

**В. А. Гуленко** – студентка кафедры инноватики и интегрированных систем качества  
**И. В. Мателенок** – кандидат технических наук – научный руководитель

## МОДИФИКАЦИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПАРАМЕЦИЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ ДЕЙСТВИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ

Инфузории являются сложно устроенными одноклеточными эукариотическими организмами, проявляющими разнообразные реакции на изменения внешней среды благодаря специфической чувствительности и развитым клеточным ультраструктурам. При этом для инфузорий характерна относительно быстрая изменчивость, которая позволяет им адаптироваться к изменению параметров среды обитания. В ходе адаптации, в частности, изменяются скорость движения, темп размножения и способность поглощать пищу, а также форма и размеры тела. Если же характеристики среды не меняются, то свойства инфузорий остаются стабильными, это и позволяет использовать их как тест-объекты в биоиндикации [1]. Чаще всего в соответствующих экспериментах применяются представители нескольких видов инфузорий из рода *Paramecium* (парамеций) [2]. Их наличие и показатели жизнедеятельности в пробах среды сигнализируют о протекании в ней каких-либо процессов или присутствия определенных загрязняющих веществ [3].

При этом относительно недавно открылись возможности изучения реакций тест-объектов на загрязнение среды с использованием технологий машинного зрения. В данном направлении исследований имеется широкий спектр еще не решенных задач. Настоящая работа посвящена оценке реакций двигательной активности инфузорий на попадание в водную среду экотоксикантов, относящихся к органическим топливам, и обработке отдельных элементов, которые могли бы быть положены в основу прогрессивных методик биотестирования на основе машинного зрения.

Задачи:

1. Проанализировать особенности организации экспериментов по изучению двигательной активности инфузорий рода парамеций и опыт их использования в качестве тест-объектов;
2. Выбрать инструментарий для оценки двигательных реакций на экотоксиканты;
3. В ходе серии лабораторных экспериментов с помощью предложенных решений определить характер движений инфузории в отсутствие и при наличии в воде керосина и бензина.

В [4] сказано, что парамеции имеют набор, включающий в себя, по крайней мере, 10 двигательных реакций: 1) реакция избегания, 2) реакция неограниченного попятного движения, 3) реакция оборонительного ускорения, 4) реакция «стохастический клубок», 5) движение в контакте с ограничивающей поверхностью, 6) тигмотаксис (полная остановка движения), 7) реакции таксисов (хемо, фото, гео и т.п.), 8) реакция поиска комплиментарной зоны полового партнера, 9) реакция разворота в условиях ограниченного пространства, 10) выстрел трихоцист. Набор этих реакций позволяет парамециям решать самые различные двигательные задачи: поиска питательных веществ и благоприятных факторов внешней среды, поиска комплиментарной зоны полового партнера, защиты от действий хищников и неблагоприятных факторов среды, преодоления различных механических препятствий. Показано, что в условиях ограниченного пространства у парамеций запускается реакция разворота, которая позволяет парамециям маневрировать в условиях ограниченного пространства.

В статье [5] показано наличие отличительных особенностей воздействия различных групп токсикантов на характеристики этологических реакций инфузорий, предложен новый метод контроля параметров движения инфузории (длины свободного пробега и углов изменения направления движения), основанный на фоторегистрации.

Нами было проведено исследование движения инфузорий под воздействием экотоксикантов. В качестве экотоксикантов использовались бензин и керосин, относящиеся к малоопасным. Исследование проводилось опытным путем, с использованием цифрового микроскопа МЕГЕОН 33001 и программного обеспечения (ПО) ImageJ с плагином машинного зрения TrackMate v2.8.1, с помощью которого были зафиксированы параметры движения одноклеточных. Выбор данного ПО был

обусловлен его максимальной приспособленностью к решению задач описанного класса, в то время как для достижения подобного результата с помощью MatLab потребовалось бы значительно больше ресурсов.

