

Институт биологии
Карельского научного центра Российской Академии наук

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ

**МАТЕРИАЛЫ III МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
С ЭЛЕМЕНТАМИ ШКОЛЫ ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ,
АСПИРАНТОВ И СТУДЕНТОВ
22-26 ИЮНЯ 2010 ГОДА
г. ПЕТРОЗАВОДСК**



Институт биологии
Карельского научного центра Российской Академии наук

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ

**МАТЕРИАЛЫ III МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
С ЭЛЕМЕНТАМИ ШКОЛЫ ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ,
АСПИРАНТОВ И СТУДЕНТОВ
22-26 ИЮНЯ 2010 ГОДА
г. ПЕТРОЗАВОДСК**





ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ
КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН

Russian Academy of Sciences
The Program of Russian Academy of Sciences
“Biological resource of Russia” 2009-2011

Scientific Council on Hydrobiology and Ichthyology of Russian Academy of Sciences

Petrozavodsk State University

Scientific Council on Physiology Sciences of Russian Academy of Sciences

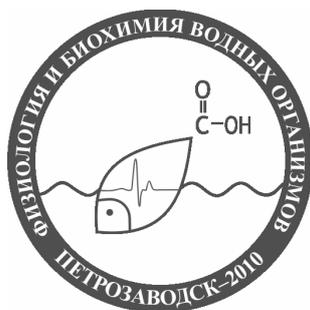
Interdepartmental Council on Basic Medical Problems of Russian Academy of Sciences and
The Russian Academy of Medical Sciences

CURRENT PROBLEMS OF PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF AQUATIC ORGANISMS

Proceedings of the III International Conference and Young Scientists School

June 22-26, 2010

Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia



Petrozavodsk
2010



ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ
КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН

Российская академия наук

Отделение биологических наук Российской академия наук
Программа фундаментальных исследований на 2009-2011 гг.: «Биологические ресурсы
России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга»

Научный совет РАН по гидробиологии и ихтиологии

Петрозаводский государственный университет

Научный совет РАН по физиологическим наукам

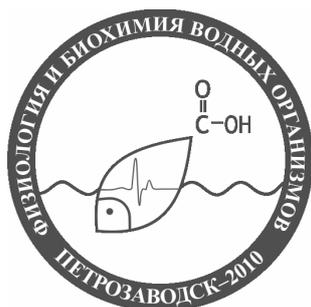
Межведомственный научный совет Российской академии наук и Российской академии
медицинских наук по фундаментальным проблемам медицины

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Материалы III Международной конференции с элементами школы для
молодых ученых, аспирантов и студентов

22 июня – 26 июня 2010 г.

Петрозаводск, Республика Карелия, Россия



Петрозаводск
2010

УДК 574.5: [581.1 + 591.1 + 577.1](063)
ББК 28.082
С 56

С 56 **СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ:** Материалы III Международной конференции с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов 22 июня – 26 июня 2010 года. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. – 216 с.
ISBN 978-5-9274-0417-9

В сборнике представлены материалы докладов III Международной конференции с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» по наиболее актуальным вопросам изучения физиологических и биохимических аспектов жизнедеятельности водных организмов. Рассмотрены такие вопросы, как: физиология и биохимия размножения, роста и питания водных организмов, физиолого-биохимические аспекты адаптаций к различным факторам среды, механизмы регуляции физиологических и биохимических процессов у гидробионтов, а также прикладные аспекты физиологии и биохимии гидробионтов и использование математических методов в исследованиях физиологии и биохимии водных организмов.

УДК 574.5: [581.1 + 591.1 + 577.1](063)
ББК 28.082

Конференция и школа молодых ученых проведена при поддержке:

*Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 10-04-06061-з
Гранта Президента РФ «Ведущие научные школы России» НШ-3731.2010.4
Российской академии наук:*

*Отделения биологических наук РАН Программы фундаментальных исследований на 2009–2011 гг.:
«Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга»
и программы фундаментальных исследований Президиума РАН на 2009–2011 гг.
«Биологическое разнообразие»*

© Коллектив авторов, 2010

© Учреждение Российской академии наук Институт биологии КарНЦ РАН, 2010

С 56 **CURRENT PROBLEMS OF PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF AQUATIC ORGANISMS:** Proceedings of the III International Conference and Young Scientists School June 22–26, 2010. – Petrozavodsk: Karelian research centre of RAS, 2010 – 216 p.
ISBN 978-5-9274-0417-9

The edition presented articles contributed to III International Conference and Young Scientists School «Current Problems of Physiology and Biochemistry of Aquatic Organisms».

The conference and Young Scientists School has been supported by:

*Russian Fund for Basic Research № 10-04-06061-з
The Program of the Russian Federation President “Leading Scientific Schools of Russia” №-3731.2010.4
Russian Academy of Sciences
The Program of Russian Academy of Sciences “Biological resource of Russia” and “Biodiversity”*

© Composite authors, 2010

© Institute of Biology, Karelian research centre, 2010

ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ ТКАНЕВОГО МЕТАБОЛИЗМА МОЛЛЮСКА-ВСЕЛЕНЦА *ANADARA INAEQUALVIS* (BRUGÛIERE, 1789) В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОЛОДАНИЯ

Т.И. Андреевко

Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина
tatyana-andreenk@mail.ru

Живые организмы являются открытыми термодинамическими системами, существование которых требует постоянного притока вещества и энергии. Ограничение в питании и голод вызывают реорганизацию физиологических и биохимических процессов в организме, имеющую как адаптивную, так и компенсационную направленность.

Особый интерес представляют моллюски-фильтраторы, так как у них голодание не может быть полным, а только частичным, то есть недостаточным по калорийности и качественному составу получаемой пищи. Следует признать, что информация о состоянии голодания у двустворчатых моллюсков крайне ограничена.

Цель настоящего исследования – изучить особенности адаптивной реорганизации белкового и углеводного метаболизма у *Anadara inaequalvis* в условиях полного голодания.

Материал был получен одновременно с коллекторных установок рыбодобывающего предприятия «Дон-Комп» (бухта Стрелецкая, Севастополь). В работе использовали особей *Anadara inaequalvis* с длиной раковины 30–33 мм. Морскую воду для эксперимента доставляли из 10-ти мильной зоны и подвергали термической обработке при 80–85°C в течение 4-х часов. Затем ее пропускали через мембранный фильтр (Synproг – 2,5) под вакуумом. Ежедневно в опыте и контроле производили полную смену воды в емкостях для удаления метаболитов. Экспозиция – 18 суток. Пробы тканей отбирали на 1-е, 6-е и 18-е сутки эксперимента. Препарирование тканей проводили при температуре 0–4°C.

В тканях моллюсков оценивали: активности аланин- и аспартаминотрансфераз (АлАТ, АсАТ) – динитрофенилгидрозиновым методом, γ -глутамилтранспептидазы (γ -ГТП) по реакции с L- γ -глутамил-p-нитроанилидом, катепсина D по кислоторастворимым продуктам ферментативного гидролиза гемоглобина. Все измерения выполняли при 25,0 \pm 0,5°C. Одновременно определяли содержание в тканях белка по методу Лоури, аминного азота по реакции с нингидрином, мочевины по реакции с диацетилмонооксимом, глюкозы глюкозоксидазным методом, лактата ферментативным методом по скорости восстановления НАДН₂ и пирувата по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином.

В условиях экспериментального голодания изменения активностей ферментов, содержания питательных субстратов и метаболитов у моллюсков имели выраженную тканевую специфику.

Г е п а т о п а н к р е а с . Содержание глюкозы в данном органе в течение первых 6-ти суток голодания не изменялось. Однако затем уровень этого соединения в гепатопанкреасе понижался на 40,0% (p<0,01). Это происходило на фоне уменьшения содержания лактата в ткани на 32,2%. При этом различия не были статистически выражены в виду существенной вариабельности полученных значений. Уровень пирувата, напротив, в первые 6 суток голодания повышался на 67,3% (p<0,05), а затем возвращался к исходным величинам – 0,9–1,1 ммоль мг⁻¹. Содержание белка в гепатопанкреасе увеличилось. Общий прирост его в течение эксперимента составил почти 40,0% (p<0,01). Это происходило на фоне уменьшения уровня свободных аминокислот и мочевины в органе соответственно на 41,0% (p<0,01) и 27,7% (p<0,05). Изменение активностей АлАТ и АсАт было слабо выражено. Небольшой рост был выявлен только относительно АсАТ – 17,7% (p<0,05). При этом происходило явное подавление активности γ -ГТП на 33,1% (p<0,05). На 18-е сутки эксперимента активность лизосомального фермента катепсина D была в 3,5 раза выше (p<0,01), чем в начале опыта.

Ж а б р ы . Содержание глюкозы в жабрах было в 3,0 раза ниже (p<0,001), чем в гепатопанкреасе. Различие между уровнем глюкозы в ткани жабр в начале и конце опыта (18-е сутки) составило 7,3 раза (p<0,001). Голодание вызывало в жабрах также снижение содержания лактата и рост уровня пирувата соответственно на 43,7% и в 2,1 раза (p<0,05).

Изменение содержания белка и его метаболитов в жабрах анадары в ходе экспериментального голодания имела иную динамику в сравнении с гепатопанкреасом. На 6-е сутки эксперимента уровень белка понижался на 21,2% (p<0,01) и затем не претерпевал статистически значимых изме-

нений. Одновременно в органе уменьшалось содержание аминного азота на 48,9% ($p < 0,001$). Это происходило на фоне тенденции роста уровня мочевины. Активности АлАТ, АсАТ, γ -ГТП и катепсина D в течение опыта не изменялись.

Н о г а . Содержание лактата и пирувата уменьшилось на 6-е сутки наблюдений, в сравнении с контролем различия составляли 35,3 и 74,6% ($p < 0,001$) соответственно. Как и в других тканях, голодание вызывало понижение содержания глюкозы в ноге анадары. Это происходило на 18-е сутки эксперимента и составило 33,5%.

Уровень белка в ходе экспериментального голодания в ноге анадары повышался на 32,6% ($p < 0,001$), что совпадало с данными, полученными для гепатопанкреаса. Содержание же аминного азота при этом понижалось на 33,4% ($p < 0,001$), а мочевины не изменялось, оставаясь на уровне исходных величин. Изменение активностей АлАТ и АсАТ в течение опыта не совпадало. Активность АлАТ повышалась на 27,3% ($p < 0,001$), а АсАТ, напротив, понижалась на 14,5% ($p < 0,05$). Эти изменения выявлялись уже на 6-е сутки эксперимента и наблюдались на фоне подавления активности γ -ГТП. В сравнении с исходным состоянием моллюска на 6-е сутки голодания активность γ -ГТП была на 27,6% ($p < 0,05$) ниже. К концу эксперимента она оказалась близкой к исходному состоянию. В отличие от гепатопанкреаса активность катепсина D в ноге анадары не изменялась на протяжении опыта.

Таким образом, проведенные исследования позволило выявить следующие особенности адаптивной реорганизации тканевого метаболизма у *Anadara inaequalvis*:

- на начальных этапах голодания (6 суток) анадара использует ресурс тканевого лактата в направлении реакций окислительного декарбоксилирования;
- процесс адаптации анадары к голоданию идет по пути использования резерва аминокислот в процессах биосинтеза белка;
- использование аминокислот, как источника энергии тканями анадары в условиях голодания происходит по пути фумаратредуктазной и сукцинаттиокиназной реакций, которые позволяют дополнительно получать гликолитические метаболиты;
- донором аминокислот выступает гепатопанкреас.

CHARACTERISTICS OF ADAPTIVE REORGANIZATIONS OF TISSUE METABOLISM IN MOLLUSK-INVADER *ANADARA INAEQUALVIS* (BRUGÛIERE, 1789) UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL STARVATION

T.I. Andreenko

Sevastopol national technical university, Sevastopol, Ukraine, tatyana-andreenk@mail.ru

The effect of starvation on the orientation of metabolic processes in mollusk- invader *Anadara inaequalvis* (Black sea) was investigated under experimental conditions. The experiment lasted up to 18 days. It was shown that during initial stages of starvation (6 day) *Anadara inaequalvis* used a resource of tissue lactate in direction of oxidative decarboxylation reactions. The process of *Anadara inaequalvis* adaptation to starvation involves using the amino acids reserves during tissue biosynthesis. Using of amino acids as an energy source for tissue during starvation occurs in the from fumarate reductase and succinate thiokinase reactions which allow to obtain additionally glycolytic metabolites. Hepatopancreas is found to be a donor of amino acids.

ДИАПАУЗА *CYCLOPS SCUTIFER* SARS КАК МЕХАНИЗМ ПРИСПОСОБЛЕНИЯ ПОПУЛЯЦИИ ВИДА К ИЗМЕНЕНИЯМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Л.А. Базаркина

Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,
Петропавловск-Камчатский, Россия
bazarkina.l.a@kamniro.ru

Cyclops scutifer Sars — широко распространенный и, в основном, доминирующий вид планктонных ракообразных в озерах Камчатки. Популяция циклопов оз. Азабачье моноциклична, имеет однолетний цикл развития, состоит из двух частично перекрывающихся когорт: первой, представляющей основную часть популяции, и второй — малочисленной (Базаркина, 2004).

Размножение *C. scutifer* происходит в летне-осенние месяцы. Яйценосные самки циклопов появляются в планктоне озера в начале июля вслед за летним пиком "цветения" диатомовых водорослей *Stephanodiscus*-complex и *Aulacoseira subarctica*. В течение генеративного периода (июль–сентябрь) самки первой когорты продуцируют две кладки, второй — одну. В августе, когда температура поверхностного слоя водоема равна 16–18°C, начинается массовое вылупление науплиусов, максимальное количество которых в сентябре, формирует осенний пик численности всей популяции. В октябре–ноябре, при активной вегетации кормового фитопланктона, копеподиты первой когорты проходят быстрый метаморфоз и к установлению ледостава достигают V стадии. Циклопы второй когорты зимуют в пелагиали водоема в виде науплиусов.

Подледный период на оз. Азабачье длится шесть месяцев. В течение декабря–февраля среднесуточная температура воздуха в бассейне озера снижается от –15 до –25°C, температура водных масс водоема — от 2,1 до 1,7°C, что оказывается ниже эффективной температуры развития популяции *C. scutifer* оз. Азабачье (2,0°C). Увеличение толщины льда от 30 до 120 см и высоты снежного покрова до 90 см, сокращение продолжительности светового дня приводят к ослаблению освещенности водной толщи озера и прекращению фотосинтеза подо льдом. В условиях сильного охлаждения водоема и дефицита кормового фитопланктона рост циклопов замедляется, копеподиты V стадии первой когорты переходят в состояние диапаузы (Базаркина, 1993), что приводит к резкому снижению численности вида в планктоне.

Наши исследования показали, что образование и накопление покоящихся *C. scutifer* происходит в котловине водоема, покрытой мощным слоем ила. На участках озера, дно которых сложено из твердых песчаных грунтов и подвержено воздействию стоковых течений, присутствуют только активные циклопы. Реактивация рачков, обычно, начинается в конце апреля–мае, когда в результате перехода значений температуры воздуха через 0°C происходит таяние ледового покрова и повышение освещенности вод озера. На этот период приходится и развитие младших копеподитов второй когорты популяции. После вскрытия водоема, в первой половине июня, численность *C. scutifer* возрастает вдвое, а благодаря последующим прогреву водной толщи от 2,7 до 5,0°C и вегетации Bacillariophyta особи вида в третьей декаде месяца достигают половой зрелости. Таким образом, диапауза, как регулирующийся механизм, обеспечивает воспроизводство популяции *C. scutifer* в оз. Азабачье при благоприятных трофических условиях и защиту рачков от комплексного воздействия угнетающих факторов.

THE DIAPAUSA FOR *CYCLOPS SCUTIFER* SARS AS ADAPTIVE POPULATION MECHANISM TO ENVIRONMENTAL CHANGES

L.A. Bazarkina

Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography, Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia
bazarkina.l.a@kamniro.ru

Investigation of the pelagic bottom deposits revealed hibernating *C. scutifer* of the copepodid fifth stage. The cyclops in the condition of diapause were found at the sites with soft bottom untouched by flowing currents. Diapause is assumed to regulate the abundance of *C. scutifer* and ensure the resistance of the species to unfavourable environmental conditions during the winter period.

ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ ВНУТРИРОТОВОЙ МЕХАНОРЕЦЕПЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ У АФРИКАНСКОГО СОМА *CLARIAS GARIEPINUS*

В.С. Балан, А.О. Касумян

МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
valleri83@list.ru

Роль и участие органов чувств рыб в регуляции сложных форм поведения всегда привлекало внимание исследователей. Особый интерес в этом отношении представляет пищевое поведение рыб, имеющее полисенсорное обеспечение. Завершающая фаза пищевого поведения, когда происходит оценка качества пищевого объекта и принимается решение о заглатывании или отвергании, основывается на функции двух контактных органов чувств, внутриротовой вкусовой системы и, отчасти, механорецепции. Если знания о вкусовой рецепции и вкусовых предпочтениях рыб в последние годы постоянно расширяются, то представления о роли механорецепции в пищевом поведении рыб в научной литературе крайне фрагментарны. В связи с этим, основной целью настоящей работы было исследование роли внутриротовой механорецепции у африканского сома *Clarias gariepinus*. Задача работы заключалась в оценке влияния механических свойств пищевых объектов (искусственных гранул) на их потребление рыбами.

В опытах были использованы неполовозрелые особи африканского сома длиной 5–8 см и возрастом около 2.5 месяца, которых содержали в аквариумах и перед опытами обучали активно схватывать предлагаемый корм (живые личинки хирономид) и искусственные пищевые объекты (гранулы, приготовленные из агар-агарового геля). В каждом опыте в аквариум к рыбе вносили 1 экспериментальную гранулу и регистрировали следующие показатели: а) количество актов схватывания внесенной гранулы; б) продолжительность удержания гранулы во рту при первом схватывании ее рыбой и за все время опыта (в секундах); в) поедаемость гранулы (поедание или отвергание). Для опытов были использованы гранулы, изготовленные из агар-агарового геля 5-ти разных концентраций (1%, 2%, 3%, 4% и 5%). Часть этих гранул (контрольные) содержали только краситель Ронсеау 4R (5 μ M), другие кроме красителя содержали аминокислоту глицин (0.1 M), которая, согласно нашим ранее проведенным исследованиям, обладает средним уровнем вкусовой привлекательности для африканского сома. Выбор такой аминокислоты был обусловлен тем, чтобы это давало возможность в ходе эксперимента зарегистрировать как повышение, так и снижение потребления гранул при изменении их твердости. Всего выполнено 287 экспериментов с использованием контрольных гранул и 292 эксперимента с использованием гранул с глицином.

Было выяснено, что с повышением концентрации агар-агарового геля потребление контрольных гранул практически не изменялось, тогда как привлекательность гранул с глицином, то есть обладавших для рыб определенными вкусовыми свойствами, заметно и закономерно снижалось. Наиболее значимые изменения потребления гранул с глицином наблюдаются при изменении концентрации агар-агарового геля от 1% до 3%. В этом диапазоне каждое изменение концентрации агар-агара на 1% приводит к достоверному снижению потребления гранул; причем, нужно отметить, что гранулы с концентрацией агар-агара 1% потреблялись лучше, чем гранулы с концентрацией агар-агара 2%, которую обычно используют для изготовления гранул. Увеличение концентрации агар-агара от 3% и выше на потребление гранул с глицином значимо не влияет (отличия не достоверны).

Для поведения африканского сома, проявляемого при тестировании схваченных агар-агаровых гранул, свойственно относительно небольшое число повторных тестирований. Отвергания и повторные схватывания наблюдались в опытах редко, причем как контрольных гранул, так и гранул с глицином и для всех концентраций агар-агара. Время, которое африканский сом затрачивает на оценку вкусовых свойств гранул относительно небольшое, по крайней мере, если сравнивать его с исследованными ранее типичными бентофагами (каarp, линь). Гранулы, содержащие глицин, удерживались африканским сомом во рту примерно в 1.5 раз дольше, чем контрольные гранулы той же концентрации агар-агара (различия достоверны).

Вкусовые ответы африканского сома на контрольные гранулы и гранулы с глицином, изготовленные из агар-агарового геля разной концентрации

Раздражитель, концентрация агар-агара	Концентрация, М	Потребление гранул, %	Число актов схватывания	Продолжительность удержания гранулы, с	
				после первого схватывания	в течение всего опыта
Глицин, 1%	0.1	93.0 ± 3.4***	1.0 ± 0.0	3.2 ± 0.2***	3.2 ± 0.2***
Глицин, 2%	0.1	76.7 ± 5.5 ***	1.1 ± 0.0	3.8 ± 0.3***	3.9 ± 0.3***
Глицин, 3%	0.1	49.2 ± 6.6 ***	1.4 ± 0.1**	3.4 ± 0.3**	4.0 ± 0.4*
Глицин, 4%	0.1	47.5 ± 6.6**	1.3 ± 0.1	3.3 ± 0.3*	3.7 ± 0.3*
Глицин, 5%	0.1	47.4 ± 6.7	1.1 ± 0.1	3.9 ± 0.4*	4.0 ± 0.4*
Контроль, 1%	–	18.6 ± 5.1	1.1 ± 0.0	1.8 ± 0.3	1.8 ± 0.3
Контроль, 2%	–	19.0 ± 5.2	1.0 ± 0.0	1.9 ± 0.4	2.0 ± 0.4
Контроль, 3%	–	15.3 ± 4.7	1.0 ± 0.0	2.2 ± 0.5	2.2 ± 0.5
Контроль, 4%	–	19.6 ± 5.4	1.2 ± 0.1	2.1 ± 0.4	2.4 ± 0.5
Контроль, 5%	–	30.9 ± 6.3	1.1 ± 0.0	2.7 ± 0.4	2.7 ± 0.4

Примечание: *, **, *** – достоверность отличия соответственно $p < 0.05$, 0.01, 0.001. Статистическое сравнение проведено для опытов, выполненных с контрольными гранулами и гранулами с глицином, изготовленных из агар-агарового геля равной концентрации.

Результаты опытов с гранулами, содержащими глицин, хорошо соответствует основному выводу немногочисленных работ других авторов ((Ивлев, 1977; Stradmeyer et al., 1988; Ottera et al., 2001) о том, что с ростом твердости корма уровень его потребления рыбами снижается. Этот вывод, как показывают наши данные, по-видимому, справедлив лишь для объектов, которые обладают для рыб отчетливыми, хорошо выраженными вкусовыми свойствами. На пищевые объекты, не имеющие для рыб явных вкусовых свойств (контрольные гранулы), это правило, вероятно, не распространяется. Полученные результаты свидетельствуют, что из двух контактных внутриротовых сенсорных систем ведущую роль в принятии окончательного решения о заглатывании добычи у африканского сома принадлежит, по-видимому, вкусовой рецепции. Для оценки универсальности этого вывода требуется проведение дополнительных исследований, в том числе на рыбах с разным типом питания.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 10-04-00349) и Программы «Ведущие научные школы».

INVESTIGATION OF THE ROLE OF INTRAORAL MECHANORECEPTION IN REGULATION OF FEEDING IN AFRICAN CATFISH CLARIAS GARIEPINUS

V.S. Balan, A.O. Kasumyan

Moscow State University, Moscow, Russia
valleri83@list.ru

The study was performed on African catfish juveniles with 5–8 cm in body length and 2.5 months old. The control (blank) pellets and pellets with glycine, 0.1 M, prepared from agar-agar gel with concentration 1%. 2%, 3%, 4% and 5% were offered one by one for fish during a trial. It was found that the consumption of flavoured pellets decreased with increasing of pellet's hardness. The consumption of blank pellets did not depend on agar-agar concentration in the range of 1–5%.

ЛИПОПРОТЕИДЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РЫБ ЗАПАДНОГО ПОДОЛЬЯ

В.Я. Бияк, Ю.В. Синюк, В.З. Курант, В.В. Грубинко

Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина
vityok@tnpu.edu.ua

Определение в сыворотке крови рыб содержания липопротеидов – комплексов белков и липидов, роль которых в процессах адаптации организма рыб к условиям среды является дос-

таточно значительной, имеет важное значение в мониторинге водных экосистем. Учитывая большое видовое разнообразие класса рыб, которые отличаются по размеру, форме, телосложению, образу жизни, экологическим требованиям и обмену веществ, общего представления об адаптивных функциях липопротеидов рыб не составлено (Lizenko M.V., 2008).

Задачей нашего исследования было изучение фракционного состава и содержимого липопротеидов в сыворотке крови карпа, карася, окуня и щуки малых рек Западного Подолья, вода которых интенсивно используется, в основном, для хозяйственных и бытовых потребностей. Вышеупомянутые виды рыб являются наиболее распространенными в гидробиоценозе и показатели их состава крови могут представлять интерес для экологического мониторинга водоемов и территорий.

У всех исследованных видов рыб выявлены две фракции липопротеидов сыворотки крови, отвечающие α - и β -липопротеидам, а в сыворотке крови окуня и щуки, кроме отмеченных, выявлено еще пре- β - фракцию. При этом у всех изученных видов рыб отсутствовала фракция хиломикрон, которая имеется у многих представителей этого класса позвоночных (Vabin P.J., 1989).

В полученных нами фореграмах на α - фракцию липопротеидов у карпа приходится 71,0%, у карася 58,9%, у окуня 49,4% и у щуки 40,5% (табл. 1). При этом наиболее высокие показатели выявлены у карпа и карася, а у окуня и щуки они немного ниже. Рыбы первых двух видов являются малоподвижными, в то время как два последние – это быстроплавающие хищники.

Таблица 1. Фракционный состав липопротеидов плазмы крови некоторых видов рыб Западного Подолья (%), $M \pm m$, $n=5$)

Вид	α	пре- β	β
Карп	71,00 \pm 2,14	–	29,00 \pm 2,14
Карась	58,89 \pm 5,15	–	41,10 \pm 5,15
Окунь	49,37 \pm 3,12	24,07 \pm 1,98	26,40 \pm 3,37
Щука	40,52 \pm 2,24	19,71 \pm 1,26	39,77 \pm 1,51

Обмен α -липопротеидов тесно связан с поддержанием гомеостатического уровня липидов в системе липопротеиды – плазма крови – ткани. Циркулируя в крови, липопротеиды этой фракции высокой плотности владеют уникальной способностью включать в свой состав компоненты из других источников и поддерживать их в постоянном динамическом равновесии с другими липопротеидами плазмы и с тканевыми липидами путем взаимобмена. Высокое содержание α -липопротеидов сыворотки крови карпа и карася свидетельствует об усилении их функции, которая заключается в перенесении холестерина из клеток (прежде всего кровяных сосудов) к печени, где он используется на синтез желчных кислот. Подтверждением сказанного является значительное содержание желчи в желчном пузыре у карпа и карася в сравнении с окунем и щукой. Данное явление, возможно, связано с образом питания исследованных видов рыб.

Относительно фракции β -липопротеидов, то следует заметить, что ее количество в сыворотке крови изученных видов рыб значительно меньше (табл. 1). При этом у карпа и окуня этот показатель ниже и составляет 29,0% и 26,4% соответственно, а у карася и щуки он выше (41,1% и 39,7% соответственно).

Данная фракция является липопротеидами низкой плотности, основная функция которых заключается в перенесении триглицеридов, холестерина и фосфолипидов от печени к тканям. β -липопротеиды образуются в печени и уменьшение их количества в сыворотке крови может свидетельствовать или о снижении активности их синтеза в указанном органе, или об активном использовании тканями организма. Не исключена возможность перехода отмеченных липопротеидов в состав пре- β - фракции, которая в наших исследованиях была выявлена у окуня и щуки (табл. 1) и составляет соответственно 24,0% и 19,7%. У карпа и карася эта фракция липопротеидов практически отсутствует, что также, возможно, связано с особенностями метаболизма у этих видов рыб. На значительные отличия в составе липопротеидов сыворотки крови разных видов рыб указывается в работе (Куликова Н.И., 1967), что объясняется спецификой пойкилотермных организмов.

Результаты исследований свидетельствуют об отличиях соотношения фракций липопротеидов в плазме крови исследованных видов рыб (табл. 2). Так, в частности самый высокий показатель соотношения фракций α/β обнаружен у карпа, на 18,5% он ниже у окуня, на 40% у карася и на 59% у щуки. Соотношение фракций α /пре- β у хищных окуня и щуки находится на од-

ном уровне, фракций пре-β/β и α/(β+пре-β) выше у окуня в 2 и 1,5 раза соответственно, в сравнении со щукой. Показатели фракций пре-β и β характеризуют уровень выведения избыточного холестерина из организма, а их количество зависит от филогенетического возраста вида рыб, о чем свидетельствуют полученные результаты, учитывая "молодой" возраст исследованных видов рыб.

Таблица 2. Соотношение фракций липопротеидов в плазме крови некоторых видов рыб Западного Подолья (M±m, n=5)

Соотношение фракций	Карп	Карась	Окунь	Щука
α / β	2,54±0,31	1,52±0,33	2,07±0,41	1,03±0,09
α / пре-β	–	–	2,11±0,23	2,12±0,27
пре-β / β	–	–	1,00±0,18	0,0,50±0,03
α / β+пре-β	–	–	1,01±0,13	0,0,69±0,07

Полученные данные, по нашему мнению, определяются как особенностями метаболизма у разных видов пресноводных рыб, так и условиями водной среды их обитания. Наличие фракции пре-β-липопротеидов у хищных видов, в отличие от всеядных карпа и карася, можно считать адаптивным признаком и следствием поведенческой и физиологической активности, а также питания кормом с большим содержанием жиров, включая, холестерин.

Следовательно, белково-липидная система крови пресноводных рыб является видоспецифической и, вероятно, формируется вследствие уровня метаболизма, физиологической активности и особенности питания рыб, что возможно использовать для поиска текущих показателей оценки организма рыб в конкретных условиях их обитания.

LIPOPROTEINS IN THE BLOOD SERUM OF SOME FISH OF WESTERN PODILLYA

V.Y. Vyak, Yu.V. Synuik, V.Z. Kurant, V.V. Grubinko

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine
vityok@tnpu.edu.ua

A change of the content of lipoproteins in the blood serum of carp, crucian carp, perch and pike is studied. The impotent role of lipoproteins and their fractions in blood serum of freshwater fish is shown.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОДИ НЕРКИ (*ONCORHYNCHUS NERKA* WALB) ОЗ. КУРИЛЬСКОЕ (КАМЧАТКА) В ПЕРИОД КАТАДРОМНОЙ МИГРАЦИИ

Т.В. Бонк, В.И. Шершнева

ФГУП «КамчатНИРО», Петропавловск-Камчатский, Россия
bonk.t.v@kamniro.ru

Размеры и физиологическое состояние смолтов зависят от условий, сложившихся в водоёме в период нагула. Проблемой является изучение обеспеченности рыб пищей в глубоком олиготрофном оз. Курильское с ограниченным видовым разнообразием кормовых организмов и отсутствием данных по абсолютной численности нагуливающейся молоди. Одним из путей решения этой проблемы может быть установление определённых физиолого-биохимических индикаторов. Молодь нерки в оз. Курильское питается пелагическими ракообразными *Cyclops scutifer* и *Daphnia longiremis*. Многолетние наблюдения за их состоянием в озере показали, что пищевые условия в озере имеют тенденцию изменяться от высокого уровня к среднему и низкому и наоборот, что отражается на физиологическом состоянии рыб в период катадромной миграции. Скот покотников нерки начинается в третьей декаде мая и заканчивается в последних числах июля. Массовый скот проходит в июне (до 95%), рыбы возраста 2+ – основная возрастная группа мигрирующих в море смолтов из оз. Курильское. При исследовании ската в 2006 г. было отмечено, что в июне в пробах встречалась молодь двух возрастных групп (2+ – 87% и 3+ – 13% от численности рыб в июне), в июле – трёх возрастных групп (2+ – 87% и 3+ – 13% от численности рыб в июне), в июле – трёх возрастных групп (2+ – 87% и 3+ – 13% от численности рыб в июне).

тных групп: 1+ – 19%, 2+ – 65%, 3+ – 16%. Для химического анализа покатной молоди была использована мышечная ткань 115 экз. нерки, объединённых по возрасту в группы. Всего обработано 26 проб (таблица).

Качественные показатели смолтов нерки оз. Курильское в 2006 г.

