

MODIFICAREA PROPRIETĂȚILOR BIOSINTETICE ALE DROJDIILOR PIGMENTATE SUB INFLUENȚA UNDELOR MILIMETRICE DE INTENSITATE JOASĂ

Elena MOLODOI

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

A study regarding the influence of the low intensity milimetric radiation on the biosynthesis process of the carotenoids by the *Rhodotorula gracilis* CNMN-YS-03 strain was carried out. The investigations drawn to determine the biosynthetic ability of the pigmented yeast under the influence of the electromagnetic waves of low intensity allowed to elaborate new procedures which allow to increase the yeast productivity and an increased outcome of carotenoids.

Introducere

Lucrări în vederea studierii acțiunii radiației electromagnetice de intensitate joasă în diapazon milimetric asupra obiectelor biologice (microorganisme, plante, țesuturi și organe umane) se desfășoară intens în ultimii 25 de ani în multe centre științifice din diferite țări (Rusia, Ucraina, Germania, Italia etc.). Undele milimetrice de intensitate joasă ocupă diapazonul lungimii de undă λ –1-10 mm și pot fi raportate la genul de iradiere neionizantă.

Dintre ființele vii, microorganismele au fost primele obiecte biologice care s-au utilizat pentru studierea efectelor de interacțiune cu undele milimetrice de intensitate joasă [1]. Mai târziu, în calitate de obiecte pentru cercetare au fost alese celulele vii și elementele structurale separate ale celulei [2-4]. Materiale originale au fost obținute la iradierea cu unde milimetrice asupra drojdiilor de panificație și a celor de bere. La acțiunea radiației milimetrice asupra drojdiilor *Saccharomyces cerevisiae* a fost evidențiată posibilitatea schimbării calităților culturale, citologice, fiziologice și păstrarea acestora în mai multe generații [5].

Efectul acțiunii radiației milimetrice este determinat, conform mai multor publicații, de obiectul biologic, durata și regimul de emisie [6-7]. Interes deosebit prezintă efectul acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă în dependență de durata de iradiere.

Conform celor expuse, interes deosebit prezintă investigarea proprietăților biosintetice ale tulpinilor de drojdie pigmentate sub influența undelor milimetrice și elaborarea procedurilor noi de sporire a productivității drojdiilor și de obținere a cantităților sporite de carotenoide.

Material și metode

Ca obiect de studiu a servit tulpina de drojdie pigmentată *Rhodotorula gracilis* CNMN-ys-03 – producător de carotenoide, inclusiv β -caroten, torulină, torularodină, păstrată în Colecția de Microorganisme Neapatogene. Cultivarea s-a realizat submers în baloane Erlenmayer cu capacitate de 1 l ce conțineau 0,2 l de mediu nutritiv MZ-30 cu următoarea compoziție, g/l: KH_2PO_4 –1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ –0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ urme; CaCl_2 –1,0; NaCl –0,5; glicerină - 40,0; melasă – 20,0; extract de porumb – 1,0; apă de robinet - 1 l; pH = 5,5.

Tratării cu unde milimetrice de intensitate joasă a fost supusă suspensia de germeni (1 mlrd/ml) crescuți timp de 8 zile pe malț-agar înclinat. Ulterior, suspensia de germeni s-a adăugat în volum de 5% la mediul must de malț. Materialul semincer cultivat timp de 3 zile, în concentrație de 5% în bază volumetrică, se inoculează în mediul nutritiv steril.

Ca generator de unde milimetrice de intensitate joasă a fost utilizat dispozitivul „Iavi-1” ce emite unde cu $\lambda = 5,6$ mm în regim periodic și continuu, oferit cu amabilitate de academicianul D. Ghițu. Durata tratării a constituit 5, 30 și 60 minute.

Probele au fost cultivate pe agitator rotativ (180-200 rot/min.), la temperatura de 26°C, cu iluminare de 12-15 mii ergi/cm², timp de 5 zile.

Separarea biomasei de lichidul cultural s-a efectuat prin centrifugare. Cantitatea biomasei levuriene s-a determinat prin cântărire [8]. Conținutul de pigmenți carotenoidici s-a determinat spectrofotometric [9-10].

Rezultate și discuții

Investigațiile influenței duratei de tratare cu unde milimetrice de intensitate joasă asupra productivității tulpinii și biosintezei carotenoidelor au demonstrat că valoarea maximală a productivității – 10,64 g/l (ceea ce depășește cu 14,56% mărtoșul) a fost fixată în varianta supusă tratării timp de 5 minute (Fig.1).

