the overwhelming influence of a magnetic field with a frequency of 50 Hz on the proliferative activity of roots of onions. At the same time, a statistically significant increase in mitotic index in the root meristem under the influence of a magnetic field with a frequency of 100 Hz indicates a stimulating effect. Received attainments are convinced of the need to take into account the parameters of magnetic fields in the development of pre-individual permissible norms of impact on humans and the environment.

Keywords: mitosis, magnetic field, mitotic index, Allium cepa L.

История изучения биологической активности магнитных полей насчитывает не один десяток лет, однако на сегодняшний день нет убедительной теории механизма действия этого важного экологического фактора на живой организм. Исследования, проводимые на самых разнообразных видах организмов, от простейших до высших млекопитающих, и различных уровнях их организации, от молекулярного до организменного, позволяют лишь относительно достоверно говорить о некоторых механизмах действия постоянных и переменных магнитных полей на живой организм. К возможным механизмам можно отнести тепловое и механическое воздействие магнитного поля, чувствительность коллоидных структур клетки [4], действие на магнитные массы веществ клетки [9], действие на молекулы воды и соответственно протекающие в ней реакции [3, 6], влияние на поведение электронных и ядерных спинов, а через них на протекание реакций [1, 2]. Из зарубежных

работ заслуживает внимания теория стохастических эффектов резонанса и слабых сигналов, на которую указывает R.K. Adair (1996) [11]. Тот же автор [12] предлагает механизм эффектов очень слабых магнитных полей на преобразовании радикальных пар в пределах биологически важных молекул, где эффекты прецессионных вращений внешними магнитными полями не ограничены тепловым шумом, и ориентация вращения в рекомбинации радикальных пар может объяснять механизм действия очень слабых полей. Также интерес представляет теория электрически-полевого ионного циклотронного резонанса, предполагающая возможность взаимодействия магнитных полей в резонансной манере с эндогенными электрическими полями в биологических системах [14].

Таким образом, несмотря на попытки многочисленных исследователей сформулировать теорию взаимодействия внешних электромагнитных полей с живыми системами, на сегодняшний день они не дали определенных результатов, позволивших бы с уверенностью говорить о том или ином механизме действия магнитных полей на живой организм.

Цель исследования: Многими авторами отмечается чувствительность процесса митоза к сильному магнитному полю [5], в связи с чем нам кажется актуальным изучение действия переменных магнитных полей низких частот на митотическую активность клеток корневой меристемы *Allium cepa* L.

Материал и методы исследования

Цитогенетический анализ на корешках *Allium cepa* L. проводили метафазным методом на давленных ацетокарминовых препаратах путем учета делящихся клеток на различных этапах митотического цикла.

Начало опыта (облучения) через 21–24 часа после замачивания луковиц (в зависимости от длины корешков), время облучения 10–11 часов. В работе мы использовали переменные магнитные поля низких частот – 50 и 100 Гц при напряженности магнитного поля 20 мА/м.

Источником переменных магнитных полей (ПемП) для наших опытов служила катушка индуктивности, представляющая собой полый цилиндр диаметром 150 мм и высотой 900 мм. Обмотка на катушке была из 4-х слоев, каждый слой состоял из 100 витков. Сечение провода было равно 5,2 мм.

Для генерации переменных полей различных частот и напряженностей служил аналогово-цифровой преобразователь на базе компьютера «Pentium IV». Сигнал на выходе компьютера усиливался и подавался на катушку.

Напряжение тока, подаваемого на катушку, измерялось при помощи вольтметра ВЗ-43. Диапазон измерения напряжения: 300 мкВ - 300 В. Спектр частот 10 Гц - 50 МГц.

Частоту и форму тока измеряли при помощи полупроводникового двухлучевого осциллографа С1–69.

