

83-392



СООБЩЕНИЯ
ОБЪЕДИНЕННОГО
ИНСТИТУТА
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

4388/83

22/8-83

P19-83-392

М.Г.Аносова, Д.С.Давидков, В.И.Данилов,
Т.Д.Карвига, С.П.Пейкова,
Ю.В.Таран, А.И.Чепурной

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ
НА ПРОДУКЦИЮ ФАГА
В ЛИЗОГЕННОЙ КУЛЬТУРЕ
Escherichia coli K12(λ)

1983

ВВЕДЕНИЕ

Эксперименты по проверке гипотезы о влиянии на биологические объекты геомагнитного поля /ГМП/ и его флуктуаций, вызванных мощными хромосферными вспышками на Солнце, проводятся во многих лабораториях. Несмотря на достаточно большое количество косвенных данных, прямых доказательств наличия такого влияния нет. Имеющиеся описания отклонений от нормы жизнедеятельности биологических объектов в "магнитном вакууме" при проверке другими исследователями, как правило, не подтверждаются /1,2/.

В /3/ нами было показано отсутствие при коротких экспозициях влияния ослабления ГМП на физиологические свойства и генетическую изменчивость дрожжей. В настоящей работе представлены результаты исследований, выполненных с чувствительным биологическим объектом, неоднократно использовавшимся в качестве биологического дозиметра на искусственных спутниках Земли, - лизогенной культурой *Escherichia coli* K12(λ). В качестве количественной оценки влияния внешних условий брался уровень спонтанной продукции фага λ на всех фазах развития бактериальной популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ослабление геомагнитного поля. Для ослабления ГМП применялся магнитный экран, состоящий из восьми коаксиальных пермаллоевых цилиндров. Как показали измерения и расчеты, в цилиндрической полости диаметром 12 см на длине 20 см ГМП было ослаблено более чем в 10^6 раз. Рассеянное магнитное поле внутри экрана, вызванное его остаточной намагниченностью, составляло 0,5-2 нТ. Среднеквадратичная амплитуда флуктуаций остаточного поля не превышала 0,2 нТ в диапазоне частот $2 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-1}$ Гц /4/.

Контрольная установка по конструкции была идентична магнитному экрану, но с пенопластовыми цилиндрами вместо пермаллоевых. В этом устройстве поле составляло 45 мкТ.

Штаммы. В работе использовались следующие бактериальные штаммы: *E coli* K12 (λ)^r - лизогенный по фагу λ и не адсорбирующий его на своей поверхности /5/;

E coli C Str^r - устойчивый к стрептомицину /500 Е/мл/, индикаторный штамм для фага λ /6/.

Питательные среды. Для культивирования *E coli* K12 (λ)^r бралась жидкая минимальная среда М9 /7/. Для разведений - 0,85% NaCl.

Определение титра жизнеспособных бактерий и фагов производилось с использованием твердых сред. В первом случае - мясопептонной среды, содержащей 2% агара /2% МПА/, во втором - 1,3% МПА с добавлением $MgSO_4$ до 0,01 М - в качестве нижнего слоя, и 0,7% МПА - в качестве верхнего.

Микробиологические методы. Суточную культуру *E coli* K12 (λ)[†] разбавляли свежей питательной средой в соотношении 1:50 и разливали по 20 мл в 10 пробирок. Пять пробирок помещали в магнитный экран /опыт/, а пять - в контрольную установку. Культивирование проводилось при $37,0 \pm 0,1^\circ C$. Аэрацию и перемешивание культур осуществляли с помощью продува через суспензию клеток стерильного воздуха /10,0 \pm 2,5 л/ч/.