Показатель	1+	2+				3+		
	июль	июнь		июль		июнь	июль	
	М	М	CV%	М	CV%	М	М	CV%
Длина тела, см	7,58	9,21	9	9,14	3	10,44	10,67	9
Масса тела, г	3,38	6,05	17	5,83	11	8,82	11,01	39
Содержание воды,%	82,82	81,43	2	81,78	1	82,37	82,01	2
Содержание жира,% сырого вещества	2,18	3,07	29	3,34	39	3,94	4,34	28
Содержание белков,% сырого вещества	13,98	14,29	16	13,34	14	12,35	11,67	22
Содержание золы,% сырого вещества	1,02	1,39	25	1,86	24	1,34	1,76	23
Степень обводнения белков мышц – Ко	5,924	5,786	18	6,611	15	6,669	9,001	17
Энергетический показатель – Эл	0,207	0,234	11	0,223	46	0,214	0,221	10
Калорийность, кал./г сырого вещества	996	1093	11	1048	4	1052	1076	5
Количество рыб (проб)	13 (3)	35 (7)		45 (9)		5 (1)	17 (6)	

Анализ биохимических данных в мышечной ткани смолтов показал, что содержание жира у рыб возраста 2+ и 3+ снижается к основному периоду ската (июнь), что соответствует исследованиям В.Н. Акулина (1966, 1968). Однако, снижение содержания белков и повышение их степени обводнения может говорить об истощении молоди в связи с очень низкой биомассой зоопланктона в 2006 г. Полученные данные качественных биохимических показателей покатной молоди носят предварительный характер.

BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF JUVENILE SOCKEYE SALMON (*ONCORHYNCHUS NERKA* WALB) IN KURILSKOYE LAKE (KAMCHATKA) DURING CATADROMOUS MIGRATION

T.V. Bonk, V.I. Shershneva

Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography (KamchatNIRO), Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia
bonk.t.v@kamniro.ru

The smolt body size and the physiological state depend on the conditions in the nursery watershed during the period of feeding. Studying food supply for juvenile fish in deep oligotrophic lake like Kurilskoye Lake, having limited diversity of forage species, when having no data about the absolute stock abundance of foraging juvenile fish is a challenge. One of the ways to handle with can be application of accurate physiological and biochemical indicators.

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН S-ТРАНСФЕРАЗЫ У РЫБ

Е.В. Борвинская, И.В. Суховская, Л.П. Смирнов

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия
katsu@inbox.ru

В последнее время все большее внимание уделяется поиску и изучению биологических маркеров, которые могут быть использованы для раннего выявления негативного воздействия на биоту

потенциальных загрязнителей поступающих в окружающую среду. Одним из таких биомаркеров является семейство глутатион-S-трансфераз (GST, EC 2.5.1.18) – ферментов фазы II клеточной системы биотрансформации ксенобиотиков. Реакция, катализируемая GST, заключается в присоединении восстановленного глутатиона к активированным липофильным соединениям, что облегчает их растворение в воде и выведение из организма. Благодаря участию в связывании и инактивации широкого ряда электрофильных ксенобиотиков эти ферменты широко применяются как биомаркеры загрязнения окружающей среды различного рода устойчивыми органическими поллютантами, а также как показатели окислительного стресса в живых организмах. При этом известно, что уровень активности GST в тканях достаточно гибок и может изменяться под влиянием различных факторов внутренней и внешней среды, а не только при непосредственном поступлении в организм субстратов для ферментативной реакции.

Целью настоящей работы было изучение чувствительности GST к воздействию неспецифического минерального загрязнения. Объектами исследования служили половозрелые сига *Coregonus lavaretus* и щуки *Esox lucius*, выловленные в июне 2009 года из хвостохранилища Костомукшского горно-обогатительного комбината, используемого для сбора промывных вод и для захоронения измельченных фракций пустой породы (хвостов обогащения). Главным загрязняющим фактором в хвостохранилище является высокая минерализация воды (до 480 мг/л), которая является результатом сброса в озеро отработанной горной породы. При этом особенно велики концентрации ионов K^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- , что не типично для водоемов данного региона. В качестве контроля использовали рыбу из озера Каменное, расположенного на территории Костомукшского государственного заповедника.

Активность GST выявляли по поглощению при 340 нм продукта конъюгации восстановленного глутатиона с 1-хлоро-2,4-динитробензолом (CDNB). Определение концентрации белка проводили по оптическому поглощению ферментативных экстрактов при 205 нм. Относительную активность GST рассчитывали по количеству нмоль CDNB превращенного ферментом за 1 минуту в пересчете на мг белка в цитозоле.

В ходе сравнительного анализа активности GST нами было выявлено статистически значимое повышение активности фермента у рыб из хвостохранилища по сравнению с рыбами и озера Каменное (контроль) в печени сигов и в жабрах и почках щук, тогда как в почках сига активность была ниже. Изменения активности GST в почках сигов и щук, главных органах регуляции водно-солевого обмена, по-видимому, отражают адаптационные изменения метаболизма рыб в условиях преимущественно минерального загрязнения. Активация фермента в жабрах щук может быть связана с раздражающим действием на жаберный эпителий минеральной взвеси, в большом количестве присутствующей в водах хвостохранилища. Индукция GST в печени сига, в свою очередь, может свидетельствовать о стимулирующем воздействии на обменные процессы в этом органе высокого уровня минерализации, следствием которого может быть увеличение концентрации метаболитов, выступающих в роли субстратов глутатион S-трансфераз.

Также, в ходе исследования нами была обнаружена половая специфика активности фермента в почках щук из хвостохранилища. Активность GST в почках самок значительно превосходила таковую в почках самцов, что, вероятно, подтверждает данные литературы, указывающие на существование механизмов регуляции некоторых изоформ GST половыми гормонами.

Таким образом, полученные данные указывают на модифицирующее действие минерального загрязнения в хвостохранилище Костомукшского ГОКа на защитные системы обитателей озера. При этом были выявлены различия в ответе глутатион S-трансфераз в тканях сигов *Coregonus lavaretus* и щук *Esox lucius*. Так как эти виды рыб являются типичными обитателями северных сообществ, полученные данные имеют большое значение для токсикологического тестирования водоемов данного региона.

Данная работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ «Ведущие научные школы Российской Федерации» НШ 3731.2010.4; программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга» на 2009–2011 гг.; программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие» на 2009–2011 гг.

GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ACTIVITY IN FISH UNDER MINERAL CONTAMINATION

E.V. Borvinskaya, I.V. Sukhovskaya, L.P. Smirnov

Institute of Biology of Karelian Research Centre of RAS, Petrozavodsk, Russia
katsu@inbox.ru

Glutathione S-transferase (GST) was measured in whitefish *Coregonus lavaretus* and pikes *Esox lucius* collected from lake near a the Kostomuksha mining factory in the North-West of Russia and from the reference lake regarded as relatively free of anthropogenic contamination. The mining factory release ore-dressing sewage into the lake leading to abnormally high mineralization (480 mg/l) with K^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- ions prevalence. Induction in the GST activity was observed in pike's and whitefish's kidneys and in pike's gills, decreasing of the GST activity was detected in whitefish's kidneys from polluted lake compared with the control, indicating adverse effect of contamination on fish detoxification system. This data may be of importance for ecological monitoring of boreal inland waters under the pressure of anthropogenic input.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЦЕРИОДАФИЙ В УСЛОВИЯХ СОВМЕСТНОГО ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО И ТОКСИЧЕСКОГО ФАКТОРОВ

О.А. Ботязова, Е.В. Рябухина

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия
botyazh@bio.uniyar.ac.ru

В настоящее время тяжелые металлы являются неотъемлемым компонентом промышленных и хозяйственно-бытовых сточных, а также поверхностных природных вод. Несмотря на большое число работ, затрагивающих проблемы контроля загрязнения водной среды тяжелыми металлами, исследования по изучению взаимодействия токсического и температурного факторов и их совместному влиянию на жизнедеятельность гидробионтов практически отсутствуют. Вместе с тем они представляют несомненный интерес, поскольку сегодня деятельность тепловых и атомных электростанций приводит к перегреванию воды, особенно в летние месяцы, и, вероятно, изменяет влияние токсических веществ на водных животных в условиях повышенной температуры. Исследования в таком направлении выполнены преимущественно на рыбах и морских беспозвоночных. Данные по пресноводным беспозвоночным малочисленны, хотя эти организмы являются начальным звеном многих трофических цепей в водоемах и удобным тест-объектом для лабораторных исследований.

Целью настоящей работы было изучение сочетанного воздействия температуры и растворов токсикантов на показатель выживаемости *Ceriodaphnia affinis* L. Диапазон изученных температур составлял от +5°C до +30°C (шаг – 5°C). В качестве токсических растворов использовали соли тяжелых металлов: сульфата меди, сульфата никеля и их смесей.

Токсичность тяжелых металлов и их смесей изучали в соответствии с принципом биотестирования. Проводили острое (кратковременное, 48 часов) биологическое тестирование опытных растворов серноокислой меди и серноокислого никеля разной концентрации (0,1; 0,3; 0,5; 0,7 и 0,9 мг/л). Тестировали также три варианта смесей с различным количественным соотношением солей меди и никеля (1/3, 1/1 и 3/1 соответственно – медь/никель). Для приготовления смесей токсикантов учитывали LC_{50} каждого вещества, которые были предварительно определены в острых опытах при разных температурах. В качестве тест-объекта использовали молодых одновозрастных особей *Ceriodaphnia affinis* L. Тест-функцией служила выживаемость рачков в тестируемом растворе и в контрольной пробе, в качестве которой брали биологизированную воду. Смесей токсикантов тестировали на фоне двойного контроля. Для этого кроме биологизированной воды использовали растворы солей в концентрациях LC_{50} . На основании результатов выживаемости цериодафний в растворах разных концентраций рассчитывали количество погибших особей (%) в сравнении с контролем по формуле: $A = (X_k - X_0) / X_k * 100$, где A – количество погибших цериодафний, %; X_k и X_0 – среднее арифметическое количество особей (из трех повторностей эксперимента), выживших в контро-

ле и в опыте соответственно. Сравнение токсичности сульфата меди, сульфата никеля и их смесей проводили с учетом LC50 и LC100, которые определяли графическим способом.

В соответствии с принципом биотестирования перед началом эксперимента было проведено определение диапазона реагирования цериодафний на стандартный токсикант, в качестве которого использовали бихромат калия. Определение чувствительности тест-объекта к бихромату калия показало, что LC50 составляет 1,4 мг/л, что укладывается в нормальный диапазон реагирования и дает возможность дальнейшего использования данной культуры рачков для установления токсичности опытных растворов.

В контрольных пробах (без токсикантов) верхняя температурная граница жизни цериодафний составляла 27°C, при t=30°C рачки погибали. Нижний предел выживания равнялся 8°C, при 5°C наблюдали летальный исход 100% особей. Температурный оптимум составлял 22–23°C, при этом выживаемость рачков равнялась 100% особей.

При помещении цериодафний в растворы сернокислой меди разных концентраций при различных температурах установили, что LC50 составляла 0,35 мг/л при t=10oC; 0,31 мг/л при t=15 °C; 0,26мг/л при t=20oC и 0,18мг/л при t=25oC. Сопоставление LC50 CuSO4 при различных температурах показывает прямую зависимость гибели рачков от температуры, т.е. при повышении температуры токсичность раствора сернокислой меди увеличивается, о чем свидетельствует увеличение показателя летальности особей. Аналогичная тенденция выявляется и при сравнении LC100 CuSO4 при разных температурах.

Биотестирование раствора сернокислого никеля разных концентраций при различных температурах показало, что с повышением температуры выживаемость рачков уменьшается. Величина LC50 для NiSO4 составляла 0,24, 0,19; 0,15 и 0,1 мг/л при повышении температуры от 10oC до 25oC (с шагом в 5oC). Увеличение токсичности сернокислого никеля с повышением температуры подтверждается и при сравнении LC100.

В целом анализ данных по результатам выживаемости цериодафний в растворах сернокислой меди и сернокислого никеля показал, что имеется прямой дозозависимый эффект токсичности тестируемых солей, который возрастает при повышении температуры.

При изучении влияния смесей солей сульфата меди и сульфата никеля на цериодафний в различных температурных условиях установили, что в диапазоне температур от 10oC до 25oC выживаемость рачков зависит от количественных соотношений компонентов в смеси Ni – Cu. Токсичность смеси увеличивается с возрастанием доли NiSO4. При этом сернокислый никель имеет более высокую токсичность по сравнению с сернокислой медью при всех изученных температурах. Вместе с тем, при любых соотношениях солей никеля и меди в смеси наблюдается антагонистический тип взаимодействия компонентов, что проявляется снижением токсичности смеси по сравнению с наиболее токсичным компонентом.

Таким образом, в контрольных средах максимальные верхняя и нижняя летальные температуры для цериодафний составляют соответственно 30°C и 5°C, при которых отмечается гибель 100% особей. Изученные токсиканты при оптимальной температуре (22–23Co) по степени негативного влияния на выживаемость цериодафний располагаются в ряд: сернокислый никель>сернокислая медь>смесь солей (1:1). Имеется прямой дозозависимый эффект токсичности сернокислого никеля и сернокислой меди, который возрастает при повышении температуры. При воздействии токсических веществ в любых концентрациях температурная толерантность рачков снижается, диапазон температур выживания сужается, что наиболее выражено в растворе сернокислого никеля.

SURVIVAL RATE OF *CERIODAPHNIA AFFINIS* L. IN CONDITIONS OF JOINT INFLUENCE OF TEMPERATURE AND TOXIC FACTORS

O.A. Botyazhova, E.V. Ryabuhina

The P.G. Demidov Yaroslavl state university, Yaroslavl, Russia
botyazh@bio.uniylar.ac.ru

The survival rate of *Ceriodaphnia affinis* L. in a temperature range from 5oC up to 30oC under influence of salts CuSO4, NiSO4 and their mixes in the ratio 1/3, 1/1 and 3/1 accordingly – copper/nickel is studied. It is revealed direct dose-dependent effect of toxicity of tested salts which

increases at rise in temperature. On sizes LC50 and LC100 it is established, that NiSO₄ has higher toxicity in comparison with CuSO₄ at all studied temperatures. In a range of temperatures from 10°C up to 25°C toxicity of a mix of salts increases with increase of share NiSO₄. At influence of toxic substances in any concentration the temperature tolerance *Ceriodaphnia affinis* decreases, the range of temperatures of a survival becomes less.

АКТИВНОСТЬ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ДЕТОКСИКАЦИИ У АЗОВСКОЙ ТАРАНИ (*RUTILUS RUTILUS*) В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД

Л.А. Бугаев, И.Л. Левина, А.В. Войкина, Е.А. Федорова, Л.Я. Кузнецова

Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (ФГУП «АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия
bugayov@list.ru

Тарань (*Rutilus rutilus heckeli, Nordman*) является ценным видом промышленного и любительского рыболовства на бассейне Азовского моря. В связи с этим исследования различных аспектов биологии данного вида весьма интересны и как элементы промыслового мониторинга, и в плане сохранения численности и оценки состояния популяции.

В естественных условиях организм подвергается обширному спектру воздействий со стороны биотических и абиотических факторов. Отделить какое-то отдельное воздействие от остальных и через него объяснить наблюдаемый отклик биологической системы просто невозможно. Тем не менее, проследить связь между величиной отдельного действующего фактора и динамикой некоторого физиологического или биохимического показателя вполне реально. Преднерестовый период у тарани характеризуется напряжением в работе различных систем организма: на фоне ослабленного питания, наблюдаются повышенные траты внутренних пластических и энергетических резервов, снижается толерантность к факторам внешней среды. Все эти особенности находят отражение в работе систем поддержания гомеостаза и в том числе в работе ферментативных систем антиоксидантной защиты и детоксикации.

Целью исследования являлось изучение выраженности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и эффективности механизмов антиоксидантной защиты (АОЗ) и детоксикации у производителей тарани в наиболее важный период жизни – нерестовый.

Исследовались производители тарани, выловленные в прибрежной зоне во время нерестового хода. После вылова производился осмотр рыб на выявление патологий и морфологических отклонений. В гомогенатах печени рыб определяли содержание вторичного молекулярного продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА, мкМ/мг белка), содержание восстановленного глутатиона (GSH, нМоль/мг белка) и активность следующих ферментов: супероксиддисмутазы (СОД, усл. ед./мг белка/мин), каталазы (КТ, мкМоль/мг белка/мин), ацетилэстеразы (АцЭ, нМоль/мг белка/мин), карбоксилэстеразы (КарбЭ, нМоль/мг белка/мин), глутатион-S-трансферазы (GST, мкМоль/мг белка/мин).

Визуальный осмотр наружных покровов и состояния внутренних органов не выявил отклонений от нормы. Зрелость половых продуктов варьировала от 3–4 до 4–5 стадии. Многолетние исследования, проводимые в АзНИИРХе, показывают, что у тарани на всех этапах онтогенеза физиолого-биохимические и гистологические нарушения встречаются редко, в среднем в 8% случаев, что говорит об удовлетворительном состоянии популяции этого вида.

Популяция тарани в Азовском море представлена двумя субпопуляциями, имеющими различные нагульные и нерестовые ареалы: бассейн Таганрогского залива и бассейн Ясенского залива. Условия обитания этих субпопуляций различаются в основном уровнем загрязнения углеводородами, соленостью, а так же температурными и ледовыми режимами в весенний период. Можно утверждать, что ареал Таганрогского залива приходится на более загрязненные и менее комфортные условия обитания, чем Ясенский залив.

Проведен сравнительный анализ исследованных биохимических показателей у двух субпопуляций тарани (таблица 1). Результаты исследования свидетельствуют, что интенсивность процессов ПОЛ, активность антиоксидантных ферментов СОД и КТ, компонентов глутатионовой системы GST и GSH были примерно одинаковы у двух субпопуляций рыб. Статистиче-

ских различий этих показателей у тарани, выловленной в Таганрогском и Ясенском заливах не выявлено. О повышенной стрессогенности среды обитания тарани в Таганрогском заливе свидетельствуют достоверно более низкие значения активности ферментов I фазы детоксикации АцЭ и КарбЭ.

Таблица 1. Содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в печени тарани, выловленной в различных участках Азовского моря

	МДА	СОД	КТ	АцЭ	КарбЭ	ГСТ	ГSH
Таганрогский залив	48,2 ± 2,4	0,65 ± 0,04	18,2 ± 0,9	52,8 ± 3,2 *	413,9 ± 24,3*	1,1 ± 0,1	11,4 ± 0,6
Ясенский залив	46,4 ± 3,9	0,60 ± 0,05	20,6 ± 1,0	75,9 ± 5,7	521,8 ± 24,7	1,4 ± 0,1	11,2 ± 0,6

Примечание: *Достоверные различия (p<0,05)

Представляют интерес данные о различиях в уровнях ПОЛ и активности систем АОЗ и детоксикации у самцов и самок тарани (таблица 2). Было выявлено различия в содержании МДА между группами. Наблюдался тренд в сторону преобладания МДА у самок. У самок в то же время наблюдалась и достоверно более низкая активность ГСТ, КТ, АцЭ и СОД, связанная, по всей видимости, с повышенными затратами этих ферментативных систем в условиях более интенсивного ПОЛ на фоне стрессовости ситуации (нерест).

Таблица 2. Половые различия в содержании МДА и активности антиоксидантных ферментов в печени тарани

	МДА	СОД	КТ	АцЭ	КарбЭ	ГСТ	ГSH
Самцы	43,2 ± 2,2	0,79 ± 0,05	24,1 ± 0,9	72,7 ± 5,1	475,6 ± 39,5	1,8 ± 0,1	12,0 ± 0,6
Самки	49,9 ± 2,3*	0,54 ± 0,03*	16,5 ± 0,6*	55,2 ± 3,9*	441,3 ± 20,6	1,0 ± 0,1*	10,9 ± 0,6

Примечание: *Достоверные различия (p<0,05)

Проведенные исследования показали, что в целом состояние производителей тарани в бассейне Азовского моря было хорошим, что подтверждается параллельными морфологическими, гематологическими и гистологическими данными. Полученные биохимические закономерности логично отражают взаимосвязь активности ПОЛ и детоксикационных систем, а также описывают в целом уровень комфортности условий жизни во время нерестового хода тарани из различных ареалов обитания. На основе сравнительного анализа биохимических показателей было выявлено, что среда обитания для тарани в Таганрогском заливе обладает большей токсичностью по сравнению с Ясенским заливом. Кроме того, выявлено, что адаптационные системы самок тарани находились в большем напряжении, чем аналогичные системы самцов, что, по-видимому, объясняется более значительными трансформациями физиолого-биохимических процессов в связи с подготовкой к нересту.

ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTION AND DETOXICATION SYSTEMS IN THE AZOV ROACH *RUTILIS RUTILIS* DURING THE SPAWNING PERIOD

L.A. Bugayov, I.L. Levina, A.V. Voikina, E.A. Fedorova, L.Ya. Kuznetsova

Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH) Rostov-on-Don, Russia

bugayov@list.ru

We have studied roach breeders caught in the coastal zone during their spawning migration in the Taganrog and Yasenski Bays of the Sea of Azov. The processes of lipid peroxidation, the activity of such antioxidant enzymes as superoxide dismutase and catalase, and the glutathione (GST and GSH) activity are found to be approximately similar in the fish from the both bays. There are no statistical differences between these parameters. The activity of acetylcysterase and carboxylesterase are much lower in the fish from the Taganrog Bay. Lipid peroxidation and enzyme activity differ significantly between the males and females of the roach. The trend is observed toward predominance of malone dialdehyde and the low activity of GST, catalase, acetyl esterase and superoxide dismutase, which is probably caused by increased expenditures of these enzyme systems under stress conditions of spawning with its more intensive lipid peroxidation.

ИЗМЕНЕНИЯ В МЕТАБОЛИЗМЕ МОЛОДИ СТЕРЛЯДИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ КОМБИКОРМОВ В УСЛОВИЯХ ИНДУСТРИАЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

И.В. Бурлаченко

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП «ВНИРО»),
Москва, Россия irinabou@vniro.ru

Выращивание рыб в индустриальных условиях является одним из наиболее востребованных направлений современной аквакультуры. Следует отметить, что интенсификация неизбежно связана с усилением действия различных факторов стресса, повышающих напряженность иммунитета животных и чувствительность к болезнетворным агентам. Поэтому в индустриальных условиях достаточно часто наблюдается возникновение различных патологий и заболеваний (Ведемейер и др., 1981; Рудиков, Грищенко, 1985; Зайчик, Чурилов, 2005). В последнее время, наряду с хорошо известными инфекциями и инвазиями, такие явления все чаще связаны с фоновыми микроорганизмами и их метаболитами.

В природе эти микроорганизмы встречаются на кожных покровах, жабрах, в кишечниках рыб, в воде и кормах. Однако их количество незначительно, и рыбы к ним хорошо адаптированы. При культивировании численность таких микроорганизмов многократно возрастает, что, при снижении иммунитета рыб, приводит к развитию заболеваний неинфекционной природы. Их внешние проявления, в отличие от классических болезней, как правило, стерты. Однако, появление истощенных рыб, повышенный отход, особенно при усилении неблагоприятного воздействия условий содержания, морфологические нарушения во внутренних органах свидетельствуют о значительных изменениях, которые происходят в организме под влиянием подобного микробного воздействия.

В настоящем исследовании мы хотели оценить особенности продолжительного (50 суток) воздействия на обмен веществ и жизнеспособность рыб высоких концентраций различных фоновых микроорганизмов и их токсинов, источником которых является корм.

Работа была выполнена на молоди стерляди средней массой от 7 до 30 г. В опытах использовали корма, зараженные культурами микроорганизмов, наиболее характерных для рыбных комбикормов – *Bacillus mesentericus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, *Penicillium sp.* (Бурлаченко и др., 2001; 2002). Влияние зараженных кормов на рыб характеризовали на основании изменений относительных показателей массы и содержания в организме пластических веществ в процессе роста и голодания. О направленности обменных процессов судили по результатам расчетов суммарных характеристик интегральных показателей накопления и утилизации (Щербина, 1983). Для большей наглядности и удобства восприятия, полученные величины выражали в процентах к аналогичным показателям контрольного варианта. В качестве контрольного был использован вариант, где рыбы получали тот же корм, не содержащий исследуемые микроорганизмы. Жизнеспособность молоди оценивали на основании общей выживаемости при питании зараженными кормами и последующем голодании. Результаты экспериментов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Изменения массы, количества пластических веществ, накопленных¹ при питании и сохранившихся после голодания у молоди стерляди, питавшейся кормами, зараженными микроорганизмами (% к контролю)

Виды микроорганизмов кормов	Вещества				Масса (прирост / потери)	Суммарная выживаемость, % (питание + голодание)
	влага	сухое вещество	сырой протеин	липиды		
<i>B. mesentericus</i>	114*/110**	99/94	95/93	88/87	110/162	77
<i>St. epidermidis</i>	122/108	99/94	96/90	81/50	113/193	75
<i>Proteus vulgaris</i>	78/75	86/77	83/79	119/200	82/152	61
<i>Candida albicans</i>	73/53	85/49	73/37	110/300	77/122	40
<i>Penicillium sp.</i>	75/73	78/68	76/58	114/200	83/108	32
Контроль (абсолютные значения)	74/54	17,9/9,8	11,2/5,0	1,6/0,1	92/27	84

* В числителе – накопленные вещества, ** – в знаменателе – сохранившиеся.

¹ – накопление (утилизация) рассчитаны по формуле $H = (M_1 \Pi_1 - M_0 \Pi_0) / M_0$, где М – масса рыб в начале и конце опыта, а П – содержание вещества

Питание молоди комбикормами, зараженными микроорганизмами в большинстве случаев не оказало выраженного воздействия на выживаемость рыб в процессе роста (85–100%). При голодании выживаемость рыб заметно снизилась, что свидетельствовало о неоднозначном влиянии качественных особенностей кормов. Оно выразилось в различной степени обводнения тканей, вызванным присутствием в кормах *B. mesentericus* и *St. epidermidis* и продуктов их жизнедеятельности. Кроме того, отмечено замедление синтеза липидов (на 12–19%) и их более интенсивный, чем у рыб контрольного варианта, расход в поддерживающем обмене.

Присутствие в кормах дрожжеподобных грибов, плесени и бактерий рода протей, наоборот, вызвало у растущих рыб обезвоживание, заметное сокращение синтеза белка и усиление накопления липидов. При этом липиды, несмотря на их повышенное, по сравнению с контрольным вариантом накопление, очень слабо расходовались в поддерживающем обмене. У молоди более интенсивно использовался белок, что свидетельствовало о неполноценности липидов. Особо следует отметить достаточно четко проявившуюся связь между суммарной выживаемостью молоди и количеством белка, оставшегося у рыб после голодания. В вариантах с низкой выживаемостью у молоди сохранились минимальные резервы белка.

Следствием нарушений процессов биосинтеза явились изменения в приросте массы. Так, в вариантах заражения кормов дрожжеподобными грибами, плесенью и протеом, отмечено снижение прироста массы рыб на 18–23%. В других двух вариантах рост был более интенсивным (на 10–13% выше, чем в контроле). Эти различия не выглядят значительными. Однако они скрывают достаточно серьезные изменения в обмене веществ у молоди, вызванные питанием некачественными кормами. Подтверждением этого является гораздо более существенные, чем в контрольном варианте, потери массы рыб и заметное снижение их общей жизнеспособности при голодании. Принимая во внимание тот факт, что голодание является естественным для рыб процессом, можно говорить, что микробное заражение кормов в условиях аквакультуры, не смотря на внешне скрытую форму, вызывает в организме рыб изменения, превышающие его адаптивные возможности.

ALTERATION OF METABOLISM OF YOUNG STERLETS UNDER THE INFLUENCE OF MICROORGANISMS IN THE COMBINED FEEDS IN THE CONDITIONS OF INDUSTRIAL CULTURE

I. Burlachenko

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, Russia
irinabou@vniro.ru

The metabolism of young sterlets being under influence of feeding of mixed feeds contaminated by several microorganisms has been studied. The significant changes in the direction of synthesis and utilization of several substances in processes of growth and starvation have been revealed. The direct relation between the quantity of protein reserves and viability of young sterlets has been established.

ВЛИЯНИЕ ФУЛЬВОКИСЛОТ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ, АЗОТНЫЙ И ФОСФОРНЫЙ ОБМЕН У СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

О.В. Василенко¹, П.Д.Клоченко², Т.А. Васильчук², Ю.В. Синюк¹

¹ Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина
syunol@rambler.ru

² Институт гидробиологии НАН Украины, Киев, Украина

Одной из наиболее распространенных групп органических соединений в поверхностных водах являются гумусовые вещества (Перминова, 2000). Преобладающую их часть составляют фульвокислоты (ФК). Последние оказывают значительное влияние на жизнедеятельность и биопродуктивность гидробионтов, поэтому важной задачей является установление механизмов этого воздействия.

Целью наших исследований было изучение влияния ФК на азотный, фосфорный и энергетический обмен у синезеленой водоросли *Calothrix braunii* Born. et Flah. HPDP-16, которую культивировали на среде Фитцджеральда при температуре 25 ± 1 °C и освещении лампами дневного света (2500 лк). Изучали активность ключевых ферментов: НАДН-глутаматдегидрогеназы, щелочной фосфатазы (ЩФ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) при воздействии на них ФК в концентрациях 30 и 80 мг/дм³. Образцы для анализов отбирали на 1, 3, 7 и 14-е сутки выращивания водоросли. В качестве контроля использовали культуру без ФК в питательной среде.

Исследования показали заметное влияние ФК на изучаемые ферменты. СДГ (КФ 1.3.99.1) – единственный фермент цикла трикарбоновых кислот, принимающий непосредственное участие в образовании макроэргической фосфатной связи, является наиболее чувствительным звеном дыхательной цепи (Маевский, Кондрашова, 1978). После внесения ФК в среду в концентрации 30 мг/дм³ показатели активности СДГ были выше контрольных в 1,6, 5,2 и 2,5 раза, соответственно, на 1-е, 3-е и 7-е сутки. На 14-е сутки эксперимента активность фермента была близка к показателям в контрольном варианте. Под влиянием ФК в концентрации 80 мг/дм³ также наблюдали увеличение активности исследуемого фермента: на 1-е сутки – в 3,8 раза, на 3-и – в 3,0 раза и на 7-е сутки – в 3,3 раза (по сравнению с контролем). На 14-е сутки величины активности СДГ лишь незначительно превышали показатели в контрольном варианте, но были ниже, чем при концентрации ФК 30 мг/дм³. Следует также отметить, что в случае действия ФК в концентрации 30 мг/дм³ максимум активности фермента наблюдался на 3-и сутки, а при концентрации 80 мг/дм³ – на 1-е сутки опыта.

Противоположное действие оказали ФК на активность НАДН-глутаматдегидрогеназы (КФ 1.4.1.2), активность которой снижалась уже с 1-х суток эксперимента как при концентрации ФК 30 мг/дм³ (в 10,3 раза), так и при 80 мг/дм³ (в 4,4 раза) по сравнению с контролем. На 3-и и 7-е сутки опыта показатели несколько увеличивались, но при этом были все же меньше контрольных значений в 3,9 и 3,5 раза, соответственно. На 14-е сутки активность фермента несколько повышалась по сравнению с предыдущими показателями при концентрации ФК 30 мг/дм³, однако была ниже контрольного варианта в 1,5 раза, а при 80 мг/дм³ – в 9,3 раза. Следует отметить, что резкое уменьшение активности исследуемого фермента в первый день эксперимента, возможно, связано с увеличением содержания в клетках АТФ – аллостерического ингибитора НАДН-глутаматдегидрогеназы, об усилении синтеза которого свидетельствует увеличение активности СДГ.

Активность ЩФ (КФ 3.1.3.1) также ингибировалась под влиянием ФК, однако несколько меньше, чем других изученных ферментов. Так, при воздействии ФК в концентрации 30 мг/дм³ активность фермента на первые сутки опыта снижалась в 1,5 раза, а на 3-и – в 2,2 раза. В то же время, на 7-е сутки эксперимента наблюдалось небольшое возрастание активности ЩФ, а на 14-е сутки она снова уменьшалась (в 2,8 раза по сравнению с контролем). При концентрации ФК 80 мг/дм³ отмечалось ингибирование активности фермента на протяжении всего эксперимента. В частности, на первые сутки регистрируемый показатель был ниже контрольного в 1,2 раза, а на 14-е – в 1,9 раза. Возможно, что ФК, благодаря комплексообразующей способности, связывают такие необходимые для функционирования ЩФ ионы, как Zn^{+2} и Mg^{+2} .

Таким образом, наличие в водной среде фульвокислот можно расценивать как важный фактор, оказывающий влияние на метаболизм синезеленых водорослей в зависимости от времени воздействия и концентрации в среде. Известно (Гандзюра, Грубинко, 2008), что для адаптации организма к токсичной среде эффективное функционирование метаболических систем является наиболее показательным критерием. В случае с СДГ наблюдаемое повышение ее активности может быть связано с включением компенсаторных механизмов энергообразования при повышенных затратах энергии (Парахонский, 2005), в то время как снижение активности фермента на 14-е сутки воздействия ФК, вероятно, можно объяснить тем, что адаптационные механизмы энергетического обмена начинают исчерпываться. Последнее может служить объяснением ингибирования ферментов азотного и фосфорного обмена. Поскольку ЩФ является ферментом широкого спектра действия (участвует в фосфорном, углеводном, липидном и нуклеотидном обмене), изменения ее активности может быть связано с нарушением функционирования любого из этих звеньев метаболизма (Ленинджер, 1985). Ингибирование ЩФ, а также НАДН-глутаматдегидрогеназы, на протяжении всего эксперимента свидетельствует об отсутствии у синезеленых водорослей надежного механизма адаптации к воздействию фульвокислот в исследованных концентрациях.

