

Реакция клеток на воздействие квазимонохроматического света различной когерентности

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

Обсуждается вопрос влияния когерентности света на величину фотоиндуцированной реакции клеток. Рассмотрены причины неоднозначных оценок результатов известных экспериментов. На биологических моделях, существенно различающихся по анатомо-морфологическому строению и биологическим функциям (проростки семян редиса, культивируемые in vitro микробеги ежевики, пыльца сливы), показано влияние статистических свойств квазимонохроматического излучения ($\lambda_{\text{max}} = 633$ нм) на величину фотоиндуцированной реакции клеток. Установлено, что при относительно низкой пространственной когерентности их функциональная активность изменяется незначительно. Наибольшее усиление ростовых процессов (стимуляционный эффект) наблюдали, когда длина когерентности L_{coh} и радиус корреляции r_{cor} превышали размеры клеток, т. е. клетка полностью помещалась в объёме когерентности поля. В этом случае репрезентативные признаки (прорастание семян и пыльцы, длина побегов) в 1.7–3.9 раза превышали таковые у необлучённых контрольных объектов. Для более корректной оценки влияния статистических свойств света на фоторегуляторные процессы предлагается отказаться от качественного описания (когерентный – некогерентный) и перейти к количественному путём определения значений параметров временной и пространственной корреляционных функций и сопоставления их с характеристическими размерами биологических структур, например размера-ми клеток.

Ключевые слова: когерентность, лазерное излучение, квазимонохроматическое излучение, растительные организмы, фоторегуляторные процессы, объём когерентности, размер клетки.

1. Введение

В фотобиологии, как правило, оперируют только энергетическими параметрами облучения: интенсивностью, длительностью, дозой и длиной волны воздействующего света. Однако процесс генерации фотонов не является детерминированным и требует для своего анализа статистических методов. Случайные волновые поля могут быть описаны посредством корреляционных функций временной и пространственной когерентности [1]. Для количественного сравнения статистических параметров лазерных и тепловых источников излучения удобно использовать характеристические значения этих функций: длину когерентности L_{coh} и радиус корреляции r_{cor} , определяющие объём когерентности V_{coh} как область пространства, в которой наблюдается корреляция фаз фотонного коллектива.

Дискуссия о роли когерентности света в фоторегуляторных процессах продолжается более 30 лет. Наиболее популярной оказалась точка зрения, предполагающая, что реакция живых организмов не зависит от статистиче-

ской упорядоченности действующего излучения. Основанием для неё послужили результаты проведенных по типовой методике экспериментов, в которых сравнивали биологическое действие лазерных и нелазерных (тепловых, газоразрядных, светодиодных) источников света. У последних с целью получения соизмеримых параметров облучения (плотности мощности и средней длины волны) при формировании оптического потока использовали спектральные и пространственные фильтры. Такое излучение называли «квазимонохроматическим некогерентным» [2], «монохроматическим некогерентным» [3], «узкополосным светом» [4], а лазерное, соответственно, «когерентным».

Качественно сравнимые результаты были получены на животных, растительных и бактериальных клетках, что указывает на общность механизмов формирования фотоиндуцированных реакций. По усилению антиокислительной активности в раневых тканях крыс «... когерентное излучение лазера и некогерентное излучение светодиода оказали приблизительно одинаковое действие» [5, с. 339]. Аналогичный вывод делается в работах [6–9], где с использованием тех же источников облучения рассматривали другие типы ответной реакции животных клеток.

Было показано, что электрическая реакция листьев растений при воздействии излучения гелий-неонового лазера ($\lambda = 632.8$ нм) и светового пучка, полученного от галогенной лампы с помощью узкополосного светофильтра ($\lambda_{\text{max}} = 632$ нм, $\Delta\lambda = 8.5$ нм) «... не различалась в пределах ошибки» [10].

У бактерий *Escherichia coli* ответ на раздражение так называемым некогерентным ($\Delta\lambda = 14$ нм) и когерентным (лазерным) светом был практически одинаковым [11]. На основании сходства стимуляционных эффектов при ис-

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

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 22 июня 2014 г., после доработки – 17 сентября 2014 г.

пользовании лазерных и нелазерных источников света сделан вывод: «Результаты экспериментальных работ, в которых проводилось корректное сравнение воздействия когерентного и некогерентного света на биообъекты, свидетельствуют о том, что когерентность света действительно несущественна» [11, с. 370].

Существует и противоположная точка зрения, которая также опирается на результаты экспериментов с различными источниками света. В работах [12–15] приводятся данные, свидетельствующие о большей биологической эффективности лазерного излучения в сравнении с нелазерным. При воздействии высококогерентным излучением лазеров и низкокогерентным квазимонохроматическим излучением с той же интенсивностью и средней длиной волны существенно различались электрофоретическая подвижность водорастворимых белков растений [16], активность метаболических процессов в переживающих тканях человека [17], коэффициент поглощения гемолизата, оксигемоглобина и каталазы [18], энергетические показатели и уровень свободнорадикальных окислительных реакций в печени крыс [19].

