

УДК 282.26:628.394+577.1

Н.А. Айздайчер<sup>1</sup>, О.Б. Гостюхина<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17;

<sup>2</sup> Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр,  
690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4

### СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ СОЛЕННОСТИ И ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ БИХРОМАТОМ КАЛИЯ НА АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАТОМОВОЙ БЕНТОСНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *ATTHEYA USSURENSIS* В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Изучено совместное действие двух стресс-факторов (понижения солености и наличия бихромата калия в среде) на адаптивные способности бентосной водоросли *Attheya ussurensis*. Установлено, что при солености 20 ‰ и в присутствии в среде 0,01 мг/л бихромата калия темп роста численности клеток был как и в чистой среде (32 ‰, контроль). В этом случае морфология клеток не изменялась и соответствовала классическому описанию. Увеличение концентрации токсиканта в среде до 0,10 мг/л вызывало некоторое понижение скорости роста, и в конце опыта численность клеток составляла 86 % от контроля. Негативное действие бихромата калия связано с незначительными морфологическими отклонениями, которые касались удлинения клеток в направлении первальварной оси и зернистости хлоропластов. После второго высева при низкой концентрации в динамике численности не зафиксировано отклонений, а при увеличении дозы токсиканта до 0,10 мг/л к концу опыта клетки адаптировались и их численность существенно отличалась от контроля. При солености 16 ‰ и содержании токсиканта в среде в концентрации 0,01 мг/л отставание численности клеток отмечали на четвертые сутки, и тенденция к ее уменьшению сохранялась до конца опыта. Негативное действие этих факторов отражалось и на морфологии клеток. Повышение дозы токсиканта в среде до 0,10 мг/л приводило к более существенному снижению численности клеток и негативным морфологическим изменениям. Повторный высев клеток в те же условия выявил отсутствие адаптации водоросли к совместному действию стресс-факторов.

**Ключевые слова:** бентосные микроводоросли, численность клеток, морфологические признаки, *Attheya ussurensis*, бихромат калия.

**Aizdaicher N.A., Gostyukhina O.B.** Combined effect of salinity and pollution with potassium dichromate on adaptive capacity of diatom benthic microalga *Attheya ussurensis* in laboratory environment // Izv. TINRO. — 2015. — Vol. 182. — P. 183–189.

Combined effect of two stress factors (decreasing of salinity and presence of potassium dichromate in the medium) on adaptive capacity of benthic alga *Attheya ussurensis* is investigated. The salinity decreasing to 20 ‰ combined with 0.01 mg/L of  $K_2Cr_2O_7$  in the medium didn't cause any change of the cells growth in number, as compared with uncontaminated en-

\* Айздайчер Нина Александровна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, e-mail: inmarbio@mail.primorye.ru; Гостюхина Ольга Борисовна, научный сотрудник, e-mail: gostyuhina@tinro.ru.

Aizdaicher Nina A., Ph.D., assistant professor, senior researcher, e-mail: inmarbio@mail.primorye.ru; Gostyukhina Olga B., researcher, e-mail: gostyuhina@tinro.ru.

vironment (32 ‰, control), or changes in their morphology. The same salinity decreasing with  $K_2Cr_2O_7$  concentration 0.10 mg/L caused a lowering of the cells growth to 86 % of the control value by the end of experiment that was accompanied by minor morphological abnormalities, as cells elongation in perivalvar axis direction and granulation of chloroplasts. In the second seeding, there was no change of the cells growth again under the low concentration of  $K_2Cr_2O_7$  and their adaptation to the concentration 0.10 mg/L was observed: in the end of experiment the cells number had no significant difference from the control one. The salinity decreasing to 16 ‰ with the toxicant concentration 0.01 mg/L caused a lowering of the cells growth in the 4<sup>th</sup> day that persisted until the end of experiment and some insignificant changes of their morphology. The same salinity decreasing with the toxicant concentration 0.10 mg/L caused a significant drop of the cells number with strong negative morphological changes; moreover, the alga wasn't able to adapt to this combined stress after re-seeding.

