

ELEKTROMANYETİK ALANIN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* MAYA HÜCRELERİNİN ÜREMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN SPEKTROFOTOMETRİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİEYYÜP GÜLBANDILAR¹AYSEL GÜLBANDILAR²**Ö Z E T**

Bu çalışmada 15 Hz'lik pulslu elektromanyetik alanın (PEMF) *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Sabouraud sıvı ortamına ekilen *S. cerevisiae* maya hücreleri, 1.1 mT'lık PEMF etkisinde 30°C'de etüvde inkübe edilmiştir. Kontrol grubundaki maya hücreleri ise manyetik alanın etkisine bırakılmamıştır. Ekimden sonraki 6-29. saatler arasında her saatte, deney ve kontrol gruplarından örnek alınarak spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel inceleme sonunda uyum dönemi (ilk altı saat) ile statik dönemde (26. saatten sonra) deney ve kontrol gruplarının absorpsiyon değerleri arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Ekimden sonraki altıncı ve 26. saatler arasında manyetik alan etkisinde üreyen hücrelerin absorpsiyon değerlerinin kontrol grubundan daha az olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Deney ve kontrol gruplarındaki maya hücrelerinin jenerasyon süreleri arasında önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Sonuçlar, manyetik alanın maya hücre üremesinin uyum döneminde uzamaya neden olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Pulslu elektromanyetik alan (PEMF), üreme, *Saccharomyces cerevisiae*, spektrofotometre

SPECTROPHOTOMETRIC EVALUATION OF THE GROWTH OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* YEAST CELLS UNDER THE ELECTROMAGNETIC FIELD**SUMMARY**

In this study, the effects of 15 Hz-PEMF on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells have been investigated. *S. cerevisiae* yeast cells inoculated in Sabouraud's liquid medium, were incubated in the incubator at 30°C under 1.1 mT PEMF effect. Yeast cells in control group was not under the magnetic field. Samples from the experimental group and control group were taken at one hour intervals between six to 29 hours after the inoculation and were measured by spectrophotometer.

There were no statistical difference between control and experimental group on the base of adaptation (first 6 hours) and static phase (after 26 hours). The absorbances of the cells which were grown under magnetic field between six and 26 hours were lower than that of the control groups and the results were statistically significant. There were no significant difference between the generation periods in experimental and control groups. Results showed that magnetic field led time extension in the adaptation phase of the yeast cells.

Key Words: Pulsed electromagnetic field (PEMF), growth, *Saccharomyces cerevisiae*, spectrophotometer

GİRİŞ

Manyetik alanın mikroorganizmalar üzerine etkisini amaçlayan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda değişik mikroorganizmalar ve

manyetik alan parametreleri kullanılmıştır. Parametrelere bağımlı olarak, manyetik alanın mikroorganizmaların üremelerini azaltıcı, artırıcı ve hiç bir etkisinin olmadığını gösteren farklı

¹Gazi Üni. Teknik Eğitim Fakültesi, Elektronik - Bilgisayar Eğitim Bölümü, Ankara - TÜRKİYE

²Anadolu Üni. Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir - TÜRKİYE

Geliş tarihi : 19.11.1998 - Kabul edilmiş tarihi : 24.09.1999

Yazışma Adresi : Aysel GÜLBANDILAR, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Eskişehir - TÜRKİYE

çalışma sonuçları bulunmaktadır. 460 mT'lik manyetik alanın *Saccharomyces cerevisiae* mayasının, 1500 mT'lik alanın *Serratia marcescens* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerinin ve 2 mT'lik alanın ise *Escherichia coli*'nin üremesini azaltıcı etkisinin olduğu bulunmuştur (1,2,3). Bununla birlikte *Bacillus subtilis*'in 0.8 ve 2.5 mT'lik manyetik alan uygulanmasıyla hücre sayısında artış gözlenmesine karşılık *Saccharomyces cerevisiae* mayasına uygulanan 1.5 T'lik manyetik alanın ve Burgundy şarap mayalarına uygulanan homojen 1100 mT'lik manyetik alanın hücre sayılarında bir artışa neden olmadığı gözlenmiştir (4,5,6). Ayrıca Kimball 0.4 mT'lik heterojen manyetik alanın uygulama süresine bağımlı olarak, Burgundy şarap mayalarının tomurcuklanmasının etkilenmediği ve bunların tomurcuklanmalarında azalma olduğunu rapor etmiştir (6). Moore ise değişik mikroorganizmalar üzerinde 0.5-90 mT'lik manyetik alanın üremeyi azaltıcı ve arttırıcı etkisinin bulunduğunu açıklamıştır (7). Bu çalışmada ELF (Extremely Low Frequency) pulslu elektromanyetik alanın *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda, *Saccharomyces cerevisiae* (Baker's) maya hücrelerinin üremesini sağlamak üzere Sabouroud's dextrose (SD) agar (Oxoid CM41) ile Sabouroud's sıvı ortam (Oxoid CM147) besiyerlerinden yararlanılmıştır.

