



УДК 581.192:546

Е.Л. Барский, Я.В. Саванина, С.Ю. Королева, И.А. Фомина, Ю.Н. Королев,
Е.С. Лобакова

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический
факультет, Россия
119899, Москва, Ленинские горы, 1, строение 12, E-mail: cordekor@list.ru*

ПОЛЯРИЗАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИООБЪЕКТОВ И ИХ КОРРЕЛЯЦИЯ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ ЭФФЕКТАМИ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДЫ ОБИТАНИЯ

В экологическом мониторинге одной из важных задач является определение степени изменения состояния биосистемы. Изменение во времени характеризует скорость этих изменений. В работе приведены данные исследований с использованием спектральных методов при различных поляризациях используемых световых потоков.

*МИКРООРГАНИЗМЫ, ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ,
СПЕКТРОСКОПИЯ ВНУТРЕННЕГО ОТРАЖЕНИЯ.*

ВВЕДЕНИЕ

На настоящем этапе развития биологических дисциплин как фундаментального, так и прикладного направления необходимость изучения жизнедеятельности клеток «в сборе» как систем саморегулирующихся и устойчивых, несущих в себе программу стабилизации свойств и процессов, программу развития в нисходящих поколениях, программу реакции применительно к меняющимся условиям внешней среды, резко возросла. Целью нашего исследования была разработка эмпирической модели, позволяющей оценить состояния биосистем, определить направление динамики изменений и их степень на примере популяций микроорганизмов.

Любые изменения среды обитания находят обязательное отражение в физиологических реакциях живой системы. Реакция проявляется либо в количественном варианте (в определенном объеме клетки изменяется количество биохимических компонентов либо их пространственная организация), либо в качественном варианте.

Микроорганизмы рассматриваются в качестве возможной модели как одна из доминантных частей любой экосистемы и как, своего рода, собирательное понятие о всех возможных способах существования земных организмов (8 типов питания, см. [1]). Реакции многоклеточных организмов на изменения параметров среды опосредованы рядом факторов и сложны для интерпретации. Одноклеточные организмы находятся в постоянном контакте со средой и зависимы от окружающих условий в большей степени, чем мелкие многоклеточные формы, поскольку у них меньше возможностей отделить свою внутреннюю среду от внешней. Обмен веществ между клеткой микроорганизма и средой осуществляется всей ее поверхностью, поэтому внутриклеточные процессы исключительно зависят от условий среды.

Если известный принцип [2], который запрещает «избыточную» организацию для

биоценозов (превышение уровня организации сообщества видов снижает приспособленность биоценоза к условиям его существования), распространить на биологические системы других структурных уровней, то можно говорить о существовании ограничения уровня организации клеточной популяции, определяемого конкретными условиями среды. Внешние условия, таким образом, определяют не только интенсивность метаболизма, но и уровень организации биосистем. Можно сказать, что организация биосистемы и ее состояние выступают как адаптация к изменившимся условиям среды существования.

Необходимость характеризовать существенные различия в состоянии клеток и в осуществляемых ими внешне однотипных процессах приводит к введению понятия о суммарных физиологических показателях. Поскольку материальным носителем жизнедеятельности биологической системы является ее структурная организация, при изучении реакций клеток на факторы воздействия необходимы неинвазивные методы исследования, т. е. обеспечивающие получение информации о степени упорядоченности живых структур без их разрушения. Свойства живой системы не являются простой суммой свойств составляющих ее макромолекул. Степень упорядоченности структур обуславливает свойства и функциональные возможности исследуемых объектов. Индикатором изменений состояния живого организма (с учетом взаимосвязи его морфологии, физиологии и биохимии) могут служить динамические изменения его пространственной и временной структуры.

По мнению ряда исследователей, основа жизни - не борьба за вещество или энергию, а борьба за упорядоченность.

