

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д.К. ЗАБОЛОТНОГО**

**ВОЙЧУК СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ**

УДК 663.12/.14+537.868

**ВПЛИВ РАДІОЧАСТОТНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО  
ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ  
ДЕЯКИХ ДРІЖДЖІВ**

**03.00.07 – мікробіологія**

**Автореферат**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

**Київ – 2005**

Дисертація є рукопис.

Робота виконана у відділі фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, професор, член-кор. НАН України **Підгорський Валентин Степанович**, Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, завідувач відділу фізіології промислових мікроорганізмів, директор Інституту.

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор **Курдиш Іван Кирилович**, Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, завідувач відділу мікробіологічних процесів на твердих поверхнях

доктор біологічних наук, **Орел Валерій Емануїлович**, Інституту онкології АМН України, завідувач фізико-технічної лабораторії

**Провідна установа:** Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Кабінет Міністрів України, м. Київ

Захист відбудеться 18 жовтня 2005 р. о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.233.01 по захисту докторських дисертацій при Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України за адресою: Д03680, м. Київ, ДСП, вул. Заболотного 154.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (03143, м. Київ, вул. Заболотного 154).

Автореферат дисертації розіслано ,, ,, вересня 2005 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
кандидат біологічних наук,  
старший науковий співробітник

Пуріш Л.М.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** За останні роки у зв'язку із значним погіршенням екологічної ситуації та різким збільшенням використання різних електротехнічних пристроїв, значно зросло навантаження на біосферу з боку неіонізуючих полів та випромінювань природного та антропогенного походження [Lacy-Hulbert et al., 1998]. Проблема „електромагнітної сумісності” живої природи та джерел електромагнітних випромінювань (ЕМВ) стає все більш важливою [Gartzke, Lange, 2002]. На сьогоднішній день встановлена достовірна кореляція активності цього фактору із життєдіяльністю живих істот різного систематичного положення [Lacy-Hulbert et al., 1998]. Мікроорганізми широко розповсюджені у природі і складають основу екологобіологічних та трофічних ланок у функціонуванні біосфери. За результатами досліджень, проведених за останні 20 років, слід очікувати значних змін у природних мікробіологічних асоціаціях, як наслідок дії антропогенних ЕМВ, генерованих різноплановими електротехнічними приладами, створеними людиною. Адже широкопланове впровадження у повсякденне життя новітніх електромагнітних приладів порушує природний електромагнітний фон, який за сучасними уявленнями є невід'ємною частиною розвитку та існування живої матерії. Вплив слабких та надслабких доз радіочастотного та мікрохвильового випромінювань, що генерують лінії електропередач, телекомунікаційні та побутові пристрої, розглядають як причину виникнення багатьох хвороб людей, тварин та рослин шляхом зміни стійкості організмів до стресових факторів зовнішнього середовища [Navas, 2000]. Температурні ефекти дії радіочастотних та мікрохвильових випромінювань тривалий час використовують у медичній практиці (УВЧ- та КВЧ-терапія). Вже на початку вивчення впливу даних випромінювань на живі організми (у 20-х рр. минулого сторіччя) зазначалося, що атермічна дія ЕМВ, яка не пов'язана із нагріванням тканин, клітин або ж внутрішньоклітинних сполук, може виявитися більш корисною для практичного використання ніж термічна. Однак єдиної думки щодо безпеки нетермічної дії слабого радіочастотного та мікрохвильового ЕМВ досі немає [Foster, 2003]. Це можна пояснити складністю вивчаємих об'єктів та довготривалим пануванням припущення про здатність ЕМВ викликати ефекти лише завдяки нагріванню. Таке становище посилює необхідність дослідження комплексної дії даних випромінювань на прикладі відносно простих та добре вивчених модельних організмів (серед прокариотів – це *E. coli*, серед еукаріотів – це дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* та *Schizosaccharomyces pombe*) [Valberg, 1996; Weaver, 2002].

Таким чином, вивчення впливу неіонізуючих електромагнітних випромінювань радіочастотного діапазону на фізіолого-біохімічні характеристики мікроорганізмів є актуальним і має як теоретичне значення для виявлення механізму впливу ЕМВ на біологічні організми, так і практичне – для використання набутих знань у біотехнологічних виробництвах та для охорони навколишнього середовища і здоров'я людини.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалась згідно плану наукових робіт Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (ІМВ) за темами „Дослідження систематичного положення та фізіолого-біохімічних особливостей мікроорганізмів,

які мають промислове значення”, реєстраційний номер 0198V007755 (1999 – 2003 р.) і „Систематика і біосинтетичні можливості бактерій і дріжджів. Розробка наукових основ створення за їх допомогою нових біотехнологічних препаратів і процесів”, реєстраційний номер 0104V003000 (2004 – 2008 р.).

**Мета і задачі дослідження.** Метою даної роботи було дослідити вплив електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону нетермальної інтенсивності на деякі дріжджові організми за фізіолого-біохімічними і морфолого-структурними показниками.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

- дослідити особливості росту та проходження клітинного циклу дріжджів під дією електромагнітного випромінювання;
- оцінити дію електромагнітного випромінювання на чутливість дріжджів до впливу стресових факторів;
- встановити вплив електромагнітного випромінювання на активність деяких ключових ферментів пентозофосфатного циклу та циклу трикарбонових кислот;
- оцінити морфолого-структурні зміни клітин дріжджів під дією ЕМВ;
- визначити залежність біологічної дії ЕМВ від метеорологічних та космо-фізичних факторів.

*Об'єктом дослідження* були музейні штами дріжджів із української колекції мікроорганізмів (УКМ): *Saccharomyces cerevisiae* УКМ Y-517, *Schizosaccharomyces pombe* УКМ Y-94T та *Candida utilis* УКМ Y-961.

*Предметом дослідження* були фізіолого-біохімічні та морфолого-структурні особливості дріжджів під впливом електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону нетермальної інтенсивності.

*Матеріали та методи дослідження.* Для виконання поставлених задач використовувалися класичні і новітні мікробіологічні, біофізичні та біохімічні методи дослідження.

#### **Наукова новизна одержаних результатів.**

- Вперше виявлено вплив електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону (40,68 МГц) нетермальної інтенсивності на фізіологічні показники росту і динаміку клітинного циклу; чутливість дріжджів до впливу стресових факторів і активність ферментів; структуру їх поверхні, її в'язко-пружні властивості та проникність цитоплазматичної мембрани;
- Відмічено, що в результаті дії електромагнітного випромінювання відбуваються зміни у динаміці клітинного циклу, дозозалежне стимулювання питомої швидкості росту, перерозподіл активності між ключовими ферментами циклу трикарбонових кислот, топографічні та в'язко-пружні зміни на поверхні клітинних стінок дріжджів, зменшення проникності цитоплазматичної мембрани клітин;
- Показано, що обробка дріжджових клітин електромагнітним випромінюванням радіочастотного діапазону зумовлює підвищення стійкості мікроорганізмів до впливу несприятливих факторів зовнішнього середовища. Одержало подальший розвиток припущення про захисний

характер дії слабких електромагнітних випромінювань на живі організми, що сприяє виникненню стійкості до наступного впливу руйнівних стресових факторів;

- Вперше, на прикладі дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, застосовано метод атомно-силової мікроскопії для вивчення послідовного та диференційного впливу електромагнітного випромінювання та фунгіцидного антибіотика ністатину на в'язко-пружні характеристики та топографію поверхні живих організмів;
- Використання методу атомно-силової мікроскопії та лектинів, мічених колоїдним золотом, уможливило наочне спостереження змін у наноструктурі поверхні та появу навколо клітинної стінки речовин вуглеводної природи (полісахаридів) в результаті опромінення клітин дріжджів;
- Встановлено кореляційну залежність фізіолого-біохімічного стану клітин дріжджів від показників активності Сонця, що відображається у показниках питомої швидкості росту та чутливості мікроорганізмів до фунгіцидних антибіотиків.

