

УДК 159.9

ББК 88

П 84

*Все права защищены. Любое использование материалов данной книги полностью или частично без разрешения правообладателя запрещается*

Редакционная коллегия:

*Ю. И. Александров, В. М. Аллахвердов, К. И. Ананьева, В. А. Барabanщиков (отв. редактор), Н. А. Выскочил, А. Н. Гусев, А. А. Демидов (отв. секретарь), А. Л. Журавлев, Ю. М. Забродин, Ю. П. Зинченко, А. В. Карпов, Л. С. Куравский, С. Б. Малых, В. Н. Носуленко, В. И. Панов, А. О. Прохоров, В. В. Рубцов, В. В. Селиванов, А. А. Созинов, И. С. Уточкин, А. Н. Харитонов, Ю. Е. Шелепин*

**П 84 Процедуры и методы экспериментально-психологических исследований** / Отв. ред. В. А. Барabanщиков. – М.: Изд-во «Институт психологии РАН», 2016. – 950 с. (Интеграция академической и университетской психологии)

ISBN 978-5-9270-0339-6

УДК 159.9

ББК 88

Книга посвящена обсуждению широкого круга вопросов, касающихся перспектив разработки и реализации новых процедур и методов экспериментально-психологических исследований. Она содержит около 150 статей, с различных сторон раскрывающих данную тему. Обсуждаются вопросы, касающиеся роли и места эксперимента в развитии психологической науки, перспектив и границ применения экспериментальных и эмпирических методов в психологических исследованиях, возможности создания новых экспериментальных средств и процедур, междисциплинарных методов изучения психических явлений, формализации психологического познания, проблемы объяснения и интерпретации данных экспериментальных исследований и мн. др. Данный труд является содержательным продолжением серии научных работ, посвященных проблемам эксперимента в психологии, выпущенных за последние годы: «Экспериментальная психология в России: традиции и перспективы», 2010; «Современная экспериментальная психология», 2011; «Экспериментальный метод в структуре психологического знания», 2012; «Естественно-научный подход в современной психологии», 2014.



Книга издана при финансовой поддержке Российского гуманитарного  
научного фонда (РГНФ), проект № 16-06-14173

© ФГБУН Институт психологии Российской академии наук, 2016

ISBN 978-5-9270-0339-6

*Brunner P., Joshi S., Briskin S., Wolpaw J. R., Bischof H., Schalk G.* Does the “P300” Speller Depend on Eye Gaze? // *J. Neural Eng.* 2010. October. V. 7 (5). 056013.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2015. URL <http://www.r-project.org> (дата обращения: 19.07.2016).

*Vidal J. J.* Real-time detection of brain events in eeg. *IEEE Proc.* 1977. 65. P. 633–641.

*Wolpaw J. R., Birbaumer N., McFarland D. J., Pfurtscheller G., Vaughan T. M.* Brain-computer interfaces for communication and control // *Clin. Neurophysiol.* 2002. 113. P. 767–791.

*Wolpaw J. R., McFarland D. J., Neat G. W., Forneris C. A.* An eeg-based brain–computer interface for cursor control. *EEG a // Clin. Neurophysiol.* 1991. 78 (3). P. 252–259.

## **ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ КОММУНИКАЦИЙ У МИКРООРГАНИЗМОВ<sup>1</sup>**

*Т. Н. Греченко, А. Н. Харитонов, А. В. Жегалло*

Институт психологии РАН, Москва  
*grecht@mail.ru, ankhome47@list.ru*

Кооперация и конкуренция являются сложными социальными взаимодействиями, играющими критическую роль в биологических коммуникациях. Кооперативное поведение часто приводит к повышению общей выживаемости популяции через такие процессы как разделение труда и производство общих благ. В то же время индивидуумы в сообществе конкурируют друг с другом за ограниченные ресурсы, например, за питательные вещества. Мы исследуем бактериальные и другие клеточные сообщества, чтобы узнать, как конфликты между противостоящими социальными поведением кооперации и конкуренции могут быть разрешены, чтобы сообщество получило преимущества в борьбе за выживание.

