



## ОБЛАДАЕТ ЛИ НИЗКОИНТЕНСИВНОЕ ЛАЗЕРНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ МУТАГЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ?

А.Будаговский, д.ф.-м.н. ВНИИГиСПР им.  
И.В.Мичурина, Мичуринск, Россия, Budagovsky@mail.ru

С каждым годом среда обитания человека становится все более агрессивной. Привычное окружение: транспорт, дома, мебель, одежда, продукты питания превращаются в источники экологической опасности. Поэтому любые новые разработки должны подвергаться тщательному анализу для выявления возможного риска их внедрения. В полной мере это относится и к лазерным технологиям. Их спектр весьма широк: от обработки живых организмов (лазерная терапия, агро- и биотехнологии) и материалов до зондирования поверхности земли. В результате биосфера подвергается воздействию низкоинтенсивного когерентного излучения. Обладает ли такое излучение мутагенным действием, и если да, то каковы могут быть экологические последствия? На этот счет существуют прямо противоположенные точки зрения, которые активно обсуждались на двух последних конференциях по применению лазеров<sup>\*</sup>. Учитывая не только научную, но и социальную значимость вопроса, целесообразно провести его широкое обсуждение. Настоящую статью можно считать приглашением к дискуссии на страницах журнала "Фотоника".

**И**стория вопроса уходит в 60-е годы прошлого века, когда было установлено, что кратковременное (от единиц секунд до десятков минут) воздействие генерируемого лазерами низкоинтенсивного когерентного излучения (НКИ) способно повышать функциональную активность растительных и животных организмов. Стимуляционный эффект был хорошо выражен и мог долгое время сохраняться в пострадиационный период. Проиллюстрируем это на двух примерах, имеющих практическое значение.

\* Международная конференция "Фотоника в сельском хозяйстве и природопользовании", Москва, апрель 2012. Международный научный семинар "Физика лазерных процессов и применения", Рязань, октябрь 2012.

## DOES THE LOW-INTENSITY LASER RADIATION HAVE MUTAGENIC EFFECT?

A. Budagovsky, I.V. Michurin All-Russian Research  
Institute of Genetics and Fruit Plants Selection,  
Michurinsk, Russia; Budagovsky@mail.ru

Year after year the human environment becomes increasingly aggressive. Usual environment – transport, houses, furniture, clothes, food – turns into the sources of ecological threat. Therefore any new developments have to be studied very carefully to expose the possible risk of their implementation. It fully relates to the laser technologies too. Their range is rather wide – from the treatment of living organisms (laser therapy, agrarian and biotechnologies) and materials to the ground surface sensing. As a result the biosphere is affected by the low-intensity coherent radiation. Does this radiation have mutagenic effect, and if yes then what environmental consequences might occur? There are directly opposite points of view on this matter which were actively discussed at two recent conferences on lasers application<sup>\*</sup>. Taking into account not only the scientific but also social importance of this issue it is reasonable to carry out its broad debate. This article can be considered as the invitation to the discussion on the pages of Fotonika Journal.

**T**he history of this topic originates in the 60s of last century when it was found that the short-term (from units of seconds to tens of minutes) effect of the low-intensity coherent radiation (LCR) generated by the lasers is capable to increase the functional activity of the plant and animal organisms. Stimulation effect was well expressed and could remain for long post-radiation period of time. Let us use two examples which have the practical meaning to illustrate it.

The irradiated plant cuttings not only root better than the controlled ones but also excel them in growth and development during the whole vegetation period (Fig. 1) [1]. The immune reaction of fruit

\* International Conference on Photonics in Agriculture and Nature Management, Moscow, April 2012. International Research Workshop on Physics of Laser Processes and Application, Ryazan, October 2012.

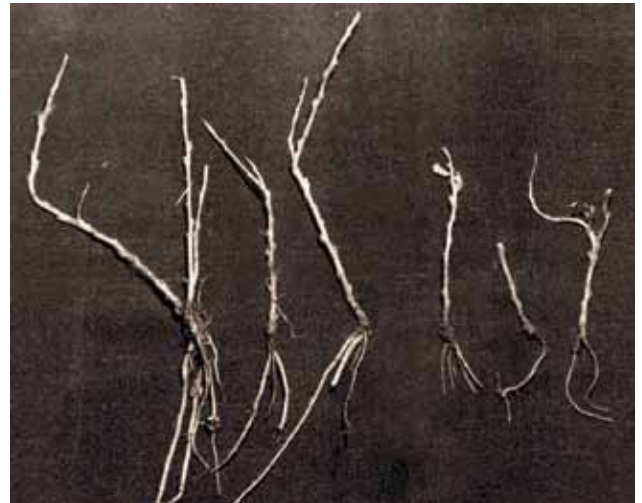
Облученные черенки растений не только укореняются лучше контрольных, но и превосходят их по росту и развитию в течение всего периода вегетации (рис.1) [1]. Иммунная реакция обработанных лазерным светом плодов выше, чем у не обработанных, о чем можно судить по величине потерь товарной продукции от гнилей (рис.2). В процессе хранения различия с контролем не нивелируются, а, наоборот, становится более заметным (рис.3). Важно отметить, что физиологическая активность клеток плодов возрастает лишь при достаточно большом объеме когерентности действующего поля [2]. Низкокогерентное излучение активизирует только мелкие клетки патогена, усиливая поражение яблок.

Исследования, проведенные в нашей стране и за рубежом, показали, что стимуляционный эффект НКИ может не только длительное время сохраняться, но и передаваться следующим поколениям [3-13]. При этом наблюдали целый ряд характерных для мутагенеза\* черт: изменение количественных и качественных признаков, их сохранение при вегетативном или генеративном размножении растений, образование хромосомных aberrаций, появление анеуплоидных\*\* клеток и т.д. Такое явление стали называть лазерным мутагенезом. Важно установить, является ли оно следствием изменения генетической программы организма под влиянием внешнего дестабилизирующего фактора, т.е. индуцированным мутагенезом, или имеет иной механизм? Для этого необходимо проанализировать режимы облучения и биологические результаты, к которым оно приводит.

Существует значительное количество публикаций по так называемому лазерному мутагенезу, но нередко из-за методической некорректности нельзя определить подлинные параметры облучения. Обычно указывают такие характеристики, как мощность лазера, количество циклов обработки, действующую дозу или плотность дозы. Однако этого недостаточно для однозначной интерпретации плотности мощности светового потока, от величины которой в первую очередь зависят деструктивные процессы в клетке. Тем не менее, по ряду работ, содержащих необходимую информацию, удается получить вполне репрезентативную картину явления (см. таблицу).

\* Мутагенез – наследуемое изменение генетической программы организма под действием внутренних или внешних факторов.