Başlangıçta katı besiyerine ekilen kuru maya hücreleri 30°C sıcaklıkta 24 saat süre ile inkübe edilerek burada üretilmiş, daha sonra bu hücreler stok kültür olarak adlandırığımız sıvı Sabouroud besiyerine aktarılmıştır. Elde edilen bu stok hücre kültüründen eşit sayıda (5.4 ± 0.09) $\times 10^5$ hücreler alınarak içinde sıvı besiyeri (6 ml) bulunan tüplere pasajlama yapılmıştır.

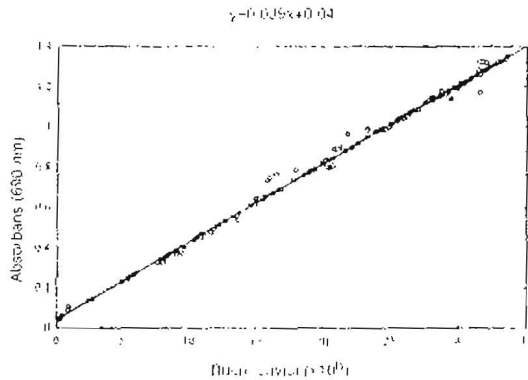
Çalışmamızda 15 Hz frekanslı 1.1 mT'lik pulslu elektromanyetik alan kullanılmıştır. Manyetik alanın hücreler üzerine uygulanmasında, karşılıklı yerleştirilen bir çift

bobinden yararlanılmıştır. Deney tüpleri manyetik alana dik konumda konularak 30°C'de inkübe edilmiştir.

Eşit sayıda hücre içeren tüplerin bir kontrol grubuna manyetik alan uygulanmazken, diğer grup ise inkübasyon süresince manyetik alan etkisinde bırakılmıştır. Inkübasyona başladıktan sonraki her saatte kontrol ile deney gruplarının absorbans değerleri saptanmıştır. Absorbans değerlerinin zamanla değişimini belirlemek üzere, deney süresi, altıncı saatten itibaren birer saatlik aralar ile 29. saate kadar arttırılmıştır. Deneyler dokuz defa tekrar edilmiştir.

Hücrelerin üremeleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Her saatte alınan örnekler önce +4°C'de 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj (Hermle ZK 510) edilerek çöktürülmüştür. % 0.9'lük serum fizyolojik ile iki defa yıkanmıştır. Serum fizyolojik kör olarak seçilerek, 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimatzu UV-120-01) absorbans değerleri okunmuştur (8).

Standart eğrinin hazırlanması amacıyla, belirli zaman aralıklarında absorbansları ölçülmüş, aynı anda kültürel sayımları yapılmış, böylece çeşitli absorbans değerlerine karşılık gelen hücre sayıları belirlenmiş, tüm değerler grafikte yerleştirilerek standart eğri elde edilmiştir (Şekil 1). Standart eğrinin çiziminde istatistik hesaplamalar ile elde edilen regresyon eğrisi kullanılmıştır (8).



Şekil 1. Standart eğri ve regresyon denklemi

Standart eğri yardımıyla ise absorbands değerlerine karşılık gelen hücre sayıları belirlenmiştir.

