

Реакция растительных организмов на воздействие квазимонохроматического света с различными длительностью, интенсивностью и длиной волны

А.В.Будаговский, Н.В.Соловых, О.Н.Будаговская, И.А.Будаговский

На примере различающихся по структурно-функциональным показателям растительных организмов показано, что их реакция на воздействие квазимонохроматического света лазерных источников не подчиняется дозовому закону Бунзена–Роско. Зависимость биологического эффекта от длительности облучения имеет многомодальный (многоэкстремальный) вид с чередующимися максимумами и минимумами стимуляционного эффекта. Такая закономерность проявляется в спектральных диапазонах, соответствующих фотоконверсии хромопротеидов фоторегуляторных систем, и связана, вероятно, с циклическими изменениями метаболической активности растительных клеток.

Ключевые слова: лазерное излучение, растительные организмы, длительность и интенсивность облучения, фоторегуляторные системы, ответные реакции, многомодальность.

1. Введение

Присутствие света является неперенным условием жизнедеятельности и эволюции растительных организмов. При его посредстве происходят синтетические, регуляторные, деструктивные, репарационные, адаптивные и другие процессы. Оптическое излучение контролирует важнейшие функции клеток, включая экспрессию генов [1]. Если фотосинтез изучен достаточно глубоко, то фоторегуляторные механизмы не столь очевидны. До сих пор остается неясным, каким образом единичные кванты света способны запускать быстрые и хорошо заметные превращения морфофизиологического состояния растений, как происходит трансформация оптического сигнала в химический и его усиление, какую биологическую роль играет собственное излучение живых организмов? Из большого количества дискуссионных вопросов можно выделить два наиболее противоречивых: связь величины ответной реакции с дозой поглощенного лазерного излучения и способность клеток реагировать на статистическую упорядоченность (когерентность) электромагнитных волн. Оба они играют важную роль в понимании механизма фоторегуляторных процессов. Первый вопрос будет рассмотрен в настоящей статье, второй – в следующей, являющейся ее продолжением.

Одна из первых попыток комплексного исследования сделана в серии работ, выполненных под руководством Т.И.Кару в начале 1980-х гг. На примере клеток HELA была проанализирована зависимость стимуляционного эф-

фекта «... от когерентности, дозы, длины волны и режима облучения» [2–4]. Изложенные в указанных публикациях методические подходы стали весьма популярными и использовались многими авторами применительно к различным биологическим объектам [2–7]. Несмотря на большое количество подобных работ, они не смогли разрешить существующие противоречия, т. к. опирались на весьма спорные положения.

Как правило, фоторегуляторное действие квазимонохроматического, например лазерного, излучения описывают в координатах «доза–эффект» [2, 3, 8–11], видимо, по аналогии с ионизирующей радиацией. При этом не приводят теоретических или экспериментальных доказательств, подтверждающих энергетический характер действия. Наблюдаемые реакции называют дозозависимыми на том основании, что под действием различных доз величина биологического эффекта могла изменяться. Здесь возникает следующая методическая проблема. Доза (плотность дозы) определяется произведением мощности (плотности мощности) воздействия на его длительность. Каждый из сомножителей будет вносить эквивалентный вклад в наблюдаемый эффект лишь в случае выполнения закона взаимозаменяемости Бунзена–Роско. Такой тип реакции характерен для некоторых радиобиологических эффектов, фотосинтетических и фотодеструктивных процессов. Есть основание предполагать, что действие низкоинтенсивного когерентного излучения (НКИ) не подчиняется данному закону. Это вытекает из описанных в цитируемых статьях данных. Например: «Плотность мощности была 1.5×10^{-4} и 3×10^{-5} Вт/м², дозу набирали облучением клеток от 50 секунд до 4 мин» [2, с. 1763]. Также и в других работах плотность мощности оставалась неизменной или принимала несколько фиксированных значений, а дозовый ряд задавали изменением времени облучения в достаточно широких пределах [8–10, 12–15]. В результате получали экспериментальные зависимости от длительности воздействия, но называли их дозовыми.

Была предпринята попытка определить «... влияние времени (или интенсивности) облучения при заданной дозе...» [3, с. 1773]. Установленная зависимость скорости

А.В.Будаговский, Н.В.Соловых. ВНИИ генетики и селекции плодовых растений им. И.В.Мичурина, Россия, Тамбовская обл., 393770 Мичуринск, ул. ЦГЛ; e-mail: budagovsky@mail.ru, natalyasolovykh@yandex.ru

О.Н.Будаговская. Всероссийский НИИ садоводства им. И.В.Мичурина, Россия, Тамбовская обл., 393774 Мичуринск, ул. Мичурина, 30
И.А.Будаговский. Физический институт им. П.Н.Лебедева РАН, Россия, 119991 Москва, Ленинский просп., 53; e-mail: V_BRZ@mail.ru

Поступила в редакцию 30 марта 2014 г., после доработки – 22 июня 2014 г.