\*\* Нетипичные клетки с количеством хромосом не кратным базовому (гаплоидному) числу для данного вида.



**Рис.1.** Растения облепихи (по 3 типичных образца), выращенные из зеленых черенков с использованием лазерного излучения (слева) и по стандартной технологии (справа) (срок вегетации 4 месяца)

**Fig. 1.** Plants of sea-buckthorn (in 3 typical samples) grown from the softwood cuttings with the usage of laser radiation (on the left) and according to the standard technology (on the right) (vegetation period is equal to 4 months)

treated with the laser light is higher than the reaction of fruit which were not treated; it can be judged by the value of marketable products loss because of the rots (Fig. 2). In the process of retention the differences with the control are not smoothed over but, to the contrary, they become more evident (Fig. 3). It is important to note that the physiological activity of fruit cells grows only under sufficiently large volume of the active field coherence [2]. Low-coherent radiation activates only small cells of the pathogen intensifying the apples affection.

Research performed in our country and abroad has shown that the LCR stimulation effect not only can remain for a long period of time but also it can be passed on to the next generations [3-13]. At the same time there were quite a number of the mutagenic characteristics\*: change of quantitative and qualitative attributes, their retention by the vegetative and generative reproduction of plants, formation of the chromosomal aberrations, and occurrence of the aneuploid\*\* cells etc. Such phenomenon was called laser mutagenesis. It is important to find whether it is the consequence

\* Mutagenesis is the hereditary change of the organism genetic program under the impact of internal or external factors.

\*\* Non-typical cells with the amount of chromosomes which is not multiple of the basic (haploid) number for this type.

Как следует из приведенных данных, длительные модификации (мутации?) растительных организмов вызывались сравнительно кратковременным действием лазерного излучения видимой области спектра (442–633 нм) с плотностью мощности 0,2–30 Вт/м<sup>2</sup>, т.е. в несколько десятков и сотен раз меньше естественной освещенности. Энергия квантов не превосходила 3 эВ, что недостаточно для разрыва ковалентных связей молекул.

Столь слабый световой раздражитель не может стать причиной повреждения наследственного аппарата клетки. Иначе, каждый восход Солнца мы встречали бы в мире новых, мутантных генотипов. На режимах, которые использованы в рассматриваемых работах (см.таблицу), деструктивные процессы маловероятны. Следует отметить, что в диапазоне длин волн 442–633 нм ни ДНК, ни связанные с ней гистонные белки излучение не поглощают. Таким образом, во многих случаях, которые относятся к лазерному мутагенезу, отсутствуют предпосылки для прямого или опосредованного повреждения структуры и функций генетического аппарата клеток.

Механизмы, обеспечивающие устойчивое сохранение и передачу генетической информации, весьма надежны и полностью адаптированы к естественным условиям среды обитания [26–28]. Для того чтобы произошел их сбой, параметры действующего фактора должны выходить за пределы толерантности организма.

Избегая справедливых возражений, следует отметить, что при иных условиях и параметрах воздействия лазерное излучение может служить эффективным мутагенным фактором. В видимом диапазоне оптическое излучение способно влиять на наследственный аппарат клетки лишь при очень больших интенсивностях, порядка 10<sup>5</sup>–10<sup>12</sup> Вт/м<sup>2</sup> или же в присутствии связанных с ДНК сенсibilизаторов. При этом повреждение генетически значимых молекул может проходить по термическому или двухфотонному механизмам, а также в результате фотоиндуцированных свободнорадикальных реакций [29–33].

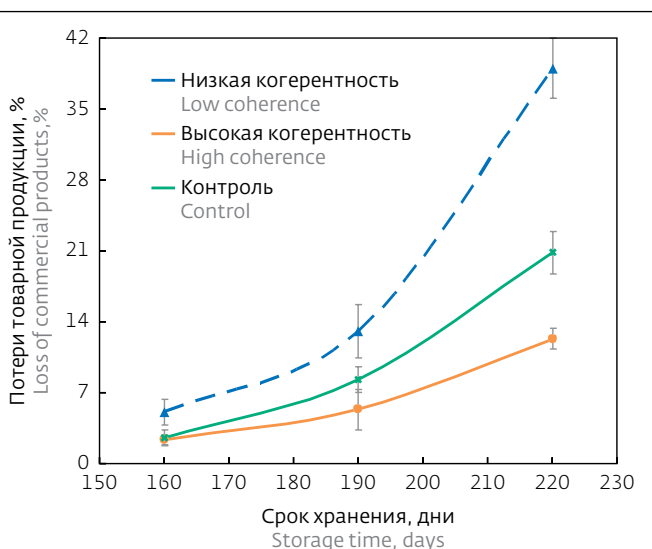
Другой путь заключается в выборе соответствующего спектра генерации лазера. Оптическое излучение вызывает мутации при достаточно высокой энергии квантов, как правило, более 4 эВ, что соответствует ультрафиолетовому диапазону длин волн. Наиболее эффективной является область поглощения ДНК и белков (260–280 нм), в которой частота мутаций может на несколько порядков превосходить спонтанный уровень [34, 35].



**Рис.2.** Влияние лазерной обработки на состояние яблок сорта Синап северный с механическими повреждениями, имитирующими удар о ребро тарного ящика (срок хранения 220 дней)

*Fig. 2. The impact of laser treatment on the state of the north Sinap apples with the mechanical damage imitating the impact with the edge of package box (storage period is 220 days)*

of change of the organism genetic program under the influence of the external destabilizing factor, that is induced mutagenesis, or it has different mechanism? In order to answer this question it is necessary to analyze the irradiation conditions and biological outcome which the irradiation causes.



**Рис.3.** Динамика потерь у сорта Синап северный при различной когерентности излучения (633 нм), которым плоды были обработаны перед закладкой на хранение

*Fig. 3. Loss dynamics of the north Sinap apples under conditions of the different radiation coherence (633 nm) with which the fruit were treated before storing*



Параметры лазерного облучения, вызывающие наследуемые изменения признаков растительных организмов  
Parameters of Laser Irradiation Which Cause the Inheritable Changes of Attributes of the Plant Organisms

Культура	Длина волны, нм	Плотность мощности, Вт/м <sup>2</sup>	Длительность облучения, мин	Число наблюдаемых поколений	Источник информации
Crop	Length of Wave, nm	Power Density, W/m <sup>2</sup>	Duration of Irradiation, min.	Amount of Observed Generations	Source
Кукуруза/Corn	633	0,2	30–240	3	[14]
Пшеница/Wheat Ячмень/Barley	442 633	10	90–180	5	[15]
Пшеница/ Wheat Ячмень/Barley	442 476 633	0,3–10	90–300	3	[4]
Пшеница/ Wheat	633	0,8–1,5	50–180	1	[16]
Ячмень/Barley	633	5	180	2	[17]
Ячмень/Barley	633	0,2	30–60	2	[18]
Ячмень/Barley	633	5	60–240	1	[19]
Ячмень/Barley	633	0,2–30	30–480	9	[20]
Ячмень/Barley	633	10	30–120	2	[21]
Столовая свекла/ Table Beet	633	10	10–120	5	[22]
Вика/Vetch	633	10	30–210	2	[23]
Лен/Flax	633	3	90	1	[24]
Смородина/ Currant	633	4	30–60	1	[25]

Еще более интересным является применение интеркаляторов - хромофорных молекул или их групп, сопряженных с определенными участками полинуклеотидной цепи [30, 36]. Облучая такие комплексы интенсивным монохроматическим светом, удается инактивировать строго определенные последовательности ДНК, что в определенном смысле можно считать направленным мутагенезом.