Независимо от используемых источников излучения биологический эффект возрастал с увеличением статистической упорядоченности действующего поля. Так, например, для растительных тканей «... по амплитуде электрофизиологической реакции поляризованный когерентный свет оказался эффективнее поляризованного некогерентного в 1.5 раза, неполяризованного некогерентного в 1.7 раза» [20, с. 146]. При анализе функциональной активности лимфоцитов отмечали, что «... воздействие некогерентным излучением как ИК-, так и красной области спектра одинаково по характеру с лазерным излучением тех же диапазонов, но менее эффективно» [21, с. 9]. В работе [22] приводится обзор зарубежных публикаций, в которых сравнивали терапевтический эффект применения различных лазеров и светоизлучающих диодов с одинаковой мощностью и длиной волны. Во всех случаях излучение лазеров дало лучшие результаты. Это связывают с более глубоким проникновением в ткани высококогерентного (лазерного) света, при рассеянии которого происходит образование спеклов (пространственное перераспределение интенсивности в виде пятнистой структуры) [23, 24]. На растительных тканях стимуляционный эффект при использовании гелий-неонового лазера, т. е. при большей когерентности излучения [25], был выше, чем при использовании полупроводникового лазера.

Эксперименты, проведенные по близким методикам, привели к прямо противоположным выводам даже при использовании одинаковых или похожих биологических моделей. (Более подробно этот дискуссионный вопрос рассмотрен в работах [7, 26, 27].) Причины такого противоречия заключаются, на наш взгляд, в применении качественного описания статистических свойств действующего излучения в терминах «когерентное-некогерентное», что физически неправильно.

Во-первых, полностью некогерентных или когерентных полей в природе не существует [28]. Любое реальное излучение обладает определенной статистической упорядоченностью, которая имеет свою количественную оценку. Как отмечалось выше, в качестве таковой могут быть использованы характеристические значения L_{coh} и r_{cor} корреляционных функций случайных волновых процессов. Наименьшей когерентностью обладает рассеянное излучение протяженных тепловых источников, например

солнца [1], наибольшей – лазеров, в особенности газовых одночастотных одномодовых. Различия между ними могут превышать 10 порядков. Однако применение спектральных (монохроматоры) и пространственных (апертурные диафрагмы) фильтров позволяет даже от тепловых источников получить световой поток со значительным объемом когерентности. В то же время статистическая упорядоченность излучения многомодовых лазеров, особенно полупроводниковых, оказывается не столь высокой. Следовательно, лазерное излучение нельзя безоговорочно считать высококогерентным, а нелазерное – некогерентным.

Во-вторых, необходим критерий полученных числовых оценок с позиций «представления» живого организма о когерентности, т. е. введение некоей «биологической меры», позволяющей говорить о достаточной или недостаточной статистической упорядоченности действующего излучения.

В качестве такого критерия было предложено использовать размер клеток [26, 27]. Основанием для этого послужили результаты экспериментов, в которых облучению квазимонохроматическим светом с высокой или низкой статистической упорядоченностью подвергались различающиеся по размеру клетки. Фотоиндуцированная реакция в наибольшей степени была выражена у тех из них, которые полностью помещались в объеме когерентности поля.

Эта серия опытов [27] оставила ряд неразрешенных вопросов, имеющих значение для понимания механизмов фоторегуляторных процессов. В частности, при формировании потока излучения с заданными свойствами изменяли пространственно-временную когерентность, а следовательно, и ширину спектральной линии. Остаётся неясным, спектральные или когерентные свойства света влияют на величину фотоиндуцированной реакции? Следует подчеркнуть, что оба эти понятия связаны между собой взаимным соответствием, но сопряженные с ними биологические механизмы могут различаться. Например, авторы работ [4, 29] полагают, что реакция клеток определяется шириной спектральной полосы света и не зависит от его когерентности. Но это мнение не имеет достаточного обоснования, и проблема остаётся дискуссионной. Второй вопрос связан с выбором биологической модели. В проведенных ранее экспериментах [27] ею служили клетки растений и грибов, взаимодействующие по механизму индуцированного иммунитета. О результатах облучения судили по изменению равновесия в такой двухкомпонентной системе. Важно выяснить, изменится ли величина отклика одних и тех же организмов на свет с различной когерентностью? Третий вопрос вытекает из биологической специфичности тканей. Остаётся неясным, присуща ли различным клеткам, в частности вегетативным и генеративным, способность реагировать на когерентность света? Для ответа на эти вопросы необходимо облучить несколько биологических моделей с клетками определённых размеров квазимонохроматическим светом с фиксированной длиной когерентности и различными значениями радиуса корреляции поля. Изучению этих вопросов посвящена настоящая работа.

2. Материалы и методы

Для облучения выбраны биологические модели, существенно различающиеся по анатомо-морфологическому

строению, биологической функции и размеру клеток: проростки семян редиса сорта Ледяная сосулька, культивируемые *in vitro* микропобеги ежевики сорта Блэк сэттин, пыльца сливы сорта Этюд.