Бактериальное сообщество – это коллекция бактериальных клеток, принадлежащих как к одному и тому же (колонии, пленки), так и к разным видам (бактериальные маты). Это обычные формы, которые создается во взаимодействии с условиями среды – такими, например, как ограниченные пищевые ресурсы. Так как бактериальные сообщества растут, обеспечение питанием внутренних клеток становится ограниченным, что связано с увеличением потребностей многочисленных клеток на периферии пленки (Liu et al., 2015). Ограничение оказавшихся внутри клеток в доступе к ресурсам может быть разрушительным для выживания всего сообщества в случае внешних проблем. Это определяет конфликт между противоположными требованиями роста пленки и сохранением жизнеспособности защищенных клеток. Идентификация возможных механизмов, которые гарантируют выживание внутренних клеток, имеет фундаментальное значение для понимания общения между членами сообщества. Бактерии проявляют замечательное социальное поведение во многом подобное тому, которое демонстрируют насекомые, позвоночные и человек (Velicer et al.,

---

1 Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (проект № 14-28-00229), ФГБУН Институт психологии РАН.

2003; Олескин, 2009). Микроорганизмы обмениваются друг с другом информацией. Для этого они используют разнообразные каналы связи и отвечают на химические и другие сигналы, исходящие из окружающей среды и от других членов сообщества различными способами (Duan et al., 2009; Греченко и др., 2013; Scholkmann et al., 2013).

При изучении способов взаимодействия микроорганизмов внимание исследователей сфокусировано на посредниках химической сигнализации, играющей ключевую роль в явлении «чувства кворума». Чувство кворума – способность некоторых микроорганизмов общаться и координировать своё поведение за счёт секреции молекул определенных химических веществ, особенность некоторых процессов реализовываться только при наличии достаточной плотности микроорганизмов (кворума), что обеспечивает координированное коллективное поведение популяции этих существ. Чувство кворума управляет многими процессами в мире бактерий, например, их размножением при заражении организма, нападением на его клетки. Получая от собратьев сигнальные молекулы в количестве, превышающем определённый порог, бактерия запускает транскрипцию ряда генов и становится активной. В свою очередь внешняя среда, в которой находится сообщество, изменяет микроокружение индивидуальных клеток, результатом является реализация поведения, направленного на сохранение данной популяции микроорганизмов (например, биолюминисценции у морских бактерий, споруляции у бацилл и актиномицетов, стимуляции роста стрептококков, синтеза антибиотиков и др.). Чувство кворума описано не только между клетками одного и того же вида, но также между клетками разных видов и даже между бактериями и высшими животными. Термин «чувство кворума» применим и для описания поведения других организмов: насекомых и даже позвоночных. Например, оно обнаружено у рыб (Makris et al., 2006), у пчел (Visscher et al., 2006), у муравьев (Mallon et al., 2001). Суть остается неизменной: *при достижении определенной плотности сообщества поведение его членов изменяется*. Распространенность чувства кворума как средства кооперации и коммуникации связывается с важнейшими приобретениями эволюции – альтруизмом и эгоизмом (Diggle et al., 2007).

Роль химических взаимодействий в клеточных сообществах изучается весьма продуктивно: так, установлено, что первичные и вторичные метаболиты вносят вклад в свойства связей между организмами, показана функция гомосерина как посредника в общении бактерий при формировании плодового тела – формы социальной жизни некоторых микроорганизмов. Физические факторы взаимодействия между клетками исследованы мало. Однако физические способы коммуникации могут быть широко распространены в природе. Накопление экспериментальных данных поддерживает предположение о том, что микроорганизмы могут генерировать сигналы физической природы и отвечать на них (Minc, Chang, 2010). Это предположение основывается на экспериментальных данных о микробных эмиссиях и ответах на три вида физических сигналов – звуковых волн, электромагнитного излучения и электрического тока (Олескин, 2009; Reguera, 2011; Kučera, Cifra; 2013; Греченко и др., 2013; Masi et al., 2015). Бактерии существуют в сообществах и координируют свое поведение, направленное на выполнение специфических функций, применяя для общения сигналы раз-

личной природы. Создание плодового тела у миксобактерий и миксомицетов является примером целенаправленного поведения, в котором реализуются задачи кооперации и конкуренции. Роль химической сигнализации в инициации создания плодового тела рассмотрена во многих современных экспериментах, но каково участие физических каналов коммуникации, в частности, электрического? Есть ли различие в формах взаимодействия индивидумов – участников создания сообщества в виде плодового тела и свободно живущих, не входящих в «коммуны»?

