

ЭКОЛОГИЯ

УДК 581.192:546

МЕТОДОЛОГИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТОЯНИЯ КУЛЬТУРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО СТЕПЕНИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЦЕЛЫХ КЛЕТОК И ИХ ВНЕШНИХ СТРУКТУР

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

(кафедра биоинженерии; e-mail: gene_b@mail.ru)

Предлагается методология определения состояния биосистем, основанная на регистрации изменений пространственно-временных параметров клеток и их внешних структур в популяции микроорганизмов разных таксономических групп методом послойного анализа с использованием спектроскопии внутреннего отражения. Выявлена зависимость между состоянием организма и изменениями в пространственной организации целых клеток и их поверхностных слоев. Предложенный метод позволяет оценивать характер и степень динамики изменений биосистем независимо от рода воздействия. Возможно применение данного метода для оценки состояния других организмов с использованием разности значений A для внешних структур и клеток этих организмов.

Ключевые слова: микроорганизмы, пространственно-временная организация, спектроскопия внутреннего отражения.

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.

Микроорганизмы рассматриваются как возможная модель биосистемы, поскольку являются одним из доминантных компонентов любой экосистемы и своего рода собирательным понятием 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, потому что 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 значительные различия в состоянии клеток и в осуществляемых ими внешне однотипных процессах приводит к введению понятия суммарных физиологических показателей [3]. Поскольку материальным носителем жизнедеятельности биологической системы является ее структурная организация, то 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 [4], основа жизни — не борьба за вещество или энергию, а борьба за упорядоченность, т.е. стремление уменьшить структурную энтропию (СЭ). Понятие “энтропия” употребляется как в термодинамике и статистической физике, так и в теории информации. Информационные процессы в реальных системах связаны с изменением их структурной (“физической”) энтропии [5]. С точки зрения статистической физики, энтропия выражает состояние системы и возрастает при переходе от менее вероятных состояний к более вероятным. Упорядоченные системы менее вероятны, и их энтропия минимальна. При несоответствии внутренних законов развития определенного фрагмента материи законам окружающей среды возникает энтропия информации (ЭИ). Изменяющееся значение ЭИ характеризует степень “понимания”, т.е. степень адаптации живой системы по отношению к среде обитания. Таким образом, основная разница между СЭ и ЭИ состоит в том, что первая — это мера используемых возможностей, а вторая — мера априорной неопределенной ситуации.

В качестве иллюстрации возможности существования различных значений ЭИ в литературе приводят неживую и живую природу [6]. Вся неживая природа развивается на основе объективных законов, как бы “зная их”, т.е. обладает полной информацией. Любой объект неживой природы — сама действительность, и, значит, симметричен ей, а его ЭИ равна нулю. При этом энтропия его как материальной системы стремится к максимуму. Для объекта живой природы характерна обратная взаимозависимость: чем выше уровень организации (т.е. чем меньше энтропия в материальном смысле), тем больше ЭИ. Развитие объекта живой природы, сопровождающееся структурированием в материальной области, неизбежно ведет все к большей информационной зависимости данной структуры от окружающего мира, а значит, и к все большей субъективной информационной неопределенности структуры или ко все большей его ЭИ. То есть чем меньше неопределенность в материальной области, тем больше неопределенность в идеальной области. Это можно объяснить тем, что у живой природы есть дополнительные “субъективные” составляющие. Неопределенность субъективной составляющей обусловлена как бесконечностью информационной картины мира, так и конечностью субъективных откликов на нее живой природы. Следовательно, полной симметрии между формируемым живой природой информационным отражением действительности и самой действительностью быть не может. Итак, ЭИ детерминированной области (действительности) в информационном плане всегда равна нулю, ЭИ случайной области когнитивной структуры информации при введении ограничений изменяется

от конечного значения до нуля. Это означает, что детерминированная и случайные области могут быть сопоставлены, и через ЭИ может быть оценена степень их взаимной несимметричности.

Для использования сказанного в конкретных экспериментах необходимо найти параметры, отражающие изменения указанных энтропий. Поскольку энтропия — количественная мера степени хаотичности чего-либо, целесообразно обратиться к физическим понятиям изотропности и анизотропности системы.