**Key words:** benthic microalgae, cells number, morphological characteristic, *Attheya ussurensis*, potassium dichromate.

## Введение

Бентосные микроводоросли, представленные в прибрежной зоне огромным количеством видов и обитающие как на био-, так и на искусственных субстратах, вносят существенный вклад в кислородный баланс и первичную продукцию донных сообществ морского шельфа. Водоросли — один из главных поставщиков метаболитов в морскую воду, способных выделять в окружающую среду до 50 % синтезированного ими органического вещества (Хайлов, 1971). Кроме того, они служат кормовой базой для многих взрослых гидробионтов и оседающей молодежи. Основу микробентоса составляют диатомовые, к которым относится водоросль *Attheya ussurensis*, встречающаяся в значительных количествах в весенне-летний период в прибрежной зоне зал. Петра Великого Японского моря (Stonik et al., 2006). Как и другие организмы, микроводоросли находятся под влиянием различных природных и антропогенных факторов, в число которых входит изменение солености морской воды, особенно в летний период (Степанов, 1976; Лучин и др., 2005), и загрязнение среды ионами металлов, в том числе солью шестивалентного хрома (Ковековдова, Симоконь, 2004; Нигматулина, 2007). Среди соединений хрома он является наиболее токсичным и имеет резко выраженный негативный эффект (Anderson et al., 1972; Алексеев, 1987). Неблагоприятное сочетание факторов среды обитания или их резкое колебание могут привести к изменению морфологии, темпов роста клеток микроводорослей, а иногда и к их гибели.

Способность растений повышать устойчивость к какому-либо фактору в результате адаптации к фактору иной природы достаточно полно исследована (Волков и др., 2006). Вопрос о том, сопровождается ли адаптация микроводорослей к изменению солености увеличением толерантности к тяжелым металлам, в частности к бихромату калия, в настоящее время остается открытым, а механизмы устойчивости водорослей к совместному действию двух факторов не исследованы. Понимание механизмов адаптации организмов к комбинированному действию факторов крайне важно с теоретической точки зрения для понимания общих механизмов устойчивости к различным экстремальным воздействиям.

В предыдущих работах были определены значения солености морской воды и концентрации в среде соли шестивалентного хрома, к которым *A. ussurensis* способна адаптироваться. Критерием неблагоприятного воздействия этих факторов служили нарушения темпов роста и морфологические изменения клеток (Айздайчер, 2013; Айздайчер, Гостюхина, 2014).

Данная работа посвящена изучению совместного действия солености воды и загрязнения среды солью шестивалентного хрома (бихромата калия) на адаптивные возможности бентосной водоросли *A. ussurensis* в лабораторных условиях.

## Материалы и методы

В работе использовали альгологически чистую культуру бентосной водоросли *A. ussurensis* Stonik, Orlova, Crawford из коллекции Института биологии моря им.

А.В. Жирмунского ДВО РАН (Орлова и др., 2011). Лабораторную культуру выращивали на среде *f* (Guillard, 1975) в конических колбах Эрленмейера при температуре  $20 \pm 2$  °С и освещении люминесцентными лампами с 12-часовым свето-темновым периодом при освещенности 3500 лк. Питательную среду готовили на основе природной стерилизованной морской воды соленостью 32 ‰. Численность клеток водоросли оценивали под микроскопом Janamed 2 в счетной камере типа Ножотта объемом 0,044 мл.

В эксперименте исследовали влияние совместного действия пониженной солености морской воды и загрязнения среды солью шестивалентного хрома в виде международного стандартного токсиканта  $K_2Cr_2O_7$  (ИСО 6341-82; Wang, 1987) в концентрациях 0,01 и 0,10 мг/л, что соответственно в 0,5 раза меньше и в 5,0 раза больше ПДК. ПДК  $Cr^{+6}$  по токсикологическим показателям составляет 0,02 мг/л (Обобщающий перечень ..., 1990\*). Токсикант вносили в культуральную среду однократно в день постановки опыта. С учетом того, что шестивалентный хром более стабилен, чем другие соединения металлов, он широко применяется как модельный «эталонный» токсикант для контроля погрешности методики токсикологического анализа (Travieso et al., 1999; Жмур, Орлова, 2001; Кузьмич и др., 2002). В опытах использовали соленость 20 и 16 ‰, где 20 ‰ — нижняя граница толерантного диапазона и 16 ‰ — соленость, к которой водоросли могли полностью адаптироваться (Айздайчер, 2013). Соленость 20 и 16 ‰ получали разведением полносоленой морской воды дистиллированной и измеряли на электросолемере ГМ-65М.