There are many published works on so-called laser mutagenesis but often it is impossible to define the true parameters of the irradiation because of the methodical incorrectness. Usually such characteristics as laser power, amount of the treatment cycles, effective dose or density of dose are specified. However, it is not enough for giving the clear interpretation of the luminous flux power density and

## НАНОМАСШТАБНАЯ ДИНАМИКА СПИНОВ

Время, необходимое для изменения магнитного состояния материала, и размеры области, в которой это изменение происходит, – два ключевых показателя, определяющие характеристики магнитных устройств (память, системы изображения, спин-фотонные цепи). Локальное перемагничивание с помощью неоднородного магнитного поля или

спин-поляризованного тока происходит за ~100 пс. Можно существенно ускорить этот процесс с помощью ультракоротких лазерных импульсов. В работе [С. Graves et al. – Nature Mater., 2013, v 312, p. 293] сообщается о результатах, полученных при исследовании стимулированной лазером спиновой динамики в ферромагнетике GdFeCo. Обнаружено, что

после воздействия фемтосекундного лазерного импульса перенос спинового углового момента с 3d спинов атомов Fe на 4f спины атомов Gd происходит за ~1 пс. Большую роль в этом играют наномасштабные неоднородности структуры.

О.Коплак,  
ПерСт, 2013, т. 20, в. 7



the destructive processes in cell primarily depend on its value. Nevertheless, we manage to get rather representative picture of the phenomenon using a number of works which contain this information (refer to table).

As follows from the given data, continuous modifications (mutations?) of the plant organisms were caused by comparatively short-term effect of the laser radiation of visible spectral region (442-633 nm) with the power density 0.2-30 W/m<sup>2</sup>, in other words, by several ten and hundred times less than the natural illumination. Quantum energy did not exceed 3 eV which was not enough for the molecules covalent bond breakage.

Such a weak photic stimulus cannot become the cause of damage of the cell hereditary apparatus. Otherwise, we would meet each sunrise in the world of new mutant genotypes. The destructive processes are hardly probable in the conditions which were used in the works under study (table). It should be noted that within the wave length range from 442 nm to 633 nm neither DNA nor histones connected with it absorb the radiation. Thus, in many cases related to the laser mutagenesis there are no preconditions for the direct or indirect damage of the structure and functions of cells genetic apparatus.

Mechanisms providing the stable retention and transfer of the genetic information are quite reliable and completely adapted to the natural conditions of habitat [26-28]. For their failure to occur the parameters of active factor have to go beyond the organism tolerance.

Avoiding the fair objections it should be noted that the laser radiation can serve as the effective mutagenic factor under other conditions and parameters of impact. In the visible range the optical radiation is capable to influence on the cell hereditary apparatus only under very large intensities, about 10<sup>5</sup>-10<sup>12</sup> W/m<sup>2</sup> (in impulse) or in the presence of sensitizers connected with the DNA. Herewith the damage of genetically significant molecules can undergo according to the thermal or two-photon mechanisms and as a result of photoinduced free-radical reactions [29-33].

The other way consists in the selection of the appropriate spectrum of the laser generation. As a rule, the optical radiation causes mutations under sufficiently high quantum energy of more than 4eV; it complies with the ultraviolet range of waves' length. DNA and proteins absorbing region (260-280nm) is the most efficient, wherein the frequency of mutations can enormously surpass the spontaneous level [34, 35].



Дестабилизирующие факторы, вызывающие мутагенез, как правило, приводят к снижению выживаемости организма, угнетению его функциональной активности. Большинство измененных форм во втором и последующих поколениях обладают слабым развитием и низкой продуктивностью [34]. Высокая частота мутаций отмечена на полулетальных и сублетальных дозах ( $LD_{50}$ - $LD_{90}$ ) и сопровождается массовой гибелью обработанных растений [37]. В случаях, классифицированных как лазерный мутагенез, имеет место иная картина. По приведенным выше литературным источникам, ее можно представить следующим образом:

- Низкоинтенсивное лазерное облучение обеспечивает высокий выход модификаций, отличающихся от исходной формы по одному или нескольким признакам.
- Модификации сохраняют устойчивость и могут наследоваться в течение ряда поколений (до 9, включительно).
- Увеличивается частота хромосомных aberrаций.
- Количественные признаки изменяются существенно чаще, чем качественные.
- Изменение количественных признаков происходит преимущественно в сторону их больших значений. Образуются хорошо развитые, высокопродуктивные формы растений, сохраняющие эти свойства при наследовании.
- Выживаемость облученных организмов, как правило, не ниже, чем в контроле. Летальный эффект в первом и следующих поколениях наблюдается редко и, возможно, вызван иными причинами.
- Лазерное облучение снижает частоту хромосомных aberrаций и летальных мутаций, вызванных ионизирующей радиацией.

Здесь, несомненно, просматриваются признаки мутагенеза: хромосомные aberrации, индуцированная изменчивость и ее наследование, но остальные закономерности не типичны для этого явления. В то же время нельзя не заметить характерные черты эпигенетической\* регуляции функциональной активности растений. Наследуемые модификации возникали при облучении генеративных и вегетативных органов с помощью гелий-кадмиевого (442 нм), аргонового (476 нм) и гелий-неонового (633 нм) лазеров. Их длины волн совпадают со спектрами поглощения криптохрома и фитохрома. Эти хромопротеиды

\* Регуляторный уровень, не изменяющий генетической информации организма, но влияющий на форму ее реализации (экспрессию генов).

Application of the intercalators-chromophore molecules or their groups conjugated with certain areas of the polynucleotide chain is even more interesting [30, 36]. We manage to inactivate strictly defined DNA consequences treating such complexes with the intensive monochromatic light; this process in a sense can be considered as intended mutagenesis.