Поскольку материальным носителем жизнедеятельности биологической системы является ее структурная организация, при изучении реакций клеток на факторы воздействия необходимы неинвазивные методы исследования, т. е. обеспечивающие получение информации о степени упорядоченности живых структур без их разрушения. Свойства живой системы не являются простой суммой свойств составляющих ее макромолекул. Степень упорядоченности структур обуславливает свойства и функциональные возможности исследуемых объектов. Индикатором изменений состояния живого организма (с учетом взаимосвязи его морфологии, физиологии и биохимии) могут служить динамические изменения его пространственной и временной структуры.

Учитывая сочетание разноуровневых процессов и их взаимосвязь, необходимо получение структурно-динамической информации о живых системах. Согласно современным представлениям, одной из важных черт биологических систем является взаимосвязь между пространственными и временными изменениями их показателей. Единая пространственно-временная организация биологической системы даже в условиях действия экстремальных факторов обеспечивает как ее структурно-функциональную стабилизацию, так и способность к адаптациям. Одним из проявлений пространственной организации биологической системы является ее гетерогенность, проявляющаяся в форме градиентов. Степень выраженности градиентов и их связь с динамикой процессов изменяются при воздействиях на изучаемую биологическую систему.

Известно, что клетки любого происхождения (растительного, животного, микроорганизмы) всегда содержат важнейшие биохимические составляющие (белки, нуклеиновые кислоты, липиды, полисахариды), а их пространственное распределение, а также структурная организация, включая пространственную ориентацию определенных химических связей в макромолекулах являются параметрами, характеризующими состояние популяции микроорганизмов, которые можно регистрировать через изменения спектральных характеристик образца. Тогда методическая база исследований нативных клеток должна обеспечить выполнение следующих требований: 1) анализ многокомпонентных гетерогенных систем без их разрушения; 2) получение информации об изменении во времени химического состава объекта на разном расстоянии от его поверхности; 3) получение информации об изменении степени организации биополимеров в пространстве; 4) использование статистических методов анализа и синтеза, поскольку реальные объекты, как правило, носят случайный, а не детерминированный характер.

Наиболее полно в настоящее время отвечают перечисленным выше требованиям методы спектроскопии внутреннего отражения, которые дают возможность анализировать непрозрачные объекты в любом спектральном диапазоне любыми методами, регистрирующими изменения параметров электромагнитных излучений при их взаимодействии с объектами исследований. Спектральная характеристика представляет собой своего рода кривую закона распределения, которая отражает определенные изменения в структурах клетки, происходящие при наложении внешних электромагнитных волн или в процессе отдачи ими информации. Для оценки функционального состояния клетки необходимо проанализировать содержание в клетках важнейших биополимеров (белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов), их пространственное распределение, а также структурную организацию, включая пространственную ориентацию определенных химических связей в макромолекулах.

С примерами реализации предложенной в данной работе методологии можно познакомиться в ряде публикаций [3], рассматривающих в качестве такого инструмента методы спектроскопии внутреннего отражения (СВО).

В данной работе использовались методы СВО в инфракрасном диапазоне. Спектральные характеристики, полученные в поляризованном свете, позволяют получить информацию и о преимущественной пространственной ориентации ряда химических связей в макромолекулярных компонентах клетки. Анализ проводили по полосам поглощения белков амид 1 (A_1) и амид 2 (A_2).

ПОЛЯРИЗАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИООБЪЕКТОВ

В настоящее время метод спектроскопии НПВО используется для получения спектров в самых различных диапазонах - от ультрафиолетовой до далекой инфракрасной области. Показана принципиальная применимость метода для получения характеристик кристаллов, порошков, эмульсий, суспензий, взвесей, пленок различной толщины и растворов, в том числе водных. Остановившись на анализе всего этого не представляется возможным в рамках настоящей работы.

Применительно к задачам биологии и медицины метод НПВО открыл принципиально новые возможности, связанные со спецификой этого метода.