Нами были выполнены опыты, которые показали участие электрических процессов в информационном обмене между участниками сообщества и отдельно живущими микроорганизмами.

## Методика

Опыты выполнены на плодовом теле миксомицетов *Lycogala epidendrum* и отдельных дрожжевых клетках *Saccharomyces cerevisiae*. В опытах на *Saccharomyces cerevisiae* использовалась культура «диких» дрожжей, помещенных в водную среду температурой 22–25 °С. Регистрация электрической активности производилась стеклянными микроэлектродами, заполненными 1 М KCl. Взятые из природной среды миксомицеты исследовались в лабораторных условиях при той же температуре воздуха.

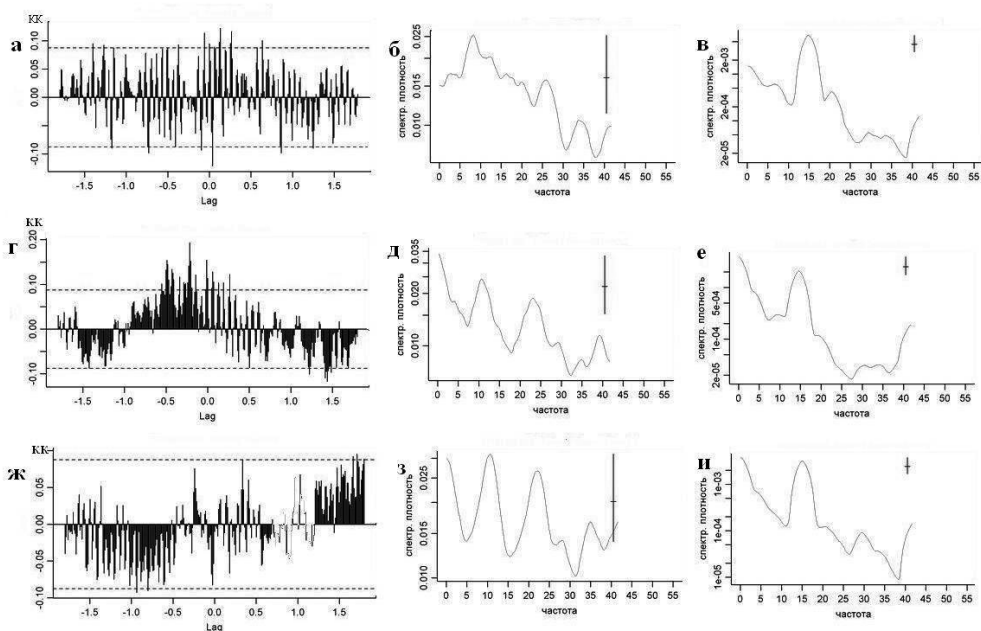
**Статистический анализ.** Фрагменты записи электрической активности оцифровывались и подвергались спектральному анализу в среде статистической обработки R 3.0 (R Development Core Team, 2011). Спектральный анализ выполнялся для исходной записи путем построения периодограммы с использованием быстрого преобразования Фурье (Shumway and Stoffer, 2011), 95-процентные доверительные интервалы мощности спектра вычислялись на основе аппроксимации  $\chi^2$  распределением (Bloomfield, 2000). Наличие электрической связи между парой локусов биоупленки при их одновременной регистрации выявлялась при помощи кросс-корреляционного анализа. Длительность оцифрованных участков 3 с.