За основу экспериментов взяли методы, изложенные в работах С.Е. Дятлова и А.Г. Петросян (2001) и В.Ю. Прохоцкой с соавторами (2003), модифицированные в связи с особенностями биологии *A. ussurensis*. Исследование проведено в два этапа. На первом этапе культуру для засева использовали в экспоненциальной стадии роста. В колбы вместимостью 250 мл помещали 100 мл питательной среды, приготовленной с необходимой соленостью и с разными концентрациями бихромата калия (0,01 и 0,10 мг/л), который добавляли одноразово в начале опыта. Инокулят вносили с таким расчетом, чтобы стартовая концентрация составляла 4300 клеток в 1 мл. Пробы для подсчета числа клеток в единице объема отбирали на 2, 4, 7 и 10-е сутки.

На втором этапе водоросли, экспонируемые в разных условиях, через 10 суток вновь переносили в соответствующие условия. Для этого их осаждали центрифугированием при 5000 оборотов в минуту, используя центрифугу ОПН-8. Супернатант сливали, клетки отмывали стерилизованной морской водой соответствующей солености. Операцию центрифугирования повторяли, супернатант вновь сливали, клетки ресуспендировали и вносили в среду как описано в первом варианте опытов. Колбы с водорослями экспонировали в стандартных условиях в течение 10 суток с отбором проб также на 2, 4, 7 и 10-й день. Контролем во всех случаях служила суспензия водорослей, выращенных в среде соленостью 32 ‰ без токсиканта. Все эксперименты, представленные в работе, проведены в трех повторностях. Скорость роста водорослей рассчитывали по соответствующей формуле (Brown et al., 1998)

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t_t - t_0},$$

где  $\ln N_t$  и  $\ln N_0$  — логарифмы численности клеток к моменту времени  $t_t$  и  $t_0$ ;  $t$  — время (сутки).

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Excel.