Осциллограф обеспечивает: а) наблюдение формы импульсов обеих полярностей с длительностью от 0,2 μ s до 50 s и размахом от 0,5 mV до 200 V, с выносным делителем 1:10 от 5 mV до 500 V; б) Наблюдение периодических сигналов в диапазоне от 0 до 5 МГц; в) Измерение амплитуд исследуемых сигналов от 4 mV до 200 V с выносным делителем – до 500 V; г) Измерение временных интервалов от 0,8 μ s до 50 s; д) Погрешность измерения в рабочих условиях амплитуд импульсных сигналов методом сравнения в диапазоне от 4 mV до 200 V при длительностях импульсов не менее 0,6 μ s и следующих с частотой не более 1 МГц при величине изображения 40 mm не превышает ± 5 %.

Луковицы для эксперимента брали в количестве 20 штук на каждый вариант опыта. Повторность эксперимента трехкратная, в каждой повторности изучали не менее 50 корешков.

После обработки луковиц магнитным полем корешки фиксировали в смеси 3 частей этилового спирта и 1 части ледяной уксусной кислоты. Длительность фиксации 6 часов. Зафиксированный материал промывали и хранили в 70 %-ном этиловом спирте. Изучение цитогенетических показателей проводили на временных давленных препаратах [7]. Корешки окрашивали ацетокармином на водяной бане в течение 15 минут. Цитологический анализ проводили при помощи микроскопа МБИ–6.

Контроль проращивали, а затем фиксировали одновременно с опытными растениями.

Действие изучаемого фактора оценивали путем определения митотической активности ткани корневой меристемы, т.е. отношение числа клеток, находящихся в митозе, к общему числу клеток исследуемой ткани (митотический индекс). Для этого на постоянных препаратах подсчитывают число митозов в определенном количестве срезов. Отдельно учитывают общее число клеток на этих же срезах. Определяют отношение среднего числа митозов к среднему числу клеток в одном срезе и умножают на 1000. В результате такого вычисления митотический индекс (МИ) выражают в промилле. Для определения митотического индекса пригодны не только микротомные срезы, но и давленные препараты [7].

Митотический индекс определяют по формуле:

$$МИ = \frac{(П + М + А + Т)}{И + П + М + А + Т} \cdot 1000 = \text{‰},$$

Где *П* – число клеток в профазе, *М* – в метафазе, *А* – в анафазе, *Т* – в телофазе, *И* – в интерфазе.

Для определения относительной длительности каждой фазы митоза можно воспользоваться следующей формулой (например, для профазы):

$$P = \frac{P \cdot 100}{P + M + A + T} = \%.$$

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программы «Microsoft Excel 2010». При оценке достоверности полученных данных использовали критерий Стьюдента [8].

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе цитогенетических исследований нами был получен большой массив данных по митотическому индексу, на основе которых построен вариационный ряд, разбитый в свою очередь на группы для удобства описания (табл. 1). В контроле весь вариационный ряд (72,9 – 132,8 %) был разбит на 2 группы – I группа 72,9 – 99,5 %, II группа 100,2 – 132,8 %. Средние значения митотического индекса по группам – 87,6 и 111,8 % соответственно. В опыте крайние значения вариационного ряда составляли 36,5 и 130,9 %, в результате чего мы получили III группы – I группа 36,5–69,9 %, II группа 71,2–99,5 и III 103,0–130,9 %. Средние значения по группам – 55,8, 82,9 и 110,3 % соответственно.

