

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СВЕРХСЛАБОГО СВЕЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ.

II. МЕТОДЫ, ОСНОВАННЫЕ НА БИОЛОГИЧЕСКОМ ДЕТЕКТИРОВАНИИ

© 2021 г. И.В. Володяев*, Л.В. Белоусов*, И.И. Концевая**,
А.Е. Наумова***, Е.В. Наумова****

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

**Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины,
246019, Гомель, ул. Советская, 104, Республика Беларусь

***Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

****Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН,
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 13

E-mail: naumova@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.06.2021 г.

После доработки 20.07.2021 г.

Принята к публикации 27.07.2021 г.

Во второй части обзора методов исследования сверхслабого свечения биологических объектов представлена методология биологического детектирования. В течение первых 25 лет (1923–1948 гг.) почти все исследования сверхслабого свечения проводились именно с биологическими детекторами, причем регистрировалась только компонента, относящаяся к среднему ультрафиолетовому диапазону (в ранних работах – митогенетическое излучение), которую обнаруживали по изменению митотического режима детектора. Эти исследования остаются спорными из-за недостаточной доказательности методик, но многие полученные результаты, революционные для того времени, уже подтверждены, а научная проблематика остальных представляет значительный интерес (например, фундаментальные результаты, касающиеся деления клеток и канцерогенеза, ранняя онкодиагностика), поэтому анализ их методологии актуален для дальнейшей экспериментальной проверки этих исследований. В обзоре приведен анализ основных методик с использованием в качестве детекторов корней лука, дрожжевых и бактериальных культур, а также проведено сопоставление методики лукового детектирования с ближайшим современным аналогом (Allium-тест).

Ключевые слова: сверхслабое свечение биологических объектов, митогенетическое излучение, митогенетический эффект, биологические тест-системы, Allium-тест, биофотоника.

DOI: 10.31857/S0006302921060053

Этот раздел обзора посвящен методам, отношению к которым в научном сообществе очень неоднозначно. Эти мнения, как правило, опираются не на оригинальные статьи, а на их пересказы и личные мнения авторов, которые также не читали оригинальных статей, и колеблются от полного доверия до полного неприятия, не имея достаточной базы для научной аргументации. Митогенетический эффект, на котором было основано биологическое детектирование сверхслабого свечения (ССС), к настоящему времени не

получил достаточно убедительного и полного теоретического объяснения либо опровержения, также он не был ни опровергнут, ни доказан экспериментальными методами. В первые 25 лет почти все масштабные исследования СССР проводились именно с помощью методов биологического детектирования, и, судя по значительному количеству верных результатов, опередивших время и подтвержденных только десятки лет спустя (например, существование пептидных онкомаркеров крови), заявленные методики по крайней мере в ряде научных школ достаточно эффективно «работали». Вместе с тем с точки зрения современного уровня доказательности эти методы биологического детектирования имели существенные недостатки, а их известные описания недо-

Сокращения: СССР – сверхслабое свечение, МГЭ – митогенетический эффект, УФ-ССС – сверхслабое свечение в ультрафиолетовом диапазоне, МГИ – митогенетическое излучение.

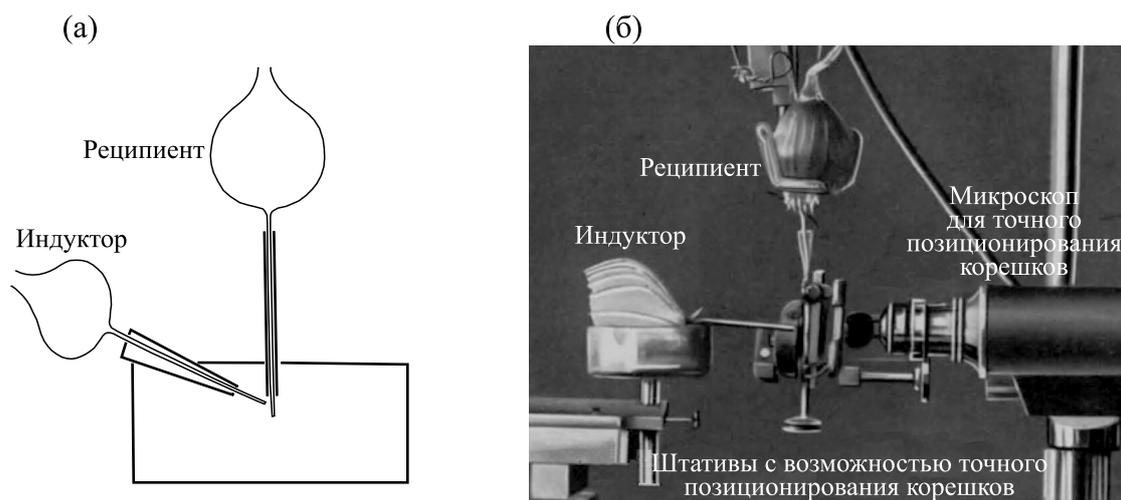


Рис. 1. Эксперимент А.Г. Гурвича с луком: (а) – по работе [2], (б) – по работе [3].

статочны полны для уверенного воспроизведения без дополнительных исследований и анализа первоисточников. Мы считаем важным представить подробный аналитический обзор методов, использованных в оригинальной литературе 1922–1948 гг., и привлечь внимание к работам, экспериментальная проверка которых представляет значительный интерес как с точки зрения фундаментальной, так и прикладной науки. Для обзора был использован уникальный архив научных публикаций, собранный А.Г. Гурвичем и его научной династией.

МИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ И МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ. ПОНЯТИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕТЕКТОРА

Определения. *Митогенетический эффект* (МГЭ) – изменение режима клеточного деления в культуре микроорганизмов, клеток или ткани под воздействием сверхслабого свечения в ультрафиолетовом диапазоне (УФ-ССС)¹ другого биологического объекта, химической системы или физического источника.

Как правило с увеличением продолжительности воздействия сначала наблюдали стимуляцию, затем эффект исчезал и далее наблюдали подавление митозов (митогенетическая депрессия).

¹ Все работы 1920–1940-х гг. уверенно относили компоненту ССС, обуславливающую эффект (т.е. митогенетическое излучение), к ультрафиолетовому диапазону. В последние два десятилетия появились единичные работы, утверждающие возможность сходных с митогенетическим эффектом дистантных нехимических взаимодействий посредством ССС видимого диапазона (см., например, работу [1]). На этих эффектах не было построено методик биологического детектирования физических параметров ССС, и они не рассматриваются в обзоре.

Однако при биологическом детектировании ССС использовался только эффект стимуляции.

Митогенетическое излучение (МГИ)² – компонента ССС, способная вызвать МГЭ в объекте-реципиенте.

*Реципиент митогенетического излучения*³ – клеточная культура или ткань, «компетентная» к МГЭ, т.е. способная отреагировать проявлением МГЭ на УФ-ССС.

Индуктор митогенетического излучения – объект-источник УФ-ССС, способный вызвать МГЭ в биологическом реципиенте при оптическом контакте и соблюдении ряда других необходимых условий.

В обширной серии работ 1920–1940-х гг. (см. ниже) МГЭ был продемонстрирован на разнообразных парах биологических индукторов и реципиентов, были показаны широкая общность явления и отсутствие видоспецифичности эффекта.

В классическом эксперименте А.Г. Гурвича [2] использовались два луковых корня: один – в качестве источника ССС (индуктора), второй – в качестве реципиента (детектора) (см. рис. 1). Верхушку корня-индуктора направляли на зону деления детектора и после окончания такой индукции делали гистологические срезы зоны деления. Было показано, что количество митотических фигур на препарате со стороны, подвергнутой облучению ССС, достоверно выше, чем на противопо-

² В старой литературе использовали также термины «лучи Гурвича», «митотические лучи».

³ В «митогенетический» период часто использовали также слово «детектор», но в рамках обзора мы будем так называть только реципиенты, использованные в качестве детекторов излучения в общепринятом техническом смысле, например в устройствах для спектрального анализа ССС.

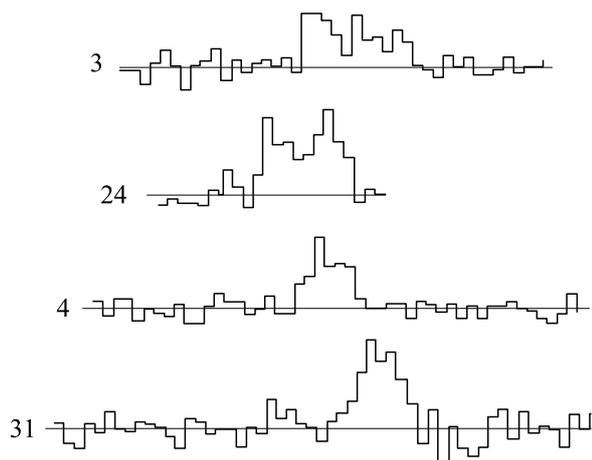


Рис. 2. Разница в количестве митозов между облученной и необлученной сторонами корня в последовательных продольных сечениях (по работе [3]).

ложной стороне — именно и только в той области, куда был направлен корень-индуктор (рис. 2 и 3).

Реципиенты митогенетического излучения. К реципиентам МГЭ, согласно данным различных работ, относятся:

- дрожжевые и бактериальные культуры в лаг-периоде [5–7];
- «стареющие» дрожжевые культуры [8, 9];
- некоторые ткани [10, 11];
- меристема растений [2, 4];
- сетчатка глаза (тритона, лягушки, крысы) [12]);
- развивающиеся эмбрионы (морского ежа [13, 14], лягушки [4]; дрозофилы [15]).

Общими чертами реципиентов являются спонтанное (вне всяких воздействий) протекание клеточного деления, субоптимальные условия роста [16] (т.е. «способность быть простимулиро-

ванными» по отношению к контрольному состоянию) и «более или менее значительный клеточный комплекс, притом в достаточно близком соседстве клеток друг с другом» ([16], с. 332).

В первые годы после открытия эффекта наиболее распространенным детектором оставались корни лука. Однако «луковые» методики оказались трудоемкими, субъективными и требовали большой затраты времени. Их сменили дрожжевые и бактериальные методики, которые были проще, допускали количественную оценку эффекта без субъективного и трудоемкого подсчета под микроскопом определенных клеток, давали лучшую воспроизводимость результатов, могли использоваться круглый год. В СССР наиболее широкое распространение получили дрожжевые детекторы [8, 16, 17], в западных странах — бактериальные [5, 18].

Несмотря на то что помимо этих реципиентов МГЭ был продемонстрирован на целом ряде других биообъектов, методики для большинства из них не были развиты и отработаны в такой мере, чтобы уверенно использовать их в качестве детекторов для фундаментальных или прикладных исследований ССС. Например, методика с роговицей глаза лягушки [16], по данным авторов обеспечивавшая очень надежные контроли (различие в числе митозов двух глаз одной лягушки не более 1–3%), была весьма трудоемкой и применялась в небольшом числе работ [16, 19, 20]. Помимо перечисленных, был разработан подход, не связанный с изменением митотического режима — он основан на изменении под действием ССС проницаемости биологических мембран (об этом судили по динамике окрашивания раствора пигментом лепестков цветов) [21], однако и он не получил распространения.

В настоящем обзоре подробно рассмотрены только луковые (см. раздел «Allium-тест»), дрожжевые и бактериальные (раздел «Дрожжевые и

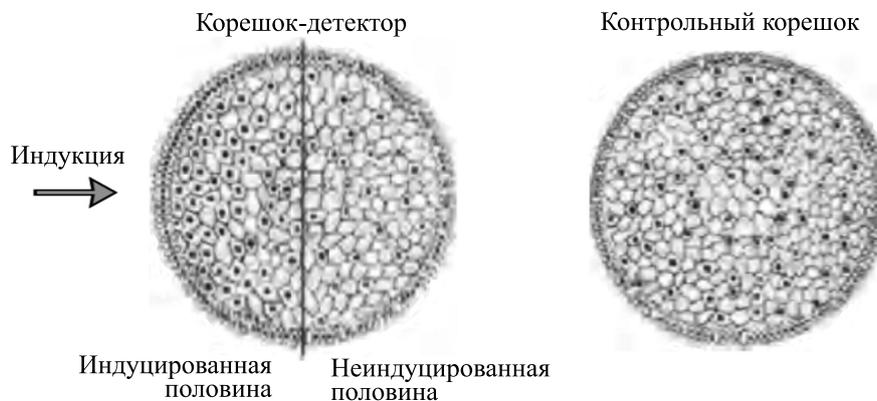


Рис. 3. Схематическое изображение поперечных срезов луковых меристем: (а) — облученный корень, (б) — необлученный корень (по работе [4]).

бактериальные методики детектирования митогенетического излучения») детекторы.

Индукторы митогенетического эффекта. К индукторам МГЭ относятся:

- культуры микроорганизмов [9, 13, 22–24] и клеток [16] в период активного роста;
- меристема растений [2, 4];
- работающие мышцы [16, 25];
- возбужденные нейроны [26];
- кровь здорового человека [27–29];
- злокачественные опухоли (наиболее активные из известных индукторов) [4, 20, 25, 30–34];
- ткани в процессе резорбции или регенерации [35–38];
- ряд химических реакций [39–41].

Также ряду авторов удалось получить МГЭ у реципиентов с помощью многократно ослабленного УФ-излучения от физических источников [42–46]. В работе [47] была исследована зависимость величины МГЭ, наблюдаемого в дрожжевом детекторе, от длины волны и интенсивности исходного УФ-излучения.

Индукторами МГЭ не являются:

- не растущие или медленно растущие культуры клеток и микроорганизмов [16, 18];
- внутренние органы [18];
- кровь пациентов с онкологическими [27–29] и некоторыми другими заболеваниями (анемия, сепсис, пневмония, скарлатина) [29, 48], а также кровь пожилых, утомленных или истощенных людей [16, 48–50].

ОБЩАЯ МЕТОДИЧЕСКАЯ СХЕМА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ

Общая последовательность детектирования митогенетического эффекта. Общая последовательность методики биологического детектирования была следующей:

1. Подготовка биологического детектора (как экспериментальной группы, так и контрольной), т.е. приведение биологического детектора в надлежащее физиологическое состояние (например, проращивание корней лука, культивирование дрожжей или бактерий до нужной стадии в нужных условиях и т.д.).

2. Экспозиция (индукция) — приведение детекторов экспериментальной группы в оптический контакт с объектом, ССС которого исследуется.

3. Период развития/проявления эффекта (после вывода из оптического контакта с индуктором детектор требует некоторого времени, чтобы стимуляция деления проявилась в достаточной степени для количественной оценки — например, чтобы в дрожжевой культуре образовалось доста-

точное количество почек или чтобы рост дрожжевой или бактериальной культуры проявился в помутнении, достаточном для его оценки нефелометром).

4. Количественная оценка параметра, характеризующего эффект (например, для дрожжей это мог быть подсчет абсолютного количества клеток в поле зрения или индекса почкования, измерение объема дрожжевой культуры мицетокритом⁴ или оценка степени помутнения культуры нефелометром или колориметром), статистическая обработка результатов. В 1920–40-х гг. обычно эффект количественно характеризовали как разницу в процентах между средними значениями в экспериментальной и контрольной группах (отмечая среднеквадратичное отклонение у каждой группы).

Условия детектирования. *Оптический контакт.* Оптический канал между индуктором и реципиентом должен быть прозрачен для света с $\lambda > 190$ нм. «Даже кварц можно использовать, только если он очень высокой чистоты» [51].

Расстояние между индуктором и реципиентом. Оптимальное расстояние — от 1 до 10 мм; максимальное расстояние, при котором наблюдается МГЭ, зависит от индуктора и реципиента, длительности индукции и специальных условий, таких как «прерывистая индукция» (см. работу [52]).

Длительность индукции. МГЭ имеет нелинейную дозовую зависимость с отчетливым эффектом подавления в области высоких доз [33, 53, 54] (см. рис. 4). Длительность индукции необходимо специально подбирать для каждого нового набора условий (по крайней мере в диапазоне 1–120 мин).

Примеры оптимальной длительности индукции, упоминаемые в литературе:

1) один-два часа (индуктор и реципиент — корни лука) [16];

2) 30 мин (индуктор и реципиент — дрожжевые культуры) [6];

3) 15–30 мин (индуктор и реципиент — бактериальные культуры). Индукция длительностью 60 мин давала нулевой эффект; индукция длительностью 120 мин приводила к подавлению роста культуры [54].

Условия освещения. Индукцию надо проводить на «рассеянном дневном свете» [57]. МГЭ не наблюдается ни на ярком свете, ни в полной темноте [16].

МГЭ не наблюдается при наличии внешнего ультрафиолетового излучения уже при относительно малых интенсивностях. Так, МГЭ пропа-

⁴ Мицетокрит — сосуд для точного измерения объема жидкой культуры.

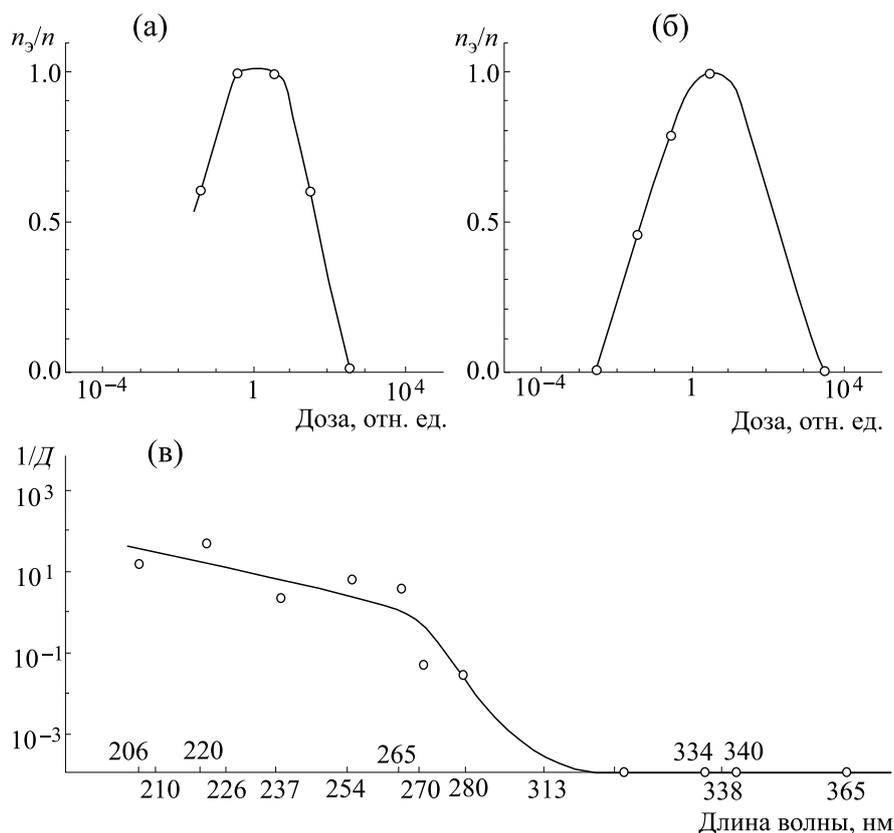


Рис. 4. Дозовые кривые и спектр действия митогенетического излучения: (а) — зависимость вероятности индукции почкования дрожжевых клеток от дозы при длине волны 206 нм, n_3 — число опытов с положительным митогенетическим эффектом; n — общее число опытов; (б) — то же, но при длине волны 220 нм; (в) — спектр действия, D — доза, соответствующая максимальному митогенетическому эффекту. (Из работы [55], построено по данным работы [56].)

дал в присутствии газовой горелки, в солнечный день при открытых окнах лаборатории и пр., но наблюдался при закрытых двойных ставнях в глубине комнаты, т.е. при фильтрации двумя оконными стеклами [16].

Динамика развития эффекта после индукции. МГЭ проявляется не сразу. Так, если регистрировать изменение *плотности культуры*, то максимальный эффект наблюдается через один-четыре часа после окончания индукции [7, 54]; если регистрировать *индекс почкования* (на дрожжевых культурах), то через 30–120 мин [6]. Однако если учитывать только почки меньше 1/10 размера материнской клетки, то МГЭ заметен уже через 5–10 мин после окончания индукции [40, 58]. Было показано, что время развития эффекта существенно зависит от продолжительности индукции [58].