THE FULVIC ACIDS INFLUENCE TO ACTIVITY DYNAMIC OF ENERGETIC, NITROGEN AND PHOSPHORUS METABOLISM ENZYMES OF BLUE-GREEN ALGAE

O.V. Vasylenko¹, P.D. Klochenko², T.A. Vasilchuk², Y.V. Synyuk¹

¹ Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University of Ternopil, Ternopil, Ukraine

² Institute of Hydrobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

The influence of fulvic acids in concentration of 30 mg/dm³ and 80 mg/dm³ on energetic (succinate dehydrogenase), nitrogen (glutamate dehydrogenase) and phosphorus (alkaline phosphatase) metabolism in blue-green (*Calothrix braunii* Born. et Flah.) algae was investigated. Increased activity of succinate dehydrogenase was detected. In case of fulvic acids influence in concentration 30 mg/dm³ the activity peak was observed on 3 day, at 80 mg/dm³ – on 1 day. On the 14 day of experiment the activity of succinate dehydrogenase was close to control. Both concentrations of fulvic acids decreased glutamate dehydrogenase and alkaline phosphatase activity. Concluded that the reliable adaptation mechanism of blue-green to fulvic acids influence with investigated concentrations is absent.

РЕОРЕАКЦИЯ И ФОРМИРОВАНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ГРУПП СЕГОЛЕТОК АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ (*SALMO SALAR* L.) В РЕКЕ ВАРЗУГА (КОЛЬСКИЙ ПОЛУОСТРОВ)

А.Е. Веселов¹, Д.С. Павлов², М.И. Скоробогатов², Д.А. Ефремов¹

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия veselov@krc.karelia.ru

² Учреждение Российской академии наук Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия pavlov@sevin.ru

Выполненные в 2004–2008 гг. подводные наблюдения в среднем течении р. Варзуга показали, что в прибрежной части порога Ареньгский основного русла Варзуги и в устье впадающего в него притока Ареньга ежегодно образуются скопления сеголеток лосося. Эти мальки во второй декаде июня расселялись из нерестовых гнезд, расположенных в центральной части порога. По возникшим в течение летнего периода различиям в размерно-весовых и биохимических показателях (энергетического обмена и липидного статуса) было доказано формирование из скоплений устойчивых фенотипических групп (Павлов и др., 2007, 2008). Вместе с тем, можно предположить, что механизмы образования фенотипических групп сеголеток атлантического лосося, связанные с разнокачественностью эмбрионов и последующими стартовыми возможностями расселения личинок по микробиотопам, в значительной степени зависят от проявления реореакции.

Известно, что развитие молоди лосося и развешивание территориальных, кочевых и миграционных комплексов поведенческих реакций, основанных на различном сочетании пищевой, оборонительной, исследовательской и социальной активности происходит на фоне постоянного воздействия потока (Веселов, 2006). Основной врожденной поведенческой реакцией рыб, обитающих в потоке, является реореакция, она компенсирует их снос против течения и способствует удержанию в районе обитания (Павлов, 1979). В онтогенезе молоди происходит развитие сенсорных органов и плавательной способности, что сопровождается снижением пороговых и увеличением критических скоростей течения (Протасов, 1968, 1978; Павлов, 1979, 1986). Существенные изменения этих функциональных показателей происходят на первых этапах развития, т.к. интенсивно меняется морфология тела, развиваются локомоторные органы, органы чувств и усложняется поведение (Васнецов, 1948; Алеев, 1963). Реореакция может служить мерой отношения к потоку и быть ключом к раскрытию адаптивных механизмов, реализуемых в поведении рыб. Можно предположить, что она в значительной степени определяет сезонные закономерности пространственного распределения и, следовательно, формирования фенотипических групп сеголеток лосося.

Однако к настоящему времени таких исследований на молоди атлантического лосося не проводилось. В связи с этим задача заключалась в изучении показателей реореакции сеголеток атлантического лосося из двух фенотипических групп, образовавшихся в прибрежье и притоке после расселения из нерестовых гнезд, расположенных в пороге главного русла реки Варзуга.

Исследование показателей реореакции сеголеток лосося проводили в специально сконструированной гидродинамической установке (рис.). Перед экспериментом сеголеток лосося по одному из исследуемой фенотипической группы акклимировали к условиям установки, пересаживая на 10 минут в экспериментальную камеру. Вода, забираемая из реки насосом, подавалась в экспериментальную камеру, где находился малек. Скорость течения изменяли в пределах 0–0,8 м/с при помощи регулировочного крана.

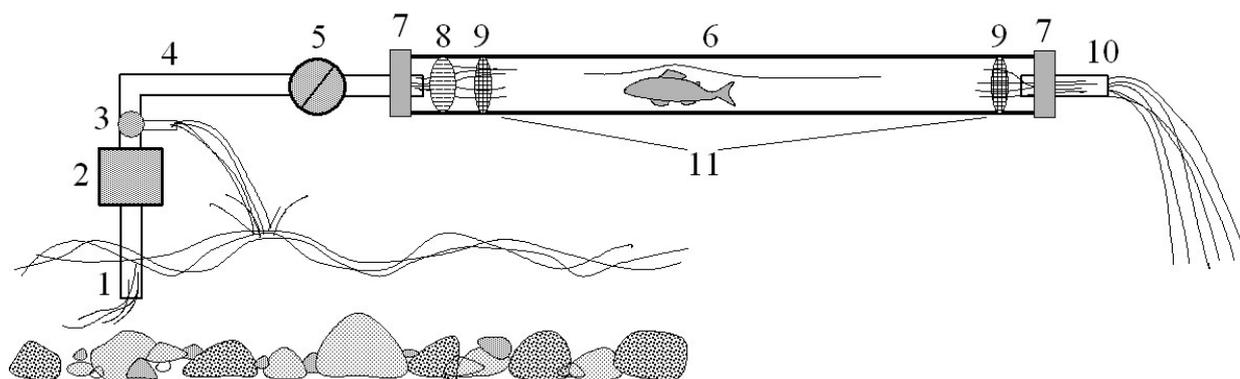


Схема гидродинамической установки: 1 – всасывающий патрубок, 2 – центробежный насос, 3 – сбросной клапан, 4 – подающий шланг, 5 – регулировочный кран, 6 – стеклянная трубка, 7 – пробка, 8 – успокоитель потока, 9 – рыбоудерживающая сетка, 10 – водоотводный патрубок; 11 – экспериментальная камера

Установлено, что начало проявления двигательной реакции на поток (V пор.) достоверно не различается между особями обеих групп (табл.), несмотря на то, что выявлены достоверные различия в длине тела и весе. Мальки, расселившиеся в приток, оказались крупнее прибрежной группы. Вместе с тем, два других показателя реореакции, характеризующие скорости течения при которых включается активная локомоция (V акт.) и критические скорости (V крит.), когда малек лосося перестает сопротивляться и сносится течением, имели достоверные различия. У группы мальков из притока компенсаторное включение локомоции (V акт.) для удержания в потоке происходило при более высоких скоростях течения. Они также выдерживали повышенные критические скорости (V крит.), что обеспечивает большую пластичность при перераспределении в естественном градиенте скоростей течения и избирании благоприятных для обитания микробиотопов в русле реки.

Показатели реореакции фенотипических групп сеголеток лосося

Группы сеголеток	Показатели реореакции		
	V пор.	V акт.	V крит.
Прибрежные	$0,83 \pm 0,35$	$6,08 \pm 0,64$	$26,17 \pm 2,15$
Устьевые	$1,02 \pm 0,54$	$7,77 \pm 0,80$	$34,27 \pm 2,33$

Выявленные по показателям реореакции устойчивые различия сравниваемых групп сеголеток, которые возникли сразу после расселения из одних и тех же нерестовых гнезд, свидетельствуют о разноразнокачественности эмбрионов. Поэтому, проявившиеся особенности реореакции можно рассматривать как одну из предпосылок возникновения фенотипических групп. В дальнейшем это отразится на темпе роста, т.к. заселяются не одинаково благоприятные микробиотопы, и повлияет на наступление разновременных сроков смолтификации и миграции на нагул молоди. Различные условия, как и начальная разноразнокачественность эмбрионов, по-видимому, и определяют формирование сложной по числу прожитых лет в реке и в море возрастной структуры варзугской популяции атлантического лосося.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (08-04-00927) по проекту «Покатная миграция молоди лососевых, закономерности и механизмы».

НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНАХ БЕЛОМОРСКИХ МИДИЙ *MYTILUS EDULIS*

Р.У. Высоцкая, С.А. Такшеев, В.С. Скидченко

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия gimma@bio.krc.karelia.ru

Интенсивное освоение природных богатств северо-западного региона России привело к заметным изменениям в экосистемах бассейна и самого Белого моря. И хотя современное состояние водной среды и биоты признается устойчивым и перспективным для развития марикультуры, рыбного хозяйства, водного транспорта и других видов хозяйственного использования (Белое море и его водосбор..., 2007), серьезную озабоченность вызывает наличие локальных участков загрязнения эстуариев и побережья поллютантами, в том числе тяжелыми металлами. В исследованиях последних лет отмечено более высокое накопление тяжелых металлов в мышцах морских обитателей (Семущин, 2007) по сравнению с предыдущим периодом. Физиолого-биохимические механизмы устойчивости гидробионтов к этим токсикантам изучены недостаточно.

Целью данной работы являлось изучение воздействия ионов тяжелых металлов на некоторые биохимические показатели типичных представителей макрозообентоса Беломорского побережья – двустворчатых моллюсков *Mytilus edulis* L. Эксперименты проводили на базе Картеш ББС ЗИНа РАН. Мидий отлавливали на сублиторали в Чупинской губе Кандалакшского залива. Одноразмерных моллюсков помещали в 16-литровые аквариумы с морской водой, естественным температурным и световым режимом и принудительной оксигенацией. После акклимации к лабораторным условиям мидий подвергали воздействию различных концентраций хлоридов кадмия и меди. Испытывали следующие концентрации действующих агентов (в пересчете на катион): Cu^{2+} – 5, 50 и 250 мкг/л; Cd^{2+} – 10, 100 и 500 мкг/л. Контролем служили моллюски из аквариумов без добавления указанных солей. Ставили 2 серии опытов: в первой экспозиция составляла 24 часа, в другой – 72 часа. По окончании экспериментов из каждого аквариума отбирали по 7 особей. Органы мидий до проведения анализов хранили в замороженном состоянии при -80°C . В пробах определяли содержание тяжелых металлов, общий белок и активность 5 лизосомальных ферментов (кислой фосфатазы, β -глюкозидазы, β -галактозидазы, ДНКазы и РНКазы) по методам, принятым в нашей лаборатории (Высоцкая, Немова, 2008). Анализ содержания тяжелых металлов в минерализатах мягких тканей мидий проводили на атомно-адсорбционном спектрофотометре АА 6800 фирмы Shimadzu в аналитической лаборатории Института леса Кар НЦ РАН.

Показано, что в ходе эксперимента в мягких тканях моллюсков происходит существенное накопление тяжелых металлов (таблица).

Накопление тяжелых металлов в мягких тканях мидий *Mytilus edulis* (в мкг/г сухого веса) в аквариальном эксперименте

Варианты опыта		Накопление Cd^{2+} в тканях	Варианты опыта		Накопление Cu^{2+} в тканях
Концентрация Cd^{2+} , мкг/л	Экспозиция, сутки		Концентрация Cu^{2+} , мкг/л	Экспозиция, сутки	
Контроль	1	0.93	Контроль	1	3.75
Контроль	3	1.14	Контроль	3	4.73
Cd^{2+} , 10	1	1.98	Cu^{2+} , 5	1	4.31
Cd^{2+} , 10	3	2.91	Cu^{2+} , 5	3	3.37
Cd^{2+} , 100	1	8.41	Cu^{2+} , 50	1	7.40
Cd^{2+} , 100	3	18.6	Cu^{2+} , 50	3	6.47
Cd^{2+} , 500	1	22.8	Cu^{2+} , 250	1	11.90
Cd^{2+} , 500	3	33.6	Cu^{2+} , 250	3	19.50

Особенно четко прослеживается зависимость от концентрации соли и времени экспозиции для кадмия, содержание которого к концу эксперимента в 25–29 раз превышало контрольный уровень (при экспозиции 1 и 3 суток, соответственно). Медь накапливалась в тканях мидий в меньшем

количестве, чем кадмий. Её уровень превышал контрольные значения в 3–4 раза. Значительное накопление кадмия в тканях сказывалось на общем содержании белка: в пищеварительной железе в обеих сериях опыта наблюдалось снижение, а в жабрах при более высоких концентрациях металла в воде и при длительном воздействии отмечалось небольшое повышение уровня белка. Реакция на присутствие меди в среде обитания мидий была более заметной. В пищеварительной железе в первые сутки опыта содержание белка возрастало на 20%, а в жабрах при минимальной концентрации меди (5 мкг/л) в 2 раза превышало контрольные значения. Этот факт можно расценивать как адаптивную реакцию. Возможно, повышение происходит за счет индукции синтеза металлотионеинов и других белков, участвующих в биотрансформации тяжелых металлов. Изменение активности кислых гидролаз в разных органах мидий под влиянием тяжелых металлов также было неоднозначным. В пищеварительной железе по мере роста концентрации ионов кадмия и меди, как правило, наблюдалось угнетение исследованных ферментов. Указанная закономерность отмечена при экспозиции в течение 1 суток. При выдерживании мидий в растворе солей в течение 3 суток реакция со стороны лизосомальных ферментов была более сложной. В жабрах мидий с ростом концентрации ионов металлов и сроков экспозиции происходило повышение уровня лизосомальных гидролаз. Особенно заметно изменялась активность гликозидаз: в жабрах по мере накопления меди активность глюкозидазы резко возрастала, а галактозидазы угнетались.

Таким образом, накопление тяжелых металлов в органах мидий сопровождалось тканеспецифичными сдвигами метаболизма, зависевшими от концентрации и времени воздействия агента, а также его химической природы.

Работа выполнена при поддержке Программы Президента РФ «Ведущие научные школы РФ» НШ-3731.2010.4, программ ОБН РАН «Биоресурсы 2009–2011» и Президиума РАН «Биоразнообразие 2009–2011».

EFFECT OF HEAVY METAL ACCUMULATION ON SOME ENZYMATIC ACTIVITIES OF THE WHITE SEA MUSSELS *MYTILUS EDULIS*

R.U. Vysotskaya, S.A. Taksheev, V.S. Skidchenko

Institute of biology of Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia
rimma@bio.krc.karelia.ru

Impact of different concentrations of Cd and Cu salts (chlorides) on biochemical parameters of the blue mussels *Mytilus edulis* L. was studied in model experiment. It was shown, that essential accumulation of the metals in mussels body registered in the experiment, caused tissue-specific changes in the total protein content and activity of lysosomal hydrolases. The biochemical changes observed were different for Cd and Cu and depended on dose and exposure time.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНАХ СИГОВ ИЗ СЕВЕРНЫХ ВОДОЕМОВ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ АНТРОПОГЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ

Р.У. Высоцкая, С.А. Такшеев, Д.С. Савосин, О.П. Стерлигова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
г. Петрозаводск rimma@bio.krc.karelia.ru

Состояние водных экосистем отражает общее состояние биосферы, антропогенное воздействие на которую постоянно растет. К настоящему времени в результате многопланового влияния человека трансформированы практически все крупные водные объекты. Среди живых организмов, обитающих в водоемах, рыбы в силу биологических особенностей являются идеальным объектом, позволяющим оценить степень этих трансформаций (Лукьяненко, 1987). По состоянию популяций и организмов рыб можно составить представление о состоянии среды их обитания, о качестве воды, определить степень нагрузки на экосистему. Особый интерес представляют исследования на таких хозяйственно ценных и требователь-

ных к качеству воды рыбах, как лососевые и сиговые. Стенобионтный характер рыб этих семейств обуславливает их быструю реактивность на изменение экологической ситуации в водоеме и делает их хорошими биоиндикаторами (Моисеенко, 1997; Кашулин и др., 1999). Для выявления эффекта различных воздействий на состояние водных экосистем наряду с биологическими и гидрохимическими методами все чаще привлекаются генетические и биохимические исследования. Они позволяют устанавливать ранние эффекты на клеточном и организменном уровне до проявления видимых нарушений на более высоких уровнях биологической иерархии в экосистемах (Патин, 2004). Кроме того, использование биохимических показателей значительно расширяет возможности изучения самих рыб, их устойчивости и адаптивных возможностей при воздействии разнообразных факторов среды. Важная роль в адаптациях на уровне клетки принадлежит лизосомальным ферментам (Высоцкая, Немова, 2008).

Целью настоящей работы было установление естественной изменчивости исследуемых показателей (активность лизосомальных гидролаз, содержание белка) у биоиндикаторного вида из чистых озер и сопоставление с соответствующими данными у рыб из водоемов, загрязняемых промышленными поллютантами. Исследования проводили на сигах *Coregonus lavaretus* L. из чистого, сохранившегося в естественном состоянии и практически не подвергающегося антропогенному влиянию озера Тумасозеро. Водоем характеризуется низкой минерализацией воды – 10 мг/л, значением рН – 6.04, бедной кормовой базой. В озере обитает 9 видов рыб (окунь, плотва, щука, ряпушка, сиг и др.). Сиг представлен одной формой – многотычинковой. Сиг Тумасозера отличается быстрым темпом роста, поздним созреванием и планктонным питанием (Стерлигова и др., 2010). Для биохимических исследований были взяты половозрелые самцы и самки разных возрастных групп (от 4+ до 7+), все 5-ой стадии зрелости гонад.

Результаты исследования показали, что активность кислой фосфатазы в мышцах изученных групп рыб мало отличается. Можно отметить лишь более низкий уровень фермента у самок по сравнению с самцами. Довольно близки показатели по активности РНКазы. Единственное исключение представляет снижение активности данной нуклеазы у самцов возраста 7+. Уровень активности обеих нуклеаз у самок также был ниже по сравнению с самцами. Более заметные различия наблюдались по активности ферментов углеводного обмена. У самцов и самок старших возрастных групп отмечалось повышение активности β -галактозидазы в мышцах. В гонадах самок активность кислой фосфатазы была несколько ниже, чем у самцов. Та же закономерность характерна и для нуклеаз и наиболее выражены различия по активности ДНКазы. Активность всех изученных кислых гидролаз была снижена в гонадах самцов возраста 6+.

Данные по тумасозерскому сигу были сопоставлены с соответствующими показателями сигов из озера Каменное, которое имеет сходные характеристики с Тумасозером, сохранило высокое природное качество воды, по шкале трофности также относится к олиготрофным водоемам. В уловах 2009 года в этом озере отмечены 7 видов рыб (окунь, сиг, плотва, щука, уклея, хариус, ряпушка). Сиг в оз. Каменном представлен малотычинковой формой, половое созревание которого наступает на третьем году жизни. Имеет смешанный тип питания. Для биохимического анализа брали самцов и самок второй стадии зрелости гонад. При сравнении биохимических показателей оказалось, что в мышцах и гонадах самцов тумасозерского сига было более высокое содержание белка, а также более высокая активность кислой фосфатазы. Другие показатели были более низкими, что, на наш взгляд, объясняется влиянием эндогенных факторов.

Активность кислой фосфатазы в мышцах сигов из озера Каменного у самцов и самок, а также в разных возрастных группах (2–4 года и 6 лет) практически не различалась. В печени же, жабрах и почках самок уровень этого фермента был более высокий, чем у самцов. Активность β -глюкозидазы в старшей возрастной группе самцов была значительно выше в печени и жабрах.

Самыми заметными были отличия по уровню активности ферментов в органах сигов из загрязняемого отходами горно-перерабатывающей промышленности оз. Ковдор. При этом интересно отметить, что показатели активности кислой фосфатазы в печени, почках и жабрах сигов из условно чистого озера Пиренга, служившего контрольным водоемом в этих исследованиях, была выше, чем у сигов из оз. Каменное. Это может свидетельствовать о значительно большем аэротехногенном загрязнении Пиренги по сравнению с озером Каменным и Тумасозером.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о том, что промышленные поллютанты оказывают более сильное воздействие на активность лизосомальных гидролаз по сравнению с естественными эндогенными и экзогенными факторами. Тем не менее, при проведении на-

турных исследований с использованием биохимических методов для мониторинга и индикации водных экосистем, изучении степени антропогенного воздействия на них, следует более строго подходить к подбору «контрольных вариантов», учитывая многофакторность и опосредованность ответных биологических реакций.

Работа выполнена при поддержке Программы Президента РФ «Ведущие научные школы РФ» НШ-3731.2010.4, программ ОБН РАН «Биоресурсы 2009–2011» и Президиума РАН «Биоразнообразие 2009–2011».

LYSOSOMAL ENZYME ACTIVITY IN WHITE FISH TISSUES FROM NORTH-WEST RUSSIA WATER BASINS WITH DIFFERENT LEVEL OF POLLUTION IMPACT

R.U. Vysotskaya, S.A. Taksheev, D.S. Savosin, O.P. Sterligova

Institute of biology of Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia
rimma@bio.krc.karelia.ru

Comparative study of lysosomal enzymes activity in white fish (*Coregonus lavaretus* L.) tissues from intact and polluted by mining factories water basins of North-West Russia was performed.

ВЫРАЩИВАНИЕ ТРИПЛОИДНОЙ ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ *CRASSOSTREA GIGAS* В ЧЕРНОМ МОРЕ

О.Ю. Вялова

Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина
voksa@optima.com.ua

Триплоидные формы различных видов рыб и моллюсков широко используются в качестве объектов культивирования во всем мире. Накоплен большой опыт промышленного выращивания таких двустворчатых моллюсков как тихоокеанская устрица *Crassostrea gigas*, восточная устрица *C. virginica*, сиднейская скальная устрица *Saccostrea glomerata* (или *S. commercialis*), европейская плоская устрица *Ostrea edulis*, морское ушко *Haliotis laevis* и *H. rubra*, кламс *Tapes dorsatus*, гребешок *Argopecten irradians* (Tabarini C.L., 1984; Nell J.A et al., 1994; Nell J.A., 2002; Liu W. et al., 2006; Guo X., 2009).

Организмы, обладающие дополнительным набором хромосом, обладают рядом преимуществ по сравнению с диплоидными формами. Они характеризуются высокими скоростями линейного и весового роста, степенью выживаемости, устойчивостью к различным заболеваниям и неблагоприятным внешним факторам. Все это делает триплоидов привлекательными объектами для коммерческого выращивания (Nell J.A., 2002).

Тихоокеанская гигантская устрица *Crassostrea gigas* является самым распространенным видом морской конхиокультуры, объемы ее выращивания достигают 60% от общей численности всех культивируемых моллюсков (по данным ФАО за 2007г.). В Черное море этот вид был впервые интродуцирован в 80–90-х гг. (Орленко А.Н., 1994, 2008; Холодов В.И. и др., 2000). Тихоокеанская устрица хорошо адаптировалась к новым условиям обитания и стала, наряду с черноморской мидией, одним из самых перспективных видов марикультуры (Золотницкий А.П., Моница О.Б., 1992; Золотницкий А.П., Орленко А.Н., 1999). Однако в силу различных причин того времени устрицеводство на Черном море так и не получило своего успешного развития.

Начиная с 2005г., Институтом биологии южных морей НАН Украины совместно с компанией ООО «Яхонт ЛТД» реализуется проект по промышленному выращиванию черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* и тихоокеанской устрицы *C. gigas* в акватории Голубого Залива (пгт. Качивели, Южный берег Крыма). Морская ферма типа long-line занимает площадь 5га, выращивание моллюсков осуществляется в подвесной культуре. Посадочный материал – спат диплоидных и триплоидных устриц – импортируется из специализированных питомников Англии и Франции, расположенных на Атлантическом побережье.

В течение 2007–2009 гг. осуществлялся контроль за ростовыми процессами моллюсков, измерялись высота раковины (мм), масса моллюска с раковиной (г), рассчитывалась скорость роста, соотношение высоты раковины и массы моллюска. Молодь устрицы с размером раковины 6–7мм помещали в сетные рукава длиной 30–40см с плотностью посадки 10–12 тыс. экз./м².

По оценкам, проведенным через месяц после посадки спата, оказалось, что понижение солености (32 → 17,2‰) не отразилось на выживаемости моллюсков, которая составила 100%. Молодь устрицы хорошо адаптировалась к новым условиям среды обитания, и через месяц был отмечен значительный рост. На ювенильной стадии (возраст 2–3 месяца) размеры полиплоидных и обычных устриц достоверно не отличались, по мере роста различия стали более очевидными. Масса диплоидных моллюсков в течение первого месяца увеличилась в среднем в 2,8–3,8 раза, триплоидных – в 4,4–4,7 раза. Абсолютная скорость роста раковины устриц в летние месяцы достигала 0,39 мм/сутки, массы тела – до 17,3 мг/сутки, у полиплоидных моллюсков – до 0,51 мм/сутки и 27,2 мг/сутки, соответственно.

Вариабельность линейных размеров всех исследуемых устриц составляла 45%, а массы моллюсков достигала 85%. Наиболее широкий вариационный ряд был представлен у триплоидных устриц – от 8 до 40мм по высоте и от 0,12 до 4,2г по массе. Согласно нашим результатам, крупные моллюски составляли от 10 до 30% от общей численности. Уже через 2 месяца после высадки спата были зафиксированы максимальные размеры полиплоидов в пределах 50–65мм, через 4 месяца – 80–87мм, а к апрелю 2008 года, т.е. через 8 месяцев, у отдельных экземпляров *C.gigas* высота раковины достигала 110–115мм. По мере роста устрицы сортировались и рассаживались различным способом в зависимости от линейных размеров: мелкие (менее 20мм) экземпляры – в сетные мешки, моллюски средних размеров (20–40мм) – в пластиковые мелкоячеистые садки, крупные (более 40мм) – непосредственно в устричные садки (из расчета 300 экз/м²). При размещении моллюсков на различных носителях придерживались принципа, чтобы они располагались не более чем в 2 слоя, согласно рекомендациям французских фермеров.

При выращивании в устричных садках с плотностью посадки 350–450 экз/м² устрицы достигали товарных размеров уже через 16–18 месяцев.

Размерно-весовые соотношения устриц разной пloidности выражались следующими аллометрическими уравнениями:

$$W = 2,3 \cdot 10^{-3} \cdot H^{1,89} \text{ (при } r^2 = 0,78) \text{ – для сеголеток диплоидов}$$

$$W = 5 \cdot 10^{-4} \cdot H^{2,389} \text{ (при } r^2 = 0,88) \text{ – для сеголеток триплоидов}$$

$$W = 0,9 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2,2297} \text{ (при } r^2 = 0,58) \text{ – для годовиков диплоидов}$$

$$W = 0,8 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2,196} \text{ (при } r^2 = 0,73) \text{ – для годовиков триплоидов,}$$

где W – масса моллюсков с раковиной, H – высота раковины.

Наши данные показали, что интенсивность роста у моллюсков разной пloidности четко отличается лишь в первые месяцы жизни (до 4–5 месяцев). Затем такие особенности триплоидных особей практически нивелируются. Максимальные значения линейного роста наблюдаются у сеголетков, с возрастом эта величина снижается. У годовиков полиплоидных устриц интенсивность роста раковины практически совпадала с показателями диплоидных форм. Однако обычные моллюски одной и той же размерной группы обладали меньшей массой по сравнению с триплоидами. Следует также учитывать тот факт, что в условиях Черного моря гигантская устрица интенсивно растет на протяжении двух лет. В возрасте 2+ происходит увеличение только размеров и массы раковины, а накопление массы мягких тканей приостанавливается (Золотницкий А.П., Моница О.Б., 1992; Золотницкий А.П., Орленко А.Н., 1999).

Триплоидные моллюски интенсивно растут при температурах выше 17–20⁰С и при хорошей обеспеченности пищей. Очевидно, что в черноморских условиях с четко выраженной сезонной динамикой гидрологических и гидрохимических характеристик, синусоидальными изменениями содержания кормового фитопланктона потенциальные ростовые возможности полиплоидных моллюсков не проявляются в полной мере, поэтому достоверных различий в темпах роста триплоидных и диплоидных *C.gigas* нами не установлено. Однако ряд других преимуществ, таких как отсутствие или ограничение гаметогенеза и других процессов, связанных с размножением, устойчивость к различного рода заболеваниям, делают триплоидных устриц перспективными для выращивания в Черном море.

THE FIRST RESULTS OF CULTIVATION OF TRIPLOID PACIFIC OYSTER *CRASSOSTREA GIGAS* IN THE BLACK SEA

O.Yu.Vyalova

Institute of biology of the southern seas, NANU, Sevastopol, Ukraine
voksa@optima.com.ua

There are results of cultivation of triploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* on the marine farm located in the Goluboy Zaliv's area (settlement Katsiveli, Southern coast of Crimea). The comparative analysis of growth of diploid and triploid oysters is presented; the recommendations of technology of cultivation in the Black sea conditions are formulated.

ЭФФЕКТЫ ВНУТРИБРЮШИННОГО И ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ВВЕДЕНИЯ СЕРТОНИНА НА ПИЩЕДОБЫВАТЕЛЬНУЮ И ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КАРПА *CYPRINUS CARPIO* L.

Д.В. Гарина

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
п. Борок, Ярославской обл., Россия
darina@ibiw.yaroslavl.ru

В настоящее время признано, что в основе формирования поведенческих мотиваций животных и выбора между альтернативными программами поведения находится баланс нейротрансмиттеров в мозге (Сахаров, 2007; Schwartz et al., 1997; Inui, 1999 и др.). Биогенные амины, в частности серотонин, также вовлечены в регуляцию различных типов поведения – агрессивного, полового, социального, пищевого, – у животных разного уровня, в том числе рыб (Gaworecki and Klaine, 2008). Показано, что увеличение содержания серотонина в ряде областей мозга сопровождается снижением интенсивности питания рыб, и напротив, при голодании количество серотонина значительно снижается в тех же областях мозга (de Pedro et al., 1998; Ruibal et al., 2002). Эффекты периферического введения серотонина (внутрибрюшинного и внутримышечного) на комплекс характеристик пищевого поведения рыб ранее не исследовались.

Исследование проводилось в октябре – декабре 2009 г. на сеголетках карпа *Cyprinus carpio* L., массой 5.4 ± 0.2 г, длиной 74 ± 0.6 мм. Перед началом эксперимента отбирали 12 особей, из которых формировали 4 группы по 3 особи и приучали их в течение десяти дней к питанию в экспериментальной установке, после чего у рыб всех групп снимали «фоновое» поведение в течение 5-ти дней. Экспериментальная установка состояла из 4-х аквариумов объемом 200 л и площадью дна 0.6 м^2 , снабжённых механическим фильтром, с укрепленными над ними зеркалами. На дне аквариумов речной песок слоем 2–3 см. Режим освещения: 8 час «свет» – 16 час «темнота». Температура воды $+22...23^\circ\text{C}$. Корм (личинки хирономид, в количестве 90 экз. на группу рыб) давали рыбам один раз в сутки. Личинки раскладывались группами по 30 экз. на 3 ситечка диаметром 8 см. Ситечки закапывались в донный субстрат и имитировали «кормовые пятна». Перед началом опыта рыб отсаживали в стартовую камеру, раскладывали «кормовые пятна» и выпускали рыб. В течение 10 мин производили видеосъёмку поведения рыб при помощи цифровой видеокамеры Canon MV900 и укрепленных над аквариумами зеркал. После съёмки рыб изолировали, ситечки с несъеденными личинками удаляли и подсчитывали остаток корма. В каждом эксперименте измерялось 4 показателя пищевого поведения рыб: 1 – рацион (количество корма, съеденного за время эксперимента в расчёте на одну особь), в экз. хирономид (R); 2 – время питания (продолжительность поиска («копание» грунта) и захвата пищевых частиц рыбами в «кормовом пятне»), в с., где выделяли 2.1 – время питания одной рыбы (t один. пит.), 2.2 – время питания двух или трёх рыб одновременно (t гр. пит.); 2.4 – суммарное время питания, рассчитанное как сумма времени «одиночного» и «группового» питания (t сумм. пит.); 3 – скорость питания (отношение рациона к суммарному времени питания), в экз./с. (v пит.); 4 – двигательная активность (количество пересечений рыбами двух вертикальных линий на зеркале, делящих при съёмке площадь поверхности аквариума на три равных части) (S). Эксперимент состоял из 4-х серий опытов, каждая длительностью по 3 сут. Гидро-

хлорид серотонина в дозе 10 мкг/г массы тела (Sigma, USA), разведённый раствором Рингера для холднокровных животных, рыбам первой группы вводили внутривентриально с помощью инсулинового шприца, рыбам второй группы – внутримышечно, в объёме 0.1 мл. Контрольным группам рыб вводили равный объём раствора Рингера теми же способами. Наблюдение за пищевым поведением рыб осуществляли через 1, 5, 24, 48 и 72 ч после инъекции. Данные повторных опытов суммировались и находилось среднее значение показателей. Оцифровка видеозаписи поведения рыб осуществлялась с помощью оригинальной программы, разработанной сотрудником лаборатории экологии рыб ИБВВ РАН М. Малиным. Статистическую обработку данных производили с помощью стандартного пакета программ Statistica 6.0 с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и непараметрического критерия Манна-Уитни.