Причиной, порождающей появление ЭИ (т.е. жизни), является несоответствие внутренних законов развития данного фрагмента материи законам окружающей его среды. Для устранения этого (адаптации) система осуществляет обмен информацией со средой. Для микроорганизмов такой обмен может реализоваться лишь через внешние структуры клетки (клеточные стенки, чехлы и слизистые выделения). Можно предположить, что ЭИ находит свое отражение именно во внешних структурах организма через изменение степени пространственной организации (упорядоченности) составляющих этих структур клетки. Если это так, то изменение степени пространственной организации во внешних структурах является характеристикой степени “общения” живой системы со средой обитания. При этом важна не только количественная характеристика, но и качественная, т.е. проблема распределения информации внутри клетки, на основе которой и будет решаться задача дальнейшего развития организма.

Но у живой развивающейся системы может быть достаточно низкий уровень энтропии, т.е. она не находится в наиболее вероятном состоянии. Это означает, что живая система должна стремиться к наиболее вероятному состоянию при общении со средой обитания, адаптируясь к окружающей среде, устраняя конкретные с ней противоречия и уменьшая неопределенность ситуации. В итоге это приводит к изменению структурной энтропии, характеристика которой заключена в пространственной организации целых клеток. СЭ и ЭИ проявляют себя через разнонаправленные векторные изменения меры структурированности всей клетки и внешних структур. Это соотношение может характеризовать организованность биосистемы и, следовательно, ее функциональное состояние, что и необходимо подтвердить в экспериментах.

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

Поскольку материальным носителем жизнедеятельности биологической системы является ее струк-

турная организация, то 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 структур.

Учитывая сочетание разноуровневых процессов и их взаимосвязь, необходимо получить структурно-динамическую информацию 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. Один из видов пространственной организации биологической системы — 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, ре-

гистрирующими изменения параметров электромагнитных излучений при их взаимодействии с объектами исследований. Спектральная характеристика представляет собой своего рода кривую закона распределения, которая отражает некоторые 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 [7, 8], рассматривающих в качестве такого инструмента методы спектроскопии внутреннего отражения (СВО).

В настоящей работе использовались методы СВО в инфракрасном диапазоне. Спектральные характеристики, полученные в поляризованном свете, дают информацию и о преимущественной пространственной ориентации ряда химических связей в макромолекулярных компонентах клетки. Полученные данные можно связать с характеристиками изменений ЭИ и СЭ. Именно это узкосмысловое толкование вкладывается в понятие структурных изменений биополимеров клетки, которым будем оперировать в дальнейшем.

Материалы и методы

Экспериментальные данные по изменению анизотропии в виде ИК спектров были получены в поляризованном свете (угол падения измерительных элементов удобно выбрать равным 45° , так как для него в случае изотропного распределения молекул дихроичные отношения $(A) d_{эф||}/d_{эф\perp} = 2$, где $d_{эф\perp}$, $d_{эф||}$ — эффективные толщины исследуемого образца для перпендикулярной и параллельной компонент плоскополяризованного света). Оценка эффективной толщины проводилась по оптической плотности (D), которая связана с $d_{эф}$ зависимостью $D = \ln R = \alpha N d_{эф}$, где R — коэффициент отражения, измеряемый в опыте; α — показатель поглощения, см^{-1} ($\alpha = \varepsilon C$; ε — экстинкция, $\text{л}/\text{см} \cdot \text{моль}$; C — концентрация, $\text{моль}/\text{л}$); N — число отражений в элементе. Любое отклонение этого значения от $d_{эф||}/d_{эф\perp} = 2$ характеризует преимущественную ориентацию образца относительно плоскости падения света. В работе был использован ИК пленочный реплика-поляризатор на основе полиэтилена 1200 штрихов/мм, степень поляризации 95–96%, пропускание поляризатора 46–48%. Для регистрации сигнала использовали преобразование сигнала с ИК спектрофотометра ИКС-29 мультиметром

METEX ME-22 для ввода в компьютер и последующего анализа данных на базе стандартной программы “MICROSOFT EXCEL”, позволяющей провести обсчет площадей поглощения. Проанализированы спектральные характеристики в ИК диапазоне 1800—1200 см⁻¹ по полосам поглощения белков амид 1 (A₁) и амид 2 (A₂). Проведены статистические обработки результатов измерений.