**Практичне значення одержаних результатів.** Електромагнітне випромінювання радіочастотного діапазону (40,68 МГц) нетермальної інтенсивності може бути використано як захисний механізм для модифікації чутливості живих організмів до дії стресових факторів. Досліджені дріжджі можуть слугувати як модельна система для вивчення атермічних ефектів та встановлення механізмів дії неіонізуючих електромагнітних полів та випромінювань на еукаріотичні організми та їх угруповання.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є самостійною роботою автора. Автором дисертації критично опрацьовані літературні дані, проведено більшість експериментальної роботи, проаналізовані та узагальнені її результати; здійснена статистична та математична обробка експериментальних даних, підготовка публікацій за результатами досліджень і їх представлення на наукових конференціях. Здобувачем особисто проведено експериментальні дослідження щодо визначення параметрів опромінення для досягнення максимального атермічного ефекту дії радіочастотного електромагнітного випромінювання на дріжджові організми, досліджено активність каталази і основних ферментів дегідрогеназного комплексу пентозофосфатного шляху та циклу трикарбонових кислот. Вивчення параметрів росту дріжджів, дослідження структури поверхні клітин під дією випромінювання і стійкість опромінених дріжджів до впливу стресових факторів проведено спільно з к.б.н. О.М. Громозовою, к.б.н. А.С. Гордієнком і к.б.н. П.М. Литвином, які є співавторами відповідних публікацій. У плануванні основних напрямків роботи та обговоренні результатів брав участь науковий керівник д.б.н., професор, член-кор. НАНУ В.С. Підорський В.С.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертаційної роботи були представлені на 1-му З'їзді мікологів Росії "Современная микология в России" (Москва, 2002 р.); III-му Міжнародному Конгресі "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине" (Санкт-Петербург, 1 - 4 июля 2003 р.); Другому Всеросійському Конгресі з Медичної Мікології (Москва, 24 - 25 березня 2004 р.);

Міжнародному семінарі "Биологические эффекты солнечной активности" (Пушціно-на-Оке, 6 - 9 квітня 2004 р.); X-му з'їзді товариства мікробіологів України (Одеса, 15 - 17 вересня 2004 р.); 3-му Міжнародному Семінарі "Biological Effects of EMFs" (Кос, Греція, 4 - 8 жовтня, 2004 р.); 3-й Конференції в пам'ять Олександра Гурвіча "Biophotons and Coherent Systems in Biology, Biophysics and Biotechnology" (Партеніт, Україна, 26 вересня - 2 жовтня 2004 р.); Третьому Всеросійському Конгресі з Медичної Мікології (Москва, 24 - 25 марта 2005 р.). Матеріали дисертації доповідались на конференції молодих вчених Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (25 - 26 листопада 2003 р.).

**Публікації.** За темою дисертаційної роботи опубліковано 11 робіт (з них 3 статті у профільних журналах і 8 – в тезах доповідей).

**Структура та об'єм роботи.** Дисертаційна робота викладена на 146 сторінках машинописного тексту і складається з розділів „Вступ”, „Огляд літератури”, „Матеріали та методи досліджень”, „Результати власних досліджень та їх обговорення”, „Заклучення”, „Висновки” та „Список використаних джерел”. Бібліографічний вказівник містить 202 посилання (з них 150 – іноземних авторів). Робота містить 16 таблиць та 25 рисунків.

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Огляд літератури представлений одним розділом, що поділяється на два підрозділи. В першому підрозділі наводиться загальна характеристика неіонізуючих електромагнітних полів та випромінювань природного та антропогенного походження. В другому підрозділі висвітлені питання щодо відомих на сьогоднішній день ефектів викликаних дією неіонізуючих електромагнітних полів та випромінювань субтермальних інтенсивностей на мікробіологічні об'єкти, визначено ключові фактори, які відіграють значну роль в сприйнятті організмами електромагнітних випромінювань. Окремими підпунктами розглядаються клітинні структури, які здатні реагувати на зміни у зовнішньому електромагнітному фоні, механізми дії неіонізуючих випромінювань на живі об'єкти та перспективи і проблеми використання електромагнітних випромінювань радіочастотного і мікрохвильового діапазонів субтермальних інтенсивностей.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження були дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* УКМ Y-517, що використовуються у виробництві шампанських вин, *Candida utilis* УКМ Y-961, які є джерелом кормового білку у тваринництві та *Schizosaccharomyces pombe* УКМ Y-94T з Української колекції мікроорганізмів (УКМ) при Інституті мікробіології і вірусології Національної Академії Наук України. Дріжджі *S. cerevisiae* та *S. pombe* є загальноприйнятими модельними еукаріотичними організмами для дослідження клітинних фізіолого-біохімічних процесів та міжклітинної кооперації [Brok, 2000; Ursula et al., 2001; Barr, 2003].

Дріжджі вирощували на твердому поживному середовищі сусло-агарі протягом 8, 17 та 24 годин для досягнення відповідно логарифмічної фази росту, фази уповільненого росту та стаціонарної фази росту популяції. Змив клітин проводили середовищем Рідер (без глюкози) або дистильованою водою.

Джерелом ЕМВ був генератор електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону – УВЧ-62 з частотою 40,68 МГц та потужністю випромінювання 15 та 30 Вт, що затверджений ДГСТ до використання у медичній практиці. Процедуру опромінення клітин дріжджів ЕМВ проводили у стандартизованих умовах. Клітини у концентрації  $10^8$  кл/мл опромінювали у рідкому середовищі (мінеральне середовище Рідер без глюкози чи стерильна дистильована вода) у термостатних умовах ( $28\text{ }^\circ\text{C}$ ) при екрануванні видимого світла. Обробку клітин ЕМВ в залежності від мети дослідження проводили при потужності випромінювання 15 або 30 Вт протягом 15, 60, 120 або 180 хв. Контрольні зразки знаходилися за таких самих умов без опромінення.

Фізіологічні параметри росту визначали в оптимальних умовах культивування (рН 4,5,  $+28\text{ }^\circ\text{C}$ ) загально прийнятими методами [Перт, 1978]: за тривалістю ростових періодів (лаг-, лог-період, період уповільненого росту та початок стаціонарної фази росту), за показниками питомої швидкості росту, часом подвоєння біомаси, врожаєм клітин (приріст біомаси через 24 г культивування), та значеннями економічного та метаболічного коефіцієнтів.

Життєздатність клітин досліджували за умови дії стресових факторів: заморожування-відтанення (при  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  та  $+25\text{ }^\circ\text{C}$ , відповідно), різних температур ( $-10$ ,  $20$ ,  $45\text{ }^\circ\text{C}$ ), кислого (рН 2,7) та лужного (рН 8,7) середовища культивування і в присутності фунгіцидного антибіотика ністатину у концентрації 10 і 20 мкг/ $10^6$  клітин. Культивування проводили у глибинних умовах на качалках при 240 об/хв у середовищі Рідер з додаванням 1% глюкози та 0,1% дріжджового екстракту протягом 24 - 30 годин та на твердому середовищі сусло-агарі протягом 3-х діб. Критерієм життєздатності дріжджів в присутності стресових факторів була кількість живих та неушкоджених клітин, яку визначали стандартним методом фарбування метиленовим синім [Иванов та співавт., 1987] та фарбуванням люмінесцентними барвниками (сумішшю флуорохрому примуліна (1:20 - 1:40 тис.) з акридиновим оранжевим (1:100 тис.)) [Мейсель та співавт., 1961] і за кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО).