Необходимый контакт между исследуемым объектом и рабочей поверхностью ИЭ обеспечивали следующим образом. Объекты, находящиеся в жидкой среде, наносились на рабочие поверхности ИЭ и производилось подсушивание в вытяжном шкафу в токе воздуха при комнатной температуре. Как уже было отмечено, испарение жидкости обеспечивало хороший контакт между рабочими поверхностями и исследуемыми объектами. Весь этот процесс подготовки образца занимает не более 10 мин. Затем измерительный элемент устанавливался в приставку, находящуюся в кюветном отделении спектрофотометра, и производилась запись спектра. Проверка на выживаемость микроорганизмов проводилась по принятой в микробиологии методике. Подчеркнем, что при использовании предлагаемых методов объект может изучаться в своем естественном состоянии без какой-либо дополнительной подготовки.

Известно, что при анализе биологических образцов (особенно для анализа целых клеток) одним из самых информативных является ИК-диапазон электромагнитного излучения. Отметим наиболее характерные частоты в этом диапазоне для анализа указанных образцов.

Исключительно сложный коллоид, каким является цитоплазма микроорганизма, содержит большое число веществ, в той или иной степени поглощающих инфракрасные лучи. Для каждого из них характерны свои полосы поглощения в тех или иных участках спектра. Сливаясь, полосы поглощения различных веществ дают бедный деталями спектр, в котором четко выделяется лишь определенное число полос, общих для большинства составных частей клетки. При сравнении спектральных характеристик нативных клеток обращают внимание на следующие области:

1. 2800 - 3000 cm^{-1} : 2970 - полоса антисимметричных валентных колебаний СН в CH_3 группе; 2930 - полоса антисимметричных валентных колебаний СН в CH_2 -группе; 2870 - полоса симметричных валентных колебаний СН в CH_3 -группе; 2850 - полоса симметричных валентных колебаний СН в CH_2 - группе.

2. 1500 - 1800 cm^{-1} : 1730 - 1740 - полоса смешанных валентных колебаний в неионизированной карбоксильной группе и эфирах; 1650 - 1660 или амид 1 - полоса, главным образом, валентных колебаний $\text{C}=\text{O}$ в пептидной группе; 1540 - 1550 или амид 2 - полоса, главным образом, смешанных деформационных колебаний N-H и валентных колебаний C-N и $\text{C}=\text{O}$ в пептидной группе.

3. 1400 - 1500 cm^{-1} : 1450 - полоса антисимметричных деформационных колебаний C- CH_3 ; полоса 1410; 1380 - полоса симметричных деформационных колебаний C- CH_3 .

4. 1200 - 1400 cm^{-1} : полосы 1250 и 1330.

5. 1000 - 1200 cm^{-1} : полосы 1150 - 1160, 1100, 1035, 1000 и 970.

Кроме того, валентные колебания N-H связи дают сильную полосу около 3300 cm^{-1} . Интенсивность поглощения полос спектра различных микроорганизмов определяется соотношением основных биохимических компонентов клетки: белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов.

Интенсивности полос 2930, 1740 и 1460 cm^{-1} связаны с липидными компонентами микроорганизмов. Полосы поглощения в области 1100 cm^{-1} и ниже характеризуют наличие в микробной клетке углеводов. Две сильные полосы с частотами максимумов около 1240 и 1080 cm^{-1} обусловлены присутствием фосфорорганических соединений, в том числе - нуклеиновых кислот. Все другие колебания, связанные с наличием в микробных клетках нуклеиновых кислот, имеют полосы гораздо слабее по интенсивности. Полоса поглощения 1660 cm^{-1} соответствует в основном белкам, полипептидам и солям аминокислот, хотя небольшой вклад могут внести и нуклеиновые кислоты и полисахариды. Более специфичной только для белков является полоса в пределах 1550 cm^{-1} и частично 1400 cm^{-1} . Полоса поглощения 3300 cm^{-1} также соответствует в основном белкам. Специальные исследования показали, что интенсивность этой полосы мало зависит от вида и биохимических особенностей микроорганизмов. Но именно потому, что в спектрах микроорганизмов присутствует определенное число полос, общих для большинства составных частей клетки, ценность их для анализа многокомпонентных сред велика. Если надо установить, например, в пробе пыли наличие частиц белкового происхождения, то можно воспользоваться анализом полос поглощения в области 1550, 1660 и 3300 cm^{-1} , так как все белки имеют характерные полосы поглощения в этих областях, а почти все неорганические частицы в указанных областях не поглощают. Наличие в спектре исследуемой пробы названных полос поглощения почти с достоверностью свидетельствуют о присутствии белка. Эта зависимость настолько четкая, что целесообразно построить калибровочный график для получения абсолютных данных о весовом содержании в данной пробе микробной массы или отдельных ее компонентов. Но прежде, чем мы сможем построить подобные графики, необходимо остановиться на вопросах обработки получаемой информации.