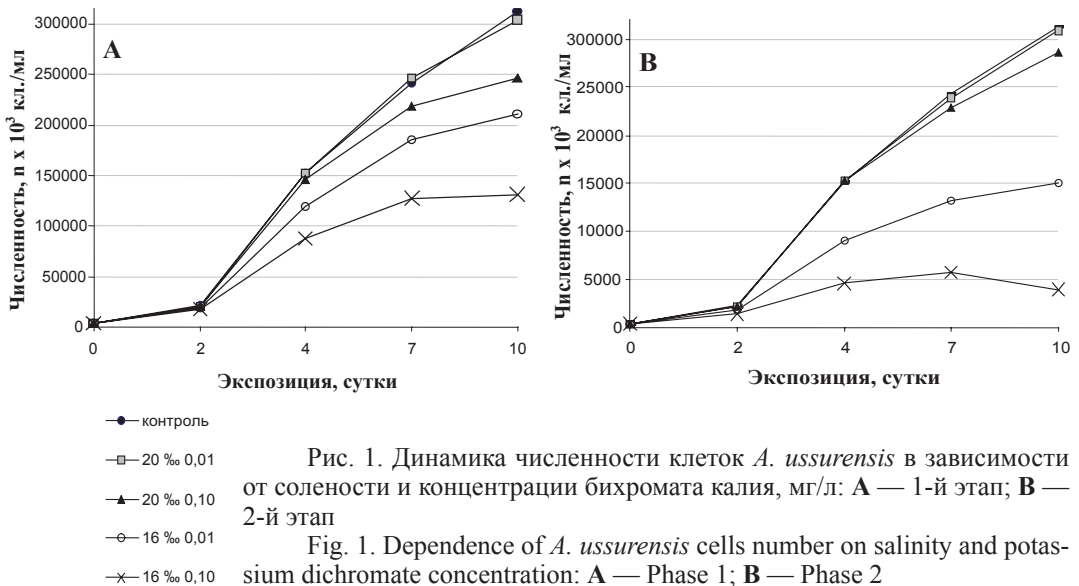
### Результаты и их обсуждение

Как свидетельствуют полученные на первом этапе данные, при добавлении бихромата калия в концентрации 0,01 мг/л в среду соленостью 20 ‰ численность клеток и скорость роста в течение опыта не отличались от контроля (рис. 1, А, см. таблицу). Морфология клеток соответствовала классическому описанию (Stonik et al., 2006) (рис.

---

\* Обобщающий перечень предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. М.: Мин-во рыб. хоз-ва СССР, Главрыбвод, 1990. 20 с.

2, А). При повышении концентрации токсиканта до 0,10 мг/л в течение четырех суток численность клеток и скорость роста также не претерпевали изменений. С увеличением времени контакта клеток водорослей с токсикантом отмечали снижение их численности до 90 %, а к концу опыта ингибирование возрастало и количество клеток составляло 78 %. Кроме того, нарушалась их морфология: в хлоропластах появлялась зернистость и в 20 % клеток зафиксирована ретракция цитоплазмы. Ранее было показано, что в рамках толерантного диапазона (20 %) рост водоросли не отличался от такового в контроле при солености 32 ‰ (Айздайчер, 2013), а наличие в среде токсиканта вызывало ингибирование роста и нарушение морфологии клеток (рис. 2, В).



Динамика скорости роста *Attheya ussurensis* в разных условиях культивирования, делений/сутки

Dynamics of *Attheya ussurensis* growth under certain conditions of culturing cell divisions per day

Экспозиция, сутки	Контроль	Соленость, 16 ‰		Соленость, 20 ‰	
		0,01 мг/л $K_2Cr_2O_7$	0,10 мг/л $K_2Cr_2O_7$	0,01 мг/л $K_2Cr_2O_7$	0,10 мг/л $K_2Cr_2O_7$
0	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
2	$\frac{0,80}{0,80}$	$\frac{0,75}{0,70}$	$\frac{0,70}{0,55}$	$\frac{0,80}{0,80}$	$\frac{0,80}{0,80}$
4	$\frac{0,87}{0,87}$	$\frac{0,82}{0,75}$	$\frac{0,75}{0,57}$	$\frac{0,87}{0,87}$	$\frac{0,87}{0,87}$
7	$\frac{0,57}{0,57}$	$\frac{0,53}{0,48}$	$\frac{0,47}{0,35}$	$\frac{0,57}{0,57}$	$\frac{0,56}{0,56}$
10	$\frac{0,42}{0,42}$	$\frac{0,38}{0,35}$	$\frac{0,34}{0,22}$	$\frac{0,42}{0,42}$	$\frac{0,40}{0,42}$

Примечание. В числителе даны значения скорости роста после первого пересева (1-й этап), в знаменателе — после второго пересева (2-й этап).

Данные, полученные при действии двух стрессоров (соленость 16 ‰ и концентрация бихромата калия 0,01 мг/л), показали, что через четверо суток контакта численность клеток и скорость роста существенно уменьшились по сравнению с контролем (см. рис. 1, А, таблицу). Тенденция к уменьшению этих показателей сохранялась до конца опыта. В суспензии наблюдали агрегаты из клеток и усиление выделения слизи, что выражалось в прилипанию клеток ко дну колбы. Подобное явление отмечали при ухудшении условий развития микроводорослей как в природной среде, так и в лабораторных опытах с другими видами (Хайлов, 1971; Новикова, Паршикова, 2008).