Рассмотрим, возможно ли на основании сравнительного исследования изменений пространственной организации макромолекул важнейших биополимеров (дихроичных отношений (A)) для целых клеток и их внешних структур характеризовать функциональное состояние системы.

При изменении среды обитания биосистема пытается адаптироваться к ним, осуществляя обмен информацией со средой. В процессе адаптации биосистемы изменяется и степень анизотропии разных ее слоев, что связано с модификациями пространственной организации как целых клеток, так и их внешних структур. Степень же анизотропии можно определять с помощью регистрации спектральных характеристик, полученных при разных поляризациях электромагнитного излучения (так называемые дихроичные отношения), и цифровых данных. По соотношению этих данных для целых клеток и внешних структур (A) можно характеризовать организованность биосистемы и, следовательно, ее функциональное состояние.

Предположим, что параметрами, характеризующими энтропии, являются полученные в экспериментах различные значения A для целых клеток и их внешних структур. Тогда сопоставление значений A должно характеризовать изменение состояния живой системы, цифровые значения A — степень изменения состояния системы, а их изменения во времени — скорость этих изменений.

Чтобы доказать работоспособность предлагаемой методологии, воспользуемся теорией экологических модификаций. Существование биоценозов в широком диапазоне изменений окружающей среды возможно благодаря всем приспособительным изменениям экологической структуры биоценозов, которые и были названы экологическими модификациями [9]. Многие исследователи, в частности Ю. Одум [10], указывают на “множество параллелей” между развитием экосистем и развитием организмов.

На основании данной теории выделим базовые параметры, характеризующие состояние экосистемы [9], и сформулируем соответствующие им параметры клеточных популяций микроорганизмов (табл. 1).

Все перечисленные параметры показывают взаимосвязь между пространственными и временными характеристиками биосистем разных рангов, так как при определенном изменении среды система откликается соответствующей “реакцией”, отражающейся

Таблица 1

**Базовые параметры экосистемы
и характеристики популяции микроорганизмов**

Экосистема	Популяция микроорганизмов
Увеличение разнообразия биоценоза, в том числе общего числа видов	появление различных форм и размеров клеток при рассинхронизации
Уменьшение энтропии	повышение структурированности в пространственной организации клетки, дихроизм молекулярных структур биохимических составляющих клеток
Усложнение межвидовых отношений	логарифмическая и стационарная фазы развития популяции
Увеличение пространственной гетерогенности	пространственное перераспределение концентраций биохимических компонентов в клетке
Усложнение временной структуры — увеличение набора временных характеристик различных организмов в экосистеме вследствие увеличения видового разнообразия и разнообразия связей	то же при рассинхронизации
Увеличение длины жизненных циклов	увеличение продолжительности жизни на каждом последующем этапе развития
Увеличение устойчивости к внешним возмущениям — увеличение диапазона устойчивости и уменьшение времени восстановления	— “ — —

в изменении параметров организмов в соответствии с их состоянием.

Экспериментальными моделями (клетки в заранее известных состояниях) служили:

- 1) споры и вегетативные клетки;
- 2) синхронная и несинхронная культуры;
- 3) популяции, отличающиеся по устойчивости к внешним факторам воздействия;
- 4) контроль и популяция, подвергнутая внешнему воздействию;
- 5) периодическая и диализная культуры.

Результаты и обсуждение

Споры и вегетативные клетки. Целым вегетативным клеткам анаэробной почвенной бактерии *Clostridium pectinofermentans* [11] свойственна определенная степень пространственной упорядоченности белковых компонентов. Значения A для этих же полос, полученные из внешних структур клеток (~0,2 мкм) (табл. 2), свидетельствуют об изотропном характере распределения. Спора представляет собой наиболее устойчивое состояние для данного вида

микроорганизмов. Особого внимания, на наш взгляд, заслуживает изотропность целой споры (табл. 3). Наибольшая упорядоченность, характеризующая полосами поглощения амидных связей, наблюдается во внешних слоях споры (0–0,25 мкм), включающих клеточные структуры от экзоспориума до внутренней споровой мембраны.