Таблица 1

Цитогенетические показатели метафазных клеток корневой меристемы *Allium sera* L. в опыте с частотой магнитного поля 50 Гц

Варианты	Фазы митоза, %				МИ по группе, $\bar{X} \pm m$	разброс по группе, min-max	Число изученных клеток
	П	М	А	Т			
Контроль	35,7±2,64	30,3±2,82	23,7±1,77	9,6±1,16	87,6±2,71	72,9-99,5	1133±37,5
	43,1±2,66	44,8±2,45	28,2±1,71	11,3±1,24	111,8±2,47	100,2-132,8	1147±50,0
Опыт	30,0±2,02	17,8±1,56	16,0±1,27	7,2±0,58	55,8±1,64	36,5-69,9	1286±63,5
	38,3±2,32	26,0±1,82	23,6±1,43	10,7±0,89	82,9±1,63	71,2-99,5	1184±50,9
	51,1±2,55	44,8±3,27	34,9±2,16	13,9±1,29	110,3±1,79	103,0±130,9	1310±58,1

Анализ митотической активности клеток корневой апикальной меристемы *Allium sera* L. выявил следующую закономерность – в опыте при воздействии магнитного поля в режиме облучения с частотой магнитного поля 50 Гц мы можем наблюдать снижение митотического индекса до 36,5 %, в то время как в контроле этот показатель не опускается ниже 72,9 промилле (табл. 1).

Во втором варианте опыта с частотой магнитного поля в 100 Гц диапазон данных по митотическому индексу принял следующие крайние значения – для контроля 76,8 – 145,6 %, для

для опытного варианта 63,4 – 193,3 % соответственно. В результате в контроле было сформировано 2 группы – I группа 76,8 – 94,3 % и II группа 100,5 – 145,6 % соответственно. Средние значения МИ по группам – 86,5 и 114,5 % соответственно. В опытном варианте сформировано 4 группы (табл. 2).

Приведенные в таблице 2 данные показывают, что нижний предел вариационных рядов, как в контроле, так и в опыте находится на грани статистической погрешности ($P \geq 0,05$) и принимает близкие значения 76,8 и 63,4 % соответственно. Если же проводить анализ данных по группам, то необходимо отметить, что в контроле максимальные значения МИ 145,6 % (II группа), в то время как в опыте максимальные значения МИ достигают 193,3 % (IV группа), что свидетельствует о стимулирующем эффекте магнитного поля с частотой в 100 Гц.

Таблица 2

Цитогенетические показатели метафазных клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. в опыте с частотой магнитного поля 100 Гц

Варианты	Фазы митоза, %				МИ по группе, $X \pm m$	разброс по группе, min-max	Число изученных клеток
	П	М	А	Т			
Контроль	40,0±4,0	25,0±2,2	23,8±2,5	13,1±1,5	86,5±2,0	76,8-94,3	1172±92,7
	56,1±3,5	38,8±2,6	31,6±2,0	16,6±1,1	114,5±3,13	100,5-145,6	1255±59,8
Опыт	45,5±5,0	27,4±4,4	21,7±2,1	14,5±3,6	90,4±4,0	63,4-99,8	1190±92,2
	56,2±3,3	40,7±3,6	35,3±2,4	18,5±2,3	113,9±1,8	100,8-129,4	1318±48,7
	70,4±3,6	51,4±4,1	40,1±3,1	23,0±2,2	143,3±2,3	130,7-159,3	1295±55,2
	68,4±4,7	54,6±3,3	44,4±3,4	28,7±2,8	177,3±3,5	160,4-193,3	1107±52,8

Таким образом, как видно из данных таблиц 1–2, магнитное поле с частотой 50 Гц угнетает пролиферативную активность клеток корешков лука, что видно по значительному числу клеток с достоверно низкой митотической активностью клеток. В то же время во втором опыте нижний порог значений МИ как в контроле, так и в опыте достоверной разницы не имеет, что позволяет нам сделать вывод об отсутствии стрессового эффекта у магнитного поля с частотой в 100 Гц, а высокий митотический индекс в корешках *Allium cepa* L. позволяет говорить даже о некотором стимулирующем эффекте данного режима облучения.