Некоторые специальные условия. 1. Суспензионные культуры можно индуцировать только в очень тонком слое (<0.5 мм) [18, 54]. «Более толстые слои суспензии поглощают излучение и полностью убирают эффект» [18].

2. Следует принимать во внимание отражение, поглощение и рассеяние излучения в стекле, кварце и других материалах конструкции, поскольку они могут значительно снизить эффект или дать артефактную стимуляцию в контроле.

3. Большинство экспериментов выполняли в аэробных условиях, но без специального насыщения атмосферы (или среды) каким-либо газом. Несколько попыток получить МГЭ в анаэробных условиях не увенчались успехом [16].

4. Было отмечено, что временной характер приведения реципиента в оптический контакт с исследуемым индуктором имел существенное значение — более резкая подача ССС к реципиенту, в том числе многократная прерывистая подача с помощью вращающихся дисков с прорезями, была эффективнее, в то время как слишком медленное увеличение интенсивности ССС, например путем плавного сближения с индуктором до обычного расстояния наблюдения МГЭ, нивелировало эффект. Например, при плавном приближении к источнику в течение 5–6 мин реципиент не реагировал, тогда как при ускорении сближе-

ния до 3 мин детектирование было стабильно [16, 33].

ЛУКОВЫЕ МЕТОДИКИ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

«Основной опыт» Гурвича. А.Г. Гурвич и его сотрудники с 1922 по 1928 гг. провели ряд серий экспериментов с корешками лука обыкновенного (*Allium cepa*) в качестве детектора в разных модификациях, в том числе классический вариант, когда излучателем выступали тоже корни лука [59, 60]. Опыты проводили в лабораториях А.Г. Гурвича в Симферополе, Москве и Ленинграде [61] с разными сортами лука при разных температурных, световых и временных условиях. Общее количество таких «луковых» экспериментов по разным данным было свыше 150 [60] или около 300 [59, 62], причем А.Г. Гурвич упоминал только два отрицательных результата, полученных в его лаборатории, которые объяснял посторонними причинами [3, 63]. Т. Рейтер и Д. Габор выполнили более 200 опытов с биологическим детектированием УФ-ССС (из них 125 опытов с луковыми детекторами), представили подробные методики и протоколы экспериментов [4], в частности, они использовали луковые детекторы в экспериментах с отражением, преломлением и спектральным разложением МГИ (см. раздел «Эксперименты, подтверждающие, что МГЭ обусловлен электромагнитным излучением биообъектов в УФ-диапазоне»).

С помощью «луковой» методики было продемонстрировано МГИ различных биообъектов, причем значительное внимание уделялось высшим растениям — были исследованы корни лука, гороха, подсолнечника, гиацинта, донце лука, первые листья подсолнечника, семядоли подсолнечника, клубни и лептомы картофеля, кашицы из желтой репы, донца лука, листьев *Sedum* и др. [2, 8, 16, 45, 64–74]; было также продемонстрировано МГИ бактерий *Bacterium tumefaciens* [75, 76], дрожжевых культур [66], злокачественных опухолей [30].

В публикациях были изложены методики постановки эксперимента [2, 4, 67, 77–79], описаны (с предоставлением фотографий) разные устройства, приспособления и материалы [3, 78, 80]. Позже была опубликована выдающаяся по методической проработке статья М. Пол по луковым детекторам [71], в которой были проанализированы опыты других исследователей, учтена вся критика и предложены новые подходы для исключения возможных артефактов, в частности, разработан метод по унификации отдельных фаз митоза. Методика была опробована всего на нескольких экспериментах, результаты которых, несмотря на методические отличия, согласовывались с данными школы А.Г. Гурвича. В дальней-

шем эксперименты по методикам, предложенным М. Пол, не проводились, а данная методическая работа была проигнорирована в последующих критических обзорах — возможно, отчасти из-за отсутствия достаточного статистического материала, отчасти из-за того, что на смену луковым уже пришли более простые дрожжевые и бактериальные детекторы [81].

Ложноположительные результаты. Результаты работ [73, 82] с корнями *Allium cepa* и *Vicia faba*, подтверждающие МГЭ, А.Г. Гурвич расценивал как неубедительные с методической точки зрения, в частности он подверг критике использование в качестве детекторов двудольных растений и особенно корней бобовых вместо лука [62, 78, 83].

Критика результатов Гурвича. Среди исследований, которые не подтвердили результаты А.Г. Гурвича, наиболее значимыми являются работы Б. Россмана [84]⁵. В ответ на них А.Г. Гурвич опубликовал более подробные процедуры и множество статистических материалов, подтверждающих его результаты, а также отметил, что автор не повторял его экспериментальные условия и неудачно выбрал излучающий биообъект (корень гороха) [86–89].

Сильная критика относительно существования митогенетических лучей и выводов Гурвича по «луковому» опыту была высказана Б.П. Токиным [90], который, тем не менее, ссылается в своем резюме не на положительные результаты нескольких сотен опытов своих сотрудников, а на критические работы [91–95]. Ключевой аргумент Б.П. Токина о возможности альтернативного объяснения МГЭ не излучением, а стимуляцией митозов парами эфирного масла, испускаемыми донцем луковичи, несостоятелен, поскольку не охватывает эксперименты с химической изоляцией, эксперименты с источниками, не имеющими подобного химического фактора; отсутствуют также доказательства влияния на митозы такой малой разницы в концентрации паров, которая возникает между облучаемой и тыльной сторонами корня.

В известной критической работе [91]⁶ авторы на основании своих экспериментов сделали вывод, что корень лука как детектор МГИ не может быть использован из-за значительной асимметрии в количестве делящихся клеток между половинками корня (до 50% в их экспериментах), и оценили результаты школы А.Г. Гурвича как некорректные из-за отсутствия при каждой новой

⁵ См. также современное издание [85].

⁶ Следует отметить, что авторы работы [91] признают возможность стимуляции митозов слабым внешним УФ, т.е. принципиальную возможность биообъектов детектировать УФ-излучение, но отрицают само существование УФ-излучения у биообъектов.

постановке опыта отдельного отрицательного контроля.

М.Н. Моисеева многократно повторила основной «луковый» опыт, придерживаясь, по ее словам, в мельчайших подробностях методики А.Г. Гурвича [92–96]. Ее замечания были в основном направлены на присутствие внешних факторов (механических воздействий, света, тепла, газообразных химических веществ и т.п.), влияние которых якобы совершенно игнорировалось школой А.Г. Гурвича. При этом, судя по доступным материалам, автор включала в критический анализ только те работы А.Г. Гурвича, которые подтверждали ее мнение. В частности, в основных работах А.Г. Гурвича неоднократно было подчеркнуто сверхосторожное обращение с корнями [17, 83], применение специального оборудования и материалов, использование авторских механических конструкций для предотвращения незапланированных отклонений в положении биообъектов.

Allium-тест. *Растительная тест-система Allium cepa L.* Allium-тест был разработан в 1938 г. [97–99] и стандартизован в 1980-х годах [100–102]. Общий подход в работе с луком обыкновенным остается аналогичным предложенному А.Г. Гурвичем, хотя методика значительно проще. Экспериментальная группа луковиц с пророщенными корнями⁷ подвергается воздействию исследуемых факторов/условий, затем для оценки их влияния определяются морфологические и микроскопические параметры корней (в частности, одним из факторов, к которым чувствителен Allium-тест, является УФ-излучение). Этот тест является наиболее близким современным аналогом лукового детектора среди биологических тестов, прошедших стандартизацию и активно используемых на практике в настоящее время⁸. Наряду с *Allium cepa L.* используются и другие тест-объекты (среди растений – наиболее часто *Pisum sativum L.* (горох), *Vicia faba L.* (бобы), *Hordeum vulgare L.* (ячмень), *Zea mays L.* (кукуруза)) [118]. Тем не менее в современных исследованиях

⁷ Корни предварительно проращивают в так называемом оригинальном варианте Аллиум-теста, который наиболее удобен при тестировании физических факторов. В модифицированном варианте теста луковицы помещают непосредственно в исследуемый раствор без предварительного проращивания корешков, модифицированный вариант чаще используется при тестировании химических веществ и здесь не рассматривается.

⁸ О широком применении лука обыкновенного свидетельствует ряд примеров тестирования химических и физических агентов: антибиотики [103, 104], антиоксиданты [105], гербициды [106], грибковые экстракты [107], инсектициды [108], лекарственные растения [109], наночастицы [110], промышленные отходы [111], пестициды [112], радиоактивность [113], синтетические растительные гормоны [114], тяжелые металлы [115], ядовитые растения [116, 117].

A. cepa считается эталонным растительным тест-объектом для анализа мутагенности, митотоксичности и токсичности различных факторов [103, 119].

Широкое распространение тесты с *A. cepa* получили из-за того, что они являются более чувствительными и простыми по сравнению с биотестами животных⁹, несмотря на большие различия в организации и метаболизме между растительными и животными клетками, многими авторами сделан вывод о возможности экстраполировать полученные результаты *A. cepa* на животные организмы, включая человека [100, 102, 116, 118–142].

Кроме этого, лук обыкновенный толерантен к разным условиям проращивания (рН от 3.5 до 11.0) и доступен практически круглогодично [102, 143, 144]. В работе [100] суммированы оригинальный и модифицированный варианты Allium-теста, в работах [129, 145–147] перечислены основные значимые подходы постановки опыта.

Вопросы методики и стандартизации Allium-теста поднимались в единичных публикациях, например [148]. Проанализировав более 200 работ по Allium-тесту, мы выяснили, что мнения исследователей в отношении постановки теста и условий инкубации материала сильно различаются. Ниже мы сравниваем общие этапы гурвичевской луковой методики детекции УФ-ССС и Allium-теста для выяснения наиболее значимых условий проведения опытов, которые требуют стандартизации и, возможно, дополнительных исследований.

Реализация отдельных этапов Allium-теста.
1. *Сорт и размер луковицы.* В отличие от методик лукового детектирования МГИ, исследователи Allium-теста не акцентируют внимание на сезонных эффектах в постановке опыта и не всегда упоминают сорт лука, с которым проводят тестирование [101, 118, 128, 133, 148–168]. В тех случаях, когда упоминают название сорта, это, как правило, лук «Штуттгартен Ризен» [144, 146, 169–175].

Размер луковиц в работах большинства исследователей небольшой: диаметр 1.5–2.0 см, вес не более 3–4 г. В единичных работах применяли луковицы больших размеров: весом до 15–30 г [165], 40–60 г [167].

2. *Среда для проращивания.* Проращивание как правило выполняли на воде неопределенного состава: «пригодной для питья» [129, 147], водопроводной или фильтрованной водопроводной [129, 130, 146, 154, 176]. Редко использовали дистиллированную воду [132, 141, 147, 158, 172–174, 177–

⁹ Это подтверждено в совместных международных исследованиях в рамках Программы ООН по окружающей среде, Всемирной организации здравоохранения, Международной программы о химической безопасности, Агентства по охране окружающей среды США [118, 119].

186] и крайне редко — специальные питательные среды либо деионизированную воду [148].

В основных протоколах Allium-теста указана обязательная смена воды либо тестируемой жидкости. Эксперименты, описанные в работе [187], свидетельствуют, что цикл деления клеток сильно зависит от парциального давления кислорода как фактора окружающей среды, и авторы считают, что митотические стадии, на которые наиболее негативно влияет низкое давление кислорода — это метафаза и анафаза.

В работе [188] проанализированы клеточные реакции на повреждения, вызванные оксидативным стрессом.

3. Температура. Проращивание обычно выполняли при комнатной температуре, которая колебалась, в зависимости от времени года и климатических условий региона, от 20 до 30°C [118, 129, 144, 153–155, 159, 160, 162, 172, 177, 179, 185, 186, 189]. В единичных работах температура поддерживалась на одном уровне (22 или 25°C) с использованием фитотронов или иных инкубаторов [153–155, 172, 179, 180].

4. Освещенность. По отношению к световому режиму при постановке теста мнение исследователей также различалось. Большинство тестов выполняли при естественном освещении (при условии защиты от прямых солнечных лучей), очень редко устанавливали 12-часовой световой цикл [180]. В некоторых работах особо подчеркнуто, что луковицы должны оставаться в темноте 100% времени [147, 155, 163, 190, 191].

5. Время фиксации. Корни лука проращивают до достижения ими длины 1–2 см [129, 192].

В единичных работах указано время фиксации: с 8:00 до 9:00 [143, 177] [149] и в 11:00 [109, 164].

Анализ этапов индукционного «классического» лукового опыта. Проанализируем этапы индукционного «классического» лукового опыта в работах по МГЭ.

Сорт лука и сезонность. Ни исследователями, ни критиками практически не упомянуты используемые в опыте сорта лука. Мимолетно данный вопрос был затронут в работе [70] и чуть подробнее — в работе [193]. Только в двух работах, использующих биологическое детектирование, была отмечена значимость сорта используемого материала — картофеля [74] и лука¹⁰ [66].

Также А.Г. и Л.Д. Гурвичи подчеркивают, что для того, чтобы объективно обнаружить индукцию, необходимо выполнять эксперимент с зимним и ранневесенним материалом [2, 63, 78, 194].

¹⁰Были исследованы три коммерческих сорта, распространенных на рынках Нью-Йорка — испанский, техасский красный и техасский белый.

Предварительные эксперименты в работе [71] подтверждают предположение о влиянии сроков постановки опыта, но результаты показали хорошее прорастание луковиц с марта по ноябрь. Также влияние времени года на постановку индукционного опыта отмечали и другие исследователи [18, 193, 195].

В современном исследовании с использованием Allium-теста на сорте «Штуттгартен Ризен» [143] была подтверждена сезонность чувствительности лука [143]. В ряде работ предложен способ синхронизации и активизации деления клеток [177, 196, 197].

Размер луковиц. Выбор объекта исследования выполняется на двух этапах: 1) при отборе луковиц для проращивания придаточных корней; 2) при отборе используемых в опыте корней [70, 78].

А.Г. Гурвич отдавал предпочтение большим (многолетним) луковицам диаметром 5 см и более, поскольку именно они дают «сильные, митотически активные корни» [78]. В отличие от этого, в работах по Allium-тесту предпочтение в основном отдается более мелким луковицам (см. параграф «Реализация отдельных этапов Allium-теста»).

Среда для проращивания лука. Для проращивания луковиц во всех известных нам работах по МГЭ использовали водопроводную отстоянную воду. Отмечалось, что воду следует менять каждый день [70, 78], рекомендовано было погружать в воду только подошву лука на глубину примерно 1 см. В работах по Allium-тесту этот вопрос также мало стандартизован (см. параграф «Реализация отдельных этапов Allium-теста»).

Температура. Практически все эксперименты по МГЭ проводились при нестандартизируемой комнатной температуре. При этом А.Г. Гурвич подчеркивал, что предпочтительна «умеренная комнатная температура» (не выше 15°C) [78], а в работе [70] автором была указана средняя комнатная температура от 18°C в зимний сезон до 26°C летом.

В своем аналитическом обзоре применительно к дрожжевым культурам О. Ран писал: «К сожалению, не было заявлено, что 12°C считается нормальной комнатной температурой в Москве и Ленинграде, и исследователи, следуя [методическим] указаниям [авторов] буквально и при американских комнатных температурах, несомненно, получили бы совершенно другую физиологическую стадию» [198]. По-видимому, это также справедливо и для луковых экспериментов.

В работе [71] М. Пол подчеркивала необходимость стабилизации внешних условий с начала образования корня до конца индукционного эксперимента, чтобы исключить по возможности факторы, которые могли повлиять или размыть

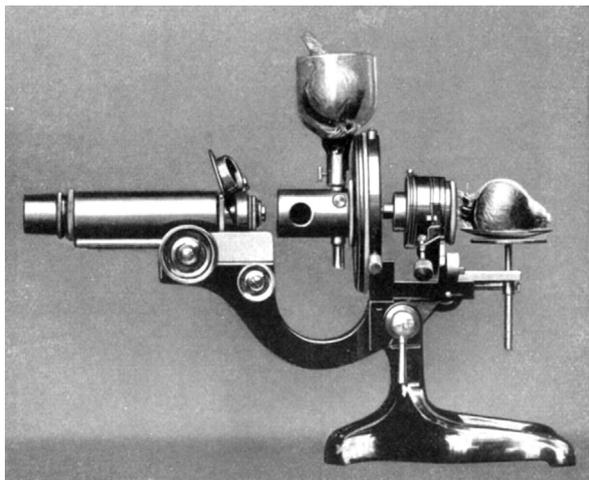


Рис. 5. Установка по получению МГЭ на корнях лука (из работы [4]).

результаты эксперимента. При этом были учтены работы о тормозящем влиянии света на деление [199–201] и о влиянии температуры на продолжительность митоза в корнях лука [202].

Освещенность. Согласно данным работ А.Г. Гурвича [59, 78], при апробировании разнообразных условий нормального освещения и затемнения было доказано отсутствие влияния естественного и искусственного освещения на скорость роста корней, регулярность формы корня, обилие митозов и радиальную симметрию митозов внутри корня. В то же время автор ссылается на доказательства негативного влияния темновых условий культивирования корней лука в работах [4, 73, 82, 85]. Ряд авторов особо подчеркивает необходимость полной защиты от возможного внешнего ультрафиолетового излучения (см. главу «Условия детектирования» раздела «Общая методическая схема биологического детектирования»).

Следует подчеркнуть, что по отношению к световому режиму при постановке Allium-теста мнение исследователей также различалось — от использования естественного освещения до строгого соблюдения 12-часовой периодичности или полной темноты (см. параграф «Реализация отдельных этапов Allium-теста»).

В работе [71] специально отмечалась необходимость стабилизации режима освещенности для корректной работы с луковым детектором.

Выбор корней для опыта. А.Г. Гурвич рекомендовал проращивать луковицы до появления корней длиной не менее 6–7 см и не более 18 см [67]; позднее верхний предел был снижен до 10–12 см [17]. В то же время отдельные исследователи работали с корнями длиной от 1 до 4 см [70, 71, 82]. А.Г. Гурвич также допускал применение корней

небольшой длины [78], но полагал, что получение эффекта при этом затруднено из-за существенного влияния собственного МГИ-детектора [67].

Для экспериментов выбирали «крепкий, идеально прямой» корень, «идеально сформированный и с наиболее симметричным кончиком» [17, 78, 203]. При этом луковицу и остальные корни обычно обрезали, так что экспериментальный корень контактировал только с частью луковицы или небольшим кусочком донца.

Автор работы [204], напротив, оставлял луковицу целой, но также удалял оставшиеся корни; в работах [4, 205] в качестве детектора был использован отрезанный корень лука.

В работах по Allium-тесту как правило использовались более короткие корни (1–2 см) — см. параграф «Реализация отдельных этапов Allium-теста».

Экспериментальная установка. Особое внимание авторы уделяли экспериментальной установке (см. рис. 5).

А.Г. Гурвич подчеркивал, что максимальная иммобилизация корня детектора абсолютно необходима для успеха эксперимента [78]. Для этого автор помещал корень в стеклянный капилляр, а центрирование корня в капилляре проводил с помощью микроскопа [2].

У других авторов, за исключением работы [82], расположение двух корней во время эксперимента всегда было таким же. Аналогичные установки использованы в работах [4, 92, 70] и др. При этом, по мнению М.Н. Моисеевой [96], подобные конструкции могут приводить к артефактам за счет неравномерного прикосновения корня к капилляру и механостимулированных митозов в этой части корня¹¹.

Во избежание подобных эффектов автор работы [82] проращивал часть корней свободно в воде или во влажном воздухе (используя цинковый ящик с небольшим окошком). Позже М. Пол [71], придерживаясь методики работы [82], использовала только свободно растущие корни, без размещения их в капиллярах.

Расстояние от индуктора до детектора. Расстояние от индуктора до детектора в опытах Гурвича составляло от 1.5–2.0 до 12 мм [2, 67], в успешных опытах других исследователей — до 38 мм (максимальное испытанное расстояние) [206]. Не только воздух, но и вода, тонкая кварцевая пластина и даже стекло в очень тонких пластинках (толщиной не более 50 мкм), размещенное между индуктором и детектором, не представляют собой препятствия для МГИ; более

¹¹ Следует отметить, что неизбежные многократные прикосновения корня к внутренней поверхности трубки скорее могут увеличить разброс результатов, чем вносить систематическую ошибку.