Таблица 2

Значения А полос поглощения амид 1 и амид 2 для вегетативных клеток *Cl. pectinofermentans*

Фаза развития	Толщина слоя, мкм	Амид 1	Амид 2
Лог-фаза	1,0	2,25	1,62
	0,25	1,90	1,90
Логарифмическая фаза	1,0	1,74	1,56
	0,25	2,09	2,07
Стационарная фаза	1,0	1,74	1,62
	0,25	1,98	2,00

Таблица 3

Значения А полос поглощения амид 1 и амид 2 для спор *Cl. pectinofermentans*

Толщина слоя, мкм	Амид 1	Амид 2
1,0	2,0	2,0
0,25	1,3	1,3

Таким образом, получена характеристика максимальной устойчивости для данного вида микроорганизмов. В наиболее устойчивой системе разница между значениями А для внешних структур и целых клеток максимально возможная. Чем выше степень упорядоченности (уровень организации) для целых клеток, тем ниже она для их внешних структур. Процесс спорообразования сопровождается структурированием макромолекулярного матрикса внешнего слоя, т.е. внешний слой споры (0–0,25 мкм) представляет собой упорядоченную структуру в отличие от вегетативной клетки, у которой внешний слой изотропен. В итоге спора в целом изотропна, а вегетативная клетка в значительной степени упорядочена.

Синхронная и несинхронная культуры. Динамика развития гетерогенности синхронной и несинхронной культур галофильных микроорганизмов *Halobacterium halobium* [12] регистрировалась по изменениям градиента концентрации биохимических компонентов нативных клеток с помощью анализа изменений интенсивности полос поглощения и дихроичных отношений (табл. 4).

Целым клеткам несинхронной культуры свойственна определенная степень упорядоченности находящихся в них биополимеров, практически не-

Таблица 4

Значения А полосы амид 1 синхронной и несинхронной культур *H. halobium* в различные часы роста

Время, ч	Несинхронная культура		Синхронная культура	
	Анализируемый слой			
	внешние структуры	вся клетка	внешние структуры	вся клетка
3	2,0	1,6	1,8	1,6
4	2,1	1,7	1,9	1,6
5	2,0	1,5	1,8	1,5
6	2,0	1,6	1,9	1,5
7	1,9	1,5	2,0	1,5
8	2,1	1,6	1,9	1,5

заметная в их внешних структурах. В синхронной культуре анизотропия наблюдается даже в тех областях поглощения, где она не выявлена для несинхронной. При рассинхронизации культуры величины значений А практически стали совпадать с величинами, характеризующими несинхронную культуру.

Итак, увеличение гетерогенности в биосистеме, связанное с повышением ее устойчивости, отражается в изменении разности значений А в большую сторону. Полученные результаты позволяют рассматривать синхронные культуры клеток в качестве одного из “инструментов” исследования поведения популяций микроорганизмов при изменении внешней среды. Показано возрастание гетерогенности пространственно-временной организации (и биоразнообразия) при переходе экосистемы в более устойчивое состояние. Синхронная культура (неустойчивая система) рассинхронизируется в процессе развития — постепенно становится устойчивой, подобно процессу сукцессии на макроуровне.

Популяции, отличающиеся по устойчивости к внешним факторам воздействия. Проанализированы спектральные характеристики в ИК диапазоне 1800–1200 см⁻¹ целых клеток одноклеточных зеленых водорослей *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* и их поверхностных структур до и после 6-часового воздействия электромагнитного поля (ЭМП) промышленной частоты [7]. Ранее было показано, что после данного воздействия прирост клеток к концу срока культивирования у *D. tertiolecta* по сравнению с контролем составлял 30%, а у *T. viridis* вовсе отсутствовал.