Matematiksel İncelemeler

Hücrelerin üreme eğrisindeki logaritmik üreme dönemi dikkate alınarak jenerasyon süresi hesaplanmıştır. Öncelikle jenerasyon sayısı;

$$n = \frac{\log N_s \cdot \log N_0}{\log 2} \quad (1)$$

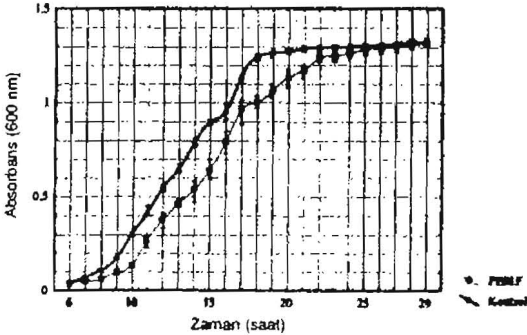
denkleminde hesaplanmıştır. Burada N_s herhangi bir andaki hücre sayısını, N_0 başlangıçtaki hücre sayısını ve n ise jenerasyon sayısını göstermektedir. Denklem 1'den yararlanarak bir jenerasyon için geçen süreyi, yani jenerasyon süresi;

$$T = \frac{t}{n} \quad (2)$$

denkleminde hesaplanmıştır. Burada T jenerasyon süresini ve t ise N_0 sayıdaki hücrenin N_s sayıdaki hücreye ulaşmaya kadar geçen süreyi göstermektedir (9).

BULGULAR

Farklı üreme süreleri için elde edilen hücre sayıları Şekil 2'de görülmektedir.

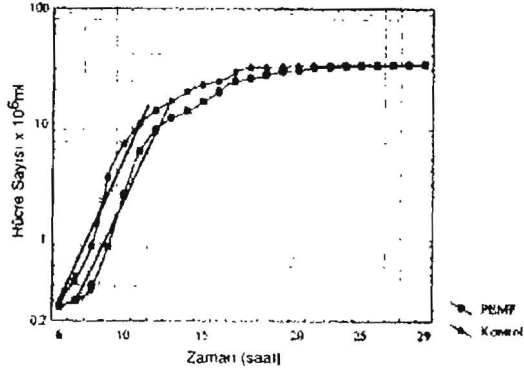


Şekil 2. Absorbans değerinin zamana değişimi

Şekil 2'deki sonuçlar, her üreme süresi için, dokuz ayrı deneyin verilerini göstermektedir.

Hücrelerin üreme ortamına yerleştirilmesini izleyen yaklaşık ilk altı saate kadar olan süre, uyum dönemine karşılıktır ve bu sürede absorbands değerleri önemli ölçüde değişmemektedir ($p > 0.05$). Benzer bir durumla, ortamdaki besin kaynağının tükenmeye başladığı ve hücre sayısının bir doygunluk değerine ulaştığı 27. saatten itibaren karşılaşılmaktadır. Uyum ve doygunluk dönemi dışındaki altı ile 26. saatler arasında, manyetik alan içinde üreyen örneklerin absorbands değerleri kontrol grubununkinden küçük ve bulunan sonuç istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.001$).

Standart eğri yardımıyla absorbands değerlerine karşılık gelen hücre sayılarının logaritmalarının zamana göre değişimi Şekil 3'de çizilmiştir.



Şekil 3. Hücre sayısındaki artışın zamanla değişiminin yarı logaritmik skaladaki görünümü

Bu şekilde grafiklerin başlangıç bölümlerinin doğrusal olduğu görülmektedir. Logaritmik üreme dönemi olarak adlandırılan bu bölge kullanılarak jenerasyon süreleri de hesaplanabilir (Denklem 2). Böyle bir hesaplama sonucu bulunan jenerasyon süreleri Çizelge 1'de görülmektedir.

Jenerasyon süreleri arasında yapılan karşılaştırma sonucunda kontrol grubu ile deney (PEMF) grubu verileri arasında istatistiksel açıdan

anlamli bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu sonuca göre, manyetik alan varlığında hücre çoğalması, zaman skalasında ötelenme dışında, kontrol grubu ile aynı değişime sahiptir. Kontrol ve PEMF gruplarına ait eğrilerin birbirine paralel olması (Şekil 3) nedeniyle yukarıdaki sonuçların elde edilmesi gerektiği çok açıktır.

Çizelge 1. Jenerasyon süresinin karşılaştırılması

| | Kontrol Grubu | PEMF | Karşılaştırma |
|------------------|---------------|-----------|---------------|
| T(saat) Denk.(2) | 0.89±0.05 | 0.94±0.05 | $p>0.05$ |

TARTIŞMA

Çalışmamızda 15 Hz'lik 1.1 mT'lık pulslu elektromanyetik alanda üreyen *S. cerevisiae* maya hücrelerinin logaritmik üreme dönemindeki absorbans değerlerinin kontrol grubundan daha az olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte deney ve kontrol gruplarının jenerasyon süreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu da deney ve kontrol gruplarının aynı hızla ürediklerini göstermektedir. Bu düşüncemizi, Şekil 3'deki üreme eğrilerinin gösterdiği paralellik de doğrulamaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin uyum döneminin uzamasına neden olduğu ve buna bağlı olarak da logaritmik üreme döneminde zaman skalasında bir kaymaya neden olduğunu göstermektedir.