Чутливість дріжджів до антибіотиків досліджували методом стандартних дисків з використанням фунгіцидних антибіотиків: ністатину (nistatin 80 мкг/мл), амфотерицину В (amphotericin B 40 мкг/мл), клотримазолу (klotrimazol 10 мкг/мл), флюконазолу (flukonazol 40 мкг/мл), ітраконазолу (itrakonazol 10 мкг/мл) (НИЦФ м. Санкт-Петербург). Вплив ЕМВ на чутливість дріжджів до антибіотиків та активність антибіотиків вивчали у трьох варіантах досліджень: 1) при одночасному опромінюванні клітин дріжджів з дисками антибіотиків; 2) при опромінюванні суспензії дріжджів до внесення антибіотиків; 3) при опромінюванні дисків з антибіотиками. Культивування проводили на твердому середовищі сусло-агарі при  $28\text{ }^\circ\text{C}$ . Ефект дії випромінювання визначали через 72 години за зонами затримки росту.

Структуру та в'язко-пружні сили на поверхні дріжджових клітин вивчали методом атомно-силової мікроскопії за допомогою мікроскопу NanoScope IIIa, серії Dimention 3000 (США). Дослідження проводили у резонансному режимі (Tapping mode) з використанням стандартних зондів з нітриту кремнію ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ). Радіус кривини вістря зонду складав  $\sim 10$  нм, довжина консолі – 100 мкм, частота механічного

резонансу 300 - 340 кГц, швидкість сканування – 4,2 мкм/с. Клітини дріжджів брали для аналізу одразу після опромінення: краплину клітинної суспензії наносили на свіжо-сколоту слюдяну пластинку або поверхню знежиреного предметного скла та висушували.

Якісні та кількісні характеристики хімічного складу поверхні клітин дріжджів вивчали за допомогою скануючого електронного мікроскопу (СЕМ) TESLA BS-340 (Czech Republic), що обладнаний аналітичною системою для energy-dispersive X-Ray мікроаналізів LINK-860 (UK). Для проведення тесту було використано лектин конканавалін-А, мічений частками колоїдного золота. ("Лектинотест", Львів, Україна).

Поверхневий заряд клітин (дзета-потенціал,  $\xi$ -потенціал) визначали методом мікроелектрофорезу за показниками електрофоретичної рухливості клітин у дистильованій воді [Глоба, Гордиенко, 1980].

Кінетику клітинного циклу дріжджової популяції досліджували методом підрахунку клітин в  $G_1$ , S,  $G_2$  та M фазах клітинного циклу. Фази клітинного циклу виявляли за розміром бруньки [Niemistx et al., 2003]. Зразки клітинної суспензії відбирали кожні 30 хв та мікроскопіювали у темному полі (мікроскоп МБІ-15, Ломо). Клітини у полі зору фотографували цифровою фотокамерою Nikon 950 (Japan). Аналіз цифрових фотозображень проводили у морфометричній програмі ImageJ 1.29.

Проникність цитоплазматичної мембрани клітин визначали за здатністю дріжджів підкислювати середовище культивування [Кулаковская та співавт., 1994] та за пулом зовнішньоклітинних нуклеотидів [Спирин, 1958].

Дегідрогеназну активність (загальну, ендогенну та субстратну) визначали за методикою, описаною [Klarwuk et al., 1974]. Джерелом вуглецю був 0,1 М розчин глюкози. Клітини дріжджів попередньо опромінювали у 1/15 М фосфатному буфері протягом 30 хв при потужності випромінювання 15 Вт. Каталазну активність визначали за методикою Sumner у модифікації Шестакова С. Д. та Єльціц С. В. [1971].

Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, ізоцитратдегідрогенази та  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази визначали у безклітинних екстрактах дріжджів спектрофотометричним методом за швидкістю відновлення НАД<sup>+</sup> та НАДФ<sup>+</sup> при 340 нм. Активність сукцинатдегідрогенази визначали у безклітинних екстрактах спектрофотометрично при 400 нм за здатністю ФАД<sup>+</sup>, ковалентно зв'язаного з молекулою білку, відновлюватися, а потім віддавати електрони ферріціаніду. Реакція починалася з моменту додавання субстрату до реакційної суміші. Спектрофотометричні вимірювання проводили на "Beckman DU-8B" (США) при 30 °С ( $\pm 0,1$  °С).

Білок у безклітинних екстрактах визначали за методом Бредфорда [Bradford, 1976]. Вміст глюкози в процесі культивування визначали методом Міллера [Miller, 1959].

Вплив сонячної та геомагнітної активності на ріст дріжджів, їх чутливість до антибіотиків і дію ЕМВ досліджували методом кореляційного аналізу. Дані щодо сонячної активності (число Вольфа – кількість плям на Сонці, сонячний потік – випромінювання радіочастотного діапазону, швидкість сонячного вітру) та геомагнітної активності (А-індекс – індекс напруженість магнітного поля Землі) за



час проведення експерименту отримували з Web-сайту: <http://www.dxl.com/solar/indices.html>.

Усі дослідження проводили багаторазово, щонайменше у 3-х повторностях. Отримані дані оброблені статистично враховуючи 95 %-вий рівень достовірності за критерієм Стьюдента [Лакин, 1980]. Розрахунки, графіки та статистична обробка виконані за допомогою пакету комп'ютерних програм *Statistica 6.0* та *Microsoft Excel 2002*.

## РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Вплив електромагнітного випромінювання на ріст та фізіологічний стан дріжджів.** Для дослідження фізіологічних параметрів росту були обрані показники, які характеризують стан популяції як в цілому, так і окремо кожної її компоненти (клітини). Комплексний підхід до вивчення дії ЕМВ на дріжджові клітини полягав перш за все у дослідженні впливу біологічних та фізико-хімічних факторів системи. Серед досліджених фізико-хімічних факторів – потужність та тривалість опромінення, мінеральний склад середовища опромінення (вода чи середовище Рідер), температурний фактор. Серед біологічних факторів – це фізіологічний стан популяції, який визначався фазами (тверде/рідке) поживного середовища, на якому проводили культивування дріжджів до опромінення; щільність популяції (вихідна кількість клітин/мл середовища); фази росту популяції (лаг-, лог-, фаза уповільненого та стаціонарна) і фази клітинного циклу.

Вплив електромагнітного випромінювання на фізіологічні показники росту дріжджів відмічено на клітинах, змитих з твердого поживного середовища в фазі уповільненого росту і на початку стаціонарної фази (через 20 – 24 години від початку культивування). Спостерігали збільшення питомої швидкості росту опроміненої популяції дріжджів на 15 - 20 % у порівнянні з контрольною неопроміненою популяцією (рис. 1).

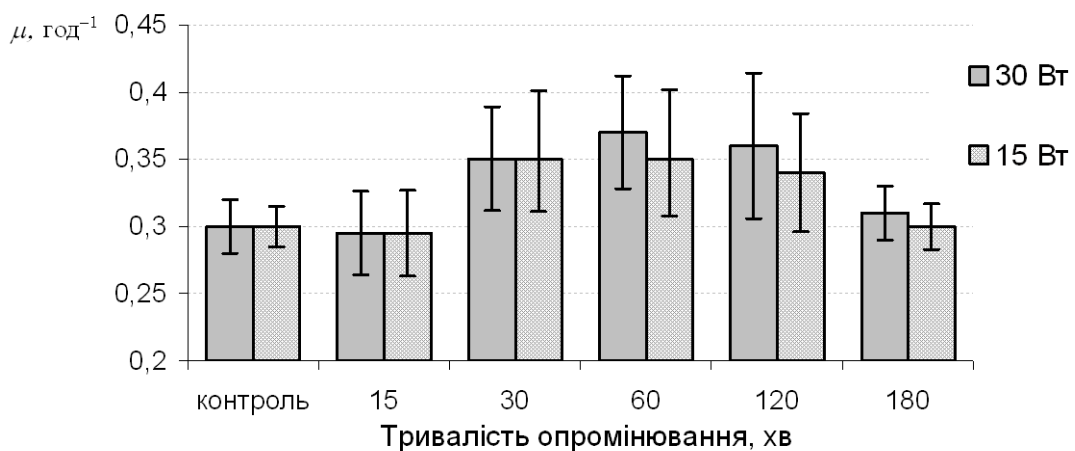


Рис. 1. Залежність питомої швидкості росту від тривалості та потужності випромінювання.