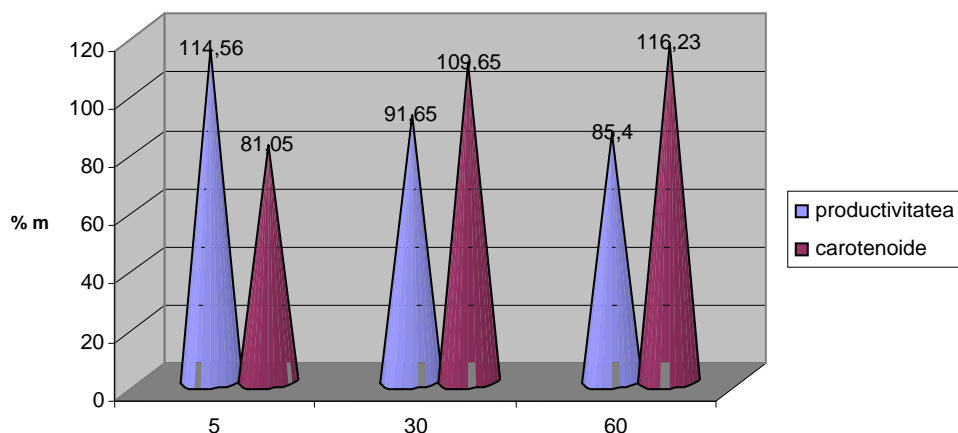


Fig.1. Influența duratei de emisie a undelor milimetrice de intensitate joasă asupra productivității și biosintezei carotenoidelor la drojdia *Rhodotorula gracilis* CNMN-ys-03.

Mărirea timpului de expoziție a tulpinii la unde milimetrice de intensitate joasă până la 30 sau 60 minute determină reducerea productivității, aceasta constituind doar 8,51 și, respectiv, 7,93 g/l (o micșorare cu 8,35% și, respectiv, cu 14,6% față de varianta mărtoș).

Analizând rezultatele conținutului de pigmenți carotenoidici în biomasa drojdiei, putem menționa că procesul de carotenogeneză se amplifică o dată cu mărirea duratei de emisie a undelor milimetrice de intensitate joasă. Iradierea timp de 5 minute duce la o scădere a procesului biosintetic pentru drojdia *Rhodotorula gracilis* CNMN-ys-03, conținutul carotenoidelor aflându-se cu 18,05% mai redus față de mărtoș (Fig.1). Cele mai înalte valori ale conținutului de carotenoide au fost stabilite la probele tratate cu unde milimetrice de intensitate joasă timp de 60 minute (cu 16,23% mai mult față de mărtoș).

S-a stabilit că activitatea de biosinteză a β -carotenului, torulinei și torularodinei de asemenea este influențată de durata emiterii undelor milimetrice de intensitate joasă. Conform rezultatelor obținute, un efect stimulator vizibil (cu 15,25% și, respectiv, cu 17,85% mai mult față de mărtoș) a sintezei reprezentanților grupei de pigmenți roșii – torulinei și torularodinei – s-a înregistrat la probele tratate cu radiații milimetrice de intensitate joasă timp de 60 minute (Fig.2).

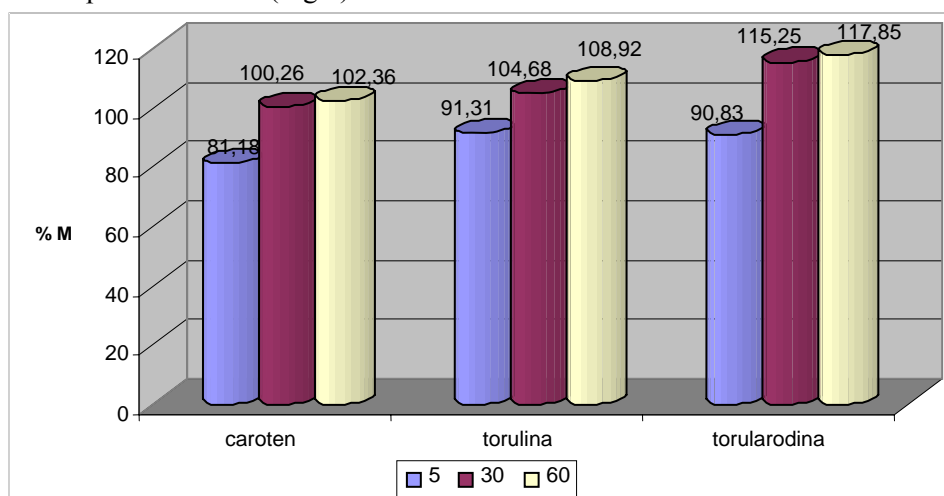


Fig.2. Influența duratei de emisie a undelor milimetrice de intensitate joasă asupra biosintezei β -carotenului, torulinei și torularodinei la drojdia *Rhodotorula gracilis* CNMN-ys-03.

Rezultatele pozitive referitor la aplicarea undelor milimetrice de intensitate joasă prezintă interes practic și ne permite să propunem procedee noi de iradiere a drojdiei *Rhodotorula gracilis CNMN-ys-03* pentru a spori cantitatea de biomasă sau de pigmenți carotenoidici.