Семена редиса помещали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу по 100 штук в каждую, затем культивировали в темноте в закрытых чашках при комнатной температуре. Через сутки проводили облучение. Ещё через двое и трое суток подсчитывали количество проросших семян. В отдельном опыте на четвёртые сутки измеряли длину корней первого порядка. В каждом варианте опыта было не менее пяти чашек. В каждой из них определяли процент проросших семян и по этим данным средствами пакета анализа данных программы Excel рассчитывали среднее значение и стандартную ошибку репрезентативного признака, а также статистическую существенность различий P между определёнными вариантами опыта. Наряду с этим с помощью временных цитологических препаратов были подсчитаны размеры 300 клеток и построено их распределение по размерам. Наибольшее количество клеток имело размер $D = 15\text{--}25$ мкм.

В экспериментах с пылью сливы 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 1 мм^2 . После облучения препараты размещали в чашках Петри с влажной фильтровальной бумагой, где их содержали при температуре 28°C в течение 24 ч. Далее пыльцу инактивировали хлороформом и по стандартной методике [30] (с помощью микроскопа) определяли долю проросших пыльцевых зёрен. В каждом варианте опыта было по шесть препаратов, на каждом препарате просматривали по 10 полей зрения. Размеры большинства пыльцевых зёрен лежали в интервале $40\text{--}60$ мкм. Статистическую обработку проводили так же, как и на семенах редиса.

Микропобеги ежевики культивировали на агаризованных питательных средах, приготовленных по прописи MS [31] в модификации для укоренения: 1/2 макросолей по MS, микросоли и витамины полностью по MS, сахароза (15 г/л) и β -индолил-3-масляная кислота (1.0 мг/л). Культивирование проходило при температуре 25°C , освещённости 2500–3000 лк и длине светового дня 16 ч. Учитывали число и среднюю длину корней, приходящихся на одно растение. Опыт повторялся десять раз. Ревизии проводили через два месяца культивирования *in vitro*. Средний размер клеток $D = 10\text{--}20$ мкм.

Контрольные варианты подвергали всем тем же процедурам, в тех же условиях, что и опытные, за исключением облучения квазимонохроматическим светом. На них также не допускалось попадания рассеянного когерентного излучения. В процессе культивирования каждый вариант опыта изолировали оптически непрозрачными экранами, чтобы избежать взаимного влияния посредством биофлуоресценции [32, 33].

Для облучения использовали тепловой источник света – высокотемпературную лампу накаливания в кварцевой колбе. Поток излучения с помощью отражающего сферического зеркала и объектива-коллиматора направляли на светофильтр с полушириной полосы пропускания $12\text{--}13$ нм и $\lambda_{\text{max}} = 633 \pm 2$ нм. За ним по центру пучка устанавливали диафрагмы с диаметром отверстия 8 ± 0.1 или 32 ± 0.1 мм. Такая оптическая схема формировала

квазимонохроматическую пространственно-ограниченную волну со сравнительно равномерным распределением интенсивности по фронту. В этом случае модуль нормированной поперечной корреляционной функции можно представить как [34] $\gamma(s) = 2|J_1(kas/z)/(kas/z)|$, где $J_1(kas/z)$ – функция Бесселя; $k = 2\pi/\lambda$ – волновое число; $2a$ – линейный размер апертуры источника; $s = |r_1 - r_2|$; z – расстояние от источника излучения до объекта. Первое нулевое значение функция $\gamma(s)$ принимает при $kas/z = 3.83$, и, следовательно, в этом случае $r_{\text{cor}} = 0.61\lambda z/a$. Длина когерентности сформированного светового потока равнялась 32 ± 1 мкм, а радиус корреляции 5 ± 0.2 или 40 ± 0.2 мкм, в зависимости от установленных угловых размеров источника излучения.

Для выяснения потенциальной возможности клеток проявлять фотоиндуцированную реакцию, в независимых опытах все биологические модели подвергли воздействию лазерного излучения ($L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}} > 1000$ мкм), обеспечивающего высокий стимуляционный эффект. Использовали гелий-неоновые лазеры ЛГ-113 и ЛГН-222 (Россия), настроенные на режим генерации одной поперечной ТЕМ₀₀-моды с длиной волны 632.8 нм. Поток излучения заданной интенсивности формировали при помощи объектива с фурье-фильтром диаметром 35–40 мкм. Последний был необходим для устранения высших пространственных частот, возникающих в оптическом тракте из-за дифракционных эффектов.

Мощность и плотность мощности излучения регистрировали с помощью измерителя лазерного излучения VEGA Ophir (Израиль) и калориметрического измерителя ИМО-2Н («Эталон», Россия) с ошибкой не более 5%. Конкретные параметры облучения указаны при описании каждого эксперимента. Просмотр цитологических препаратов и оценку размера клеток проводили с помощью микроскопа Opton Axiophot-2 (Германия) по стандартной методике [30]. Для удобства сравнения фотоиндуцированных эффектов в различных опытах использовали коэффициент стимуляции K_{st} , равный отношению средних значений репрезентативного признака в опыте и в контрольном эксперименте, а также рассчитывали существенность различий между ними.