синтеза ДНК от интенсивности красного ($\lambda = 633$ нм) света носила нелинейный (с выраженным максимумом) характер. Но при этом, естественно, менялось и время облучения, т. е. оба компонента дозы – плотность мощности и длительность воздействия – оказались переменными величинами. Такая постановка эксперимента предопределила неоднозначность сделанного вывода: «... стимуляция синтеза ДНК является очень чувствительной к времени облучения или интенсивности света при дозе 100 Дж/м²» [3, с. 1773]. Аналогичный результат получен в работе [10], проведенной на бактериях *Escherichia coli* по такой же методике, т. е. при фиксированной дозе. Однако в более поздней публикации одного из авторов указывается на нарушение дозового закона [16]. Сомнения в правомерности использования дозы как универсального показателя проявляются в том, что авторы дополнительно приводят и ее компоненты [17, 18]. Есть прямое указание на необходимость регистрации плотности мощности и длительности облучения, а не общего количества энергии, действующего на живой организм [19]. При столь противоречивых оценках вопрос, является ли фоторегуляторный эффект квазимонохроматического света дозозависимым, остается открытым. Это заставляет использовать другие методические подходы для его разрешения.

Энергетическое воздействие света на клетку можно описать посредством таких независимых параметров, как длительность облучения, плотность мощности и длина волны. В настоящей работе проведена оценка влияния каждого из этих параметров на величину фотоиндуцированной реакции различных биосистем при использовании высококогерентного (лазерного) излучения.

2. Экспериментальные результаты

Для выявления наиболее общих закономерностей ответных реакций были использованы различающиеся по структурно-функциональным показателям биологические модели: семена ячменя, пыльца вишни, культивируемые *in vitro* экспланты (микророботы) ежевики.

Семена ячменя селекционной формы Д-101 (гибрид сорта Дворан) облучали в воздушно-сухом состоянии и затем проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге при температуре 22 °С. Число повторений равнялось 5. В каждом повторении каждого варианта опыта использовалось 50 семян. На третьи сутки определяли энергию прорастания (долю проросших семян), а на седьмые – длину первого листа. Учитывая высокую энергию прорастания формы Д-101 (более 90%), зерновки предварительно обрабатывали ионизирующей радиацией ($\gamma^{60}\text{Co}$) в дозе 8 кГр. Искусственное снижение (до 51%) энергии прорастания позволило использовать эту характеристику для оценки лазерной стимуляции.

В экспериментах с пыльцой вишни пенсильванской использовали специальные цитологические препараты. Поверхность предметных стекол покрывали тонким слоем питательной среды, содержащей 0.8% агара, 15% сахарозы и 0.001% борной кислоты. На застывшую среду высевали пыльцу со средней плотностью 20 зерен на квадратный миллиметр. После облучения квазимонохроматическим светом лазерного источника препараты размещали в чашках Петри с влажной фильтровальной бумагой, где их содержали при температуре 28 °С в течение 24 ч. Далее пыльцу инактивировали хлороформом и по

стандартной методике [20] определяли долю проросших пыльцевых зерен. Число повторений равнялось 6.

Экспланты ежевики культивировали на агаризованных питательных средах, приготовленных по прописи MS [21] в двух модификациях. Среда размножения содержала сахарозу (30 г/л), 6-бензиламинопурин (1.0 мг/л) и гибберелловую кислоту (1.0 мг/л), среда укоренения – 1/2 макросолей по MS, микросоли и витамины полностью по MS, сахарозу (15 г/л) и β -индолил-3-масляную кислоту (1.0 мг/л). В каждом варианте опыта использовали по 30–40 растений. Культивирование проходило при температуре 25 °С, освещенности 2500–3000 лк и длине светового дня 16 ч. На среде размножения учитывали сумму длин побегов, образованных одним эксплантом, и их количество; на среде укоренения – число и среднюю длину корней, приходящихся на один эксплант. Ревизии проводили 4 раза с интервалом 10 дней.

Контрольные объекты подвергали всем тем же процедурам и в тех же условиях, что и опытные, за исключением облучения лазерным светом. На них также не допускалось попадания рассеянного когерентного излучения. В процессе культивирования объекты исследования изолировали оптически непрозрачными экранами, чтобы избежать взаимного влияния посредством биохемилюминесценции [22, 23].

Высококогерентными источниками света служили гелий-неоновые лазеры ЛГ-113, ЛГН-222 и ЛГН-303 (Россия), настроенные на режим генерации одной поперечной ТЕМ₀₀-моды с длиной волны 632.8 нм. Поток излучения заданной интенсивности формировали при помощи перефокусируемого объектива с фурье-фильтром. Последний был необходим для устранения высших пространственных частот, возникающих в оптическом тракте из-за дифракционных помех. В результате принятых мер излучение обладало высокой пространственно-временной когерентностью (длина когерентности и радиус корреляций превышают 1000 мкм) и имело гауссов профиль в поперечном сечении пучка. Наряду с этим применяли полупроводниковые лазеры МДИ 635-4 (Россия), HLDPM12-655-10HJ (Япония), LP-532/50 (Китай), генерирующие на длинах волн 641, 655 и 532 нм соответственно, а также твердотельные лазеры LS-1-N-660/50 ($\lambda = 660$ нм), LS-1-N-532/50 ($\lambda = 532$ нм) и LS-1-N-473/50 ($\lambda = 473$ нм) (Китай). Они имели меньшую длину когерентности: 300–500 мкм.