толстый слой стекла задерживал МГИ и нивелировал МГЭ [4, 65].

Локализация эффекта вдоль корня. Согласно данным А.Г. Гурвича [207], эффект индукции локализован латерально, но распространяется продольно на расстояние до 250 мкм [208] (см. рис. 2). По результатам авторов работы [4] в продольном направлении эффект индукции ограничен примерно 150 мкм. В работах [73,82] наблюдался более диффузный эффект в латеральном направлении (возможно, из-за недостаточной жесткой фиксации корней во время индукции).

Следует отметить, что при длительных индукциях начинал играть роль собственный рост корня. Так, за три часа индукции корень мог вырасти на 1.5–2.0 мм [67].

Продолжительность индукции. Продолжительность индукции, как уже рассмотрено в главе «Условия детектирования» раздела «Общая методическая схема биологического детектирования», необходимо подбирать для каждого нового набора условий проведения эксперимента. В научной школе А.Г. Гурвича продолжительность индукции составляла как правило 30–40 мин и более [78], вплоть до одного-двух часов [16]. Согласно данным работ [209] и [82], МГЭ постоянен при воздействии в течение 0.5–3.0 ч и 2–6 ч соответственно; согласно работе [53], эффект становится резко отрицательным при непрерывной индукции меристемы лука в течение 12–26 ч несколько раз обновляемыми культурами дрожжей («митогенетическое истощение» или «депрессия»). По данным работы [70], после первых двух часов индукции наблюдается существенное увеличение числа делящихся клеток меристемы; в дальнейшем (через 4–5 ч) наступает явная депрессия, т.е. падение числа митозов на индуцированной стороне.

Продолжительность развития эффекта. После окончания индукции корни отставляются друг от друга – требуется некоторое время на развитие эффекта [2, 18, 210]. Это время обычно составляет от 30 мин до 2 ч [6]. Согласно данным работы [4], эффект может быть обнаружен через час после окончания индукции (возможно, что и раньше) и наблюдается по крайней мере еще пять часов после индукции. В то же время М. Пол в большинстве случаев фиксацию корешков проводила сразу после окончания индукции [71].

Время фиксации корней. А.Г. Гурвич неоднократно упоминал неоднородность корней и их разную митотическую активность на момент фиксации [20, 59, 78, 79], при этом попытки выяснения суточной периодичности митозов в контрольных образцах, по-видимому, не предпринимались. В работах [78, 79] упоминается время фиксации образцов (10:00), однако без объяснения причин.

В работах [4, 71, 84, 204], напротив, предпринимались попытки выявить регулярные колебания в делениях клеток меристемы корней лука, вслед за работами [199, 200, 202, 211]. Тем не менее из-за неоднозначности полученных результатов авторы не смогли подтвердить эти наблюдения.

Проблема изучения ритмичности клеточных делений у растений представляет повышенный интерес [200, 211–220], поскольку до сих пор не решен вопрос ни о видоспецифичности данного признака, ни об определяющих его механизмах [213, 217] (см. обобщение результатов исследований ритмов клеточных делений меристемы в работах [213, 217]). Несмотря на многочисленные данные по суточной ритмике митозов в меристемах побегов и корней, результаты разных авторов часто не согласуются и даже противоречат друг другу. В том числе различны и данные по *Allium cepa* [145, 169, 187, 202, 211, 214, 216, 218, 219, 221–233]. Величина митотического индекса стабилизируется в корнях лука при длине 2–4 см и остается постоянной в процессе дальнейшего роста [234].

С нашей точки зрения и исследователям феномена МГЭ, и специалистам, работающим с *Allium*-тестом, следовало тщательнее исследовать суточную периодичность митозов и учитывать эти данные в экспериментах по МГЭ.

Фиксация и окрашивание. Согласно методике школы А.Г. Гурвича, обработку корешков выполняли фиксатором Боуэна на протяжении трех-пяти часов [78]. Однако в соответствии с данными последних лет фиксаторы Боуэна, Кларка, Карнуа, а также формалин приводят к продольной, поперечной и объемной деформации (сжатию) [235]. Также отмечено мацерирующее действие фиксатора Боуэна на апексы корня. Эти данные объясняют проблемы, с которыми столкнулась группа А.Г. Гурвича [78] при подсчете делящихся клеток.

Согласно рекомендациям, данным в работе [63], для подсчета митозов подходят только образцы, резко окрашенные железным гематоксилином и столь же резко дифференцированные, в идеале толщиной 10 мкм: «ядра покоя» (согласно сегодняшней терминологии и пониманию – ядра в интерфазе) должны быть обесцвечены насколько возможно, чтобы можно было точно идентифицировать ранние стадии профазы, когда нити хроматина четко окрашиваются.

Техника подсчета митозов. Технике подсчета митозов в школе А.Г. Гурвича уделялось особое внимание [78]. В основу были положены следующие основные правила: 1) каждый срез всегда считается несколько раз, и из них берут среднее [2, 83, 89]; 2) каждый счет, насколько это возмож-

но, пересчитывается другим сотрудником без знания результатов первого.

Приведем основные приемы в методике микроскопирования, используемые школой А.Г. Гурвича и другими исследователями.

1. *Гистологические срезы.* Изучали в основном продольные срезы толщиной 10 мкм, параллельные направлению индукции, что позволяло четко дифференцировать митозы [3, 78, 236]. Метод поперечных срезов был использован в работе [4] (рис. 3). В опытах М. Пол и поперечные, и продольные срезы показали наличие МГЭ, но автор отметила преимущество продольных срезов (продольная ось ядра и митозов обычно ориентирована вдоль оси корня, поэтому на продольных срезах гораздо легче различать отдельные стадии, чем на поперечных).

Если была идентифицирована «клеточная слизь» центральных столбцов, затрагивающих оставшуюся часть плеромы, а тем более периблемы и дерматоген, то счет не проводили [78].

При подсчетах делящихся клеток предварительно определяли среднюю плоскость [3] (в работе [204] были отмечены проблемы с ее определением). Митозы в каждой секции подсчитываются слева и справа от средней линии каждой секции. По данным микроскопических измерений на продольных срезах, длина верхушечной меристемы составляет 800–1200 мкм, длина корневого чехлика – 200–300 мкм [71, 222, 237].

Было подчеркнuto, что эффект получается всегда на пяти-семи медиальных (центральных) [238] и парамедиальных срезах из десяти, сделанных подряд, т.е. на протяжении приблизительно 60–80 мкм вдоль корня, если индукция происходит на расстоянии от 2 до 38 мм [2, 3, 8, 17, 83, 206]. При соприкосновении корней возникала более широкая полоса индукции (около 180 мкм) [67]. В большинстве поздних опытов сотрудники Гурвича ограничивались подсчетом числа митозов в 10–15 медиальных срезах (по 10 мкм) [2, 83, 194].

Примеры исследований с негативными результатами: в работах [93, 94, 96, 239] авторы подсчитывали именно периферические зоны одинаковой ширины по обе стороны от средней плоскости; в работе [82] подсчитывались все секции корня; автор работы [204] также исследовал корень целиком, а затем сравнивал с цифрами, подсчитанными на центральных срезах.

2. *Ткани.* А.Г. Гурвич рекомендовал проводить подсчет делящихся клеток от самого кончика корня до зоны растяжения, учет при подсчете всех слоев конуса нарастания из-за их плохой дифференциации: дерматогена и периблемы, плеромы, корневого чехлика, клеток калиптрогена [78]. При этом основной эффект индукции обнулялся на дерматогене и субдерматогене и

захватывал 3–4 клеточных пласта периблемы [83].

М. Пол [71] также проводила подсчет во всех тканях конуса нарастания корня, включая калиптроген и дерматоген, за исключением клеток корневого чехлика.

В негативных работах методика подсчета отличалась: в работе [82] не учитывались митозы в плероме, а автор работ [84, 204] при подсчетах игнорировал дерматоген и дополнительно калиптроген и корневой чехлик.

По вопросу о распределении митозов по цитогистологическим зонам корня в литературе существуют противоречивые сведения. Наибольшая доля делящихся клеток отмечена в дерматогене и периферических слоях периблемы в работах [183, 227, 240, 241], другие данные показывают наибольшую митотическую активность плеромы [171, 242, 243] или утверждается отсутствие существенной разницы в распределении митозов по зонам меристемы [244].

3. *Фазы клеточного цикла.* Важным моментом методологии, как подчеркивалось в работе [70], является разграничение фаз митоза, подлежащих подсчету. По этому вопросу мнения исследователей также различались [71]. Согласно рекомендации А.Г. Гурвича [89], необходимо подсчитывать митозы от самой ранней профазы до поздней телофазы в двух половинах каждой секции [63]. При этом разделительная линия фиксируется путем осмотра при малом увеличении. В работах [84, 204] автор критиковал учет профазы, которую трудно отличить от ядер в состоянии покоя, считая включение этой фазы основным источником ошибки при подсчетах¹². Тем не менее он упоминал, что в ряде опытов при подсчете профаз он также получил доминирование клеток с митозами на индуцированной стороне корня. Согласно представлениям А.Г. Гурвича [78, 83, 89], эффект индукции, напротив, проявлялся в основном в ранней профазе, не учитываемой в работах [84, 204], и именно эти методические расхождения были ответственны за отрицательные результаты. Кроме того, по данным А.Г. Гурвича [89] 40% от общего избытка митозов находится в дерматогене, который в указанных работах игнорирован.

О большей продолжительности профазы по сравнению с другими стадиями митоза свидетельствуют работы [221, 233, 245, 246]. Установлено, что суточный митотический цикл *Allium cepa*

¹² При этом автор работы [204], высказывая сомнение в собственном правильном определении клеток на стадии профазы, критиковал А.Г. Гурвича за небрежность и отсутствие четких критериев подсчета. После этой критики А.Г. Гурвич опубликовал дополнительные подробности процедуры и множество статистических материалов, подтверждающих его результаты [88, 89, 203].

включает $54.14 \pm 1.07\%$ интерфазы, $39.07 \pm 0.99\%$ профазы, $2.39 \pm 0.26\%$ метафазы, $1.56 \pm 0.26\%$ анафазы и $2.77 \pm 0.38\%$ телофазы [246]. Таким образом, утверждаемое А.Г. Гурвичем влияние МГИ на раннюю профазу митоза действительно должно регистрироваться в первую очередь при подсчете ядер в профазе и может нивелироваться при их исключении из подсчета.

Методика, описанная в работе [4], существенно отличается – авторы считали «зрелые ядра» в дополнение к митозам в обычном смысле, в итоге их подсчеты нельзя сопоставить с результатами других специалистов [70, 71].

Контроль. Исследования распределения митозов в интактных корнях выполняли А.Г. Гурвич [78, 83], М.Н. Моисеева [93, 94, 96] и еще ряд авторов. А.Г. Гурвич заявлял, что общее количество митозов в двух половинах корня отличается максимум на 5%, М.Н. Моисеева обнаружила почти полную симметрию. В работе [239] были отмечены колебания не более 4%. Напротив, подсчет в работе [204] показал разницу в $\pm 10\%$, а в работах [73, 82] были обнаружены колебания до $\pm 15\%$. Значительные различия обнаружил и автор работы [205]. Однако следует подчеркнуть, что методы подсчета у всех авторов были разные.

М.Н. Моисеева [93, 94, 96] и авторы работы [91] оценивают как некорректные результаты экспериментов и школы Гурвича, и ряда других исследователей (например, представленные в работе [66]) из-за отсутствия отдельного отрицательного контроля при каждой новой постановке опыта. В то же время А.Г. Гурвич отмечает следующее: «Специальные контроли со свободно растущими корешками нами не предпринимались, отчасти потому, что на основании долголетней предшествовавшей работы с ними мне достаточно была известна их симметрия», «...за нашу продолжительную работу у нас получился богатый материал опытов с «нулевым эффектом», могущим служить наилучшим контролем первоначальной симметрии корешков» [83]. Делается примечание, что в первых сериях (около 40 опытов) выполняли подсчет очень большого количества срезов каждого корешка и убедились в бесполезности этой длительной процедуры [83].

Статистика. Разнородность корней в смысле количества митозов, даже в пределах одной луковичи, отмечена в работах А.Г. Гурвича [20, 67], О. Рана [18] и др. (в то же время использование «идеально симметричных корней» позволяло получать очень близкие значения в пределах одного корня – см. выше). Тем не менее, несмотря на малое применение статистических методов в биологии того времени, авторы признавали необходимость статистического анализа результатов. По мнению А.Г. Гурвича [89], единственно правильное и подходящее решение – это обобщить все

существующие протоколы о луковом корне в качестве детектора и максимально объективно интерпретировать полученные данные. Аналогичное мнение было высказано авторами работы [4]. При этом исключаются только протоколы, в которых экспериментальные ошибки (или неточности в подсчетах) не только предполагались, часто безответственно, но и фактически доказывались. Такое статистическое исследование было принято в работе [247]. Ее автор графически отобразил все результаты, опубликованные А.Г. Гурвичем и его сотрудниками (около 200 опытов) (рис. 6).

Л.В. Белоусов [248] специально подчеркивает, что новаторским в исследованиях А.Г. Гурвича было то, что он использовал статистическую обработку картин распределения клеточных делений в различных растительных и животных тканях.

Надо отметить, что исследователи *Allium*-теста также подчеркивали внутрикловую вариативность митотического индекса *Allium cepa* как в контрольном, так и в экспериментальном материале, и высказывали предположение о внутривидовой вариативности признака [119, 148, 249]. При проведении *Allium*-теста многие исследователи следуют рекомендациям работ [102, 129], используя для микроскопического анализа отбор проб из пяти луковиц по пять корней на луковицу; другие следуют «статистическому стандарту» работы [249]: три луковицы и три корня на луковицу.

Возможности «модернизации» методики лукового детектора в целях повышения ее убедительности. На основании данных по разнородности корней лука в работе [18] был поднят вопрос о корректности их использования в качестве детекторов; в качестве более надежных детекторов предлагались дрожжевые и бактериальные культуры (см. ниже).

Аналогичный вопрос ставили и исследователи *Allium*-теста. Тем не менее было отмечено [148], что это не компрометирует именно лук в качестве тест-системы, поскольку описанная вариация типична для любого биологического материала. Тщательный анализ тестового материала, соответствующая экспериментальная процедура и статистический анализ полученных результатов позволяют использовать тест с низким риском ошибок.

Лук успешно использовался в качестве детектора для регистрации МГИ тканевых культур растительного или животного происхождения [89], резорбированных и регенерирующих тканей [38, 89], культур микроорганизмов [66, 75, 76], злокачественных опухолей [30]. Следует подчеркнуть, что индукторами не могут выступать не растущие или медленно растущие культуры [16, 203, 250]

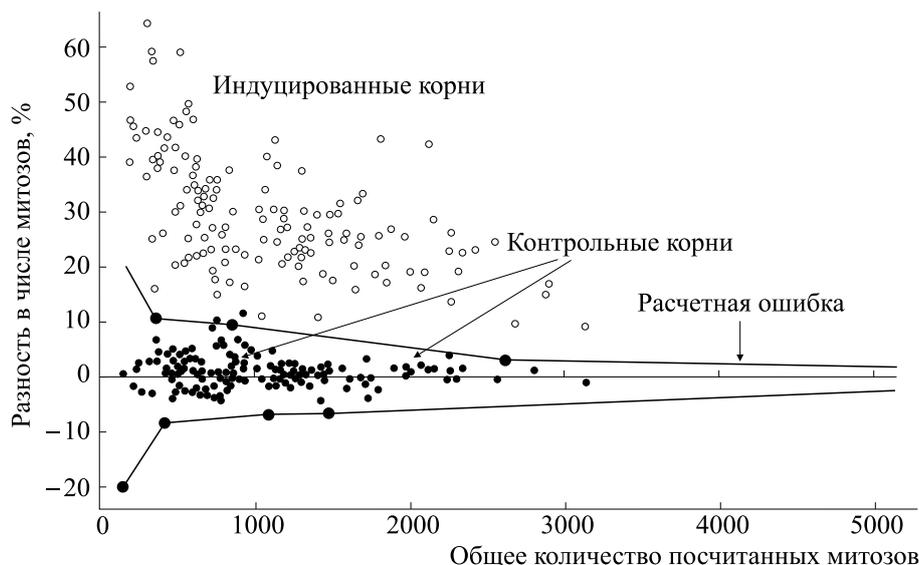


Рис. 6. Обобщенные результаты А.Г. Гурвича и соавторов с корнем лука в качестве детектора. По оси абсцисс — общее количество митозов; по оси ординат — эффект увеличения количества митозов относительно контроля. Кружки указывают на положительную индукцию, черные точки — на отсутствие митогенетического эффекта. Линией указаны пределы погрешности. (Построено по данным работы [247].)

(см. главу «Условия детектирования» раздела «Общая методическая схема биологического детектирования»), в то время как детектор на период индукции должен быть в неоптимальных условиях роста и обладать пониженной митотической активностью. Таким образом, в «луковом методе» должны использоваться детектор и индуктор с противоположными характеристиками в отношении клеточного цикла. Данный критерий не был учтен ни одним из исследователей, поскольку в период активных экспериментов с использованием лука обыкновенного (1920-е годы) представления о клеточном и митотическом цикле были минимальными, противоречивыми, часто неверными. Именно современные знания о митотическом цикле [251] помогают объяснить отдельные подходы в «луковом» методе, например «развитие эффекта», а также свидетельствуют о том, что ошибочно применять одновременно корни лука одного сорта в качестве индуктора и детектора¹³.

Мы полагаем, что можно сформулировать следующие рекомендации для «лукового метода»:

- работать с конкретным сортом лука, предварительно выяснив максимумы и минимумы суточной митотической активности;

- проращивать в естественных световых условиях;

¹³ Сведения о суточных максимумах митотической активности недостаточны и противоречивы. Вполне вероятно, что даже при использовании в качестве индуктора и детектора разных сортов нельзя подобрать время суток, оптимальное для высокой эффективности и индуктора, и детектора.

- использовать только крупные луковицы;
- отбирать корни с длиной не менее 6 см;
- использовать методику подсчета митозов, предложенную А.Г. Гурвичем.

Из перечисленного значимым «белым пятном» является знание суточной периодичности митозов конкретных сортов лука. Более того, для циклов *Allium cepa* существует значимое взаимодействие между митотическими стадиями и периодами фиксации материала. Данная зависимость свидетельствует о том, что необходимо отрабатывать не только время фиксации материала для цитологического исследования, но и время постановки луковиц на проращивание.

ДРОЖЖЕВЫЕ И БАКТЕРИАЛЬНЫЕ МЕТОДИКИ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Впервые МГЭ на дрожжевых культурах был показан в работе [8], на бактериальных — в работе [5]. Результаты этих авторов были подтверждены, например, в работах [6, 23, 252] и подверглись критике в работах [253, 254]. Среди наиболее подробных обзоров МГЭ на культурах микроорганизмов следует отметить работы [16, 18, 20, 40]; наиболее значимыми критическими обзорами являются работы [51, 81, 255]. В основном в СССР применяли дрожжевые детекторы, на Западе — бактериальные. В целом наиболее широкое распространение получили дрожжевые детекторы.

Особенности методик детектирования сверхслабого свечения с помощью дрожжевых и бактериаль-

ных культур. *Фаза роста.* МГЭ был показан на дрожжевых и бактериальных культурах в лаг-периоде [6, 7, 54], или в периоде пост-диауксии (неизвестном в то время) [8]. В первом случае для получения реципиентной культуры необходимо использовать инокулят в фазе пост-диауксии (дрожжевые культуры в возрасте 1–6 суток, и лучше агаровые, чем суспензионные [18], или бактериальные двух-четырёхсуточные культуры [5, 7, 54]). На более молодых (в период активного роста) или более старых (G0) культурах МГЭ не наблюдается [6, 18].

Период чувствительности. Любая культура-реципиент имеет период чувствительности («окно рецептивности») к МГЭ, зависящий от возраста культуры, взятой для засева. Чем ближе к стационарной фазе используемый инокулят, тем позже «открывается» окно рецептивности у полученной из него культуры микроорганизма. Так, дрожжевые культуры в лаг-периоде, полученные из односуточной культуры, чувствительны к индукции в период до одного часа после засева; культуры, полученные из шестисуточного инокулята – в период 2.0–2.5 ч после его внесения [6]. На культурах, полученных из десятисуточной исходной суспензии, МГЭ не наблюдается [6]. Бактериальные культуры, инокулированные двух-четырёхсуточным посевным материалом, чувствительны сразу после посева на питательную среду [54]. В другом варианте индуцировали исходный двух-четырёхсуточный инокулят, после чего высевали его на питательную среду [7].