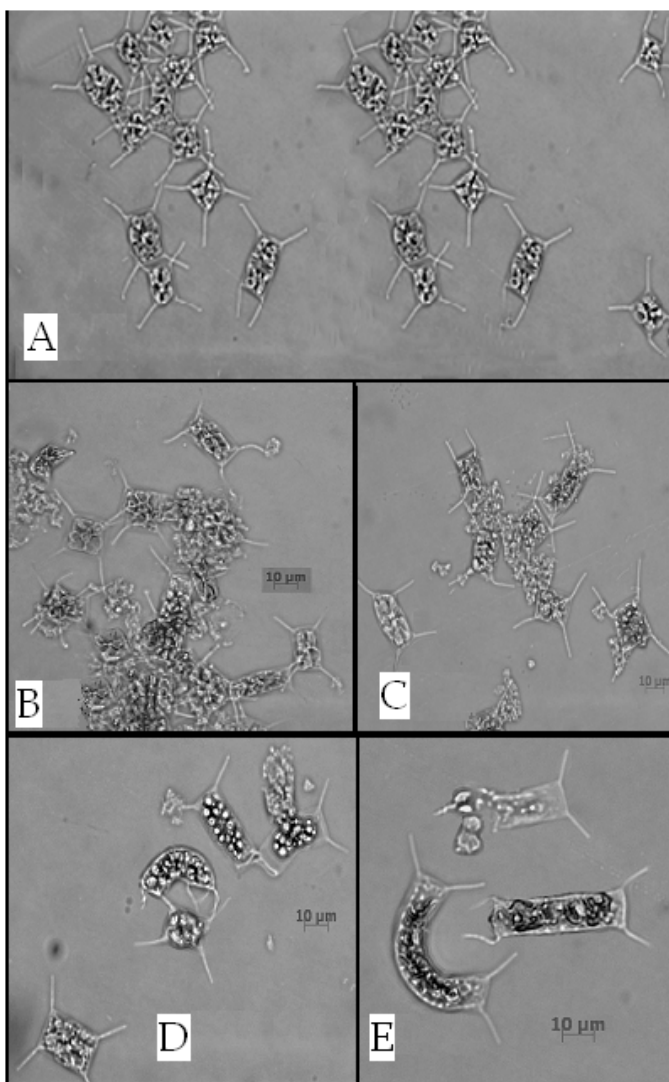
Рис. 2. Внешний вид клеток *A. ussurensis* в контроле (А) и при солености 20 ‰ с добавкой бихромата калия в концентрации 0,01 мг/л (В) и 0,10 мг/л (С); при солености 16 ‰ с добавкой бихромата калия в концентрации 0,01 мг/л (D) и 0,10 мг/л (E)

Fig. 2. Appearance of *A. ussurensis* cells in control conditions (A), under salinity 20 ‰,  $K_2Cr_2O_7$  concentration 0.01 mg/L (B), under salinity 20 ‰,  $K_2Cr_2O_7$  concentration 0.10 mg/L (C), under salinity 16 ‰,  $K_2Cr_2O_7$  concentration 0.01 mg/L (D), and under salinity 16 ‰,  $K_2Cr_2O_7$  concentration 0.10 mg/L (E)

Вполне вероятно, что это может служить сигналом для включения механизмов, повышающих устойчивость организмов к токсиканту. Несмотря на то что концентрация 0,01 мг/л была ниже ПДК, через четверо суток зафиксированы морфологические изменения клеток водоросли: их высота увеличивалась в направлении перивальварной оси, цитоплазма уплотнялась и в ней появлялись зерна в виде липидных гранул (рис. 2, С).

При более продолжительном контакте водорослей с токсикантом продолжала уменьшаться скорость роста, и к концу опыта она составляла 0,38 деления в сутки (см. таблицу). При содержании токсиканта в среде с 0,10 мг/л бихромата калия негативное действие факторов становилось более существенным, что отражалось на численности клеток, которая через четверо суток составляла 58 % от контроля, а к концу опыта — 42 % (рис. 1, А, см. таблицу). Привлекает внимание факт, что длительный (10 суток) контакт клеток с токсикантом при пониженной солености приводил к отмиранию части клеток и торможению процесса деления, следствием которого являлось увеличение высоты клеток. Возможно, это связано с нарушением проницаемости клеточных оболочек под действием бихромата калия. Известно, что действие тяжелых металлов на живую клетку определяется изменением катионного резерва клеточной оболочки, взаимодействием с цитоплазмой и ее структурными компонентами (Дмитриева и др., 2002; Брянцева, 2005).