Инфузории были найдены и выращены в аквариумной воде. Аквариумная вода была перелита в стеклянный сосуд объемом 3 л, обеспечивающий оптимальные для роста колонии одноклеточных инсоляцию и воздухообмен. Для питания инфузорий подготовлен субстрат для развития бактерий. В качестве подкорма была выбрана сушеная банановая кожура. Выращивание заняло 3 суток.

Суть эксперимента заключалась в сравнении параметров движения одноклеточных в естественной благоприятной водной среде с такими же параметрами движения в среде, куда добавлены бензин/керосин.

На рис. 1 представлены траектории движения инфузорий в благоприятной среде, полученные с помощью TrackMate. Из него видно, что инфузории двигались кучно с небольшой средней скоростью, с чередованием плавных спиралеобразных движений и резких "скачков". После добавления бензина произошло смещение клеток в направлении движения фронта загрязнения, характер движения изменился незначительно, но увеличилась его скорость.

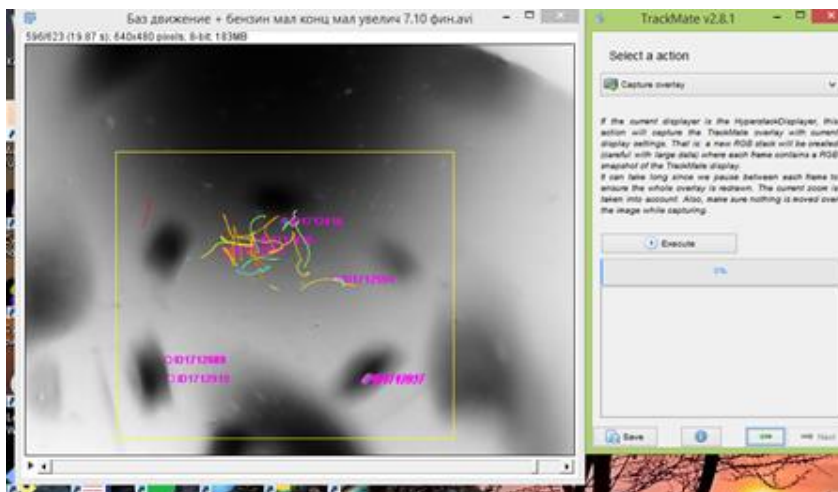


Рис. 1. Траектории движения инфузорий в благоприятной среде

На рисунке 2 представлены траектории движения инфузорий в среде после внесения в нее керосина. Характер движений поменялся, кучность исчезла, ряд особей с высокой скоростью по прямолинейным траекториям стремились покинуть загрязненную область, другие демонстрировали медленные "маятниковые" движения.

В таблице 1 приведена информация о скорости движения парameций в естественной среде и после введения в нее экотоксикантов.

Таблица 1

**Значения некоторых параметров движения парameций**

Вид среды Параметр	Благоприятная среда	Среда с бензином и керосином
Диапазон средних скоростей по треку, пикселей/кадр	0,2 - 1,7	0,5 - 18,0
Медианное смещение между кадрами (после фильтрации треков), пикселей/кадр	1,3	3,5
Максимальное смещение между кадрами, пикселей/кадр	22	29

