

Биолог. журн. Армении, 3-4 (59), 2007

УДК 577.3.04:577.23

ИЗМЕНЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВЫМИ ВОЛНАМИ

А.Г. ТАДЕВОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 0025

Показано, что облучение бактерий *Escherichia coli* K12, выращенных в анаэробных условиях при сбраживании глюкозы с помощью миллиметровых волн (длина волны 5,8 и 5,6 мм), в течение 1 ч приводит к подавлению выживаемости бактерий. Причем, такой эффект различен для клеток в дистиллированной воде или солевой среде. Эффект усиливается при наличии в среде антибиотиков – тетрациклина или хлорамфеникола. Эти данные подтверждают бактерицидное действие миллиметровых волн. Возможно, при облучении изменяется чувствительность бактерий к составу среды и антибиотикам.

Ցույց է տրվել, որ անաերոբ և գլյուկոզի խմորման պայմաններում աճեցված *Escherichia coli* K12 բակտերիաների ճառագայրահարումը միլիմետրային ալիքներով (ալիքի երկարությունը 5,8 և 5,6 մմ), 1 ժ տևողությամբ ճնշում է բակտերիաների կենսունակությունը: Ընդ որում ազդեցությունը տարբեր է քրոած ջրում և աղային միջավայրում: Այն ուժեղանում է կախված միջավայրում հակաբիոտիկների տեորացիկչին կամ քլորածֆենիկոլ աոկայությունից: Այս տվյալները հաստատում են միլիմետրային ալիքների բակտերիասպան ազդեցությունը: Զնարավոր է, որ ճառագայրման ժամանակ փոխվում է բակտերիաների զգայունակությունը միջավայրի բաղադրության և հակաբիոտիկների նկատմամբ:

The irradiation of bacteria *Escherichia coli* K12, brought up in anaerobic conditions at the fermentation of sugar (glucose), with millimeter waves (5.8 and 5.6 mm), during 1 h is shown to result in suppression of survival rate of bacteria. Such effect is varied for cells in distilled water or the salt medium. The effect amplifies at presence of antibiotics tetracycline or chloramphenicol (2 μ M). These data confirm bactericidal action of millimeter waves. It is possible, that sensitivity of bacteria to irradiation is changed under the influence of composition of medium and antibiotics.

Escherichia coli - выживаемость - когерентное электромагнитное излучение
крайне высоких частот

Взаимодействие электромагнитных волн с живыми организмами с давних пор привлекало внимание исследователей своими предполагаемыми, хотя и недостаточно изученными возможностями. Особый интерес с этой точки зрения представляет диапазон миллиметровых волн (МВ), который долгое время оставался наименее освоенным участком спектра электромагнитных излучений.

В настоящее время имеются многочисленные доказательства того, что МВ индуцируют значительные изменения в живых организмах разного уровня организации: от микроорганизмов до млекопитающих, вызывая как

стимулирующие, так и депрессивные эффекты [9]. МВ в узких диапазонах длины могут оказывать выраженное терапевтическое действие [4].

Показано, что когерентное и так называемое "шумовое" (с широкополосной частотой и случайно изменяющимися фазами) электромагнитное излучение крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) малой интенсивности оказывает различное, в том числе бактерицидное действие [5, 8]. Такие эффекты зависят от фазы и анаэробных или аэробных условий роста бактерий, состава ростовой (культуральной) среды, генетических и метаболических особенностей бактериальных штаммов. Вместе с тем, когерентное и шумовое ЭМИ КВЧ может оказывать разнонаправленное действие в зависимости от частоты и интенсивности ЭМИ, продолжительности облучения и других параметров [5, 12].

Биофизический механизм воздействия МВ на биологические объекты носит многофакторный (комплексный) характер. Особенно выделяют мембранотропные изменения, связанные с поверхностными свойствами мембраны, ее транспортной и ферментативной активностью [2, 5, 8]. Показано также действие МВ на структуру молекул воды [1], что в свою очередь может воздействовать на структуру и свойства мембранных белков.

Особый интерес представляют бактерии, имеющие достаточно высокие скорости роста, а процессы их метаболизма уже довольно хорошо изучены. Показано, например, что облучение бактерий *Escherichia coli* К-12 с помощью МВ в течение 30 мин или 1 ч приводит к заметному удлинению скрытой фазы роста бактерий и уменьшению удельной скорости их роста при частоте ЭМИ КВЧ 51,8 или 53 ГГц [12]. Возможно, изменение выживаемости бактерий и их чувствительности к различного рода реагентам – ингибиторам и антибиотикам – может наблюдаться после облучения с помощью МВ.