Как известно^{/8/}, культура бактерий, находящаяся в условиях ограниченного объема питательной среды, проходит в своем развитии следующие фазы: латентную, экспоненциального роста, стационарную и фазу гибели. Кривая роста бактерий в период экспоненциального роста описывается уравнением:

$$N(t_2) \approx N(t_1) \cdot e^{\mu(t_2 - t_1)}, \quad /1/$$

где $N(t)$ - концентрация клеток в момент времени t , μ - удельная скорость размножения. Титр фага можно описать уравнением:

$$n(t_2) \approx \frac{A\alpha N(t_1) \cdot (e^{\mu(t_2 - t_1)} - 1)}{\mu} + n(t_1), \quad /2/$$

где $n(t)$ - титр фага в момент времени t ; α - вероятность индукции фага в единицу времени на клетку; A - выход фага на одну бактериальную клетку.

Для количественной оценки фагопродукции использовалось отношение $n(t)/N(t)$. Как видно из /1/ и /2/, отношение $n(t)/N(t)$ в период экспоненциального роста при постоянстве внешних условий практически не изменяется: $\frac{n}{N} \approx \frac{A\alpha}{\mu}$. Воздействие индуцирующих факторов, приводящих к увеличению α , выражается и в увеличении отношения $\frac{n}{N}$. Однако, если воздействие, вызвавшее изменение α , прекратилось, то в течение последующих генераций отношение n/N довольно быстро вернется к прежней величине, и индуцирующее воздействие не сможет быть зарегистрировано. Так, например, если воздействие, вызвавшее увеличение α на порядок, прекратилось, отношение n/N в течение 4-5 генераций снизится до величины, в пределах ошибки не отличающейся от таковой до воздействия.

С учетом всего сказанного состояние культур в магнитном экране и в контрольной установке оценивалось не по конечным показателям, а по данным проб, взятых в течение всего опыта.

Забор проб производился с помощью шлангов, при этом пробирки из установок не вынимались. В латентной фазе, длящейся около 1 ч, анализ состояния культур производили через 20, 40 и 60 мин после начала инкубации; в фазе экспоненциального роста, длящейся в течение 10 ч, - через каждый час; в стационарной фазе и фазе гибели - через 1; 2 и 3 сут.

Для каждой пробы определяли ее оптическую плотность /ОП/. В соответствии с ОП производилось разведение и высев на твердые среды для определения числа жизнеспособных бактерий и титра свободного фага. Число жизнеспособных бактерий определяли по методу агаровых слоев^{/9/}, а титр свободного фага - с помощью стрептомициновой техники^{/6/}. Просчет выросших клонов и образовавшихся бляшек производили через сутки после посева. По полученным данным вычисляли показатель n/N и отношение этого показателя в опыте к таковому в контроле. Такое отношение носит название коэффициента индукции /КИ/ фага.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В течение 1982 года было поставлено 26 опытов. Из них 3 приходились на спокойные дни /индекс геомагнитной возмущенности $C = 0$ /; 20 - на возмущенные / $C = 1$ / и 3 - на сильно возмущенные / $C = 2$ /.