Отчётливый гормональный эффект препарата (стимуляция гладкой мускулатуры сосудов, дыхательных путей и кишечника) наблюдается уже в первые минуты после введения препарата: судорожное хватание рыбами воздуха, всплытие на поверхность, в ряде случаев опорожнение кишечника. Эти реакции наиболее сильно выражены у рыб, инъецированных внутримышечно, и наблюдаются в течение 20–30 мин.

Таблица 1. Анализ характеристик пищевого поведения карпов под воздействием серотонина за всё время эксперимента

Вводимое вещество	Характеристики пищевого поведения					
	t один. пит.	t гр. пит.	t сумм. пит.	v пит.	R	S
Серотонин (в/б)	95 ± 13.5 (53 ± 25)	88 ± 24 (135 ± 44)	183 ± 28 (187 ± 19)	0.17 ± 0,05 (0.14 ± 0,01)	21 ± 1,2 (23 ± 1.1)	106 ± 8 (76 ± 5)
Серотонин (в/м)	40 ± 13 (111 ± 52)	10 ± 3.3* (114 ± 27)	51 ± 14* (225 ± 63)	0.45 ± 0.13 (0.13 ± 0.04)	10 ± 1.7* (24 ± 0.8)	27 ± 5* (79 ± 6)
Р-р Рингера (в/б)	119 ± 17 (115 ± 22)	168 ± 15 (228 ± 24)	287 ± 25 (342 ± 46)	0.10 ± 0.01 (0.08 ± 0.02)	25 ± 0,7 (25 ± 0,7)	107 ± 11* (160 ± 4)
Р-р Рингера (в/м)	123 ± 21 (161 ± 24)	133 ± 26 (179 ± 17)	256 ± 43 (340 ± 37)	0.12 ± 0.02 (0.07 ± 0.01)	20 ± 2.1 (24 ± 0.7)	76 ± 6 (118 ± 1)

«*» – достоверные отличия от интактных рыб (one-way ANOVA, $p < 0.05$).

Показано, что внутримышечные инъекции серотонина вызывают достоверное ($F_{1,23}=37.7$, $p < 0.001$) снижение рациона карпов. Внутривентриальные инъекции снижают рацион незначительно и недостоверно ($F_{1,23}=1.44$, $p > 0.05$) (табл. 1). Максимальный эффект наблюдается через 1 ч после инъекции и составляет 77% (с 24 ± 0.9 до 5 ± 2.8 экз., $p < 0.05$) и 21% (с 23 ± 1.1 до 18 ± 1.6 экз., $p < 0.05$) по сравнению с интактными значениями в первом и втором случае соответственно. Достоверное сокращение затрат времени на питание (суммарного и особенно группового) наблюдается также лишь в случае внутримышечных инъекций. Максимальный эффект наблюдается через 1 ч после инъекции и составляет 87% (с 225 ± 63 до 29 ± 20 с., $p < 0.05$) и 100% (с 114 ± 27 до 0 с., $p < 0.05$) соответственно по сравнению с интактными значениями. В случае же внутривентриальных инъекций все указанные характеристики питания изменяются менее значительно и недостоверно (табл. 1). Двигательная активность карпов изменяется сходным образом. Так, при внутривентриальной инъекции количество пересечений недостоверно выше, чем у интактных рыб: 106 ± 8 и 76 ± 5 пересечений соответственно. В то же время при внутримышечной инъекции происходит достоверное снижение двигательной активности на 66%: 79 ± 6 и 27 ± 5 пересечений соответственно ($F_{1,13}=19.5$, $p < 0.01$). Мы предполагаем, что аноректическое действие препарата обусловлено не только периферическим эффектом (стимулирование перистальтики кишечника), но отчасти и центральным эффектом серотонина как медиатора, т.к. известно, что гематоэнцефалический барьер костистых рыб, в отличие от млекопитающих, проницаем для серотонина (Khan and Deschaux, 1997). Снижение двигательной активности карпов сходно с эффектом, наблюдаемым при фармакологической стимуляции серотонинергической активности мозга (Winberg et al., 1993), что также косвенно указывает на вовлечение центральных механизмов.

Таким образом, впервые получены сведения об ингибирующем действии серотонина, введённого внутримышечно, но не внутривентриально, на комплекс характеристик пищевого поведения карпов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 09-04-00075.

THE EFFECTS OF INTRAPERITONEAL AND INTRAMUSCULAR INJECTIONS OF SEROTONIN ON FEEDING AND MOVING ACTIVITIES OF CARPS *CYPRINUS CARPIO* L.

D.V. Garina

Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia
darina@ibiw.yaroslavl.ru

The influence of intraperitoneal and intramuscular injections of serotonin on a number of parameters of feeding behavior of juvenile carps has been investigated. It was shown that intramuscular but not intraperitoneal injections caused decreasing of the ration, time of group and summary feeding as well as moving activity of fishes. It was supposed that anorectic effect of this biogenic amine is conditioned by its peripheral (hormonal) effect – stimulation of peristalsis of digestive tract. On the other hand, partial involving of central effect of serotonin as a neurotransmitter is possible too because it is known that serotonin in teleost fishes in contrast to mammals penetrates through blood-brain barrier.

СУТОЧНЫЕ РИТМЫ ТЕРМОПРЕФЕРЕНДУМА РЫБ. АНАЛИЗ И ВЗАИМОСВЯЗИ

В.К. Голованов¹, Д.С. Капшай²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок, Ярославской обл., Россия

² Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

Суточные ритмы питания и поведения рыб широко распространены в условиях естественных водоемов и характеризуют отношение разных видов к биотическим и абиотическим факторам среды. Не менее значимы для рыб и суточные вариации конечного термопреферендума (табл.). Широко известны примеры суточных вертикальных миграций у пресноводных рыб (Малинин и др., 1996), а также способность некоторых видов (молодь нерки в оз. Бэбин, Канада) преодолевать в считанные минуты интервалы температур, превышающие 10–15°C (Brett, 1971).

Суточные ритмы конечного термопреферендума у различных видов рыб

Вид	Возраст, размер	Конечные избираемые температуры (КИТ)		Разница КИТ
		Днем	Ночью	
Разница КИТ незначительна				
<i>Acathurus triostegus</i>	Взрослые	29.3	28.6	0.7
<i>Abudefduf abdominalis</i>	Молодь	30.4	29.2	1.2
	Взрослые	24.8	25.7	0.9
<i>Balistes fuscus</i>	Молодь	23.1	23.5	0.4
<i>Canthigaster jactator</i>	–	26.9	26.5	0.4
<i>Hemirhamphus americanus</i>	–	15.4	15.0	0.4
<i>Gillichthys mirabilis</i>	–	17.1	17.1	0.0
<i>Enneacanthus gloriosus</i>	–	28.5	28.5	0.0
<i>Ictalurus natalis</i>	Молодь	28.6	29.1	0.5
	Взрослые	27.9	27.6	0.3
<i>Catostomus commersoni</i>	–	24.2	24.0	0.2
<i>Chaetodon multicinctus</i>	Молодь	26.8	26.2	0.6
	Взрослые	24.7	23.5	1.2
КИТ выше в дневное время				
<i>Zebrasoma flavescens</i>	–	23.0	19.0	4.0
<i>Amia calva</i>	–	32.0	28.8	3.2
<i>Esox masquinongy</i>	–	27.3	21.9	5.4
<i>Perca flavescens</i>	–	23.8	16.7	7.1
<i>Carassius auratus</i>	–	29.8	26.0	3.8
<i>Micropterus dolomieu</i>	–	30.1	26.6	3.5
<i>Coregonus muksun</i>	Годовики	15.0	9.0	6.0

Вид	Возраст, размер	Конечные избираемые температуры (КИТ)		Разница КИТ
		Днем	Ночью	
КИТ выше в ночное время				
<i>Pseudopleuronectes platessa</i>	–	17.6	19.7	2.1
<i>Forcipiger longirostris</i>	–	25.3	27.1	1.8
<i>Catostomus commersoni</i>	10–20 см	21.5	23.8	2.3
<i>Salmo trutta</i>	Взрослые	10.3	13.7	3.4
<i>Micropterus salmoides</i>	–	27.1	29.5	2.4
<i>Salmo gairdneri</i>	Молодь, 3–4 мес.	13.8	16.3	2.5

Наиболее эффективным примером суточной периодичности термопреферендума рыб являются опыты Рейнольдса и Кастерлин в ихтиотроне (Reynolds, Casterlin, 1978), в которых два вида – большеротый и малоротый окуни – виды, обитающие в одних и тех же водоемах, поочередно избирают днем и ночью разные и противоположные уровни температур. Данный случай следует рассматривать как пример расхождения термальных ниш (КИТ) у двух симпатрических видов.

Имеющиеся к настоящему времени данные получены преимущественно в электронных ихтиотронах – шаттл-боксах, реже в горизонтальных термоградиентных установках, и позволяют условно разделить рыб на 3 группы – не имеющих разницы КИТ днем и ночью, а также имеющих более высокие температуры днем или ночью. Отметим, что последние опыты по изучению термопреферендума на примере пяти видов в 10-суточных экспериментах показали видовую специфику и сложную динамику суточного выбора температур в условиях горизонтального градиента. Вероятно, колебания температур в диапазоне термальной ниши вида ($\pm 2^\circ\text{C}$) и более стимулируют эффективность переваривания пищи и ускоряют рост молоди и взрослых рыб (Константинов и др., 2005; Зданович, Пушкар, 2005, 2007, 2008).

Анализ собственных экспериментальных данных и литературных источников к настоящему времени позволяет заключить следующее. Выбор температуры в градиентных условиях определяется у рыб в том числе и уровнем двигательной активности (минимальной при значениях КИТ), и возрастающей по мере удаления от температурного оптимума вверх и вниз по температурному диапазону жизнедеятельности (Reynolds, Casterlin, 1979). Суточный ритм двигательной активности сложным образом связан с суточным ритмом термоизбирания и существенно зависит от уровня освещения. Непосредственно физиолого-биохимический механизм термопреферендума в настоящее время изучен недостаточно (Crawshaw, 1979), однако четко показана роль эпифиза во временной организации суточного ритма (Kavaliers, Ralph, 1980). Синхронизация пусковых механизмов циркадного ритма, как двигательной активности, так и терморегуляции, видимо, осуществляется на основе чувствительности собственно пинеального органа к свету и выработке определенного количества мелатонина – гормона, детерминирующего тип циркадной ритмики (Kavaliers, 1979).

Кроме мелатонина, по всей видимости, еще несколько гормонов участвуют в температурной регуляции водных организмов. Среди них – норэпинефрин (биогеенный амин из группы катехоламинов), дофамин – нейромедиатор, а также гормон, по химической структуре относящийся также к биогеенным аминам, конкретно к катехоламинам. В эту же группу входит и тироксин, продуцируемый тканью щитовидной железы. Все эти гормоны при введении определенных доз в организм рыб, оказывают непосредственное влияние на уровень избираемых температур и механизмы терморегуляции (Woolmuth, Crawshaw, 1987, 1988, 1989; Reynolds et al., 1982).

Существует и еще одно соединение, вырабатываемое некоторыми нервными клетками и служащее в качестве передатчика импульсов в нервной системе – биогеенный амин ацетилхолин, которое также принимает участие в температурной регуляции поведения рыб (Crawshaw, Woolmuth, 1992). Вышеприведенное только подчеркивает всю сложность и неоднозначность слабоизученных механизмов терморегуляции водных животных. Тем более, что практически не исследуется в последнее время и непосредственно температурная рецепция рыб. Недостаточно изучены также особенности ферментных и изоферментных перестроек при акклимации рыб к суточным колебаниям избираемой температуры в процессе выбора оптимальных условий.

Очевидно, что только дополнительные исследования и совместный анализ данных по двигательной активности и динамике физиолого-биохимических характеристик рыб в течение суток позволят сделать выводы о возможных механизмах включения и выключения суточного ритма термопреферендума рыб.

Работа выполнена в рамках Программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России».

DAILY THERMOPREFERENDUM RHYTHMS OF FISHES. THE ANALYSIS AND INTERRELATIONS

V.K. Golovanov¹, D.S. Kapshay²

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia

²Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia, golovan@ibiw.yaroslavl.ru

The data on a daily thermopreferendum rhythm of the juvenile and adult different species fishes are given. The fluctuations of temperatures at a level $\pm 2^{\circ}\text{C}$ and more, obviously, stimulate efficiency of digestion and accelerate growth of fishes. The analysis of the data shows, that the daily thermopreferendum and locomotory activity of fishes are interconnected and are defined by epiphysis function. Some hormones – dopamin, norepinefrine and thyroxine, and also acetylholine participate in fish thermoregulation. The physiological and biochemical mechanisms of thermoregulation and behavior thermoregulation of water animals are investigated insufficiently.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИЙ РЫБ В ЗОНЕ СУБЛЕТАЛЬНЫХ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

В.К. Голованов, Г.М. Чуйко, В.А.Подгорная

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
п. Борок, Ярославской обл., Россия
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

Тенденция к потеплению климата и планируемый ввод в эксплуатацию крупных энергетических и промышленных объектов в России неизбежно приводят к повышению уровня температур в летние и зимние периоды года как в целом по регионам страны, так и в условиях конкретных водоемов, а также в местах непосредственного обитания рыб. Именно поэтому изучение верхних температурных границ жизнедеятельности рыб в последнее время становится все более актуальным и своевременным.

К числу возможных причин и механизмов гибели рыб в высоких температурах относят изменения структуры мембран, денатурацию белков и их коагуляцию в результате нагрева, термическую инактивацию ферментов (со скоростью, превышающей скорость их синтеза), недостаток кислорода, а также различия в температурном коэффициенте (Q_{10}) для взаимосвязанных метаболических реакций и нарушения водно-солевого баланса у рыб (Голованов, Смирнов, 2004; Шмидт-Ниельсен, 1982). В то же время, физиолого-биохимические явления и процессы, происходящие непосредственно в зоне сублетальных значений температур, обычно выше 30°C , у границы жизнедеятельности гидробионтов, во многом остаются малоизученными. Отметим, что известно всего несколько работ, в которых исследовано влияние нагрева воды на активность пищеварительных ферментов (карбогидраз) в различные сезоны года (Голованова, 2007; Голованова и др., 2002, 2005)

Цель работы состояла в изучении критического термического максимума (КТМ) у молоди речного окуня и карпа в летний сезон года с последующим определением активности фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и содержания водорастворимой фракции белка (ВРБ) в мозге подвергнутой нагреву рыб.

Для оценки КТМ, а также определения АХЭ и ВРБ использованы стандартные методы, применявшиеся ранее (Голованов, Смирнов, 2007; Смирнов, Голованов, 2004; Becker, Genoway, 1979; Чуйко и др., 2007; Ellman et al., 1961 в модификации Масловой, Резника, 1976). Температура предварительной акклимации рыб равнялась 20°C , количество рыб в каждом опыте составляло 6 экз. Повышение температуры воды производили в экспериментальном аквариуме (объемом 60 л) при скоростях – $0.08^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ (или $2^{\circ}\text{C}/\text{сут}$), $4.3^{\circ}\text{C}/\text{ч}$, $8.3^{\circ}\text{C}/\text{ч}$, $16.0^{\circ}\text{C}/\text{ч}$, $32.6^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ и $46.7^{\circ}\text{C}/\text{ч}$. Метод оценки КТМ несколько модифицирован с целью не суммарного, а строго индивидуального определения биохимических показателей. Отдельная группа рыб в количестве 6 экз. использована в качестве физиолого-биохимического контроля.

КТМ у двухлетков окуня при нагреве с различной скоростью, от 0.08 до 46.7°C/ч составил в среднем 33.5, 33.2, 33.0, 32.8, 32.5 и 33.7°C соответственно, у двухлетков карпа – 40.2, 37.7, 36.2, 35.4, 35.5 и 36.1°C соответственно. КТМ у двухлетков карпа при всех скоростях нагрева всегда выше, чем у двухлетков окуня, а максимальные значения температур переворота и потери координации движения отмечены у карпа при самой медленной скорости, у окуня – при самой медленной и быстрой скоростях нагрева.

Усредненные данные по активности АХЭ целого мозга окуня и карпа, а также содержания ВРБ при разных (округленных) скоростях нагрева приведены в таблице. Данные биохимического анализа представлены в виде средних значений и их ошибок ($x \pm SE$). Результаты обрабатывали статистически, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и процедуру LSD-теста при уровне значимости $p=0.05$ (Sokal, Rohlf, 1995). Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ STATGRAPHICS Plus 2.1.

Активность ацетилхолинэстеразы и содержание водорастворимого белка в мозге рыб при разной скорости нагрева воды

Скорость нагрева, °С/ч	К-во рыб	Активность АХЭ		Содержание белка, мг/г ткани
		мкмоль/г/мин	нмоль/мг/мин	
		На 1 г ткани	На 1 мг белка	
Двухлетки окуня				
0 (контроль)	6	4.92 ± 0.71 ^{1,2}	63.8 ± 9.7 ^{1,2}	78.6 ± 6.5 ¹
0.08	8	–	–	–
4	6	3.41 ± 0.54 ²	40.2 ± 5.3 ³	83.7 ± 3.3 ¹
8	6	3.52 ± 0.09 ²	76.2 ± 2.4 ²	46.3 ± 0.3 ²
16	6	5.71 ± 0.73 ¹	68.9 ± 7.4 ^{1,2}	82.8 ± 4.9 ¹
32	6	5.27 ± 0.23 ¹	50.1 ± 3.6 ^{1,3}	106.8 ± 5.1 ³
46	6	5.39 ± 0.52 ¹	62.5 ± 8.8 ^{1,2}	88.7 ± 5.6 ¹
Двухлетки карпа				
0 (контроль)	6	3.98 ± 0.18 ³	43.6 ± 2.2 ³	96.6 ± 3.6 ⁵
0.08	6	3.03 ± 0.04 ¹	36.4 ± 0.4 ¹	83.4 ± 1.4 ³
4	6	3.59 ± 0.07 ²	81.7 ± 1.1 ⁴	44.0 ± 0.4 ¹
8	6	3.52 ± 0.09 ²	76.2 ± 2.4 ²	46.3 ± 0.3 ¹
16	6	5.47 ± 0.06 ⁴	115.3 ± 1.4 ⁵	47.5 ± 0.5 ¹
32	6	5.79 ± 0.04 ⁵	74.5 ± 1.2 ²	77.7 ± 1.1 ²
46	6	3.06 ± 0.10 ¹	33.6 ± 0.9 ¹	91.1 ± 0.6 ⁴

Как следует из приведенных данных, характер зависимости активности АХЭ в мозге двух видов рыб от скорости нагрева в целом одинаковый и различается, главным образом, при самых высоких приростах температуры. С увеличением интенсивности нагрева активность фермента снижается по сравнению с контролем, и в интервале 0.08–8°C/ч остается примерно на одном уровне. Начиная со скорости 16°C/ч, она становится выше контрольных значений и на этом уровне остается у окуня вплоть до скорости 46°C, а у карпа при этом режиме нагрева резко снижается до значений, несколько меньше контрольных. Характер изменений ВРБ также сходный, хотя имеются и различия. У окуня значения этого показателя в целом остаются на уровне контроля при разных режимах нагрева, лишь заметно снижаясь при скорости 8°C/ч и повышаясь при 32°C/ч. У карпа медленное снижение значений ВРБ наблюдается уже при 0.08°C/ч и в диапазоне 4–16°C/ч остается на низком уровне. При дальнейшем повышении скорости нагрева ВРБ возрастает, достигая при 46°C/ч контрольного уровня.

Исходя из данных по активности АХЭ, можно заключить, что в диапазоне скоростей нагрева до 8°C/ч организм рыб более легко, а при более высоких скоростях несколько труднее адаптируется к резко возрастающей температуре среды (за исключением только самой высокой скорости нагрева у карпа). В последнем случае у карпа, возможно механизмы температурной адаптации существенно затруднены. Аспекты адаптации АХЭ в столь высоких (35–40°C) и быстро меняющихся температурах среды требуют дальнейшего углубленного изучения.

Динамика изменения содержания ВРБ на всех скоростях, очевидно, объясняется адаптацией, в результате которой происходит повышение биохимического синтеза в организме. Пониженное содержание ВРБ у обоих видов также отмечается в диапазоне скоростей нагрева 8°C/ч (у окуня) и

4–16°C/ч (у карпа). Резкого повышения содержания ВРБ, возможно, связанного с начальным разрушением клеток и выходом образующих их белков в межклеточное пространство, не отмечено. Тем не менее, по динамике изменений содержания ВРБ в диапазоне скоростей нагрева от 4 до 32°C/ч, молодь карпа, вероятно, несколько устойчивее к нагреву.

Исследование ферментных систем различного уровня у рыб в зоне сублетальных температур позволит по-новому оценить как адаптационные возможности, так и физиолого-биохимические механизмы водных животных в процессе температурных адаптаций.

Работа выполнена в рамках Программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России».

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF FISH ADAPTATIONS IN A ZONE HIGH SUBLETHAL TEMPERATURES

V.K. Golovanov, G.M. Chuiko, V.A. Podgornaya

Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

The critical thermal maximum (KTM) of the fingerlings of river perch and yearlings of carp are investigated. The brain enzyme acetylcholinesterase activity (ACE) and soluble protein content (SPC) of the fishes, subjected heating is determined. In a range of six rates of heating from 0.08 up to 46°C/h maximal KTM are marked at yearlings carp and fingerlings of the perch at the slowest speed. The character of dependence of brain activity ACE and contents SPC in fishes from rate of heating is various. Changes of activity ACE and contents ACE are discussed at different rates of heating.

ГИДРОЛИЗ УГЛЕВОДОВ У ПРЕСНОВОДНЫХ КОСТИСТЫХ РЫБ И ОБЪЕКТОВ ИХ ПИТАНИЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

И.Л. Голованова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок, Ярославской обл., Россия
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

Известно, что эффективность питания рыб в значительной мере зависит от состояния ферментных систем желудочно-кишечного тракта. Пищеварительные карбогидразы, участвуя в деструктурировании объектов питания, обеспечивают начальные этапы ассимиляции углеводных компонентов пищи. В свою очередь, гидробионты, составляющие кормовую базу рыб, обладают достаточно высоким уровнем активности гидролаз, способных осуществлять процессы аутодеградации и принимать участие в пищеварении консументов (Кузьмина, 2005). Различные природные и антропогенные факторы могут оказывать значительное влияние на активность ферментов рыб и объектов их питания. При этом в естественных условиях природные и антропогенные факторы, как правило, действуют комплексно, в результате чего эффекты отдельных агентов могут усиливаться или ослабляться.

В настоящее время практически все водоемы загрязнены тяжелыми металлами. Даже биогенные элементы, такие как Cu и Zn, в малых количествах являющиеся жизненно необходимыми, в больших концентрациях токсичны для гидробионтов. Попадая в организм вместе с водой и пищей, они могут оказывать негативное влияние на морфофункциональные характеристики пищеварительного тракта рыб и физиолого-биохимические показатели беспозвоночных животных. Однако к моменту начала наших исследований практически отсутствовали данные по влиянию ионов тяжелых металлов на активность карбогидраз рыб и беспозвоночных животных, а действие температуры и pH традиционно изучалось раздельно.

Цель работы состояла в изучении раздельного и комплексного влияния температуры, pH и тяжелых металлов (Cu, Zn, Cd, Hg) на гидролиз углеводов в пищеварительном тракте пресноводных костистых рыб, различающихся по типу питания, и в организме беспозвоночных животных и моллюсков, входящих в состав их кормовой базы.

В работе исследовано 16 видов пресноводных костистых различных экологических групп и 9 видов беспозвоночных животных, относящихся к типу Artropoda (класс Crustacea и Insecta) и типу Mollusca (класс Bivalvia и Gastropoda). Определяли активность карбогидраз: панкреатической α -амилазы, мембранного фермента сахаразы и амилаолитическую активность (АА), отражающую суммарную активность ферментов (α -амилазы, глюкоамилазы и мальтазы), гидролизующих крахмал. Активность ферментов у консументов определяли в слизистой оболочке кишечника, у объектов питания рыб – во всем организме. Концентрации ионов тяжелых металлов (0.1–50 мг/л) соответствуют содержанию этих элементов в кормовых объектах рыб и донных отложениях водоемов.

В экспериментах *in vitro* установлено, что активность карбогидраз в слизистой оболочке кишечника рыб планкто- и бентофагов, и в организме потенциальных объектов их питания (беспозвоночные животные) сопоставима в широком диапазоне температуры и рН, в слизистой оболочке кишечника ихтиофагов – в 10–100 раз ниже, чем в организме кормовых объектов (молодь рыб). Максимальный уровень АА и активности сахаразы отмечен при температуре 20°C у рыб планктофагов и бентофагов в области нейтральных значений рН, у типичных и факультативных хищников – в области щелочных значений рН. Температура 0°C и рН 5.0, и особенно их сочетание вызывают наибольшее снижение активности карбогидраз, в большей степени у мирных рыб (в 3–7 раз) по сравнению с хищными (в 2–4 раза).

В присутствии ионов Cu и Zn активность карбогидраз достоверно снижается во всем диапазоне исследованных концентраций, в большей мере у бентофагов, по сравнению с ихтиофагами. Ионы Cd изменяет ее лишь в очень высоких концентрациях (25 и 50 мг/л), преимущественно у бентофагов и не более чем на 30%. В большинстве случаев максимальное торможение АА в присутствии ионов Cu, Zn и Cd отмечено при 20°C в зоне нейтральных значений рН, сдвиг рН или снижение температуры, как правило, уменьшают величину тормозящего эффекта в 2–3 раза.

В организме кормовых объектов рыб минимальные значения АА отмечены у зоопланктона и личинок стрекоз, максимальные – у моллюсков и молоди карповых видов рыб – карпа, карася и плотвы. Как раздельное, так и совместное действие температуры 0°C и рН 5.0 снижает активность карбогидраз у беспозвоночных в 2–5 раз, в тканях молоди рыб – в 4–18 раз. Наиболее устойчивы к изменению температуры и рН ферменты дрейссены, наиболее чувствительны – карбогидразы молоди рыб.

У беспозвоночных животных ионы Cu и Zn снижают активность карбогидраз в меньшей степени, чем в тканях молоди рыб. При этом карбогидразы объектов питания более чувствительны к действию ионов тяжелых металлов, чем ферменты пищеварительного тракта рыб, поскольку минимальные концентрации, вызывающие достоверное снижение АА, в тканях кормовых объектов могут быть на порядок ниже, а величина тормозящего эффекта – выше, чем у питающихся ими рыб. Наибольшее снижение активности карбогидраз у всех исследованных животных установлено при комплексном действии температуры, рН и ионов металлов.

В экспериментах *in vivo* установлено, что ацидификация водоема, повышенный уровень тепловой нагрузки, долговременное действие соединений Cd и MeHg достоверно снижают скорость гидролиза углеводов и устойчивость карбогидраз рыб к действию ионов Cu, Zn и Cd *in vitro*. Ферменты панкреатической природы более чувствительны к действию антропогенных факторов по сравнению с мембранными ферментами. Адаптации к действию указанных агентов осуществляются как за счет изменения уровня ферментативной активности, так и за счет изменения температурных и кинетических характеристик ферментов, гидролизующих углеводы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разной устойчивости пищеварительных карбогидраз гидробионтов, относящихся к разным таксономическим группам, к раздельному и комбинированному действию температуры, рН и тяжелых металлов. Скорость гидролиза углеводов у рыб планктофагов, бентофагов и объектов их питания при раздельном и совместном действии низкой температуры и кислых значений рН снижается в 2–7 раз; у ихтиофагов в 2–4 раза, у объектов их питания – в 4–18 раз. Ионы Cu, Zn и Cd снижают скорость гидролиза углеводов в широком диапазоне температуры и рН, в большей степени в тканях кормовых объектов, чем в слизистой оболочке кишечника питающихся ими рыб. Максимальное снижение скорости гидролиза углеводов установлено при комплексном действии температуры 0°C, рН 5.0 и ионов тяжелых металлов (Cu, Zn и Cd). Карбогидразы кормовых объектов ихтиофагов (молодь рыб) наиболее чувствительны к дейст-

вию указанных факторов. Величина эффекта зависит от вида гидробионтов, концентрации металла и типа гидролизующих связей.

Снижение активности пищеварительных ферментов у рыб и объектов их питания при раздельном и совместном влиянии ряда природных и антропогенных факторов может значительно замедлять скорость ассимиляции углеводов, уменьшая вклад ферментов жертвы в пищеварение консументов, и негативно влияя как на эффективность питания рыб, так и на скорость круговорота веществ в водных экосистемах.

EFFECT OF NATURAL AND ANTHROPOGENIC FACTORS ON CARBOHYDRATE HYDROLYSIS IN FISH AND THEIR FOOD OBJECTS

I.L. Golovanova

Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

The separate and combined effects of temperature, pH and heavy metals (Cu, Zn, Cd) on the carbohydrase activity in fish intestine and whole body of the fish natural food objects (planktic crustaceans, insect larvae, mollusks, young fishes) have been studied *in vitro*. The maximal decrease enzyme activity under combined effects of temperature 0°C, pH 5.0 and heavy metal has been found. The carbohydrases of food organisms (especially of juvenile fish serving as feeding items for piscivores) are more sensitive to toxic action of these factors compared to the enzymes of fish digestive tract. Water acidification, high temperature of outside ambient, and chronic exposure to Cd and Hg decrease the rate of carbohydrate hydrolysis and result in increased sensitivities of digestive enzymes to Cu, Zn, and Cd *in vitro*. Adaptation to conditions of functioning is achieved through changes in temperature-dependent and kinetic parameters of enzymes.

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ КАРБОГИДРАЗ РЫБ К ДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

И.Л. Голованова, А.А. Филиппов

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок, Ярославской обл., Россия
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

В результате хозяйственной деятельности человека многие водоемы и обитающие в них гидробионты подвержены действию различных загрязняющих веществ, в том числе органических соединений и тяжелых металлов. Тяжелые металлы, поступая в организм рыб из пищи либо воды, аккумулируются в различных органах и тканях. Медь и цинк относятся к числу необходимых микроэлементов, однако в высоких концентрациях они токсичны для организма, биологические функции кадмия в настоящее время не известны. При изучении гидролиза углеводов в кишечнике пресноводных костистых рыб установлено, что Cu и Zn в концентрации 0.1–50 мг/л (Cd лишь в концентрации 25–50 мг/л) снижают активность пищеварительных карбогидраз *in vitro*, а токсичность металлов зависит от ряда биотических факторов (Голованова, 1997, 2006). Так, чувствительность карбогидраз в действии Cu, Zn и Cd снижается с возрастом рыб, у голодных особей она ниже, чем у сытых. В летний сезон на фоне высокой функциональной активности пищеварительной системы чувствительность карбогидраз рыб к действию ионов тяжелых металлов возрастает. Выявленные эффекты в большей мере проявляются у рыб бентофагов, прекращающих активное питание при температуре среды меньше 7°C, по сравнению с ихтиофагами, у которых в холодное время года питание не прекращается, лишь снижается его интенсивность. Кроме того, у рыб одного вида, но различающихся по экологии и типу питания, чувствительность кишечных карбогидраз к действию тяжелых металлов различна (Голованова и др., 2010). Так, карбогидразы плотвы пойменно-придонной экологической группы (преимущественно моллюсковоядной) более чувствительны к токсическому

действию Cu и Zn по сравнению с ферментами плотвы прибрежной группы со смешанным спектром питания.

В настоящей работе представлены данные по чувствительности пищеварительных карбогидраз к действию *in vitro* ионов Cu, Zn и Cd в концентрации 0.1–50 мг/л у рыб, испытывающих хроническое действие антропогенных факторов различной природы: ацидификация водоемов, повышенный уровень тепловой нагрузки, действие метилртути и органических ксенобиотиков.

В последние десятилетия в северо-западной части России, увеличивается количество озер с низким значением рН воды. При этом окунь часто является единственным видом, обитающим в озерах с рН воды < 4.5. При изучении окуня из озер Дарвиновского заповедника с кислым и нейтральным значением рН воды установлено, что длительное пребывание в условиях ацидификации снижает не только активность пищеварительных карбогидраз, но и их устойчивость к действию ионов Cd. Увеличение чувствительности карбогидраз к действию Cd происходит не за счет увеличения величины токсического эффекта, а за счет снижения активности при более низких концентрациях металла.

