



УДК 574 (07)

В. С. Трофимова, А. Н. Величко, А. В. Завгородний
Санкт-Петербургский государственный электротехнический
университет «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина)

Исследование влияния возраста культуры на тест-реакцию термотаксиса *Paramecium caudatum*

*Рассматривается влияние биологического фактора (возраста культуры) на терморегуляционную реакцию простейших. Обоснована актуальность разработки нового микробиотеста in vivo, основанного на тест-реакции термотаксиса инфузорий; представлена разработанная биотехническая система контроля токсичности водных сред на базе температурных предпочтений одноклеточных. В данной статье будут представлены результаты экспериментов, в которых выявлена диапазон возраста культуры клеток *P. caudatum*, при котором проявляется реакция термотаксиса.*

Термотаксис, биотестирование, инфузория, биологический фактор

Изменение условий внешней среды оказывает воздействие на жизнедеятельность микроорганизмов: физические, химические, биологические и т. п. факторы могут ускорять или подавлять развитие живых клеток, а также изменять их реакцию на внешнее воздействие или даже вызывать гибель. К факторам среды, оказывающим наиболее заметное действие на микроорганизмы, относятся влажность, температура, кислотность и химический состав среды, действие света и других физических факторов. Важнейшим биологическим фактором при разработке биотехнологий является правильно выбранный возраст культуры.

Микробиотестирование – новая область биотестирования, основанного на использовании организмов малых размеров и малых объемов проб. Биотесты *in vivo* показывают воздействие токсичности на целостный организм. В настоящее время актуально создание биотестов на основе влияния градиента физического фактора на передвижение целостных организмов, т. е. таксисов, среди которых выделяют хемотаксис, гальванотаксис и термотаксис и др.

Термотаксис – это направленное перемещение организмов в градиенте температур. Только в начале XXI в. было выявлено, что свойства термотаксиса инфузорий имеют сходство с темпера-

турной регуляцией многоклеточных. Одноклеточные организмы не обладают нервной системой, но они образуют плавающие структуры, способные находить зону температурного оптимума [1]. Их выбор зоны комфортных температур зависит от гипоксии, инфекций, ряда химических токсикантов и биохимических блокаторов метаболизма [2], [3].

Целью данной работы служит исследование зависимостей термотаксиса инфузорий от биологических факторов.

В предыдущих исследованиях других таксисов хемотаксиса и гальванотаксиса биотесты были ориентированы на возраст культуры в диапазоне 3–4 дня после кормления. При опытах, в которых использовались инфузории этого возраста, термотаксис не наблюдался, поэтому потребовалось провести дополнительные масштабные исследования по изучению этого биологического фактора и его роли в возникновении термотаксиса.

Для проведения данных исследований был составлен план-график кормления культуры и план съемки биотестов. В данном исследовании было проведено 70 опытов с культурами возраста 1–14 дней (с пятью опытами в каждой серии).

Формирование тест-реакции термотаксиса. Биотехническая система (БТС), основанная на тест-реакции термотаксиса инфузорий, включает

средства формирования термотаксиса с помощью модифицированного метода Гертера, что позволяет выявить диапазон комфортных температур при воздействии на инфузорий тестируемых вредных факторов [1].

Тест-реакция основана на эффекте возникновения гипоксии при повышении температур, описанном в [3], но в отличие от исследовательских разработок, которые обеспечивали обнаружение зоны комфортных температур в течение 1 ч [1], был предложен экспресс-тест [4], который позволяет обнаружить токсиканты, подавляющие процессы клеточного дыхания.

Структура БТС биотестирования водных сред на основе тест-реакции термотаксиса включает три основных блока: блок создания градиента температур в узкой протяженной кювете, блок регистрации тест-реакции и блок цифровой и статистической обработки данных (рис. 1). Градиент температур создавался охлаждением одного края узкой протяженной кюветы. Для контроля реакции применялась установка видеорегистрации внутрипопуляционного взаимодействия инфузорий. В качестве устройства контроля реакции использована цифровая камера CanonPowerShot SX10IS с матрицей 10 Мпикс, «супермакро»-съемкой до 1 см. Установка способна экспортировать файлы на персональный компьютер для дальнейшей обработки изображений в интерактивной системе Matlab [5].

На рис. 1 представлен результат цифровой обработки данных, полученных при видеорегистрации термотаксической реакции (контроль), в которых в течение 2.5 мин регистрировалось перемещение инфузорий в узкой протяжной кювете в условиях градиента температур (концентрация инфузорий составляет 2500 кл/мл, разница температур между двумя стенками узкой кюветы составляет 4 °С). Максимум термотаксической реакции достигается при 1.5 мин. Статистическая проявляемость термотаксиса при данных условиях составила 100 % в 9 опытах. Корреляция между сериями опытов составляет 0.91...0.99.