As a rule, destabilizing factors causing the mutagenesis lead to the decrease of the organism survivability, oppression of its functional activity. Majority of the changed forms in the second and following generations has poor development and low productivity [34]. High frequency of mutations is observed upon the half-lethal and sublethal doses ( $LD_{50}$  -  $LD_{90}$ ) and accompanied by the mass mortality of the treated plants [37]. There is different picture in the cases classified as laser mutagenesis. According to the above-mentioned literary sources it can be represented in the following way:

- Low-intensity laser irradiation provides high output of the modifications which are different from the original form on the basis of one or several attributes.
- Modifications maintain the stability and can be inherited within a number of generations (to the 9<sup>th</sup> generation inclusive).
- The frequency of chromosome aberrations increases.
- The quantitative attributes change considerably more often than the qualitative ones.
- Change of the quantitative attributes mainly occurs toward their larger values. Well-developed, highly productive forms of the plants which retain these characteristics when inheriting arise.
- As a rule, the survivability of irradiated organisms is not lower than the survivability in control. Lethal effect within the first and following generations is observed rarely and probably caused by other factors.
- Laser irradiation reduces the frequency of chromosome aberrations and lethal mutations caused by the ionizing radiation.

Undoubtedly, the mutagenesis features are noticeable here: chromosome aberrations, induced changeability and its inheritance but other regularities are not typical for this phenomenon. At the same time characteristics of epigenetic\* control of

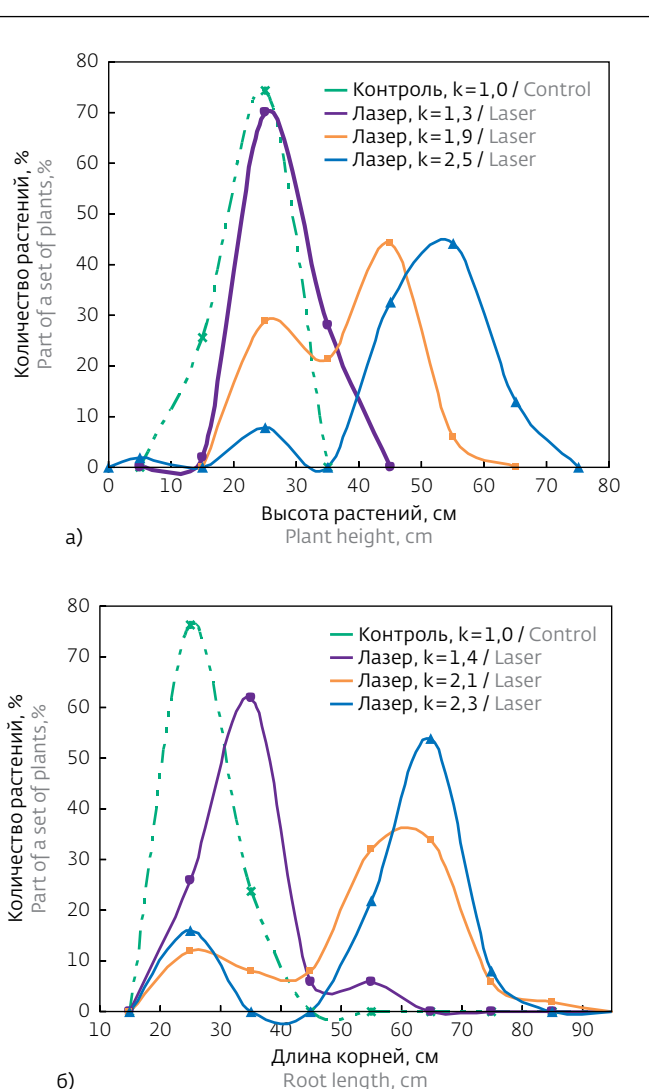
\* Regulatory level which does not change the genetic information of organism but influences on the form of its realization (expression of genes).

выполняют в растительных клетках важные регуляторные функции, контролируя многие процессы клеточного обмена: нуклеотидный, белковый, липидный, углеводный, энергетический; стимулируют синтез хлорофилла, каротиноидов, антоцианов, аскорбиновой кислоты и других веществ [31, 38].

Механизм действия хромопротеидов можно пояснить на примере фитохрома (ФХ) – рецепторе фотоморфогенеза. Он представляет собой ассоциированную с биомембраной белковую молекулу, имеющую хромофорный центр. Формой, стимулирующей физиологическую активность растений, является ФХ<sub>730</sub>. Ее высокая концентрация поддерживается излучением в спектральном интервале 600–690 нм. Действие дальнего красного света (700–780 нм) смещает равновесие в пользу ФХ<sub>660</sub>, что приводит к торможению клеточного метаболизма. При прямой фотоконверсии (ФХ<sub>660</sub>  $\xrightarrow{\lambda=660}$  ФХ<sub>730</sub>) происходит структурно-функциональная перестройка сопряженного с фитохромом участка липидного бислоя. В результате увеличивается проницаемость клеточных мембран и десорбция регуляторных метаболитов с их поверхности [31, 38, 39].

Ф.Б.Мозесу и Нам Хай Чуа [40] удалось установить специфические участки полинуклеотидной цепи, имеющие высокое сродство к продуктам фитохромных реакций. Они получили название светорегулируемых элементов. Как оказалось, эти участки (регуляторные сайты) ДНК контролируют транскрипцию не одного, а нескольких различных генов. Их экспрессия обеспечивает синтез целого ряда структурных и регуляторных белков и, таким образом, влияет на формирование различных признаков организма [41, 42].

Фитохромные реакции являются эволюционно выработанными механизмами адаптации растений к изменению количества и качества света в течение суток. Повышенное содержание красных квантов в утренние часы способствует переходу фитохрома в активную форму и ускорению метаболитических процессов в клетках. Подобным же образом действует излучение гелий-неоновых лазеров. При низкой интенсивности (0,2–30 Вт/м<sup>2</sup>, см. таблицу) оно соответствует экологической норме и не может служить причиной нарушения генетического аппарата растений. В то же время, длительность облучения 30–240 мин вполне достаточна для включения механизма дифференциальной экспрессии генов [40, 43] и изменению различных признаков организма. Важно установить, каким образом эта



**Рис.4.** Распределение однолетних растений смородины сорта Голландская белая по высоте (а) и длине корней (б) при значениях коэффициента лазерной стимуляции  $k$ , определенных на различных длительностях облучения (длина волны облучения 632,8 нм; плотность мощности 0,5 Вт/м<sup>2</sup>; длительность вегетации 130 дней)

**Fig. 4.** Distribution of annual plants of white Holland currant according to height (A) and length of roots (B) under the values of  $k$  laser stimulation index determined with the various irradiation durability (length of irradiation wave is equal to 632.8 nm; power density 0.5 W/m<sup>2</sup>; vegetation period is equal to 130 days)

the plants functional activity cannot go unnoticed. Inherited modifications arose when irradiating the generative and vegetative organs with the help of helium-cadmium (442 nm), argon (476 nm) and helium-neon (633 nm) lasers. Their waves' length coincides with the spectrums of cryptochrome and phytochrome absorbing. These chromoproteids fulfill very important regulatory functions in the plant

фенотипическая\* изменчивость может передаваться по наследству.