3. Экспериментальные результаты

У всех трёх типов биологических моделей наблюдали одну и ту же закономерность. Величина фотоиндуцированной реакции возрастала с увеличением статистической упорядоченности действующего света. Как и следовало ожидать, наибольший стимуляционный эффект получен при использовании лазерного излучения, обладающего высокой пространственно-временной когерентностью ($L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}} > 1000$ мкм). У семян редиса менее когерентный свет теплового источника ($L_{\text{coh}} = 32$ мкм, $r_{\text{cor}} = 40$ мкм) вызвал также достоверное ($P > 0.98$), но не столь значительное усиление функциональной активности: $K_{\text{st}} = 1.7$ (рис.1, табл.1). Это может быть связано с тем, что размер наиболее крупных клеток превышал параметр L_{coh} (рис.2) и, следовательно, эти клетки не полностью помещались в объёме когерентности поля.

Для ежевики стимуляционный эффект имел место и при сравнительно низкой статистической упорядоченности квазимонохроматического излучения ($L_{\text{coh}} = 32$ мкм, $r_{\text{cor}} = 5$ мкм). Клетки культивируемых *in vitro* микропобегов, особенно меристематические, имеют небольшие раз-

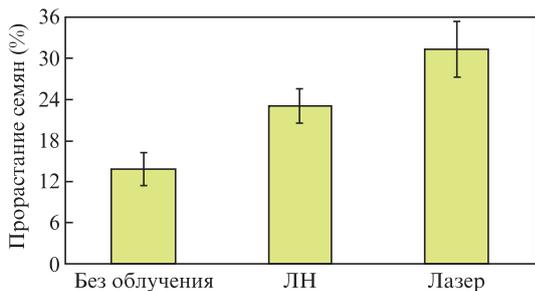


Рис.1. Влияние красного квазимонохроматического света лампы накаливания (ЛН) и гелий-неонового лазера на прорастание семян редиса. Длительность облучения 128 с, плотность мощности 2.5 Вт/м², длина волны 633 нм.

Табл.1. Зависимость фотоиндуцированного эффекта от статистических параметров L_{coh} и r_{cor} действующего света.

Биологическая модель	D (мкм)	L_{coh} (мкм)	r_{cor} (мкм)	K_{st}	P
Семена редиса	15–25	>1000	>1000	2.2	> 0.98
		32	40	1.7	> 0.98
Микропобеги ежевики	10–20	>1000	>1000	3.9	> 0.99
		32	5	2.1	0.85
Пыльца сливы	40–60	>1000	>1000	2.9	> 0.99
		32	40	1.4	> 0.99
		32	5	1.1	< 0.93

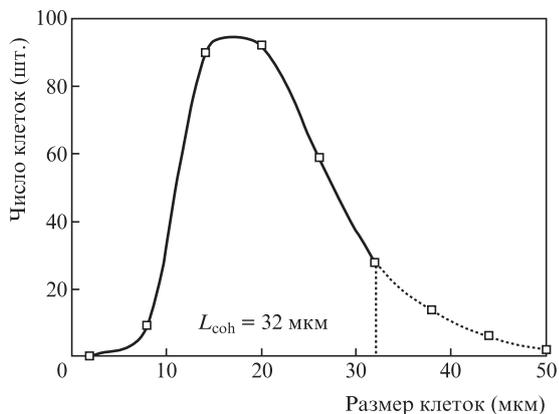


Рис.2. Распределение клеток проростков семян редиса по размеру. Пунктиром отмечена доля более крупных клеток, которые не полностью помещаются в объёме когерентности поля теплового квази-монохроматического источника света с $L_{coh} = 32$ мкм, $r_{cor} = 40$ мкм.

меры. Они частично умещались в объёме когерентности поля, что и обеспечило стимуляционный эффект $K_{st} = 2.1$, но его достоверность невысока ($P = 0.85$).

Роль статистической упорядоченности света наиболее заметна при облучении крупных клеток. Кратковременное воздействие низкокогерентного излучения теплового источника ($L_{coh} = 32$ мкм, $r_{cor} = 5$ мкм) практически не повлияло ($K_{st} = 1.1$) на функциональную активность пыльцевых зёрен сливы (рис.3), размеры которых в 3–4 раза превышали размеры клетки ежевики. Увеличение радиуса корреляции до 40 мкм при той же спектральной ширине линии излучения с высокой достоверностью ($P \gg 0.99$) повысило прорастаемость пыльцы ($K_{st} = 1.4$). В последнем случае некоторая часть клеток, имеющих меньшие размеры, уже умещалась в объёме когерентности поля. Ещё больший стимуляционный эффект имел место при лазер-

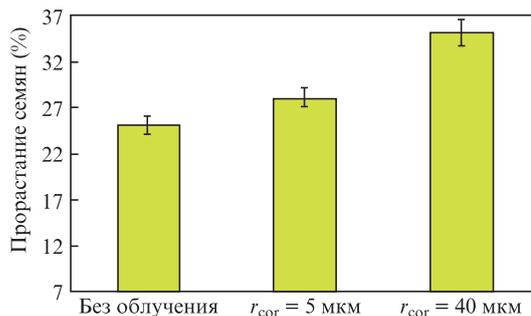


Рис.3. Влияние квазимонохроматического света с постоянной длиной когерентности $L_{coh} = 32$ мкм и с радиусами корреляции $r_{cor} = 5$ и 40 мкм на прорастание пыльцы сливы. Длительность облучения 128 с, плотность мощности 0.7 Вт/м², длина волны 633 нм.