В разі впливу випромінювання на клітини, які попередньо культивувалися у рідкому поживному середовищі або були змиті з твердого середовища у лаг-фазі (через 2 – 4 години) та у період логарифмічного росту (через 6 – 8 годин) відмінностей між фізіологічними показниками росту опроміненої та неопроміненої популяції не виявлено. Це свідчить про залежність ефективності дії ЕМВ від стадії росту популяції мікроорганізмів.

Дія ЕМВ визначалася тривалістю опромінення і не залежала від потужності, що узгоджується з даними літератури про другорядну роль потужності неіонізуючого електромагнітного випромінювання в одержанні ефектів, пов'язаних з нетепловою дією [Геращенко, 1997]. Максимальне стимулювання ростових процесів спостерігали при 30-ти, 60-ти і 120-ти хвилинній обробці випромінюванням. Менша та більш тривала дія випромінювання на клітини дріжджів не призводила до достовірних змін у показниках, які характеризують фізіологію росту.

Практично в усіх випадках вплив ЕМВ призводив до збільшення лаг-періоду і відповідного зменшення фази логарифмічного і уповільненого росту (рис. 2А). Контрольна і опромінена популяції досягали стаціонарної фази через 20 - 24 год. Але були й виключення, коли на фоні рівних по тривалості лаг-періодів популяція опромінених клітин переходила в стаціонарну фазу росту на 3 - 5 год раніше

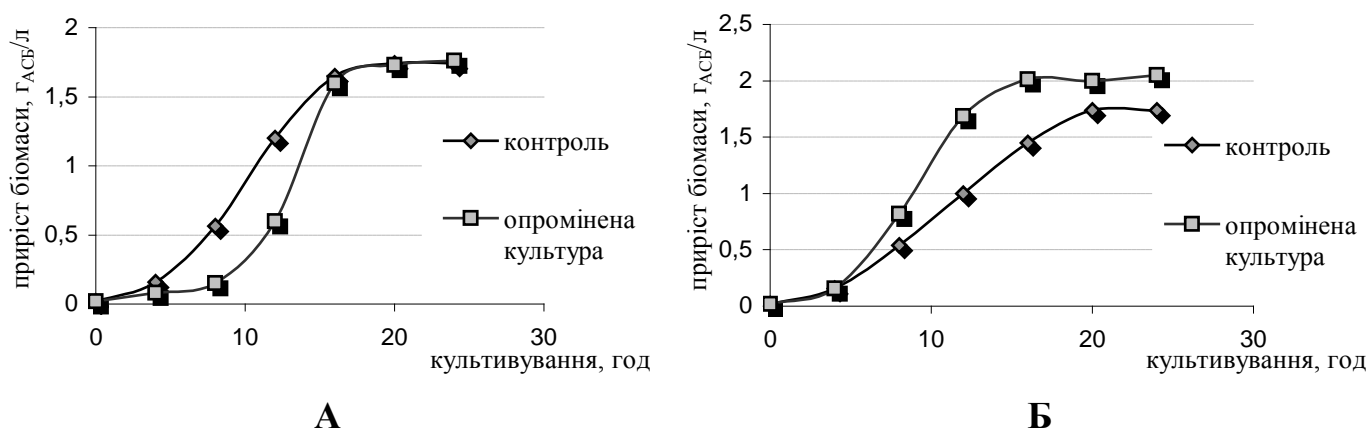


Рис. 2. Вплив ЕМВ (40,68 МГц, 30 Вт, 30 хв) на тривалість ростових фаз дріжджів: А – збільшення тривалості лаг-фази та скорочення періоду експоненційного росту; Б – зменшення періоду експоненційного росту.

контрольної за рахунок менш тривалої фази уповільненого росту (рис. 2Б).

Зафіксовані біологічні ефекти ЕМВ як то збільшення швидкості росту (на 15 - 20 %), подовження лаг-фази тощо мали нерегулярний характер. Достовірні ефекти були отримані лише в 16 % досліджень, а в інших випадках вони були рівними контрольним або нівелювалися значною дисперсією.

Крім того, ефект великою мірою визначався складом середовища в якому відбувалося опромінення організмів: виявлені закономірності зберігалися при опромінюванні як у дистильованій воді так і в поживному середовищі Рідер, однак в останньому випадку ефект більш виражений. Ці результати добре узгоджуються з даними літератури [Хиженков и др., 1998; Orel, 1995], де вказується значна роль іонів в посиленні ефективності дії ЕМВ в мінеральних розчинах завдяки взаємодії випромінювань із зарядженими частками.

### Динаміка клітинного циклу після дії електромагнітного випромінювання.

На прикладі *S. cerevisiae* відмічено, що дія ЕМВ на дріжджову суспензію зумовлює зміни у тривалості фаз клітинного циклу і через 3,5 - 4 години після опромінення спостерігається збільшення кількості клітин на стадії мітозу. В логарифмічній фазі росту популяції відсоток клітин, що діляться досягає 60 % від загальної кількості, в той час як у контролі – не перевищує 45 % (рис. 3). Різниця в розподілі клітин між іншими фазами залишається недостовірною.

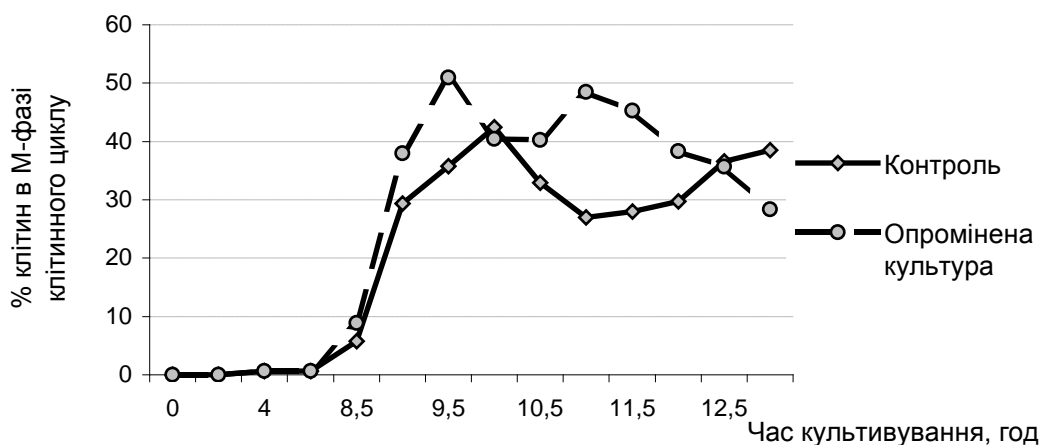


Рис. 3. Відсоток клітин в М-фазі опроміненої ЕМВ (40,68 МГц, 30 Вт, 30 хв) та неопроміненої (контрольної) популяції дріжджів *S. cerevisiae*.