Как следует из полученных результатов, эффект действия низкоинтенсивного когерентного света заметен в течение времени, намного превышающего период облучения и релаксации продуктов фотореакции. Длительное запоминание сигнала предполагает наличие ячеек памяти – бистабильных элементов, имеющих устойчивые альтернативные состояния. В рамках эпигенетической регуляции таким элементом может быть двухоперонный триггер [44, 45]. Сущность явления заключается в возникновении обратной связи между двумя оперонами\*\* посредством их генных продуктов. Экспрессия блока генов одного оперона вызывает синтез белков-репрессоров, подавляющих транскрипцию другого оперона и наоборот. В результате возникает два устойчивых состояния, различающихся концентрацией соответствующих регуляторных метаболитов в цитоплазме клетки. Переключение из одного состояния в другое происходит под действием внутренних или внешних сигналов, нарушающих соотношение обратных связей между сопряженными оперонами, и носит дискретный, триггерный характер. Согласно концепции В.А. Ратнера [45, с.206], "Хранение информации в триггерной системе осуществляется двумя способами: структурная информация об элементах системы записана в локусах соответствующих оперонов; информация о состоянии триггера записана вне генома присутствием или отсутствием определенных репрессорных белков".

Проведенные нами исследования позволяют предположить, что длительное запоминание (сохранение) эффекта лазерной стимуляции происходит по описанному выше механизму. Вывод сделан на основании анализа логической модели, построенной по альтернативной схеме возможных событий. Базой данных для нее служили результаты эксперимента по предпосадочной обработке черенков растений излучением гелий-неонового лазера. В конце срока вегетации были измерены морфологические показатели полученных саженцев. Действие

\* Фенотипическая (модификационная) изменчивость является ответной реакцией на действие различных факторов и может носить адаптивный характер. Генетическая информация при этом не нарушается, но изменяется форма ее реализации в фенотипе. Фенотип – совокупность всех признаков организма, формирующихся на информационной базе генотипа – совокупности всех его генов.

\*\* Оперон – блок генов, объединенный общим регуляторным элементом (промотором или энхансером).

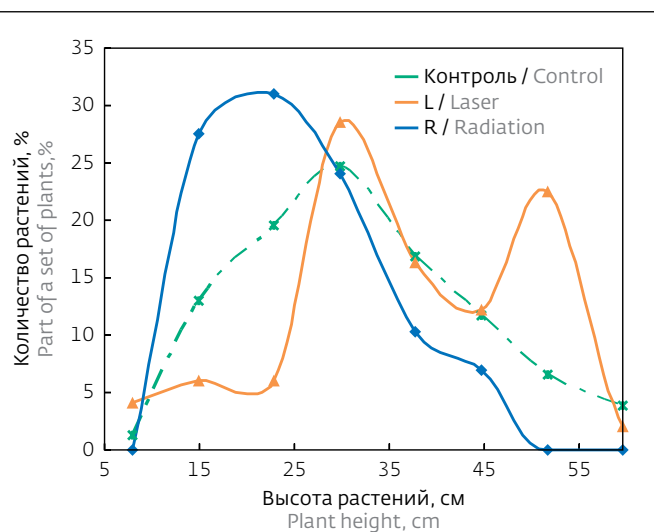


низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 632,8 нм усилило развитие однолетних растений. Оценить это количественно позволяет коэффициент стимуляции (коэффициент действия)  $k$ , равный отношению средних значений результативного признака в опыте и контроле. Теоретически, одна и та же величина данного коэффициента может быть получена при развитии двух альтернативных сценариев регуляторного процесса. Условно обозначим их как "аналоговый" и "дискретный". Каждому сценарию соответствует своя статистика распределения морфологических показателей.

Пусть при каком-то режиме облучения имеет место стимуляционный эффект и коэффициент  $k$  принимает некоторое экспериментально определенное значение  $k=k_3$ . В аналоговом варианте следует ожидать, что величина результативного признака в той или иной степени изменится у всех облученных растений. Их индивидуальные показатели будут случайным образом рассеяны вокруг наиболее вероятного значения так, чтобы суммарный вклад обеспечивал стимуляционный эффект с коэффициентом  $k_3$ . Вариационный ряд такой совокупности имеет одну вершину (моду).

В дискретном варианте, при триггерном переключении экспрессии генов, значение результативного признака должно стремиться к предельно возможной величине. При благоприятных условиях появятся растения, морфологические показатели которых существенно превосходят контрольный уровень. Тогда установленное значение коэффициента стимуляции  $k_3$  можно получить, только если функциональная активность изменится не у всех облученных организмов, а лишь у определенной части. Остальные же окажутся индифферентными к облучению, и их показатели останутся такими, как в контроле. В этом случае вариационный ряд будет иметь не один, а два максимума, т.е. распределение станет двумодальным.

Экспериментальная проверка адекватности альтернативных сценариев стимуляционного процесса проведена с помощью анализа вариационных рядов морфологических показателей однолетних растений смородины и облепихи. При лазерном облучении статистическое распределение таких показателей, как высота растений, суммарная длина побегов, число ветвей, длина корневой системы однолетних саженцев имело смещение границ норм реакций и вершин вариационных кривых в сторону больших значений результативного признака (рис.4 и 5). Кроме этого, наблюдали расщепление (трансгрессию) распределения морфологических показателей за счет появления особей с существенно более



**Рис.5.** Распределение растений облепихи сорта Сюрприз по высоте при различных способах облучения (лазерном или ионизирующем) (длина волны облучения 632,8 нм; плотность мощности 0,5 Вт/м<sup>2</sup>; доза ионизирующего облучения 10 Гр, мощность дозы 4,7 Гр/мин; длительность вегетации 150 дней)

**Fig. 5.** Distribution of plants of Surpriz sea-buckthorn according to height under the various irradiation methods (laser or ionizing) (length of irradiation wave is equal to 632.8 nm; power density 0.5 W/m<sup>2</sup>; ionized irradiation dose 10 Gy, dose rate 4.7 Gy/min.; vegetation period is equal to 150 days)

cells controlling many processes of the cellular metabolism such as nucleotide, protein, lipidic, carbohydrate, energetic processes. They also stimulate the synthesis of chlorophyll, carotenoids, anthocyanins, ascorbic acid and other substances [31, 38].