В результате сброса подогретых вод промышленных предприятий, атомных и тепловых электростанций нарушается температурный режим водоемов. Для выяснения последствий этого явления на переваривание углеводов у карповых видов рыб проводили эксперименты с различной скоростью нагрева воды. Температуру в опытных аквариумах повышали до критического уровня, при котором отмечалось нарушение локомоторной функции рыб. Значения критической температуры в различные сезоны не превышали 40°C. Показано, что при медленном повышении температуры воды со скоростью около 1°C/сут активность карбогидраз во все сезоны достоверно увеличивалась. Более высокие скорости нагрева (4–50°C/ч), как правило, снижают скорость гидролиза углеводов в 2–7.5 раз во все сезоны, исключая лето. Летом активность карбогидраз увеличивается с ростом скорости нагрева воды. В то же время резкое увеличение скорости нагрева воды повышает чувствительность карбогидраз карася и карпа к действию более низких концентраций Cu, Zn и Cd, что может негативно сказаться на интенсивности пищеварения в условиях теплового и химического загрязнения.

Повышенное содержание Hg в корме (0.3–0.4 мг/кг) увеличивает чувствительность карбогидраз молоди рыб сем. карповых к действию ионов Cu, Zn и Cd в условиях *in vitro*. У карпа отмечено снижение устойчивости α -амилазы (но не амилалитической активности или активности сахаразы) к действию ионов Cd по сравнению с контрольными рыбами, содержание ртути в корме которых составило < 0.02 мг Hg/кг. Эти результаты подтверждают большую чувствительность панкреатических ферментов к токсическому действию тяжелых металлов по сравнению с собственно мембранными ферментами. У сеголетков плотвы, получавших корм с большей концентрацией Hg, установлено снижение амилалитической активности в более широком диапазоне концентраций Cu и Zn, и величина тормозящего эффекта значительно выше (59% и 60%) по сравнению с рыбами контрольной группы (44 и 20% соответственно).

При действии Cu и Zn на карбогидразы кишечника сеголетков плотвы, в течение 3-х мес. получавших полихлорбифенилы с кормом (50.8 нг/г сырой массы) в присутствии загрязненного грунта (425.6 нг/г сухой массы), выявлено более значительное снижение ферментативной активности по сравнению с рыбами контрольной группы. При этом отмечено как усиление величины тормозящего эффекта при одной и той же концентрации металлов, так и достоверное снижение амилалитической активности в более широком диапазоне концентраций металла. Ионы Cu оказывают более выраженный токсический эффект по сравнению с ионами Zn, а совместное действие Cu и Zn достоверно не изменяет величину их раздельного влияния.

В экспериментах с органическим ядом хлорофосом и химическим мутагеном нитрозогуанидином установлено, что кратковременное действие этих ксенобиотиков в период эмбриогенеза изменяет скорость гидролиза углеводов в кишечнике развивающихся сеголетков плотвы и чувствительность пищеварительных карбогидраз к действию Cu и Zn. Для опытов использовали осемененную икру, которую экспонировали в растворах токсикантов в концентрации $3 \cdot 10^{-3}$ мг/л до стадии подвижного эмбриона (54 ч). Затем растворы были заменены речной водой. После рассасывания желточного мешка личинки развивались в однотипных выростных прудах с естественной кормовой базой. У рыб контрольной группы (икра экспонировалась в чистой речной воде) амилалитическая

активность снижалась на 20–69% в присутствии Cu в концентрации 1–25 мг/л. В то же время эмбриотоксическое действие хлорофоса и нитрозогуанидина вызывало снижение активности карбогидраз на 25–98%, при этом тормозящий эффект выявлен и при более низкой концентрации Cu 0.1 мг/л. Близкие результаты получены и при действии нитрозогуанидина в период эмбриогенеза на чувствительность карбогидраз сеголетков плотвы в действию Zn.

Таким образом, различные по природе антропогенные факторы (ацидификация водоемов, повышенный уровень тепловой нагрузки, хроническое действие метилртути и полихлорбифенилов, кратковременное действие органических ксенобиотиков) повышают чувствительность пищеварительных карбогидраз рыб к действию ионов Cu, Zn и Cd. Повышение чувствительности происходит как за счет увеличения силы тормозящего эффекта при одной и той же концентрации металла, так и снижением активности ферментов при более низких концентрациях металлов. Усиление негативного влияния тяжелых металлов на гидролиз углеводов в кишечнике рыб значительно замедляет скорость начальных этапов ассимиляции углеводов, негативно влияя на эффективность питания рыб, обитающих в районах с повышенной антропогенной нагрузкой.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-05-00805).

EFFECT OF ANTHROPOGENIC FACTORS UPON FISH DIGESTIVE CARBOHYDRASE SENSITIVITY TO HEAVY METALS

I.L. Golovanova, A.A. Filippov

Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia
golovan@ibiw.yaroslavl.ru

The different anthropogenic factors (water acidification, sharp increases of water temperature, chronic exposure to Cd, methylmercury and polychlorinated biphenyls, a short-term action ultralow chlorophos and nitrosoguanidine concentrations) decrease the rate of carbohydrate hydrolysis and considerably reduce digestive carbohydrase stability to Cu, Zn, and Cd in vitro. The increase of inhibitory effect of heavy metals on the intestinal carbohydrase activities result in decreased rate of carbohydrate assimilation, negatively influencing on efficiency of fish feeding.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ КОМПЛЕКС ТКАНЕЙ У САМЦОВ И САМОК КАМБАЛЫ-КАЛКАН *PSETTA MAEOTICA* PALLAS В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД

И.В. Головина, О.Л. Гостюхина

Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина
ivgolovina@mail.ru gostolga@yandex.ru

Для оценки физиологического состояния рыб в качестве биомаркеров все чаще применяются показатели антиоксидантного (АО) комплекса и перекисного окисления липидов (ПОЛ). Они отражают устойчивость рыб к условиям окислительного стресса, который может развиваться под действием гипоксии, загрязнения и других факторов. Эти маркеры принадлежат к универсальным, способным откликаться как на антропогенные воздействия, так и на эндогенные процессы, связанные с развитием ПОЛ. Ранее нами было показано, что у двустворчатых моллюсков влияние физиологического состояния (нереста) на АО комплекс и ПОЛ может быть сравнимо с эффектом ксенобиотиков. Определение критериев для выбора параметров АО системы и ПОЛ, используемых в целях экодиагностики, по-прежнему, является актуальным. Важно выявить реакции этих показателей в период естественной окислительной нагрузки, в качестве модели которой мы рассматриваем нерест.

Целью настоящей работы было установить изменения в системе АО защиты и уровне ПОЛ в тканях самцов и самок черноморской камбалы в нерестовый период.

Камбала-калкан – ценный промысловый вид, обитающий в шельфовой зоне всех причерноморских государств. В прибрежных водах Севастополя нерестится с апреля по июнь, совершает весенние миграции на глубины 30–100 м.

Объектом исследования служили половозрелые особи, выловленные в апреле – мае 2006 г. в районе Севастополя на глубине не менее 50 м. По стадии зрелости гонад рыб разделили на две группы: А (самцы и самки с нетекучими половыми продуктами, V стадия) и Б (самцы и самки с текучими половыми продуктами, VI стадия).

Препарирование тканей, гомогенизацию и центрифугирование проводили общепринятыми методами при температуре 0–4°C. Активность ферментов определяли в супернатанте, а содержание ТБК-активных продуктов – в гомогенате. Для определения уровня восстановленного глутатиона (GSH) гомогенат готовили отдельно, в качестве среды выделения использовали 5%-ный раствор метафосфорной кислоты.

Активность ферментов измеряли при стандартной температуре 25°C. Определяли активность глутатионпероксидазы (ГП) по накоплению окисленного глутатиона (GSSG), активность глутатионредуктазы (ГР) – по убыли НАДФН, активность каталазы – по реакции с молибдатом аммония, содержание GSH – по образованию комплекса с аллоксановым реактивом. Содержание белка определяли по методу Лоури. Измерения экстинкции проводили на спектрофотометре СФ-26. Цифровой материал обработан статистически с использованием t-критерия Стьюдента. Сравнивали средние величины, рассчитанные для выборочных совокупностей из 5–8 особей.

ПОЛ. Значительные и однонаправленные отличия в интенсивности ПОЛ при изменении стадии зрелости гонад установлены у самцов. Во всех исследованных тканях уровень ТБК-активных продуктов у самцов группы Б был в 1,4–2,8 раза ниже, чем в группе А. Максимальная разница установлена в красных мышцах и гонадах, различия достоверны для всех тканей ($p \leq 0,05$), кроме жабр.

У самок группы Б уменьшение уровня ТБК-активных продуктов произошло в гонадах и печени в 1,6 и 2,1 раза соответственно ($p \leq 0,05$), в жабрах изменения не были существенны, а в белых мышцах отмечена тенденция к увеличению.

АО комплекс.

Гонады. Наибольшие изменения обнаружены у самок с текучими половыми продуктами (группа Б). Они затрагивали только глутатионпероксидную систему (ГПС) и были разнонаправленными. Активности ГП и ГР снижались в 1,6–1,8 раза ($p \leq 0,05$) – до 6,9 и 0,4 мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка соответственно, в то время как ресурс GSH, напротив, значительно возрастал – в 1,9 раза ($p \leq 0,05$). В АО комплексе гонад у самцов достоверных изменений между группами А и Б не обнаружено.

Жабры. У самцов и самок группы Б отмечен рост активности ГП до 39,6 и 36,1 мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка, что превысило активность этого фермента у рыб группы А в 1,5–1,7 раза ($p \leq 0,05$). Одновременно в жабрах самок группы Б зарегистрировано увеличение уровня GSH в 1,6 раза – до 247,1 мкг·г⁻¹ ткани ($p \leq 0,05$).

Печень. Достоверных различий в АО активности между особями групп А и Б не установлено. В группе Б происходило некоторое снижение активности ГП и ГР у самцов и активности каталазы у особей обоего пола. Обнаружена также тенденция к росту содержания GSH у самок группы Б.

Красные мышцы самок группы Б характеризовались чрезвычайно высокой активностью каталазы – 15,2 мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка, что было выше по сравнению с группой А в 8,8 раза ($p \leq 0,05$). У этих же особей отмечена тенденция к росту уровня GSH. В отличие от самок, в красных мышцах самцов группы Б, как и в большинстве других их тканей, изменений в состоянии АО комплекса не выявлено.

Белые мышцы. В АО комплексе самок группы Б установлено снижение активности ГР в 1,6 ($p \leq 0,05$) по сравнению с самками группы А. Самцы группы Б отличались значительным ростом содержания GSH – до 189,4 мкг·г⁻¹ ткани, что в 2,6 раза выше ($p \leq 0,05$) по сравнению с особями группы А и тенденцией к снижению активности ГР.

Таким образом, наиболее существенные изменения обнаружены у самок калкана VI стадии зрелости: в гонадах снижался уровень ТБК-активных продуктов, активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, а ресурс глутатиона увеличивался. В жабрах этих самок повышались активность глутатионпероксидазы и уровень глутатиона, в красных мышцах – активность каталазы, а в белых – уменьшалась активность глутатионредуктазы. Печень характеризовалась понижением интенсивности ПОЛ.

В тканях самцов камбалы VI стадии зрелости гонад во всех тканях происходило снижение уровня ТБК-активных продуктов, в жабрах – увеличение активности глутатионпероксидазы, а в белых мышцах – повышение содержания глутатиона.

Исследованные показатели являются чувствительными индикаторами процессов, происходящих в системе антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов в тканях самцов и самок камбалы в период нереста.

THE STATE OF THE SYSTEM OF ANTIOXIDANT DEFENSE IN TISSUES OF MALES AND FEMALES OF THE BLACK SEA FLOUNDER *PSETTA MAEOTICA* PALLAS DURING THE SPAWNING

I.V. Golovina, O.L. Gostyukhina

Institute of biology of the southern seas, NANU, Sevastopol, Ukraine
ivgolovina@mail.ru gostolga@yandex.ru

The system of antioxidant (AO) defense and processes of lipid peroxidation (LP) of the Black Sea flounder *Psetta maeotica* have been investigated during the spawning. The activity of glutathioneperoxidase (GP), glutathionereductase (GR), catalase and content of reduced glutathione (GSH) and TBA-active products (TBARS) have been determined in gonads, gills, liver, red and white muscles of males and females at different stages of gonad's maturity (V and VI stages). The peculiarities of AO complex and LP depending on tissue specificity and sexual distinctions of the flounder have been found. The flounder females at VI stage were found to have the most significant changes. In gonads and liver the level of TBARS decreased. In gonads the activities of GP and GR decreased, but the level of GSH increased. In gills of these females the activity of GP and the level of GSH increased, while in the red muscles the activity of catalase raised. In white muscles the activity of GR dropped. In the males' tissues of the flounder at VI stage the growth of the activity of GP in gills and GSH content in white muscles have been found. In all tissues the decrease of the TBARS content has been observed.

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ЛИПИДОВ У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER. ИОНАМИ ЦИНКА И СВИНЦА

А.И. Горда

Тернопольский педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина
hiazunt@mail.ru

Микроводоросли – одни из наиболее чувствительных организмов к действию токсических веществ, в том числе и к тяжелым металлам. Такие микроэлементы как Zn, Cu, Mn, Mo, Fe, Co, B, Se, Vg и др. у водорослей принимают активное участие в большинстве жизненных процессов, выступают регуляторами ферментов, а также скорости и направленности метаболических превращений. Вместе с тем в избыточных концентрациях они оказывают на водоросли токсический эффект.

Нами экспериментально изучено влияние ионов цинка (микроэлемент) и свинца (типичный токсикант) на биосинтез липидов у одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer.

Культуру водоросли выращивали в стеклянных колбах на минеральной среде Фитцджеральда в модификации Цендера и Горема при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ и освещении 2500 лк. В экспериментальных условиях к культуре добавляли водные растворы ZnSO_4 и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ в пересчете на количество ионов $\text{Zn}^{2+} - 5 \text{ мг/дм}^3$ и $\text{Pb}^{2+} - 0,5 \text{ мг/дм}^3$, что соответствует уровню 5 санитарно-токсическим ПДК. Период инкубации культуры водоросли с токсическими веществами составлял 1, 3 и 7 сут., по истечении которых суспензию водоросли инкубировали или с 200 кБк $[1-^{14}\text{C}]$ -ацетата натрия, или с 20 кБк $[1-^{14}\text{C}]$ -бикарбоната натрия при температуре 20°C и освещении 2500 лк в течении 90 мин. После остановки реакции трихлоруксусной кислотой липиды экстрагировали с помощью смеси изопропанол-хлороформ по методу В. Ничалса (Nichols, 1963) в модификации, промывали согласно методики и затем измеряли радиоактивность на сцинтилляционном счетчике LS-100C «Beckman» (США) и выражали в имп/(мин*мкг хл.а). Количество хлорофилла определяли спектрофотометрически.

Полученные данные показывают (табл. 1), что включение ^{14}C -ацетата и ^{14}C -бикарбоната в липиды при действии металлов увеличивается в течение всего периода действия, однако с увеличением времени действия включение субстратов различно.

Таблица 1. Включение ^{14}C -субстратов в липиды у *Chlorella vulgaris* Beijer. при действии ионов цинка и свинца, $M \pm m$, $n=3$

Условия культивирования водоросли	Включение ^{14}C -субстратов в липиды, имп/(мин*мкг хл.а)		Соотношение показателей включения: ^{14}C -ацетат/ ^{14}C -бикарбонат
	^{14}C -ацетат	^{14}C -бикарбонат	
Контроль	229,62 ± 27,55	282,11 ± 25,39	0,81
Zn ²⁺ , 3 сут.	370,94 ± 43,31*	440,45 ± 53,76*	0,84
Zn ²⁺ , 7 сут.	505,26 ± 57,38*	557,57 ± 77,56*	0,91
Pb ²⁺ , 1 сут.	434,94 ± 46,44*	361,52 ± 43,70*	1,20
Pb ²⁺ , 3 сут.	412,23 ± 54,64*	410,72 ± 65,61*	1,00
Pb ²⁺ , 7 сут.	369,67 ± 33,04*	327,36 ± 47,45*	1,13

Примечание: * – $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

Так, включение ^{14}C -ацетата в липиды при действии ионов Zn²⁺ на 3 суток увеличивается в 1,6 раза по сравнению с контролем, на 7 суток – в 2,2 раза. При действии Pb²⁺ включение ^{14}C -ацетата в липиды возрастает в 2, 1,8 и 1,6 раза по сравнению с контролем на 1, 3 и 7 суток соответственно.

Включение ^{14}C -бикарбоната в липиды при действии: Zn²⁺ по сравнению с контролем увеличивается в 1,6 и 2 раза, на 1 и 7 суток; Pb²⁺ – в 1,3; 1,5 и 1,2 раза на 1, 3 и 7 суток соответственно.

Таким образом, для цинка с увеличением времени действия металла прослеживается увеличение включения в липиды как ^{14}C -ацетата, так и ^{14}C -бикарбоната, а при действии ионов свинца максимальное включение ^{14}C -ацетата обнаружено на первые сутки действия, ^{14}C -бикарбоната – третьи сутки действия металла, после чего интенсивность процесса несколько снижается, но все же его показатели выше, чем к контроле.

Соотношение показателей включения ^{14}C -ацетата и ^{14}C -бикарбоната показывает, что при действии цинка оно возрастает по сравнению с контролем, а при действии свинца – снижается на третьи сутки и близко к контрольным значениям на седьмые сутки действия металла. Это свидетельствует о эквивалентном включении субстратов синтеза жирных кислот на стадии ключевой в этом процессе ацетил-КоА-карбоксилазной реакции.

Поскольку синтез липидов у растений протекает в хлоропластах (Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes. 4th Edn. «Lipid metabolism in plants», 2002), расчет включения меток произведен на хлорофилл, количество которого, как показали исследования, также изменялось (табл. 2).

Таблица 2. Содержание хлорофилла у *Chlorella vulgaris* Beijer. при действии ионов металлов, $M \pm m$, $n=3$

Условия культивирования водоросли	Содержание хлорофилла, мкг/ дм ³			
	Хл. а	p относительно контроля	Хл. в	p относительно контроля
Контроль	0,232 ± 0,014	–	0,150 ± 0,013	–
Zn ²⁺ , 3 сут.	0,153 ± 0,016	0,005	0,119 ± 0,018	0,1
Zn ²⁺ , 7 сут.	0,119 ± 0,013	0,001	0,064 ± 0,016	0,05
Pb ²⁺ , 1 сут.	0,191 ± 0,029	0,1	0,075 ± 0,009	0,002
Pb ²⁺ , 3 сут.	0,150 ± 0,013	0,002	0,084 ± 0,007	0,002
Pb ²⁺ , 7 сут.	0,189 ± 0,020	0,05	0,079 ± 0,006	0,001

В целом выявлено снижение содержания хлорофилла при действии обоих металлов, особенно по мере увеличения срока культивирования водоросли в их присутствии. Это может быть следствием их накопления и прямого влияния на пигмент, за счет чего хлорофилл разрушается. В большей степени снижает против контроля содержание хлорофилла цинк (в течение 7 суток действия: хл. а – на 48,7%, хл. в – на 57,3%), меньше свинец (в течение 7 суток действия: хл. а – на 18,6%, хл. в – на 47,3%), что можно объяснить его большей проницаемостью, подвижностью в клетке и лучшей комплексообразующей способностью, и высоким сродством свинца к белкам и сильным удерживанием ими этого металла в составе малорастворимых металлотионеиноподобных комплексов (Webb M., 1987).

Таким образом, с уменьшением хлорофилла включение метки в липиды возрастает. Такую зависимость объясняют тем, что в условиях стресса у растений возрастает липидсинтезная активность других пластид (Biochemistry of Lipids ...), которые берут на себя функцию поддержания гомеостатического уровня липидного состава клеток и синтезируют липиды, необходимые для адаптивной перестройки клеточных мембран с целью увеличения защищенности клеток от токсикантов. Наши данные согласуются с ранее полученными результатами (Rozentsvet O.A. et al., 2004), в которых показано, что у *Potamogeton perfoliatus* L., выращенных под влиянием Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , происходит активная структуризация клеточного метаболизма с целью поддержания клеточных функционального статуса структур.

ADJUSTING OF BIOSYNTHESIS OF LIPIDS AT *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER. BY THE IONS OF ZINC AND LEAD

A.I. Gorda

Ternopol pedagogical university the name of V. Gnatyuk, Ternopol, Ukraine
hiazunt@mail.ru

With the increase of time of action of zinc on *Chlorella vulgaris* Beijer. found out the increase of including in cages in lipids of ^{14}C -acetate and ^{14}C -bicarbonate. At the action of ions of lead the maximal including of ^{14}C -acetate found out on the first days of action, ^{14}C -bicarbonate third days of action of metal, whereupon intensity of process a few goes down.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СОЗРЕВАЮЩИХ ЛОСОСЕЙ В ПЕРИОД АНАДРОМНЫХ МИГРАЦИЙ

С.Б. Городовская, В.И. Шершнева

Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП КамчатНИРО),
Петропавловск-Камчатский, Россия
gorodovckaya. s.b @kamniro.ru

На основании анализа совокупности биохимических и гистологических исследований гонад и мышц созревающих особей горбуши, кеты и нерки, показано, что при перераспределении энергетических веществ в организме самок в период анадромных миграций происходило накопление жира в ооцитах и, как следствие, понижение уровня липидов в мышцах. В гонадах самцов происходило увеличение количества воды и степени обводнения белков от мая к августу (от 75,67% до 85,25%). Горбуша продолжала активно питаться, когда процесс созревания гонад подходил к завершению, поэтому жиронакопления в мышцах и гонадах самок и самцов горбуши протекало параллельно.

В 2000–2007 годы в исследованиях биологии тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* для рыбохозяйственной науки практический интерес представляет вопрос о темпе созревания и перераспределении энергетических веществ в теле созревающих особей. В этот период лососи продолжают активно питаться, и в их организме депонируются высокоэнергетические вещества, за счет которых в последствии развиваются половые железы (Кизеветтер, 1973).

В работе использованы результаты химического и гистологического анализа гонад и мышц созревающих лососей в период анадромных миграций в мае-августе 2000–2007 гг.

Цель работы – оценка физиологического состояния созревающих лососей на основании гистологических и биохимических показателей гонад и мышц горбуши, кеты и нерки.

Характерной особенностью биологии горбуши является созревание особей в одном возрасте. В июле в клетках гонад самок завершалось формирование структурных элементов и интенсивное накопление липидов. В яичниках присутствовали ооциты, в которых ампулы жира и глыбки желтка обнаруживались уже по всей площади ооплазмы. Жирность гонад самок увеличивалась до 12,6% в отличие от жирности в мышцах (до 8,7%). При перераспределении энергетических веществ в организме самок в период анадромных миграций происходило созревание яйцеклеток, сопровождающееся накоплением жира в ооцитах и, как следствие, понижением уровня липидов в мышцах.

В июле в семенниках горбуши деление сперматогоний полностью закончилось и сперматоциты 1-го и 2-го порядков образовывали значительные скопления. Содержание воды в семенниках горбуши во все годы исследований находилось на более высоком уровне до 87,1%, в отличие от содержания воды в мышцах (75,3%), жирность семенников всегда была незначительна – не более 2%. Содержание большого количества воды необходимо для увеличения подвижности спермиев в созревающих семенниках.

Особенностью развития ооцитов в яичниках созревающих самок кеты и нерки является интенсивный процесс накопления жира и желтка в центральной (околоядерной) зоне плазмы ооцитов. Энергия, аккумулированная в мышцах созревающих самок по мере нагула постепенно перераспределялась в гонады, что обуславливало более высокий уровень обменных процессов, протекавших в развивающихся яичниках. Содержание жира в мышцах таких самок кеты и нерки снижалось в среднем от 8,9% в мае до 6,5% в августе.

В соотношении химических компонентов в гонадах самцов кеты и нерки происходило увеличение доли относительного количества воды и степени обводнения белков от мая к августу. Содержание воды в гонадах изменялось в среднем от 75,67% (в мае) до 85,25% (в августе).

В период анадромных миграций происходило перераспределение энергетических веществ в организме созревающих горбуши, нерки и кеты. У самок процесс созревания половых желез требовал накопления жира в ооцитах. У самцов при созревании увеличивалось содержание воды в семенниках. Данные процессы в начале анадромных миграций (май, июнь) были выражены слабо, и значительно увеличивались к концу миграции (июль, август) при подходах к нерестовым рекам.

Особь горбуши продолжали активно питаться, когда процесс созревания гонад подходил к завершению, поэтому жиронакопление в мышцах и гонадах самок и самцов горбуши протекало синхронно. Горбуша заходила в реки с уже вполне созревшими гонадами, готовыми к вымету икры и молок, в то время, как дозревание половых желез у кеты и нерки продолжалось в пресной воде.

THE DESCRIPTION OF PHYSIOLOGICAL CONDITION OF MATURATING SALMONS IN THE PERIOD OF ANADROMOUS MIGRATIONS

S.B. Gorodovskaya, V.I. Shershneva

Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography (KamchatNIRO), Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia
bonk.t.v@kamniro.ru

Basing on the complex analysis of biochemical and histological research data about the gonads and muscles of maturing pink, chum and sockeye salmon, we have demonstrated lipid accumulation in oocytes in the course of energy redistribution in female bodies in the period of anadromous migrations, and hence reduction of the lipids in muscles. As for the male gonads, the amount of water has been increased there and proteins have been more water saturated from May to August (from 75,67 to 85,25%). Pink salmon individuals use to feed actively, when the process of gonad maturation comes to finish, that is why the lipid accumulation in the muscles and gonads of females and males is parallel.

РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ МЕТАЛЛОВ В АДАПТАЦИИ ГИДРОБИОНТОВ: ЭВОЛЮЦИОННО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

В.В. Грубинко

Тернопольский педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина
v.grubinko2@yahoo.com

Металлы могут активировать метаболизм, ингибировать его или быть нейтральными в зависимости от природы, концентрации и формы его нахождения во внешней среде и организме. Присутствие металлов в количествах, превышающий физиологический уровень (аккумуляция), нарушает жизнедеятельность клеток. Вместе с тем, для разных организмов они имеют разные уровни (порог) токсичности и пролонгированные экотоксикологические эффекты. Поэтому нами

сравнены видовые закономерности адаптации к тяжелым металлам организмов разных видов в связи с эволюционным положением, физиологией, средой жизнедеятельности и экологическими функциями.

Исследовали представителей водной среды обитания – водоросли, рыбы и амфибии, а для сравнения также птиц (перепелка) и грызунов (мыши, крысы) – термодинамически более закрытые, чем водные организмы, и потенциально более стойкие к факторам среды, но характеризуются большей способностью аккумулировать токсиканты в силу специфики функционирования системы выделения.

Процессы, происходящие в системе «среда ↔ металл ↔ организм», включают: проникновение металла в клетки → их молекулярное связывание метаболитами и специфическими переносчиками → транспорт и распределение в клетках, тканях, органах → аккумуляция → выведение. Баланс в этой системе определяется метаболической потребностью в металле и аккумуляцией, а при невозможности организма контролировать необходимый его концентрационный уровень (дезадаптация) – определяет токсичность металла.

Проникновение осуществляется через сайты связывания на поверхности клеток с последующим превращением веществ, с которыми те взаимодействуют, вызывая цепь повреждений и адаптивных структурно-функциональных реакций (Грубинко, Гандзюра, 2008). При этом критической стадией является проникновение токсиканта через мембраны клеток и структурно-функциональная сопротивляемость (первичная детоксикация) на мембранном уровне. Нами экспериментально показано, что поглощение ионов меди, цинка, марганца и свинца клетками водорослей и рыб является регулируемым и концентрационнозависимым процессом. Последовательность проникновения тяжелых металлов в клетку такая: 1) иммобилизация металла мембранным металлотиюнеином; 2) проникновения в плазмалемму через липидный бислой; 3) связывание металла в комплексы с метаболитами в цитоплазме; 4) компартментация металл-органических соединений в субклеточных структурах; 5) обратный активный транспорт.

Установлено, что проникновение ионов меди, цинка, марганца и свинца через мембрану клеток у водорослей и в жабры рыб осуществляется с помощью двух типов транспорта: с высоким сродством с максимумом поглощения при 0,05–0,1 мг/дм³ и с низким сродством при концентрациях >2 мг/дм³. В процессе прямого и обратного транспорта происходят перестройки липидного состава, проницаемости мембран и модулирование АТФ-азной системы. У наземных организмов количество поглощенного металла определяется пищевой активностью, однако захват ионов клетками пищеварительной системы зависит как от их биологической потребности, так и от синергетических и антагонистических факторов окологклеточной физиологической среды.

Отмечено уменьшение количества поглощенного металла клетками организмов, предварительно адаптированных при 0,5 и 2 ПДК ионов металлов. Транспорт металлов через мембраны хотя и концентрационнозависим, но определяется как преадаптацией организмов к низким уровням металлов в среде (структурно-функциональный статус мембран), так и степенью деструктивных изменений металлом клеточной оболочки.

Бионакопление внешней поверхностью поглощения и расстоянием, которое отделяет среду и внутренние физиологические жидкости, например кровь; сродством к металлу и сопротивляемостью клеток и организма в целом. В наибольшей степени накапливается цинк и свинец, меньше – медь и марганец, что связано как с биологической потребностью в металлах, так и с особенностями физико-химического взаимодействия их ионов с молекулярными лигандами клеток. В пределах клеток системы дыхания и пищеварения поступления металлов в кровь очень активное в связи с функционированием системы противотока, что способствует диффузии и активному проникновению металлов по градиенту концентрации даже при его незначительных концентрациях в контактной среде. В целом бионакопление определяют концентрационная разница в среде и организме (тканях) и специфичность отзвов в организме на первичное действие. Направленность металлов к тканям изменяют химические градиенты в их клетках, а задерживание в них определяется сродством к определенным компонентам клеток, в первую очередь белкам.

Распределение. Первичные детерминанты накопления металлов определяют тканеспецифичность их распределения. Медь эффективнее всего аккумулируется в коже и печени, где уровень металла растет пропорционально времени инкубации. Цинк больше всего накапливается в мышцах. Повышение концентрации металлов, особенно до уровня 5 ПДК, во всех

случаях приводит к возрастанию их содержания как в крови, так в печени исследованных животных, в отдельных случаях в 2–3 раза выше, чем в контроле. Тканевое перераспределение металлов может быть эффективным средством поддержания их оптимального уровня в организме. Построением Таким образом, биоаккумуляция определяет не только скорость поступления металла в организм и его выведения наружу, но и связывающей способности клеточных структур и тканей.

Важным фактором бионакопления металлов является уровень организации (эволюционно-таксономическое положение) организма. В силу морфологических и функциональных отличий между экто- и эндотермными организмами, большая аккумуляция обнаружена у водоростей и эктотермных животных (рыбы, земноводные), благодаря их большей термодинамической открытости и особенностям жизнедеятельности (Хочачка П. и др., 1988, 2002). Близкими по уровню и характеру накопления тяжелых металлов являются птицы (перепелка). Большую сопротивляемость к накоплению тяжелых металлов в эксперименте, а также интенсивное их выведение, обнаружено у млекопитающих (мыши, крысы). Очевидным отличием между экто- и эндо-термами является дыхание: жабрами или легкими. Водная среда влияет на поступление химических веществ (растворимость) и их проникновение в клетки. Жабры также играют намного большую роль и в выделении ксенобиотиков, чем легкие. Кроме того, кожа млекопитающих суха и не владеет циркулирующими свойствами. Поэтому поступление химических веществ в их организм ограничивается парентеральным путем или непосредственно в гемодинамический поток. Желудочно-кишечный тракт играет важную роль как у водных, так и наземных животных. Структура и функции тракта у представителей обеих групп сходны во многих отношениях, однако у рыб и лягушек отсутствует лимфатическая система и классические ворсинки, свойственные птицам и млекопитающим, и может существенно влиять на сопротивляемость к накоплению тяжелых металлов, а также, вероятно, интенсивнее их выведение из организма, что обнаружено у млекопитающих (мыши, крысы). Интенсивность накопления представителями отдельных видов исследованных металлов характеризуются такими рядами: в печени: щуки – Zn>>Cu>Mn>Pb; жабы – Zn>>Cu>Pb,Mn; перепелки – Zn>>Cu>Mn>Pb; мыши – Zn>>Cu>Mn>Pb; крысы – Zn>>Pb>Cu>Mn; в крови: щуки – Zn>Cu>Pb>Mn; жабы – Zn>Cu>Pb>Mn; перепелки – Zn>Cu>Pb>Mn; мыши – Zn>Cu,Pb>Mn; крысы – Zn>Pb>Cu>Mn.