Мощность и плотность мощности излучения регистрировали с помощью измерителя лазерного излучения VEGA Ophir (Израиль) и калориметрического измерителя ИМО-2Н («Эталон», Россия). Для определения спектрального состава действующего излучения использовали анализатор SOLAR F150-2-36-48USB (Беларусь). Конкретные параметры облучения указаны при описании каждого эксперимента. На всех рисунках и в таблице указаны стандартные ошибки опыта.

2.1. Влияние длительности облучения

Семена ячменя облучали с помощью гелий-неонового лазера ($\lambda = 632.8$ нм), настроенного на режим генерации одной поперечной моды. Средняя плотность мощности в рабочей зоне составляла 0.25 Вт/м². Длительности светового воздействия были 0.05, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32, 48, 64, 120 и 240 с. Зависимость энергии прорастания семян от времени облучения имела несколько экстремумов,

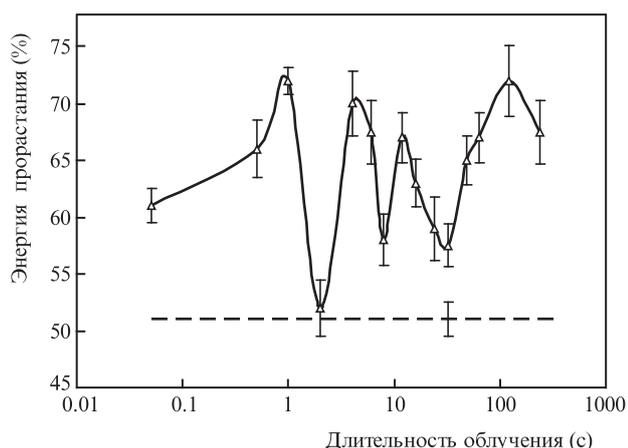


Рис.1. Зависимость энергии прорастания семян ячменя от длительности лазерного ($\lambda = 632.8$ нм) облучения при плотности мощности 0.25 Вт/м^2 . Штриховая линия – результаты для контрольных объектов.

т. е. многомодальный вид (рис.1). Различия между максимальными и минимальными значениями репрезентативного признака были хорошо выражены и статистически достоверны (вероятность нулевой гипотезы $\alpha < 0.01$). Ответная реакция носила нелинейный характер. При фиксированной плотности мощности одинаковая величина фотоиндуцированного эффекта могла быть получена при длительностях облучения, различающихся в десятки и сотни раз. Например, энергия прорастания семян достигала 66–67% при длительностях облучения 0.5, 6, 12, 64 и 240 с, немонотонно изменяясь при промежуточных длительностях.

Такой тип ответной реакции наблюдали для многих растительных организмов и в весьма широком временном интервале. Стимуляционные максимумы регенерации корней и побегов были зарегистрированы при длительности облучения вплоть до десятков (40–70) минут. Интенсивность ростовых процессов ежевики в культуре *in vitro* многократно изменялась в диапазоне от 0.07 до 960 с, достигая двукратного размаха. Лишь при длительности облучения 0.004 с различия с контрольным объектом не проявились, что, вероятно, связано с определенным временем релаксации фитохромной фоторегуляторной системы.

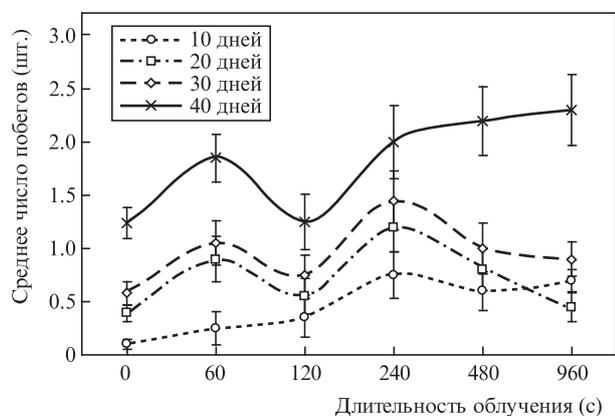


Рис.2. Зависимость числа побегов ежевики *in vitro* от длительности лазерного ($\lambda = 632.8$ нм) облучения эксплантов. Сроки культивирования 10, 20, 30 и 40 дней после облучения, плотность мощности излучения 6 Вт/м^2 . Здесь и на рис.3, 5–8 для наглядности шкала по оси x нелинейна.