DeneySEL çalışmamız sonucunda, 1.1 mT'lık pulslu elektromanyetik alan etkisinde üreyen maya hücrelerinin logaritmik üreme döneminde absorbans değerinin daha az olduğu bulunmuştur. Yine *S. Cerevisiae* mayası üzerine yapılan bir çalışmada 460 mT'lık manyetik alanın inhibitör etkisi ve 27.12 MHz frekanslı pulslu elektromanyetik alanın *E. coli* hücrelerinin üremesine etkisizliğinin logaritmik üreme döneminde meydana geldiği belirtilmiştir (1,10). Bununla birlikte beş bakteri ve bir maya hücresi üzerinde yapılan diğer bir çalışmada çeşitli manyetik alan değerlerinin inhibitör ve

uyarıcı etkileri logaritmik üreme döneminde gözlenmiştir (7). Fakat 0.4 mT'lık heterojen manyetik alanın maya hücrelerinin tomurcuklanmasında oluşturduğu azalmayı sadece uyum döneminin sonunda görüldüğünü belirten çalışmalar da bulunmaktadır (6).

Yaptığımız değerlendirmeler sonucunda deney ve kontrol gruplarındaki maya hücrelerinin jenerasyon süreleri arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Gos ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada düşük şiddetli ve yüksek frekanslı elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin logaritmik dönemde hücre bölünmesi üzerine etkisini araştırmışlardır(11). Çalışmalarında çok yüksek frekanslı, 0.5 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ -50 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ aralığındaki düşük şiddetli elektromanyetik alan kullanmışlardır. Elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin bölünmelerinin G_1 ve S fazlarında her hangi bir etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Bu bulgularda bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Fakat 50 Hz ve 15,66 Hz frekanslı 480 μT , 800 μT ve 1,5 T'lık manyetik alanların *E. coli* hücrelerinin ortalama jenerasyon sürelerini azalttığı tespit edilmiştir (3).

S. cerevisiae maya hücresi üzerine uygulanan 460 mT'lık manyetik alanın, *S. aureus* ve *S. marcescens* bakterilerine uygulanan 1500 mT'lık manyetik alanın, Burgundy şarap mayasına belirli sürelerde uygulanan 0.4 mT'lık heterojen manyetik alanın, *Micrococcus denitrificans*'a uygulanan 500 - 800 mT'lık alanın, *Trichomonas vaginalis*'e uygulanan 220, 320, 420 mT'lık manyetik alanın, çeşitli bakteri ve mayalara uygulanan 30-60 mT'lık manyetik alanların bizim bulgularımıza benzer olarak hücre sayılarının daha az olduğunu ortaya koymuşlardır (1,2,6,9). Fakat hücre sayısının az oluşunun nedenini manyetik alanın üremeyi yavaşlatıcı bir etkisi olarak yorumlamışlardır.

Bununla birlikte manyetik alanın bazı dozlarda çeşitli bakteri ve maya hücreleri üzerinde uyarıcı etkisinin de olduğu gösterilmiştir. *T. vaginalis* ile yapılan bir çalışmada 46 mT ve

120 mT'lık manyetik alanın, bazı bakteri ve maya hücrelerinde 15 mT'lık manyetik alanın üremeyi uyarıcı etkisinin olduğu bulunmuştur (7). Bununla birlikte *Bacillus subtilis* hücreleri üzerine uygulanan 0.8 ve 2.5 mT'lık manyetik alanın üremeyi artırıcı etkisinin olduğu ifade edilmiştir (4). Ayrıca 27 MHz frekanslı manyetik alanın *Salmonella typhimurium* hücrelerinin yüksek konsantrasyonlarda arttırdığı tespit edilmiştir (12).