Плотность культуры. МГЭ не наблюдается на «слишком густых» [18] или «слишком разбавленных» культурах [16].

Рекомендованная плотность культуры составляет:

– 20000 кл/мл (стафилококк, суспензионная культура) [5];

– 50–5000 кл/мл (*E. coli*, суспензионная культура) [7];

– отдельные клетки на плотной агаризованной среде, не образующие групп (*S. cerevisiae*, агаровая культура): «Клетки должны быть достаточно далеко друг от друга, чтобы не влиять друг на друга» ([18], с. 68).

Условия роста культуры. МГЭ не наблюдается на «стандартных» культуральных средах. Наилучший эффект достигается при использовании обедненной среды («стандартный бульон, разбавленный в 10 раз» [7]), однако некоторые результаты получены, наоборот, на среде с избыточным количеством субстрата («18-баллинговое сусло» [40]).

Эффект лучше проявляется при пониженной температуре [16].

Характеризация митогенетического эффекта в дрожжевых и бактериальных культурах. Для характеристики МГЭ в дрожжевом детекторе, инкубируемом на плотной агаризованной среде, пользовались методом подсчета абсолютного количества клеток в поле зрения и индекса почкования, т.е. количества почек, отнесенного к общему количеству клеток (размер учитываемых почек также варьировал в разных работах [16]).

Для оценки роста суспензионной культуры использовали, кроме подсчета клеток, и физические методы. Например, прирост объема культуры оценивали с помощью мицетокритов, сосудов для точного измерения объемов (так называемый объемный метод Брайнеса) [49], плотность клеток культуры характеризовали оптическим методом – с помощью нефелометров [252] или колориметров [256].

Методики использования дрожжевых детекторов наиболее подробно изложены в работах [9, 16] и в диссертациях по онкодиагностике 1940-х годов [28, 257, 258]. Бактериальные методики описаны в работах [5, 7, 259]. В методической статье по бактериальному детектированию [259] отмечается, что по сравнению с дрожжами бактериальные детекторы дают более выраженный эффект, но менее стабильный.

Негативные работы и контркритика. Ниже приведены методические особенности основных критических работ (в скобках курсивом даны наши комментарии; ссылки и методику «позитивных работ» см. выше).

Ричардс, Тейлор, 1932 [254]. Основные отличия условий эксперимента от рекомендованных в «позитивных работах»:

1. Использованы суспензионные культуры *S. cerevisiae*, без указания фазы роста (исходя из условий, описанных авторами, культура реципиента находилась в фазе экспоненциального роста). (МГЭ наблюдается только в лаг-период или в период пост-диауксии. Авторы процитировали эту рекомендацию, но предпочли отклониться от нее.)

2. Использовали культуральную среду с оптимальным составом и температуру инкубации 28°C. (МГЭ наблюдается в субоптимальных условиях, включая «обедненный» состав питательной среды и пониженную температуру культивирования.)

3. Культуру реципиента помещали в пробирки объемом 1.5–2.0 мл и фиксировали их в большом контейнере с культурой индуктора. (МГЭ в суспензионных культурах наблюдается только в очень тонких слоях (<0.5 мм).)

4. Индукция продолжалась от 2 до 24 ч. (Дрожжевые культуры демонстрируют достоверный МГЭ при длительности индукции 15–60 мин. Более длительная индукция приводит к подавлению эффекта.)

5. Плотность культуры измеряли непосредственно после индукции. (*Индукция приводит к изменению плотности культуры через один-четыре часа после ее окончания.*)

Так как в работе сделан ряд критических нарушений в методике, результаты авторов, по нашему мнению, не могут использоваться для проверки МГЭ.

Голлендер, 1937 [253]. Основные отличия условий эксперимента от рекомендованных в «позитивных работах»:

1. В качестве инокулята (для реципиента) использовали агаровые культуры в возрасте 15–19 ч (позже авторы стали использовать 39-часовые культуры). (*Культуры E. coli приобретают чувствительность к индукции после 48 ч роста (при 37°C) и, в любом случае, после окончания периода активного роста. Здесь кривые роста не приведены, а возраст культуры выбран на основании посторонних соображений.*)

2. Посевную культуру смывали с агаризованной среды солевым раствором ($NaCl$, KCl , $CaCl_2$ и вода). Полученную суспензию клеток помещали в чашки диаметром 2 см и высотой 1–2 см и индуцировали от 5 с до 12 мин при 37°C и постоянном перемешивании. (*МГЭ в суспензионных культурах наблюдается только в очень тонких слоях (<0.5 мм); авторы работ [6, 54] специально отмечали, что МГЭ невозможно обнаружить в толстом слое суспензии детектора.*)

МГЭ на бактериальных культурах наблюдается при длительности индукции 15–30 мин. В любом случае, для любых новых параметров эксперимента необходимо подбирать длительность индукции в диапазоне по крайней мере от 1 мин до 2 ч. В «позитивных работах» этот параметр всегда тщательно обрабатывали.

Использованный солевой раствор — крайне специфическая среда для индукции. Нет ни одной работы с использованием подобных сред.

Постоянное перемешивание суспензии с реципиентом — также крайне специфическое условие, до того ни разу не проверявшееся.

3. Культуру реципиента использовали в концентрации $(1.5–2.0) \cdot 10^5$ кл/мл. (*В работе [54] использовали концентрацию $2 \cdot 10^4$ кл/мл; в работе [7] — 50–5000 кл/мл. При больших концентрациях эффект не наблюдался.*)

Таким образом, авторы использовали совершенно новые условия эксперимента без проверки и оптимизации. Некоторые параметры однозначно противоречили рекомендациям «позитивных» работ (возраст посевной культуры, толщина слоя реципиента при индукции, плотность культуры реципиента). В то же время авторы очень тщательно подошли к стандартизации второстепенных условий: работали только в резиновых пер-

чатках, делали строго восемь пересевов культуры перед началом эксперимента (конкретное число пересевов никак не объясняется), использовали заземление для кварцевых пластинок и даже для самих себя. К сожалению, огромная работа, сделанная авторами, также не имеет отношения к феномену МГЭ.

Кройхен, Бейтман, 1932 [260], Накайдзуми, Шрайбер, 1931 [261], Вестенберг, 1935 [262]. В этих критических работах также нарушен целый ряд рекомендованных условий. Так, в работе [261] использовали культуры дрожжей в фазе экспоненциального роста (9–12 ч при 25°C); в работе [260] использовали культуру реципиента в концентрации на два-три порядка выше, чем рекомендовано в «позитивных работах». К сожалению, нам не удалось найти оригинал работы [262], однако в монографии [59] разобрана методика этой работы с указанием критических нарушений.

Попытки повторить МГЭ в «новое время». Были попытки воспроизведения МГЭ в дрожжевых культурах, индуцированного дрожжевой культурой [263] и слабым искусственным УФ-излучением [264] после того, как авторы данных работ получили в 1970–1980-е гг. достоверные результаты по физической регистрации ССС в УФ-диапазоне.

К сожалению, данные авторы не имели информации об условиях, необходимых для получения эффекта, и сделали ряд критических ошибок в методике. Ниже приведены использованные ими условия (в скобках курсивом даны наши замечания):

1. В качестве индуктора использовали диплоидный лабораторный штамм *S. cerevisiae* (фаза экспоненциального роста).

2. Культура реципиента была: (1) в стационарной фазе (G_0 — 10 суток при 28°C и насыщении кислородом) или (2) в лаг-периоде — сразу после высева инокулята на свежую питательную среду. (*МГЭ не наблюдается на стационарных культурах или культурах, высеянных из них. Работать можно только с культурами в области пост-диауксии.*)

3. Использовали в качестве реципиента суспензионные культуры при 28°C, продуваемые кислородом. (*МГЭ наблюдается в субоптимальных условиях, включая пониженную температуру. Продувание кислородом никогда не использовалось в «позитивных работах». Ранее подобные условия использовали только в работе [253], в которой МГЭ не был зафиксирован.*)

4. Индукцию проводили с реципиентом в пробирках объемом 10 мл. (*МГЭ на суспензионных культурах наблюдается только в очень тонких слоях (<0.5 мм).*)

5. Индукция начиналась сразу после (или непосредственно перед) высева инокулята на све-

жую питательную среду. (*Культура-реципиент чувствительна к индукции только в определенный период («окно рецептивности»), который зависит от физиологического состояния инокулята. Авторы никак не проверяли этот параметр.*)

6. Единственное проверенное время индукции было 30 мин. (*Длительность индукции необходимо оптимизировать по крайней мере в диапазоне 1–120 мин для любых новых условий.*)

Таким образом, авторы работы [263] использовали совершенно новые условия, без оптимизации ключевых параметров эксперимента. В некоторых случаях использованные условия прямо противоречили рекомендациям «ранних авторов» (возраст культуры-реципиента, «окно рецептивности», метод индукции).

Попытки воспроизвести МГЭ предприняли еще в ряде лабораторий (см., например, работы [265, 266]). Авторам удалось получить хорошие результаты, но не удалось воспроизвести эффект в повторных сериях экспериментов [266]. Судя по описанной ими методике, авторы не были знакомы с рекомендациями «ранних работ» и оставили без внимания ряд важных параметров эксперимента.

К подобным работам, недостаточно полно учитывающим рекомендации ранних авторов, можно отнести и нашу собственную (И.В. и Л.Б.) попытку повторить МГЭ на дрожжевых культурах в 2010–2013 гг. Изучив проблематику по книгам и обзорным статьям (И.В.), мы попытались воспроизвести условия эксперимента, однако получили маловоспроизводимые результаты [267, 268]. После оптимизации условий нам удалось получить достоверную воспроизводимую стимуляцию культуры-реципиента, которая в итоге оказалась вызванной не ССС, а углекислым газом, продуцируемым культурой-индуктором и стимулирующим рост культуры-реципиента [269]. Позднее более тщательный анализ оригинальных работ по МГЭ позволил понять сделанные методические ошибки [270]:

- сверхобедненная среда для реципиента, на которой не мог проявиться МГЭ, а только стимуляция химическими факторами;

- слишком высокая плотность культуры-реципиента;

- неотработанная фаза роста посевной культуры;

- неоптимизированная длительность индукции.

Таким образом, негативный результат нашей собственной работы [267–269] также не имеет отношения к проверке МГЭ и не должен трактоваться в рамках данного вопроса.

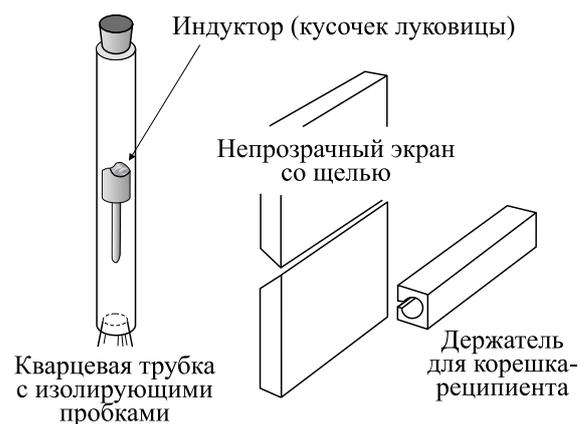


Рис. 7. Эксперимент, подтверждающий прямолинейное распространение и нехимическую природу фактора, обуславливающего МГЭ. Индуктор – кусочек головки лука, размещен в герметично закрытой кварцевой пробирке, реципиент – корень лука. (Из работы [4], с небольшими изменениями.)

ОСНОВНЫЕ СХЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СВЕРХСЛАБОГО СВЕЧЕНИЯ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМ ДИАПАЗОНЕ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ ДЕТЕКТОРАМИ

Эксперименты, подтверждающие, что митогенетический эффект обусловлен электромагнитным излучением биообъектов в ультрафиолетовом диапазоне. Первые эксперименты после открытия МГЭ были направлены на исследование обуславливающего его фактора. Было установлено, что эффект имеет не химическую природу, размещение индуктора или детектора в герметичной кварцевой колбе не влияло на эффект (см. рис. 7).

Практически одновременно Д. Габор с Т. Рейтером и А.Г. Гурвич показали, что фактор, обуславливающий митогенетический эффект, проявляет свойства электромагнитного излучения – распространяется прямолинейно (рис. 7), отражается (рис. 8), преломляется в кварцевой призме (рис. 9) (в более поздних работах были получены детальные спектры МГИ – см. ниже).

Размещение между индуктором и детектором пластин из материалов с различными окнами прозрачности (слода, стекло, желатин, кварц, дерево и т.п.) [4, 16, 271] позволило отнести это излучение к УФ-диапазону. Кварцевая пластинка не влияла на эффект, со стеклянной же пластинкой он исчезал. Также подтвердили УФ-диапазон излучения первые довольно простые эксперименты с призмами (см. рис. 9). Впоследствии этот вывод был косвенно подтвержден тем, что митогенетический эффект наблюдался под действием многократно ослабленного УФ-излучения физических источников (искровых разрядов, ртутных ламп) [42–47].

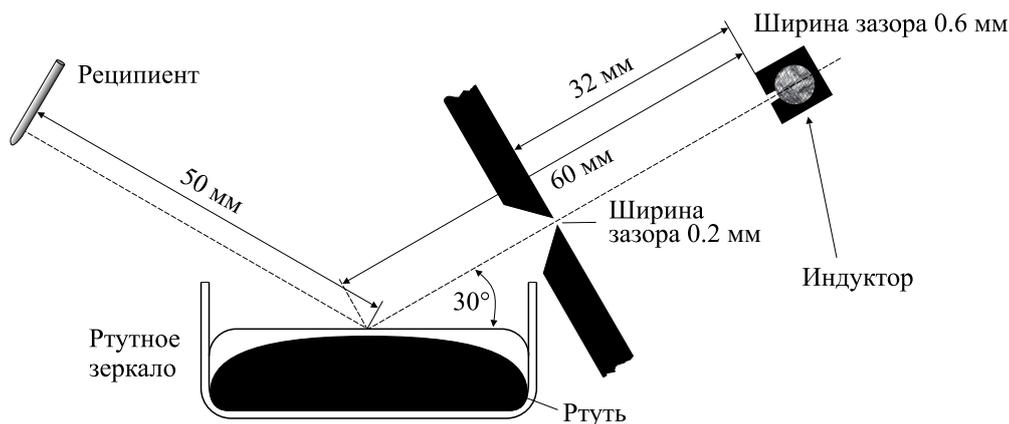


Рис. 8. Эксперимент с отражением УФ-ССС от поверхности ртути. (Схема из работы [4], с незначительными изменениями.)

Метод спектрального митогенетического анализа. Схема спектрального митогенетического анализа. Первые работы по исследованию физических свойств МГИ, проведенные с помощью призмы и зеркал, получили дальнейшее развитие с применением монохроматоров. В работах [44, 272] были представлены установки для получения детальных спектров МГИ (рис. 10–12).

Индуктор размещали перед входной щелью монохроматора, а на месте выходной щели устанавливали линейку независимых биологических реципиентов (как правило, агаровых блоков с дрожжевой культурой) — детекторов МГИ. При этом МГЭ наблюдался не во всех детекторах, а только в определенных, и заранее известное положение спектральных линий на этой линейке позволяло получить «биологический спектр МГИ».

Существенно повысить разрешение за счет дальнейшего уменьшения ширины агаровых блоков было невозможно, и из спектра излучения стали выделять полосы шириной по 10 Å с помощью монохроматора [273]. Схема с монохромато-

ром требовала значительных затрат времени на последовательную экспозицию детекторов. Дальнейшее усовершенствование повысило разрешение спектров до 5 Å [274].

С помощью спектральных установок с биологическими детекторами была обнаружена и исследована УФ-хемилюминесценция целого ряда биохимических и химических реакций. На рис. 13 представлены митогенетические спектры различных ферментативных реакций — расщепления креатинфосфата, глюкозы и др. [20].

Сенсибилизированная флуоресценция. В. Франкенбургер, развивая свою гипотезу о свободнорадикальном механизме ультрафиолетовой хемилюминесценции, предположил, что энергия, образующаяся при рекомбинации радикалов, может передаваться веществу, не принимающему участия в реакции, и высвечиваться с характерным для него спектром¹⁴ [275]. Спектральный анализ подтвердил его гипотезу, это явление было названо сенсибилизированной флуоресценцией и исследовано в различных модельных системах. Например, добавление в водный раствор облученного глицина¹⁵ солей NaH_2PO_4 или NaCl приводит к появлению характерных спектральных полос ионов этих веществ [277, 278] (см. рис. 14). Исследования сенсибилизированной флуоресценции в различных модельных системах были использованы для выяснения механизмов УФ-ССС биологических объектов. Например, анализ данных МГИ-спектров различных систем привел авторов к заключению, что так называе-

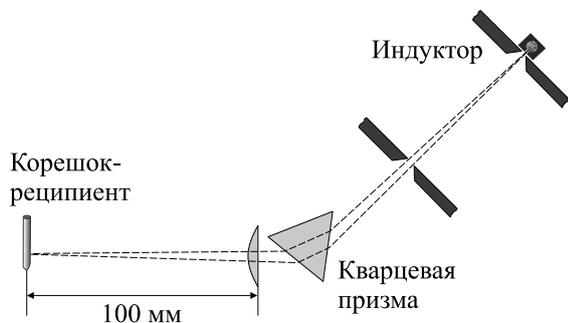


Рис. 9. Эксперимент с преломлением УФ-ССС в кварцевой призме. (Схема из работы [4], с незначительными изменениями.)

¹⁴ Сама возможность передачи энергии возбужденного состояния атома/молекулы другому атому/молекуле с последующим высвечиванием была известна ранее.

¹⁵ Предварительно облученный глицин широко использовался в экспериментах «митогенетического периода» как система с наиболее простым спектром — излучение наблюдалось только в полосе 229–230 нм [276].

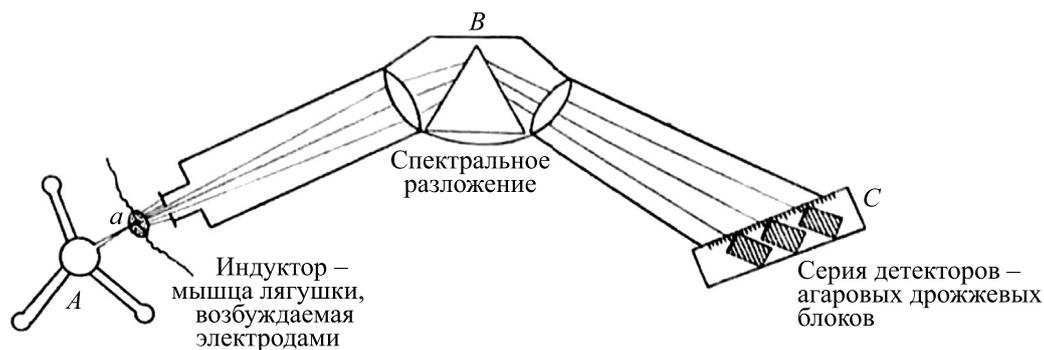


Рис. 10. «Митогенетический» спектральный анализ. Схема эксперимента по работе [44], с незначительными изменениями.