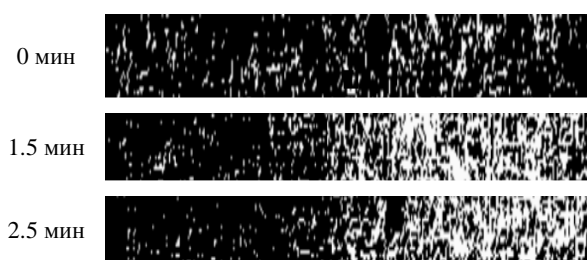


Рис. 1

В качестве информативного параметра наличия и выраженности тест-реакции выступает градиент популяционного распределения инфузорий по кювете α .

Исследование воздействия температуры на инфузорий *Paramecium caudatum* разного возраста. Кормление клеток осуществляется согласно стандартным методикам культивирования: к 50 мл взвеси инфузорий добавляли 50 мг высушенных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Взвесь инфузорий помещалась в стеклянную колбу и оставлялась при комнатной температуре.

Подготовка взвеси к лабораторным исследованиям – это отмывание культуры от продуктов метаболизма и остатков дрожжей, чтобы избавиться от ложных сигналов при регистрации эксперимента, осуществлялась при помощи реакции обратного геотаксиса – популяционного передвижения клеток вверх. Взвесь клеток помещается в колбу с тонким горлышком и в течение 30 мин клетки всплывали, а продукты метаболизма и остатки дрожжей оставались на дне колбы. Первоначальная концентрация инфузорий предварительно подсчитывается, в данных исследованиях она составляла 750 кл/мл \pm 10 %.

Реакция термотаксиса наблюдается через 1.5 мин после установки охлаждающего элемента, т. е. в случае проявления реакции через 1.5 мин популяция клеток перемещается в сторону охлаждающего элемента. На рис. 2 представлен градиент распределения инфузорий по кювете при воздействии низкой температуры справа в течение 1.5 мин (возраст культуры 1–14 дней). Из данных распределений видно, что термочувствительность усиливается по мере возраста культуры и соответствует фазам насыщения (стационарная фаза) и деградации (фаза замедления роста) – 7–14 дней у *P. caudatum*. Статистическая проявляемость термотаксиса составила 100 % в 5 опытах.

В ходе проведения данного исследования была выявлена высокая корреляция (рис. 3), показывающая стабильное поведение инфузорий в диапазонах 0...0.5, 1...1.5 и 2.5...3.5 мин (возраст культуры – 7 дней, концентрация – 750 кл/мл).

Основываясь на полученных данных, можно сделать вывод о характере движения клеток под действием температурного градиента. Первые полминуты наблюдается равномерное распреде-

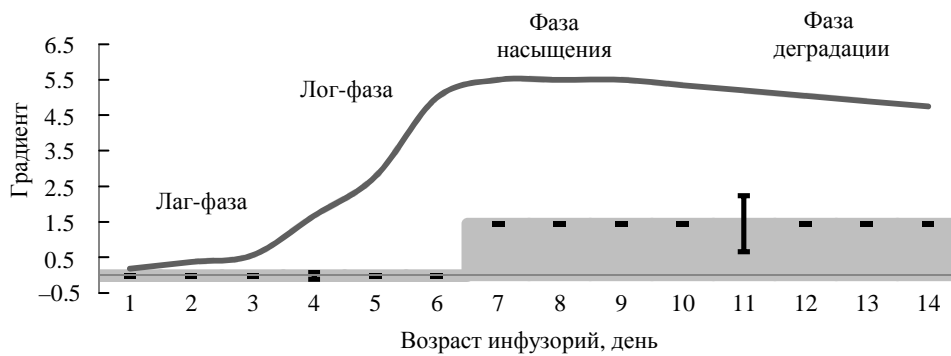


Рис. 2

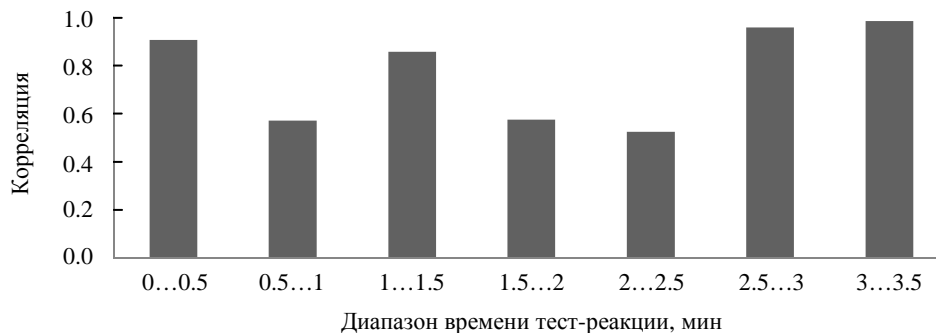


Рис. 3

ление клеток по кювете; в промежуток времени 0.5...1 мин после установки охлаждающего элемента справа – передвижение большинства клеток в сторону пониженных температур, в диапазоне времени 1...1.5 мин – вновь стабильное распределение, клетки сосредоточены в зоне низких температур, спустя 2.5 мин после того, как во всей кювете достигается одинаковая температура, клетки равномерно распределяются по кювете.