Поляризованный свет широко используется для изучения анизотропии веществ. Взаимодействие поляризованного света с любой анизотропной средой содержит в своих результатах информацию об этой анизотропии. Надо только уметь с наибольшим эффектом извлекать эту информацию. При работе с биологическими объектами возможности здесь практически неисчерпаемы, т.к. все или почти все они имеют высокую упорядоченность, сложную структуру, весьма далекую даже от намека на хаос. Нет сомнения в высокой биологической целесообразности и важности всех этих структур, что и определяет необходимость их изучения.

Степень взаимодействия света с образцом в спектроскопии НПВО зависит от состояния поляризации света. Как правило, в спектральных приборах световой луч уже частично поляризован, причем степень поляризации зависит от длины волны и может меняться при введении в пучок света образца или иных элементов. В результате состояние

поляризации светового потока становится неопределенным. Поскольку аналитические выражения для глубины проникновения излучения в образец для перпендикулярной и параллельной компонент плоскополяризованного света существенно различны, очевидно, что при количественных измерениях целесообразно работать с поляризованным светом.

Поскольку вид спектра НПВО зависит от поляризационной способности спектрального прибора даже при измерении изотропных веществ, для выполнения количественных измерений в условиях внутреннего отражения должны быть известны характер и степень поляризации источника излучения. Из литературы известно, что для случаев слабого поглощения ($K \leq 0.1$) однородной среды, эффективные толщины МО и ТП для параллельной и перпендикулярной компонент плоскополяризованного света описываются достаточно простыми выражениями, которые легко использовать для практических расчетов. Для тонкой пленки помимо требования к однородности предполагается, что ее внешняя поверхность параллельна поверхности измерительного элемента.

Необходимо также отметить, что любые эффекты или особенности, которые возникают или проявляют себя при взаимодействии светового потока с контролируемым объектом, несут огромную информацию как о самом объекте, так и об отношении его со средой обитания. Задача заключается в том, чтобы проявить эту информацию.

Рассмотрим перечисленные особенности при условии, что свет взаимодействует с неразрушенными клетками.

Определение дихроизма полос поглощения.

1/ Особенности использования линейно поляризованного света, азимут поляризации которого равен 0° или 90° .

Известно, что интенсивность полос поглощения МНПВО при оптимальном выборе условий получения спектров, определяемая экспериментально, связана с количеством исследуемого вещества следующим соотношением:

$$- \ln R = \alpha N d_{\text{эф}} = \varepsilon C N d_{\text{эф}},$$

где α - показатель поглощения вещества, см^{-1} ;

ε - молярный коэффициент поглощения вещества в прозрачном растворителе, л/см·моль; C - концентрация, моль/л; R - коэффициент отражения, измеряемый в опыте; $d_{\text{эф}}$ - эффективная толщина исследуемого образца, см; N - число отражений.