Многомодальный характер отклика не исчезает в процессе роста и развития облученных организмов, а, наоборот, проявляется наиболее отчетливо. В частности, у ежевики через 10 дней после облучения на временной зависимости числа побегов просматривался только один стимуляционный пик (рис.2). Еще через 10 дней их уже стало два, и они продолжали оставаться весь наблюдаемый период вегетации.

2.2. Влияние плотности мощности излучения

Учитывая нелинейный характер ответной реакции биосистем, влияние плотности мощности исследовали при различных длительностях лазерного ($\lambda = 632.8$ нм) воздействия. Наиболее удобным модельным объектом с быстрой (несколько часов) ответной реакцией является пыльца. Для ее облучения использовали матрицу режимов, содержащую 11 градаций плотности мощности (0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 Вт/м^2) и 9 градаций длительности экспозиций (0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16 и 24 мин). Таким образом, величину каждого из показателей изменяли не менее чем в двадцать раз, а общее число различных режимов облучения равнялось 99. Результативным признаком служила доля проросших пыльцевых зерен. Этот критерий принято использовать для оценки функциональной активности мужского гаметофита растений [24].

Зависимость прорастания пыльцевых зерен от длительности лазерного облучения также имела многомодальную (многоэкстремальную) форму, которая почти не изменялась в исследованном диапазоне плотностей мощности (рис.3). С ростом интенсивности светового потока наблюдали незначительное смещение экстремумов в область меньших длительностей облучения.

При фиксированной длительности облучения даже двадцатикратное увеличение плотности мощности слабо влияло на изменение результативного признака. Наиболее наглядно это можно представить посредством аппроксимации экспериментальных данных уравнением множественной регрессии. На поверхности отклика в трехмерной системе координат четко выражены складки по оси времени и незначительные деформации по оси плотности мощности (рис.4).

Важно отметить, что одинаковые изменения длительности лазерного воздействия и плотности мощности вносят неодинаковый вклад в величину стимуляционного эффекта (табл.1). Поэтому он не может описываться произведением этих показателей – плотностью дозы облучения.

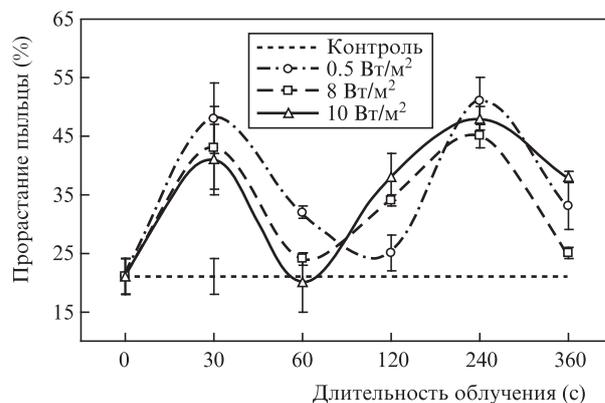


Рис.3. Зависимость прорастания пыльцы вишни от длительности лазерного облучения при различных плотностях мощности.

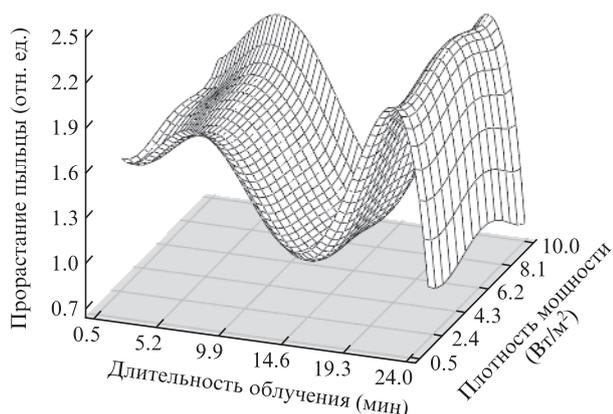


Рис.4. Зависимость прорастания пыльцы вишни (аппроксимация экспериментальных данных уравнением множественной регрессии) от длительности и плотности мощности лазерного облучения.

Табл.1. Влияние лазерного облучения на прорастание пыльцы.

Длительность облучения (мин)	Плотность мощности (Вт/м ²)	Плотность дозы (кДж/м ²)	Прорастание пыльцы (%)
4	8	1.9	45±2
8	4	1.9	34±2
16	2	1.9	22±3
8	1	0.5	37±5
8	5	2.5	34±2
8	10	5	34±3
Контрольный эксперимент			21±1

Невыполнение закона Бунзена–Роско наблюдали и на других биологических моделях: семенах, плодах, вегетирующих растениях. Так же как и при облучении пыльцы, на дозовой кривой одному значению аргумента – дозы, в зависимости от способа ее получения, могло соответствовать несколько различных значений функции, т.е. величины результирующего признака.

