

ВЛИЯНИЕ МИЛЛИМЕТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РОСТ И ЛИПИДООБРАЗОВАНИЕ *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-Ас-02 И ЕГО ВАРИАНТОВ

Институт микробиологии и биотехнологии АН Молдовы,
ул. Академией, 1, г. Кишинев, MD-2028, Молдова, oleseap@yahoo.com

Проблема взаимоотношения биосистемы и среды в биологии всегда была актуальной. В настоящее время, когда антропогенное загрязнение среды стало определяющим фактором дестабилизации биологических систем различного уровня организации, вопрос устойчивости всего живого в условиях ухудшающегося качества среды является одним из важнейших в современной экологии. К числу новых и недостаточно изученных биосферных факторов среды следует отнести электромагнитное поле (ЭМП) искусственного происхождения, существенно изменяющее на нашей планете экологическую обстановку и оказывающее интенсивное воздействие на живые объекты и среду их обитания [1, 2].

В масштабах эволюционного прогресса рост напряженности ЭМП рассматривается как одномоментный скачок со сложно предсказуемыми последствиями. Экспериментальные данные как отечественных, так и зарубежных исследователей свидетельствуют о высокой биологической активности ЭМП во всех частотных диапазонах [3–5].

На биологическую ответную реакцию живого организма влияют следующие параметры ЭМП: интенсивность, частота излучения, продолжительность облучения, модуляция сигнала, сочетание частот, периодичность действия. Сочетания вышеперечисленных параметров могут давать разные последствия для реакции облучаемого объекта [4].

При анализе и применении данных о воздействии ЭМП на разнообразные биологические системы необходимо учитывать адекватность выбираемых тест-объектов поставленным задачам и методологическим возможностям. Одной из удобных и полезных моделей являются клетки микроорганизмов в связи с относительной простотой их культивирования и поддержания в лабораторных условиях, а также коротким жизненным циклом. [2].

В последнее время пристальное внимание стало уделяться влиянию миллиметрового излучения (ММИ) на биологические объекты. Отмечена возможность использования ММИ волн в качестве средства получения информации о процессах жизнедеятельности различных организмов. В микробиологии положительный эффект действия ММИ выражается в стимуляции роста, ускорении процессов метаболизма, изменении биохимического состава клеток [6].

Данные по влиянию ММИ на липидообразование у микроорганизмов не встречались, поэтому целью исследований являлось изучение влияния ММИ на продуктивность биомассы и липидов у стрептомицетов.

Методика эксперимента

В качестве объекта исследований были выбраны три культуры стрептомицетов: *Streptomyces canosus* CNMN-Ас-02 и его два варианта: *Streptomyces canosus* CNMN-Ас-03 (полученный после γ -излучения) и *Streptomyces canosus* CNMN-Ас-04 (полученный после комбинированного γ +УФ излучения) [7].

Поддержание культур проводили путем периодического пересева на скошенную агаризованную среду Чапека с глюкозой. Культуры хранились в холодильнике при температуре +4С⁰. Перед началом эксперимента культуру пересевали из пробирок в чашки Петри с агаризованной средой того же состава. Рост стрептомицетов в чашках происходил в термостате при +27С⁰ в течение семи суток.

Облучение культуры проводили генератором электромагнитного излучения «Явь-1» с длиной волны 5,6 мм и выходной мощностью 100 мВт/см². Расстояние между рупором облучателя и объектом не изменялось в течение эксперимента. Время экспозиции – 0 (контроль), 1, 3, 5, 10, 15 и 30 минут.

Облученные культуры пересевали затем на жидкую среду М-1 (основной источник углерода – кукурузная мука 20,0 г/л). Дальнейшее культивирование осуществлялось на вибростоле в течение

пяти суток при 27С⁰. Биомассу отделяли от культуральной жидкости на центрифуге (5000 об/мин в течение 20 мин). Количество биомассы определяли взвешиванием. Внутриклеточные липиды экстрагировали из биомассы по методу Фолча [8], модифицированному в лаборатории [9]. Качественный и количественный составы липидов определяли методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Сорбфил» и денситометрически [8].