Относительно выделения, то кишечный путь активен у всех видов. Однако в большинстве случаев выведение с мочой менее важно у рыб, чем у наземных животных. Это компенсируется у рыб выведением жаберным путем.

Особенности зависимости накопления от концентрации разноплановые. В наших исследованиях насыщения тканей металлами имело место уже при пороговой концентрации (2 ПДК), а при значительном ее превышении (5 ПДК) возрастания содержания металлов против 2 ПДК не обнаружено, что свидетельствует о насыщении металлами сайтов связывания уже при уровне 2 ПДК. Поэтому значительное поступление металла в организм убыстряет и его транзитное выведение, а аккумулируется то количество металла, которое может быть связано лигандами.

Регуляция. Взаимодействие металлов с молекулярными структурами в условиях адаптированности клеток (организма) определяется сродством к лигандам (Мецлер Д, 1982), биологической потребностью в металле и физико-химическими параметрами физиологических сред. В случае патологии детерминанта связывания металла – химическое сродство лигандов. Функциональная роль металлов зависит от характера их взаимодействия с: молекулярными и метаболическими комплексами, прежде всего, степени структурной (качественной и количественной) модификации мембран (липидный состав, проницаемость, электрофизиологические свойства, активность АТФ-азных систем); структурными белками (репрессия и экспрессия синтеза, посттрансляционные модификации, конформационные перестройки и т.д.) и ферментами (ингибирование, активирование, модулирование кооперативности и т.д.); изменением функционирования (активирование, ингибирование) основных энергетических циклов и направленности энергетического обмена в целом, что вызывает мобилизацию энергетических ресурсов, включительно адаптивный катаболизм не только углеводов и липидов, но и белков; формирование катаболического статуса в организме, вследствие чего накапливаются

окисленные эквиваленты, а как результат активации пероксидного окисления – патологические формы метаболитов (лизофосфолипиды, свободные радикалы и др.); активация механизмов детоксикации вторичных токсикантов и ксенобиотиков.

Таким образом, регуляция поглощения, распределения, накопления и действия металлов определяется: 1) морфологическими, физиологическими и биохимическими параметрами систем, определяющих поступление токсиканта через контактные поверхности; 2) спецификой химического строения веществ и их концентрацией, которые влияют как на распределение вещества в организме, так и на связывание с молекулярными рецепторами; 3) экологическими условиями существования организмов, что предусматривает влияние на процесс других параметров среды.

A REGULATOR ROLE OF METALS IS IN ADAPTATION OF HYDROBIONTS: EVOLUTIONAL AND ECOLOGICAL ASPECTS

V.V. Grubinko

Ternopol national pedagogical university the name of V. Gnatyuk, Ternopol, Ukraine
v.grubinko2@yahoo.com

It is rotined that to the system «environment-metal-organism» take place: threw penetration in cages – molecular fastening of metabolites and specific vections – a transport and distributing is in cells, tissue, organs – accumulation – leadingout. Absorption and localization of metals in an organism depends on anatomic, physiology and biochemical properties of organism (absorptive power, affinity to metal) and physical and chemical descriptions of metal. An accumulation is the result of process of toxicokinetics and toxicodynamics, that is confirmed as for algae, fishess, frogs, so and for birds and rodents.

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЕРША ЛАХТИНСКОЙ ГУБЫ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА

И.М. Дзюбук, Е.А. Клюкина

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия
ikrup@petsu.ru, elenak@psu.krelia.ru

С 1999 года сотрудниками лаборатории Экологических проблем Севера ПетрГУ на базе Шелтозерской учебно-производственной станции проводятся ихтиологические исследования в рамках работ по мониторингу юго-западного района Онежского озера (Лахтинская губа), целью которых является изучение динамики состояния экосистемы, выявление возможностей использования и условий сохранения ее биоресурсов. В наших уловах встречалось 14 видов, относящихся к 8 семействам (лососевые, сиговые, корюшковые, карповые, щуковые, налимовые, окуневые, колюшковые).

В настоящей работе приводятся результаты морфофизиологических исследований ерша Лахтинской губы Онежского озера, который в больших количествах встречается в уловах. Отлов рыбы проводился в летний период (июль, 2002 г.) с помощью ставных сетей. Обработка ихтиологического материала осуществлялась по общепринятой методике.

Ерш в наших уловах был представлен 7 возрастными группами – 2+-8+. Количественно преобладали трехлетки (4+). В исследуемой группе (94 особи) было 75 самок и 19 самцов. Таким образом, доля самок (80%) в 4 раза больше доли самцов (20%). В данном случае более точные границы доверительного интервала для альтернативного признака «пол ерша» дает ф-преобразование Фишера. Так, для уровня значимости $\alpha=0,05$ доля самок в генеральной совокупности (популяции ершей) составляет минимум 71,4%, а максимум – 87,4%.

Размеры ерша были в пределах 20,4–82,0г и 13,9–18,7см, что значительно превышает размеры ерша из других районов Онежского озера. Так, например, размеры ерша Кондопожской губы (2+-7+) находятся в пределах 16,6–30,6г и 11,7–14,3см, а ерша района Кузаранды (1+-5+) – 7,9–14,6г и 9,8–11,9 см.

Ерш медленно растущий вид. Величины абсолютного прироста ерша Лахтинской губы были в диапазоне от 1,6 до 24,3г и от 0,2 до 2,2 см. Максимальный и абсолютный, и относительный приросты

массы и длины ерша были отмечены в период 7+-8+. Упитанность ерша изменялась в пределах 1,1–2,1, наименее упитанные были рыбы возраста 2+, более упитанные рыбы старших возрастов.

В качестве морфофизиологических индикаторов состояния водной среды и организмов мы использовали показатели массы органов ерша. Наряду с анализом абсолютной массы органов был проведен расчет индексов, которые позволяют устранить существующую прямую пропорциональную зависимость массы органа от массы тела.

Для ерша Лахтинской губы характерны высокие показатели относительной массы сердца 2,7–3,6%. Так, например, индексы сердца ерша (2+-7+) из Кондопожской губы Онежского озера составляют 1,8–2,0%, ерша района Кузаранды (1+-5+) – 1,9–2,2%. Высокая относительная масса сердца, вероятно, является следствием того, что в имеющихся условиях среды Лахтинской губы затраты энергии на обеспечение жизнедеятельности у ерша высокие. В ходе исследований выявлено, что происходит уменьшение индекса сердца ерша с возрастом.

Индекс жабр был в пределах 21,6–32,2%, что близко к величине относительной массы жабр ерша Кондопожской губы (30,2–34,8%) и района Кузаранды (28,1–33,1%). Индекс жабр имеет прямую связь с изменением уровня газообмена, а интенсивность газообмена и потребность в кислороде у рыб зависят от характера пищи и от активности рыб. Было выявлено, что в возрасте 2+ ерш отличается наименьшим индексом жабр, по сравнению с рыбами старших возрастов. В этом возрасте он питается бентосом и поэтому отличается активностью и интенсивностью газообмена. В возрасте 3+ ерш переходит к хищничеству, следовательно, его активность и интенсивность газообмена увеличиваются.

Изменения массы печени за счет накопления или расходования углеводов и отчасти белков и жиров позволяют судить о характере метаболизма ерша. Относительная масса печени ерша Лахтинской губы колеблется в широком диапазоне: 15,0–23,0%. Для сравнения, индекс печени ерша Кондопожской губы составляет 21,7–26,8%, р-на Кузаранды – 11,8–14,2%. Наименьший индекс печени был выявлен у ерша (Лахтинская губа) в возрасте 2+ (15,0%), а с возраста 3+ происходит увеличение этого показателя, что вероятно, связано со сменой пищевых объектов, а значит, с изменением метаболизма.

Известно, что масса селезенки, по сравнению с массой других органов, варьирует в больших пределах, что связано с ее разнообразной функциональной деятельностью: продуцирование форменных элементов крови (эритроциты и лейкоциты), депонирование крови и место образования лимфоцитов. Индекс селезенки ерша Лахтинской губы был в пределах 1,2–2,6%. Для ерша Кондопожской губы и Кузаранды этот показатель составил 1,0–1,3% и 1,4–1,5%, соответственно. Вероятно, что в условиях Лахтинской губы интенсивность работы селезенки у ерша высокая. Наибольшие показатели отмечены у рыб возраста 3+ (2,6%), что может быть связано с перестройкой пищевой активности и метаболизма.

Показатели массы желудка и кишечника используют в качестве характеристики обмена веществ в организме рыб, так как пищеварительный тракт перерабатывает пищевые компоненты, которые имеют различную пищевую ценность и разную степень усвояемости. Поэтому нагрузка на пищеварительный тракт существенно колеблется, что способствует изменению его массы. Индекс желудка ерша Лахтинской губы был в диапазоне 7,8–11,3%, а индекс кишечника – 9,9–12,3%. Вероятно, нагрузка на пищеварительный тракт ерша в этом районе больше, чем у ерша Кондопожской губы и Кузаранды, индексы желудка и кишечника которых не превышали 5,4%. Закономерностей изменения индексов желудка и кишечника с возрастом рыб не выявлено.

Таким образом, в условиях Лахтинской губы Онежского озера ерш имеет максимальные размеры, а также максимальные индексы сердца и пищеварительного тракта, широкий диапазон колебаний индекса селезенки и печени, по сравнению с этими показателями у ерша в Кондопожской губе и районе Кузаранды Онежского озера. С большой вероятностью, можно считать, что в Лахтинской губе сложились наиболее благоприятные пищевые условия для ерша. Это может быть связано с работой форелевого хозяйства, которое функционировало до 2006 года. По результатам уловов и опросным данным известно, что в этот период в губе количественный состав рыб в уловах был высоким, при разнообразии качественного состава. В больших количествах стали вылавливать ряпушку, плову и другие виды. Появился лещ, ранее (до организации хозяйства) не встречавшийся в этом районе. При переходе к хищничеству, ерш часто охотится на рыбу, включая молодь, охотно поедает икру различных видов (ряпушки, леща, плотвы). Сложившиеся благоприятные кормовые условия для ерша в Лахтинской губе, обусловленные работой хозяйства, отразились на его морфофизиологическом состоянии.

THE MORPHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RUFFE FROM LACHTA LIP OF ONEGO LAKE

I.M. Dzyubuk, E.A. Klyukina

Petrozavodsk state university, Petrozavodsk, Russia,
ikrup@petsu.ru, elenak@psu.karelia.ru

The presented results of the studies the morphophysiological parameters of ruffe from Lachta lip of Onego lake. Were investigate size – weight, sex structures of population and indexes of internal organ (heart, gills, spleen, liver, stomach and bowels) of ruffe.

УРОВЕНЬ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В КРОВИ МОРСКОГО ЕРША В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ЗРЕЛОСТИ ГОНАД

И.И. Дорохова

Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина
mirenri@bk.ru

Для оценки состояния морских акваторий наиболее удобным объектом являются рыбы. Негативное воздействие на них приводит к усилению процессов эндогенной интоксикации, возникающих вследствие естественного снижения функционирования защитных систем и дисбаланса активности протеазной и антипротеазной систем. Но на эти системы могут оказывать влияние не только внешние, но внутренние факторы, такие как стадия зрелости гонад, возраст, годовой цикл.

В результате активного протеолиза происходит образование большого количества продуктов распада белков – среднемолекулярных пептидов с молекулярной массой 300–5000 Д. Они способны модифицировать метаболизм и функции клеток, так как близки по строению к регуляторным пептидам.

В связи с этим целью настоящей работы является изучение особенностей содержания среднемолекулярных олигопептидов в крови морского ерша на разных стадиях созревания гонад.

Уровень эндогенной интоксикации (ЭИ) в крови самок и самцов морского ерша при различных физиологических состояниях представлен на рис. 1.

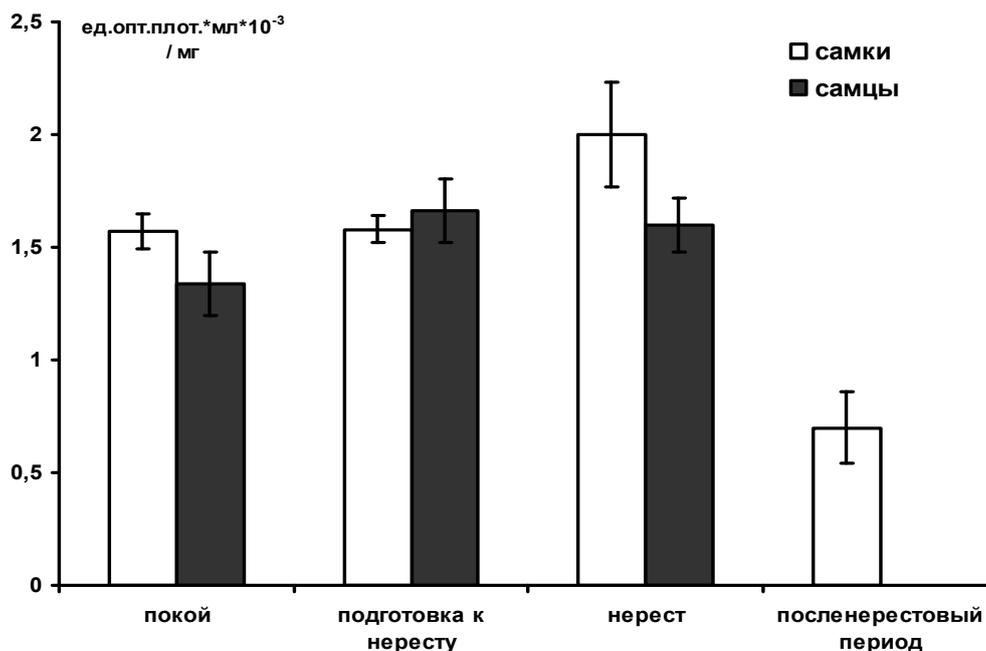


Рис. 1. Уровень ЭИ в крови морского ерша на разных стадиях созревания гонад

В состоянии покоя и при подготовке к нересту у самок в крови содержание олигопептидов остается неизменным. Отмечено достоверное повышение уровня ЭИ в нерестовый период, что возможно связано не только с особым физиологическим статусом, но и с тем фактом, что данный период приходится на лето – время максимальной антропогенной нагрузки на севавтопольские акватории. Посленерестовый период у морского ерша очень короткий; концентрация олигопептидов в крови самок в это время понижается более чем в 2.5 раза по сравнению с нерестом и в 2 раза по сравнению с покоем и преднерестовым периодом.

У самцов морского ерша отличий в уровне ЭИ на различных стадиях созревания не выявлено, отмечено лишь незначительное повышение в преднерестовый и нерестовый период.

Таким образом, установлено, что уровень ЭИ возрастает у самок в нерестовый период, что обусловлено как интенсификацией метаболизма, так и усилением антропогенной нагрузки на среду обитания.

LEVEL OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN SCORPIONFISH BLOOD DEPENDING ON GONADS MATURITY

I. I. Dorohova

Institute of Biology of the Southern Seas, Ukraine, Sevastopol
mirenri@bk.ru

Peculiarities of endogenous intoxication in blood of scorpionfish inhabiting in Sevastopol's bays were investigated. Content of oligopeptides increased in spawning period in female's blood and became lower in 2–3 times after spawning. The changes in male parameters were not observed during investigated period.

РОЛЬ РАСТВОРЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ В АДАПТАЦИИ ПОЛИХЕТЫ *NAMANEREIS LITTORALIS* К УСЛОВИЯМ СУПРАЛИТОРАЛИ

Е.Е. Ежова

Атлантическое отделение института океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Калининград, Россия
igelinez@gmail.com

Показано соленостнозависимое поглощение растворенных аминокислот (РАА) полихетой *Namanereis littoralis*. Скорость поглощения D,L-лейцина $2H^3$ на порядок выше, чем D,L-лейцина $2H^3$. Голодание повышает интенсивность поглощения РАА. Возможный вклад поглощенных аминокислот в бюджет энергии полихеты не превышает 1.7%. Предполагается, что растворенные аминокислоты действуют главным образом как источники химической информации о нахождении гниющей органики.

Полихета *Namanereis littoralis* (Nereididae), обитает в прибрежной зоне многих морей Атлантического и Тихого океанов. Содержание растворенного органического вещества (РОВ) над мягкими, богатыми органикой грунтами в типичных местообитаниях этого вида может превышать обычную для открытых районов океана концентрацию $2 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ на 2 порядка (Старикова, 1970; Clark, Gockson, 1972; Stephens, 1975; др.). В заливе Посьета (Японское море) максимальные плотности наманереисов обнаружены нами в супралиторальных штормовых выбросах, там же – максимальные концентрации РОВ, связанные с антропогенным стоком и постоянным выщелачиванием органического вещества из отмерших трав, водорослей, беспозвоночных (Вышкварцев, Пешеходько, 1982).

В серии экспериментов изучали роль РОВ в приспособлении *N. littoralis* к специфическим условиям супралиторального биотопа. А. Пюттером (Pütter, 1908) была высказана идея внекишечного поглощения растворенных органических веществ, которая подтвердилась на многих видах морских беспозвоночных, имеющих поверхности, образованные ресничным или слизиобразующим эпителием.

Исследовали поглощение меченых D,L-глицина 2H^3 и D,L-лейцина 2H^3 в конечных концентрациях 20 и 22,5 мг л⁻¹ соответственно. Аминокислоты выбрали по результатам предварительного опыта в преферендум-приборе, как привлекающее (глицин) и отпугивающее (лейцин) червей вещества, в концентрациях, характерных для естественных местообитаний в районе исследования. Показано, что *N. littoralis* способен к поглощению растворенных аминокислот в широком диапазоне соленостей. Поглощение глицина, максимальное при солености 35‰, резко падает при ее понижении, составляя 25% от максимума при 25‰, и стремится к нулю при солености 8‰; лейцин поглощается сходно – при солености 4–8‰ интенсивность накопления метки низка, при 12‰ – резко возрастает и далее незначительно повышается вплоть до 25‰. Во всех повторностях эксперимента обнаружен дополнительный пик поглощения при солености 12‰. Возможно, это связано с тем, что соленость близкая к 12 ‰, оптимальна для ресничного движения у данного вида (Комендантов, Ежова, 1989). Максимальные скорости поглощения составляют $8,35 \cdot 10^{-5}$ мг·экз.⁻¹ч⁻¹ для глицина и $2,68 \cdot 10^{-6}$ мг·экз.⁻¹ч⁻¹ для лейцина.

Вторая серия опытов была проведена для выяснения влияния оформленной пищи на поглощение аминокислоты. Голодающие животные поглощают метку более интенсивно. У полихет, получавших в избытке листья зостеры, отмечены значительно более низкие уровни поглощения обеих аминокислот, эта разница особенно заметна в высоких соленостях. Так, в опытах с глицином в соленостях 4–16 ‰ разница составляет около 5%, а при 35‰ достигает 90%. Лейцин поглощается сходным образом: в нижней части соленостного ряда отличия недостоверны, при 16 ‰ достигают 40%.

Используя усредненные данные по газообмену полихет (Камлюк, 1974), оценили возможный вклад аминокислот в энергетический бюджет *N. littoralis*. Он составил 1,7 и 0,1% для глицина и лейцина соответственно. Эти величины меньше, чем приводимые в литературе для олигохеты *Enchytraeus albidus* (Siebers, Vulnhelm, 1977) и ряда аннелид и ракообразных (Stephens, 1968; Testerman, 1972) – до 1,2–15%. Различие может быть связано это с тем, что в приведенных работах оценивается суммарный вклад многих органических веществ, растворенных в воде, а не индивидуального вещества, а также – с различной способностью видов к сорбции РОВ. Эта способность, очевидно, складывалась эволюционно в процессе приспособления обитанию в условиях недостатка оформленной пищи. Оценки роли РОВ в энергетическом бюджете достигают значительных величин у немногих видов животных организмов – кораллов, погонофор (близко к 100%), *Capitella capitata* из полихет (60–90%), питание оформленной пищей для которых проблематично.

N. littoralis, излюбленным биотопом которого являются супралиторальные выбросы гниющих морских трав, водорослей, а пищевыми объектами – все виды гниющей органики, при предпочтении многочисленных здесь остатков беспозвоночных, адаптирован больше к изобилию, чем к недостатку оформленных пищевых частиц. Для эти[мелких полихет с низким конкурентным потенциалом очень важна способность быстро находить излюбленный вид пищи.

Наманереисы по-разному реагируют на добавление в среду кристаллов аминокислот: одни вызывают явно выраженную пищевую реакцию, другие – реакцию убегаения. Опыт, в ходе которого в преферендум-приборе полихетам предлагали растворы восьми аминокислот: лейцина, валина, глицина, серина, треонина, триптофана, тирозина, метионина, показал, что животные, получавшие в избытке оформленную пищу, практически не реагируют на РОВ. Черви после 5-дневного голодания проявляют четкий положительный таксис к растворам треонина, серина, глицина, явно избегая растворов лейцина, валина, триптофана и не реагируют на тирозин и метионин. Данные о том, что голодание повышает чувствительность 6 видов беспозвоночных к растворенным в воде аминокислотам приводит Ракуза-Сущевский с соавторами (2009).

Имея в виду, что основу пула свободных аминокислот, выделяющихся при гниении морских трав в местах обитания наманереиса составляет глицин, а также активное поглощение глицина наманереисом через поверхность тела, логично предположить, что именно глицин является для *N. littoralis* «репером», привязывающим его к биотопу штормовых выбросов, а положительный таксис на отдельные аминокислоты выработался в связи с излюбленными компонентами пищи, в частности – с гниющим животным белком.

Поэтому, хотя поглощение растворенных аминокислот и может частично компенсировать недостаток оформленной пищи, растворенные аминокислоты для данного вида, скорее играют информационную, чем трофическую роль, указывая на источник гниющей органики – обычной пищи наманереиса.

THE ROLE OF DISSOLVED AMINO ACIDS AS FACTOR SUPPORTING ADAPTATION OF POLYCHAETE NAMANEREIS LITTORALIS TO SUPRALITTORAL CONDITION

E.E. Ezhova

Atlantic branch of P.P. Shirshov institute of oceanology RAS, Kaliningrad, Russia
igelinez@gmail.com

Salinity dependant processes of dissolved amino acid (DAA) uptake by polychaete *Namanereis littoralis* was shown. The rate of D,L-glycine $2H^3$ uptake is ten-fold higher than D,L-leucine $2H^3$. Starvation heightens an intensity of DAA uptake. Potential contribution of absorbed DAA into energy budget of *N.littoralis* not exceed 1.7%. It is supposed, DAA act as chemical information agent pointing out a source of decaying organic matter.

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКОРТИЗОНА И ТЕСТОСТЕРОНА НА НЕЙРОСЕКРЕЦИЮ И ГАМЕТОГЕНЕЗ ЧЕРНОМОРСКОЙ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Е.Е. Ежова¹, С.М. Никитина²

¹ Атлантическое отделение института океанологии им. П.П.Ширшова РАН, Калининград, Россия
igelinez@gmail.com

² Российский государственный университет им. И.Канта, Калининград

Рассмотрено воздействие гидрокортизона и тестостерона на функциональную активность нейросекреторных элементов цереброплеврального ганглия и гаметогенез, содержание стероидного комплекса и динамику гонадосоматического индекса черноморской мидии *M. galloprovincialis*. Показано что гормональное (гидрокортизон) воздействие вызывает изменение активности НСК с быстрым, в первый час воздействия, выведением нейросекрета, перераспределение половых стероидов в гонадах, в которых в результате происходит перераспределение ооцитов по стадиям развития. Соотношение между половыми клетками разных стадий в гонадах меняется в сторону снижения доли ранних и возрастания доли более поздних стадий развития, а также созревание и частичный вымет гамет. Тестостерон также способствует ускоренному росту и созреванию гамет. Сделан вывод о существовании у *Mytilus galloprovincialis* тесная взаимосвязи эндокринной и нейроэндокринной систем, при регулирующем влиянии последней.

Сочетанное действие нейросекреторной системы (НСС) и стероидных гормонов в регуляции репродуктивных процессов у беспозвоночных гидробионтов, в том числе и у митилид, до сих пор слабо представлено в специальной литературе. Цель данной работы: сопоставить воздействие гидрокортизона и тестостерона на функциональную активность нейросекреторных элементов цереброплеврального ганглия и гаметогенез, содержание стероидного комплекса и динамику гонадосоматического индекса черноморской мидии *M. galloprovincialis*.

Эксперименты проводили на одноразмерных животных, взятых из природной популяции (Черное море). Опытным животным вводили гормон в физиологических концентрациях, контрольные животные получали холостой укол. При полном биологическом анализе моллюсков фиксировали ганглии и фрагменты мантийных гонад для гистологического исследования (24 выборки по 10 экз. моллюсков). Окрашивание гонад выполняли железным гематоксилином по Генденгайну, для нейросекреторных клеток (НСК) применяли специфичную окраску на нейросекрет по Гомори-Габу. Также фиксировали пробы для последующего определения (по ранее описанным методикам) отдельных стероидных гормонов.

Ганглии интактных животных характеризовались нейросекреторными клетками на стадиях «синтез с преобладанием депонирования» – 60,7% и «синтез со сбалансированным выведением» – 34,6%. Картины выведения нейросекрета – нечеткие и редкие. Через 1 час после инъекции гидрокортизона подавляющее большинство НСК находятся в стадии «относительный покой» и имеют незначительные количества нейросекрета или не имеют его вовсе, лишь у 5% НСК цитоплазма заполнена гранулами нейросекрета. Зато в проводящих путях, в отличие от контроля – многочисленные скопления интенсивно окрашенного НС, картины выведения качественно и

достоверно количественно отличаются от таковой в контроле. Через 3 часа после инъекции, клетки с окрашенным НСК – единичны, подавляющее большинство – в стадии относительного покоя. Отчетливые картины выведения НС наблюдаются в нейропиле, нейросекреторными гранулами заполнены аксоны. Аналогичная картина наблюдается и через 6 часов эксперимента. Таким образом, введение гидрокортизона вызывает реакцию быстрого и интенсивного выведения нейросекрета из НСК.

В то же время, под воздействием гормона, происходит перераспределение гамет по стадиям развития. В ацинусах половых желез у контрольных животных преобладали клетки на ранних стадиях развития – оогонии (40%) и ооциты малого роста (26%). Через час после инъекции происходит незначительное изменение доли оогоний (+13%), ооцитов малого (-9%) и большого (-8%) роста, но возрастает доля зрелых яйцеклеток (5%). Визуально отмечен нерест. Характер распределения клеток по стадиям зрелости изменился несущественно. Однако, через 6 часов значительно меняется не только количества клеток различных стадий но и общий характер распределения: процент оогоний значительно снижается (-21%), ооцитов малого роста – возрастает вдвое, большого роста – втрое. Введение гидрокортизона вызвало быстрое, в первый час воздействия, выведение нейросекрета из НСК и последующее изменение соотношения между половыми клетками разных стадий в гонадах в сторону снижения доли ранних и возрастания доли более поздних стадий развития, а также созревание и частичный вымет гамет.

В теле интактных мидий тестостерон находился в пределах 0.9–1.7 п моль/г тела у самцов и 1.0–1.1 п моль/г у самок. Содержание гидрокортизона варьировало от 2.61 до 16.8 н моль/г тела. Различия, связанные с полом, не выявлены. Гидрокортизон в 1–3 часа после инъекции резко уменьшает концентрации тестостерона в гонаде самок до 0.2–0.7 н моль/г и до окончания опыта она остается значительно ниже контроля (0.9–2.4 н моль/г). Концентрация прогестерона к 72 часам опыта возрастает от 5.6–9.3 п моль/г до 16.4 п моль/г. Содержание эстрадиола в эти же сроки (в опыте 0.6–0.7 п моль/г) незначительно отличается от контроля (0.3–0.4 п моль/г). При этом, в первые же часы происходит четко выраженное уменьшение массы гонад (нерест) с последующим увеличением гонадосоматического индекса до 20.8, превышающим изначальный контроль (16.3–16.7). К 15 суткам опыта при гонадосоматическом индексе более 30.0 начинается повторный нерест, который на 8–10 суток опережает первый нерест в контрольной группе.

Через 12 суток после инъекции тестостерона в опытной группе на 25 процентов меньше особей в стадиях «активный гаметогенез» и готовых к нересту, при этом имеется 14% отнерестившихся особей, чего нет в контроле. Через 38 суток после инъекции в опытной группе – на 25% больше животных готовых к нересту, а находящихся на ранних стадиях – на 14% меньше. Через 2 месяца после начала опыта распределение по стадиям зрелости одинаково в опытной и контрольной группах.

Таким образом, гормональное (гидрокортизон) воздействие вызывает изменение активности НСК, перераспределение половых стероидов в гонадах, в которых в результате происходит перераспределение ооцитов по стадиям развития. Поскольку процесс созревания ооцитов мидии обеспечивается путем абсорбции жиров и углеводов из гемолимфы, а гидрокортизон активизирует синтез и распределение половых стероидов, является регулятором глюконеогенеза и повышает содержание углеводов и липидов в крови, становится понятной роль гидрокортизона в реализации у черноморской мидии пролиферации герминативного эпителия, ускорения созревания ооцитов и частичного вымета половых продуктов.

Различия отмеченные в выборках животных из контрольной и «тестостероновой» групп свидетельствует о том что тестостерон способствует ускоренному созреванию и частичному вымету гамет, переводя тем самым гонаду к более ранней стадии развития. Идентичность распределения в конце двухмесячного срока свидетельствует о том, что в опытной группе созревание половых клеток ранних стадий ускорилось под влиянием тестостерона, что не могло иметь место без усиления процессов анаболизма. Это вполне согласуется с известным мощным анаболическим действием тестостерона.

Проведенный анализ позволяет заключить, что у *Mytilus galloprovincialis* существует тесная взаимосвязь эндокринной и нейроэндокринной систем, при регулирующем влиянии последней.

THE INFLUENCE OF HYDROCORTISONE AND TESTOSTERONE ON NEUROSECRETION AND GAMETOGENESIS IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

E.E. Ezhova¹, S.M. Nikitina²

¹ Atlantic Branch of P.P. Shirshov Institute of oceanology RAS, Kaliningrad, Russia
igelinez@gmail.com

² Im. Kant Russian State university, Kaliningrad

Influence of two steroid hormones (hydrocortisone, testosterone) on functional activity of neurosecretory cell of cerebropleural ganglion, gametogenesis, concentration of steroid blend and gonosomatic index in *Mytilus galloprovincialis* was studied. It was shown, hydrocortisone injection lead to a prompt, during first hour, increase of neurosecretory activity, redistribution of sex steroids in the gonads, resulting to a further change of gamete development stage distribution. The share of early oocytes decreases and elder gametes increases, partial spawning takes place. Testosterone also promote acceleration of gamete growth and maturation. It was concluded, strong interdependence of incretory and neurosecretory system when the last one has regulatory role exists in *M. galloprovincialis*.

ПРОТЕИНОГРАММЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ ТЮЛЕНЕЙ В СВЯЗИ С ОЦЕНКОЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЖИВОТНЫХ

И.А. Ерохина

Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН, Мурманск, Россия
erohina@mmbi.info

В течение многих лет в лаборатории морских млекопитающих Мурманского морского биологического института КНЦ РАН изучается клеточный и химический состав крови ластоногих в естественной среде обитания и при содержании в неволе. В данной работе предпринята попытка обобщить данные о белковом составе плазмы крови тюленей в норме и при различных патологических состояниях и оценить возможность использования этого показателя в практике профилактики и лечения экспериментальных животных.

При использовании протеинограмм плазмы крови животных с диагностическими целями необходимо располагать нормальными значениями соотношения белковых фракций, учитывая при этом естественные факторы, вызывающие изменения состава крови. Нами показаны изменения в протеинограммах тюленей с возрастом, во время первичной адаптации к неволе, при голодании, при воздействии лекарственных веществ.

Протеинограмма используется в ветеринарной медицине в качестве диагностического показателя. Применительно к морским млекопитающим такая оценка при обследовании животных пока еще не является широко распространенной. В большинстве публикаций на эту тему можно встретить «усеченный вариант» протеинограммы – содержание альбумина и суммы глобулинов. Этот вариант имеет право на существование, поскольку соотношение альбумин/глобулины рассматривается как интегральная оценка протеинограмм. Однако для уточнения диагноза рекомендуется определять соотношение глобулиновых фракций. В руководстве по клинической патологии морских млекопитающих (Bossart et al., 2001) приводится толкование изменений в уровне белковых фракций. Эти данные дают самое общее представление о реакции отдельных белковых фракций на различные формы патологии. Отсутствие детализации объясняется, в значительной степени, тем, что морские млекопитающие до сих пор еще остаются группой животных, недостаточно изученной с точки зрения биохимии и физиологии. Результаты лабораторных обследований больных животных крайне разрозненны, неполны и противоречивы. Можно сказать, что данное направление исследований еще находится на этапе сбора информации. Однако уже сейчас отметим, что закономерности изменений белкового состава плазмы крови морских млекопитающих в ответ на действие различных факторов сходны с таковыми, установленными для наземных млекопитающих и человека, что облегчает интерпретацию результатов исследования морских животных.