Для оценки степени адаптации клеток, росших при разной степени опреснения и разной концентрации токсиканта, их отмывали стерилизованной морской водой и переносили в описанные выше условия (второй этап). В опытах с соленостью 20 ‰ и содержанием токсиканта в среде в концентрациях 0,01 и 0,10 мг/л рост водорослей характеризовался такими же показателями, как и на первом этапе (рис. 1, В, см. таблицу). Морфологические признаки оставались прежними (рис. 2, В, С). Для характеристики взаимодействия двух факторов (пониженной солености 16 ‰ и добавки токсиканта в концентрации 0,01 мг/л) использовали те же показатели: численность и морфологи-



ческие признаки. Численность клеток на четвертые сутки была ниже, чем в первом варианте опыта и составляла 60 % от контроля, а к концу экспозиции уменьшалась до 45 % (рис. 1, В). При большей концентрации (0,10 мг/л) негативное действие бихромата калия возрастало, и численность клеток к концу опыта составляла 12 % от контроля. Суспензия представлена гетерогенно: присутствовали клетки с разрушенным содержимым, стенки клеток в значительной степени искривлены, рога укорочены, хлоропласты деформированные зернистые, их лопасти нечеткие, размытые, цитоплазма уплотненная темная, клетки вытянуты в направлении перивальварной оси, некоторые подковообразно изогнуты (рис. 2, D, E). Ранее показано, что в чистой среде соленостью 16 ‰ клетки водоросли адаптировались к новым условиям и динамика их роста была как в контроле (Айздайчер, 2013). Наблюдаемое торможение роста и отсутствие способности адаптироваться было вызвано, вероятно, наличием бихромата калия в среде.

Разные возможности адаптации при действии двух стресс-факторов, по-видимому, можно объяснить неодинаковым проявлением адаптивных механизмов: при солености 16 ‰, возможно, была физиологическая адаптация, а при 20 ‰ преобладала генетическая адаптация (Гапочка, 1981).

### Заключение

В результате проведенных исследований показано, что при длительном совместном воздействии двух стресс-факторов адаптация водорослей к присутствию бихромата калия в концентрации 0,1 мг/л возможна при солености 20 ‰. При более низкой солености (16 ‰) в присутствии токсиканта в концентрациях 0,01 и 0,10 мг/л водоросли утрачивали способность адаптироваться, и численность клеток на втором этапе резко сокращалась.

В первую очередь негативное действие факторов проявлялось на морфологии клеток, которое тем существеннее, чем ниже соленость и выше доза токсиканта. В суспензии зафиксированы агрегаты из клеток, где большая их часть была повреждена. В клетках наблюдали ретракцию цитоплазмы, хлоропласты зернистые, лопасти нечеткие размытые, рога укорочены, стенки клеток изогнуты и иногда принимали подковообразную форму.

Реакция водоросли *A. ussurensis* зависит не только от концентрации токсиканта, но и от времени экспозиции. Негативная реакция более резко выражена при продолжительном контакте.