Анализ полученных данных (табл. 5) позволяет рассматривать выявленные изменения в пространственной организации макромолекул важнейших биополимеров в клетке водорослей как объективный показатель реакции клетки на повреждающий фактор внешней среды. Значения А характеризуют степень

Таблица 5

Значения A полосы амид 1, характеризующие устойчивость культур микроорганизмов к внешним факторам воздействия

<i>D. tertiolecta</i>				<i>T. viridis</i>			
Анализируемый слой							
внешние структуры		вся клетка		внешние структуры		вся клетка	
контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
1,9	3,9	3,8	2,2	3,3	3,6	1,7	3,9

адаптации культуры к изменяющимся условиям среды. В более устойчивой биосистеме разница значений A больше.

Контроль и популяция, подвергнутая внешнему воздействию. В качестве фактора среды, действующего на интенсивность метаболизма и уровень организации клеток фототрофных микроорганизмов (цианобактерии *Synechococcus* sp. PCC 6301) использовался мелафен (меламиновая соль бис(оксиметил)-фосфиновой кислоты). Ранее был показан стимулирующий эффект малых (10^{-7}) концентраций данного синтетического аналога нуклеотидов на рост высших растений и клеток микроводорослей [13]. В качестве основного механизма воздействия рассматривалась модификация жирных кислот в клеточных мембранах. В эксперименте фиксировали изменение степени пространственной организации системы по значениям A в области полос поглощения A1 и A2 как для внешних структур, так и для целых клеток (табл. 6).

Таблица 6

Значения A полосы амид 1, характеризующие действие мелафена на состояние культуры цианобактерий

Без добавки		10^{-7} М		10^{-4} М	
КО-2	Ge	КО-2	Ge	КО-2	Ge
1,92	1,54	1,89	1,65	1,80	1,71

Показано, что при увеличении степени пространственной организации во внешних структурах происходит ее уменьшение для целой клетки. И, наоборот, чем выше уровень организации целой клетки, тем меньше его организация для внешних структур. Разность этих значений уменьшалась при увеличении концентрации мелафена в среде (в таких дозах мелафен ингибирует рост культур микроводорослей — 10^{-4} мг/мл). Итак, увеличение интенсивности воздействия повреждающего фактора среды уменьшает разность между A клеток и A их внешних структур. Это позволяет определить степень устойчивости системы (пределы толерантности), т.е. установить границы ее адаптивных возможностей. При экстраполяции на мак-

рообъекты и экосистемы это может послужить основой для определения степени антропогенного воздействия на макрообъект или на всю экосистему.

Периодическая и диализная культуры. Отметим здесь лишь необходимые нам выводы с точки зрения энтропийного подхода (табл. 7). Различия между клетками диализной и периодической культур цианобактерии *Synechococcus* sp. PCC 6301

наблюдаются как в спектральных характеристиках, так и в изменениях градиентов биохимического состава.

Диализная система представляет упрощенную модель функционирования природной биопленки цианобактерий: в объеме диализного мешка (погруженного в 10 раз больший объем “внешней среды”) накапливаются высокомолекулярные полисахариды, которые объединяют отдельные клетки и создают вокруг них специфические условия — организмы развиваются не в водно-солевой среде, а в коллоидном матриксе. Диализные культуры характеризуются высоким уровнем накопления биомассы и значительным увеличением продолжительности экспоненциальной и стационарной фаз роста. Кроме этого есть возможность создавать различные фоновые условия, приближенные к реальным условиям функционирования живых систем. Поэтому подобный подход может быть использован для уточнения нормативов ПДК при их определении в лабораторных условиях, а также, с нашей точки зрения, в экологии при стандартизации тест-объектов и при создании культуры с максимально возможной адаптацией при изменяющихся условиях внешней среды [14]. Увеличение разности значений A в диализной культуре подтверждает данные о ее большей устойчивости.

Итак, в данной работе предложена методология оценки состояния популяции микроорганизмов: оценивается динамика изменений в популяции микроорганизмов при различных воздействиях, характер и степень динамики происходящих изменений, скорость восстановления после воздействия.

Таблица 7

Значения A полосы амид 1 диализной и периодической культур цианобактерии *Synechococcus* sp. PCC 6301 в различные этапы развития

Этапы развития	Диализная культура		Периодическая культура	
	Анализируемый слой			
	внешние структуры	вся клетка	внешние структуры	вся клетка
Лаг-фаза	1,9	1,5	2,0	1,65
Лог-фаза	1,4	2,0	1,9	1,57
Стационарная фаза	1,92	1,42	1,68	1,98

Метод опробован на клетках микроорганизмов. Однако возможен перенос данного метода на клетки макроорганизмов (многоклеточных) с использованием разности значений A для целых клеток этих организмов и их внешних структур.

