

# ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ МОДЕЛИРОВАНИЯ 3-Х МЕРНОЙ (3-D) СТРУКТУРЫ МИКРООБЪЕКТА ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ<sup>1</sup>

Т. А. Ходжер, Ю. П. Сапожникова, Н. Г. Мельник, И. В. Клименков, О. В. Коцарь

Лимнологический институт СО РАН, 664033, Россия, г. Иркутск, 33, а/я 278, ул. Улан-Баторская, 3, +7(3952) 42-26-95, jsap@lin.irk.ru

В данной статье производится попытка проанализировать перспективность применения методов моделирования 3-х мерной (3-D) структуры микрообъекта для биологических исследований. В качестве модельного объекта выбрана байкальская коловратка *Keratella cochlearis* – обычный обитатель пелагиали озера, смоделировано дорсальное и вентральное изображение коловратки и получена цифровая матрица поверхности ее панциря.

## Введение

Получение трехмерной структуры и формы микрообъекта существенно расширяет возможности биологических исследований. На сегодняшний же день распространен подход, при котором анализируется всего лишь плоская проекция исследуемого образца (световой микроскоп, трансмиссионный электронный микроскоп, сканирующий электронный микроскоп и т.п.). В соответствии с морфологическими признаками и пространственной формой организма строится систематика животных, определяется их видовая принадлежность [4, 8]. Возникает насущная проблема - внесение качественных изменений в работу исследователя, занимающегося изучением морфологических признаков с помощью сканирующей электронной микроскопии (морфологической вариабельности видов животных и т.п.) путем внедрения новых информационных технологий.

Коловратки являются одним из важных компонентов экосистемы пелагиали оз. Байкал [2]. Благодаря своим небольшим размерам (десятки-сотни микрон), повсеместному распространению, морфологическому разнообразию и четкой системе «линейных» морфологических параметров панциря [1], они являются хорошим модельным объектом для

выявления перспективности построения и анализа трехмерных изображений облика в ряде биологических исследований.

Так, в настоящее время обсуждается вопрос о степени космополитизма среди коловраток в связи с наличием «скрытых» (cryptic) видов [7, 9]. В связи с этим может оказаться перспективным выявление (и последующее измерение) видоспецифичных ключевых морфологических признаков не в общепринятых двухмерных, а в трехмерных изображениях. Это касается не только особенностей топографии (скульптуры панциря) взрослых особей этих микроскопических животных, но и покоящихся яиц коловраток в 3D-режиме.

Для коловраток отмечено многообразие форм тела у разных видов и для ряда видов (исключительное внутривидовое фенотипическое разнообразие) [8]. Например, два близкородственных эндемичных планктонных вида р. *Notholca* в пелагиали Байкала демонстрируют при сообитании две разные стратегии: *N. grandis* – многообразие форм, *N. intermedia* – стабильность облика внутри вида; ряд не эндемичных видов коловраток в Байкале также образует серии морфотипов, в частности виды р. *Keratella* [1]. Компьютерное моделирование на трехмерном образе коловраток поможет

<sup>1</sup> РФФИ, 07-04-00121-а,  
РФФИ, 08-04-90009

решать задачи экологической и эволюционной морфологии: выявлять принципы и причины формообразования по ключевым соотношениям пропорций тела или облика в 3D-режиме; появление морфотипов в тех или иных условиях среды, и соответственно - определять причины различий видовых адаптивных стратегий. Таким образом, такое компьютерное моделирование связано: 1) с функциональной морфологией; 2) с приспособительной изменчивостью и формированием биоразнообразия; 3) с поиском принципиально новых ключевых признаков, т. е. с систематикой; 4) с экологией и, возможно, с топологией и бионикой. Такие исследования могут быть направлены на автоматизацию морфологических измерений и компьютерную видовую диагностику природных образцов из проб по схеме, отработанной на компьютерной модели. Особая задача – создание компьютерных атласов трехмерных изображений планктонных животных Байкала.

Первый шаг работ подобного рода – создание компьютерной имитации особи определенного вида. В данной работе предпринята попытка создать такую имитацию на примере широко распространенной в пелагиали озера Байкал коловратки рода *Keratella* (*Keratella cochlearis cochlearis*).

### Материалы и методы

Для проведения исследования был выбран образец коловратки *Keratella cochlearis cochlearis* из пробы, взятой в октябре 1999 г. в Среднем Байкале на центральной станции разреза пр. Харауз – м. Красный Яр (из слоя воды 0-10 м). Длина панциря образца 130 мкм, ширина 55 мкм. Макет образца был создан с помощью программы 3-D моделирования. Степень схожести модели с реальным биологическим объектом определялась характером поставленной задачи: было необходимо получить так называемую «болванку» - макет объемного тела с высокой степенью достоверности 3-D формы образца.

Построение сложной структуры панциря биологического объекта в трехмерных графических редакторах является задачей весьма трудоемкой и сложно выполнимой. Поэтому нами была предпринята попытка воссоздать сложный рисунок скульптуры с помощью фотограмметрических методов [5]. В Лимнологическом институте реализован алгоритм моделирования трехмерных скульптур микрообъектов [6] с помощью стереопары биологического объекта, полученной на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) Philips 525M. Данный алгоритм реализован в виде программного комплекса, интегрирующего как специально разработанное программное обеспечение Program of Analysis 3D Model (PA-3DM) так и лицензионную цифровую фотограмметрическую систему Z-Space 1.2.