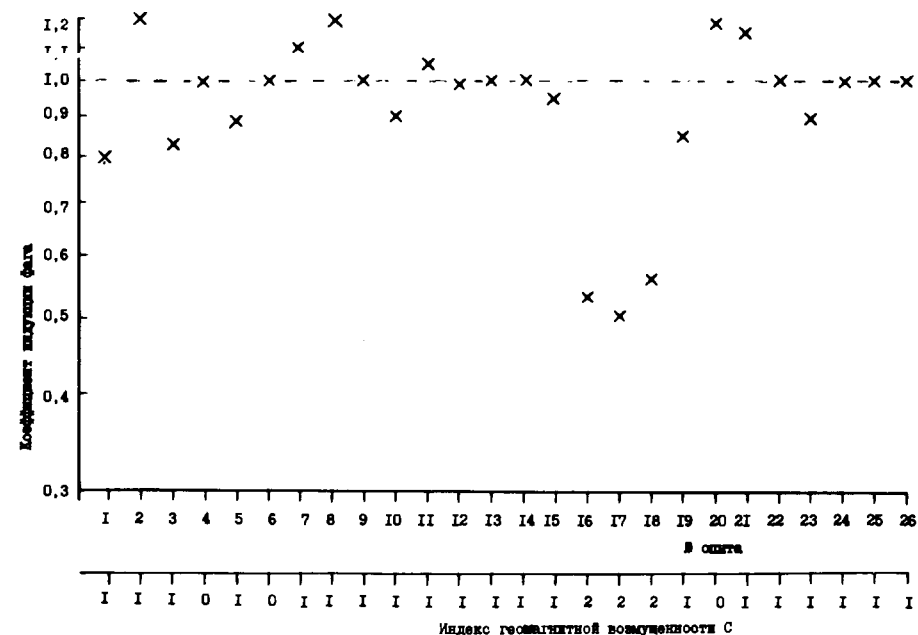


Рис.1. Коэффициент индукции фага λ /объяснение в тексте/ в каждом из 26 опытов. Внизу указаны индексы геомагнитной возмущенности дня опыта.

В течение каждого отдельного опыта КИ оставался практически постоянным. Усредненные данные для каждого из 26 опытов приведены на рис.1. В зависимости от величины КИ эти опыты можно разделить на две группы. Группа опытов, проведенных в спокойные и возмущенные дни, характеризуется в пределах небольшого разброса совпадением результатов по культивированию бактерий в магнитном экране и в контрольной установке. Как показано на рис.2, экранирование от ГМП в этих случаях не сказывалось ни на скорости размножения бактерий /А/, ни на их фагопродукции /В/. Другая группа опытов, проведенных в дни с сильными геомагнитными возмущениями /С = 2/, дала другие результаты. Как видно из