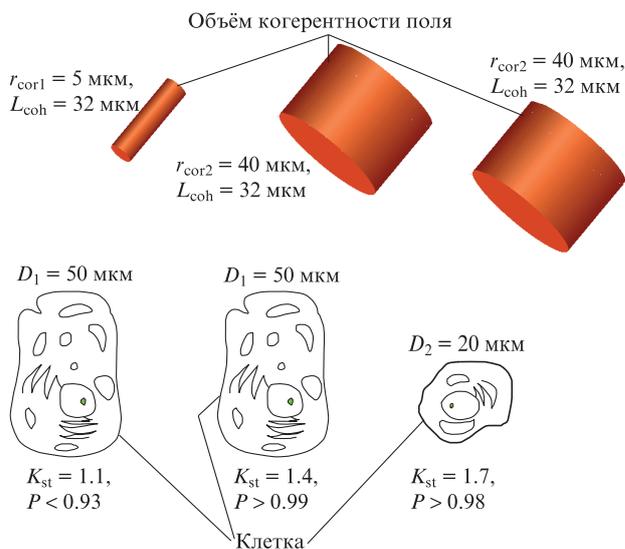


Рис.4. Схематическое изображение соотношения между размером клеток и объёмами когерентности поля светового источника.

ном облучении, обеспечивающем выполнение условия $D \leq L_{coh}$, r_{cor} для всех без исключения клеток (табл.1).

Из данной серии опытов следует, что живые организмы способны реагировать на пространственную когерентность света. Можно схематически представить соотношение между размерами клеток и объёмами когерентности (рис.4). При одной и той же длине когерентности ($L_{coh} = const$) и, следовательно, постоянной ширине спектра излучения $\Delta\omega$ увеличение радиуса корреляции поля достоверно повышало функциональную активность клеток. Таким образом, гипотеза о том, что только ширина спектральной линии излучения определяет выраженность фотоиндуцированных реакций [4, 29] не находит подтверждения.

4. Обсуждение

Результаты исследования позволяют сделать вывод о том, что величина фотоиндуцированной реакции различных биологических организмов связана со статистической упорядоченностью поля. Физиологически значимой для них является не только временная, но и пространственная когерентность. В целом, стимуляционный эффект квазимонохроматического света будет определяться – для отдельной клетки размером той её доли, которая помещается в объёме когерентности поля;

– для совокупности неоднородных по размеру клеток тем их количеством, для которого выполняется условие $D \leq L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}}$.

Есть определённые основания для выбора размера клетки в качестве биологически значимого критерия статистических свойств излучения. Клетка является универсальным элементом структурной организации живой материи. Она достаточно автономна, особенно у прокариот, обладает способностью к самоорганизации, заполнена биологическими мембранами различного функционального назначения. Фоторегуляторные процессы осуществляются посредством специфических хромопротеидов (криптохромов, фототропинов, фитохромов, цитохромоксидазы), которые, как правило, ассоциированы с липидным бислоем [35]. При поглощении фотона такая белковая молекула претерпевает конформационную перестройку, что приводит к изменению физико-химических свойств сопряжённых участков биомембран [36]. Это влияет на различные жизненно важные функции клетки, вплоть до экспрессии генов.

Существует целый ряд работ [37–40], указывающих на возможность протекания кооперативных и когерентных процессов в биосистемах, в частности в биомембранах. Тогда на роль фазового детектора, способного реагировать на статистическую упорядоченность действующего излучения, в наибольшей степени подходит мембранный пул клетки. Он локализован во всём её объёме и в нём кроме липидного бислоя содержатся хромопротеиды, способные поглощать кванты света. В этом пространстве должна быть достаточно высокая корреляция фаз фотонного коллектива для того, чтобы кооперативные процессы в биомембранах носили интегральный характер. Границы такого пространства задаются размерами клетки, и именно эти размеры предложено сопоставлять с характеристическими параметрами корреляционных функций поля в качестве биологического масштаба (меры) когерентности.

Отсутствие в рассмотренных выше работах биологически обусловленного критерия статистической упорядоченности поля делает понятия «когерентный-некогерентный» или «высокая когерентность-низкая когерентность» лишёнными конкретного смысла и приводит к противоречивым выводам. Если же рассмотреть с позиций количественных оценок доводы за и против влияния когерентности света на фоторегуляторный процесс, то противоречия между ними исчезают. Во всех случаях, когда объём когерентности оптического излучения превышал размер клеток, их функциональная активность становилась наиболее высокой. Одинаковые результаты могли быть получены при использовании лазеров (полупроводниковых и газовых), светодиодов или тепловых источников с соответствующими фильтрами и апертурными диафрагмами; достаточно, чтобы выполнялось условие $D \leq L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}}$. Естественно, что при этом длина волны возбуждающего света должна соответствовать спектру поглощения какой-либо фоторегуляторной системы, интенсивность отвечать витальным условиям, а сам организм обладать способностью к переходу в новое стационарное состояние с большей интенсивностью метаболических процессов. Следует отметить, что корреляционные функции высших порядков у перечисленных источников излучения различаются, но, судя по полученным данным, это не влияет на характер биологического отклика.

