

УДК 613.644

УСТАНОВКА ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОЙ МОРФОМЕТРИИ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ПЛАНАРИЙ

Вишнеевский В.Г., Махонина М.М., Демцун Н.А., Темуриянц Н.А.

Для исследования и анализа регенерационной способности планарий была создана установка морфометрического анализа, состоящая из микроскопа, видеокамеры, платы видеозахвата, персонального компьютера и пакетов прикладных программ. Использование морфометрического анализа позволяет автоматизировать получение и обработку результатов этого типа экспериментов.

В дальнейшем предполагается определить наиболее информативные параметры из доступных и обосновать их применение для изучения биологического действия гипомангнитных полей.

Ключевые слова: *Dugesia tigrina*, регенерация, прижизненная морфометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Решение актуальных проблем современной биофизики, касающихся изучения биологического действия факторов различной природы и интенсивности, требует разработки тест-систем, отличающихся простотой, экономичностью, быстротой получения результата. Этими свойствами обладает такая система как планарии, обладающие уникальной способностью к регенерации. Эта система отличается доступностью, хорошей воспроизводимостью результатов и кроме того отвечает современным этическим требованиям, согласно которым следует ограничить использование млекопитающих в эксперименте. Учитывая перечисленные достоинства, эта система успешно используется для изучения биологического действия электромагнитных факторов, свойств воды, тестирования фармакологических веществ и так далее [1 – 5]. Для повышения точности и надежности результатов исследования регенерации планарий необходимо усовершенствование методов прижизненной морфометрии отрастающей регенерационной почки (бластема). Целью исследования явилась разработка установки для прижизненной морфометрии планарий для дальнейшего изучения биологического действия гипомангнитных полей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для экспериментов был произведен отбор животных из популяции лабораторной бесполой расы планарий *Dugesia tigrina*, полученные в Институте биофизики клетки РАН.

Планарий содержали при температуре воды 19-21⁰С в стеклянных контейнерах объемом 3-5 литров, которые помещали в шкафы в затененные условия. Вода для содержания планарий представляет собой смесь дистиллированной и

УСТАНОВКА ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОЙ МОРФОМЕТРИИ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ПЛАНАРИЙ

водопроводной воды в пропорции 1:1. Кормление осуществляется раз в неделю мотылем. В экспериментах использовали животных после 7-дневного голодания.

Регенерацию вызывали ампутацией 1/5 части тела планарий, содержащей головной ганглий, в области непосредственно под «ушами» (рис. 1).

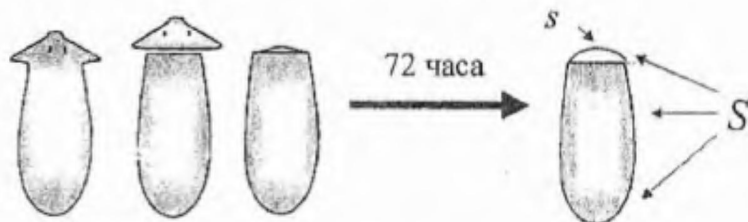


Рис. 1. Схема изучения регенерации планарий.

Примечание. s – площадь вновь образовавшейся ткани (бластемы); S – площадь всего тела планарии; s/S – индекс регенерации.

Регистрацию отрастания бластемы проводили через 72 часа после декапитации. Операция декапитации проводили под бинокулярным микроскопом глазным скальпелем в нестерильных условиях. Операция проводится на стеклянной поверхности чашки Петри, под которой находится слой льда – охлаждение поверхности снижает подвижность планарий.

Для оценки динамики роста регенерационной почки (бластемы) осуществляется ее прижизненная морфометрия. Для этого разработан комплекс компьютерных технологий [6, 7].