Результаты и их обсуждение

В числе биологически активных веществ микробного происхождения липиды занимают особое место. Они участвуют в сложных метаболических процессах, входят в состав структурных элементов клетки, а также являются энергетически выгодным субстратом окисления [10–12].

Актиномицеты синтезируют и накапливают в своих клетках значительное количество жиров. Содержание липидов в мицелии актиномицетов колеблется от 5 до 40% и более в зависимости от состава питательной среды и индивидуальных особенностей организма [12, 13].

Известно, что физические и химические факторы влияют на количественный и качественный составы липидных компонентов мембран и путем изменения состава липидов мембран можно уменьшить их отрицательное воздействие [7, 13, 14].

Ранее было установлено, что штамм *S. canosus CNMN-Ac-03* отличается от исходной культуры *S. canosus CNMN-Ac-02* повышенной продуктивностью биомассы, а штамм *S. canosus CNMN-Ac-04* – повышенным синтезом липидов и антимикробной активностью [7].

Анализ изменения продуктивности биомассы у стрептомицетов в зависимости от времени экспозиции показал, что у исходной культуры повышается продуктивность биомассы почти при всех экспозициях, достигая максимума (138,8%) при 5-минутном облучении (рис. 1). У вариантов *S. canosus CNMN-Ac-03* и *S. canosus CNMN-Ac-04* существенное увеличение количества биомассы замечено только при 15-минутной экспозиции и составляет 116,7 и 125,8% соответственно по сравнению с контролем. При остальных экспозициях количество биомассы у вариантов не превышает или находится на уровне контроля.

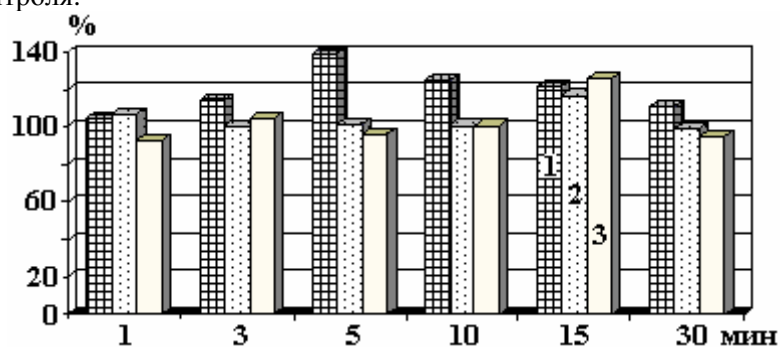


Рис. 1. Продуктивность биомассы у стрептомицетов в зависимости от времени воздействия миллиметровых волн. 1 – *S. canosus CNMN-Ac-02*; 2 – *S. canosus CNMN-Ac-03*; 3 – *S. canosus CNMN-Ac-04*

Определение количества липидов в биомассе трех исследуемых штаммов стрептомицетов показало, что под воздействием ММИ происходит ингибирование их синтеза (рис. 2). Так, у штамма *S. canosus CNMN-Ac-02* замечено достоверное уменьшение количества общих липидов в биомассе, начиная с экспозиции 3 мин, а при 30-минутном облучении количество липидов составляет 80,8% от контроля. Тот же процесс наблюдается и у варианта *S. canosus CNMN-Ac-03*: минимальное количество липидов отмечено при воздействии ММИ в течение 1 мин – 70,34% к контролю. У *S. canosus CNMN-Ac-04* под воздействием миллиметровых волн наблюдается нелинейный характер изменения количества липидов в биомассе, которое варьирует в пределах 35,6-102,0% по сравнению с контролем.