Mechanism of chromoproteids action can be explained by the example of phytochrome (ФХ) – photomorphogenesis receptor. It represents the protein molecule associated with the biomembrane which has the chromophore centre. The form which stimulates the physiological activity of plants is ФХ<sub>730</sub>. Its high concentration is supported by the irradiation in the spectral range of 600–690 nm. The impact of far-red light (700–780 nm) shifts the balance in ФХ<sub>660</sub> favor which leads to the inhibition of cellular metabolism. Structural and functional reorganization of lipidic bilayer area conjugated with the phytochrome takes place under conditions of the direct photoconversion (ФХ<sub>660</sub>  $\xrightarrow{\lambda=660}$  ФХ<sub>730</sub>). As a result the permeability of the cellular membranes and desorption of the regulatory metabolites from their surface increases [31, 38, 39].

F.B. Moses and Nam Hai Chua [40] managed to determine the specific areas of polynucleotide chain which have high affinity to the products of



высокими ростовыми признаками, чем в контроле. Такие растения быстрее развивались и раньше приступали к плодоношению, т.е. более полно использовали свой адаптивный потенциал.

Факт трансгрессии говорит о том, что даже в генетически однородной совокупности (вегетативное размножение) не все растения одинаково реагируют на НКИ. Одна часть облученных особей оказалась полностью фоторезистентной (невосприимчивой) и имела такое же распределение ростовых признаков, как в контроле. Другая часть образовывала новый вариационный ряд в области больших значений этих признаков. При оптимизации режимов облучения, с ростом коэффициента стимуляции  $k$  увеличивалась доля растений, вышедших за правую границу нормы реакции в контроле. В этих же вариантах усиливалась и трансгрессия вариационных кривых (см.рис. 4).

Следует отметить, что в описываемых опытах использовали выборочные совокупности, каждая из которых насчитывала десятки и сотни растений. Однако они не отражают все возможные фенотипические реализации определенного генотипа. Представленный ими размах варьирования анализируемых признаков существенно меньше, чем в генеральной совокупности. Поэтому наблюдаемое смещение границ нормы реакции не может служить показателем генетической изменчивости, а указывают лишь на смену регуляторных отношений.

Проведенный анализ показывает, что адекватным является второй – дискретный – вариант сценария регуляторного процесса. Следовательно, при лазерном облучении переключение оперонов, ответственных за формирование морфологических

phytochrome reactions. They received the title of light-regulated elements. As it turned out, these DNA areas (regulatory sites) control the transcription of not just one but several various genes. Their expression provides the synthesis of quite a number of structural and regulatory proteins, and thus influences on the forming of various organism attributes [41, 42].

Phytochrome reactions are evolutionarily generated mechanisms of the plants adaptation to the light quantity and quality change within 24 hours. High concentration of red quantum in the morning hours facilitates the phytochrome transition to the active form and acceleration of the metabolic processes in cells. The radiation of helium-neon lasers has similar effect. It complies with the ecostandards and cannot serve as the cause of plants genetic apparatus disturbance under low intensity (0.2-30 W/m<sup>2</sup>, refer to table). At the same time, the irradiation duration for 30-240 minutes is quite enough to activate the mechanism of genes differential expression [40, 43] and change of the various organism attributes. It is important to determine how this phenotypic\* changeability can be inherited.

Based upon obtained results, the effect of low-intensity coherent light is noticeable within the period of time which considerably surpasses the period of irradiation and relaxation of the

\* Phenotypic (modification) changeability is the response on the impact of various factors, it can have adaptive nature. Herewith the genetic information is not disturbed but the form of its realization in phenotype changes. Phenotype is the totality of all organism attributes which are formed on the information basis of genotype – the totality of all its genes.



признаков растений, происходит по триггерному механизму. Таким образом, длительное сохранение стимуляционного эффекта может поддерживаться эпигенетической системой за счет устойчивых бистабильных состояний соответствующих блоков генов.

Описанные закономерности ростовых процессов наблюдали у различных культур и сортов, но только при лазерном облучении. С течением времени они не сглаживались, наоборот: к концу вегетационного периода различия с контролем становились особенно заметными. Действие иных раздражителей, например ионизирующей радиации, не приводило к трансгрессии вариационных рядов. В области ингибирующих доз наблюдали смещение правой границы нормы реакции в область меньших значений признака (см.рис.5).

Эффект бистабильности при лазерном облучении проявляется на различных процессах и носит универсальный характер. Спецификой биорегуляторного действия НКИ является то, что оно вызывает большую экспрессивность генов, чем факторы внешней среды. В результате возникают модификации, выходящие за границы нормы реакции контрольной (необлученной) совокупности особей. Как показывает эксперимент, эти модификации продолжают сохраняться в течение длительного времени.

Можно заключить, что НКИ не является мутагенным фактором и его применение не сопряжено с риском генетической модификации растений. Тогда наиболее вероятным становится эпигенетический механизм длительного запоминания стимуляционного эффекта. Явление, принимаемое за лазерный мутагенез, обусловлено другими процессами, хотя и приводящими к тем же последствиям. Еще раз подчеркнем, что все это относится только к низкоинтенсивному лазерному излучению видимой области спектра.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Будаговский А.В. Теория и практика лазерной обработки растений. – Мичуринск-наукоград, 2008.
2. Будаговский А.В. О способности клеток различать когерентность оптического излучения. – Квантовая электроника, 2005, 35, № 4, с. 369–374.
3. А.С. СССР № 1512530 / Г.П. Дудин. Способ получения мутантов зерновых культур. Опубл. 06.08.1989. Бюл. № 37.
4. Володин В.Г. Лазеры и наследственность растений. – Минск: Наука и техника, 1984.
5. Шахов А.А. Фотозенергетика растений и урожай. – М.: Наука, 1993.
6. Джелепов К. Цитогенетично действие на лазерните лъчи и влиянието им върху растежа, развитието и продуктив-

photoreaction products. The continuous signal memorization contemplates the availability of memory cells – bistable elements which have the steady alternative states. Two-operon trigger can be such element within the frame of epigenetic regulation [44, 45]. The essence of phenomenon consists in the appearance of feedback between two operons\* through their gene products. Expression of the genes block of one operon causes the synthesis of proteins-repressors which suppress the transcription of other operon and vice versa. As a result two stable states which differ in the concentration of appropriate regulatory metabolites in the cell cytoplasm occur. Transition from one state to another occurs by the impact of internal and external signals which disturb the feedback correlation between conjugated operons and has discrete, trigger nature. According to the concept of V.A. Ratner [45, с.206], “Information storage in the trigger system is performed in two methods: structural information of the system elements is recorded in the locuses of appropriate operons; information of the trigger state is recorded outside the genome by the presence or absence of certain repressor proteins”.