Така дія ЕМВ вірогідно пов'язана зі зменшенням тривалості  $G_1$ -фази клітинного циклу на 15 %, та відповідно прискоренням усього циклу ділення. За літературними даними, подібні зміни у перебігу клітинного циклу можуть бути результатом часткової синхронізації у діленні клітин в результаті зростання/зменшення активності клітинного циклу [Араџо et al., 2004]. Більшість

Рис. 4. Залежність питомої швидкості росту ( $\mu$ ) від вихідної концентрації посівного матеріалу ( $x_0$ ) характерна для неопроміненої (А) та опроміненої популяції дріжджів (Б). Лінії тренду побудовані за допомогою поліноміального рівняння другого порядку.

факторів, наприклад, незначні коливання мінерального складу субстрату, збільшення розведення, зміна рН, аерації тощо, так само викликають щонайменше часткову синхронізацію дріжджів *S. cerevisiae* [Munch et al., 1992], та все ж ЕМВ, призводить до більш значних змін у клітинному циклі [Агаџо et al., 2004].

Статистична обробка даних дозволила виявити порушення у міжклітинних взаємозв'язках. По-перше, відмічено, що вплив ЕМВ зумовлює порушення лінійної залежності у бік нелінійних рівнянь між показниками вихідної концентрації клітин та питомою швидкістю росту дріжджів (рис. 4).

По-друге, в результаті обробки суспензії клітин випромінюванням, порушуються кореляційні співвідношення між фазами клітинного циклу (таб. 1).

Таблиця 1

**Кореляційні зв'язки між фазами клітинного циклу у популяції *S. cerevisiae* УКМ У-517 під впливом ЕМВ (40,68 МГц, 30 Вт, 30 хв)**

Фази клітинного циклу	Контроль	Опромінена культура
G <sub>1</sub> – S	-90	-93
G <sub>1</sub> – G <sub>2</sub>	<b>-99</b>	<b>-96</b>
G <sub>1</sub> – M	<b>-96</b>	-94
S – G <sub>2</sub>	85	84
S – M	80	85
G <sub>2</sub> – M	<b>98</b>	92

Обидва випадки свідчать про певні зміни, які відбуваються на клітинному та субклітинному рівні та не відображаються у стандартних показниках, прийнятих для опису фізіологічного стану популяції мікроорганізмів.

**Вплив електромагнітного випромінювання на стійкість дріжджів до дії стресових факторів фізико-хімічної природи.** Вивчення біологічних ефектів випромінювання при дії несприятливих (стресових) факторів зовнішнього середовища фізико-хімічної природи (рН, Т °С, фунгіцидні антибіотики) дозволило виявити протекторний характер впливу ЕМВ, що відображається у збільшенні життєздатності клітин за дії цих факторів. Так показано, що попереднє опромінення дріжджової суспензії збільшує відсоток живих неушкоджених клітин в несприятливих умовах культивування з 20 - 50 % до 80 - 90 % в залежності від природи фактору (таб. 2).

Попереднє опромінення дріжджів здатне викликати стійкість мікроорганізмів до дії фунгіцидних антибіотиків полієнового та азолового ряду. У дослідах з ністатином антибіотик у концентрації 10 мкг/10<sup>6</sup> кл інгібував ріст близько 70 % клітин у популяціях *S. pombe* та *C. utilis* і половини клітин *S. cerevisiae* (таб. 3). 30-ти хвилинна експозиція клітин ЕМВ сприяла збільшенню

Таблиця 2

**Вплив ЕМВ (40,68 МГц, 30 Вт, 5 - 30 хв) на чутливість *S. cerevisiae* УКМ Y-517 до дії стресових факторів**

Умови експерименту		Відсоток мертвих та ушкоджених клітин	
		Неопромінена популяція (контроль)	Опромінена популяція
Контроль (рН 4.5)		7,5±1,7	6,9±1,4
Стресові фактори	Кислотність середовища (рН 2.7)	47,5±10,6	15,5±6,5
	Заморожування-відтанення	60,0±14,1	7,5±3,5
	Ністатин (1,0 мкг/10 <sup>6</sup> кл)	55,0±7,1	15,0±5,0

практично до 100 % рівня виживання у перших двох видів дріжджів і лише на 10 % збільшувала рівень життєздатності у сахароміцетів. Збільшення дози антибіотику вдвічі (до 20 мкг/10<sup>6</sup> кл) так само характеризувалося лише 10 %-ковим переважанням опромінених клітин *S. cerevisiae* над неопроміненими. На нашу думку це може свідчити про різну чутливість клітин *S. cerevisiae* до дії ЕМВ. Слід зазначити, що для опромінювання кожен раз використовували практично 100 %-ково гомогенну популяцію дріжджів *S. cerevisiae*, тобто усі клітини перебували у G<sub>1</sub>-фазі клітинного циклу.

Подібна захисна роль слабких випромінювань різних діапазонів частот та збільшення життєздатності опромінених клітин описана у цілому ряді робіт на прикладі як дріжджових культур [Petin et al., 2003] і інших еукаріотичних мікроскопічних організмів [Тамбиев и соавт., 2003], так і прокариотів – *E. coli* [Nakamura et al., 1997].

**Активність ферментів каталаз та дегідрогеназ внаслідок дії електромагнітного випромінювання.** Згідно сучасних уявлень, серед причин виникнення стійкості живих організмів до дії несприятливих факторів зовнішнього

Таблиця 3

**Відсоток виживання клітин під дією ністатину в опромінених (40,68 МГц, 30 Вт, 30 хв) та неопромінених (контрольних) популяціях дріжджів**

Штам дріжджів	Концентрація ністатину, мкг/10 <sup>6</sup> кл	Контроль	Опромінені дріжджі
<i>S. cerevisiae</i> УКМ Y-517	20	1,16±0,08	11,85±1,43
<i>S. pombe</i> УКМ Y-94Т	10	30±3,77	91,69±1,11
<i>C. utilis</i> УКМ Y-961	10	32,3±4,36	114,93±21,06

середовища можуть бути зміни на біохімічному та морфолого-структурному рівнях організації живого. Нами було показано, що досліджене випромінювання швидше за все не викликає руйнування внутрішньоклітинних сполук та структур, адже рівень каталазної активності опромінених та неопромінених клітин залишався однаковим. Ці результати складають протипагу літературним даним, в яких зазначається збільшення концентрації вільних радикалів у живих клітинах за дії значно слабкіших випромінювань (50 - 60 Гц) [Ieler and Erdem, 2003].

Активність окисно-відновних ферментів дегідрогеназного комплексу змінювалася у бік зростання загальної активності внутрішньоклітинних компонентів і відповідного зменшення субстратної дегідрогеназної активності. Дослідження ключових ферментів пентозофосфатного шляху та циклу трикарбонових кислот дозволило виявити зміну активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (ПФШ), альфа-кетоглутаратдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та ізоцитратдегідрогенази (ЦТК) за дії ЕМВ (рис. 5). На рисунку видно, що активність досліджених ферментів у *S. pombe* та *C. utilis* зростала в результаті опромінення, в той час як у *S. cerevisiae*,