В разработке метода использованы следующие особенности биологии и морфогенеза планарий:

1) сохранение у регенерантов способности к достаточно длительному однонаправленному движению в горизонтальной плоскости, что удобно для получения качественных изображений в фокусе микроскопа;

2) отсутствие на поверхности бластемы пигментного эпителия, что позволяет четко определять границу между бластемой и пигментированной остаточной частью тела.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая особенности биологии и морфогенеза планарий была создана установка состоящая из микроскопа «МБС-10», ПЗС – видеокамеры высокого разрешения (SK-2046), платы видеозахвата (разрешение 640x480), персонального компьютера и пакетов прикладных программ – VirtualDub (для работы с кадрами полученного видеоряда) и проблемно-ориентированное программное обеспечение – морфометр «Image-Pro» (рис. 2).

Микроскоп МБС-10 предназначен для наблюдения, как объемных предметов, так и тонких и прозрачных объектов, а также препарированных работ. Наблюдение

может производиться как при искусственном, так и при естественном освещении в отраженном и проходящем свете.

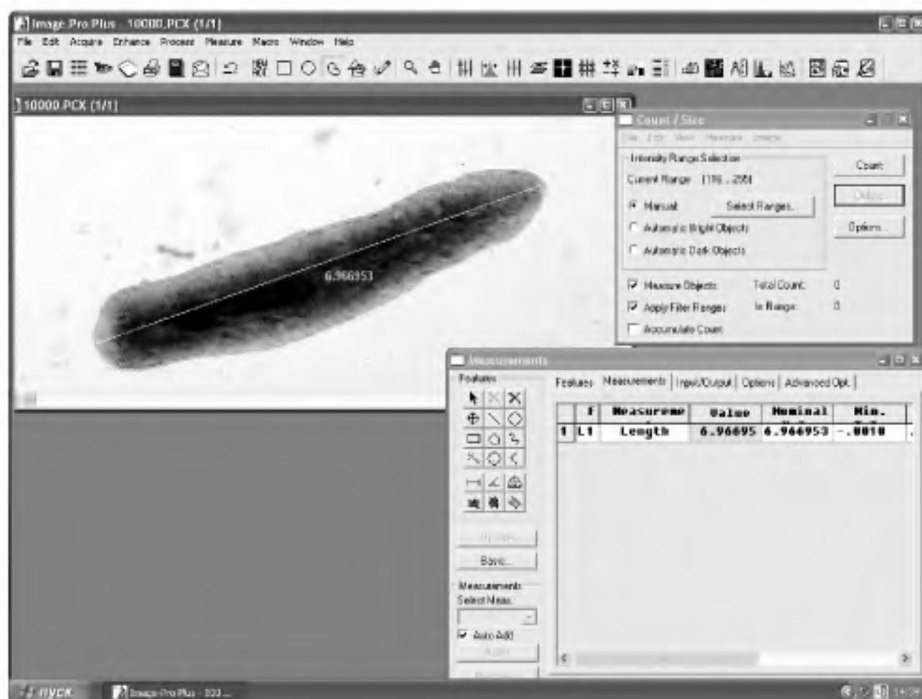


Рис. 2. Обработка изображения планарий в морфометре «Image – Pro».

Из литературных источников известно, что линейные размеры планарий в ходе регенерации по трем координатам изменяются по одной и той же зависимости [8], что позволяет упростить процесс снятия данных о морфогенезе целого животного до учета изменений геометрических размеров в плоскости и пренебречь изменениями в объеме.

При таком построении эксперимента возможно вычисление основных геометрических характеристик тела планарии, бластемы: площадь поверхности, периметр, линейные размеры по минимальной и максимальной осям, геометрический центр масс объекта по его осям, оптическую плотность, фрактальность границы объекта, однородность окраски поверхности, коэффициент округлости. Использование морфометрического анализа позволяет автоматически выделить контуры тела всего животного или пигментированной его части, провести необходимые измерения автоматически. При необходимости измерения могут быть проведены вручную оператором.