В свою очередь, эффективная толщина зависит от возмущения амплитуды электрического поля на границе раздела сред с различными показателями преломления. Для массивного образца, толщина которого намного больше глубины проникновения затухающего поля, в случае плоскополяризованного света для перпендикулярной и параллельной компонент имеем соответственно:

$$d_{\text{эф}2} = 2d_p \cdot \cos\theta / (1 - n_{21}),$$

$$d_{\text{эф}1} = d_{\text{эф}2} \{ (2\sin^2\theta - n_{21}) / [(1 + n_{21})\sin^2\theta - n_{21}] \} d_p,$$

где $n_{21} = n_2/n_1$ - относительный показатель преломления, n_2 - показатель преломления вещества (в случае поглощения показатели преломления и поглощения связаны следующей зависимостью $n_2 = n_1 - ik_2$), n_1 - показатель преломления материала измерительного элемента МНПВО, θ - угол падения, d_p - глубина проникновения затухающего поля.

Изучение ориентации молекул отдельных компонентов микроорганизмов на поверхности ИЭ может быть выполнено путем анализа интенсивности полос поглощения в спектре МНПВО, полученном при разной поляризации плоскополяризованного света для какого-нибудь из углов θ . Наиболее удобно выполнить этот анализ для $\theta = 45^\circ$, так как при этом в случае изотропного распределения молекул $2d_{\text{эф}2} = d_{\text{эф}1}$, а среднее значение $d_{\text{эф}} = (d_{\text{эф}2} + d_{\text{эф}1})/2$ примерно равно d_p .

Оценка $d_{\text{эф}1,2}$ может быть проведена также по оптической плотности образцов из выражения:

$$D_{1,2} = \alpha \cdot N \cdot d_{\text{эф}1,2}.$$

Отсюда следует вывод, что по изменению оптической плотности D можно судить об изменениях эффективной толщины $d_{\text{эф}}$ при разных направлениях поляризации источника излучения.

Перед проведением опыта необходимо убедиться, что для выбранных экспериментальных условий выполняется последнее выражение. Использование этого выражения значительно облегчает аналитическую часть работы, т.к. позволяет воспользоваться линейной зависимостью D от величины $d_{эф}$.

Для более точной юстировки ИЭ под углом $\theta = 45^\circ$, кроме оптической юстировки необходимо проверять выполнение соотношения для изотропного образца для параллельной и перпендикулярной компонент электромагнитного поля световой волны $R_2^2 = R_1$

В качестве поляризатора в ИК области удобно использовать пленочный реплика-поляризатор на основе полиэтилена с 1200 штрихов/мм; степень его поляризации 96%; пропускание поляризатора - 44%. Необходимо производить учет неполной поляризации света поляризатором.

Для экспериментов нами были использованы измерительные элементы, выполненные из Ge, инфракрасного стекла ИКС-25, AgCl, КО-2 и из PbF₂. Для получения поляризованного света были использованы пленочные поляризаторы.

Устройства для проведения самых разнообразных экспериментов, в том числе и в экологии, описаны в литературе [4].

При работе с биологическими объектами с использованием методов НПВО получение контрастных неискаженных спектров определяется правильным выбором соотношений между θ (угол падения светового потока), n_1 (показатель преломления материала измерительного элемента) и n_2 (показатель преломления исследуемого образца), которые связаны с k (коэффициентом поглощения образца).

Практическое выполнение этих требований часто сталкивается с тем, что выпускаемые промышленностью приставки к спектральным приборам для работы в режимах НПВО и МНПВО (многократного нарушенного полного внутреннего отражения) имеют ограниченный набор измерительных элементов из разных материалов (с различными n_1) и с ограниченным числом углов падения θ . Кроме того, эти приставки предназначены для конкретной аппаратуры. При замене же стандартных ИЭ на самостоятельно изготовленные (с необходимыми для каждого конкретного эксперимента параметрами) исследователь сталкивается с трудностями юстировки из-за необходимого в этом случае изменения параметров приставки. Часто и переюстировка не обеспечивает нормальный режим работы из-за несоответствия используемого ИЭ оптической схеме приставки или спектрометра, в который она устанавливается. Сказанное привело к необходимости использования разнообразных приставок, которые были использованы для решения самых различных задач.

Объем данной работы не позволяет привести все использованные нами приставки [].

Рассмотрим возможности экспериментального анализа неразрушенных клеток культуры микроорганизмов (на примере цианобактерий) «по слоям» методом спектроскопии внутреннего отражения в инфракрасном диапазоне.