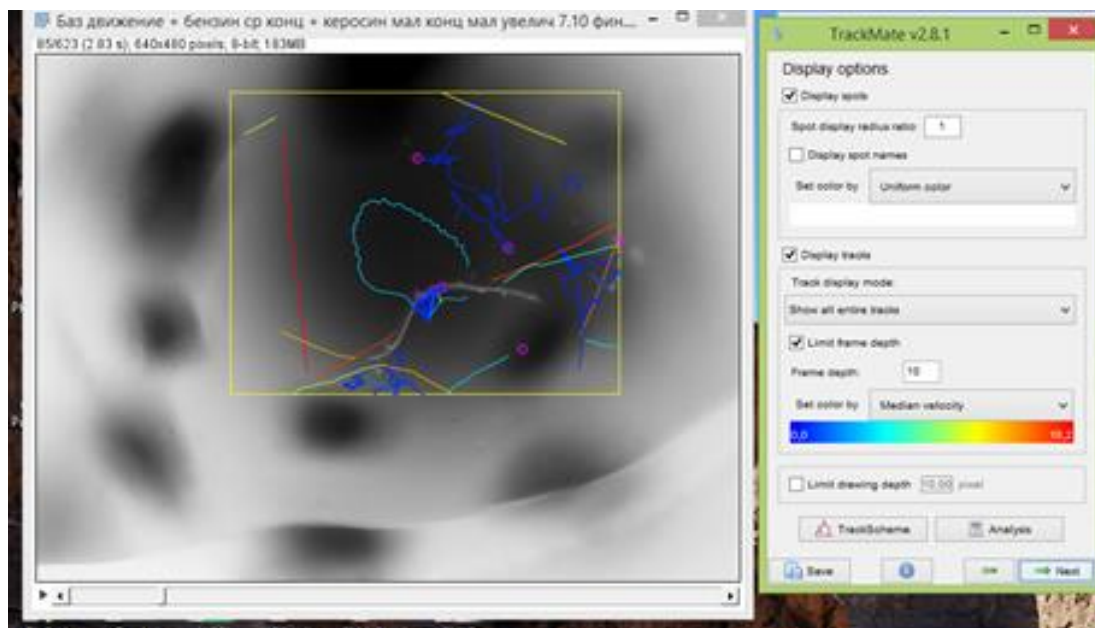


Рис. 2. Траектории движения инфузорий в среде с бензином и керосином малой концентрации

Как показали эксперименты, при добавлении в среду бензина и керосина из класса жидких органических топлив парамеции стараются его избежать. В естественной среде движение инфузорий имеет яркий, оживленный характер, траектории движения – спиралевидные. При добавлении в среду с инфузориями керосина уже при достаточно малой концентрации их движение «угасает» (выстрел трихоцист), и одноклеточные быстро погибают (тигмотаксис). Реакция на бензин является менее выраженной, и аналогичные реакции достигаются при больших концентрациях экотоксиканта.

Комплект из цифрового микроскопа с увеличением 400-Х и специализированного ПО ImageJ+TrackMate позволяет выделять отдельные треки движения, определять их параметры и выполнять сравнительную оценку двигательных реакций парамеций на внешние воздействия, а потому может быть рекомендован в качестве инструментальной основы для исследований, подобных описанному.

### Библиографический список

1. Габышева, А.Н. Инфузории как тест-объект для определения качества среды / Работы VI Международной студенческой научной конференции "Студенческий научный форум - 2014". 2014. [Электронный ресурс], URL: <https://scienceforum.ru/2014/article/2014006983>
2. Виноходов, Д.О. Научные основы биотестирования с использованием инфузорий: дис. доктор биологических наук: 03.00.23 - Биотехнология. Санкт-Петербург. 2007. 352 с.
3. Кондакова, Г.В. Биоиндикация. Микробиологические показатели: учеб. пособие / Г.В. Кондакова; Ярослав. гос. ун-т. – Ярославль: ЯрГУ, 2007. 136 с.
4. Котов, Н.В. Двигательная активность *Paramecium caudatum*: дис. доктор физико-математических наук: 03.00.02 - Биофизика. Казань. 2001. 256 с.
5. Ковалевская, А.С. Метод классификации токсикантов на основе выявления характеристик этологических реакций инфузорий / А.С. Ковалевская, О.В. Смолова // Известия ЮФУ. Технические науки. 2010. №9. С. 126-130. [Электронный ресурс] URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/metod-klassifikatsii-toksikantov-na-osnove-vyyavleniya-harakteristik-etologicheskikh-reaktsiy-infuzoriy>