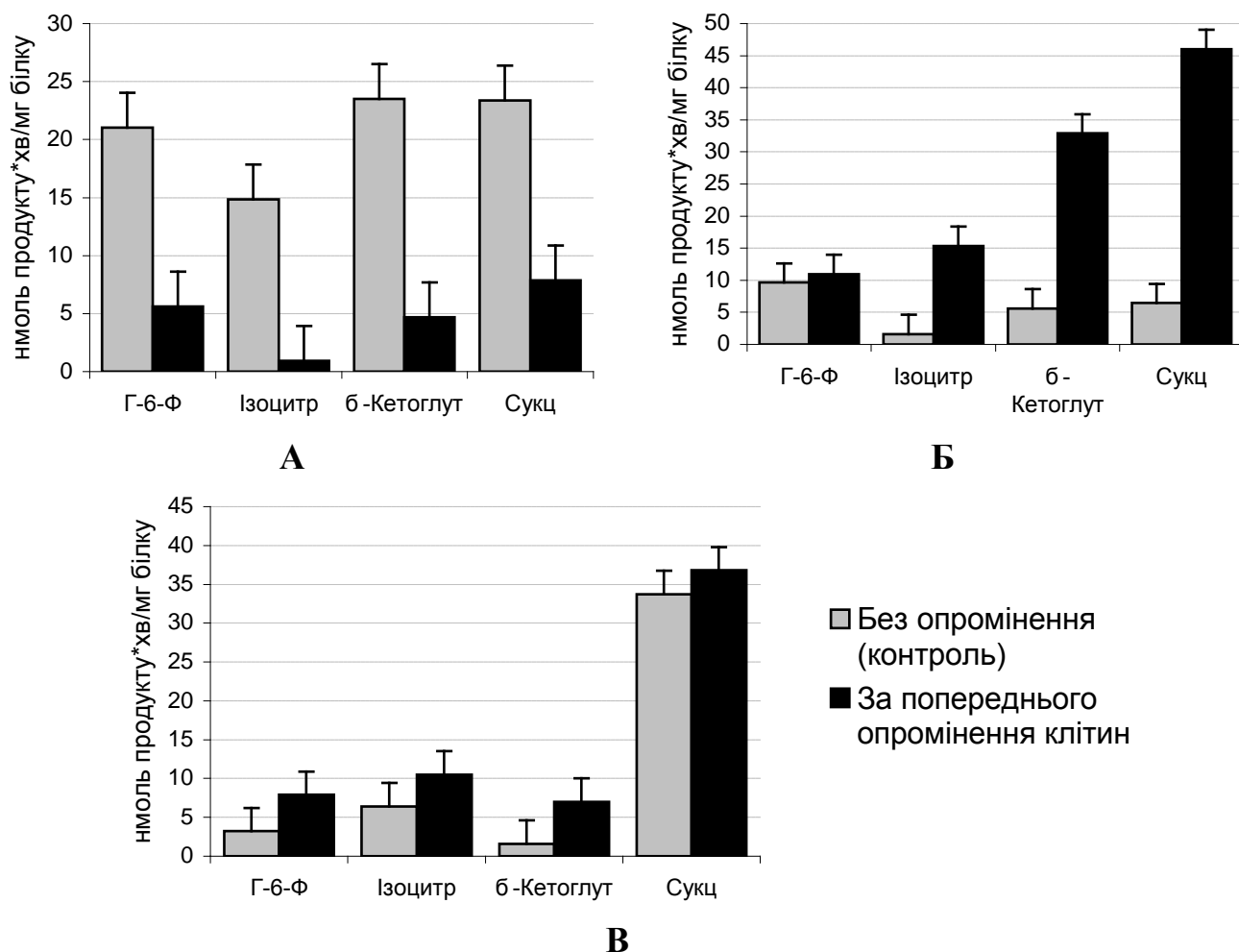


Рис. 5. Активність основних ферментів дегідрогеназ пентозофосфатного шляху (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-Ф)) та циклу трикарбонових кислот: ізоцитратдегідрогенази (Ізоцитр), б-кетоглутаратдегідрогенази ( $\alpha$ -Кетоглут), сукцинатдегідрогенази (Сукц).

А – *S. cerevisiae* УКМ Y-517, Б – *S. pombe* УКМ Y-94Т,  
В – *C. utilis* УКМ Y-961.

вона знижувалася щонайменше у чотири рази і у випадку ізоцитратдегідрогенази майже до нуля.

За даними ряду робіт активність ферментів дегідрогеназ циклу трикарбонових кислот корелює із стійкістю мікроорганізмів до антибіотичних речовин [Крисенко та Вінніков, 2004]. Можливо, що більша стійкість до антибіотичних речовин, яку ми відмітили для *S. pombe* та *C. utilis* порівняно із *S. cerevisiae* може бути пов'язана із відмінностями у реакції ключових ферментів (не тільки дегідрогеназ) на вплив електромагнітного випромінювання.

**Зміни у поверхнево-структурних характеристиках клітин дріжджів та у проникності цитоплазматичної мембрани під дією електромагнітного випромінювання.** Одна з вагомих причин виникнення резистентності мікроорганізмів до дії інгібіторів росту – це зменшення проникності цитоплазматичної мембрани [Álvarez Blvarez et al., 1998]. Нами було показано, що проникність ЦПМ в опромінених клітинах дріжджів зменшується, про що свідчить менший пул зовнішньоклітинних нуклеотидів та слабша закрислююча здатність. Було відзначено, що в результаті опромінення екзогенний пул нуклеотидів у *S. cerevisiae* нижче ( $5,46 \pm 0,12$  мкг/мл), ніж в контрольних зразках ( $6,49 \pm 0,09$  мкг/мл). Для *C. utilis* пул нуклеотидів складав  $8,24 \pm 0,21$  мкг/мл та  $10,82 \pm 0,11$  мкг/мл, відповідно. А для *S. pombe* – відповідно  $2,47 \pm 0,19$  мкг/мл та  $5,46 \pm 0,13$  мкг/мл. Даний факт вказує на зменшення проникної здатності плазмалеми і/або клітинної стінки [Спирин, 1958] під дією ЕМВ.

Додатково було досліджено поверхнево-структурні характеристики клітин. Методом мікроелектрофорезу нами відмічено стабільність поверхневого заряду клітин при дії ЕМВ. В той же час, методом атомносилової мікроскопії нами вперше показано зміни у наноструктурі (рис. 6А) та у в'язко-пружних властивостях клітинної

А

Б

Рис. 6. Тривимірні зображення клітин *S. cerevisiae* УКМ Y-517 отримані методом атомно силової мікроскопії:

А – Наноструктура рельєфу поверхні клітин (площа сканування 1000x1000 нм, перепад висоти 50 нм). Б – Поверхня клітин за в'язко-пружними характеристиками (прямокутниками позначено ділянки проведення аналізів). (а) – контрольні клітини, (б) – клітини після дії ЕМВ (40,68 МГц), (с) – клітини після дії ністатину (3 мкг/10<sup>6</sup> кл), (д) – попередньо опромінені клітини в присутності ністатину.

стілки опромінених дріжджів (рис. 6Б), що, вірогідно, пов'язано із утворенням нового шару полісахаридної природи, який оточує клітину з зовні. Наявність новоутвореного шару зовні клітин дріжджів доведено експериментально шляхом обробки клітин лектином, міченим колоїдним золотом.

З літератури добре відома роль полісахаридних речовин у виникненні стійкості мікроорганізмів до дії деструктивних факторів зовнішнього середовища [Пирог и соавт., 1997; Masuoka, 2004]. Виявлений нами новоутворений шар може бути ще однією причиною зростання життєздатності клітин дріжджів в наслідок попереднього опромінення.

Таким чином, відмічену протекторну дію випромінювання на стійкість дріжджів до дії стресових факторів можна пояснити цілим рядом змін на біохімічному та структурному рівнях, які відбуваються у клітинах з моменту опромінення. На нашу думку вплив дослідженого ЕМВ на організм призводить до активації основних внутрішньоклітинних метаболічних шляхів, які відповідають за збереження цілісності біологічної системи в присутності несприятливих деструктивних факторів зовнішнього середовища.

**Дія ЕМВ в умовах різної активності геліо- та геофізичних факторів.** Електромагнітні випромінювання у малих дозах незалежно від частотної характеристики та рівня організації біологічного об'єкту характеризуються нестабільністю ефектів, які виникають за їх дії. В даній роботі нестабільний характер прояву дії ЕМВ на дріжджі було відмічено за показниками росту. Так достовірно збільшення питомої швидкості росту дріжджів під дією ЕМВ було відмічено у 16 % випадків при стандартних у межах фіксуємих нами факторів, умовах проведення експерименту (об'єм вибірки складався з 87 досліджень).