Для работы на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) была произведена гистологическая обработка образца по стандартной методике [3, 4]. Материал фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) 3 часа, затем промывали тем же буфером и дофиксировали 1%-ным раствором четырехоксида осмия на фосфатном буфере. Коловраток обезживали в ряду концентраций этанола. Напыленный золотом образец помещали в камеру микроскопа для получения стереопары с заданными углами (-5°, 0°, +5°).

### Результаты

В результате проведенной работы были получены: 3D-модель коловратки (Рис. 1)

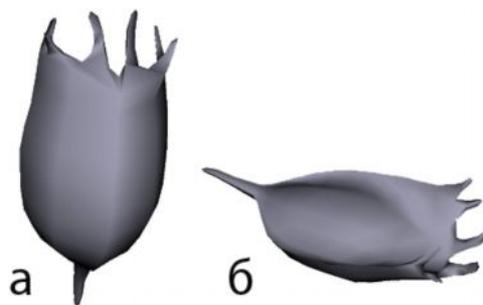


Рис.1. Смоделированное изображение коловратки *Keratella cochlearis cochlearis*: а) дорсально, б) вентрально.

и цифровая матрица рельефа поверхности коловратки *Keratella cochlearis cochlearis* (Рис. 2).

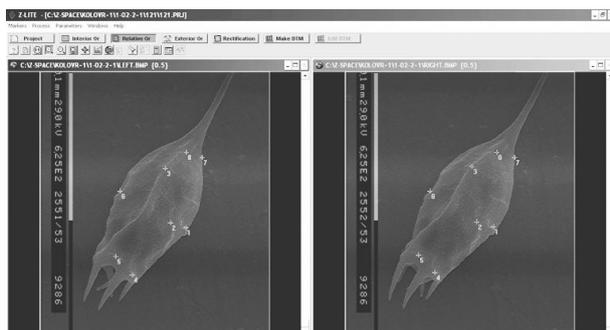


Рис.2. Интерфейс программной среды Z-Space с загруженной стереопарой коловратки.

Однако ожидаемой характерной скульптуры на спинной пластинке коловратки получить пока не удалось. Возможно, это отчасти связано с тем, что при подготовке образец претерпел некоторую деформацию из-за примененной методики высушивания образца в термошкафу, а не при критической точке под глубоким вакуумом и высоким давлением.

### Заключение

При условии доработки методики пробоподготовки и получения более реалистичной модели рельефной поверхности образца принципиально возможно построение цифровых 3-D моделей байкальских коловраток и в целом - микрообъектов в биологических исследованиях.

Ближайшая задача - создание на основе трехмерных моделей полученных образцов коллекции трехмерных изображений байкальских коловраток. Создание таковой коллекции является актуальной задачей, поскольку позволяет накапливать научную информацию для последующего морфологического сравнения с коловратками данных видов из других водоемов, определять их схожесть и принципиальные различия.

### Литература

1. Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 томах. – Новосибирск: Наука, 2001. – Т.1. – 832 с.
2. Атлас и определитель пелагиобионтов Байкала (с краткими очерками по экологии) / О.А. Тимошкин, Г.Ф. Мазепова, Н.Г. Мельник и др. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 1995. – 694 с. – (Справочники и определители по фауне и флоре озера Байкал).
3. Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю., Миронов В.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. СПб: Наука, 1994
4. Сапожникова Ю.П., Клименков И.В., Мельник Н.Г. Особенности морфологической поляризации сенсорных элементов слухового сакулярного эпителия у байкальских рогатковидных рыб (Cottoidei). // Сенсорные системы; 2007; 21(2):140-146.
5. Трубина Л.К. Стереомодели в изучении биологических объектов: монография. – Новосибирск: СГГА, 2006. – 136 с.
6. Ходжер Т.А., Бычков И.В., Тягун М.Л. Использование методов цифровой фотограмметрии для воссоздания рельефа чешуи байкальского омуля // Вычислительные технологии, 2005, Т.10., №4, С. 107–110.
7. Segers H. Global diversity of rotifers (Rotifera) in freshwater // Hydrobiologia. – 2008. – Vol. 595. – P. 49-59.
8. Wallace R.L., Snell T.W., Ricci C. & Nogrady T.. Rotifera. Volume 1: Biology, Ecology and Systematics (2nd edition). In: Dumont H.J.F., Guides to the identification of the microinvertebrates of the world // Kenobi Productions and Backhuys Publishers, Leiden, 2006. – 299 p.
9. Wallace R.L., Walsh E.J., Schroder Th., Rico-Martinez R., Rios-Arana J.V. Species composition and distribution of rotifers in Chihuahuan Desert waters of Mexico: is everything everywhere? // Verh. Internat. Verein. Limnol. – 2008. – Vol. 30, Part 1. – P. 73-76.