Изучение фракционного состава липидов, а именно таких биологически активных фракций, как фосфолипиды, стерины и триглицериды, показало, что их содержание в липидах изменяется в зависимости от продолжительности обработки ММИ. Так, существенное увеличение фосфолипидов на 134,0% к контролю было замечено у исходной культуры при экспозиции 1 мин (рис.3). При увеличении времени действия ММИ этот показатель уменьшается и при 30-минутной экспозиции составляет 89,6% от контроля. У штамма *S. canosus CNMN-Ac-03* количество фосфолипидов во всех вариантах опыта превышает контроль, достигая максимума при 10-минутном облучении (на 57,8% больше, чем в контроле). У штамма *S. canosus CNMN-Ac-04* при малых экспозициях количество фосфолипидов в биомассе превышает контроль. По мере увеличения времени воздействия ММИ на этот штамм количество фосфолипидной фракции в липидах уменьшается. Так, при 3-минутной экспозиции их

количество достигает максимума и превышает контроль (на 28,8%), а при 30-минутном облучении – их меньше, чем в контроле (на 16,4%).

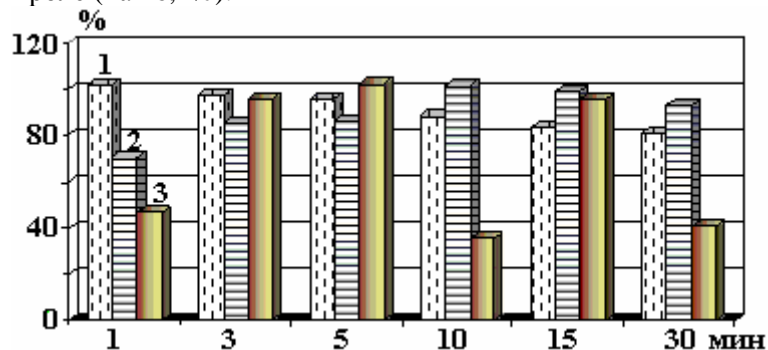


Рис. 2. Липидообразование у стрептомицетов в зависимости от времени воздействия миллиметровых волн. 1 – *S.canosus* CNMN-Ac-02; 2 – *S.canosus* CNMN-Ac-03; 3 – *S.canosus* CNMN-Ac-04

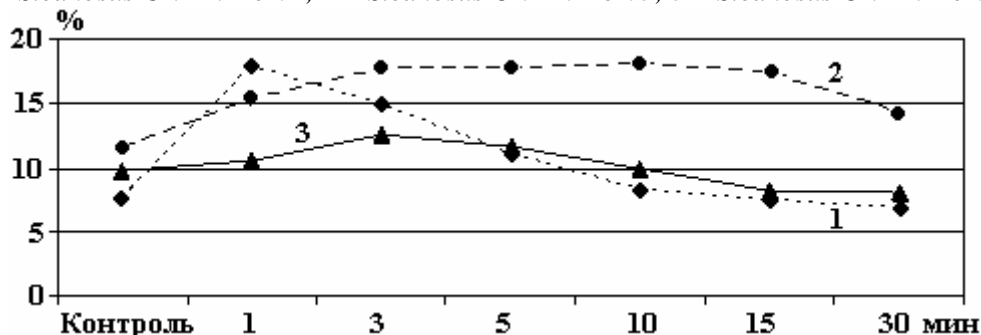


Рис. 3. Количество фосфолипидов в биомассе стрептомицетов, облученных миллиметровыми волнами (% к сумме липидов). 1– *S.canosus* CNMN-Ac-02; 2 – *S.canosus* CNMN-Ac-03; 3 – *S.canosus* CNMN-Ac-04

Опыты показали, что воздействие ММИ в промежутке времени 1–10 мин вызывает стимуляцию синтеза стерина штаммом *S. canosus* CNMN-Ac-02. Количество стерина в липидах достигает максимума при 3-минутном облучении. У штамма *S.canosus* CNMN-Ac-03 самый активный синтез стерина замечен также при 3-минутной экспозиции. Обратный эффект при воздействии ММИ в течение 3 мин наблюдается у штамма *S. canosus* CNMN-Ac-04: при этой экспозиции количество стерина уменьшается в липидах и составляет 82,7% к контролю. Максимальное количество стерина установлено при облучении *S.canosus* CNMN-Ac-04 в течение 15 мин (на 19,5%).