Procedeele de sporire a productivității drojdiei

Suspensia de germeni a culturii *Rhodotorula gracilis CNMN-ys-03*, crescută timp de 7-8 zile în tuburi cu must de malț agarizat, este pregătită prin spălare cu ser fiziologic. Suspensia de germeni (concentrația germenilor 1 mlrd/ml) se supune acțiunii undelor milimetrice de intensitate joasă ($\lambda = 5,6$ mm) emise în regim periodic, timp de 5 minute. După iradiere, suspensia de germeni este transferată în baloane Erlenmayer cu 0,1 l must de malț. Cultivarea drojdiei se efectuează 3 zile. Ulterior, materialul semincer în concentrație de 5% în bază volumetrică se inoculează în mediul nutritiv steril. Cultivarea drojdiilor se efectuează în condiții submerse în baloane Erlenmayer, pe agitator, 180-200 rot/min., la temperatura de 26°C, cu iluminare de 12-15 mii ergi/cm², timp de 5 zile.

Avantajul procedurii constă în majorarea productivității drojdiei cu 14,56% față de martorul neiradiat.

Procedeele de sporire a conținutului de carotenoide

Constă în tratarea suspensiei de germeni (concentrația germenilor 1 mlrd/ml) a culturii *Rhodotorula gracilis CNMN-ys-03* cu unde milimetrice de intensitate joasă ($\lambda = 5,6$ mm) emise în regim periodic, timp de 60 minute. Condițiile de cultivare a drojdiei sunt similare procedurii I.

Avantajul procedurii constă în majorarea conținutului de pigmenți carotenoidici în biomasa drojdiei cu 16,23% față de martorul neiradiat.

Concluzii

1. Undele milimetrice de intensitate joasă ($\lambda = 5,6$ mm), emise în regim periodic, manifestă efect regulator asupra productivității și carotenogenezei drojdiei *Rhodotorula gracilis CNMN-ys-03*.

2. Iradierea drojdiei *Rhodotorula gracilis CNMN-ys-03* cu unde milimetrice de intensitate joasă ($\lambda = 5,6$ mm), emise în regim periodic, timp de 5 minute, stimulează productivitatea cu 14,56%, iar iradierea drojdiei timp de 60 minute intensifică biosinteza carotenoidelor cu 16,23%.

3. Cantitatea maximală de torulină și torularodină (cu 15,25% și, respectiv, cu 17,85%) în biomasa drojdiei *Rhodotorula gracilis CNMN-ys-03* s-a obținut la aplicarea undelor milimetrice de intensitate joasă ($\lambda = 5,6$ mm), emise în regim periodic, timp de 60 minute.

4. În baza studiului modificărilor proprietăților biosintetice sub influența iradierii milimetrice se propun două procedee noi: de sporire a productivității drojdiei *Rhodotorula gracilis CNMN-ys-03* și de obținere în cantități sporite a pigmenților carotenoidici.

Referințe:

1. Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедева Н.Н. Миллиметровые волны и живые системы. - Москва: Сайнс Пресс, 2004.
2. Смолянская А.З., Виленская Р.Л. Действие электромагнитного излучения ММ-диапазона на функциональную активность некоторых генетических элементов бактериальных клеток // УФН. -1973. - Т.110. С.458.
3. Бецкий О.В., Кислов В.В. Волны и клетки. - Москва: Знание. Серия. "Физика". -1990. - №2. - С.63.
4. Реброва Т.Б. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на жизнедеятельность микроорганизмов // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - 1992. - №1. - С.37-447.
5. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. - Москва: Радио и связь, 1991, с.168.
6. Briuchova A.K., Buyak L.I., Zinovieva N.A. et al. Some peculiarities of ENF radiation influence on microorganisms. Medico-biological aspects of mm-waves / Coll. of Papers. - Moscow, IRE RAS, 1987, p.96-103.
7. Тамбиев А.Х., Кирикова Н.Н. Перспективы применения электромагнитного излучения миллиметрового диапазона в фотобиотехнологии // Миллиметровые волны в биологии и медицине. -1992. -№1.
8. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. - Москва: Изд-во МГУ, 1995. - 244 с.
9. Вакулова Л.А., Кузнецова В.П., Колот Ф.Б., Бабьева И.П. Быстрый метод количественного определения β -каротина у микроорганизмов // Микробиология. -1964. - Т.XXXIII. - Вып.6. - С.1062-1064.
10. Терешина В.М., Меморская А.С., Феофилова Е.П. Экспресс-метод определения содержания β -каротина и ликопина // Микробиология. -1994. - Т.63. - Вып.6. - С.1111-1116.

Notă: Investigațiile au fost îndeplinite cu suportul Consiliului Suprem pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică, Proiectul „Noi metode de diagnostic și tratament direcționate în baza acțiunii radiației milimetrice coerente asupra obiectelor medico-biologice”.

Prezentat la 24.01.2007