Стохастичний характер проявів дії того чи іншого фактору – це важлива ознака, яка припускає існування певних координуючих чинників, які досить часто не розглядаються в експериментах [Moss et al., 2004]. Серед причин спорадичного прояву дії ЕМВ деякі дослідники називають денні та сезонні цикли та вплив космофізичних факторів, які визначають фізіолого-біохімічні характеристики організму на момент опромінювання [Геращенко, 1997; Navas, 2000].

Аналіз отриманих нами за час проведення експерименту даних дозволив встановити закономірності між максимальною питомою швидкістю росту та чутливістю мікроорганізмів до антибіотиків з активністю геліо-геофізичних факторів. Статистична обробка даних виявила залежності між інтенсивністю ростових процесів й показниками швидкості сонячного вітру (-52 %) та між чутливістю дріжджів до дії фунгіцидних антибіотиків і швидкістю сонячного вітру (61 %), числом Вольфа (-51 %) та сонячним потоком (-53 %). Метеорологічні дані та показники геомагнітної активності за період проведення досліджень не корелювали з досліджуваними факторами. Одержані дані дозволяють припустити, що за мінімальної сонячної активності слід очікувати максимальний прояв фунгіцидної дії антибіотиків, а при максимальній активності Сонця – мінімальний. Подібна закономірність може бути пов'язана з фізіологічним станом мікроорганізмів, властивості яких змінюються разом із активністю Сонця.

За час проведення досліджень нами не відмічено прямої закономірності між ефективністю дії ЕМВ на ростові процеси дріжджів та показниками сонячної



активності. Однак відомо, що результат впливу ЕМВ на біологічні системи обумовлений фізіологічним станом організмів [Девятков и соавт., 1991], який в свою чергу залежить від геліофізичної активності. Це може свідчити про опосередкований зв'язок між цими факторами.

Підсумовуючи одержаний нами експериментальний матеріал, ми можемо стверджувати, що електромагнітне випромінювання частотою 40,68 МГц, потужністю 15 Вт та 30 Вт впливає на фізіологічні, біохімічні та структурні характеристики дріжджів *S. cerevisiae*, *S. pombe* та *C. utilis*, що позначається на чутливості дріжджових клітин до дії стресових факторів фізико-хімічної природи.

## ВИСНОВКИ

1. Виявлено вплив електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону (частота випромінювання 40,68 МГц, потужність 15 та 30 Вт) на фізіолого-біохімічні та поверхнево-структурні властивості дріжджів *S. cerevisiae*, *S. pombe* та *C. utilis*.
2. Питома швидкість росту *S. cerevisiae* збільшується на 15 - 20 % під впливом досліджуваного ЕМВ, що супроводжується змінами у тривалості ростових фаз та фаз клітинного циклу.
3. Оптимальними умовами для отримання біологічних ефектів атермічної дії ЕМВ при потужності випромінювання 15 та 30 Вт є обробка дріжджів у термостатованих умовах протягом не більше 120 хвилин. Вміст вільних іонів у середовищі на момент опромінення посилює дію ЕМВ на живі організми.
4. Радіочастотне ЕМВ має протекторний характер дії, що проявляється у збільшенні стійкості опромінених клітин дріжджів по відношенню до стресових факторів фізико-хімічної природи (рН, T °C, антибіотиків).
5. ЕМВ інгібує щонайменше в 4 рази активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та ферментів циклу трикарбонових кислот (сукцинатдегідрогенази, альфа-кетоглутаратдегідрогенази, ізоцитратдегідрогенази) у дріжджів *S. cerevisiae*, та стимулює у *S. pombe* і *C. utilis*.
6. Морфолого-структурний аналіз опромінених клітин дріжджів показав зміни у структурі та в'язко-пружних властивостях поверхні клітинної стінки дріжджів. Зафіксовано появу нового зовнішнього полісахаридного шару навколо клітини, який вірогідно приймає участь у виникненні стійкості опромінених мікроорганізмів до дії несприятливих факторів.
7. Показники питомої швидкості росту та чутливість дріжджів до фунгіцидних антибіотиків корелюють із показниками активності сонця. Результативність дії ЕМВ на біологічні об'єкти опосередковано корелює з активністю геліогеофізичних факторів.

Отримані дані підтверджують нетермальний вплив антропогенних неіонізуючих ЕМВ на функціонування мікробіологічних об'єктів, розширюють нашу уяву щодо ефектів дії випромінювань, дозволяють наблизитись до розуміння механізмів протекторної дії ЕМВ на біологічні системи та рекомендувати використання даного випромінювання для активації захисних внутрішньоклітинних шляхів.

## СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Громозова Е.Н., Войчук С.И. Влияние агентов, деполяризирующих цитоплазматическую мембрану на формообразование мицелия *Thielavia terrestris* (*Apinis*) Malloch et Cain // Тез. докл. 1-го съезда микологов России "Современная микология в России", г. Москва, 2002. – С. 145.
2. Громозова Е.Н., Войчук С.И. Протекторное действие ЭМИ (40 МГц) в реакциях дрожжевых клеток на стрессовые воздействия // Тез. III-го Международного Конгресса "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине", г. Санкт-Петербург, 1 - 4 июля 2003. – С. 45.
3. Войчук С.И., Подгорский В.С., Громозова Е.Н. Влияние радиочастотного электромагнитного излучения на физиологические особенности *Saccharomyces cerevisiae* УКМ Y-517 // Мікробіол. журн. – 2004. – Т 66, № 3. – С. 51 - 57.
4. Войчук С.И., Громозова Е.Н. Влияние радиочастотного электромагнитного излучения на чувствительность дрожжей к фунгицидным антибиотикам // Мікробіол. журн. – 2004. – Т 66, № 4. – С. 69 - 77.
5. Подгорский В.С., Войчук С.И., Громозова Е.Н., Гордиенко А.С. Протекторное действие электромагнитного излучения (40,68 МГц) на *Saccharomyces cerevisiae* УКМ Y-517 // Мікробіол. журн. – 2004. – Т. 66, № 5. – С. 48 - 56.
6. Войчук С.И. Вплив радіочастотного електромагнітного поля (40,68 МГц) на розподіл клітин дріжджової популяції по фазах клітинного циклу // Тез. доповід.: Х з'їзд Товариства мікробіологів України, 15 - 17 вересня 2004 р., Одеса. - С. 202.
7. Громозова Е.Н., Войчук С.И. Биологические аспекты биоастрономического эффекта Чижевского-Вельхова // Тез.: Международный семинар "Биологические эффекты солнечной активности" г. Пушино-на-Оке, 6 - 9 апреля 2004. – С. 51 - 52.
8. Voychuk S.I., Gromozova E.N., Podgorskiy V.S. Effect of EMF (40,68 MHz) on the sensitivity to stress-factors // Proceedings: 3rd International Workshop "Biological Effects of EMFs", Kos, Greece, 4 - 8 October 2004. – Vol. 2. – P. 799 - 804.
9. Gromozova E.N., Voychuk S.I. Research of yeast as model for study of radiofrequency EMF action on eukaryotic cells // Abstract book: 3<sup>rd</sup> Alexander Gurwitsch Conference "Biophotons and Coherent Systems in Biology, Biophysics and Biotechnology", Partenit, Crimea, Ukraine, September 26 - October 2, 2004. – P. 44.
10. Громозова Е.Н., Войчук С.И. Влияние солнечной активности и антропогенного ЭМИ (40 МГц) на антифунгальную активность антибиотиков // Второй всероссийский конгресс по медицинской микологии, г. Москва, 24 - 25 марта 2004. – С. 91.
11. Громозова Е.Н., Войчук С.И. Механизм резистентности дрожжевых клеток к ряду фунгицидных антибиотиков, выванной электромагнитным излучением // Третий всероссийский конгресс по медицинской микологии, г. Москва, 24 - 25 марта 2005. – С. 45.