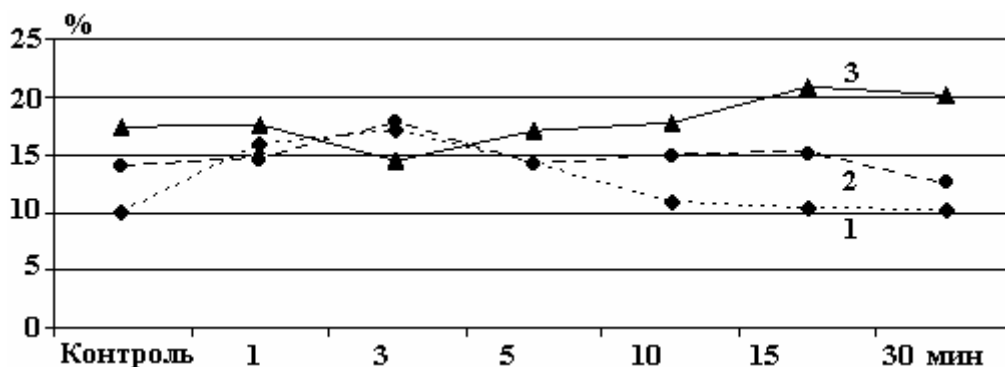


Рис. 4. Количество стерина в биомассе стрептомицетов, облученных миллиметровыми волнами (% к сумме липидов). 1 – *S.canosus* CNMN-Ac-02; 2 – *S.canosus* CNMN-Ac-03; 3– *S.canosus* CNMN-Ac-04

Изменение количества триглицеридов в липидах трех изучаемых штаммов стрептомицетов под воздействием ММИ происходило следующим образом: у *S.canosus* CNMN-Ac-02 оно существенно уменьшилось – на 40,0-80,0% по сравнению с контролем, а у *S.canosus* CNMN-Ac-03 и *S.canosus* CNMN-Ac-04 можно было заметить небольшую стимуляцию синтеза триглицеридов при экспозициях 5 и 10 мин.

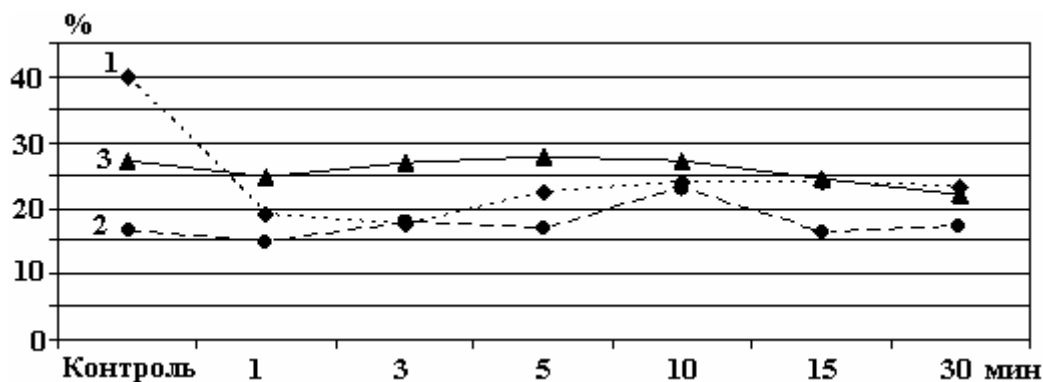


Рис. 5. Количество триглицеридов в биомассе стрептомицетов, облученных миллиметровыми волнами (% к сумме липидов). 1 – *S.canosus* CNMN-Ас-02; 2 – *S.canosus* CNMN-Ас-03; 3 – *S.canosus* CNMN-Ас-04