Интересными, на наш взгляд, являются данные по продолжительности отдельных фаз митоза в опытах с частотой магнитного поля в 50 и 100 Гц (рис. 1 и 2). Как видно из диаграммы (рис. 1), продолжительность профазы в опыте увеличена в сравнении с контролем. Этот факт в некоторой степени объясняет ингибирующий эффект магнитного поля с частотой в 50 Гц, что, на наш взгляд, связано с нарушением процессов спирализации

хромосом под действием магнитного поля и задержкой клеток на этой фазе митоза [10]. В подтверждение данного тезиса необходимо упомянуть, что нами были зафиксированы клетки с ахроматическими повреждениями хромосом – гемами. Гемы представляют собой локальную деспирализацию ДНК, которая в дальнейшем не переходит в структурные мутации [13].

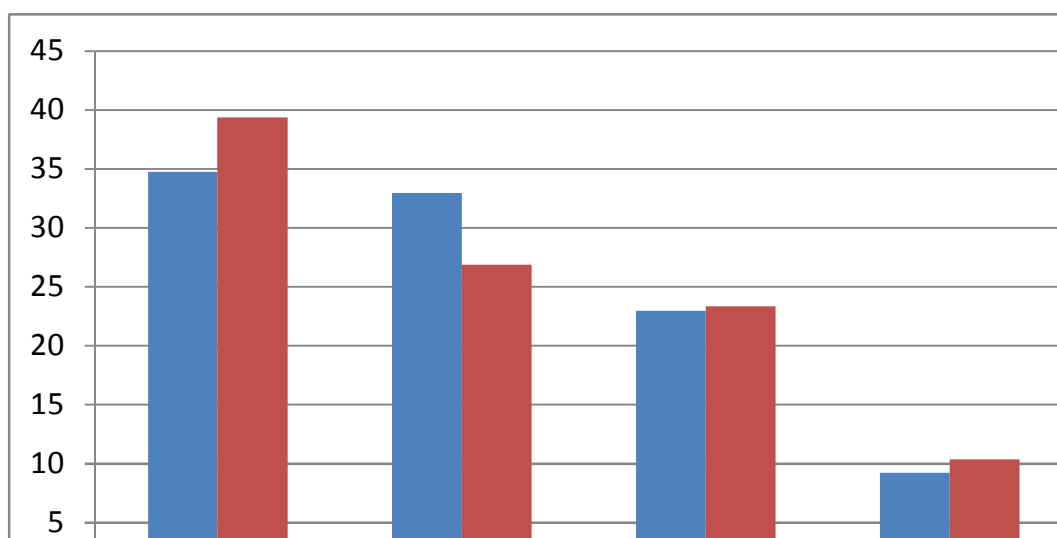


Рис. 1. Продолжительность фаз митоза в меристеме корешков проростков Allium cepa L. в опыте с частотой магнитного поля 50 Гц