## АНОТАЦІЯ

**Войчук С. І. Вплив радіочастотного електромагнітного випромінювання на фізіолого-біохімічні особливості деяких дріжджів. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. – Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, 2005.

Дисертація присвячена вивченню чутливості дріжджових організмів до впливу неіонізуючого електромагнітного випромінювання (ЕМВ) радіочастотного діапазону нетермальної інтенсивності. В результаті досліджень встановлено вплив ЕМВ частотою 40,68 МГц, потужністю випромінювання 15 та 30 Вт та тривалістю експозиції 5 – 180 хвилин на фізіологічні, біохімічні та структурні характеристики дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* та *Candida utilis*. На клітинному і субклітинному рівнях відмічено зміни активності окисно-відновних ферментів дегідрогеназ пентозофосфатного циклу та циклу трикарбонових кислот, зменшення проникності цитоплазматичної мембрани. В результаті дії ЕМВ відбуваються певні модифікації у характеристиках поверхні клітинної стінки, що відображається у структурних та в'язко-пружних перебудовах і в утворенні полісахаридного шару на поверхні клітин. Усе це в комплексі сприяє виникненню стійкості дріжджових клітин до дії стресових факторів фізико-хімічної природи. Разом з тим нами відмічені відхилення (у порівнянні з контролем) на фізіологічному рівні досліджень: зменшення тривалості G<sub>1</sub>-фази клітинного циклу, прискорення питомої швидкості росту, порушення кореляції між окремими фізіологічними показниками (співвідношенням різних фаз клітинного циклу та перехід у нелінійну область залежності питомої швидкості росту від початкової концентрації клітин у популяції).

Отримані дані підтверджують нетермальний вплив антропогенних неіонізуючих ЕМВ на функціонування мікробіологічних об'єктів, розширюють нашу уяву щодо ефектів дії випромінювань, дозволяють наблизитись до розуміння механізмів протекторної дії ЕМВ на біологічні системи та рекомендувати використання даного випромінювання для активації захисних внутрішньоклітинних шляхів.

*Ключові слова:* дріжджі, радіочастотне електромагнітне випромінювання, фізіологія росту, біохімічні процеси, стійкість до стресових факторів.

## АННОТАЦИЯ

**Войчук С. И. Влияние радиочастотного электромагнитного излучения на физиолого-биохимические особенности некоторых дрожжей. – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.07 – микробиология, – Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, 2005.

Диссертация посвящена исследованию чувствительности дрожжей к воздействию неионизирующего электромагнитного излучения (ЭМИ) радиочастотного диапазона нетермальной интенсивности. В результате исследований установлено влияние ЭМИ частотой 40,68 МГц, мощностью излучения

15 и 30 Вт, продолжительностью экспозиции 5 – 180 минут на физиологические, биохимические и структурные характеристики дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* и *Candida utilis*.

Методом атомно-силовой микроскопии было показано, что обработка клеток дрожжей ЭМИ приводит к ряду изменений в характеристиках поверхности клеточной стенки, которые отражаются в наноструктуре топографии облученных и необлученных организмов и вязкоупругих свойствах поверхности. Добавление в среду культивирования лектина (конканавалина-А) меченного коллоидным золотом, позволило выявить внешний полисахаридный слой методом сканирующей электронной микроскопии, который образуется вокруг клеток в результате облучения. Кроме того установлено, что воздействие на микроорганизм ЭМИ снижает проницаемость их цитоплазматической мембраны.

Биохимическими методами исследования установлено, что действие ЭМИ приводит к изменениям активности окислительно-восстановительных ферментов дегидрогеназного комплекса пентозофосфатного цикла (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы) и цикла трикарбоновых кислот (альфа-кетоглутаратдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы). В случае облучения *S. pombe* и *C. utilis* активность исследованных ферментов увеличивается, в то время как облучение *S. cerevisiae* приводит к ее снижению как минимум в 4 раза. Активность каталазы не изменяется.

Нами было отмечено увеличение жизнеспособности облученных клеток дрожжей в присутствии стрессовых факторов физико-химической природы (неблагоприятных значений pH, температуры, фунгицидных антибиотиков полиеновой и азоловой групп). Предположительно, что именно изменения в свойствах клеточной стенки и мембран в комплексе с биохимической активностью и, возможно, некоторые другие изменения, вызванные действием излучения на клетки, способствуют возникновению устойчивости дрожжей к действию указанных неблагоприятных факторов.

Вместе с этим нами зафиксированы отклонения (по сравнению с контрольными показателями) на физиологическом уровне исследований: уменьшение продолжительности G<sub>1</sub>-фазы клеточного цикла и нарушение характерных для необлученной популяции дрожжей соотношений между количеством клеток в различных фазах клеточного цикла. Соответственно наблюдали увеличение удельной скорости роста и переход линейной зависимости между удельной скоростью роста и исходной концентрацией клеток в популяции в нелинейную область.

Была установлена зависимость между показателями удельной скорости роста и чувствительности дрожжей к антибиотикам с рядом гелиофизических факторов. Подобная закономерность подтверждает существование связи между физиолого-биохимическим состоянием организма и активностью гелио-космических факторов, а также указывает на физиолого-биохимическое состояние организма в момент облучения как причину стохастичности эффектов ЭМИ при оптимальных для организма условиях проведения эксперимента.

Полученные данные подтверждают нетермальное воздействие антропогенного ЭМИ на функционирование микробиологических объектов, расширяют наше представление об эффектах действия излучения, позволяют приблизиться к

пониманию механизмов протекторного воздействия ЭМИ на биологические системы и рекомендовать использование данного излучения для активирования внутриклеточных путей, играющих роль в защите организма от воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды.

*Ключевые слова:* дрожжи, радиочастотное электромагнитное излучение, физиология роста, биохимические процессы, устойчивость к стрессовым факторам.

## SUMMARY

**Voychuk S. I. Influence of radiofrequency electromagnetic field on the physiology-biochemical properties of some yeast. – Manuscript.**

The candidate degree thesis by speciality 03.00.07 – microbiology. – Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2005.

The dissertation is devoted to investigation of action of radiofrequency EMF on the yeasts *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* and *Candida utilis*. Influence of EMF (frequency 40,68 MHz, capacity of radiation 15 and 30 W, exposition 5 - 180 minutes) on the physiological, biochemical and structural characteristics of these yeasts is established.

The changes of activity of dehydrogenase enzymes of pentosephosphate cycle and tricarboxylic acids cycle and reduction of membrane permeability are marked. As a result of EMF action certain modifications occur in the characteristics of the cell wall surface, which are reflected in structural and visco-elastic reorganizations, and also in formation of a polysaccharide layer around cell surface. All this in a complex promotes occurrence of stability of yeast cells to action of the stress-factors of a physical and chemical nature. We marked deviations (in comparison with control parameters) at a physiological level of investigations: reduction of duration of a G<sub>1</sub>-phase of the cell cycle (on 15 %), increase of specific growth rate, infringement of correlation between separate physiological parameters (ratio of various cell cycle phases, and transition from linear in nonlinear area of dependence of specific growth rate from initial concentration of cells in a population).

The received data confirm nonthermal action of anthropogenous EMF on functioning of microbiological organisms, expand our representation about effects of action of EMF, allow to come nearer to understanding of mechanisms of protective EMF influence on biological systems, and to recommend use of this field for activation of intracellular pathways playing a role in protection of organism from influence of the adverse factors of an environment.

*Key words:* yeasts, radiofrequency electromagnetic field, physiology of growth, biochemical processes, stress-factors resistance.