Имеющиеся у нас данные в некоторой степени дополняют известные факты о связи белкового состава крови морских млекопитающих с различными видами заболеваний (таблица). Судя по приведенным результатам, изменения соотношения белковых фракций являются неспецифической реакцией на заболевание, и при констатации данного факта требуется дополнительное лабораторное обследование с применением специфических тестов, характеризующих состояние отдельных органов и систем организма. Например, определение билирубина, мочевины, активности трансаминаз, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы – для оценки состояния печени, определение креатинина, мочевины, электролитов (натрий, калий, кальций, фосфор, хлориды) – для оценки состояния почек и т.п.

Таким образом, у морских млекопитающих, так же, как и у наземных, соотношение основных белковых фракций в плазме крови изменяется под влиянием естественных и патологических причин. В последнем случае направление и степень выраженности изменений может использоваться для диагностики с учетом следующих замечаний:

- Определение соотношения белковых фракций плазмы крови должно проводиться регулярно в процессе диспансеризации с учетом индивидуальной нормы животных

- Протеинограмма является неспецифическим показателем здоровья и должна использоваться, наряду с другими тестами, в оценке состояния организма на уровне норма-патология. При отклонении протеинограммы от «нормальной» должны назначаться дополнительные тесты с учетом характера вышеупомянутых отклонений.

Содержание белка, соотношение белковых фракций и альбумин/глобулиновый коэффициент (А/Г) крови ластоногих с различными заболеваниями

Объект	Белок, г/л	Белковые фракции (отн.%)			А/Г	
		альбумин	глобулины			
			α	β		γ
Морской заяц, самец, дерматит, до лечения после лечения	76.90	33.21	34.64	8.93	23.22	0.50
	88.60	51.72	16.55	22.76	8.97	1.07
Морской заяц, самка, гельминтоз, перед гибелью	89.70	40.00	27.00	23.50	9.50	0.67
Морской заяц, самка, заболевание не установлено	72.30	48.41	14.76	13.97	22.86	0.94
Тюлень-хохлач, самка, заболевание не установлено, перед гибелью	45.90	59.30	8.14	7.68	24.88	1.46
Гренландский тюлень, самка, заболевание не установлено, перед гибелью	54.80	77.60	9.60	8.80	4.00	3.46
Гренландский тюлень, самец, гастроэнтероколит, гепатоз и паренхиматозная желтуха	84.60	71.73	9.07	9.07	10.13	2.54
Гренландский тюлень, самка, энтероколит, гепатоз и паренхиматозная желтуха	87.40	67.11	13.95	10.53	8.42	2.04
Гренландский тюлень, самка, паренхиматозная дистрофия печени, энтерит, обезвоживание	90.30	70.98	21.22	4.63	3.17	2.45

Примечание. Вскрытие погибших животных и постановка патанатомического диагноза выполнялись ветеринарным врачом к.б.н. Елфимовой Т.Б.

PROTEIN ELECTROPHORESIS OF SEAL'S BLOOD PLASMA IN CONNECTION WITH AN EVALUATION OF A PHYSIOLOGICAL STATE OF ANIMALS

I.A. Yerokhina

Murmansk Marine Biological Institute KSC RAS, Murmansk, Russia
erokhina@mmbi.info

The results of researches of a blood plasma protein content in some species of pinnipeds in norm and at the various forms of a pathology are submitted. The laws of changes of an interrelation of protein fractions are similar to those at terraneous mammalian and man. The potentialities of use of this parameter, alongside with others, for an evaluation of a physiological state of animals in the monitoring system for captive animals and for an evaluation of a feed efficiency are shown. Protein electrophoresis can be applied as a nonspecific parameter of animals health at a level a norm – pathology.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛАСТОНОГИХ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ

И.А. Ерохина

Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН, Мурманск, Россия
erohina@mmbi.info

Ранние этапы развития животных заслуживают особого внимания, поскольку в это время осуществляется наиболее интенсивное формообразование структурно-функциональных систем организма. В связи с этим целью данной работы было исследование метаболизма одного из представителей ластоногих – серого тюленя от рождения до начала самостоятельного питания.

Материал для исследования собран во время экспедиции на Айновы острова в 2006г. Животные были разделены на три группы в зависимости от стадии развития, которые в раннем постнатальном периоде жизни определяются характером питания: новорожденные, активно питающиеся молоком матери, закончившие молочное питание. К анализу были привлечены ранее полученные данные о составе крови животных этого вида, прошедших стадию голодания после молочного вскармливания (эта стадия характерна для ластоногих, в отличие от наземных млекопитающих) и приступивших к самостоятельному питанию рыбой. Кровь брали из экстрадуральной вены. В плазме определяли основные показатели обмена белков, липидов, углеводов, минеральных веществ, используя общепринятые лабораторные методы.

Состав крови новорожденных животных отражает адаптации, связанные с рождением, когда прекращается приток питательных веществ с кровью матери. В это время отмечается крайне низкая концентрация глюкозы, к концу периода молочного вскармливания этот показатель снижается более, чем в 3 раза, а главным источником энергии служит жир материнского молока. Начало повышения уровня глюкозы в крови тюленей выявлено в возрасте 1.5–2 мес, а значительный прирост (более, чем в 8 раз) отмечается с началом самостоятельного питания в результате глюконеогенеза.

К особенностям состава плазмы крови у новорожденных животных относятся также низкая концентрация мочевины, высокая активность γ -глутамилтрансферазы и низкая – щелочной фосфатазы. У большинства морских млекопитающих нормальные значения концентрации мочевины в плазме выше, чем у наземных (Bossart et al., 2001). Такие данные известны для гренландского (Кавцевич, Ерохина, 1996; Voily et al., 2006) и обыкновенного (McConnel, Vaughan, 1983) тюленей, кольчатой нерпы (Geraci, Aubin, 1979). У новорожденных серых тюленей этот показатель составляет всего 3.55 ± 0.94 ммоль/л, что в несколько раз меньше, чем у 1.5–2-месячных щенков.

γ -глутамилтрансфераза (ГТФ) – фермент, ассоциированный с клеточными мембранами многих органов (печень, сердце, мышцы, почки). Есть сведения о том, что ГТФ может использоваться в качестве маркера пассивного переноса иммуноглобулинов у новорожденных морских зверей, поскольку молозиво и молоко лактирующих самок характеризуются высокой активностью ГТФ (Bossart et al., 2001). Аналогичные данные есть и для наземных домашних млекопитающих (Meyer, Harvey, 1998). Однако, значения активности ГТФ для этих животных более, чем в 10 раз превышают таковые для новорожденных серых тюленей в нашем исследовании, а также показатели щенков гренландского тюленя и тюленя-хохлача (Voily et al., 2006). Отсюда следует, что формирование пассивного иммунитета за счет иммуноглобулинов матери у ластоногих происходит с меньшей интенсивностью по сравнению с наземными млекопитающими.

Щелочная фосфатаза (ЩФ), обнаруживаемая в плазме крови взрослых животных, имеет печеночное происхождение, а на ранних стадиях онтогенеза присутствует значительное количество костной фракции фермента. У морских млекопитающих по сравнению с наземными активность ЩФ выше во все возрастные периоды (Bossart et al., 2001; Voily et al., 2006). Есть данные о том, что уровень ЩФ в плазме крови морских млекопитающих коррелирует с интенсивностью анаболических процессов в организме и концентрация фермента может использоваться в качестве показателя упитанности животных, а также дифференциации катаболических и анаболических состояний (Dover et al., 1993). У новорожденных тюленей активность ЩФ низкая, и досто-

верно увеличивается только к концу периода молочного вскармливания, отражая, очевидно, интенсивный рост костной ткани.

Во время активного питания в составе крови происходят незначительные изменения: увеличивается концентрация общего белка, уменьшается содержание глюкозы и кальция, снижается активность γ -глутамилтрансферазы.

К концу молочного вскармливания состав крови меняется значительно – по сравнению и с новорожденными, и с питающимися молоком животными. Так, происходит уменьшение содержания белка, на фоне этого достоверно повышается уровень альбумина и уменьшается содержание бета- и гамма-глобулинов. Последнее заслуживает особого внимания, учитывая роль белков этой группы в функционировании системы иммунитета. Очевидно, синтез собственных иммуноглобулинов, составляющих основную часть фракции гамма-глобулинов, у животных этого возраста еще не происходит, а начинается с переходом к самостоятельному питанию, так как антигены пищи стимулируют процесс. Кроме этого, повышается уровень конечного продукта обмена белков – мочевины, что свидетельствует об усилении катаболизма белков. К концу молочного вскармливания в плазме крови тюленей продолжает снижаться активность γ -глутамилтрансферазы, но увеличивается активность щелочной фосфатазы.

Наиболее существенные изменения в составе крови тюленей отмечаются с началом самостоятельного питания. Концентрация глюкозы достигает нормального для взрослых животных уровня. Повышается содержание общего белка за счет трех фракций – альбумина, бета- и гамма-глобулинов, причем содержание последней практически такое же, как и в начале питания материнским молоком, когда эта фракция формируется за счет материнских иммуноглобулинов. Уменьшается концентрация лактата, отражая преобладание аэробных механизмов утилизации глюкозы как энергетического субстрата. И, наконец, изменяется активность всех изученных ферментов.

Таким образом, в раннем периоде постнатального развития серых тюленей происходят метаболические перестройки, присущие млекопитающим в целом, однако степень выраженности отдельных реакций может рассматриваться как особенность ластоногих. Наиболее значительные изменения в метаболизме тюленей происходят в период окончания молочного вскармливания и перехода к самостоятельному питанию.

Работа выполнена при содействии Кандалакшского государственного природного заповедника и при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 05-04-48388-а и № 06-04-02106-э_к).

METABOLISM PECULIARITIES OF PINNIPEDS IN EARLY POSTNATAL PERIOD OF DEVELOPMENT

I.A. Yerokhina

Murmansk Marine Biological Institute KSC RAS, Murmansk, Russia
erokhina@mmbi.info

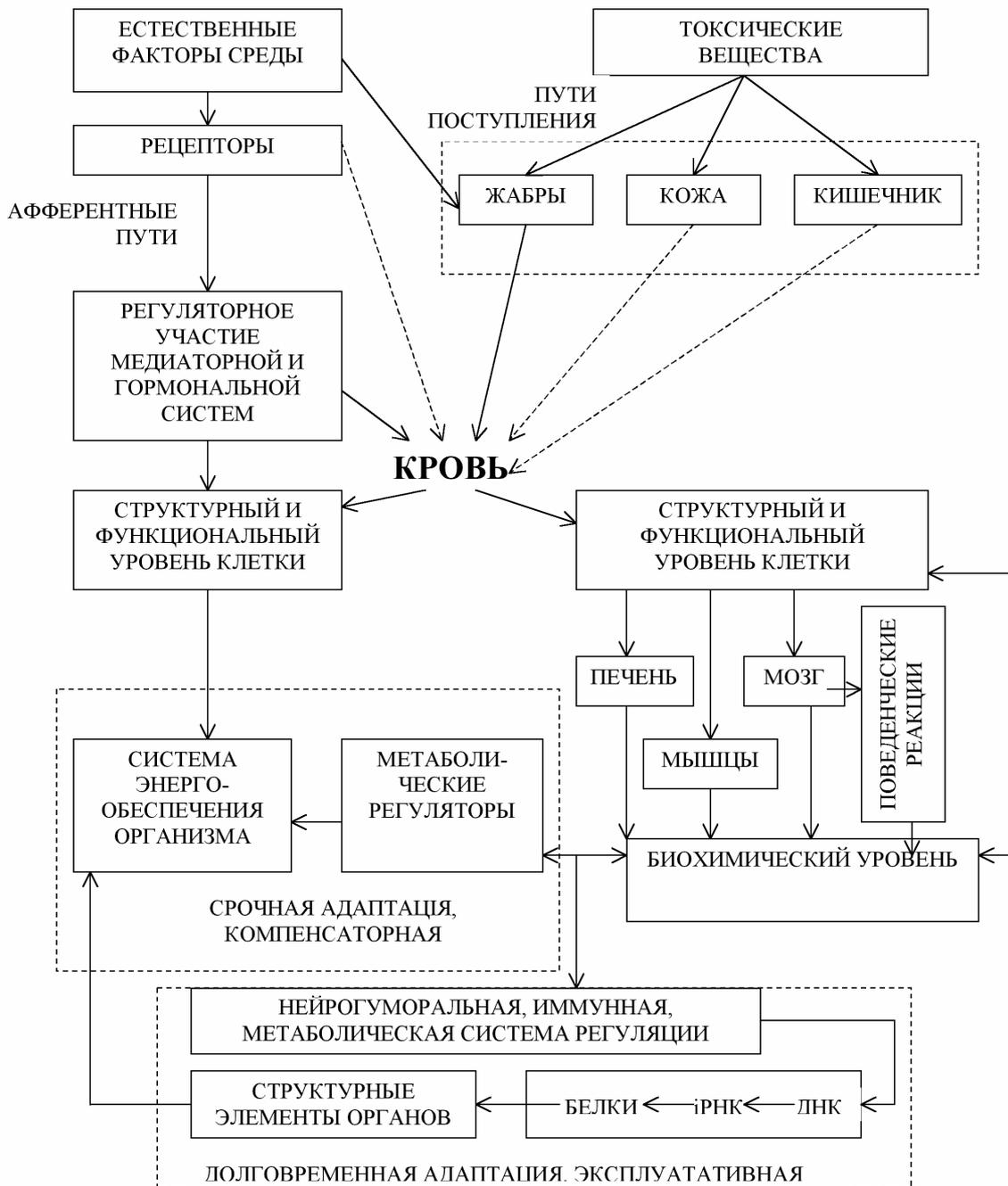
The results of research of some biochemical parameters of seal's blood in the period from birth to the beginning of independent feeding are presented. Blood plasma was tested for the main parameters of protein, lipid, carbohydrate, and mineral metabolism (total protein, albumin, α -, β -, γ -globulins, urea, creatinine, uric acid, glucose, lactic acid, total lipids, calcium, inorganic phosphorus, sodium, potassium, magnesium, iron, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, γ -glutamyltransferase, α -amylase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase). It is established, that the early postnatal development of seals is accompanied by metabolic rearrangements characteristic of mammals in general; however, the degree of expression of certain reactions can be regarded as a characteristic feature of pinnipeds. The most significant changes in the metabolism of seals are noted at the end of milk feeding and the transition to independent feeding.

**МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ
РАЗНОВОЗРАСТНЫХ ГРУПП *CYPRINUS CARPIO* L.
ПРИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

А.А. Жиденко

Черниговский национальный педагогический университет имени Т.Г. Шевченко, Чернигов, Украина
chgpu@chgpu.cn.ua, zaa2006@ukr.net

При изучении загрязнения водных экосистем и формировании адаптации у гидробионтов исследовано воздействие антропогенных факторов на динамику численности и запасы экономически ценных видов рыб, предложены критерии ранней диагностики отклонений от нормы, отдельные биохимические механизмы действия токсических веществ на организм рыб (Немова Н.Н. и др., 2004). Однако, соотношение ответных поведенческих реакций в комплексе с морфофизиологическими, биохимическими изменениями в органах рыб разного возраста в процессе формирования адаптации под действием экологических факторов, особенно токсических веществ и, в частности гербицидов, изучено недостаточно, что и стало предметом нашего исследования. На протяжении своего развития рыбы испытывают влияние многокомпонентной изменяющейся внешней среды, и на каждой стадии онтогенеза могут подвергаться экстремальным воздействиям, как естественным, так и искусственным (рис.). В течение зимовки на сеголеток карпа действуют неблагоприятные абиотические факторы (низкие температуры и голодание), которые воспринимаются рецепторами и по афферентным путям приводят в возбуждение координированные: медиаторную и гормональную системы, обеспечивающие физиологические адаптивные реакции организма в критических ситуациях для необходимого приспособления к изменившимся условиям среды. Ганс Селье (Hans Selye M.D., 1974) обозначил эти системы в виде «оси» (гипоталамус – гипофиз – надпочечники), что характерно для более развитых млекопитающих. У костистых рыб, к которым относится *Cyprinus carpio* L., функции надпочечников выполняют сосредоточения клеток интерриальной (адренокортикальной) и хромоаффинной (мозговой) тканей, которые концентрируются в «главных» почках вокруг областей задних кардинальных вен (Ромер А. и др., 1992). В клетках и органах (на структурно-функциональном уровне) возникает ответная реакция в виде «аварийной» стадии. Увеличенная нагрузка на орган приводит к мобилизации энергетических и структурных ресурсов организма, их перераспределение в сторону обеспечения систем, ответственных за адаптацию к данному фактору. Возрастает уровень функционирования определенных клеток, которые обеспечивают срочный этап компенсаторной адаптации, причем только тех, вклад которых более важен для выживания в данных условиях. Метаболический регулятор энергетических ресурсов принимает участие не только в обеспечении срочной адаптации, но и приводит в действие другой, более сложный контур регуляции: включаются нейрогуморальная, иммунологическая, метаболическая регуляторные системы организма. Они контролируют активность генетического аппарата клетки – определяют скорость синтеза нуклеиновых кислот и белков, необходимых для преодоления стрессовой ситуации. Данная реакция не только предшествует стойкой долговременной адаптации, но и играет важную роль в ее формировании. Организм приобретает дополнительные способности, которые позволяют ему извлекать максимальную пользу из окружающей среды. Примером такой адаптации в наших исследованиях является синтез кетоновых тел в печени двухлеток карпа в качестве дополнительного источника энергии для мозга. В октябре количество кетоновых тел в мышцах, печени и мозге двухлеток карпа в среднем в 10–20 раз больше, чем у сеголеток в тех же органах. Организм более взрослых особей приобретает новые благоприятные для него свойства, как бы заранее готовит себя к действию зимнего голодания и низких температур, что свидетельствует о наличии у него эксплуативной формы адаптации. В отличие от этой ситуации при действии токсических веществ формирование эксплуативной адаптации затруднено. Токсиканты вызывают у рыб лишь компенсаторные ответные реакции, которые обеспечивают устойчивость организма к ксенобиотикам и протекание которых зависит от физико-химических свойств токсических веществ, особенностей проникновения их в организм и от возраста рыб.



Формирование долговременного этапа адаптации в организме карпа к неблагоприятному действию экологических факторов

MORPHO-PHYSIOLOGICAL ADAPTATIONS OF UNEVEN-AGED *CYPRINUS CARPIO* L. GROUPS UNDER ADVERSE INFLUENCE OF ECOLOGICAL FACTORS

A.A. Zhydenko

T.G. Shevchenko national pedagogical university of Chernigov, Chernigov, Ukraine
 chgpu@chgpu.cn.ua, zaa2006@ukr.net

The paper focuses on age peculiarities of forming *Cyprinus carpio* L.'s adaptation to low temperature and starvation. This-year's breed's adaptation is described as compensatory while the two-year-olds' one is identified as exploiting (offensive).

ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМА АДАПТАЦИИ ГОДОВАЛЫХ ОСОБЕЙ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS* К КАДМИЮ

А.Ф. Жуковская, Н.Н. Бельчева, Е.Е. Солодова, В.П. Челомин

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева, Владивосток, Россия
avianna@poi.dvo.ru

Морской двустворчатый моллюск *Mizuhopecten yessoensis* сем. Pectinidae способен аккумулировать кадмий без какого-либо видимого токсичного эффекта, благодаря способности связывать этот металл с высокомолекулярными Cd-связывающими белками. На сегодняшний день так же известно, что способность к аккумуляции кадмия у приморского гребешка *M. yessoensis* так же зависит и от возраста. Однако ничего не известно об особенностях функционирования биохимического аппарата адаптации приморского гребешка в зависимости от возраста.

Поэтому целью данной работы являлось выявить особенности в механизмах адаптации годовалых особей (1⁺) приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* к высокотоксичному кадмию.

Приморский гребешок *M. yessoensis* был отобран из экологически чистого района залива Петра Великого. Моллюсков содержали в аквариумах с аэрируемой проточной водой, где в дальнейшем, гребешки были разделены на контрольную группу и опытную группу (CdCl₂, 300 мкг/л).

Субклеточное фракционирование гомогената пищеварительной железы приморского гребешка показало, что значительная часть кадмия (80% у контрольных и 40% у экспериментальных особей) находится в водорастворимой фракции клетки. Дальнейшее фракционирование позволило обнаружить, что в контрольных особях приморского гребешка на долю термостабильных, устойчивых к органическим растворителям МТ-подобных белков приходится около 10% кадмия. Однако в особях приморского гребешка, аккумулировавших кадмий, на долю МТ-подобных белков приходится около 40% всего кадмия, обнаруженного в цитоплазматической фракции клетки.

Разделение основных кадмий-связывающих белков гель-хроматографией (FPLC, Superosa 6) показало, что в годовалых особях *M. yessoensis* обнаруживается новый неизвестный и не характерный для 5–7-ми летних особей белок с молекулярной массой в области 120–130 кДа, который принимает основное участие в связывании кадмия.

Результаты исследования показали, что при аккумуляции кадмия происходит перераспределение этого металла среди кадмий-связывающих белков. В контрольных особях *M. yessoensis* большая часть кадмия связывается с белком 43 кДа и незначительно с белками 72 и 120 кДа. В условиях повышенного содержания кадмия в среде в особях *M. yessoensis* кадмий связывается с высокомолекулярным белком (120 кДа), тогда как минорная часть кадмия приходится на белок с молекулярной массой 43 кДа. Результаты так же показали, что белок 72 кДа не меняет сродства к кадмию ни в контрольных, ни в экспериментальных особях приморского гребешка *M. yessoensis*.

Результаты так же показали, что все обнаруженные кадмий-связывающие белки пищеварительной железы 1⁺ особей приморского гребешка *M. yessoensis* обладают антирадикальной активностью (TOSC). Значение TOSC (total oxiradical scavenger capacity) тесно взаимосвязано с аккумуляцией кадмия. Значение антирадикальной активности не менялось у белка с молекулярной массой 72 кДа в контрольной и экспериментальной группе *M. yessoensis*. В кадмий-связывающих белках 120 и 43 кДа значение общего антирадикального индекса падает в условиях повышенного содержания кадмия в окружающей среде. Обнаружено, что белок 120 кДа имеет меньшее значение TOSC, чем белок 43 кДа в контрольных и экспериментальных особях *M. yessoensis*.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что в 1⁺ особях приморского гребешка *M. yessoensis* хорошо развиты механизмы адаптации, которые обеспечивают устойчивость данной возрастной группы к токсичному кадмию. Однако в механизме адаптации этой возрастной группы существуют свои особенности отличные от механизмов адаптации половозрелых гребешков *M. yessoensis*, проявляющиеся в синтезе высокомолекулярного белка. Мы полагаем, что для интерпретации биологической роли этого белка в пищеварительной железе годовалых особей приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* необходимы дальнейшие исследования.

ASSESSMENT OF FEATURES IN BIOCHEMICAL MECHANISM OF ADAPTATION OF YOUNG GROWTH SCALLOP *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

A.F. Zhukovskaya, N.N. Belcheva, E.E. Solodova, V.P. Chelomin

V.I. Pichev Pacific Oceanological Institute of Far Eastern Branch Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia
avianna@poi.dvo.ru

A feature biochemical mechanism of cadmium adaptation was studied in age-1⁺ scallop *Mizuhopecten yessoensis* (Bivalvia). Total cadmium was found to be associated with three high molecular weight MT-like proteins. A novel cadmium-binding protein was revealed in digestive gland of age-1⁺ scallop *M. yessoensis*. In present time this new high molecular weight (120 kDa) protein has not been detected in adult (5–7 ages). The existence of two proteins 43 and 72 kDa molecular weight cadmium-binding proteins also was founded. Total oxyradical scavenger capacity (TOSC) was investigated for cadmium-binding proteins identified in digestive gland of *M. yessoensis*. The means of TOSC were compared between control and experimental groups (CdCl₂ 300 mcg/l) of scallops *M. yessoensis*. The putative biological significance of the features in biochemical mechanism of cadmium adaptation in young growth scallops *Mizuhopecten yessoensis* is discussed.

ИЗМЕНЕНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МОЛОДИ ПЛОТВЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПХБ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В КОРМЕ И ГРУНТАХ

Е.А. Заботкина, Т.Б. Камшилова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
п. Борок, Ярославской обл., Россия
zabel@ibiw.yaroslavl.ru

Исследование клеток крови и кроветворной ткани, как индикатора состояния организма – один из широко распространенных методов оценки не только здоровья организма в целом, но, косвенно, и состояния среды его обитания. Полихлорированные бифенилы (ПХБ) в настоящее время являются одними из наиболее опасных поллютантов окружающей среды. Они устойчивы к деградации, способны накапливаться в грунтах и гидробионтах, оказывают эмбриотоксическое, тератогенное, мутагенное, генотоксическое и иммуносупрессивное воздействие, как на высших, так и низших позвоночных, в том числе рыб. Цель данной работы – исследовать динамику изменения морфофизиологических и гематологических показателей сеголеток плотвы при длительном питании кормами с разной концентрацией ПХБ и при обитании на грунтах разной степени загрязненности ПХБ.

Исследовали молодь плотвы, массой 3.59 ± 1.19 г и длиной 6.55 ± 0.50 см. После акклимации рыб пересаживали в аквариумы с грунтами, отобранными дночерпателем в районе станций Первомайка (контроль) и Кошта (опыт) Рыбинского водохранилища (содержание ПХБ 24.8 и 425.6 нг/г сухой массы, соответственно). Одновременно рыб переводили на питание фаршем из мышц лещей *Abramis brama*, выловленных в Моложском (контроль) и Шексинском (опыт) плесах Рыбинского водохранилища (содержание ПХБ 3.7 и 50.8 нг/г сырой массы, соответственно). Пробы отбирали через 0, 35, 91, 213 и 280 сут экспозиции. Помимо общего биоанализа проводили исследование эритроцитов для оценки количества микроядер и amitotических делений и лейкоцитов в периферической крови и гемопоэтических органах.

Исследования показали наличие воспалительных изменений в брюшной полости в обеих группах рыб, но более раннее их проявление в опытной группе по сравнению с контролем. Выявлено колебание индексов внутренних органов в течение эксперимента. По результатам микроядерного теста не отмечено генотоксического эффекта, но в контрольной и опытной группах наблюдали повышенное число amitotически делящихся эритроцитов в течение всего эксперимента, что, возможно, связано с компенсаторной реакцией. Картина завершеного amitоза свидетельствует о дегенеративной форме и служит одним из признаков начинающихся некробиотических процессов.

Исследование клеток периферической крови и гемопоэтических органов позволило оценить их вклад в лейкопоз и степень реакции на данные концентрации ПХБ. Следует отметить, что меньшие концентрации также оказывали угнетающее влияние на лейкопоз, и, как результат – на соотношение лейкоцитов. Угнетение лимфоидного звена, как в периферической крови, так и органах и явный сдвиг лейкограмм вправо свидетельствуют как о развитии характерной неспецифической реакции на загрязняющие вещества, которая неоднократно фиксировалась в периферической крови, а в данном случае нами – и в органах, так и о подавлении клеточного звена под действием ПХБ (табл.). Изменения в соотношении лейкоцитов в периферической крови опытных рыб были характерны для неспецифической реакции на загрязнение, и проявились в лимфопении и нейтрофилии. Уменьшение количества палочкоядерных нейтрофилов сопровождалось увеличением долей бластных клеток, миелоцитов и метамиелоцитов в течение эксперимента.

Динамика ИСЛ в периферической крови и внутренних органах сеголеток плотвы

Органы Сроки экспозиции	Периферическая кровь	Головной отдел почек	Туловищный отдел почек	Селезенка	Печень
0	0.36 ± 0,17	1.06 ± 0,62	1.18 ± 0,22	0.29 ± 0,09	0.24 ± 0,10
35	<u>0.89 ± 0,41</u>	<u>1.34 ± 0,41</u>	<u>1.19 ± 0,28</u>	<u>0.23 ± 0,06</u>	<u>0.23 ± 0,06</u>
	0.51 ± 0,39	1.49 ± 0,46	1.42 ± 0,53	0.31 ± 0,14	0.17 ± 0,02
91	<u>0.65 ± 0,26</u>	<u>1.24 ± 0,09</u>	<u>1.19 ± 0,34</u>	<u>0.24 ± 0,05</u>	<u>0.07 ± 0,07</u>
	0.83 ± 0,46	1.09 ± 0,22	0.84 ± 0,31	0.14 ± 0,13	0.23 ± 0,12
213	<u>0.53 ± 0,07</u>	<u>1.27 ± 0,73</u>	<u>1.03 ± 0,36</u>	<u>0.27 ± 0,15</u>	<u>0.25 ± 0,11</u>
	0.60 ± 0,12	0.78 ± 0,21	0.98 ± 0,34	0.15 ± 0,04	0.19 ± 0,09
280	<u>0.45*</u>	<u>1.93*</u>	<u>2.74*</u>	<u>0.81*</u>	<u>0.17</u>
	0.27 ± 0.08	1.60 ± 0.05	1.30 ± 0.11	0.07 ± 0.04	0.10 ± 0.04

Примечание: Над чертой – показатели у опытной группы рыб, под чертой – показатели у контрольной группы рыб. * – показатели, достоверно отличающиеся при $p \leq 0.05$.

Повышение уровня бластных клеток в крови совпадало с уменьшением их доли в селезенке, а повышение уровня бластных клеток и незрелых форм нейтрофилов в почках предшествовало изменению их соотношения в крови. Вероятно, селезенка в данном случае выступает резервным депо, позволяющем экстренно выбрасывать необходимое количество лейкоцитов в периферическую кровь, тогда как почки – место образования и созревания этих клеток. Снижение долей лимфоцитов, как в периферической крови, так и органах, позволяет предполагать истощение этого ростка лейкопоза.

Динамика сдвига лейкоцитов наиболее близка в периферической крови и печени, а также в почках и селезенке. К концу эксперимента наблюдали сдвиг лейкограмм вправо в сторону гранулярных форм клеток, как в периферической крови, так и во всех органах.

Таким образом, ПХБ, содержащихся в корме и грунтах, вызвали развитие деструктивных процессов у молоди плотвы, затрагивающие органы кроветворения. Исследование клеток, как периферической крови, так и гемопоэтических органах, позволило оценить их вклад в лейкопоз и степень реакции на загрязняющие вещества.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08-05-00805.

THE ALTERATION OF HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF YANG FISH ROACH RUTILUS RUTILUS AT EFFECT OF PCBS CONTENTING IN FEEDS AND BOTTOMS

E.A. Zabotkina, T.B. Kamshilova

IBIW of RAS, Borok, Russia
zabel@ibiw.yaroslavl.ru

The long effect of PCBs which content in feeding stuffs (3.7 (control) и 50.8 (experiment) $\mu\text{g/g}$ green weight) and bottom (24.8 (control) и 425.6 (experiment) $\mu\text{g/g}$ dry weight) on roach yang fish were investigated. The samples from peripheral blood, kidney, spleen and liver at 0, 35, 91, 213 и 280 days were

selected. The peritonitis and fluctuation of organs indicators were observed. The right displacement of peripheral blood and organs leukogrammes were detected. The genotoxic effect of PCBS on erythrocyte was not detected.

ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕННОСТИ НЕМАТОДОЙ *HYSTEROThYLACIUM ADUNCUM* НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ МЕРЛАНГА *MERLANGIUS MERLANGUS EUXINUS*

А.В. Завьялов, Е.Н. Скуратовская

Институт биологии южных морей НАНУ, Севастополь, Украина
skuratovskaya2007@rambler.ru

Одной из актуальных проблем современных исследований является зараженность рыб гельминтами. Большой интерес представляет изучение патогенного влияния нематоды *Hysterothylacium aduncum* и ее личинок на организмы как промежуточных, так и окончательных хозяев, количество которых исчисляется сотнями видов. Только в Черном море этот паразит обнаружен у 46 видов рыб.

Инвазия в значительной степени ухудшает состояние рыб, нарушает репродукцию и ослабляет защитные функции. Изменения, происходящие в организме зараженных особей, связаны с нарушениями метаболических функций и физиологического состояния. Эти изменения стимулируют активацию свободнорадикальных процессов и могут быть одной из причин серьезных нарушений гомеостаза, а также гибели организма.

Известно, что одной из универсальных защитных систем организма является антиоксидантная, включающая ферменты и низкомолекулярные антиоксиданты. Она защищает организмы от токсических продуктов свободнорадикальных реакций, активация которых наблюдается при действии неблагоприятных факторов среды, в том числе паразитарной инвазии, и развитии патологических процессов. Изучение этих параметров позволяет оценить состояние рыб в популяции, а также решить ряд проблем, связанных с эволюцией защитных систем и развитием отношений паразит-хозяин на молекулярном уровне.