Research performed by us gives us opportunity to assume that continuous memorization (retention) of the laser stimulation effect takes place according to the mechanism as aforesaid. Conclusion is drawn on the basis of analysis of the logic model formed on the alternative scheme of possible events. Outcome of the experiment on pre-plant treatment of the plant cuttings with the helium-neon laser radiation served as the database of model. Morphological parameters of obtained planting stock were determined at the end of vegetation period. Effect of the low-intensity laser radiation with the wave length of 632.8 nm intensified the development of annual plants. K stimulation index (effect index) which is equal to the ratio of average values of the resultant attribute in experiment and control allows to assess it quantitatively. Hypothetically, the same value of this index can be obtained when developing two alternative scenarios of the regulatory process. Let us designate them as “analogous” and “discrete” scenarios for convenience. Its own statistics of the morphological parameters distribution corresponds to each scenario.

Let the stimulation effect occurs under some conditions of irradiation and k index takes on

\* Operon is the block of genes unified by the common regulatory element (promoter or enhancer).



- ността на пшеницата. – Растениевъдни науки, 1985, v.22, №1. с.3–8.
7. **Илиева В.П.** Применение методов лазерной техники в сельском хозяйстве (обзорная информация). – София, 1987.
  8. **Гао С.** Callus mutation by lasers for sorghum breeding. – Acta agron sinica, 1993. v. 19, № 1. p. 91–93.
  9. **Луо Р.** Study on biological effects of rice seeds irradiated by CO<sub>2</sub> laser. – Acta Agriculturae Zhejiangensis (China), 1994. v. 6, № 1. p. 7–12.
  10. **Nakayima М.** Cytogenetic effects of argon laser irradiation on Chinese hamster cells. – Rad. Res, 1983, v. 93, № 3. p. 598–608.
  11. **Plesnik S.** Changes of correlation coefficients in quantitative traits in the M<sub>2</sub> generation after laser unit and ethylenimine treatment in soybean / Plesnik S. // In: Soybean-genetics-newsletter. – USA: Agricultural-Research-Service (U.S. Department of Agriculture), 1991, v. 18, p. 140–147.
  12. **Unnikrishna Pillaj P.R.** Laser as mutagens. – J. Sci. and Ind. Res., 1998, v. 57, № 10–11, p. 658–663.
  13. **Vasileva М.** Cytogenetic effect of helium-neon and argon laser in *Pisum sativum*. – Genetika I Selektsiya (Bulgaria), 1991, v. 24, № 2, p. 90–98.
  14. **Рудь Г.Я.** Изменчивость линий кукурузы от действия лазерного облучения. – Проблемы фотоэнергетики растений. – Львов, 1978, с. 150–167.
  15. Исследование мутагенного действия лазерного излучения

certain  $k=k_3$  value determined experimentally. In analogous version it should be expected that the value of resultant attribute of all irradiated plants will be changed more or less. Their individual parameters will be dispersed around the most probable value randomly in such a way for the total contribution to provide the stimulation effect with  $k_3$  index. Variation series of such totality have one peak (mode).

In discrete version under condition of the trigger switching of the genes expression the value of resultant attribute has to tend to the maximum possible value. Plants the morphological parameters of which considerably surpass the control level will occur under favorable conditions. Then the determined value of  $k_3$  stimulation index can be obtained only if the functional activity of not all irradiated organisms but only certain number of these organisms will change. The rest of organisms will be found to be indifferent to the irradiation and their parameters will remain the same as parameters in control. In this case, the variation series will have not just one but two maximums, in other words, the distribution will become two-modal.



- в широком спектральном диапазоне на сельскохозяйственные культуры. Отчет о НИР (закл.) / АН БССР. Рук-ль В.А. Мостовников. - Л. 2. 27; ГР 79002778. - Минск, 1981.
16. **Балаур Н.С.** О мутагенном эффекте лазерного излучения. - В кн.: Проблемы фотоэнергетики растений. - Львов, 1978, с. 142-150.
  17. **Дмитриева А.Н.** Применение лазерного и гамма-излучений, ПАБК на частоту *Waxu* мутаций ячменя. - В кн.: Применение низкоэнергетических факторов в биологии и сельском хозяйстве. - Киров, 1989, с. 67-68.
  18. **Козаченко М.Р.** Получение мутантов ярового ячменя при сочетании красного лазерного излучения с химическими мутагенами или проникающей радиацией: Применение низкоэнергетических факторов в биологии и сельском хозяйстве. - Киров, 1989, с. 77-78.
  19. **Пуртова И.В.** Морфофизиологическое действие лазерного излучения и абсцизовой кислоты на растения ячменя в первом поколении. - В кн.: Применение низкоэнергетических факторов в биологии и сельском хозяйстве. - Киров, 1989, с. 92-93.
  20. **Дудин Г.П.** Лазерный мутагенез у ячменя. Автореф. дис. на соиск. ст. д-ра биол. наук. - С.-Пб., 1993.
  21. **Rubinski W.** Mutagenic effect of laser and chemical mutagens in barley. - Polish journal of theoretical and applied genetics, 1993, v. 34, № 4, p. 337-343.
  22. **Литвинова М.К.** Изучение мутагенного действия лазерного излучения на столовую свеклу: Проблемы фотоэнергетики растений. - Львов, 1978, с. 175-180.
  23. **Йонуште Р.** Использование лазерного излучения для получения наследственных изменений вики посевной. - В кн. Р. Йонуште Применение низкоэнергетических факторов в биологии и сельском хозяйстве. - Киров, 1989.
  24. **Дудина А.Н.** Реакция сортов льна на лазерное воздействие в М1. - В кн.: А.Н. Дудина. Применение низкоэнергетических факторов в биологии и сельском хозяйстве. - Киров, 1989, с. 70-71.
  25. **Рыжков С.Д.** Фотоиндуцированная гибридизация в роде *Ribes L.* - В кн.: Тезисы докладов 6 Всесоюзной конференции по фотоэнергетике растений. - Львов, 1980, с. 146-147.
  26. **Албертс Б.** Молекулярная биология. Том 2. - М.: Мир, 1994.
  27. **Виленчик М.М.** О надежности функционирования биологической системы на молекулярном уровне. - В кн.: Методические и теоретические проблемы биофизики. - М.: Наука, 1979, с. 177-182.
  28. **Гродзинский Д.М.** Надежность растительных систем. - Киев: Наукова думка, 1983.
  29. **Бурилков В.К.** Биологическое действие лазерного излучения. - Кишинев: Штиинца, 1989.
  30. **Драган А.И.** Молекулярные механизмы повреждающего действия лазерного излучения на ДНК. - Молекулярная биология, 1994, т. 28, вып. 2, с. 355-361.
  31. **Конев С.В.** Фотобиология. - Минск: Из-во БГУ, 1979.
  32. **Красновский - мл. А.А.** Механизм образования и роль син-

Experimental verification of adequacy of the stimulation process alternative scenarios is performed with the help of analysis of the variation series of the morphological parameters of currant and sea-buckthorn annual plants. When being irradiated with the laser the statistical distribution of parameters such as the height of plants, total length of shoots, number of branches, length of root system of the annual planting stock had the displacement of boundaries of reaction norms and variation curves peaks towards the larger values of resultant attribute (Fig. 4 and Fig. 5). Besides, we observed the splitting (transgression) of the morphological parameters distribution at the expense of occurrence of the units with much higher growing attributes than in control. Such plants developed faster and started bearing fruit earlier, in other words, they used their adaptive potential fuller.