### Список литературы

- Айздайчер Н.А. Соленостные адаптации одноклеточной водоросли *Attheya ussurensis* (Bacillariophyta) // Изв. ТИНРО. — 2013. — Т. 173. — С. 223–229.
- Айздайчер Н.А., Гостюхина О.Б. Адаптивные возможности бентосной микроводоросли *Attheya ussurensis* к продолжительному загрязнению солью шестивалентного хрома в культуре // Изв. ТИНРО. — 2014. — Т. 178. — С. 173–179.
- Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почве и растениях : моногр. — Л. : Агропромиздат, 1987. — 142 с.
- Брянцева Ю.В. Индекс формы одноклеточных водорослей как новый морфометрический критерий // Экология моря. — 2005. — Вып. 67. — С. 27–31.
- Волков К.С., Холодова В.П., Кузнецов В.В. Адаптация растений к засолению снижает токсический эффект меди // ДАН. — 2006. — Т. 411, № 3. — С. 416–419.
- Гапочка Л.Д. Об адаптации водорослей : моногр. — М. : МГУ, 1981. — 80 с.
- Дмитриева А.Г., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. Физиология растительных организмов и роль металлов : моногр. — М. : МГУ, 2002. — 159 с.
- Дятлов С.Е., Петросян А.Г. *Phaeodactylum tricornerutum* Bohl. (Chrysophyta) как тест-объект. Диапазон соленостной резистенции // Альгология. — 2001. — Т. 11, № 2. — С. 259–264.
- Жмур Н.С., Орлова Т.Л. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей : ФР 1.39.2001.00284. — М. : Акварос, 2001. — 44 с.
- Ковековдова Л.Т., Симоконов М.В. Тенденции изменения химико-экологической ситуации в прибрежных акваториях Приморья. Токсичные элементы в донных отложениях и гидробионтах // Изв. ТИНРО. — 2004. — Т. 137. — С. 310–320.

**Кузьмич В.Н., Соколова С.А., Крайнюкова А.Н.** Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. — М. : РЭФИА, НИИ Природа, 2002. — 118 с.

**Лучин В.А., Тихомирова Е.А., Круз А.А.** Океанографический режим вод залива Петра Великого (Японское море) // Изв. ТИНРО. — 2005. — Т. 140. — С. 130–169.

**Нигмагулина Л.В.** Оценка антропогенной нагрузки береговых источников на Амурский залив (Японское море) // Вестн. ДВО РАН. — 2007. — № 1. — С. 73–77.

**Новикова И.П., Паршикова Т.В.** Оценка резистентности клеток *Dunaliella viridis* Teod. к наличию бихромата калия в среде // Морський екологічний журнал. — 2008. — Т. 7, № 1. — С. 47–55.

**Орлова Т.Ю., Айздайчер Н.А., Стоник И.В.** Лабораторное культивирование морских микроводорослей, включая продуцентов фитотоксинов : науч.-метод. пособие. — Владивосток : Дальнаука, 2011. — 89 с.

**Прохоцкая В.Ю., Ипатова (Артюхова) В.И., Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф.** Оценка степени адаптации лабораторной популяции микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Gréb к действию бихромата калия // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биология. — 2003. — № 3. — С. 31–42.

**Степанов В.В.** Характеристика температуры и солености воды зал. Восток Японского моря // Биологическое исследование залива Восток. — Владивосток : ДВНЦ АН СССР, 1976. — С. 12–22.

**Хайлов К.М.** Экологический метаболизм в море : моногр. — Киев : Наук. думка, 1971. — 252 с.

**Anderson A.I., Mayer D.B., Mayer F.R.** Heavy metal toxicities: levels of nikel, cobalt and chromium in the soil plants associated with visual symptoms and variation in growth of an oat crop // Austral. J. Agr. Res. — 1972. — Vol. 24. — P. 557–571.

**Brown M.R., McCausland M.A., Kowalski K.** The nutritional value of four Australian microalgal strains fed Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat // Aquaculture. — 1998. — Vol. 165. — P. 281–295.

**Guillard R.R.L.** Culture of phytoplankton of feeding marine in vertebrates // Culture of marine invertebrate animals / eds W.L. Shmith, M.H. Chanley. — N.Y. : Plenum Press, 1975. — P. 26–60.

**Stonik I.V., Orlova T.Ju., Crawford R.M.** *Attheya ussurensis* sp. nov. (Bacillariophyta) — a new marine diatom from the coastal waters of the Sea of Japan and reappraisal of the genus // Phycologia. — 2006. — Vol. 45. — P. 141–147.

**Travieso L., Cañizares R.O., Borja R. et al.** Heavy metal removal by Microalgae // Bull. Environ. Contam. Toxicol. — 1999. — Vol. 62, Iss. 2. — P. 144–151.

**Wang W.** Chromate ion as a reference toxicant for aquatic phytotoxicity tests // Environ. Toxicol. and Chem. — 1987. — Vol. 6, Iss. 12. — P. 953–960.

*Поступила в редакцию 27.03.15 г.*