В настоящей работе показано, что МВ значительно усиливают воздействие антибиотиков тетрациклина и хлорамфеникола на выживаемость *E. coli*.

Материал и методика. В работе использовали *E. coli*, дикий тип К-12. Методы выращивания бактерий в питонной среде со слабощелочным рН (рН 7,5) в анаэробных условиях, когда они сбраживали сахар (глюкозу, 0,2 %), определение их выживаемости и обработка данных не отличались от описанных ранее [10]. рН ростовой среды регулировали с помощью HCl и NaOH.

Облучение бактерий производили с помощью генератора Г4-141 (когерентные МВ с длиной волны в диапазоне от 5,6 до 6,7 мм, ЭМИ с частотой в диапазоне от 45 до 55 ГГц, мощность потока – 0,6 мВт/см²). Генератор собран в Институте радиофизики и электроники НАН Республики Армения (г. Аштарак) и любезно предоставлен канд.фил.маг.наук В. Калантаряном (Греванский госуниверситет). В остальных условиях облучения не отличались от описанных ранее [8]. Во всех экспериментах продолжительность облучения составляла 1 ч.

Облучение проводили в дистиллированной воде и синтетической среде. Удельную скорость роста определяли как $0,693/\text{время удвоения оптической плотности (ОП)}$ суспензии бактерий (когда логарифм ОП линейно возрастал во времени). Удельная скорость роста бактерий в контроле (без облучения) принята за 100 %.

Выживаемость бактерий определяли после облучения суспензии. Клетки сразу переносили в дистиллированную воду или солевую среду (46 мМ KHPO₄, 23 мМ KH₂PO₄, 8 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,4 мМ FeSO₄, 6 мкМ MgSO₄). В отдельных экспериментах в среду добавляли антибиотики – тетрациклин или хлорамфеникол в чистых концентрациях (2 мкМ). Тетрациклин растворяли в дистиллированной воде, а хлорамфеникол – в этаноле.

Количество бактерий в единице объема определяли спектрофотометрически при длине волны в 600 нм и подсчетом колоний после высева разведенной суспензии на твердые питательные среды [10].

Результаты обрабатывали статистически с определенным стандартной ошибкой и для разницы значений – критерия достоверности Стьюдента [6].

Результаты и обсуждение. Для изучения действия МВ на выживаемость бактерий предварительно были определены эффекты при облучении бактерий (концентрированной суспензии) в разных средах. С этой целью бактерии, выращенные до стационарной фазы роста, подвергали облучению с помощью МВ с длиной 5,8 мм в дистиллированной воде и солевой среде. Когда облучение проводили в дистиллированной воде, то удельная скорость последующего роста бактерий *E. coli* К-12 снижалась на 26 % по сравнению с контролем (необлученными клетками) ($p < 0,025$) (рис. 1); в контроле среда, в которую помещали бактерии, не имела значения. При облучении в солевой среде скорость роста бактерий практически не

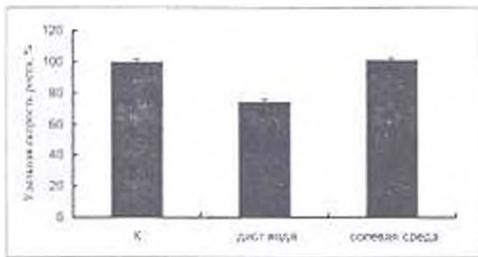


Рис. 1. Изменение удельной скорости роста бактерий *E. coli* К12 после их непосредственного облучения когерентными миллиметровыми волнами с длиной волны в 5,8 мм

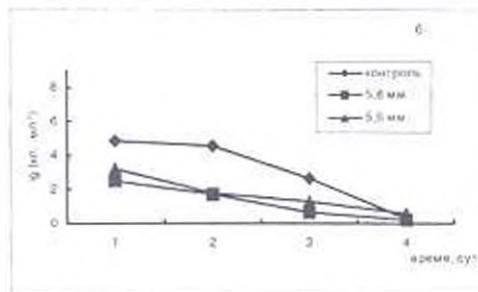
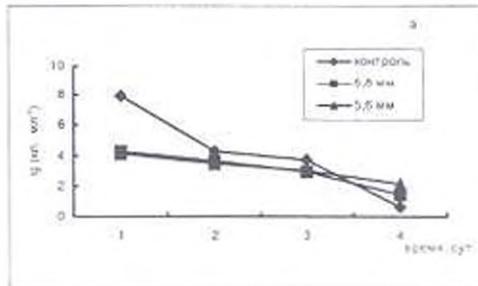


Рис. 2. Бактерицидное воздействие когерентных миллиметровых волн на выживаемость бактерий *E. coli* К12

изменялась. Такой результат согласуется с другими данными Исаханян и Трчуняна [5] о разнонаправленных изменениях в ростовых характеристиках этих бактерий после облучения в разных средах. Эти данные указывают на значение состава среды в чувствительности бактерий к МВ [11].