Burgundy şarap mayası ile yapılan 1100 mT'lık homojen manyetik alanın ve bazı etkileşim sürelerinde 0.4 mT'lık heterojen manyetik alanın maya hücrelerinin üremesi üzerine etkisinin olmadığını bulmuşlardır (6). Benzer olarak 27.12 MHz frekanslı pulslu elektromanyetik alanın *Escherichia coli* hücrelerinin, 1.5 T'lık manyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin üreme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını gösterilmiştir (5,10). Ayrıca *Escherichia coli* ve 25 değişik bakteri üzerinde uygulanan 300 mT'lık manyetik alanın üreme üzerine etkisinin bulunmadığı saptanmıştır (7).

Çalışmamızda *S. cerevisiae* mayasının logaritmik üreme döneminde jenerasyon süresi 0.89 ± 0.05 saat olarak bulunmuştur. Başka bir kaynakta ise bu mayanın logaritmik üreme döneminde jenerasyon süresinin 1.73 ile 2.42

saat arasında değiştiği ifade edilmiştir (13). Bilindiği gibi maya hücreleri bir çok noktadan tomurcuk vererek çoğalmaktadır. Biz ise hesaplamamızda hücrelerin ikiye katlanarak çoğaldıklarını kabul ettik. Bu sebeple bizim bulduğumuz jenerasyon süresinin daha düşük olması beklenen bir sonuçtur.

SONUÇ

Çalışmamızda 15 Hz'lik 1.1 mT'lık pulslu elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücresinin uyum ve doyumluk dönemlerinde bir etkisinin olmadığını, logaritmik üreme dönemindeki absorpsiyon değerlerinin daha düşük olduğunu tespit ettik. Fakat aynı hücrelerin jenerasyon sürelerini incelediğimizde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirleyemedik. Bu bulgularımızda bize logaritmik dönemdeki hücre artış oranının aynı olduğunu göstermektedir. Logaritmik dönemdeki absorpsiyon değerinin düşük olması ise elektromanyetik alanın etkisi ile hücrelerin uyum döneminde uzamaya neden olduğu sonucunu ortaya koymaktadır. Uyum dönemindeki uzama da logaritmik üreme döneminde zaman skalasında kaymaya neden olmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1-Nostran FEV, Reynolds RJ, Hedrick HG. Effects of a high magnetic field at different osmotic pressure and temperatures on multiplication of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology* 1967; 15: 561-563.
- 2-Gerencser VF, Barnothy F, Barnothy JM. Inhibition of bacterial growth by magnetic fields. *Nature* 1962; 196: 539-541.
- 3-Aarholt E, Flinn EA, Smith CW. Effects of low-frequency magnetic field on bacterial growth rate. *Phys Med Biol* 1981; 26: 613-621.
- 4-Ramon C, Martin JT, Powell MR. Low-level, magnetic-field-induced growth modification of *Bacillus subtilis*. *Bioelectromagnetics* 1987; 8: 275-282.
- 5-Malko JA, Constantinidis D. Search for influence of 1.5 Tesla magnetic field on growth of yeast cell. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 495-501.
- 6-Kimball GC. The growth of yeast in magnetic field. *J Bacteriol* 1938; 35: 109-122.
- 7-Moore RL. Biological effects of magnetic fields: Studies with microorganisms. *Canadian Journal of Microbiology* 1979; 25: 1145-1151.
- 8-Gürçün V, Halkman AK. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. İkinci baskı, Ankara: Gıda Teknolojisi Yayınları. 1990: 46-49.

- 9-Öner M. Genel Mikrobiyoloji, Üçüncü baskı, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1996: 56-60.
- 10-Badea MA, Vasilco R, Sandru D, Paslaru L, Jieanu V, Comorsan S. The effect of pulsed electromagnetic field (Diapulse) on cellular systems. Rom J Physiol 1993; 30: 65-71.
- 11-Gos P, Elcher B, Kohli J, et al. Extremely high frequency electromagnetic fields at low power density do not affect the division of exponential phase *Saccharomyces cerevisiae* cells. Bioelectromagnetics 1997; 18: 142-155.
- 12-Hamnerius Y, Rasmuson Å, Rasmuson B. Biological effects of high-frequency electromagnetic field on *Salmonella typhimurium* and *Drosophila melanogaster*. Bioelectromagnetics 1985; 6: 405-414.
- 13-Deacon JW. Introduction to modern mycology. In: Wilkinson JF, ed : Basic Microbiology. Edinburgh: Blackwell Scientific Publication, 1980: 47-48.