Изучение возрастных изменений, происходящих в живой системе, так или иначе связано с анализом причинности и механизмов перехода из одной фазы развития в другую. Эти изменения представляются как переменная во времени совокупность многих параметров живой системы, в которой важную роль играет перестройка регуляции путей метаболизма, что, в свою очередь, связано с модификациями пространственно-временной организации системы. Это свидетельствует о необходимости получения данных об изменении в структурной организации неразрушенных клеток, а также гетерогенности этой организации в процессе осуществления живой системой своих функций.

Примененный нами для этих целей метод СВО в инфракрасном диапазоне может дать информацию о наличии биохимических компонентов, идентифицируемых по их спектральным характеристикам в заранее определенном, измеряемом слое клетки. Спектральные характеристики, полученные в поляризованном свете, дают информацию и о процессах, которые связаны с пространственной переориентацией молекулярных связей отдельных (например, белковых) макромолекул. Можно предположить, что преимущественная ориентация определенных химических связей в макромолекулярных

комплексах клеток (например, в белках), что отражается в спектрах, может служить характеристикой прижизненной организованности системы в определенный момент времени. Именно это узкосмысловое определение вкладывается нами в понятие структурных изменений биополимеров в клетках, находящихся в различных фазах цикла развития.

Теория спектроскопии НПВО доказывает возможность проведения спектрального анализа различных веществ (в том числе и рассеивающих свет) на разной глубине проникновения светового потока в исследуемый объект.

Таким образом, имеется возможность получать информацию о градиентах как биохимического состава, так и о градиентах пространственной организации клеток, а также о динамике этих изменений во времени.

Поскольку последнее положение (для неразрушенной живой клетки) является принципиальным, в настоящем разделе помимо теоретической возможности такого анализа показана практическая ее реализация на неразрушенных клетках цианобактерий.

Сформулируем предварительно условия, выполнение которых гарантирует возможность получения спектральной информации с разных глубин проникновения светового потока в клетку: 1) появление в спектрах, полученных с разных глубин, новых полос поглощения или исчезновение ранее обнаруженных полос; 2) если различаются концентрации биохимических компонентов в разных структурах клетки, то на разных глубинах должно изменяться соотношение полос поглощения, характеризующих эти компоненты; 3) получение различных дихроичных отношений на разных глубинах.

Выполнения одного из указанных условий достаточно для доказательства того, что информация поступает из различных глубин проникновения светового потока в клетку (т. е. ведется анализ живых клеток «по слоям»). Наиболее убедительным доказательством служит реализация всех трех условий.

В экспериментальных работах мы использовали инфракрасный пленочный реплика-поляризатор на основе полиэтилена: 1200 штрихов/мм, степень поляризации 95-96%, пропускание поляризатора 46-48%. Для регистрации сигнала использовали преобразование сигнала с инфракрасного спектрофотометра ИКС-29 мультиметром METEX ME-22 и последующий анализ данных на базе стандартной программы «MICROSOFT EXCEL», позволяющей провести подсчет площадей пика препарата на спектрограмме. В приставке МНПВО использовали измерительные элементы из материалов КО-2, Ge, ИКС-25 и др. с разными показателями преломления, определяющими глубину проникновения светового потока в клетки.