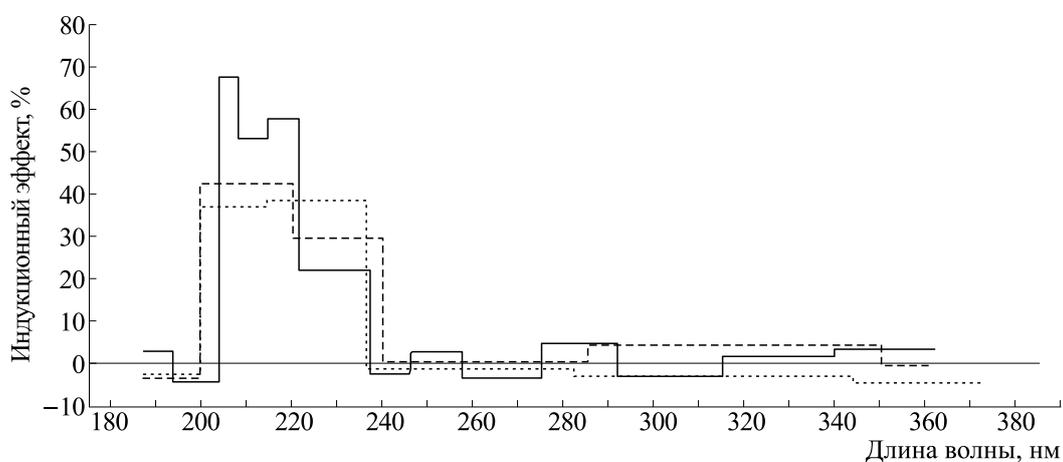


Рис. 11. Три спектра МГИ от мышцы лягушки в состоянии тетануса, полученные с использованием биологических детекторов – агаровых дрожжевых культур (по работе [44], с незначительными изменениями). Наблюдается митогенетический эффект (изменение индекса почкования относительно контрольной дрожжевой культуры). Различие в дискретности спектров связано с разной шириной блоков детектора.

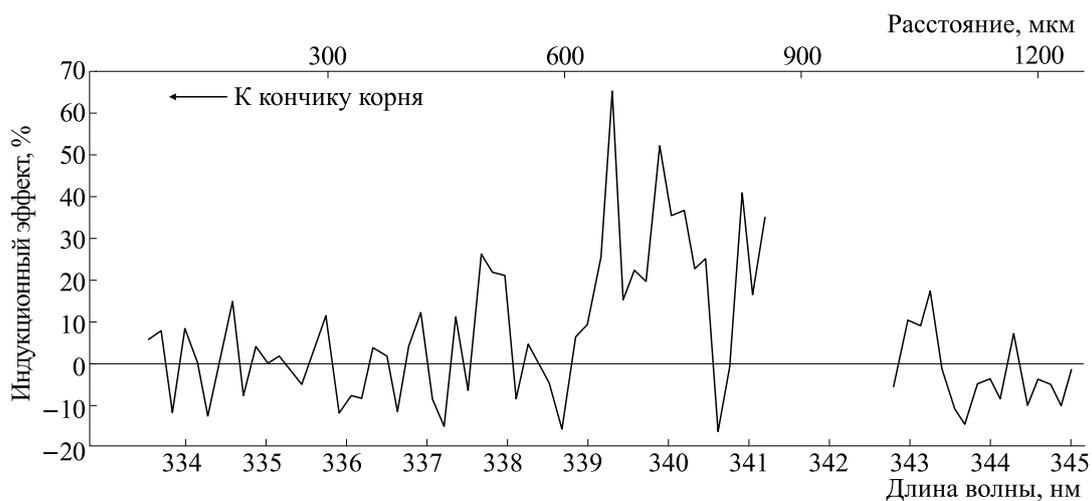


Рис. 12. Спектр МГИ саркомы крысы, полученный с использованием биологических детекторов – корешков лука (по работе [4], с незначительными изменениями).

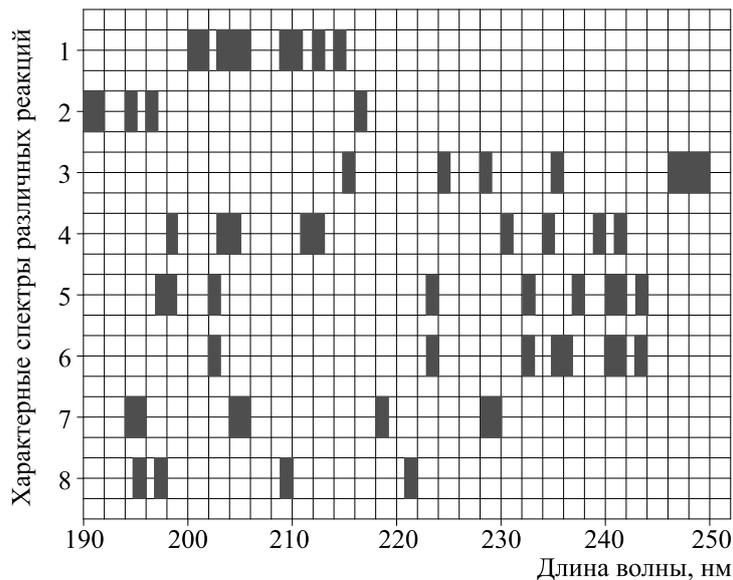


Рис. 13. Спектры некоторых типичных источников ССС ферментативных реакций (из работы [20]): 1 – расщепление креатинфосфата, 2 – расщепление глюкозы, 3 – расщепление нуклеиновой кислоты и лецитина, 4 – расщепление пептидов, 5 – расщепление мальтозы, 6 – расщепление сахарозы, 7 – расщепление мочевины, 8 – расщепление липидов.

мый гликолитический спектр (см. спектр 2 на рис. 13), т.е. спектр, который наблюдался при ферментативном расщеплении глюкозы и других гликолитических процессах и был характерен для ССС многих биологических объектов (крови, раковых опухолей и др.), обусловлен возбуждением целых молекул глюкозы [279], а спектр расщепления нуклеиновой кислоты фосфатазой (см. спектр 3 на рис. 13), наблюдаемый в ССС печени, нерва и др., связан не с целой молекулой нуклеиновой кислоты, а с фосфатным ионом (см. рис. 14).

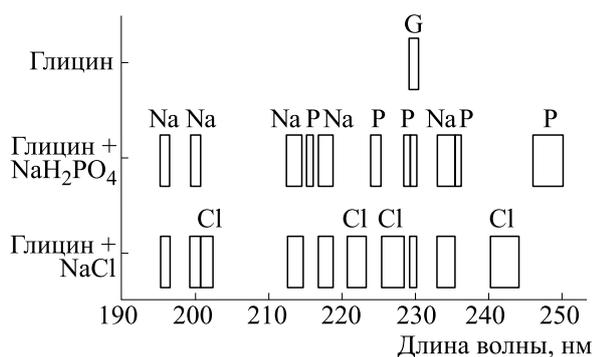


Рис. 14. Сенсibilизированная флуоресценция в водных растворах облученного глицина. Спектры облученного глицина, глицина с NaH_2PO_4 , глицина с NaCl (использованы дрожжевые детекторы). Характерные спектральные полосы глицина и ионов PO_4 обозначены буквами G и P соответственно. (Данные взяты из работы [278], см. также детали эксперимента в работе [277].)

Концепция сенсibilизированной флуоресценции была подкреплена сравнением МГЭ-спектра бензольной воды с предварительно облученным глицином [280] и обычных спектров флуоресценции паров бензола [281] (см. рис. 15 и таблицу).

Специфика митогенетических спектров (отличия митогенетических спектров от спектров, полученных стандартными методами). Спектральный анализ УФ-излучения с биологическими детекторами был ограничен областью очень низких интенсивностей и относительно узким спектральным диапазоном чувствительности биологических детекторов. Исследуемый диапазон

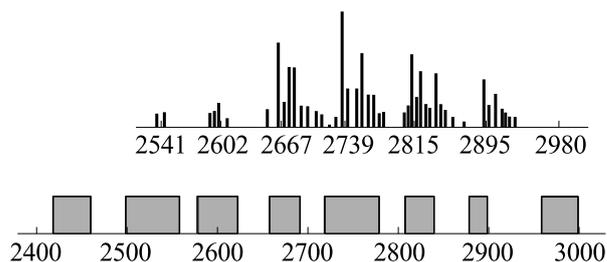


Рис. 15. Сравнение МГЭ-спектров сенсibilизированной флуоресценции бензола и обычного спектра флуоресценции паров бензола: сверху – спектр флуоресценции паров бензола; снизу – МГЭ-спектр флуоресценции водного раствора бензола с добавлением предварительно облученного и высушенного глицина (около 0.08% бензола и 1% глицина, по результатам 90 экспериментов). Приведены спектральные данные из работы [280].

МГЭ-спектр сенсibilизированной флуоресценции бензола в сравнении с данными П. Прингсгейма по флуоресценции паров бензола

Флуоресценция паров бензола (П. Прингсгейм [282])	Полосы, выделенные монохроматором (Е.А. Гордон [280])	Средний митогенетический эффект, % (дрожжевой детектор)	Число экспериментов
	2280–2300	0	5
	2300–2360	0	3
	2420–2460	41	6
	2460–2480	12	3
2541	2500–2560	35	7
	2560–2580	16	3
2602	2580–2620	25	4
	2620–2645	8	4
	2645–2660	3	2
2667	2660–2685	45	6
	2685–2720	4	2
2739	2730–2760	42	8
	2760–2780	38	7
	2780–2810	5	2
2815	2810–2840	30	2
	2840–2860	1	2
	2860–2880	3	2
2895	2880–2900	26	4
	2920–2960	0	2
–2980	2960–3000	45	5

распространялся от 190 нм, что соответствует границе прозрачности кварцевой оптики, до длинноволнового порога чувствительности биологических детекторов (примерно 290–325 нм) [16, 18, 26, 44, 283–285]. Самая длинноволновая полоса ССС биологических источников, зарегистрированная с помощью спектрального анализа с МГЭ-детекторами, – 287–291 нм (источником была текущая протоплазма в листьях *Elodea* [285]), но обычно митогенетические спектры обнаруживали в пределах 190–250 нм.

Такие спектры существенно отличались от традиционных спектров, получаемых с помощью физических приборов, тем, что показывали только наличие или отсутствие излучения в пределах дискретных полос спектра, ничего не говоря о его интенсивности. Следует отметить, что были по-

пытки оценить относительную интенсивность, снимая спектры с различной продолжительностью экспозиции [59]. Предполагалось, что излучение имеет большую интенсивность на тех полосах, на которых эффект проявлялся при минимальной экспозиции. Основные недостатки МГИ-спектрального анализа были связаны с использованием биологического принципа детектирования. Измерения одного спектра с разрешением 1 нм требовали проведения сотен экспериментов и около трех-четырех месяцев работы. Для грубой оценки наличия спектральных особенностей, характерных для наиболее распространенных спектров, обнаруживаемых при ферментативных реакциях гликолиза, расщепления пептидных связей, окисления и действия фосфатазы, т.е. четырех наиболее распространенных у

биологических объектов типов спектров, использовали упрощенную методику: непосредственно перед детекторами располагали шаблоны с прорезями; прорези соответствовали характерным полосам четырех основных спектров, каждая из которых отсутствовала в остальных трех спектрах.

Несмотря на все эти недостатки, биологические детекторы оставались непревзойденными по чувствительности к слабому УФ-излучению по сравнению с физическими детекторами того времени (см часть III настоящего обзора), поэтому именно схемы с биологическими детекторами использовались для спектрального анализа в 1930–1940-х гг.

Применения и значение спектрального анализа митогенетического излучения. Спектральный анализ был применен Г.М. Франком вначале с единственной целью – доказать, что митогенетические лучи действительно относятся к средней ультрафиолетовой области [44], но очень скоро спектральный МГЭ-анализ стал инструментом для неинвазивных бесконтактных исследований биохимии живых организмов. Как писал А.Г. Гурвич: «... в противоположность любым биохимическим методам, анализ совершается не после, а во время функционирования» [16]. Чувствительность метода была чрезвычайно высока для того времени, например, при расщеплении всего 10^{-7} – 10^{-8} г глюкозы наблюдался отчетливый гликолитический спектр; в системе «желудочный сок–белок» по спектру белок обнаруживался при концентрации 10^{-6} г.

Результаты митогенетического спектрального анализа хорошо согласовывались с известной информацией, например внутренние некротические области раковых опухолей демонстрировали протеолитический спектр, в то время как в периферийных областях с активным метаболизмом излучение имело гликолитический и нуклеотический характер (т.е. совпадающий со спектром расщепления нуклеиновой кислоты фосфатазой) [286]. Спектральный анализ позволял получать и новую информацию. Например, ранее исследователи столкнулись с явлением, которое не могли объяснить – МГИ крови и глаза кролика полностью прекращалось при голодании и возобновлялось примерно через неделю. Спектральный анализ показал, что во время голодания излучение с гликолитическим спектром исчезает, а примерно через неделю появляется излучение со спектром, характерным для процессов протеолиза [33]. После затухания гликолитической компоненты излучения она быстро восстанавливалась при инъекциях глюкозы [20]).

В середине 1930-х гг. в СССР спектральный МГИ-анализ стал одной из основных областей исследований, связанных с МГИ [17, 20, 274, 276, 287, 288]. Наиболее обширные данные были по-

лучены по митогенетическим спектрам излучения нервов [26, 284, 289–295].

Обзоры применений спектрального МГИ-анализа в биологии представлены в работах [16, 18, 20, 33, 40].

ПРИКЛАДНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ

Митогенетическое излучение крови в норме и при различных заболеваниях. Митогенетическое излучение крови исследовалось довольно широко из-за того, что кровь является доступным активным индуктором митогенетического эффекта и представляет интерес с точки зрения медицинской диагностики. Было показано, что хорошо излучает кровь у здоровых людей и целого ряда млекопитающих, птиц и амфибий, а также гемолимфа крабов и моллюсков. «Healthy blood never fails. If a failure occurs, it is time to test either the yeast or the apparatus» – писал Г. Гезениус [296]. Было показано, что излучение крови млекопитающих главным образом обусловлено гликолитическими процессами, крови амфибий – окислительными процессами [16, 297]. Подробный обзор ранних работ по митогенетическому излучению крови был представлен во втором томе справочника по общей гематологии в 1934 г. [298] (цитируется по работе [18]).

Было обнаружено, что при раковых заболеваниях различных типов излучение крови исчезает на начальных стадиях малигнизации, задолго до появления первых морфологических признаков злокачественного роста, за счет появления в крови высокоспецифичного вещества, которое тушит УФ-хемиллюминесценцию [297]. Это вещество было названо «раковым тушителем». Было показано, что при онкологических заболеваниях кроме прекращения излучения крови наблюдается также и прекращение излучения мочи [29]. Сами злокачественные опухоли, напротив, неоднократно были отмечены как наиболее активные источники митогенетического излучения ([16, 30], см также работы [4, 20, 25, 30–34]).

Физико-химические свойства тушителя были исследованы достаточно подробно, хотя его химический состав не был идентифицирован [20, 297]. Тушитель содержится в свободной от белков фракции крови, имеет отрицательный электрический заряд, в растворе довольно стоек, но термолабилен, диффундирует через коллоидную перегородку только при электрофорезе, выдерживает высушивание при комнатной температуре, адсорбируется на каолин и может быть отмыт от него щелочным раствором [20, 297]. Была разработана методика его выделения из крови. В монографии [297], посвященной тушителю, по анализу результатов исследований было сделано за-

ключение, что раковый тушителъ представляет собой «пептид с преобладанием энольной формы пептидной связи», имеющий нитевидную форму и относительно небольшую длину (около 3 нм). Именно в работах по раковому тушителю впервые утверждалось, что пептид крови может являться онкомаркером. Не исключено, что найденное вещество представляло собой не один пептид, а целую группу различных пептидов, обладающих тушашими свойствами. Активная специфичная часть пептидов должна была иметь довольно малые размеры, поскольку после «осторожного гидролиза» в соляной кислоте полученное вещество диффундировало через коллоидную пленку без потери тушаших свойств [297].

Обширные экспериментальные исследования показали, что митогенетическое излучение крови прекращается или ослабевает при ряде физиологических состояний: физическом утомлении [49], умственной нагрузке [50], голодании [16], в пожилом возрасте [49], а также при различных заболеваниях (пернициозная анемия, лейкемия, пневмония, сепсис [33, 298, 299], хронический тонзиллит [300], диабет, цирроз печени и др. [16, 297]). Было обнаружено, что во всех случаях, не связанных с онкологическими заболеваниями, кровь перестает излучать из-за появления веществ, не обладающих свойствами тушителя, но поглощающих УФ-излучение. Они были названы гасителями [20, 297]. Гасители представляют собой низкомолекулярные продукты патологического метаболизма, например, кетонные тела при диабете. Было показано, что, в отличие от гасителей, раковый тушителъ не поглощает УФ-излучение и не влияет на прозрачность тонких слоев крови существенным образом. Принципиальные отличия свойств тушителя и гасителей позволили разработать методику, которая с помощью дрожжевых детекторов митогенетического излучения позволяла идентифицировать наличие тушителя в крови [28, 257, 258].

Тушителъ имеется только в крови людей и животных со злокачественными опухолями и состояниями, которые относят к предраковым, появляется в ранних стадиях заболевания. Излучение крови у крыс исчезало на девятые-двенадцатые сутки после прививки опухоли здоровому животному, тогда как прощупываться опухоль начинала через 28–32 суток после прививки [301]. В экспериментах на мышах раковый тушителъ появлялся в крови на первые-вторые сутки после имплантации карциномы и исчезал через трое-восемь суток после ее радикального хирургического удаления; в случае стойкого сохранения тушителя в крови неизменно наблюдались рецидивы [302, 303]. В экспериментах с регулярным смазыванием кожи мышей канцерогенными веществами было показано, что тушителъ

появляется в крови еще на обратимых стадиях канцерогенеза [28, 297, 304]. При воздействии относительно малой дозой канцерогенов опухоли образовывались только у части мышей. Через 32–53 суток после введения канцерогена у всех этих мышей в крови появлялся тушителъ, опухоли диагностировались к 191–222 суткам. У мышей, в крови которых тушителъ не появлялся, опухоли не образовывались [28, 304]. Клинические исследования пациентов с различной локализацией опухолей показали высокую чувствительность и специфичность (согласно данным авторов >95%) онкодиагностики, основанной на раковом тушителе, и ее ценность для определения эффективности проведенной терапии [20, 28, 257, 297, 304].

Некоторые другие применения митогенетического детектирования. Биологические МГЭ-детекторы использовались для исследований не только биообъектов. С их помощью были проведены широкие спектральные исследования ССС различных биохимических систем, моделирующих ферментативные процессы в живом организме [273, 276, 305], а также неорганических химических реакций [39, 306]. Была показана чувствительность луковых [4] и дрожжевых [307] детекторов к слабому искусственному УФ. Дрожжевой детектор использовали для определения наличия радиоактивного осадка на коже после радиоактивных ванн (оценка объемным методом Брайнеса) [308].

ОБСУЖДЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Особенности биологических методов детектирования сверхслабого свечения: достоинства и недостатки. Использование в качестве детекторов биологических объектов имело целый ряд недостатков. Во-первых, оно было чрезвычайно *трудоемким и длительным*. Например, одна регистрация УФ-излучения с помощью лукового детектора требовала тщательной подготовки гистологических срезов кончиков корней, включая этапы фиксации, окрашивания, парафинирования, подсчета под микроскопом числа митозов в различных зонах меристемы при разных увеличениях микроскопа, общее поле составляло несколько тысяч клеток, причем подсчет под микроскопом делящихся клеток был не только долгим, но и субъективным. Так называемая агаровая дрожжевая методика требовала подсчета под микроскопом почкующихся клеток на суммарном поле, содержащем более 10000 клеток; только на подсчет уходило около трех-четырех часов, не считая времени на приготовление детектора, индуктора, препаратов для микроскопии, а также длительности самого детектирования [309]. Для получения одного спектра обычно проводили несколько сотен эксперимен-

тов по дрожжевому детектированию, что занимало три-четыре месяца. Так, например, в работе [305] спектр излучения в системе «мочевина—уреаза» был построен на основании результатов 300 экспериментов.

Во-вторых, работа с биологическими детекторами требовала очень *тщательного соблюдения методики*. Некоторые авторы не смогли повторить известные эксперименты по митогенетическому эффекту именно из-за нарушения методики работы с биологическими детекторами. Подробно их ошибки разобраны в обзорной работе [52] и выше в настоящем обзоре. В-третьих, *вариабельность* как самих биологических детекторов, так и многочисленных внешних факторов, влияющих на их чувствительность, делала такой метод регистрации слабого УФ-излучения *довольно нестабильным*. Биологические системы сложнее технических устройств, им свойственна значительная естественная вариабельность. Биологическая реакция системы не может быть точно количественно предсказана, как бы подробно ни были описаны ее текущие физиологические параметры, внешние условия и история развития. Например, на современном уровне знаний невозможно предсказать со 100%-й вероятностью даже всхожесть семян, хотя это не противоречит биологическому закону их прорастания. Биологические законы имеют вероятностный характер, и митогенетический эффект не является исключением из этого правила.