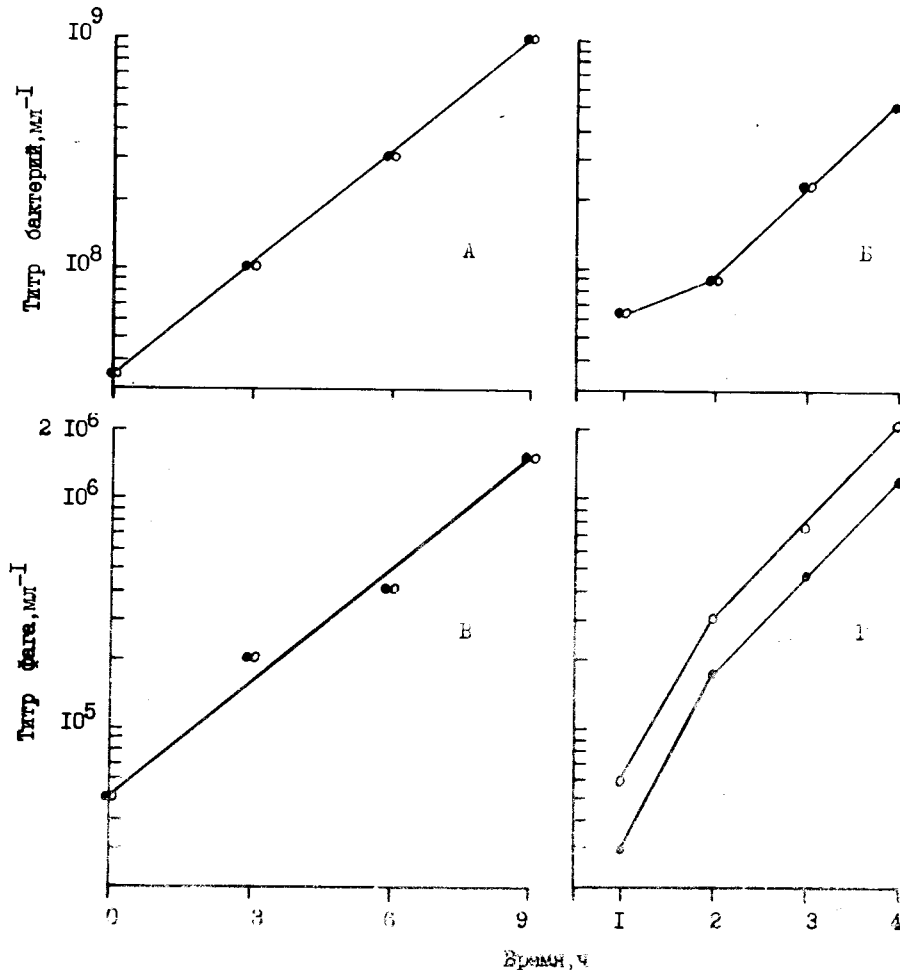


Рис.2. Кривые роста бактерий и количества свободного фага: А,В - в опыте №9 /С = 1/; Б,Г - в опыте №13 /С = 2/. ○ - в контрольной установке, ● - в магнитном экране.

рис.2, в этих случаях выход бактерий в магнитном экране и в контроле был одинаковым /Б/, в то время как выход фага в контроле был примерно вдвое большим, чем при экранировании от флуктуаций ГМП. Характерно, что этот эффект наблюдался лишь в течение экспоненциальной фазы развития культуры.

Если приведенные выше результаты подтверждаются в последующих экспериментах, это будет означать, что геомагнитная обстановка существенно влияет на индукцию фагов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Becker R.O. Med. Electron and Biol.Enging., 1963, v. 1, 2, p. 293.
2. Beisher D.S. Growth Staphilococcus aureus in a null magnetic field environment. NAMI, Pensacola, Florida, 32512, April 1970.
3. Давидков Д.С. и др. ОИЯИ, Р19-83-221, Дубна, 1983.
4. Давидков Д.С. и др. ОИЯИ, Р13-81-586, Дубна, 1981.
5. Левашев В.С. и др. ЖМЭИ, 1974, №2, с. 20.
6. Bertani G. J.Bacteriol. 1951, 62, p. 3.
7. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. "Мир", М., 1976, с. 395.
8. Стейнер Р. и др. Мир микробов. "Мир", М., 1981, т. 2, с. 41.
9. Gratia A. Ann. Inst.Pasteur, 1936, 576, p. 652.

Рукопись поступила в издательский отдел
10 июня 1983 года.

Аносова М.Г. и др.

P19-83-392

Влияние магнитного экранирования на продукцию фага в лизогенной культуре *Escherichia coli* K12(λ)

Исследовано влияние ослабления магнитного поля Земли на рост и спонтанную продукцию фага λ в лизогенной культуре *Escherichia coli* K12 (λ)^r на всех фазах развития бактериальной популяции. В спокойные и возмущенные дни /индексы магнитной возмущенности $C = 0$ и 1 / не было обнаружено достоверной разницы между культурами, находившимися в магнитном экране и подвергавшимся воздействию геомагнитного поля, ни по числу жизнеспособных бактерий, ни по количеству свободного фага. Обсуждается возможность влияния на фагопродукцию флуктуаций геомагнитного поля в сильно возмущенные дни / $C = 2$ /.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Сообщение Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1983

Anosova M.G. et al.

P19-83-392

Influence of Magnetic Shielding on Phage Production in *Escherichia coli* K12 (λ) Lysogenic Culture

Influence of relaxation of Earth's magnetic field on the growth and λ phage's spontaneous production of lysogenic culture *Escherichia coli* K12 (λ)^r was investigated over all phases of the bacterium population development. No reliable difference between cultures, placed into the magnetic shield and effected by the geomagnetic field, neither in number of viable bacterium nor in quantity of free phage during quiet and disturbed days (indexes of geomagnetic disturbances $C = 0$ and 1) was discovered. The possibility of geomagnetic fluctuations on phage production during overdisturbed days ($C = 2$) is discussed.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Communication of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1983

Перевод О.С.Виноградовой.