## Результаты

Пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* – одноклеточные эукариоты, грибы. Размеры дрожжевых клеток обычно составляют 3–7 мкм в диаметре. У дрожжей можно выделить высокочастотный компонент до 28 Гц, и низкочастотные компоненты около 0,1 Гц (Греченко и др., 2013). На электрические процессы дрожжевых клеток влияют такие факторы внешней среды как температура, состав жидкостной среды в экспериментальной камере, и длительность нахождения в растворе определенного состава (Liu et al, 2015).

В опытах проводилась регистрация одновременно двумя электродами от разных дрожжевых клеток, которые не были включены в сообщество. Зарегистрированная электрическая активность подвергалась статистической обработке. Ее анализ происходил на основе показателей кросс-коррелограммы и периодограмм. Кросс-корреляционный анализ дает возможность количественно оха-

рактизовать степень сходства электрических процессов и их взаимосвязи, выявить общие компоненты двух процессов и определить их временные соотношения по сдвигу максимума кросс-корреляционной функции. Результаты показали, что между клетками *Saccharomyces cerevisiae*, ведущими независимое существование, отсутствует функциональная связь (рисунок 1а, г, ж). Кросс-коррелограммы демонстрируют наличие ритмических процессов у обеих дрожжевых клеток, но они не синхронизируются, работают в автономных режимах. Интересно, что эта независимость и «функциональная слепота» наблюдается только в первые часы эксперимента. Длительная регистрация событий, которые развиваются в течение нескольких часов, дает возможность констатировать постепенное становление «диалога». Локализация преобладающих частот в области 10–15 Гц и каждая клетка имеет свой оптимальный набор осцилляторов, что демонстрируют соответствующие периодограммы (рисунок 1б, в, д, е, з, и).

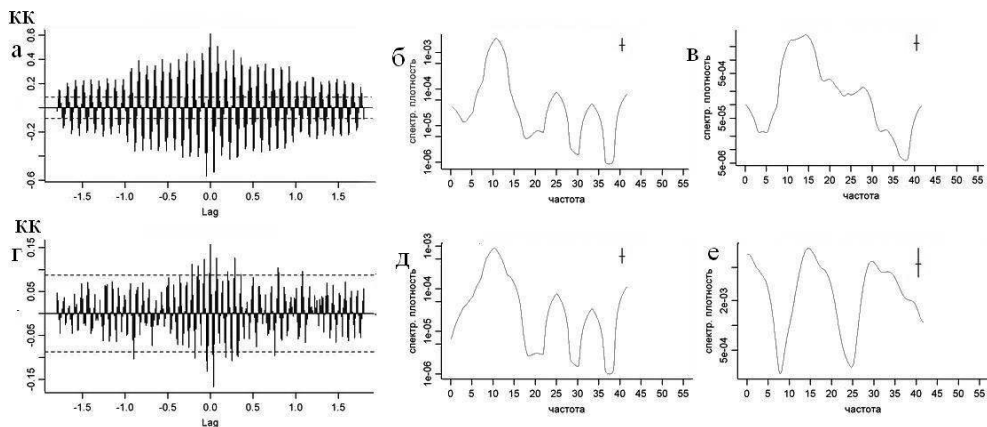


**Рис. 1.** Электрическая активность, одновременно зарегистрированная от двух дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*: а, г, ж – графики коэффициентов кросскорреляции. По оси абсцисс – запаздывание в секундах, по оси ординат – значение коэффициента кросскорреляции; б, в, д, е, з, и – периодограммы ритмической активности. По оси абсцисс частота в Гц, по оси ординат спектральная плотность в условных единицах, горизонтальная черта – полоса пропускания, вертикальная черта – 95% доверительный интервал

Регистрация электрической активности одновременно от двух дрожжевых клеток показала их функциональную независимость.

Иные результаты получены в опытах на миксомицетах, с которыми были проведены опыты на стадии формирования плодового тела. Миксомицеты

(слизевики) – группа организмов, входящих в состав царства *Amoebozoa* (группа простейших, включающая в себя большинство одноклеточных, обычно передвигающихся при помощи образования ложноножек). Миксомицеты представляют собой отдельные амебообразные клетки, которые на определённой стадии жизненного цикла собираются вместе и образуют псевдоплазмодий или настоящий плазмодий, представляющий собой массу слизи, в которую погружены клетки. Плазмодий как единое целое также способен к активному амебоидному движению. Эта стадия завершается образованием грибоподобных плодовых тел, внутри которых клетки переходят в покоящееся состояние и образуют споры.