Результаты. Термотаксис является важной формой терморегуляции одноклеточных организмов, имеющей эволюционную близость с механизмами терморегуляции многоклеточных.

На данный момент продолжается модернизация установки для тест-реакции термотаксиса,

так как разработанная модель может быть полезна для биологических исследований (например, для исследования гипоксии), а также для биотестового контроля качества водных сред с помощью тест-реакции термотаксиса организмов типа *Paramecium caudatum*.

В результате проделанной работы было экспериментально доказано взаимное влияние биологического и физического факторов (тест-реакция термотаксиса наблюдается у инфузорий возрастом 7–14 дней), выявлена высокая корреляция, показывающая стабильное поведение инфузорий в диапазонах 0...0.5, 1...1.5 и 2.5...3.5 мин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Herter K. Untersuchungen über den temperatursinn einiger insekten // Ausdem zoologischen Institut der Universität GSttlnGen und dem zoologischen / Institut der Universität Berlin. Germany. 1923. S. 221–288.
2. Mendelssohn M. Über den Thermotropismuse in zeller Organismen // Pflüger's Arch. Ges. Physiol. 1895. T. 60. S. 1–27.
3. Malvin G. M., Cecava N., Nelin L. D. Nitric Oxide Production and Thermoregulation in *Paramecium caudatum* // ActaProtozoologica – Intern. J. on Protistology. 2003. № 42. P. 259–267.

4. Захаров И. С., Величко А. Н., Кустов Т. В. Исследование биотехнологических факторов биотеста на базе термотаксиса инфузорий для контроля токсичности водных сред // Биотехносфера. 2014. № 5 (35). С. 8–12.
5. Разработка алгоритма обработки цифровых изображений биотестовых реакций инфузорий / В. С. Трофимова, Е. Р. Сутырина, И. С. Захаров, Т. В. Кустов // Сб. тр. II науч.-техн. конф. с междунар. участием «Наноиндустрия и технологии будущего» для студентов, аспирантов и молодых ученых. СПб., 2014. С. 59–60.

V. S. Trofimova, A. N. Velichko, A. V. Zavgorodnii
Saint Petersburg Electrotechnical University «LETI»

STUDY THE EFFECT OF CULTURE AGE ON THE TEST REACTION THERMOTAXIS PARAMECIUM CAUDATUM

With the influence of biological factors (age of the culture) on thermoregulatory response simple. The urgency to develop a new mikrobiotest in vivo, based on the test responses thermotaxis ciliates. The developed biotech emission control system of aqueous media based on temperature preferences unicellular. This article will present the results of experiments in which identified a range of age of the culture of P. caudatum cells, causing them to exhibit a reaction thermotaxis.

Thermotaxis, bioassay, ciliates, biological factor

УДК 004.67; 004.89; 621.3.068

В. Л. Горохов
Санкт-Петербургский государственный электротехнический
университет «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина)

В. В. Витковский
Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики (Университет ИТМО)

Выявление экстремальных состояний сложных природных и технических систем на основе когнитивного мониторинга многомерных временных рядов

Рассматриваются когнитивные методы визуализации многомерных временных рядов, ориентированные на использование в составе ГИС-средств выявления чрезвычайных ситуаций. Предлагаемый подход к разработке когнитивных средств машинной графики основывается на возможности оператора выявлять в когнитивных образах признаки «разладки» многомерных временных рядов на стадии малых, но синхронных изменений параметров системы.

Интеллектуальные ГИС, чрезвычайные ситуации, когнитивная компьютерная графика

В настоящее время регулярно возрастает количество чрезвычайных ситуаций на природных и промышленных объектах, происходит повреждение дорогостоящего оборудования, загрязнение окружающей среды и т. д. [1]. Для своевременного выявления и предупреждения чрезвычайных ситуаций необходимо обеспечить обнаружение аномальных состояний объектов. К сложным с точки зрения своевременного выявления возможности возникновения чрезвычайных ситуаций предметным областям относится энергетика. Мониторинг состояния нефтегазодобывающих платформ осуществляется на основе данных, поступающих с различных встроенных устройств, а также специализированных внешних датчиков и систем контроля состояния объектов. Состав регистрируемых многомерных данных позволяет контролировать состояние механических элементов, параметры вибраций и динами-

ческих воздействий, а также ряд других показателей, характеризующих техническое состояние анализируемых объектов. Например, это набор многомерных характеристик силовых агрегатов ГРЭС. Так, для Красноярской ГРЭС осуществляется мониторинг более двадцати параметров для всех гидроагрегатов. В процессе мониторинга регистрируются изменения этих характеристик во времени в виде многомерных временных рядов. Однако существуют серьезные трудности решения задач выявления чрезвычайных ситуаций на сложных технических объектах. Прежде всего это плохо прогнозируемое поведение наблюдаемых многомерных рядов. Еще одна трудность заключается в многомерном характере временных рядов, которые в сочетании с большим числом характеристик объектов и объемов рядов затрудняют измерение взаимных корреляций и ковариаций. Преодоление этих трудностей возможно