Несмотря на то что фотоиндуцированная реакция в большей степени зависела от длительности облучения, пренебречь влиянием величины плотности мощности нельзя, особенно при значительном ее изменении. На пыльце это стало заметно, когда интенсивность облучения возросла в 16 раз (рис.3). Более широкое варьирование данного показателя приводило не только к смещению стимуляционных пиков по временной оси, но и к появлению новых экстремумов. Лазерное ($\lambda = 632.8$ нм) облучение с плотностью мощности 0.06 Вт/м² вызвало наибольшее увеличение длины побегов ежевики при длительности облучения 240 с (рис.5). При плотности мощности 0.6 Вт/м² максимум ростовой реакции сместился к длительности 120 с, а при 6 Вт/м² к 60 с. Кроме этого появился отрицательный экстремум при длительности 120 с и новый максимум при 240 с. Таким образом, количество стимуляционных пиков и их положение на временной оси зависело также и от плотности мощности действующего излучения. В данном эксперименте при двукратном изменении длительности облучения происходило такое же смещение максимума ростовой реакции, как при десятикратном изменении плотности мощности. Следовательно, дозовый закон не выполнялся.

2.3. Влияние длины волны излучения

Фоторегуляторное действие света осуществляется у растений посредством специфических хромопротеидов,

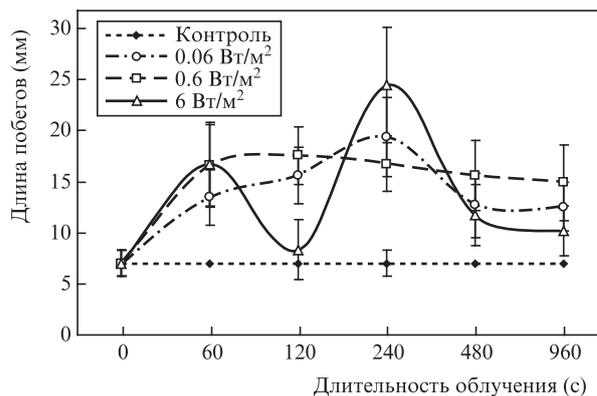


Рис.5. Длина образовавшихся *in vitro* побегов ежевики при различной длительности и плотности мощности лазерного ($\lambda = 632.8$ нм) облучения эксплантов. Длительность вегетации 30 дней.

как правило ассоциированных с биологическими мембранами или клеточными органеллами. В красной области спектра поглощают фитохромы (ФХ) – рецепторы фотоморфогенеза [1, 25]. Они обладают способностью обратимой цис–транс-изомеризации под действием света различного спектрального состава: $\text{ФХ}_{660} \xrightleftharpoons[\lambda = 730]{\lambda = 660} \text{ФХ}_{730}$. Фотоконверсия ФХ влияет на многие обменные процессы: нуклеотидный, белковый, липидный, углеводный, энергетический [1, 25–27]. Формой, стимулирующей физиологическую активность растений, является ФХ_{730} . Его высокая концентрация поддерживается излучением в спектральном интервале 600–690 нм [1, 27]. Действие дальнего красного света (700–780 нм) смещает равновесие в пользу ФХ_{660} , что приводит к торможению клеточного метаболизма. Таким образом свет контролирует важнейшие функции клетки, вплоть до экспрессии генов. Кроме ФХ существуют и другие фоторецепторы, например криптохромы и фототропины, поглощающие в синей области спектра. Фоторегуляторные хромопротеиды имеют различные модификации (у фитохрома их не менее пяти [28]), различающиеся по длинам волн возбуждения и кинетике сопряженных с ними реакций. Практически весь видимый диапазон в той или иной степени обладает физиологической активностью, что, в частности, подтверждает спектр действия оптического излучения на биоэлектрический потенциал растений [29].

Выше были рассмотрены закономерности отклика нескольких биологических моделей на красный ($\lambda = 632.8$ нм) свет, индуцирующий переход ФХ в активное конформационное состояние. Возникает вопрос, будут ли такие закономерности наблюдаться в других спектральных диапазонах или они характерны только для фитохромной фоторегуляторной системы? Для ответа на него проведена серия экспериментов, где использовали лазеры, генерирующие излучение различных длин волн.

Реакция растительных организмов на красный ($\lambda = 660$ нм), зеленый ($\lambda = 532$ нм) и синий ($\lambda = 473$ нм) свет твердотельных лазеров носила нелинейный многомодальный характер. Во всех трех случаях на временной зависимости отчетливо видны максимумы и минимумы фотоиндуцированного эффекта (рис.6). Они не совпадают по фазе, что, по-видимому, свидетельствует о независимом действии различных форм хромопротеидов. Стимуляционный эффект красного света был более выражен, чем эффект зеленого. Это хорошо согласуется с фитохромной концепцией. По данным [27], отношение количества фи-

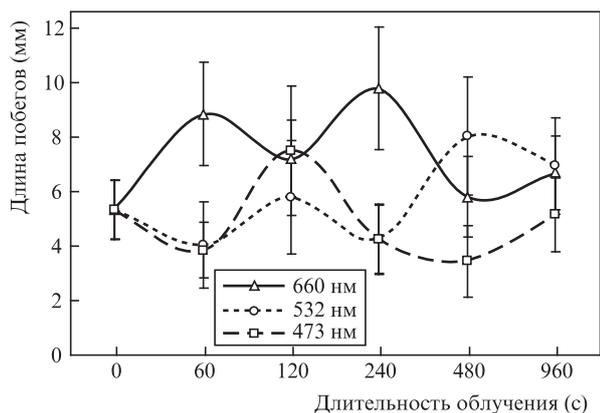


Рис.6. Зависимость длины побегов культивируемых *in vitro* эксплантов ежевики от длительности облучения твердотельными лазерами, генерирующими красный ($\lambda = 660$ нм), зеленый ($\lambda = 532$ нм) и синий ($\lambda = 473$ нм) квазимонохроматический свет. Плотность мощности 6 Вт/м^2 , длительность вегетации 20 дней.