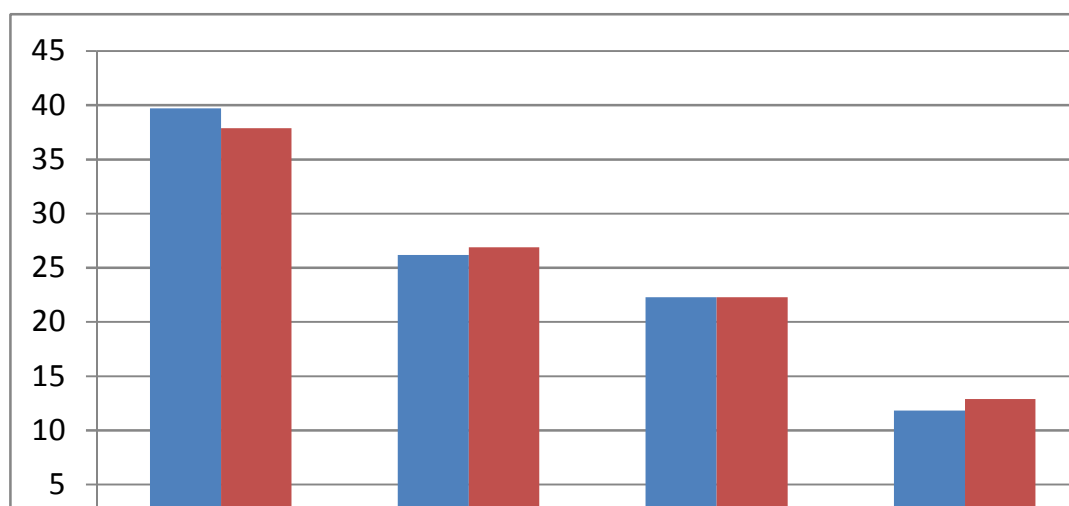


Рис. 2. Продолжительность фаз митоза в меристеме корешков проростков Allium cepa L. в опыте с частотой магнитного поля 100 Гц

Заключение

Исследовано действие переменных магнитных полей низких частот на цитогенетические показатели и длительность фаз митоза в меристеме корешков проростков

Allium sera L. Магнитные поля низких частот достоверно увеличивают митотическую активность при экспозиции растений лука магнитным полем с частотой в 100 Гц. Вариант опыта с частотой магнитного поля 50 Гц, напротив, снижает митотическую активность, увеличивая продолжительность профазы в сравнении с контролем. Увеличение длительности профазы, на наш взгляд, связано с нарушением процессов спирализации хромосом под действием магнитного поля с частотой 50 Гц. Учитывая все вышесказанное, считаем возможным рекомендовать Allium sera L. в качестве тест-системы для первичной индикации влияния переменных магнитных полей на биологические объекты с целью выработки рекомендаций по безопасному их использованию в деятельности человека.

Список литературы

1. Бинги В.Н. Ядерные спины в первичных механизмах биологического действия магнитных полей. // Биофизика. – 1995. – 40. – № 3. – С. 677-691.
2. Замараев К. Магнитные и спиновые эффекты в химических реакциях // Наука и жизнь. – 1986. – № 2. – С. 18.
3. Клотц И. Вода // Горизонты биохимии. – М.: Мир, 1964. – С. 397.
4. Новицкий Ю.И. Действие постоянного магнитного поля на растения // Вестник АН СССР. – 1968. – № 9, 92.
5. Новицкий Ю.И., Стрекова В.Ю., Тараканова Г.А., Прудникова В.П. О некоторых особенностях действия постоянного магнитного поля на прорастание семян // Говорят молодые ученые. – М.: Московский рабочий, 1966. – С. 47.
6. Овсянкин В.В., Феофилов П.П. Кооперативная сенсбилизация фотофизических и фотохимических процессов // Молекулярная фотоника. – Л.: Наука, 1970. – С. 86-106.
7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
8. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – 3-е испр. – Минск: Вышэйш. школа, 1973. – 320 с.
9. Савостин П.В. Исследование поведения ротирующей растительной плазмы в постоянном магнитном поле // Изв. Томского гос. ун-та. – 1928. – 79. – Вып. 4. – 207.
10. Хандохов Т.Х. Влияние переменных электромагнитных полей различных частот на растительные тест-системы: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16. – Нальчик, 2004. – 144 с.
11. Adair R.K. Didactic discussion of stochastic resonance effects and weak signals // Bioelectromagnetics. – 1996. – Vol. 17. – Issue 3. – P. 242-245.
12. Adair R.K. Effects of very weak magnetic fields on radical pair reformation //

Bioelectromagnetics. – 1999. – Vol. 20, Issue 4. – P. 255-263.

13. Dimitrov B.D. On the nature of the N-nitroso-N-methyl- and N-nitroso-N-ethylurethane induced achromatic lesions (gaps) in *Crepis capillaris*. – Compt. rend. Acad. bulg. Sci., 1973. – 26, № 9. – 1239.

14. Liboff A.R. Electric-field ion cyclotron resonance // Bioelectromagnetics. – 1997. – Vol. 18, Issue 1. – P. 85-87.