В качестве количественного критерия роста может использоваться индекс регенерации $R=s/S$, где s - площадь бластемы, S площадь всего тела регенеранта в данный момент времени (диссертация).

УСТАНОВКА ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОЙ MORFOMETRII REGENERIRUЮЩИХ ПЛАНАРИЙ

В дальнейшем предполагается определить наиболее информативные параметры из доступных и обосновать их применение для изучения биологического действия гипомангнитных полей.

Список литературы

1. Леднев В.В., Белова Н.А., Рождественская З.Е., Тирас Х.П. Биоэффекты слабых переменных магнитных полей и биологические предвестники землетрясений // Геофизические процессы и биосфера. – 2003. – Т.2, № 1. – С. 3-11.
2. Леднев В.В., Сребницкая Л.К., Ильясова Е.Н., Рождественская З.Е., Климов А.А., Белова Н.А., Тирас Х.П. Магнитный параметрический резонанс в биосистемах: экспериментальная проверка предсказаний теории с использованием регенерирующих планарий *Dugesia tigrina* в качестве тест-системы // Биофизика. – 1996. – Т. 41(4) – С. 815-825.
3. Новиков В.В., Шейман И.М., Фесенко Е.Е. Влияние слабых и сверхслабых магнитных полей на интенсивность бесполого размножения планарий *Dugesia tigrina* // Биофизика. – 2002. – Т.47(1). – С. 125-129.
4. Новиков В.В., Шейман И.М., Клобин А.В., Фесенко Е.Е. Влияние слабых и сверхслабых комбинированных постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей и миллиметровых волн низкой интенсивности на регенерацию планарий *Dugesia tigrina* // Биофизика. – 2007. – Т.52 (2). – С. 372-375.
5. Тирас Х.П., Сребницкая Л.К., Ильясова Е.Н., Леднев В.В. Влияние слабого комбинированного магнитного поля на скорость регенерации планарий *Dugesia tigrina* // Биофизика. – 1996. – Т. 40(4). – С. 826-831.
6. Тирас Х.П., Сахарова Н.Ю. Прижизненная морфометрия планарий // Онтогенез. – 1984. – Т. 15(1). – С. 42-48.
7. Тирас Х.П., Хачко В.И. Критерии и стадии регенерации в планариях // Онтогенез. – 1990. – Т. 21. – С. 620-624.
8. Тирас Х.П. Морфогенез и способы регенерации планарий. // Журнал общей биологии. – 1986. – Т. 47 (1). – С. 103-109.

Vishnevskiy V.G., Makhonina M.M., Demtsun N.A., Temuryants N.A. Установка для прижизнево морфометрии регенерирующих планарий // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 4. – С. 18-21.

Для дослідження й аналізу здатності регенерації планарій була створена установка морфометричного аналізу, що складається з мікроскопа, відеокамери, плати відеозахоплення, персонального комп'ютера та пакетів прикладних програм. Використання морфометричного аналізу дозволяє автоматизувати отримання й обробку результатів цього типу експериментів.

Надалі передбачається визначити найбільш інформативні параметри з доступних й обґрунтувати їх застосування для вивчення біологічної дії гіпомангнітних полів.

Ключові слова: *Dugesia tigrina*, регенерація, прижизнева морфометрія.

Vishnevskiy V.G., Makhonina M.M., Demtsun N.A., Temuryants N.A. Equipment for lifetime morphometry planary regenerations // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 4. – P. 18-21.

For research and analysis of *Dugesia tigrina* reclaiming ability has been created complex for morphometrical analysis, consisting of microscope, videocamera, payment of videocapture, personal computer and packages of applied programs. Application morphometrical analysis allows to automate reception and processing results of this experiments type.

In the further it is supposed to define the most informative parameters from accessible and to prove their application for studying biological action hipomagnetic fields.

Keywords: *Dugesia tigrina*, regeneration, lifetime morphometry.

Поступила в редакцію 20.11.2007 г.