Во всех лабораториях, где проводили тысячи экспериментов с дрожжевыми и бактериальными детекторами, иногда наблюдали необъяснимые перебои — детекторы переставали реагировать на излучение [18, 54], причем, по свидетельству А.Г. Гурвича, это наблюдали одновременно в течение нескольких дней все сотрудники, ведущие независимые эксперименты. Потом также необъяснимо способность к детектированию восстанавливалась. Какой фактор (или факторы) обуславливал перебои в работе биологических детекторов, осталось неясным. Гурвич предполагал изменения радифона, тем более что радиосвязь в те годы активно развивалась. Были и другие предположения, например влияние погодных условий и др. [18].

Продолжительность экспонирования в каждой серии экспериментов с любым биологическим детектором приходилось подбирать *индивидуально*. При увеличении дозы митогенетического излучения стимуляция сменяется его угнетением (см. рис. 4а,б). Это чрезвычайно затрудняло применение биологических детекторов, так как в каждой серии экспериментов приходилось подбирать время экспозиции. Сами эффекты были, как правило, невелики (20–30% превышения над фоном), а подсчет почек подразумевал

довольно субъективный выбор («еще не почка, почка, уже не почка») и не только требовал мастерства, но и не мог гарантировать от систематических ошибок (в поздних работах подчеркивалась необходимость слепого метода проведения подобных экспериментов).

Любой биологический детектор использовался однократно, не мог быть предварительно протестирован или прокалиброван. Преодолеть проблемы вариабельности биологических детекторов можно было только многократным повторением экспериментов и хорошей постановкой методики с предельно точным воспроизведением значимых условий. Например, вывод о наличии или отсутствии излучения в одной полосе спектра при измерениях дрожжевым детектором делали после серии не менее десяти экспериментов с согласованными результатами¹⁶.

МГЭ-детекторы были чувствительны только в узком диапазоне длин волн, примерно от 190 до 290–320 нм (см., например, рис. 4в), из-за поглощения в кварцевых элементах возможности детектирования излучения с длинами волн менее 190 нм не могли быть исследованы. Биологическое детектирование не позволяло количественно характеризовать интенсивность излучения, но применялось для грубой сравнительной оценки интенсивностей биообъектов по минимальной продолжительности экспозиции, при которой наблюдался МГЭ (при прочих равных условиях). Предполагалось, что более интенсивное УФ-ССС биообъекта способно стимулировать митозы в детекторе при меньших экспозициях. Сравнить между собой можно было только ССС биологических объектов, а также модельных химических систем, поскольку чувствительность к ослабленному излучению физических источников была гораздо ниже [47].

Единственным, но принципиальным преимуществом биологических детекторов, обусловившим их широкое применение в «митогенетический» период исследований, была их чрезвычайно высокая чувствительность к ССС. Длительное время после обнаружения эффекта биологические детекторы оставались единственным возможным средством регистрации МГИ, появившиеся затем модификации счетчиков Гейгера—Мюллера имели меньшую чувствительность и не могли быть использованы, например, для спектрального анализа и многих других исследований.

¹⁶ Следует отметить, что дрожжевой детектор был наиболее методически проработанным из всех биологических МГЭ-детекторов. А.Г. Гурвич указывал, что он наилучший по воспроизводимости [17], приведенное количество повторений относится к этапу его массового применения для спектрального анализа, после практически предельного развития дрожжевой методики.

Следует отметить, что развитие биологических методик детектирования было очень сложной задачей, требующей масштабных многофакторных трудоемких экспериментов, в первую очередь из-за естественных трудностей стандартизации биологических объектов, выступающих в качестве детекторов, отсутствия знаний о механизмах детектирования, недостаточной информации о том, какие внешние факторы необходимо стандартизировать.

О современном значении биологического детектирования митогенетического эффекта. Биологическое детектирование занимает важное значение в истории исследований ССС, поскольку само излучение было открыто и исследовалось в первые десятилетия в основном именно с помощью биологических детекторов. В настоящее время биологические МГЭ-детекторы представляют интерес только для исследования самого эффекта, т.е. как реципиенты в схеме наблюдения МГЭ (например, для исследования механизма детектирования, выяснения вопроса о биологической роли эффекта). Из-за низкой воспроизводимости методик и трудоемкости они не востребованы как детекторы в установках для исследования физических свойств ССС (например, для спектрального анализа) или в прикладных задачах, связанных с детектированием малых количеств вещества по хемилюминесценции (например, методика онкодиагностики по наличию в крови тушителя хемилюминесценции) как это было в 1920–1940-х гг. В ближайшем времени исследования ССС будут проводиться, вероятно, исключительно с помощью современных технических средств (ФЭУ, ЭОП, ПЗС-матриц и т.д.) (см часть III настоящего обзора). Вместе с тем в отдаленной перспективе при выяснении механизма биологического детектирования ССС, причин более высокой чувствительности [47] биологических детекторов к ССС биообъектов по сравнению с излучением физических источников, разработке хорошо воспроизводимых методик биологическое детектирование на основе использования МГЭ или других биологических эффектов ССС, возможно, найдет свою нишу.

Неоднозначное состояние вопроса о принципе биологического детектирования митогенетического эффекта. Главная проблема в области биологического детектирования ССС – крайне неопределенное состояние вопроса о самом эффекте, на котором оно основано, т.е. МГЭ. Этот эффект не только не общепризнан, но часто ассоциируется с «лженаукой» [310]. Отметим несколько причин такого положения.

Дискредитация: ложноположительные результаты. К сожалению, в литературе встречается достаточно много работ, якобы подтверждающих МГЭ или ссылающихся на него, которые выпол-

нены на крайне низком уровне. Как писал А. Голлендер, «особенно жаль, что в этой теме стали участвовать авторы, увидевшие в ней лишь возможность привлечь к себе внимание» [51]. Целый ряд явлений, исходно относимых авторами к разряду «дистантных нехимических взаимодействий» в период 1990–2010-х гг., либо оказались артефактами, либо получили чисто «химическое» объяснение.

Следует отметить, что результаты экспериментов митогенетического периода исследований, не имея достаточной теоретической базы для их объяснения на уровне знаний того времени, зачастую приводили к неверным гипотезам, это отмечал и сам А.Г. Гурвич. Кроме того, он подчеркивал, что мультидисциплинарный характер предмета неоднократно подталкивал исследователей к попыткам работать и выдвигать гипотезы в научных областях, в которых они не были специалистами [17].

Как писал О. Ран [198]: «Российские ученые, которые первыми использовали дрожжи и бактерии в качестве детекторов митогенетических лучей, не были бактериологами; это очень очевидно из их инструкций по подготовке культуральной среды и их описания эксперимента. Ничего не сказано о физиологическом состоянии клетки, хотя вскоре они заметили, что клетки не реагировали в течение всего периода своего роста. Барон (1930) заново открыл лаг-фазу роста дрожжей, с которой он не был знаком. Отсюда его инструкция, что дрожжи следует выращивать в течение шести-десяти часов при комнатной температуре, чтобы они быстро отреагировали. К сожалению, не было заявлено, что 12°C считается нормальной комнатной температурой в Москве и Ленинграде, и исследователи, следуя этим указаниям буквально и при американских комнатных температурах, несомненно, достигли бы совершенно иной физиологической стадии».

Вместе с тем неверная теоретическая интерпретация не умаляет значимости накопленного в тот период обширного экспериментального материала.

Влиятельные критические работы. Существует ряд работ с серьезной критикой феномена МГЭ. Большинство из них детально разобрано выше в сравнении с основными «позитивными работами», отмечены принципиальные расхождения в методике. По словам О. Рана: «Некоторые авторы считают, что их отрицательные результаты опровергают положительные результаты других исследователей. Это – ошибка. Если два автора получают разные результаты, это не доказывает, что один из них прав, а другой ошибается. Это доказывает только, что они поставили *разные эксперименты*» [198].

Кроме того, существует ряд критических обзоров, явно предвзятых в пользу всех (даже плохо

сделанных) «негативных» и против любых «позитивных» работ. Так, обзор [81] посвящен в основном поиску несоответствий между «позитивными» работами разных авторов (часть из которых действительно не отвечает требованиям к научной статье, другая же часть сделана на очень высоком уровне) и делает акцент на дискредитирующие работы по МГЭ, «пропуская» все серьезные публикации, такие как [6, 23, 54, 252]. Крайне жесткая критика результатов по вторичному излучению, полученных с помощью биологических детекторов, была основана на их несоответствии закону Стокса: «Это неизвестный до сих пор тип флуоресценции... Он предполагает присутствие в дрожжевой культуре пивного сула демона, способного делать непрозрачную суспензию прозрачной для ультрафиолетового света. Подобно демону Максвелла, демон Гурвича — это просто изобретение для уклонения — на бумаге — от термодинамического закона с той важной разницей, что нас серьезно просят поверить в его существование» [81]. Следует отметить, что возможность антистоксовых процессов была показана Л. Ландау через 12 лет, а экспериментально они были продемонстрированы физическими методами только 25 лет спустя. Другой пример предвзятой необъективной критики — влиятельная анонимная публикация в журнале «Nature» [311], полностью основанная на данных работы [253] (детально проанализированных выше) и использующая не вполне научную риторику при упоминании «позитивных» работ.

Т. Квикенден с соавторами [263, 264] также весьма критичны в отношении «ранних работ». При этом во всех публикациях авторы ссылаются на три работы [253, 312, 313], в которых видят окончательное опровержение феномена МГЭ, хотя в работах [312, 313] авторы пытались обнаружить с помощью модифицированных газоразрядных счетчиков излучения от объектов, которые, как ранее уже было показано биологическими детекторами, не являлись источниками УФ-ССС, более того, следует отметить низкую чувствительность и существенные конструктивные недостатки используемых ими модификаций газоразрядных счетчиков, приводящие к повышенным шумам (см. критику этих модификаций в работе [314] и части III настоящего обзора). Критика биологической части известной негативной экспериментальной работы [253] была представлена выше, критику ее физической части см. в части III настоящего обзора.

Методические детали экспериментов по МГЭ и критика ряда ключевых авторов были проанализированы также в работе [52].

Исторические и геополитические факторы. Большая часть исследований МГЭ относится к 1920–1930-м гг. и обрывается с началом Второй

мировой войны. Во время войны продолжают отдельные попытки апробации и использования МГЭ для медицинской диагностики, многие из которых остались неопубликованными; другие вошли в диссертации [28, 258, 315, 316], но, по очевидным причинам, фундаментальные исследования почти прекратились. После 1945 г. исследования МГЭ в СССР возобновились только в нескольких лабораториях А.Г. Гурвича и его коллег. После сессии ВАСХНИЛ в 1948 г., на которой митогенетическое направление было подвергнуто крайне жесткой критике вместе с генетикой, А.Г. Гурвич окончательно потерял возможность вести экспериментальную работу. Впоследствии, с подтверждением существования ССС биообъектов с помощью ФЭУ и некоторой реабилитацией феномена, исследования А.Г. Гурвича отчасти продолжились в лабораториях его дочери А.А. Гурвич и С.В. Конева, однако существенного развития исследования компоненты УФ-ССС уже не получили. В Европе и США после войны исследования МГЭ не возобновила ни одна из ранее работавших лабораторий. Ситуация усугубилась тем, что основные работы по МГЭ, опубликованные на русском языке, оказались совершенно недоступны для западных авторов, в частности это практически все работы по онкодиагностике, наиболее интересные с точки зрения прикладной науки.

Проблемы с воспроизводимостью митогенетического эффекта. Наиболее критический фактор для «признания» МГЭ — это сложности с его воспроизведением. «Если он такой универсальный, почему его так сложно поймать?» Это — не только стандартный вопрос, но и частый аргумент против МГЭ. Хотя, конечно, никакие рассуждения не могут быть аргументами в экспериментальной науке, этот вопрос действительно приводит в замешательство...

С нашей точки зрения одна из основных причин трудностей воспроизведения МГЭ связана с тем, что биологический детектор должен проявить чувствительность к внешнему ССС на фоне значительного внутреннего фона. Любой объект, используемый в экспериментах по МГЭ, состоит из большого числа клеток с характерным расстоянием между ними $\sim 10^{-6} - 10^{-4}$ м, расстояние же до внешнего индуктора МГЭ в любом случае составляет не менее чем $10^{-3} - 10^{-2}$ м (при этом, как известно, средняя интенсивность излучения от точечного источника падает пропорционально квадрату расстояния от него). Также интенсивность излучения снижается за счет отражения от имеющихся границ сред с разным показателем преломления («кварц–воздух», «кварц–среда» и пр.), кроме того имеется некоторое поглощение и рассеяние в средах, разделяющих индуктор и детектор (например, отмечалось, что для химиче-

ской изоляции детектора и индуктора требуется кварц высокой чистоты, с кварцем более низкого качества эффект пропал.

Таким образом, для достаточно высокого соотношения сигнал/шум необходимо следующее:

1. Культура индуктора должна быть достаточно «сильной», чтобы произвести МГЭ на таком большом «нетипичном» расстоянии.

2. Клетки реципиента должны быть чувствительны к внешней индукции.

3. «Собственный» МГЭ в культуре реципиента должен быть по возможности подавлен, но так, чтобы культура сохранила жизнеспособность и чувствительность к внешним индукторам.

4. Интенсивность сигнала не должна быть подавлена ниже некоторого критического уровня при преодолении расстояния между индуктором и детектором.

Следуя этим требованиям, можно легко понять большинство условий, необходимых для воспроизведения МГЭ (см. выше):

1. Тщательный отбор индукторов и еще более тщательная подготовка реципиента, включая подбор фазы роста культуры-реципиента и посева материала.

2. Создание специальных условий для культуры реципиента — пониженной температуры, обедненной среды, низкой плотности культуры и т.д. — так, чтобы культура реципиента оказалась ослабленной, но при этом жизнеспособной.

3. Минимизация потерь излучения между индуктором и детектором за счет уменьшения расстояния между ними, снижения отражения и рассеяния.

4. Специальные предосторожности, такие как слабый фоновый видимый свет, экранирование внешнего ультрафиолета, очень тонкий слой культуры-реципиента и т.д.

Кажется гораздо более удивительным, что МГЭ вообще удалось обнаружить, чем то, что он оказался таким «капризным».

Недостаточное для воспроизведения описание методик¹⁷ делает их неубедительными и соответ-

¹⁷ Из методик того периода наиболее подробно было описано определение в крови тушителя хемилюминесценции в целях онкодиагностики, имелись обширные результаты, в том числе более 1300 протоколов в ведущих клинических лабораториях, которые показали высокую эффективность предложенной онкодиагностики. В этой методике использовали наиболее распространенный тогда биологический детектор — дрожжевой, эффект тушения тестировали при послесвечении раствора глицина (это один из наиболее часто используемых контрольных источников МГИ). Вместе с тем Н.И. Линтварева (Центральный онкологический институт), согласно ее отчету в архиве А.Г. Гурвича, ни разу не только не смогла обнаружить тушения, но даже зарегистрировать свечение контрольного источника МГИ при многократном тщательном повторении экспериментов по описанной методике.

ственно компрометирует результаты, полученные с их помощью, и затрудняет проверку. Только на уровне воспроизводимой методики имеет смысл применение биологического объекта в качестве детектора в обычном техническом понимании этого термина, до этого можно вести речь только об исследовании самого эффекта.

Более вероятным представляется, что методики биологического детектирования, разработанные в ряде научных коллективов при экспериментах на большом материале, обеспечивали воспроизводимость, достаточную для получения верных результатов, и были вполне пригодным инструментом исследований. Когда методики успешно перенимали, например, в пределах школы Гурвича и сотрудничавших с ней научных и медицинских организаций, то, вероятно, часто воспроизводили при этом и некоторые условия эксперимента, которым не придавалось значения в самих описаниях методик.

Более того, в разных независимых лабораториях отработанные методики детектирования могли быть различны, что и могло быть причиной расхождения количественных результатов при наблюдении близких эффектов. Например, луковые методики, которые использовали Д. Габор и Т. Рейтер [272], существенно отличались от методик школы А.Г. Гурвича [78], в первую очередь тем, что Д. Габор и Т. Рейтер работали с отрезанными корнями. Это значительно меняло режим митогенетического излучения внутри корня, в частности отрезанный корень не являлся индуктором.

Прошлое и будущее биологического детектирования. Итак, как мы постарались продемонстрировать во второй части нашего обзора, «ранние работы» по МГИ — это не несколько отдельных сомнительных публикаций (как полагали, например, в работе [317]), а около тысячи работ, в том числе в наиболее высокорейтинговых журналах; часть этих работ была выполнена очень авторитетными учеными (проф. О. Ран, США; нобелевский лауреат Д. Габор, Германия; проф. Л.К. Вольф, Нидерланды; проф. А.Г. Гурвич, Б.С. Песоченский, академики Ю. А. Харитон и Г.М. Франк и др., СССР). Исследования митогенетического излучения широко обсуждались на международном научном уровне, ключевые эксперименты подвергались неоднократной проверке в научных коллективах разных стран, публикации имели массовый характер и были подкреплены значительным количеством подробных протоколов испытаний. Негативные работы составили менее 3% от общего количества экспериментальных работ, выполненных по тематике МГИ, например, это работы [91, 204, 253, 254]. Все они были выполнены с серьезными отклонениями от известных методик, которые тщательно

обсуждались в ответных публикациях [16, 18, 59, 198, 301, 318]. Более подробно методические ошибки этих и других негативных работ проанализированы в обзоре [52] (см. также историю и результаты исследований митогенетического излучения в обзорах [52, 248, 319–321]). Все аргументы критиков, утверждавших невозможность заявленных феноменов с теоретической точки зрения, давно устарели, а экспериментальные исследования ССС «митогенетического» периода не были опровергнуты.

В то же время комплекс работ по исследованиям ССС митогенетического периода нельзя считать и доказанным. Биологические методики, с помощью которых были получены эти результаты, не представляются достаточно полными в том виде, в котором они описаны в старых работах. Описание методик, недостаточное для их уверенного воспроизведения, компрометирует выполненные исследования и затрудняет их проверку (см. выше).

Авторы настоящего обзора полагают, что исследования ССС «митогенетического» периода — не фальсификация и не иллюзия, основанная на случайной или систематической ошибке, но сложно наблюдаемые эффекты, мало понятные и трудно воспроизводимые в работах того времени.

На основании анализа методик и результатов того периода мы можем предположить, что целому ряду научных коллективов, которые вели масштабные исследования ССС в 1923—1948 гг., действительно удалось подобрать условия, в которых достаточно стабильно и воспроизводимо работали МГЭ-детекторы. Перенести эти отработанные методики в другие лабораторные условия удавалось не всегда¹⁸; это заставляет предполагать, что в методиках были описаны не все значимые условия (возможно, режим освещения, ради фон и другие условия). Например, почти все спектральные исследования проводили в школе Гурвича, либо исследователями, которые перенимали методику непосредственно у представителей этой школы (вероятно, повторяя некоторые важные детали, которым не придавалось значения и которые не оговаривались в статьях).

Биологическое детектирование занимает важное значение в истории исследований ССС, поскольку само излучение было открыто и первые десятилетия подавляющая часть исследований его физических свойств проводилась именно с использованием биологического детектирования. В настоящее время биологические МГЭ-де-

текторы представляют собой интерес только для исследования самого эффекта, т.е. как реципиенты в схеме наблюдения МГЭ (например, для исследования механизма детектирования, выяснения вопроса о биологической роли эффекта). Из-за низкой воспроизводимости методик и их трудоемкости они не востребованы как детекторы в установках для исследования физических свойств ССС (например, для спектрального анализа) или в прикладных задачах, связанных с детектированием малых количеств вещества по хемилюминесценции (например, методика онкодиагностики по наличию в крови тушителя хемилюминесценции), как это было в 1920–1940-х гг. В ближайшем времени исследования ССС будут проводиться, вероятно, исключительно с помощью современных технических средств (ФЭУ, ЭОП, ПЗС-матриц и т.д.). Вместе с тем в отдаленной перспективе — при выяснении механизма биологического детектирования ССС, причин более высокой чувствительности [47] биологических детекторов к ССС биообъектов по сравнению с излучением физических источников, разработке хорошо воспроизводимых методик, — биологическое детектирование на основе использования МГЭ или других биологических эффектов ССС, возможно, найдет свою нишу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современное состояние проблемы УФ-ССС можно назвать парадоксальным. С одной стороны, само существование МГЭ-эффекта не доказано и не опровергнуто. С другой стороны, целый ряд концепций, происходящих из работ по МГЭ с использованием биологических детекторов, общепризнан и относится к «фактам из учебников». Кратко перечислим их:

— *Существование сверхслабого свечения биологических объектов.*

— *Ультрафиолетовая компонента сверхслабого свечения [322, 323], по спектру и времени появления полностью совпадает с МГИ.*

— *Свободнорадикальный механизм генерации сверхслабого свечения.* Впервые (в 1930-е годы!) предложен в работах по МГЭ, как вывод из данных «спектрального анализа МГЭ» (см. работу [52]).