В заключение можно сказать, что под воздействием ММИ происходят существенные изменения роста и липидообразования у стрептомицетов. В зависимости от экспозиции каждый штамм реагирует индивидуально. Обнаружена общая закономерность: на фоне стимуляции продуктивности биомассы происходит уменьшение синтеза липидов. Повышение количества биологически активной фракции - фосфолипидов, по нашему мнению, свидетельствует об активизации защитной реакции микроорганизма на воздействие физического фактора.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Betskii O.V., Deveatkov N.D.* Biological aspects of low intensity mm waves. M.: Seven plus, Moscow, 1994, 336 p.
2. *Гапочка Л.Д., Гапочка М.Д., Королев А.Ф.* Популяционные аспекты устойчивости одноклеточных организмов к действию электромагнитного облучения низкой интенсивности // Миллиметровые волны в биологии и медицине. 2002. № 2 (26), С. 3–9.
3. *Тамбиев А.Х., Кирикова Н.А., Лукьянов А.А.* Применение активных частот электромагнитного излучения миллиметрового и сантиметрового диапазона в микробиологии // Научные технологии. 2002. № 1. С. 34–53.
4. *Егорова Е.И.* Влияние СВЧ-излучения на изменение численности и биомассы планктонных водорослей // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2006. № 1–2. С. 54–58.
5. *Ghițu D. I., Bețchiu O.V., Parhomenco V.F., Rotaru A.N., Rusu D.T.* Unele probleme fundamentale și aplicative ale radiațiilor electromagnetice de frecvență extrem de înaltă (milimetrice) a termice // Mat. I Межд. науч.-прак. конф. «Нетрадиционные методы в медицине, биологии и растениеводстве. Эниология. Экология и здоровье». 2005. Кишинев. С. 41–47.
6. *Гамаюрова В.С., Крыницкая А.Ю., Астраханцева М.Н.* Влияние ЭМИ КВЧ нетепловой интенсивности на рост дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Журнал радиоэлектроники. 2003. № 3.
7. *Растимешина И.О.* Изучение условий направленного синтеза биологически активных веществ штаммом стрептомицета *Streptomyces canosus* CNM-71, Автореф. дисс. док. биол. наук. Кишинев, 2001. 23 с.
8. *Кейтс Е.М.* Техника липидологии. М.: Мир, 1985. 304 с.
9. *Burțeva S., Usatîi A., Toderas A.* Variabilitatea formelor spontane a tulpinii *Streptomyces sp.* 36 – producătoare de substanțe bioactive // Buletinul AȘ RM. Științe biol. și chim. 1996. № 1. P. 27–32.
10. *Дятловицкая Э.В., Безуглов В.В.* Липиды как биоэффекторы. Введение // Биохимия. 1998. 62. Вып. 1. С. 3–5.
11. *El-Naggar M. Y., El-Kersh M.A., El-Sharaky A.S.* Correlation of actinomycin X₂ to the lipid profile in static and shaken cultures of *Streptomyces nastroi* strain YG 62 // Microbios. 1999. V. 100. № 396. P. 117–127.
12. *Lomtadze L., Shiukashvili T., Aneli G., Mamulashvili K.* Fatty acids of cell wall lipids of some actinomycetes // Bull. Georg. Acad. Sci. 2001. 163. № 1. P. 164.
13. *Бурцева С.А.* Биологически активные вещества стрептомицетов (биосинтез, свойства, перспективы применения). Автореф. дисс. док. хаб. биол. наук. Кишинев, 2002. 35 с.

14. Залашко М.В., Солохина Т.А., Королева И.Ф. Влияние стрессовых воздействий на состав липидов дрожжей // Прикладная биохимия и микробиология. 2000. Т. 36. № 1. С. 37–40.

Поступила 18.12.08

Summary

The influence of millimeter waves of low intensity on quantity of biomass and composition of lipids of initial strain *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02 and its variants *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-03 and *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-04, obtained as a result of γ and combined (γ and UV) irradiations, were investigated. The obtained results indicate that along the stimulation of biomass productivity of the streptomycetes (with 38,8 % at initial strain and with 16,7% and 25,8 % at variants), takes place a decrease of lipids generation. It has been noticed that the quantity of phospholipids, sterines and triglycerides is depending on exposure time. Expositions at which there is an increase in quantity of fosfolipids and sterines at initial culture and variants, was determinate.