Предложена эмпирическая модель оценки состояния биосистем на основе контроля степени пространственной организации клеток и их внешних структур в популяции микроорганизмов разных таксономических групп.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. М.: АCADEMIA, 2003. 320 с.
2. Хильми Г.Ф. Основы физики биосферы. Л.: Гидрометеиздат, 1966. 300 с.
3. Максимов В.Н., Булгаков Н.Г., Левич А.П. Количественные методы экологического контроля: диагностика, нормирование, прогноз // 3-я Междунар. конф. "Экология и устойчивое развитие города — Экополис 2000". М.: МГУ, 2000. С. 79.
4. Опарин А.И. Жизнь, ее природа, происхождение и развитие. М., 1960. 200 с.
5. Сырников В.П. К вопросу о термодинамических процессах в живой системе и о роли воды в этих процессах // Журн. физ. химии. 1979. № 1. С. 58—65.
6. Заличев Н.Н. Энтропия информации и сущность жизни. М.: Радиоэлектроника, 1995. 180 с.
7. Асланян Р.Р., Королев Ю.Н. Исследование роста культуры одноклеточных зеленых водорослей методом неинвазивного анализа // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2007. № 3. С. 13—16.
8. Малахов Ю.И., Королев Ю.Н., Калабеков А.Л. Использование методов спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения для анализа биологических объектов // Измерительная техника. 2002. № 8. С. 40—45.
9. Абакумов В.А. Экологические модификации и развитие биоценозов // Тр. Междунар. симпоз. "Экологические модификации и критерии экологического нормирования". Л.: Гидрометеиздат, 1991. С. 18—40.
10. Одум Ю. Экология. М.: Мир, 1986. 380 с.
11. Дуда В.И., Королев Ю.Н., Эль-Регистан Г.И., Дужа М.В., Телегин Н.Л. Распределение и пространственная упорядоченность молекул биополимеров в покоящихся бактериальных спорах // Микробиология. 1978. Т. 47. Вып. 4. С. 750.
12. Чекулаева Л.Н. Анализ гетерогенности культуры клеток методом спектроскопии НПВО // Биофизика. 1985. Т. 30. Вып. 1. С. 173.
13. Барский Е.Л., Саванина Я.В., Шандиева И.О., Лебедева А.Ф., Фаттахов С.Г., Лобакова Е.С. Действие мелафена на рост и физиологические параметры фототрофных и гетеротрофных микроорганизмов // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2009. № 4. С. 14—19.
14. Лебедева А.Ф., Барский Е.Л., Саванина Я.В., Королева С.Ю., Королев Ю.Н., Лобакова Е.С. Диагностическое культивирование микроорганизмов как адекватная модель контроля популяций при исследовании экосистем // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2010. № 2. С. 15—20.

Поступила в редакцию
7.04.11

DETERMINATION METHODOLOGY OF THE MICROORGANISMS CULTURE STATUS ON SPATIAL ORGANIZATION DEGREE OF WHOLE CELLS AND THEIR OUTER STRUCTURES

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

Determination methodology of the biosystems state is suggested. It is based on changes registration of space-time parameters of cells and their outer structures in the microorganisms population of different taxonomic group by layer noninvasive analysis with using of internal reflection spectroscopy. Dependence revealed between organisms status and changes of spatial organization of cells and their outer structures. Suggested method allows appreciate character and degree of biosystem changes independently line action. It is supposed possibility application this method for different organisms state estimation.

Key words: *microorganisms, space-time organization, attenuated total reflection.*

Сведения об авторах

Барский Евгений Львович — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: gene_b@mail.ru

Саванина Янина Вячеславовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: gene_b@mail.ru

Королева Светлана Юрьевна — аспирантка кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: cordekor@list.ru

Королев Юрий Николаевич — докт. биол. наук, доц. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: cordekor@list.ru

Лобакова Елена Сергеевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-07; e-mail: elena.lobakova@rambler.ru