Выживаемость бактерий является важной характеристикой в изучении действия различных физических и химических факторов [10], и ее изменение может свидетельствовать о глубоких перестройках в мембране и внутри клетки. Как видно из данных, приведенных на рис. 2, *E. coli* после облучения МВ длиной 5,8 и 5,6 мм в дистиллированной воде более устойчивы, чем клетки, которые выдерживались в солевой среде: разница проявлялась уже на 1-3 день.

Также наблюдалось падение выживаемости предварительно облученных бактерий *E. coli* при наличии в среде антибиотиков в малых концентрациях (рис.3). При этом было выявлено, что МВ усиливают действие антибиотиков.

Более того, действие облучения в солевой среде является более эффективным, чем в дистиллированной воде (не показано).

Таким образом, МВ влияют на выживаемость бактерий *E.coli* в разных средах. Совокупность приведенных данных наряду с ранее полученными результатами [8] подтверждает бактерицидное действие ЭМИ КВЧ.

Действие МВ, или ЭМИ КВЧ, на чувствительность бактерий к антибиотикам и другим реагентам представляет интерес, связанный с использованием этого фактора для регуляции жизнедеятельности бактерий в биотехнологии, ветеринарии и медицине.

Возможно оценить изменение экологической роли бактерий при дальнейшем развитии телекоммуникационных технологий, связанных с использованием МВ.

Автор выражает благодарность чл.-корр. НАН РА, проф. А. Трчуняну за ценные советы и замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бецкий О.В.* Биомедицинская радиозлектроника. 2. 3-6. 1998.
2. *Булгакова В.Г., Гришина В.А., Орлова Т.И., Петрякина З.М., Полин А.И., Покс П.П., Копаненко А.А., Рубин А.Б.* Биофизика. 41, 1289-1293. 1996.
3. *Губ Н.М., Луева И.О., Денисова С.Н., Островский Н.В.* 10-й Российск. симп. с международн. участием. М., с. 96, 1995.
4. *Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.Б.* Радио и связь. М., 168 с. 1991
5. *Исаханян В., Трчунян А.* Биофизика. 50. 689-692. 2005.
6. *Лакин В.Ф.* Биометрия. М., Высшая школа. 1992.
7. *Тадевосян А., Трчунян А.* В кн.: Проблемы биохимии, молекулярной, ралниционной биологии и генетики. Международный симпозиум, Тезисы. Ереван, с. 90. 2007.
8. *Трчунян А., Оганджян Е., Саркисян Э., Голян С., Оганесян А., Оганесян С.* Биофизика. 46, 69-76, 2001.
9. *Beiskii O.V., Devyatkov N.D., Kislov V.V.* Crit. Rev. Biomed. Engineering. 28. 247-268, 2000.
10. *Markarian S.A., Poladyan A.A., Kirakosyan G.R., Trchounian A.A., Bagratyan K.A.* Letters in Applied Microbiology. 34. 417-421. 2002.
11. *Rojavin M.A., Ziskin M.C.* Bioelectromagnetics. 16, 188-196. 1995.
12. *Tadevosyan H., Kalantaryan V., Trchounian A.* In: Biological Effects of EMFs. Proceedings of the 4th Intern. Workshop, Crete (Greece). 1307-1314. 2006.

Поступила 11.VII.2007

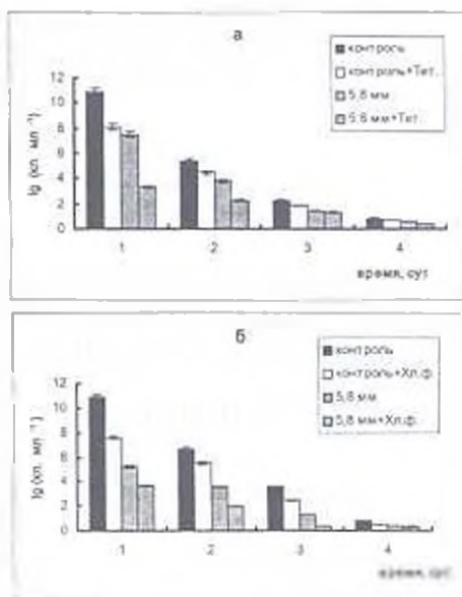


Рис. 3. Влияние антибиотиков тетрациклина (Тет.) (а) и хлорамфеникола (Хл.ф.) (б) на выживаемость облученных бактерий *E. coli*.