Когда клетка лишь частично умещалась в объёме когерентности поля, её фотоиндуцированная активность увеличивалась не столь значительно или не возрастала вовсе. Именно этим можно объяснить отмеченное в ряде работ [4, 17, 27] различие биологического действия лазерных и низкокогерентных источников света. Хорошим подтверждением данного положения являются полученные в работе [7] результаты (табл.2). Поскольку размер эмбриональных клеток рыб составляет 9–13 мкм [41], то одинаковый (в пределах ошибки) стимуляционный эффект кратковременного воздействия излучения лазера и узкополосного светодиода явился вполне ожидаемым. А вот свет широкополосного диода, для которого $L_{\text{coh}} < D$, оказал существенно меньшее влияние на эмбрионы.

В последние годы стали появляться работы, в которых сделана количественная оценка характеристических параметров когерентности [7, 42–45], но, к сожалению, не анализируется их связь с биологическими процессами и структурами. Например, в работах Т.Й.Кару [44, 45] подробно приведены данные по длине когерентности, радиусу корреляции и объёму когерентности поля лазеров, светодиодов и «спектрально отфильтрованного света лампы». Далее эта информация не сопоставляется с какими-либо экспериментальными результатами, а говорится лишь об успешном применении лазеров и светодиодов в клинической практике. При этом излучение последних с $L_{\text{coh}} = 50–100$ мкм и ещё большим радиусом корреляции названо некогерентным. Клетки, которые в подавляющем большинстве случаев имеют существенно меньшие размеры, могут с такой оценкой «не согласиться» и отреагировать по-своему.

Способность клеток по-разному реагировать на высокую и низкую когерентность действующего света проявляется как у простейших (бактерии), так и высших эукариот (растения и животные). Это указывает на эволюционную устойчивость данного свойства, и, следовательно, оно должно иметь определённую биологическую обусловленность. Возбуждение хромопротеидов происходит независимо от степени когерентности излучения; достаточно, чтобы его длина волны совпала с полосой поглощения той или иной фоторегуляторной системы. Например, красный свет (600–690 нм, $\lambda_{\text{max}} = 660$ нм) вызывает обратимое изменение конформации молекул фитохромов, что сопровождается структурно-функциональной перестройкой сопряжённых с ними локальных участков биомембран [36, 46]. В результате повышается физиологическая активность клетки. Более длинноволновый красный свет ($\lambda_{\text{max}} = 730$ нм) инициирует обрат-

Табл.2. Прирост биомассы мальков рыб через 50 дней после облучения эмбрионов квазимонохроматическим светом с различной когерентностью (по данным [7]).

Тип излучателя	L_{coh} (мкм)	Прирост биомассы относительно контрольного объекта (%)	P
Без облучения	–	100.0 ± 1.8	–
Гелий-неоновый лазер	2000	120.4 ± 2.4	≥ 0.999
Узкополосный светодиод	26	118.6 ± 3.7	≥ 0.999
Широкополосный (люминесцентный) светодиод	2.5	111.1 ± 1.8	≥ 0.999

ную фотоконверсию фитохромов из активной формы (ФХ730) в пассивную (ФХ660). При этом происходит снижение интенсивности обменных процессов до исходного состояния. Эволюционно такой механизм возник в связи с изменением спектрального состава солнечной радиации на поверхности Земли в течение суток. Повышение в утренние часы доли красных лучей смещает равновесие фитохромов в сторону формы ФХ730, что позволяет растительным организмам подготовиться к высокой освещённости и активной жизнедеятельности в дневное время.

Как следует из полученных данных, высококогерентное (по критерию $L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}} \geq D$) излучение оказывает большее стимулирующее действие, чем низкокогерентное (например, рассеянный солнечный свет). Вероятно, это обусловлено не локальной, а интегральной перестройкой всего клеточного пула биомембран. В результате такого триггерного переключения концентрация регуляторных молекул (эффекторов, индукторов, репрессоров и т.п.) в цитоплазме будет максимальной даже при незначительном числе поглощённых фотонов.

Можно предположить, что белок-мембранные комплексы как рецепторы излучения имеют два режима работы. Один обслуживает слабые световые сигналы и проявляет триггерные (дискретные) свойства. Величина ответной реакции в этом случае будет слабо зависеть от интенсивности излучения и в большей степени определится корреляцией фаз в фотонном коллективе. Так, при воздействии лазерного излучения двадцатикратное изменение интенсивности практически не повлияло на величину стимуляционного эффекта [26]. Естественно, говорить о выполнении дозового закона Бунзена–Роско здесь нет оснований.