тохрома ФХ_{730} в активной форме к его общему количеству будет равно 0.8 при действии излучения с длиной волны 660 нм и менее 0.5 при $\lambda = 530$ нм.

Аналогичный результат был получен и при использовании полупроводниковых лазеров. Регенерация корней в культуре *in vitro* происходила значительно лучше при облучении красным светом, чем при облучении зеленым, но в обоих случаях были хорошо выражены стимуляционные максимумы, т.е. имел место нелинейный эффект (рис.7). Их меньшее число (всего 1), чем на рис.6, связано, вероятно, с более низкой плотностью мощности облучения. Это согласуется с данными, представленными на рис.5. В то же время возникло противоречие с фитохромной концепцией при сравнении действия красного квазимонохроматического излучения полупроводникового и гелий-неонового лазеров. Теоретически наибольшая стимуляция должна наблюдаться под действием излучения с $\lambda = 650-660$ нм, что соответствует максимальному квантовому выходу фотоконверсии фитохрома в активную форму: $\text{ФХ}_{660} \xrightarrow{\lambda \approx 660 \text{ нм}} \text{ФХ}_{730}$ [1]. Однако более коротковолновое излучение гелий-неонового лазера ($\lambda = 632.8$ нм) оказалось эффективнее (рис.7).

Проверка воспроизводимости данного противоречия проведена также на эксплантах ежевики, но уже культивируемых на среде размножения. В этом эксперименте сравнивали биологическое действие излучения гелий-не-

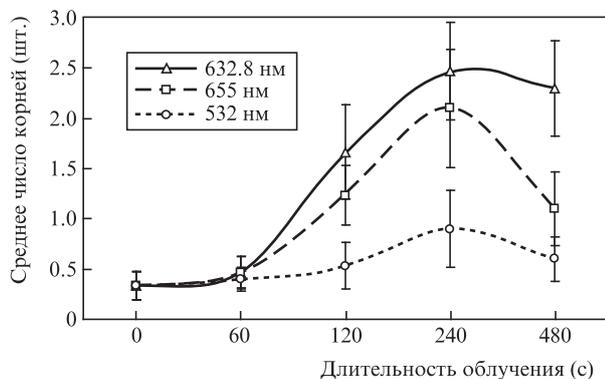


Рис.7. Зависимость интенсивности ризогенеза (корнеобразования) ежевики *in vitro* от длительности облучения квазимонохроматическим светом с различными длинами волн. Плотность мощности излучения 1 Вт/м^2 , длительность вегетации 30 дней.

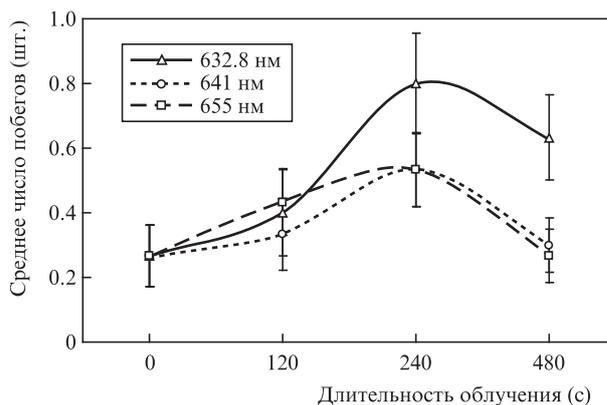


Рис.8. Влияние красного квазимонохроматического света, генерируемого гелий-неоновым ($\lambda = 632.8$ нм) и полупроводниковыми ($\lambda = 641$ и 655 нм) лазерами, на побегообразующую способность эксплантов ежевики *in vitro*. Плотность мощности излучения 1 Вт/м^2 , длительность вегетации 30 дней.

онового и двух полупроводниковых ($\lambda = 641$ и 655 нм) лазеров. Как и в предыдущем опыте, лучший результат был получен с использованием именно гелий-неонового лазера (рис.8). Стимуляционные пики, вызванные светом полупроводниковых лазеров, оказались в два раза ниже. Учитывая, что интенсивности и длительности светового воздействия были одинаковыми, разрешение противоречия следует искать не в энергетических, а в статистических параметрах облучения. Действительно, когерентность поля гелий-неоновых лазеров выше, чем у использованных полупроводниковых. Есть основание полагать, что это свойство определило несовпадение реакции растительных организмов на действие квазимонохроматического красного света с одинаковыми энергетическими, но разными статистическими параметрами [23, 30, 31].