**Рис. 2.** Анализ электрической активности миксомицетов *Lycogala epidendrum*, зарегистрированной одновременно двумя микроэлектродами с поверхностного слоя плодового тела: а, г – графики коэффициентов кросскорреляции: б, в, д, е – периодограммы ритмической активности (см. обозначения к рисунку 1)

Миксомицеты – организмы, решающие при помощи кооперации важнейшую для сообщества проблему выживания. Регистрация электрической активности проводилась двумя электродами с поверхностного слоя плазмодия – аналогично описанному выше способу, было сделано несколько проб. Регистрация такого объективного показателя жизнедеятельности миксомицетов как осцилляторная электрическая активность демонстрирует полную синхронизацию их метаболических процессов, влияющих на формирование и использование ионных каналов (рисунков 2а, г). Кросс-коррелогаммы отражают высокую степень сходства активностей, одновременно зарегистрированных от двух поверхностных локусов, причем это сходство обнаружено для всех зарегистрированных пар. Таким образом, успешное решение социально значимой задачи базируется на высоком сходстве электрических процессов, которые являются предметом изучения в проведенных опытах.

## Обсуждение

Бактерии существуют в сообществах и часто координируют свое поведение, чтобы выполнить специфические функции. Обмен сигналами у бактерий неод-

нократно становился основой экспериментов, таких как синхронизирующиеся бактериальные часы и исследование коллективных решений, основанных, например, на чувстве кворума, которое некоторые организмы используют для изменения поведения, демонстрируя наличие «коллективного разума» (Ben-Jacob, 2009). Чувство кворума управляет многими процессами в мире бактерий, их размножением при заражении организма, нападением на его клетки. Получая от членов сообщества сигнальные молекулы, бактерия запускает транскрипцию ряда генов и становится активной. Проведенные опыты, в которых в качестве показателя деятельности микроорганизмов использована осцилляторная электрическая активность, показали, что электрический канал является необходимым для коммуникации между индивидами сообщества. Значение инициации или же угнетения процессов, ответственных за формирование ионных каналов, существенных для обмена ионами между внутренним содержимым клетки и внешней средой, неоднократно рассмотрено в нейрофизиологических экспериментах. Например, в опытах на *Bacillus subtilis* найдено, что формирование микробных сообществ стимулируется молекулами сурфактина (нерибосомального пептида), который отвечает за инициацию потока калия, что в итоге приводит к многоклеточности. Естественные вещества, которые не приводят к потоку калия, не вызывают этого эффекта (Lopez et al., 2009). Проведенные опыты на свободноживущих дрожжевых клетках и миксомицетах на стадии формирования плодового тела показали, что существуют кардинальные различия в синхронизации ритмических процессов, генерируемых популяциями этих существ на разных стадиях социальности. Миксомицеты, сообща решающие проблемы кооперации, создавая плодовое тело, согласуют свои действия при помощи синхронизированных осцилляций, выраженных на языке электрических процессов. Свободноживущие дрожжевые клетки, еще не вовлеченные в создание плотного сообщества, демонстрируют функциональную независимость друг от друга, что находит отражение в отсутствии синхронизированных электрических осцилляций, так как им не нужно совершать координированные действия. Однако развитие клеточного сообщества во времени сопровождается становлением коммуникации между отдельными клетками.