Другой (аналоговый) режим работы используется клеткой для рецепции более интенсивного света, например дневного. Его низкая когерентность делает кооперативный процесс маловероятным. Стохастические поля вызывают конформационные перестройки и, следовательно, изменение физиологической активности биомембран только в локальных зонах вокруг возбуждённых хромопротеидов [35]. Число «горячих точек», в которых происходит десорбция регуляторных продуктов, будет пропорционально числу поглощённых фотонов. Таким образом, в этом режиме величина ответной реакции связана с интенсивностью действующего излучения. Описанную зависимость иллюстрируют тропические реакции злаков. Изменение интенсивности света в 1.5 раза приводит почти к такому же снижению концентрации ауксина на освещённой стороне проростков [35]. Вероятно, наличие двух режимов фоторецепции (аналоговый и триггерный) позволяет существенно различающимся по интенсивности и когерентности оптическим сигналам принимать участие в регуляции жизнедеятельности клетки.

Данное положение подтверждают результаты исследования фотоиндуцированной биоэлектрической активности растений [10, 47]. Показано, что для получения одинаковой по амплитуде реакции организма интенсивность «белого» света теплового источника ($L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}} < D$) должна быть приблизительно в 40 раз больше, чем интенсивность узкополосного ($\lambda_{\text{max}} = 661 \text{ нм}$, $\Delta\lambda = 8.5 \text{ нм}$), выделенного из «белого» света с помощью светофильтра. Отметим, что длина когерентности узкополосного излучения равнялась 51 мкм, что примерно в два-три раза превышало размер облучаемых клеток, а спектральный диапазон соответствовал области фотоконверсии фитохрома в

активную форму. Таким образом, фоторегуляторные системы получают возможность реагировать как на сравнительно интенсивное солнечное излучение, так и на сверхслабое излучение клеток (биохемилюминесценцию), участвуя в межклеточной коммуникации [33].

5. Заключение

Проведенные эксперименты показали, что статистическая упорядоченность излучения способна влиять на фотоиндуцированную реакцию различных биосистем, выполняющих как вегетативные (проростки, побеги), так и генеративные (пыльца) функции. При прочих равных условиях наибольший стимуляционный эффект может быть получен, когда клетка полностью помещается в объёме когерентности поля, т.е. выполняется условие $D < L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}}$. Из этого следует, что физиологически значимыми являются и временная, и пространственная когерентности поля, которые определяют область пространства с высокой корреляцией фаз фотонного коллектива.

Анализ литературных данных и результаты собственных исследований позволяют нам сделать вывод, что способность различать статистическую упорядоченность светового потока присуща любым видам клеток: бактериальным, грибным, растительным и животным, т.е. от прокариот до высших эукариот. Следовательно, такое свойство появилось на раннем этапе формирования живой материи и оказалось эволюционно устойчивым, а значит, биологически необходимым. Это может быть связано с использованием сверхслабых световых потоков биолюминесценции в качестве регуляторных сигналов.

Если рассматривать величину фотоиндуцированной реакции клеток с позиций выполнения условия $D < L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}}$, то противоречия в оценке физиологической эффективности квазимонохроматического излучения различных источников света (лазерных и нелазерных) исчезают. Обсуждаемые выше противоположные точки зрения приходят в хорошее согласие при переходе от качественных (когерентный – некогерентный) оценок к количественным ($L_{\text{coh}}, r_{\text{cor}}$) и введении некоторого биологически обусловленного масштаба, соответствующего размеру клеток. Из установленного свойства живых организмов реагировать на когерентность света вытекает, что акцепторные молекулы (хромопротеиды) фоторегуляторных систем действуют не обособлено, а объединены в некоторую кооперативную систему, способную выполнять функции фазового детектора.

1. Ахманов С.А., Дьяков Ю.Е., Чиркин А.С. *Введение в статистическую радиофизику и оптику* (М.: Наука, 1981).
2. Абдвахитова А.К., Григорьева Л.Н., Пархоменко И.М. *Радиобиология*, **22** (1), 40 (1982).
3. Кару, Т.И., Лобко В.В., Лукпанова Г.Г., Пархоменко И.М., Чирков Ю.Ю. *ДАН СССР*, **281**, 1242 (1985).
4. Кару Т.И., Календо Г.С., Летохов В.С., Лобко В.В. *Квантовая электроника*, **10**, 1771 (1983).
5. Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чичук Т.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. *Биофизика*, **51** (2), 332 (2006).
6. Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чичук Т.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. *Биофизика*, **51** (1), 116 (2006).
7. Плавский В.Ю., Барулин Н.В. *ЖПС*, **75**, 843 (2008).
8. Zalevsky Z., Belkin M. *Photomed. Laser Surg.*, **29**, 655 (2011).
9. Smith K.C. *Photomed. Laser Surg.*, **23**, 78 (2005).
10. Шогенов Ю.Х., Миронова Е.А., Третьяков Н.Н., Моисеев В.Ю., Романовский Ю.М. *Изв. ТСХА*, (1), 126 (1999).
11. Лобко В.В., Кару Т.И., Летохов В.С. *Биофизика*, **30** (2), 366 (1985).