3. Заключение

Проведенные исследования показали, что ответная реакция растительных организмов на воздействие квазимонохроматического красного, зеленого и синего света нелинейно связана с длительностью облучения и не подчиняется дозовому закону Бунзена–Роско. Следовательно, описывать ее в терминах «доза–эффект» не представляется возможным.

Характерным являлся многомодальный (многоэкстремальный) вид временной зависимости, который наблюдали в диапазоне длительностей облучения от сотых долей секунды до десятков минут. Положение максимумов (пиков) стимуляционного эффекта не детерминировано, и они занимали различное положение на временной оси. Их превышение над зависимостями для контрольных объектов, как правило, являлось биологически значимым и статистически достоверным. Изменение плотности мощности оказывало меньшее влияние на величину ответной реакции, чем изменение длительности воздействия, однако ее значительное увеличение, например от 0.06 до 6 Вт/м^2 , могло привести к смещению положения стимуляционных пиков и появлению новых экстремумов. Учитывая, что многомодальная зависимость ответной реакции растений от длительности облучения проявляется в широком спектральном диапазоне, можно предположить, что различные фоторегуляторные системы (фитохромная, криптохромная) имеют сходные механизмы трансформации светового сигнала в химический и его усиления.

Нарушение закона Бунзена–Роско в ответной реакции на НКИ было обнаружено довольно давно как у растительных [30, 32], так и у животных [33] клеток. Тем не менее, дозовые представления остаются весьма популярными, и их до сих пор используют при описании фоторегуляторных процессов (см., напр., [11, 15, 34]). Опираясь только дозой, воспроизвести такие эксперименты не представляется возможным из-за неэквивалентного вклада в наблюдаемый эффект длительности и плотности мощности облучения.

В некоторых публикациях указывали на наличие максимума и колоколообразную форму кривой ответной реакции [35–38]. Снижение стимуляционного эффекта после достижения предельного значения объясняли насыщением и угнетением клеточного метаболизма при лазерном облучении с большей длительностью или дозой [35, 39, 40]. Несмотря на распространенность такой точки зрения, ее нельзя считать достаточно обоснованной. Во многих экспериментах варьирование дозы, точнее плотности дозы, проходило за счет изменения длительности облучения при постоянной плотности мощности. Такие кривые, на самом деле, отражают зависимость стимуляционного эффекта от продолжительности облучения. При плотностях мощности $0.1–1 \text{ Вт/м}^2$, что существенно меньше естественной освещенности, увеличение длительности светового воздействия на несколько десятков секунд не может привести к функциональным нарушениям в клетке. Следовательно, колоколообразная форма кривой отражает не деструктивный, а регуляторный процесс и, по всей видимости, является фрагментом многомодальной зависимости. Это подтверждают экспериментальные данные ряда работ, например [40, 41], в которых прослеживался и второй максимум, но его оставляли без внимания, т. к. это противоречило сложившимся представлениям.

Эффект многомодальности существенно затрудняет понимание механизма трансдукции светового сигнала в химический. Вероятно, важную роль в этом играют биологические ритмы. Согласно концепции С.М.Загускина [42], периодическое изменение структурно-функциональных параметров клетки и кинетики протекающих в ней процессов обеспечивает устойчивость биологических систем и их высокую адаптивность. Лазерное облучение повышает интенсивность внутриклеточных процессов, нарушая их колебательного характера [33].

Вызванный НКИ фотостимуляционный эффект наблюдали, начиная с сотых долей секунды, что, согласно Б.Гудвину, соответствует времени релаксации метаболической системы клетки $10^{-1}–10^{-2} \text{ с}$ [43]. Чередуя положительные и отрицательные экстремумы экспериментальной временной зависимости указывает на наличие механизма обратной связи с некоторым фазовым сдвигом. В такой системе количество регуляторных метаболитов будет попеременно возрастать и снижаться. Прекращение облучения в тот или иной момент времени определит их концентрацию в цитоплазме клетки и, следовательно, амплитуду фотоиндуцированной реакции. Таким образом, соотношение длительности светового раздражения с параметрами биологических ритмов является, вероятно, одним из факторов, определяющих эффективность лазерной стимуляции и её многомодальный характер.

1. Конева С.В., Вологовский И.Д. *Фотобиология* (Минск: Изд-во БГУ, 1979).