— *Повышение интенсивности сверхслабого свечения в ответ на внешнее повреждающее воздействие [52, 322].* Впервые обнаружено в работах по МГЭ, в которых названо «деградационным излучением» [16].

— *Временная структура сверхслабого свечения.* По современным данным спонтанное ССС биологических образцов состоит из отдельных вспышек длительностью не более 10^{-3} с [324, 325].

¹⁸ Следует отметить, что нередко положительные результаты получали исследователи, начавшие работы с предвзятым негативным отношением к существованию эффекта (например, Р. Одюбер) и, наоборот, негативные результаты получали исследователи, изначально настроенные позитивно (А. Голлендер).

Этот же вывод сделан в 1930-е гг. в работах по «фракционированию МГЭ» [16] (см. работу [52]).

К простым совпадениям трудно отнести также и корреляцию результатов онкодиагностики первичных больных с опухолевыми процессами неустановленной этиологии и окончательных клинических диагнозов, полученных значительно позже: специфичность и чувствительность методики, построенной на использовании митогенетического эффекта, составляла >95% [28, 257, 297, 304].

Экспериментальные исследования митогенетического излучения с помощью биологических детекторов в 1923–1948 гг. позволили сделать революционные, даже парадоксальные для того времени научные выводы, которые были подтверждены спустя десятилетия другими методами (например, существование пептидных онкомаркеров крови, антистоксовых процессов, фотореактивации и другие). Вместе с тем методики, с помощью которых были получены эти верные результаты, в том виде, в котором они описаны в старых работах, не представляются достаточно убедительными с точки зрения современных требований.

Мы считаем тщательную и объективную проверку МГЭ, с вниманием ко всем накопленным данным и методическим деталям, важной задачей как для фундаментальной, так и (в перспективе) для прикладной науки и медицины. Однозначное доказательство феномена МГИ сыграло бы значимую роль для всей биологии, опровержение закрыло бы важную страницу в истории науки.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. D. Fels, Plos One **4** (4), e5086 (2009).
2. A. G. Gurwitsch, Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik **100** (1–2), 11 (1923).
3. A. G. Gurwitsch, *Das Problem der Zellteilung physiologisch betrachtet* (Julius Springer, Berlin, 1926).
4. T. Reiter and D. Gabor, *Zellteilung und Strahlung*. (Springer-Verlag, Berlin, 1928).
5. L. K. Wolff and G. Ras, Ztrbl. f. Bakt. I. **123**, 257 (1931).
6. J. B. Tuthill and O. Rahn, Archiv für Mikrobiologie **4** (1–4), 565 (1933).
7. A. J. Ferguson and O. Rahn, Archiv für Mikrobiologie **4** (1–4), 574 (1933).
8. M. A. Baron, Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen **108** (4), 617 (1926).
9. M. A. Baron, Planta/Archiv für wissenschaftliche Botanik **10** (1), 28 (1930).
10. H. Guillery, Virchows Archiv **279**, 311 (1929).
11. Г. К. Хрущев, Архив биол. наук, Сер. Б **35** (1), 317 (1934).
12. L. Gurwitsch and A. Anikin, Wilhelm Roux' Arch. Entwickl. Mech. Org. **113** (4), 731 (1928).
13. J. Magrou and M. Magrou, Rev. Path. Veg. Ent. Agr. **14**, 244 (1927).
14. M. J. Magrou, M. M. Magrou, and M. P. Reiss, Comptes Rendus de l'Academie des Sciences **189**, 779 (1929).
15. L. K. Wolff and G. Ras, Nature **133** (3361), 499 (1934).
16. А. Г. Гурвич and Л. Д. Гурвич, *Митогенетическое излучение* (Изд-во ВИЭМ, Ленинград, 1934).
17. А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, Успехи соврем. биологии **16** (3), 305 (1943).
18. O. Rahn, *Invisible radiations of organisms* (Gebrüder Bornträger, Berlin, 1936).
19. Ю. Н. Пономарева, Бюл. эксперим. биологии и медицины **2** (1), 16 (1936).
20. А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, *Митогенетическое излучение: Физико-химические основы и приложения в биологии и медицине* (Медгиз, М, 1945).
21. A. Potozky, Protoplasma **25** (1), 49 (1936).
22. W. W. Siebert, Zeitsch. Klin. Med. (109), 360 (1928).
23. L. Acs, Centr. Bakt. I Abt. Orig. **120** (1/2), 116 (1931).
24. L. Acs, Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten **126**, 125 (1932).
25. W. W. Siebert, Biochem. Z. **202**, 115 (1928).
26. А. А. Гурвич, Архив биол. наук, Сер. Б **35** (1), 127 (1934).
27. L. D. Gurwitsch and S. Salkind, Biochemische Zeitschrift **211** (1–3), 362 (1929).
28. Б. С. Песоченский, Дисс. ... д-ра мед. наук (Ленинградский онкологический институт, Ленинград, 1942).
29. W. W. Siebert, Biochemische Zeitschrift **226** (4/6), 253 (1930).
30. A. G. Gurwitsch and L. D. Gurwitsch, Biochemische Zeitschrift **196** (4–6), 257 (1928).
31. M. Kisliak-Statkewitsch, Zeitschrift für Krebsforschung **29** (1), 214 (1929).
32. L. Gurwitsch and A. Gurwitsch, Zeitschrift für Krebsforschung **29** (1–2), 220 (1929).
33. A. G. Gurwitsch and L. D. Gurwitsch, *Die mitogenetische Strahlung*. (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Berlin, 1932).
34. H. P. Ypsilanti and R. Paltauf, Zeitschrift für Krebsforschung **32** (1–2), 372 (1930).
35. L. J. Blacher and N. W. Bromley, Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen **122** (1), 79 (1930).

36. L. J. Blacher and N. W. Bromley, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **123** (2), 240 (1931).
37. L. J. Blacher and O. G. Holzmann, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **123** (2), 230 (1931).
38. L. J. Blacher, A. I. Irichimowitsch, L. D. Liosner, et al., *Roux' Archiv* **127**, 339 (1932).
39. A. Potozky, *Biochemische Zeitschrift* **249**, 282 (1932).
40. А. А. Гурвич, *Проблема митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии* (Медицина, Л., 1968).
41. O. Rahn, in *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* (Berlin, 1934), Vol. II, pp. 226–240.
42. G. M. Frank and A. G. Gurwitsch, *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl. Mech. Org.* **109** (3), 451 (1927).
43. A. G. Gurwitsch and G. M. Frank, *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences* **184**, 903 (1927).
44. G. Frank, *Biologisches Zentralblatt* **49**, 129 (1929).
45. T. Reiter and D. Gabor, *Arch. Exp. Zellforsch* **11**, 21 (1931).
46. R. Ruysen, *Acta Brev. Neerl.* (3), 141 (1933).
47. J. Chariton, G. Frank, and N. Kannegiesser, *Naturwissenschaften* **18** (19), 411 (1930).
48. G. Protti, *Radiobiologia* **1** (4), 49 (1930).
49. С. Н. Брайнес, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 325 (1934).
50. В. В. Ефимов and С. П. Летунов, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 157 (1934).
51. A. Hollaender, in *Biological effects of radiation*, Ed. by V. Duggar (McGraw-Hill Book Company, Inc., NY, London, 1936), Vol. 2, pp. 919–958.
52. I. V. Volodyaev and L. V. Belousov, *Front. Physiol.* **6** (00241), 1 (2015).
53. H. Sussmanowitsch, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **113** (4), 753 (1928).
54. L. K. Wolff and G. Ras, *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten* **128**, 314 (1933).
55. Ю. А. Владимиров, *Сверхслабые свечения при биохимических реакциях* (Наука, М., 1966).
56. С. Родионов и Г. М. Франк, *Вопросы свето-биологии и измерения света*. (Гос. техн.-теорет. изд-во, М.-Л., 1934).
57. A. Potozky, *Biologisches Zentralblatt* **50**, 712 (1930).
58. А. Г. Гурвич и В. Ф. Еремеев, в кн. *Сборник работ по митогенезу и теории биологического поля*, под ред. А. Г. Гурвича (Изд-во АМН СССР, М., 1947), сс. 5–19.
59. А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, *Введение в учение о митогенезе* (Изд-во Акад. мед. наук СССР, М., 1948).
60. A. G. Gurwitsch, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **116** (1), 20 (1929).
61. A. Gurwitsch, *Protoplasma* **26**, 23 (1936).
62. С. Я. Залкинд и Г. М. Франк, *Митогенетические лучи и деление клеток* (Госиздат, М.-Л., 1930).
63. A. Gurwitsch and L. Gurwitsch, *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik* **104** (1), 109 (1925).
64. С. Я. Залкинд, *Природа*, № 3, 11 (1934).
65. Л. Л. Васильев, *Вестник знания* (19–20), 1185 (1925).
66. D. N. Borodin, *Plant Physiol.* **5** (1), 119 (1930).
67. A. G. Gurwitsch and N. Gurwitsch, *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik* **103** (1), 68 (1924).
68. G. Frank and S. Salkind, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **108** (4), 596 (1926).
69. A. Hollaender and E. Schoeffel, *Quart. Rev. Biol.* **6** (2), 215 (1931).
70. W. Loos, *Jahrb. Wiss. Bot.* **72** (4), 611 (1930).
71. M. Paul, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **128** (1), 108 (1933).
72. Rawin, *Archiv für Mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik* **101**, 53 (1924).
73. N. Wagner, *Biol. Zentralbl.* **47**, 670 (1927).
74. M. Kisliak-Statkewitsch, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **109** (2), 283 (1927).
75. J. Magrou, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 297 (1934).
76. J. Magrou and M. M. Magrou, *Bulletin D'Histologie Appliquée* **4**, 253 (1927).
77. Л. Я. Бляхер, в кн. *Общая биология (пособие для медицинских институтов и университетов)*, под ред. А. Ф. Шелла (Гос. мед. изд-во, М.-Л., 1933), ч. 1, сс. 66–72.
78. A. G. Gurwitsch, in *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Ed. by E. Abderhalden (Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien, 1929), Vol. V, pp. 1401–1470.
79. A. G. Gurwitsch and L. D. Gurwitsch, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **113** (4), 740 (1928).
80. A. Gurwitsch and L. Gurwitsch, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **109** (3), 362 (1927).
81. J. B. Bateman, *Biol. Rev.* **10** (1), 42 (1935).
82. N. Wagner, *Planta* **5** (1), 70 (1928).
83. А. Г. Гурвич, *Журн. Русского ботанич. об-ва* **13**, 179 (1928).
84. B. Rossmann, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **114** (4), 583 (1929).
85. B. Rossmann, *Untersuchungen über die Theorie der mitogenetischen Strahlen* (Springer Berlin Heidelberg, 2013).
86. A. Gurwitsch, *Рус.-нем. мед. журн.* **6**, 345 (1927).
87. А. А. Gurwitsch, *The problem of mitogenetic radiation as an aspect of molecular biology* (Meditsina, Leningrad, 1968).
88. A. G. Gurwitsch, *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen* **113** (2), 406 (1928).
89. A. G. Gurwitsch, *Protoplasma* **6** (1), 449 (1929).

90. Б. П. Токин, *Митогенетические лучи* (Гос. мед. изд-во, М., 1933).
91. G. W. Taylor and E. N. Harvey, *Biol. Bull.* **61** (3), 280 (1931).
92. М. Н. Моисеева, Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук (Киев, 1960).
93. M. Moissejewa, *Ukr. Bot. Rev.* (5), 41 (1929).
94. M. Moissejewa, *Biochemische Zeitschrift* **241**, 1 (1931).
95. M. Moissejewa, *Biochemische Zeitschrift* **251**, 133 (1932).
96. M. Moissejewa, *Biochemische Zeitschrift* **243** (1–3), 67 (1931).
97. A. Levan, *Hereditas* (24), 9 (1938).
98. A. Levan, *Nature* (156), 751 (1945).
99. A. Levan, *Hereditas* (35), 325 (1949).
100. G. Fiskesjö, *Hereditas* **102**, 99 (1985).
101. G. Fiskesjö, *Environmental Toxicology and Water Quality* **8** (3), 291 (1993).
102. G. Fiskesjö, in *Plants for environmental studies* (CRC Press LLC, New York, 1997), pp. 308–333.
103. И. И. Концевая, С. В. Жадько и О. Г. Алексеевко, *Разнообразие растительного мира*, № 1(4), 81 (2020).
104. I. Milionis, C. N. Banti, I. Sainis, et al., *J. Biol. Inorgan. Chem.* **23** (5), 705 (2018).
105. O. A. Asita, S. Moramang, T. Rants'o, et al., *Caryologia* **70** (2), 151 (2017).
106. E. Kowalska-Wochna, A. Tylicki, and A. Ościłowicz, *Cell. Mol. Biol. Lett.* **7** (2002).
107. G. L. R. Dávila, A. J. J. Méndez, and W. M. Arango, *Caryologia* **71** (2), 166 (2018).
108. R. B. Souza, C. P. De Souza, O. C. Bueno et al., *Chemosphere* (168), 1093 (2017).
109. S. Pallavi, M. Singh, H. S. Rathore, et al., *Ethnobotanical Leaflets* **12**, 927 (2008).
110. T. A. Yekeen, M. A. Azeez, A. Lateef, et al., *Caryologia* **70** (4), 366 (2017).
111. J. Dutta, A. Ahmad, and J. Singh, *Caryologia* **71** (2), 139 (2018).
112. F. Fatma, S. Verma, A. Kamal et al., *Chemosphere* (195), 864 (2018).
113. K. Sax, *Genetics* (26), 418 (1941).
114. A. Ya. Kocaman and E. Kılıç, *Caryologia* **70** (3), 229 (2017).
115. T. A. Staykova, E. N. Ivanova, and I. G. Velcheva, *J. Cell Mol. Biol.* **4**, 41 (2005).
116. D. S. Pesnya, *Caryologia* **66** (3), 275 (2013).
117. I. Khan, C. Kant, A. Sanwaria, et al., *Heart Views* **11** (3), 115 (2010).
118. I.-D. Adler, J. Cole, N. Danford, et al., *Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals* (World Health Organization, Geneva, 1985).
119. E. Bonciu, P. Firbas, C. S. Fontanetti et al., *Caryologia* **71** (3), 191 (2018).
120. О. П. Мелехова, Е. И. Егорова, Т. И. Евсеева и др., *Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование* (издательский центр «Академия», М., 2007).
121. Ш. А. Окада, *Радиоационная биохимия клетки* (Мир, М., 1974).
122. И. М. Прохорова, М. И. Ковалева, А. Н. Фомичева и О. В. Бабаназарова, *Пространственная и временная динамика мутагенной активности воды оз. Геро* (Наука, М., 2008).
123. D. Antosiewicz, *Acta Soc. Bot. Pol.* **56**, 543 (1987).
124. G. L. Cabrera and D. M. G. Rodriguez, *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **426** (2), 211 (1999).
125. M. L. Camparoto, R. Teixeira, and P. Vicentini, *Gen. Mol. Biol.* **25**, 85 (2002).
126. M. P. Chrysouli, C. N. Banti, N. Kourkoumelis, et al., *J. Inorgan. Biochem.* **179**, 107 (2018).
127. M. P. Chrysouli, C. N. Banti, I. Milionis, et al., *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol.* (93), 902 (2018).
128. S. M. C. M. A. Ferreira, H. L. C. dos Santos, V. G. Jennifer, et al., *Braz. J. Pharm. Sci.* **56**, 1 (2020).
129. G. Fiskesjö, in *Methods in Molecular Biology*. Vol. 43. *In vitro toxicity testing protocols*, Ed. by S. O. Hare and C. K. Atterwell (Humana Press Inc., Totowa, USA, 1995), pp. 119–127.
130. W. F. Grant, *Mutat. Res.* **99**, 273 (1982).
131. W. F. Grant and K. D. Zura, in *Mutagenicity: new horizons in genetic toxicology*, Ed. by J. A. Heddle (Acad. Press, New York, 1982), pp. 407–433.
132. D. Kumar, A. Rajeshwari, P. S. Jadon, et al., *J. Environ. Sci.* **38**, 150 (2015).
133. L. P. Kumar and N. Paneerselwam, *Facta Universitatis. Ser.: Medicine and Biology* **15** (1), 20 (2008).
134. T. H. Ma, *Mutat. Res.* **99**, 257 (1982).
135. T. H. Ma, *Mutat. Res.* **426**, 103 (1999).
136. M. H. Nielsen and J. Rank, *Hereditas* **121** (3), 249 (1994).
137. J. Rank and M. Nielsen, *Environmental Mutagenesis and Related Subjects* **312**, 17 (1994).
138. H. S. Rathore, *Ethnobotanical Leaflets* **10**, 92 (2006).
139. K. Sabti, *Cytobios* **58**, 71 (1989).
140. I. Sainis, C. N. Banti, A. M. Owczarzak, et al., *J. Inorgan. Biochem.* **160**, 114 (2016).
141. J. Ślusarczyk, M. Dudek, M. Wierzbicka, et al., *Caryologia* **67** (3), 250 (2014).
142. M. K. Stathopoulou, C. N. Banti, N. Kourkoumelis, et al., *J. Inorgan. Biochem.* **181**, 41 (2018).
143. И. И. Концевая и Т. А. Толкачева, *Вестник Віцебскага Дзяржаўнага Ўніверсітэта*, № 6(72), 57 (2012).
144. J. Rank, *Ekologija* **1**, 38 (2003).
145. C. Balog, *Cytologia* **1982** (47), 689 (1982).
146. M. Levine, *Cancer Res.* **5**, 107 (1945).
147. S. Tedesco and H. Laughinghouse, *Bioindicator of genotoxicity: the Allium cepa test* (InTech, Croatia, 2012).
148. M. Wierzbicka and D. Antosiewicz, *Acta Soc. Bot. Pol.* **57** (2), 201 (1988).