12. Маслоброд С.Н. *Электро-физиологическая полярность растений* (Кишинев: Штиинца, 1973).
13. Дударева Л.В. Канд. дисс. (Иркутск, СИФиБР, 2004).
14. Байбеков И.М., Касымов А.Х., Козлов В.И. и др. *Морфологические основы низкоинтенсивной лазерной терапии* (Ташкент: Изд-во Ибн Сины, 1991).
15. Зубкова С.М., Попов В.И. *Вопросы экспериментальной и клинической курортологии и физиотерапии*, **32**, 18 (1976).
16. Шендриков А.О., Христин М.С. В сб. *Проблемы фотозенергетики растений* (Кишинев: Штиинца, 1975, вып. 3, с. 107).
17. Березин Ю.Д., Прочуханов Р.А., Ростовцева Т.И., Самсонова И.Е. *ДАН СССР*, **273**, 734 (1983).
18. Дубровский В.А., Гусев В.В., Астафьева О.Г. *Биофизика*, **27** (5), 908 (1982).
19. Зубкова С.М., Лапрун И.Б., Соколова З.А., Попов В.И. *Биологические науки*, № 4, 24 (1981).
20. Девятков Н.Д., Лысиков В.Н., Маслоброд С.Н., Макеева Н.С., Боярских Г.В. В сб. *Проблемы фотозенергетики растений* (Кишинев: Штиинца, 1975, вып. 3, с. 142).
21. Зубкова С.М., Михайлик Л.В. В сб. *Лазер и здоровье: Труды 1-го Межд. конгресса* (М.: Техника, 1997, с. 9).
22. Москвин С.В., Буйлин В.А. В кн. *Низкоинтенсивная лазерная терапия* (М.: Техника, 2000, с. 141).
23. Hode L., Hode T., Duncanb D., Kirkpatrickb S., Jenkinsa P., Hodec L. *Photomed. Laser Surg.*, **23** (4), 231 (2005).
24. Qadri T., Bohdanecka P., Tunér J., Miranda L., Altamash M., Gustafsson A. *Laser. Med. Sci.*, **22**, 245 (2007).
25. Будаговский А.В., Соловых Н.В., Будаговская О.Н., Будаговский И.А., Michtchenko A., Vizuet M. Докл. РАСХН, № 5, 21 (2012).
26. Budagovsky A.V., in: *Biophotonics* (М.: BioInform Services, 1995, p. 233).
27. Будаговский А.В. *Квантовая электроника*, **35**, 369 (2005).
28. Гудмен Дж. *Статистическая оптика* (М.: Мир, 1988).
29. Москвин С.В. *Эффективность лазерной терапии* (М.: Техника, 2003).
30. Паушева З.П. *Практикум по цитологии растений* (М.: Колос, 1974).
31. Murashige T., Skoog F. *Physiologia Plantarum*, **15**, 473 (1962).
32. Будаговский А.В., Туровцева Н.И., Будаговский И.А. *Биофизика*, **46**, 894 (2001).
33. Будаговский А.В. *Дистанционное межклеточное взаимодействие* (М.: НПЦЛ Техника, 2004).
34. Джейкман Е. В кн. *Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов*. Под ред. Г.Камминса и Э.Пайка (М.: Мир, 1978, с. 71–145).
35. Конев С.В., Волотовский И.Д. *Фотобиология* (Минск.: Изд-во БГУ, 1979).
36. Конев С.В. В кн. *Фоторегуляция метаболизма и морфогенеза растений* (М.: Наука, 1975, с. 37).
37. Девятков Н.Д., Зубкова С.М., Лапрун И.Б., Макеева Н.С. *Успехи современной биологии*, **103** (1), 31 (1987).
38. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. *Миллиметровые волны и их роль в вопросах жизнедеятельности* (М.: Радио и связь, 1991).
39. Fröhlich H. *Advances in Electronics and Electron Physics*, **5**, 85 (1980).
40. Быховский В.К. *Биофизика*, **18** (1), 184 (1973).
41. Ефремова Е.В., Моисеенко Т.И., Селюков А.Г., Гоголева С.Ю. *Вестн. Томского ун-та*, **12**, 38 (2011).
42. Букатый В.И., Павлова Я.В., Сакович С.И., Устинов Г.Г. *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника*, **1**, 46 (2004).
43. Павлова Я.В., Сакович С.И., Черненко П.П. *Изв. Алтайского гос. ун-та*, **1**, 115 (2007).
44. <http://www.photobiology.info/Coherence.html>.
45. Karu T.I., in: *Biomedical Photonics Handbook*. Ed. by Tuan Vo-Dinh (Boca Raton: CRC Press, 2003, Ch. 48, pp 1–25).
46. Hart J.W. *Light and plant growth* (London: Unwin Hyman Ltd, 1988).
47. Шогенов Ю.Х., Миронова Е.А., Моисеенкова В.Ю., Романовский Ю.М. *Физиология растений*, **46**, 799 (1999).