2. Кару Т.И., Календо Г.С., Летохов В.С., Лобко В.В. *Квантовая электроника*, **9**, 1761 (1982).
3. Кару Т.И., Календо Г.С., Летохов В.С., Лобко В.В. *Квантовая электроника*, **10**, 1771 (1983).
4. Кару Т.И., Календо Г.С., Лобко В.В. *Известия АН СССР. Сер. физическая*, **47**, 2017 (1983).
5. Лобко В.В., Кару Т.И., Летохов В.С. *Биофизика*, **30** (2), 366 (1985).
6. Гамалея Н.Ф., Шишко Е.Д., Яниш Ю.В. В кн. *Молекулярные механизмы биологического действия оптического излучения* (М.: Наука, 1988, с. 189).
7. Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чичук Т.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. *Биофизика*, **51** (1), 116 (2006).
8. Тифлова О.А. *Радиобиология*, **33** (3), 323 (1993).
9. Тифлова О.А., Кару Т.И. *Радиобиология*, **29** (2), 278 (1989).
10. Тифлова О.А., Кару Т.И. *Радиобиология*, **26** (6), 829 (1986).
11. Smith K.C. *Laser Therapy*, **19** (2), 72 (2010).
12. Москвин С.В., Буйлин В.А. В кн. *Низкоинтенсивная лазерная терапия* (М.: Техника, 2000, с. 141).
13. Федосеева Г.Е., Смолянинова Н.К., Кару Т.И., Зеленин А.В. *Радиобиология*, **27** (5), 605 (1987).
14. Щепеткин И.А., Удут В.В., Карпов А.Б. *Радиобиология*, **33** (3), 377 (1993).
15. Karu T.I., Kolyakov S.F. *Photomed. Laser Surg.*, **23** (4), 355 (2005).
16. Тифлова О.А. *Радиационная биология и радиэкология*, **47**, 231 (2007).
17. Дударева Л.В. Автореф. канд. дисс. (Иркутск: СИФИБР, 2004).
18. Rosner M., Caplan M., Cohen S., Duvdevani R., et al. *Laser. Surg. Med.*, **13**, 611 (1993).
19. van Breugel H.H.F.L., Bär P.R.D. *Laser. Surg. Med.*, **12**, 528 (1992).
20. Паушева З.П. *Практикум по цитологии растений* (М.: Колос, 1974).
21. Murashige T., Skoog F. *Physiologia Plantarum*, **15**, 473 (1962).
22. Будаговский А.В., Туровцева Н.И., Будаговский И.А. *Биофизика*, **46**, 894 (2001).
23. Будаговский А.В. *Дистанционное межклеточное взаимодействие* (М.: НПЦЛ Техника, 2004).
24. Поддубная-Арнольди В.А. *Цитозмбриология покрытосеменных растений* (М.: Наука, 1976).
25. Вологовский И.Д. *Фитохром – фоторегуляторный рецептор растений* (Минск: Наука и техника, 1992).
26. Hart J.W. *Light and plant growth* (London: Unwin Hyman Ltd., 1988).
27. Воскресенская Н.П. В сб. *Молекулярные механизмы биологического действия оптического излучения* (М.: Наука, 1988, с. 178).
28. Юрина Н.П., Мокерова Д.В., Одинцова М.С. *Физиология растений*, **60**, 611 (2013).
29. Шогенов Ю.Х., Миронова Е.А., Третьяков Н.Н., Моисеенкова В.Ю., Романовский Ю.М. *Изв. ТСХА*, (1), 126 (1999).
30. Budagovsky A.V. In: *Biophotonics* (M.: BioInform Services, 1995, p. 233).
31. Будаговский А.В. *Квантовая электроника*, **35**, 369 (2005).
32. Будаговский А.В., Будаговская О.Н., Мокроусова Г.И., Туровцева Н.М. В сб. *Проблемы ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС в агропромышленном производстве – пять лет спустя: итоги, проблемы, перспективы* (Обнинск, 1991, с. 66).
33. Загускин С.Л., Загускина С.С. *Лазерная и биоуправляемая квантовая терапия* (М.: Ассоциация «Квантовая медицина», 2005).
34. Ryatibrat L., Karu T. In: *ICONO/LAT 2013 Techn. Digest* (Moscow, 2013, p. 90).
35. Жаров В.П., Кару Т.И., Литвинов Ю.О., Тифлова О.А. *Квантовая электроника*, **14**, 2135 (1987).
36. Кару Т.И., Рябых Т.П., Федосеева Г.Е., Пучкова Н.И. *Радиобиология*, **29** (8), 230 (1989).
37. Тифлова О.А., Кару Т.И. *Радиобиология*, **26** (6), 829 (1986).
38. Govil S.R., Agrawal D.C., Rai K.P., Thakur S.N. *Indian J. Plant Physiol.*, **34**, 72 (1991).
39. Тифлова О.А. *Радиобиология*, **33** (3), 323 (1993).
40. Федулов Ю.П. В сб. *Физиология зерновых культур в связи с задачами селекции* (Краснодар: НИИСХ, 1980, Вып. 23, с. 40).
41. Канду Г.Н. В кн. *Совершенствование технологии интенсивной культуры плодовых растений* (Кишинев: КСХИ, 1981, с. 53).
42. Загускин С.Л. *Известия РАН. Сер. биологическая*, №5, 788 (1993).
43. Гудвин Б. *Временная организация клетки* (М.: Мир, 1966).