Transgression fact speaks that even in genetically similar totality (vegetative reproduction) not all plants react to LCR in the same way. One part of the irradiated units was found to be fully photo-resistant (insensitive) and was having the same distribution of the growing attributes as in control. Other part was forming new variation series in the area of larger values of these attributes. When optimizing the irradiation conditions with the increase of *k* stimulation index the quantity of the plants which went beyond right boundary of the reaction norm in control was increasing. In the same variants the transgression of variation curves was also intensifying (Fig. 4).

It should be noted that in described experiments the selective totalities were used, each of them numbered tens and hundreds of plants. However, they don't reflect all possible phenotypic realizations of the determined genotype. Presented range of the deviation of analyzed attributes is considerably smaller than in general totality. Therefore, observed displacement of the boundaries of reaction norms cannot serve as the indicator of genetic changeability but it only points to the change of regulatory relations.

Performed analysis shows that the second, discrete version of the regulatory process scenario is adequate. Thus, when irradiating with laser the switching of operons responsible for the forming of plants morphological attributes occurs according to the trigger mechanism. Therefore, continuous retention of the stimulation effect can be supported by the epigenetic system at the expense of steady bistable states of appropriate genes blocks.

- глетного кислорода в фотобиологических процессах. – В кн.: Молекулярные механизмы биологического действия оптического излучения: Сб. статей/Под ред. А.Б.Рубина. – М.: Наука, 1988, с. 23–41.
33. **Никогосян Д.Н.** Физические принципы нелинейной лазерной биологии. – В кн.: Д.Н. Никогосян. Молекулярные механизмы биологического действия оптического излучения: Сб. статей / Под ред. А.Б. Рубина. – М.: Наука, 1988, с. 70–78.
  34. **Ауэрбах Ш.** Проблемы мутагенеза. – М.: Мир, 1978.
  35. **Смит К.** Молекулярная фотобиология. – М.: Мир, 1972.
  36. **Синяк В.А., Шекун Ю.Г.** Лазерное расщепление. – Кишинев: Штиинца, 1991.
  37. **Митрофанов Ю.А.** Индуцированный мутационный процесс эукариот (механизмы мутагенеза). – М.: Наука, 1980.
  38. **Волотовский И.Д.** Фитохром – фоторегуляторный рецептор. – Минск: Наука и техника, 1992.
  39. **Chamovitz D.A.** Light Signaling in Plants. – Critical Reviews in Plant Sciences. 1996, v. 15, p. 455–478.
  40. **Мозес Ф.Б.** Световые переключатели генов у растений. – В мире науки, 1988, № 6, с. 45–50.
  41. **Кузнецов Е.Д.** Роль фитохрома в растениях. – М.: Агропромиздат, 1986.
  42. **Kuhlemeier C.** Regulation of gene expression in higher. – Annual Review of Plant Physiology, 1987, v. 38, p. 221–257.
  43. **Гудвин Б.** Временная организация клетки. – М.: Мир, 1966.
  44. **Моно Ж.** Общие выводы: телеономические механизмы в процессах клеточного обмена, роста и дифференцировки. – В кн.: Регуляторные механизмы клетки. – М.: Мир, 1964, с. 477–497.
  45. **Ратнер В.А.** Молекулярно-генетические системы управления. – Новосибирск: Наука, 1975.

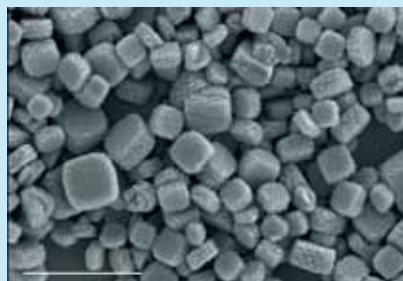
Described regularities of the growing processes were observed on various crops and kinds but only under the conditions of laser irradiation. In the course of time they were not smoothed over but to the contrary the differences with the control became more noticeable. The effect of other stimulus, for example, ionized radiation did not lead to the transgression of the variation series. In the zone of abscopal doses the displacement of right boundary of reaction norm to the zone of attribute lower values was observed (Fig. 5).

When irradiating with laser the bistability effect is shown in various processes and has universal nature. Peculiarity of the LCR bioregulatory effect is that it causes the larger expressivity of genes than the factors of external environment. As a result, the modifications which go beyond the boundaries of reaction norm of controlled (not irradiated) totality of units occur. As the experiment shows, these modifications continue to remain for a long period of time.

We can come to conclusion that LCR is not mutagenic factor and its application is not conjugated with the risk of genetic modification of plants. Then the epigenetic mechanism of the continuous memorization of the stimulation effect becomes the most probable. Phenomenon which is taken for the laser mutagenesis is caused by other processes even though these processes lead to the same outcome. We will emphasize one more time that all of it applies to the low-intensity laser radiation of the visible spectral region. ■

## НАНОПОРИСТЫЕ КРИСТАЛЛЫ

Для изготовления солнечных батарей требуются материалы с большой удельной площадью поверхности и высокой электропроводностью. Первому условию удовлетворяют композиты из частиц нанометровых размеров. Но границы раздела наночастиц сильно подавляют электронный транспорт. В работе [Crossland E.J.W. et al. – Nature, 2013, v.495, p.215] сотрудников Univ. of Oxford (Великобритания) предложено сетку наночастиц заменить монокристаллами с порами



**Нанопористые монокристаллы TiO<sub>2</sub> (длина масштабной линейки 5 мкм)**

диаметром ~10 нм. Авторы разработали технологию изготовления

таких кристаллов и опробовали ее на примере TiO<sub>2</sub> (см. рисунок). Сконструированные ими солнечные батареи имеют рекордный коэффициент преобразования световой энергии в электрическую (7,4%). Может быть путем надлежащего допирования TiO<sub>2</sub> удастся создать приборы, работающие не только в УФ-, но и в видимом диапазоне спектра.

**М.Маслов,**  
[perst.issp.ras.ru](mailto:perst.issp.ras.ru)