В работе была использована культура *Anacystis nidulans*, выращенная на среде Кратца – Майерса. Спектральные характеристики *A. nidulans*, полученных на измерительных элементах, изготовленных из германия и материала КО-2, обеспечивающих глубину проникновения светового потока в клетку примерно на 0,3 и 1,5 мкм соответственно. Таким образом, измерительный элемент из германия обеспечивает получение для *A. nidulans* спектральной информации из слоя «клеточная стенка + цитоплазматическая мембрана», а элемент из КО-2 обеспечивает спектральный анализ всей клетки. Из характеристик, полученных на 1-2-е сутки культивирования *A. nidulans*, следует, что измерительный элемент из германия не обеспечивает получения характеристики с полосой поглощения в области 1240 см^{-1} ; характеристика, полученная на элементе из КО-2, содержит ярко выраженную полосу поглощения в области 1240 см^{-1} (это можно объяснить тем, что в клеточной стенке неразрушенной культуры в исследуемый момент отсутствуют компоненты, поглощающие в данной области). Различается и соотношение полос поглощения 1660 и 1550 см^{-1} , которые принадлежат белковым компонентам (полосы амид 1 и амид 2 соответственно). Расчет дихроичных отношений также свидетельствует о различии характеристик, полученных на разных элементах. Дихроичные отношения полосы поглощения 1660 см^{-1} составляют 2,3 (элемент из германия) и 1,2 (элемент из КО-2), полосы поглощения 1550 см^{-1} — соответственно 2,9 и 1,4.

Были проведены экспериментальная проверка повторяемости результатов и их статистическая обработка. При исследовании указанных объектов при $\theta \gg \theta_{кр}$ можно вести анализ даже сильных амидных полос.

Важен также вопрос о влиянии времени записей спектров на получаемые результаты. Была произведена запись спектральных характеристик исследуемых клеток с разрывом 30 мин. В течение этого времени не обнаружено заметных изменений как в интенсивности полос поглощения, так и в дихроичных отношениях. Поскольку запись спектра производилась за время, не превышавшее 1-3 мин, то вероятную ошибку за счет времени записи спектра можно не учитывать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Полученные результаты свидетельствуют о том, что описанный метод можно применять в работах по изучению изменений в культурах клеток как при анализе причинности и механизмов перехода из одной фазы развития в другую, так и при различном воздействии на эти культуры.

2. Учитывая возможности контроля характеристик во времени можно сказать, что практически все параметры, аналогичные параметрам состояния экосистемы, могут быть получены для любого организма.

3. Степень пространственно-временной организации структур клеток, через которые осуществляется взаимодействие со средой обитания, характеризует изменения живой системы в зависимости от этапа развития и от характера взаимодействия со средой обитания.

Итак, подтверждена возможность иметь информацию о процессах, происходящих во внешних структурах клетки, и изменениях гетерогенности структурной организации целой клетки. В процессе культивирования происходит «сближение» значений дихроичных отношений для различных структур клеток, что может свидетельствовать об ухудшении состояния культуры, например, за счет истощения питательной среды и увеличения в ней продуктов метаболизма. Именно с этой целью мы контролировали питательную среду по степени ее истощения и возрастания продуктов метаболизма.

Проведенные «контрольные» опыты позволили подойти к поиску закономерностей, характеризующих состояние популяции микроорганизмов таким образом, чтобы можно было использовать эти данные при построении эмпирической модели на базе культуры микроорганизмов для оценки состояния экосистем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология, М.: АСFDEMIA, 2003.
2. Хильми Г.Ф. Основы физики биосферы. Л.: Гидрометеиздат, 1966.
3. Калабеков А.Л., Королев Ю.Н. Экологический мониторинг: Некоторые методы неинвазивного анализа интактных клеток. М.: Прима-Пресс-М, 2000.
4. Харрик Н. Спектроскопия внутреннего отражения. М.: Мир, 1973.

E.L. Barsky, Ya.V. Savanina, S.U. Koroleva, I.A. Fomina, U.N. Korolev, E.S. Lobakova

*M.V.Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Russia
119899, Moscow, Leninskie Gori, 1, Bld 12, E-mail: cordekor@list.ru*

POLARIZATION CHARACTERISTICS OF BIOOBJECTS AND THEIR CORRELATION WITH BIOLOGICAL EFFECTS WHEN CHANGING THE CHARACTERISTICS OF THE HABITATS

In environmental monitoring an important task is to define the degree of statefulness Biosystems. Time describes the speed of these changes. The work shows studies using spectral

methods with different polarizations of light.

MICROORGANISMS, SPACE-TIME ORGANIZATION, ATTENUATED TOTAL REFLECTION