## Литература

- Греченко Т. Н., Жегалло А. В., Харитонов А. Н. Частотный анализ электрической активности микроорганизмов // Эволюционная и сравнительная психология в России: традиции и перспективы. М.: Изд-во «Институт психологии РАН», 2013. С. 201–207.
- Олескин А. В. Биосоциальность одноклеточных (на материале исследований прокариот) // Журнал общей биологии. 2009. Т. 70. № 3. С. 225–238.
- Ben-Jacob E. Learning from bacteria about natural information processing // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2009. Oct. № 1178. P. 78–90.
- Bloomfield P. Fourier analysis of time series. New York: John Wiley and Sons, Inc., 2000
- Diggle S. P., Gardner A., West S. A., Griffin A. S. Evolutionary theory of bacterial quorum sensing: when is a signal not a signal? // Phil. Trans. R. Soc. B. 2007. V. 362. P. 1241–1250.
- Duan K., Sibley C. D., Davidson C. J., Surette M. G. Chemical interactions between organisms in microbial communities // Contrib. Microbiol. 2009. V. 16. P. 1–17.

- Kučera O., Cifra M.* Cell-to-cell signaling through light: just a ghost of chance? // *Cell Commun. Signal.* 2013. V. 11. P. 87–95.
- Liu Jintao, Prindle1 Arthur, Humphries1 J., Gabalda-Sagarra M., Munehiro A., Dong-yeon D. Lee, San Ly, Jordi Garcia-Ojalvo, Gürol M. S.* Metabolic codependence gives rise to collective oscillations within biofilms // *Nature.* 2015. July 30. V. 523 (7562). P. 550–554.
- Lopez D., Fischbach M. A., Chuc F., Losick R., Koltera R.* Structurally diverse natural products that cause potassium leakage trigger multicellularity in *Bacillus subtilis* // *PNAS.* 2009. V. 106. №6. P. 1280–1285.
- Makris N. C., Purnima R., Symonds D. T., Jagannathan S., Sunwoong L., Redwood W.* Nero Fish Population and Behavior Revealed by Instantaneous Continental Shelf-Scale Imaging // *Science.* 2006. V. 311. №5761. P. 660–663.
- Mallon E., Pratt S., Franks N.* Individual and collective decision-making during nest site selection by the ant *Leptothorax albipennis* // *Behavioral Ecology and Sociobiology.* 2001. V. 50. №4. P. 352–359.
- Masi E., Ciszak M., Santopolo L., Frascella A., Giovannetti L., Marchi E., Viti C., Mancuso S.* Electrical spiking in bacterial biofilms // *J. R. Soc. Interface.* 2015. Jan 6. V. 12 (102).
- Minc N. S., Chang F.* Electrical control of cell polarization in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* // *Curr. Biol.* 2010. V. 20. №8. P. 710–716.
- R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing // R Foundation for Statistical Computing. Vienna, 2011.
- Reguera G.* When microbial conversations get physical // *Trends Microbiol.* 2011. V. 19. №3. P. 105–113.
- Scholkmann F., Fels D., Cifra M.* Non-chemical and non-contact cell-to-cell communication: a short review // *Am. J. Transl. Res.* 2013. V. 5. №6. P. 586–593.
- Shumway R. H., Stoffer D. S.* Time series analysis and its applications // *Springer Texts in Statistics,* 2011.
- Velicer G. J., Yu Y. T. N.* Evolution of novel cooperative swarming in the bacterium *Myxococcus xanthus* // *Nature.* 2003. №425. P. 75–78.
- Visscher K. P., Thomas S., Passino K.* Group Decision Making in Honey Bee Swarms. When 10000 bees go house hunting, how do they cooperatively choose their new nesting site? // *American Scientist.* 2006. V. 94. №3. P. 220.

## СЛОЖНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ СООБЩЕСТВ

В. К. Орлеанский<sup>1</sup>, А. Н. Харитонов<sup>2</sup>, Т. Н. Греченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт микробиологии РАН

<sup>2</sup> Институт психологии РАН  
 ankhome47@list.ru

До недавнего времени психологическая наука основное внимание уделяла изучению психики эволюционно высокоразвитых биологических организмов – человека, у которого есть нервная система, включая развитый головной мозг, либо животных, в основном, также эволюционно продвинутых. Большинство исследователей принималось, что организмы, не имеющие головного мозга и нервной системы, не имеют и психики. Однако ряд авторов указывает на ис-