149. Т. И. Евсева, Т. А. Майстренко, С. А. Гераськин и др., *Цитология и генетика*, № 5, 73 (2005).
150. M. K. Alotaibi and I. O. Barnawi, *Pak. J. Bot.* **50** (6), 2245 (2018).
151. Ö. S. Aslantürk and A. Celik Tulay, *Pakistan J. Biol. Sci.* **8** (6), 482 (2005).
152. Ö. S. Aslantürk, *Caryologia* **72** (2), 29 (2019).
153. G. A. Bich, M. C. Vedoya, and M. G. Medvedeff, *Rev. Cienc. Tecnol.* **14** (18), 39 (2012).
154. A. de la Campo, M. Bracho, L. Marcano, et al., *Biocell* **29** (2), 169 (2005).
155. M. L. Ferrero and C. de la Torre, *J. Cell Set.* **80**, 171 (1986).
156. C. K. Grisolia, A. B. B. de Oliveira, H. Bonfim, et al., *Gen. Mol. Biol.* **28** (2), 334 (2005).
157. M. F. Knoll, A. C. F. da Silva, T. S. do Canto-Dorow, et al., *Gen. Mol. Biol.* **29** (3), 539 (2006).
158. M. Konuk, R. Liman, and İ. H. Çiğerci, *Pak. J. Bot.* **39** (1), 73 (2007).
159. D. Liu and I. Kottke, *J. Biosci.* **29** (3), 329 (2004).
160. A. Mesi and D. Kopliku, *Procedia Technology* **8**, 19 (2013).
161. Y. Mustafa and E. S. Arikan, *Caryologia* **61** (1), 45 (2014).
162. C. A. Ozel, M. Ozkul, F. Unal, et al., *Fresenius Environ. Bull.* **27** (12), 8133 (2018).
163. A. Özkara, *Caryologia* **72** (2), 21 (2019).
164. H. S. Rathore, S. Bi, S. Anjali, et al., *Ethnobotanical Leaflets* **10**, 272 (2006).
165. P. K. Renjana, S. Anjana, and J. E. Thoppil, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **5**, 311 (2013).
166. C. A. Rosculete, E. Bonciu, E. Rosculete, et al., *Int. J. Environ. Res. Public Health* **16** (1), 75 (2019).
167. R. Sehgal, S. Roy, and V. L. Kumar, *Biocell* **30** (1), 9 (2006).
168. M. I. Soliman, *J. Biol. Sci.* **1** (11), 1021 (2001).
169. С. А. Беждугова, Э. М. Гидова, М. М. Биттуева и др., *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*, № 3, 96 (2018).
170. А. Ю. Буданцев, *Фундаментальные исследования*, № 6, 1393 (2014).
171. П. В. Лебедев, М. Ф. Мельникова и И. А. Уткина, *Цитология* **8** (5), 584 (1971).
172. О. А. Момот, Автореф. дисс. ... канд. биол. наук (Калуга, 2007).
173. Д. С. Песня, А. В. Романовский и И. М. Прохорова, *Ярославский педагогич. вестн.*, № 3, 80 (2010).
174. Л. Н. Ульяненко, Е. В. Рева и Б. И. Сынзыныс, *С.-х. биология* **52** (1), 183 (2017).
175. L. Pucciarini, F. Ianni, V. Petesse, et al., *Molecules* **24** (3) (2019).
176. G. Fiskesjö, *Vatten* **37**, 232 (1981).
177. Т. Евсева, Е. Белых и Т. Майстренко, *Вестн. Института биологии Коми НЦ УрО РАН*, № 9, 2 (2005).
178. Т. И. Евсева, С. А. Гераськин и Е. С. Храмова, *Радиоэкология. Охрана окружающей среды*, № 3, 143 (2001).
179. C. N. Banti and S. K. Hadjikakou, *BioProtoc.* **9** (14), e3311 (2019).
180. M. Ghosh, M. Bandyopadhyay, and A. Mukherjee, *Chemosphere* **81**, 1253 (2010).
181. R. Liman, U. G. Gökçe, D. Akyil, et al., *Revista Brasileira de Farmacognosia* **22** (3), 541 (2012).
182. T. G. Mashanda, A dissertation submitted in partial fulfilment of the requirements for the bachelor of science honours degree in biological sciences (Bindura University of Science Education, Zimbabwe, 2017).
183. M. T. Remacle-Dath, *Bull. Soc. Royale Sci. Liege* **35** (3–4), 315 (1966).
184. M. C. Silva, A. F. Matos, H. L. C. d. Santos, et al., *Braz. J. Pharm. Sci.* **56**, e18302 (2020).
185. T. Sifa, *Caryologia* **62** (3), 171 (2014).
186. B. Tutunoglu, O. Aksoy, R. Ozbek, et al., *Biologia plantarum* **63** (1), 365 (2019).
187. J. F. Lopez-Saez, F. Gonzalez-Bernaldez, A. Gonzalez-Fernandez, et al., *Protoplasma* **67**, 213 (1969).
188. A. M. Guarino, A. Troiano, E. Pizzo, et al., *Genes* (9), 513 (2018).
189. L. P. P. Kumar, N., *Facta universitatis. Ser.: Medicine and Biology* **14** (2), 60 (2007).
190. G. Devnarayan, S. Marmat, H. Rathore, et al., *Int. Res. J. Biol. Sci.* **5** (8), 53 (2016).
191. S. A. Ozlem and A. C. Tulay, *Pakistan Journal of Biological Sciences* **8** (6), 482 (2005).
192. В. А. Пухальский, А. А. Соловьев, Е. Д. Бадаева и др., *Практикум по цитологии и цитогенетике растений* (КолосС, М., 2013).
193. М. Мойсеева, *Вісник Київського Ботанічного Саду* (14), 1 (1932).
194. A. G. Gurwitsch, *Bulletin d'histologie appliquée a la physiologie et a la pathologie et de technique microscopique* **1** (11), 486 (1924).
195. W. W. Siebert, *Biochemische Zeitschrift* **202**, 123 (1928).
196. И. Н. Гудков и Д. М. Гродзинский, в сб. *Механизмы радиоустойчивости растений* (Наук. думка, Киев, 1976), сс. 110–137.
197. А. И. Довгальюк, Т. Б. Калиняк и Я. Б. Блюм, *Цитология и генетика* **35** (1), 3 (2001).
198. O. Rahn, *J. Bacteriol.* **28** (2), 153 (1934).
199. G. Karsten, *Z. Bot.* (10), 1 (1918).
200. Y. Karsten, *Zeit. Bot.* **7** (1), 1 (1915).
201. M. Stalfeit, *Studien über die Periodizität der Zellteilung und sich daran anschließende Erscheinungen. Kungl. Sv. Vetenskapakad* (Almqvist und Wiksell, Stockholm, 1921).
202. H. H. Laughlin, (*Publ. Cam. Inst. Wash.*, 1919), Vol. 265, pp. 1–48.
203. А. Г. Гурвич, *Архив биол. наук* **46** (3), 3 (1937).
204. B. Rossmann, *Wilhelm Roux' Archiv fur Entwicklungsmechanik der Organismen* **113** (2), 346 (1928).
205. F. Wassermann, Bd. 11, 1931, *Arch. Experim. Zellforschung* **11** (1931).
206. A. G. Gurwitsch, *Botanical Gazette* **80** (2), 224 (1925).

207. A. G. Gurwitsch, *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik* **103** (3–4), 490 (1924).
208. L. D. Gurwitsch, *Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere* **197** (1/2) (1922).
209. P. G. Rusinoff, *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik* **104** (1), 121 (1925).
210. A. G. Gurwitsch, in *Atti del I Congresso Interanzionale di electro-radio-biologia*, Ed. by L. Capelli (Bologna Venezia, 1934), Vol. II.
211. W. E. Kellicott, *Bull. Torrey Bot. Club.* (31), 529 (1904).
212. В. Г. Гриф, *Цитология* **1** (2), 229 (1959).
213. В. Г. Гриф, *Цитология* **36** (11), 1069 (1994).
214. С. Н. Мовсесян, *Научн. тр. Арм. отд. Всес. ботан. об-ва* (5), 129 (1970).
215. E. Edgar, *Fluctuation of mitotic index in the shoot apex of Lonicera nitida* (University of Canterbury, Canterbury, N.Z., 1961).
216. R. C. Friesner, *Am. J. Bot.* **7** (9), 380 (1920).
217. V. G. Grif, V. B. Ivanov, and E. M. Machs, *Цитология* **44** (10), 936 (2002).
218. A. Lance, *Ann. Sci. natur. Bot. et bid. veg.* **11** (13), 301 (1952).
219. H. Rotta, *Planta* (37), 399 (1949).
220. M. Tourte, *Rev. Cyt. et Biol. veg.* (29), 199 (1966).
221. Г. Г. Батикян and Е. Г. Симонян, *Биол. журн. Армении* **23** (11), 96 (1970).
222. А. Ю. Буданцев, *Изв. РАН. Сер. биол.*, № 3, 293 (2009).
223. R. C. Bishop and R. M. Klein, *Genome* **13** (3), 597 (2011).
224. A. C. Chandler, *Biol. Bull.* (112), 305 (1957).
225. C. E. Droogleever-Fortuyn, *Day and night period in nuclear divisions* (1926).
226. S. M. Erickson and W. S. Hillman, *Genime* **18** (1), 189 (2011).
227. W. A. Jensen and Z. Y. Kavaljian, *Am. J. Bot.* **45** (5), 365 (1958).
228. A. Lewis, *Bot. Gaz.* (32), 423 (1901).
229. J. F. Lopez-Saez and E. Fernandez-Gomez, *Experientia* (21), 591 (1965).
230. M. Jangala, M. Santoshi, M. Suman, et al., *Int. J. Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2** (2), 18 (2012).
231. A. M. A. Matias and I. K. C. Fontanilla, *Science Dili-man* **23** (1), 43 (2011).
232. Y. Mäkinen, *Ann. Bot. Vanamo* **34** (6), 1 (1963).
233. M. D. Solomon and J. A. Trent, *Trans. Kansas Acad. Sci.* **44**, 202 (1903).
234. A. Gonzalez-Fernandez, J. Lopez-Saez, and G. Gimenez-Martin, *Exp. Cell Res.* (43), 255 (1966).
235. А. Ю. Буданцев и А. Ю. Демьянов, *Цитология* **59** (6), 447 (2017).
236. F. Wassermann, *Klinische Wochenschrift* **9** (10), 433 (1930).
237. W. A. Jensen и Z. Y. Kavaljian, *Am. J. Bot.* **45** (5), 365 (1957).
238. А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, (1926).
239. W. Schwarz, *Biol. Zentralbl.* **48**, 302 (1928).
240. З. П. Ростовцева, *Верхушечная меристема* (Изд-во МГУ, М., 1969).
241. R. Hagemann, *Kulturpflanze* (4), 46 (1956).
242. И. А. Уткина, Автореф. дис. ... канд. биол. наук (Ин-т экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1972).
243. И. А. Уткина and И. М. Синягина, в сб. *Материалы по экологии и физиологии растений уральской флоры* (УрГУ, Свердловск, 1976), сс. 42–50.
244. R. M. Savelkoul, *Am. J. Bot.* **44** (4), 311 (1957).
245. С. Е. Stephens, *Cytologia* **40**, 607 (1975).
246. С. Е. Stephens, *Cytologia* **49**, 679 (1984).
247. J. Schwemmler, *Biologisches Zentralblatt* (49), 421 (1929).
248. Л. В. Белоусов, В. Л. Воейков и Ф.-А. Попп, *Природа*, № 3, 64 (1997).
249. A. Barberio, in *Water Treatment, Edited by Walid Elshorbagy and Rezaul Kabir Chowdhury* (2013), pp. 317–334.
250. A. G. Gurwitsch, *Radiobiologia* **1** (1), 15 (1932).
251. Л. В. Высоцкая, *Вавиловский журн. генетики и селекции* **18** (1), 81 (2014).
252. G. Frank, *Biologisches Zentralblatt* **52** (1), 1 (1932).
253. A. Hollaender and W. D. Claus, *An experimental study of the problem of mitogenetic radiation.* (National research council of the National academy of sciences, Washington, 1937).
254. O. W. Richards and G. W. Taylor, *Biol. Bull.* **63** (1), 113 (1932).
255. A. Hollaender and W. D. Claus, *J. Optic. Soc. Amer.* **25**, 270 (1935).
256. В. Ф. Сарафанов, *Архив биол. наук. Сер. Б* **35** (1), 309 (1934).
257. Е. Е. Авчина, Дисс. ... канд. мед. наук (Институт онкологии, Ленинград, 1950).
258. О. Е. Нудольская, Дисс. ... д-ра мед. наук (2-й Московский государственный медицинский институт, Москва, 1945).
259. В. И. Иоффе and Е. С. Биллиг, *Архив биол. наук* **40** (1), 5 (1935).
260. K. H. Kreuchen and J. V. Bateman, *Protoplasma* **22** (1), 243 (1934).
261. M. Nakaidzumi and H. Schreiber, *Biochemische Zeitschrift* (237), 358 (1931).
262. J. Westenberg, *Die "slide-cell" Methode von Wolff und Ras zum Nachweis von Gurwitsch-Strahlen* (N.V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij, Amsterdam, 1935).
263. T. I. Quickenden and S. S. Q. Hee, *Speculat. Sci. Technol.* **4** (5), 453 (1981).
264. T. I. Quickenden and R. N. Tilbury, *Radiat. Res.* **102**, 254 (1985).
265. F. Grasso, F. Musumeci, A. Triglia, et al., *Photochem. Photobiol.* **54** (1), 147 (1991).

266. M. Wainwright, K. Killham, C. Russell, et al., *Microbiol.-UK* **143** (1), 1 (1997).
267. И. В. Володяев, Р. Н. Ивановский, А. С. Богачук и др., в сб. *Матер. V Междунар. конгр. «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине»* (Санкт-Петербург, 2009), с. 128.
268. I. V. Volodyaev, R. N. Ivanovsky, A. S. Bogachuk, et al., in *Abstr. Res. Symp. "Progress In Electromagnetics"* (Moscow, Russia, 2009), p. 1025.
269. I. V. Volodyaev, E. N. Krasilnikova, and R. N. Ivanovsky, *PLoS One* **8** (4), e62808 (2013).
270. И. В. Володяев и Е. В. Наумова, в сб. *Матер. VIII Междунар. конгр. «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине»* (Санкт-Петербург, 2018), сс. 21–22.
271. С. Я. Залкинд, *Природа*, № 2, 111 (1932).
272. T. Reiter and D. Gabor, *Strahlenther Onkol.* (28), 125 (1928).
273. J. Ponomarewa, *Biochemische Zeitschrift* **239**, 424 (1931).
274. G. Decker, *Protoplasma* **25** (1), 515 (1936).
275. W. Frankenburger, *Strahlenther Onkol.* **47** (2), 233 (1933).
276. A. Gurwitsch and L. Gurwitsch, *L'analyse mitogénétique spectrale* (Hermann & Cie, Paris, 1934).
277. А. Гурвич, Л. Д. Гурвич и А. А. Слюсарев, *Архив биол. наук* **55** (2), 104 (1939).
278. A. G. Gurwitsch and L. D. Gurwitsch, *Nature* **143** (3633), 1022 (1939).
279. A. G. Gurwitsch and L. D. Gurwitsch, *Die mitogenetische Strahlung* (VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1959).
280. H. A. Gordon, *Acta Physicochim. USSR* **13** (3), 393 (1940).
281. P. Pringsheim and A. L. Reimann, *Zeitschrift für Physik* **29** (1), 115 (1924).
282. P. Pringsheim, *Phosphoreszenz und Fluoreszenz, 3rd ed.* (Springer, Berlin, 1928).
283. N. Kannegiesser, *Biochemische Zeitschrift* **236**, 415 (1931).
284. Л. Д. Гурвич, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 141 (1934).
285. В. Ф. Еремеев, *Бюл. эксперим. биологии* **45** (6), 95 (1958).
286. С. Я. Залкинд, *Природа*, № 6, 53 (1938).
287. А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **4** (6), 474 (1937).
288. А. Г. Гурвич и Л. Д. Гурвич, *Бюл. ВИЭМ* (6–7), 29 (1935).
289. A. A. Gurwitsch, *Ann. de Physiol. et. Physicochem. Biol.* **10** (5), 1153 (1934).
290. G. S. Kalendaroff, *Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere* **231**, 238 (1933).
291. И. В. Цоглина, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 341 (1934).
292. Г. С. Календаров, *Архив биол. наук* **32** (1), 26 (1934).
293. Г. С. Календаров, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 183 (1934).
294. A. A. Gurwitsch, *Annales de Physiologie et de Physicochimie biologique* **10** (5), 1166 (1934).
295. A. A. Gurwitsch, *Annales de Physiologie* **14** (2), 182 (1938).
296. H. Gesenius, *Radiobiologia* **1** (2), 33 (1932).
297. А. Г. Гурвич, Л. Д. Гурвич, С. Я. Залкинд и др., *Учение о раковом тушителе: Теория и клиника* (Изд-во АМН СССР, Москва, 1947).
298. W. Siebert, in *Handbuch der allgemeinen Hämatologie*, Ed. by H. Hirschfeld and A. Hittmair (Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien, 1934), Vol. 2, p. 1339.
299. H. Gesenius, *Biochemische Zeitschrift* **226** (4–6), 257 (1930).
300. M. Heinemann, *Klinische Wochenschrift* **11** (33), 1375 (1932).
301. С. Я. Залкинд, *Природа* **1**, 53 (1938).
302. Я. С. Кленецкий, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 213 (1934).
303. М. Б. Новиков, *Архив биол. наук* **51** (3), 56 (1938).
304. Б. С. Песоченский, в *Сборник работ по митогенезу и теории биологического поля*, под ред. А. Г. Гурвича (Изд-во АМН СССР, Москва, 1947), сс. 102–114.
305. E. G. Prokofiewa, *Nature* **134** (3389), 574 (1934).
306. А. Е. Браунштейн и А. П. Потоцкая, *Архив биол. наук, Сер. Б* **35** (1), 73 (1934).
307. Н. Н. Каннегисер, Ю. А. Харитон и Г. М. Франк, в кн. *Биофизика живой клетки. Избранные труды.* (Наука, М., 1982), сс. 161–167.
308. К. А. Голшмид and В. К. Модестов, в *Сборник работ Пермского отделения Уральского филиала Центрального института курортологии* (Пермь, 1934), сс. 43–50.
309. Е. Т. Кулин, *Здравоохранение Белоруссии* (12), 17 (1957).
310. I. Langmuir and R. N. Hall, *Phys Today* **42** (1989).
311. Anonim, *Nature* (December, 11), 1007 (1937).
312. J. Gray and C. Ouellet, *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B* **114** (786), 1 (1933).
313. E. Lorentz, *Phys. Rev.* (44), 329 (1929).
314. Г. Барт, *Архив биол. наук* **46** (1), 153 (1937).
315. А. Л. Юделес, *Дис. ... д-ра мед. наук* (Свердловск, 1944).
316. В. П. Нагорянская, *Дисс. ... канд. мед. наук* (Центральный Онкологический Институт НКЗ РСФСР, Москва, 1945).
317. W. S. Metcalf and T. I. Quickenden, *Nature* **216** (5111), 169 (1967).
318. С. Я. Залкинд, *Архив биологических наук* **57** (2–3), 124 (1940).
319. A. A. Gurwitsch, *Experientia* **44** (7), 545 (1988).
320. V. L. Voeikov and L. V. Belousov, in *Biophotonics and Coherent Systems in Biology* (Springer US, Boston, MA, 2007), pp. 1–16.
321. E. V. Naumova, A. E. Naumova, D. A. Isaev, et al., *J. Biomed. Photonics Engineer.* **4** (4), 040201 (2018).
322. R. N. Tilbury and T. I. Quickenden, *J. Bioluminesc. Chemiluminesc.* **7** (4), 245 (1992).
323. Н. А. Троицкий, С. В. Конев и М. А. Катибников, *Биофизика* **6** (2), 238 (1961).
324. L. V. Belousov, *Eur. J. Biophys.* **1** (1), 6 (2013).
325. M. Kobayashi and H. Inaba, *Appl. Optics* **39** (1), 183 (2000).

Methods of Studying Ultraweak Photon Emission from Biological Objects.**II. Methods Based on Biological Detection**

I.V. Volodyaev*, **L.V. Belousov***, **I.I. Kontsevaya****,
A.E. Naumova***, and **E.V. Naumova******

**Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow, 119991 Russia*

***Francysk Skaryna Gomel State University, ul. Sovetskaya 104, Gomel, 246019 Republic of Belarus*

****St. Petersburg State University, Universitetskaya nab. 7/9, Saint Petersburg, 199034 Russia*

*****Rzhanov Institute of Semiconductor Physics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, prosp. Akademika Lavrentieva 13, Novosibirsk, 630090 Russia*

The second part of the review, which is devoted to the methods of studying ultraweak photon emission, presents a methodology of biological detection. During the first 25 years of research (1923–1948), almost all experiments in this area were based on biological detection and only the component belonging to the middle ultraviolet region of the spectrum (also called mitogenetic radiation at that time) was studied, because it was observed due to the influence of ultraweak ultraviolet radiation on the mitotic regime of the biological detector. These experiments remain open to debate till present due to the insufficient validation of methods. Many of the results obtained from these investigations have been very impressive for that time period and are now verified, the research questions the other results relate to are of considerable interest (for instance, fundamental results concerning cell division and carcinogenesis, early cancer diagnostics). Thus, the analysis of the methodology employed is an emerging issue for the subsequent experimental verification. The details of the methods with the most common biological detectors (onion roots, yeast and bacterial cultures) are analysed and the onion detection method is compared to the closest analogue (the *Allium*-test).

Keywords: ultraweak photon emission from biological objects, mitogenetic radiation, mitogenetic effect, biological test systems, Allium- test, biophotonics