Цель данной работы заключалась в изучении влияния инвазии нематоды *Hysterothylacium aduncum* на активность антиоксидантных ферментов крови черноморского мерланга *Merlangius merlangus euxinus*.

Материалом исследований служили эритроциты крови мерланга. Учитывая влияние антропогенных и сезонных факторов на активность антиоксидантных ферментов, отлов рыбы осуществляли из одного района г. Севастополя в зимний период 2008 г. Нематод, паразитирующих в полости тела и на внутренних органах, определяли в соответствии с общепринятыми паразитологическими методами. Проводили сравнительный анализ активности антиоксидантных ферментов зараженных паразитами ($n = 14$) и незараженных ($n = 7$) рыб. Кровь отбирали из хвостовой артерии, гемолизаты получили по методу Троицкой. В гемолизатах крови определяли активность антиоксидантных ферментов. Активность каталазы идентифицировали с помощью реакции разложения перекиси водорода. Активность супероксиддисмутазы (СОД) анализировали спектрофотометрическим методом в системе НСТ-ФМС-НАДН. Активность пероксидазы определяли бензидиновым методом, глутатионредуктазы (ГР) – по реакции деградации НАДФН, глутатионтрансферазы (ГТ) – по накоплению конъюгата. Активность ферментов вычисляли в пересчете на концентрацию гемоглобина (Hb). Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если $p \leq 0,05$.

Результаты исследований позволили установить определенные различия активности ферментов эритроцитов крови зараженных и незараженных рыб. Активность каталазы и СОД оказалась в 1,5 раза выше у зараженных особей по сравнению с незараженными ($p < 0,05$). Для пероксидазы и ГР достоверных отличий в эритроцитах крови рыб из двух групп не установлено. Активность ГТ у инвазированных рыб более чем в 4 раза превышала этот показатель у неинвазированных особей ($p < 0,01$) (табл.).

Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови мерланга ($M \pm m$)

Фермент	Незараженные n=7	Зараженные n=14
КАТ, мгН ₂ О ₂ /мг Нб в мин	0,23 ± 0,01	0,37 ± 0,06*
СОД, усл. ед./мг Нб в мин	159,34 ± 28,4	264,29 ± 33,45*
ПЕР, опт. ед./мг Нб в мин	3,06 ± 0,31	3,46 ± 0,32
ГР, нмоль НАДФН/мг Нб в мин	6,78 ± 2,2	12,39 ± 2,6
ГТ, нмоль конъюг./мг Нб в мин	6,68 ± 2,14	31,36 ± 4,47*

Примечание: * – различия достоверны по сравнению со значениями незараженных рыб ($p < 0,05-0,01$); n – количество особей.

Таким образом, результаты исследований позволили обнаружить определенное влияние паразитарной инвазии на состояние ферментной антиоксидантной системы крови мерланга. Совершенно очевидно, что внедрение паразита в стенки органов пищеварения, выделение метаболитов в организм хозяина, а также привносимая им инфекция усиливают процессы свободнорадикального окисления и являются мощными факторами, стимулирующими активность антиоксидантных ферментов.

Ранее нами также были отмечены изменения активности антиоксидантных ферментов тканей черноморского шпрота *Sprattus sprattus phalericus*, инвазированного личинками нематоды *Hysterothylacium aduncum*. Показано, что активность каталазы достоверно снижена у зараженных рыб по сравнению с незараженными. Минимальные значения установлены у особей, содержащих наибольшее количество паразитов. С увеличением степени инвазии активность пероксидазы снижалась в тканях рыб по сравнению с неинвазированными особями.

Таким образом, результаты исследований показали, что у мерланга под влиянием паразитарной инвазии нематоды *Hysterothylacium aduncum* активность каталазы, СОД и ГТ эритроцитов крови повышается. В связи с этим можно заключить, что антиоксидантные ферменты весьма чувствительны к паразитарной инвазии и могут служить не только биомаркерами для оценки действия на рыб неблагоприятных физических и химических факторов, но и биотических.

Учитывая высокую степень биологического загрязнения Черного моря, исследованные параметры позволяют оценить состояние рыб и могут быть использованы в качестве индикаторов влияния на них паразитарной инвазии.

THE INFLUENCE OF THE NEMATODE *HYSTERTHYLACIUM ADUNCUM* INFECTIOUSNESS ON THE ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES OF WHITING *MERLANGIUS MERLANGUS EUXINUS*

A.V. Zavyalov, E.N. Skuratovskaya

Institute of biology of the southern seas, NANU, Sevastopol, Ukraine
skuratovskaya2007@rambler.ru

The influence of the nematode *Hysterothylacium aduncum* on the antioxidant enzyme system in blood of Black Sea whiting inhabiting coastal areas of Sevastopol was studied. The increase of catalase, superoxide dismutase and glutathione-S-transferase activities in blood of invaded fishes was detected. The possibility of antioxidant enzyme activities application as biomarkers of the parasite invasion effect in fish is discussed.

АНАЛИЗ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ

В.Ф. Зайцев, Э.И. Мелякина, Л.Ю. Ноздрин

ФГОУ ВПО Астраханский Государственный Технический Университет, Астрахань, Россия
post@astu.org

В фауне Каспийского моря имеется единственное морское млекопитающее, принадлежащее к отряду ластоногих – каспийский тюлень (*Phoca caspica*).

Животные встречаются по всему Каспию, как в очень мелководных районах, так и в зоне больших глубин. Каспийский тюлень принадлежит к пагофильной группе тюленей и биологически связан со льдами, на которых размножается и выкармливает детенышей, проводит большую часть периода линьки.

В современный период каспийский тюлень сталкивается с многочисленными угрозами. Чрезмерная эксплуатация популяции тюленя промыслом в прошедшем столетии привела к существенному сокращению численности популяции, сокращение и исчезновение мест обитания из-за усиливающейся антропогенной нагрузки и аномально теплых зим подрывает возможность достижения популяцией тюленя стабильного уровня развития. Виды-вселенцы, болезни, загрязнение и другие факторы не способствуют устойчивому состоянию популяции вида.

Исследования содержания микроэлементов в органах и тканях каспийского тюленя вызывают серьезную обеспокоенность.

В результате проведенных исследований выяснено, что элементы распределяются в организме тюленя неравномерно в зависимости от свойств металлов и функциональных особенностей органов. Значительные концентрации металлов отмечены прежде всего в органах, для которых характерно активное протекание процессов метаболизма с одной стороны, а с другой – они активно участвуют в процессах, направленных на поддержание гомеостаза, таких как печень, почки, селезенка.

В наиболее высоких концентрациях из исследованных элементов в теле тюленя присутствует железо. Больше всего этого элемента имеется в органах, обильно снабжаемых кровью. На первом месте по накоплению железа стоит сердце 1007 мг/кг. Далее, по мере уменьшения содержания железа, следуют почки – 618,7 мг/кг, селезенка – 608,4 мг/кг, печень – 493,9 мг/кг, легкие – 434,3 мг/кг, желудок – 413,8 мг/кг, скелетные мышцы – 330,1 мг/кг и подкожный жир – 10,1 мг/кг. У теплокровных животных, печень выполняет роль депо железа; значительное содержание железа в селезенке обусловлено ее участием в гемопоэзе, кроме того, в селезенке происходит утилизация отмирающих и дегенерирующих эритроцитов.

Содержание цинка в организме тюленя уступает лишь железу, а иногда и превосходя его по уровню накопления в отдельных органах и тканях. Цинк в больших концентрациях отмечался в желудке – 96,9 мг/кг, печени – 96 мг/кг, почках – 79,6 мг/кг, скелетных мышцах – 72,8 мг/кг, селезенке – 67,1 мг/кг. В меньших концентрациях цинк был обнаружен в сердце – 30,2 мг/кг, легких – 14,6 мг/кг и подкожном жире – 0,9 мг/кг.

Медь активно депонируется печенью, имеет большое значение в фенольном, азотистом, нуклеиновом обменах. Как известно, ключевую роль в обмене меди играют печень и ее основные структурные элементы – гепатоциты. Этим объясняется и большое количество меди (32,9 мг/кг), приходящееся на единицу массы печени. Содержание меди в остальных органах и тканях было следующим: почки – 13,4 мг/кг, желудок – 9,2 мг/кг, сердце – 8,1 мг/кг, скелетные мышцы – 5,8 мг/кг, селезенка – 4,8 мг/кг, легкие – 2,4 мг/кг и подкожный жир – 0,2 мг/кг.

Снижение количества меди в печени и в селезенке обычно сопровождается морфологическими изменениями показателей красной крови в виде симптомов анемии. Учитывая, что мышцы составляют большой процент от массы тела, их, как и печень, можно отнести к депонирующим медь органам.

Марганец накапливается преимущественно в печени (11,5 мг/кг). Приблизительно на одном уровне отмечено его содержание в таких органах, как почки – 4,2 мг/кг и желудок – 2,8 мг/кг. В остальных органах были замечены лишь следовые концентрации марганца.

Концентрация кобальта в органах и тканях невелика. Следовые количества были обнаружены в подкожном жире – 0,4 мг/кг. Наибольшее количество в почках – 2,6 мг/кг и сердце – 2,6 мг/кг каспийского тюленя. В остальных органах содержание кобальта находится приблизительно на одном уровне и не превышает в среднем 2 мг/кг.

Накопление свинца в различных органах и тканях неодинаково. В наибольших количествах свинец обнаруживается в почках – 3,2 мг/кг. Далее по мере уменьшения содержания следуют селезенка – 1,8 мг/кг, желудок – 1,6 мг/кг, скелетные мышцы – 1,4 мг/кг и печень – 1,4 мг/кг, а в подкожном жире – 0,2 мг/кг обнаруживается только в следовых количествах.

ANALYSIS OF MICROELEMENT COMPOSITION OF ORGANS AND TISSUES CASPIAN SEAL

V. F. Zaitsev, E.I. Melyakina, L.Y. Nozdrina

Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russia
post@astu.org

Caspian seal – this is the only marine mammal in the Caspian Sea, a unique endemic species, which is listed in the Red Book of World Conservation Union as a species under threat. Seal is the top of the food pyramid on the Caspian, and the status of this population may be an indicator of well-being of the entire ecosystem of a large region.

УЧАСТИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В АДАПТАЦИЯХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ РАЗЛИЧНОМУ УРОВНЮ КИСЛОРОДА: НЫРЯНИЕ, СПЯЧКА И ВЫСОКОГОРНОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ

В.А. Илюха^{1,2}, С.Н. Калинина¹, Т.Н. Ильина¹, И.В. Баишникова¹,
В.В. Белкин¹, А.Е. Якимова¹, Е.А. Хижкин¹, Б. Барабаш³

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия

² Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

³ Краковская сельскохозяйственная академия, Краков, Польша

Антиоксидантная система (АОС) представляет собой одну из защитных систем организма (Зенков, Ланкин, Меньщикова, 2001, Меньщикова и др., 2006). Основной функцией АОС является поддержание на стационарном (физиологически необходимом) уровне концентрации активных форм кислорода (АФК). Этот процесс осуществляется за счет ферментативного (супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и др.) и неферментативного звеньев (низкомолекулярные антиоксиданты), обеспечивающих детоксикацию свободных радикалов в клетке. Следует отметить, что АФК могут выступать в качестве сигнальных молекул, а в ряде случаев чрезмерное снижение их уровня может быть вредным для организма (Меньщикова и др., 2008). В литературе имеется лишь небольшое количество работ, посвященных вопросу участия АОС в адаптациях млекопитающих к проживанию в условиях с различным уровнем кислорода. Введенные в зоокультуру и обитающие в природе млекопитающие являются удобными модельными объектами позволяющими исследовать широкий спектр адаптаций.

Активность ключевых антиоксидантных ферментов (СОД и каталазы) и уровень витамина Е исследованы в печени, почках, сердце, легких, селезенке и скелетной мышце у более чем 20 видов млекопитающих из различных отрядов – *Artiodactyla*, *Carnivora*, *Insectivora*, *Lagomorpha* и *Rodentia*. Определение активности ферментов проводили спектрофотометрически: СОД – по модифицированной адrenoхромной методике (Misra, Fridovich, 1972), каталазы – по количеству разложенной перекиси водорода (Bears, Sizes, 1952). Содержание белка измеряли по Лоури (Lowry et al., 1951), используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин. Концентрацию витамина Е (α -токоферола) определяли методом ВЭЖХ (Скурихин, Двинская, 1989).

У всех изученных видов отмечены, как правило, общие закономерности органного распределения активности антиоксидантных ферментов, характерные и для лабораторных млекопитающих – максимальная активность ферментов наблюдалась в печени, а в других органах она была ниже. У большинства видов наиболее высокая концентрация токоферола также отмечалась в печени и почках. В то же время, были обнаружены некоторые видовые особенности: состояние АОС существенно различалось даже у таксономически близких видов и обуславливалось прежде всего их экологическими особенностями. Среди изученных видов млекопитающих шиншилла, нутрия, лесная мышь, речные бобры, бурый медведь, кутора и енотовидная собака имели значительно более высокую активность одного или обоих ферментов, хотя степень выраженности изменений активности ферментов и уровня витамина Е у них была различной.

Шиншилла, перенесенная для разведения в неволе из естественного ареала обитания (высокогорья) в равнинные условия (более обогащенную кислородом среду), характеризуется повышенным уровнем активности СОД – фермента первого эшелона антирадикальной защиты.

Специфический профиль СОД и каталазы у енотовидной собаки, лесной мышовки и медведя связан с наличием у них зимней спячки, даже, если животные содержатся в условиях неволи. При этом у большинства из них не наблюдается значительных изменений со стороны низкомолекулярных антиоксидантов. Указанные виды существенно различаются по степени перестройки физиологических функций при гипометаболическом состоянии – если у медведя температура тела понижается лишь на несколько градусов, то мышовка способна значительно снижать температуру тела, частоту сердечных сокращений и дыхания. Очевидно, наблюдаемые изменения со стороны АОС являются не только приспособлением к гипометаболическому состоянию, но и преадаптацией, обеспечивающей вход и выход из него.

Особое место среди изученных видов занимают ныряющие животные, которые из-за биологических особенностей достаточно часто подвергаются гипоксии – реоксигенации. У нутрии, канадского и европейского бобров и куторы, ведущих полуводный образ жизни, отмечается значительное увеличение активности каталазы в различных органах. Особенно это выражено в сердечной мышце, что может быть связано с важной сигнальной ролью перекиси водорода в кровеносной системе.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важной роли каталазы в механизмах поддержания кислородного гомеостаза у водных и полуводных млекопитающих. Активность СОД и каталазы, так же как и уровень токоферола в одном и том же органе могут существенно различаться даже у таксономически близких видов изученных млекопитающих и определяется, прежде всего, их экологическими особенностями и, возможно, адаптацией животных к гипо- или гипероксии.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта Президента НШ – 3731.2010.4. и ФЦП ГК № 02.740.11.0700.

PARTICIPATION OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN MAMMALS ADAPTATIONS TO DIFFERENT LEVEL OF OXYGEN: DIVING, HIBERNATION AND HIGH ALTITUDE ORIGIN

**V.A. Plyukha^{1,2}, S.N. Kalinina¹, T.N. Ilyina¹, I.V. Baishnikova¹,
V.V. Belkin¹, A.E. Yakimova¹, E.A. Khizkin¹, B. Barabash³**

¹ Institute of Biology of Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences,

² Petrozavodsk state university, Petrozavodsk, Russia,

³ Krakow Agricultural Academy, Krakow, Poland

The activities of the key antioxidant enzymes, superoxide dismutase and catalase, and vitamin E were studied in the heart, lungs, liver, kidneys, spleen, and skeletal muscle of more than 20 mammalian species from different Orders – *Artiodactyla*, *Carnivora*, *Insectivora*, *Lagomorpha* and *Rodentia*. In all studied animals the regularities of distribution of the enzymes were found to be, as a rule, the same like in other mammals: a high activity in the liver and a lower activity, in other organs. At the same time, certain species-specific differences were noticed: the activities of the enzymes in the same organ considerably differed even in the taxonomically close species, which appears to depend, first of all, on specificity of animal ecology. Meanwhile, in chinchillas, coypus, birch mice, beavers, bears, Eurasian water shrews and raccoon dogs, activities of the enzymes were significantly higher than in the above-mentioned ten species of animals, the degree of the differences and the ratio of enzyme activities and vitamin E being different. The chinchillas transferred from the high mountain regions to the plains where they are bred under conditions of captivity appear to be subjected to hyperoxia that activates the enzyme of the first line of the anti-radical defense. The specific profile of these enzymes in the organism of raccoon dogs, birch mouse and bear appears to be due to the fact that these animals start hibernating even under conditions of captivity. In the coypus, two beavers species and Eurasian water shrews that has the semi-aquatic type of life in nature, an increase of the catalase activity was noticed in several organs. Based on these data, the conclusion about an important role of catalase in mechanisms of maintenance of oxygen homeostasis in the aquatic and semi-aquatic mammals was made. Thus, the activities of SOD and catalase as well as level of tocopherol in the same organ differ significantly even in taxonomically related species of the studied mammals and are determined, first of all, by specificity of their ecology and probably, due mainly to adaptation of the animals to hypo- or hyperoxia.

ВЛИЯНИЕ АНОКСИИ И РЕОКСИГЕНАЦИИ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

А.А. Истомина, Н.В. Довженко

Тихоокеанский океанологический институт им. В. М. Ильичева ДВО РАН, Владивосток, Россия
istomina@poi.dvo.ru, nadezhda@poi.dvo.ru

В условиях растущего антропогенного воздействия на гидросферу повышенную актуальность приобретают проблемы прогнозирования влияния гипоксии (аноксии) на выживаемость водных организмов. Гипоксия охватила тысячи километров морских вод всего мира, привела к массовой гибели морских организмов, к обеднению бентосной фауны и снижению в продуктивности рыбных запасов. Гипоксия может уничтожать чувствительные к недостатку кислорода виды, вызывая изменения в видовом составе экосистем. И, так как связь организмов со средой осуществляется через обмен веществ, в основе которого лежат биохимические превращения, то определенный интерес представляют исследования биохимических сдвигов в организмах водных беспозвоночных по сравнению с нормой при стрессовом состоянии (гипоксия или аноксия). Одним из таких сдвигов является изменение в состоянии защитной антиоксидантной системы организмов.

В данной работе мы исследовали влияние аноксии и последующей реоксигенации на состояние антиоксидантной системы приморского гребешка (*Mizuhopecten yessoensis*).

M. yessoensis является стенооксифильным, чувствительным к недостатку кислорода видом, в связи с чем изменение состояния основных компонентов антиоксидантной системы моллюска может быть предложено в качестве маркера в мониторинге гипоксии (аноксии).

Компоненты антиоксидантной системы, представленные ферментами (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатион-редуктаза (ГР) и др.) и низкомолекулярными соединениями (глутатион и др.) были использованы нами как биомаркеры окислительного стресса, вызванного таким фактором, как аноксия.

В эксперименте использовали 2-х летних особей приморского гребешка, отобранных из садков марикультурного хозяйства б. Северной (Амурский залив, Японское море) в мае 2009. Экспериментальную аноксию (А) создавали, выдерживая моллюсков на воздухе при температуре 11⁰С в течение 8 и 20 часов (А 8, А20), с последующей реоксигенацией (Р) 12 часов после каждого периода аноксии. Для проведения биохимического анализа использовали ткань пищеварительной железы.

Результаты исследования показали, что в условии аноксии (А 8, А20) активность СОД в клетках пищеварительной железы снизилась относительно контрольных величин на 31% и 41% соответственно, а после реоксигенации вернулась к контрольным значениям. Снижение в активности СОД после подверженности моллюсков аноксии также наблюдали в своих экспериментах Marta Monari и др. (2005), Eduardo A. Almeida и др. (2005).

В результате действия 8-ми и 20-ти часовой аноксии активность КАТ в клетках пищеварительной железы снизилась относительно контрольных величин на 34% и 6% соответственно. Во время реоксигенации активность фермента в клетках вернулась к контрольным значениям.

Вероятно, что основная функция обезвреживания оксирадикалов в А (8) принадлежала глутатиону и ГР. Активность ГР поддерживалась на высоком уровне во время этого периода, а содержание глутатиона увеличилось в течение всего эксперимента (Р (8), А (20), Р (20)).

После 20 часов аноксии активность ГР снизилась (на 31%), как и активность других ферментов, что допустимо объяснить быстрым «выгоранием» компонентов АО системы в клетках пищеварительной железы, накоплением продуктов метаболизма и продуктов окисления биоструктур, а также обезвоживанием тканей и уменьшением поступления кислорода.

После периода Р (А 8) активность всех ферментов достигла контрольных значений, кроме того, увеличилось не только содержание восстановленного глутатиона, но и малонового диальдегида (МДА) – продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) в пищеварительной железе – что является следствием действия высоких концентраций растворенного в воде кислорода. Как известно, образование активных форм кислорода (АФК) линейно увеличивается с концентрацией кислорода (Abele, 2007) и тем самым организмы реагируют на увеличение АФК усилением активности антиоксидантных ферментов (Santovito, 2005). 20-ти часовая аноксия привела к снижению в активности всех ферментов в клетках пищеварительной железы. Однако, несмотря на снижение активности ГР, уровень

восстановленного глутатиона увеличился. Аналогичную картину наблюдали Pannunzio и др. (1998) в ткани пищеварительной железы *L. littorea*, после 6 дней аноксии. Накопление МДА является показателем развития окислительных процессов в организме, в частности, продуктов ПОЛ, с которыми, как мы увидели, антиоксидантная защита в клетках пищеварительной железы экспериментальных моллюсков не способна справляться как в период аноксии, так и в период реоксигенации.

После Р (20) активность СОД и КАТ пищеварительной железы вернулась к контрольным значениям, а ГР осталась на низком уровне. Возможно, что действие А (20) привело к более серьезным изменениям в антиоксидантной системе, чем А (8).

Гребешок оказался устойчив к непродолжительной аноксии (А 8), и последующей реоксигенации, что подтверждается согласованной работой антиоксидантных ферментов и глутатиона. Действие А (20) привело к ослаблению антиоксидантных защит, но не исключено, что большая по длительности реоксигенация (больше, чем 12 часов) способствовала бы полному восстановлению АО системы.

Как показали наши эксперименты, для *M. yessoensis* присущ хорошо сбалансированный механизм биохимической адаптации к повышенному уровню O₂ в воде, но не к его отсутствию.

THE EFFECT OF ANOXIA EXPOSURE AND AEROBIC RECOVERY ON THE ANTIOXIDANT DEFENSES OF SCALLOPS *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

A.A. Istomina, N.V. Dovzhenko

V.I. Ilrichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia
istomina@poi.dvo.ru, nadezhda@poi.dvo.ru

The effect of anoxia exposure (in air for 8, 20 h at 11 °C) and aerobic recovery (12 h) to the antioxidant defenses of scallops, *Mizuhopecten yessoensis*, were assessed in digestive gland. Activities of three enzymes were suppressed (to 6–40% of controls) in digestive gland during anoxia exposure: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR). When returned to aerobic conditions, activities of enzymes to return to a pre-aerial exposure levels, except GR (20 h). The decrease in SOD, CAT and GR activity during anoxic incubation suggested a decreasing ROS generation due to the lack of oxygen. Anoxia exposure stimulated an increase in the amount of the glutathione in digestive gland. Scallops were exposed to air for 8, 20 h showing a clear increase in the levels of lipid peroxidation. The results of this study demonstrate that after 20 h anoxia, 12 h of recovery is not sufficient to restore pre-anoxic conditions.

ОСОБЕННОСТИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CRENOMYTILUS GRAYANUS* В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В СРЕДЕ

В.Я. Кавун¹, А.И. Чепкасова², О.В. Подгурская¹, Н.Н. Ковалев²

¹ Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

² Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток
olga_pod@mail.ru

Исследовано влияние условий среды обитания на кинетические характеристики гидролиза субстрата и активность холинэстеразы гемолимфы мидий Грея. Мидии отобраны в фоновом районе (ст. 1), в зонах действия сезонных (ст. 2) и стационарного (ст. 3) апвеллингов, а также в загрязненном районе (ст. 4).

Показано, что в мягких тканях мидий из района действия сезонных апвеллингов определено достоверно повышенное содержание Cd, Pb. Мягкие ткани мидий из зоны действия стационарного апвеллинга обогащены Cu, Pb и, особенно, Cd. В мягких тканях мидий, отобранных в загрязненном районе, накапливается Cu и Pb.

Обнаружено, что в гемолимфе мидии из района действия сезонных апвеллингов в наибольшей степени содержится Pb и Cd. Особо повышенное содержание этих же металлов (концентрация в 8.3 и 17.5 раз, соответственно, выше фонового уровня) обнаружено и в гемолимфе мидий из зоны действия стационарного апвеллинга. Гемолимфа мидий из загрязненного района обогащена Cu, Fe, Cd и Pb (табл. 1).

Таблица 1. Концентрация тяжелых металлов в мягких тканях (мкг/г сухой массы) и гемолимфе (мкг/мл) мидий Грея из исследованных районов

Станция	Fe	Zn	Cu	Cd	Pb
Мягкие ткани					
1	82 ± 10	106 ± 23	3.9 ± 0.7	7.9 ± 1.9	1.5 ± 0.6
2	85 ± 9	124 ± 12	3.8 ± 0.4	11.1 ± 2.0*	2.6 ± 0.5*
3	41 ± 10*	103 ± 14	5.4 ± 0.8*	66.0 ± 12.0*	3.5 ± 0.4*
4	78 ± 15	123 ± 35	21 ± 6.7*	3.8 ± 0.6*	58 ± 15.0*
Гемолимфа					
1	0.2 ± 0.05	0.41 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.02 ± 0.003	0.09 ± 0.03
2	0.55 ± 0.03*	1.40 ± 0.01*	0.14 ± 0.002	0.24 ± 0.02*	0.58 ± 0.004*
3	0.31 ± 0.002*	0.60 ± 0.004*	0.17 ± 0.002*	0.35 ± 0.03*	0.75 ± 0.005*
4	0.76 ± 0.005*	0.41 ± 0.001	0.35 ± 0.001*	0.09 ± 0.004*	0.52 ± 0.003*

* Обозначены величины, достоверно отличающиеся от фонового уровня ($p \leq 0.05$).

При исследовании ХЭ показано, что наибольшая активность фермента, а также максимальные скорости гидролиза характерны для мидий с фоновой станции (табл. 2).

Таблица 2. Кинетические характеристики гидролиза субстратов под действием холинэстеразы гемолимфы мидии Грея из исследованных районов

Станция	pS, M	Vm, mM/мин	Km · 10 ⁻⁵ , M	Vm/Km	Активность, мкМ АТХ/мин/мл
1	2.6	0.26 ± 0.003	0.7 ± 0.02	37.1	1.59 ± 0.05
2	2.1–5.6	0.10 ± 0.004	0.9 ± 0.04	11.1	0.53 ± 0.03
3	3.3	0.21 ± 0.004	1.8 ± 0.05	11.7	1.04 ± 0.05
4	2.3	0.05 ± 0.002	2.3 ± 0.1	2.2	0.26 ± 0.001

pS = lg[S]; $p < 0.05$; Vm – максимальная скорость гидролиза субстратов; Km – константа Михаэлиса; Vm/Km – сродство субстратов к ферменту.

Особо следует отметить, что, несмотря на значительно различающуюся нагрузку на организм мидий из зон природного повышенного содержания металлов (ст. 2, 3), различия в эффективности холинэргических процессов (показатель Vm/Km) нами не выявлены (табл. 2). Следовательно, уровень сродства субстратов к ферменту в среднем равный 11.5 можно принять как нижний предел физиологической нормы. Таким образом, из всех исследованных кинетических параметров ферментативного гидролиза именно величина сродства субстратов к ферменту может служить интегральным показателем адаптации моллюсков к среде обитания.

Считается, что адаптивные процессы ферментов направлены на поддержание постоянства величины константы Михаэлиса. Функционирование фермента в пределах физиологической нормы реакции (станции 1, 2) не приводит к изменению этой величины. У обитателей зон с высокой природной нагрузкой (станция 3) наблюдается повышение константы Михаэлиса (табл. 2). Однако постоянство величины сродства субстратов к ферменту у моллюсков из природных импактных зон может свидетельствовать о том, что наблюдаемое изменение константы Михаэлиса очевидно является также пределом биохимической нормы реакции. В то же время обитание в условиях высокого антропогенного загрязнения приводит к более существенному увеличению значений константы Михаэлиса у мидий на фоне падения значений величины сродства субстратов к ферменту (табл. 2).

Таким образом, показано, что стратегия адаптации фермента гемолимфы двусторчатых моллюсков к различным условиям обитания развивается в двух направлениях, а хроническое антропогенное воздействие приводит к нарушению адаптивных процессов. Поэтому сложившийся к настоящему времени подход к оценке модуляции активности ферментов под действием различных факторов, базирующийся на сохранении постоянства константы Михаэлиса и одинаковой стратегии адаптации ферментативного катализа, требует корректировки. Более информативным и отражающим степень нагрузки и возможности адаптации организма является величина сродства субстрата к ферменту (Vm/Km), который рекомендуется в качестве нового биомаркера состояния холинэргической системы.

PECULIARITY OF CHOLINERGIC SYSTEM OF THE MUSSEL *CRENOMYTILUS GRAYANUS* FROM METAL-ELEVATED ENVIRONMENT

V.Y. Kavun¹, A.I. Chepkasova², O.V. Podgurskaya¹, N.N. Kovalev²

¹A.V. Zhirnitsky Institute of Marine Biology FEB RAS, Vladivostok

²Pacific Scientific Research Fisheries Center, Vladivostok
olga_pod@mail.ru

Environmental condition effects on cholinesterase activity and kinetic parameters of substrate hydrolysis in the hemolymph of mussel *Crenomytilus grayanus* was study. Mussels were collected from reference area (site 1), seasonal (site 2) and stationary (site 3) upwelling zones and high contaminated area (site 4). It was found, that under seasonal upwellings cholinergic system efficiency provide by wide range of efficient concentration of substrate, i.e. under such condition mussels at molecular level have quantitative adaptation strategy of ferment. For the mussels from stationary upwelling zone for efficiency of cholinergic system qualitative strategy of ferment adaptation realize. In the mussels from high contaminated site irreversible damages of cholinergic process were observed. It was shown, that affinity of substrate to ferment is the most informative and appropriate biomarker for load level and adaptational capacity of organism. The affinity of substrate to ferment is recommended as a new biomarker.

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОДИ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ, ВЫРАЩИВАЕМОЙ НА ИМПОРТНЫХ КОРМАХ В УСЛОВИЯХ РЫБОВОДНЫХ ЗАВОДОВ КАМЧАТКИ

Е.И. Кальченко¹, Т.В. Гаврюсева¹, М.И. Юрьева²

¹ Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (КамчатНИРО), Петропавловск-Камчатский, Россия

kalchenko.e.i@kamniro.ru

² Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (ТИНРО-центр), Владивосток, Россия

В настоящее время на Камчатке действует 5 лососевых рыбопроизводных заводов (ЛРЗ), нуждающихся ежегодно в 40–50 тоннах комбикорма. На полуострове корма для лососей пока не производятся, а закупаются за рубежом — в Японии, США, Дании. Для оценки адекватности применяемых искусственных диет большое значение имеет изучение физиолого-биохимических показателей рыб. Они позволяют получить информацию о том, в какой степени используемые рационы удовлетворяют потребности организма в элементах питания, а также об их качестве.

Цель данной работы заключалась в оценке физиолого-биохимических показателей молоди тихоокеанских лососей, выращиваемой на различных импортных комбикормах в условиях рыболовных заводов Камчатки, и определении на ее основе наиболее эффективных рационов для рыб.

Проведена комплексная оценка качественного состояния молоди кеты и чавычи, выращиваемой на импортных диетах, по рыбопродуктивным (рост, выживаемость, затраты корма), биохимическим (содержание белка, липидов, воды, состав жирных кислот) и гистологическим (морфологическое состояние гепатоцитов, слизистой желудка и кишечника, нефроцитов и гемопозитической ткани почки) показателям. На основании этой оценки установлено, что для молоди кеты, выращиваемой при температуре воды 3–5° С, наиболее эффективным является полувлажный комбикорм марки «Biodiet» американского производства, отличающийся высоким содержанием жира (18%) и полиненасыщенных жирных кислот ω-3 типа (30% от суммы всех жирных кислот), соотношением полиненасыщенных жирных кислот ω-3 и ω-6 типов ($\sum\omega-3/\sum\omega-6$) равным 4,9, протеина (46%), энерго-протеиновом отношении 9,7 ккал на 1 г белка. Он обеспечивает максимальные показатели роста и выживаемости рыб при наименьших кормовых затратах и наилучших биохимических и гистологических показателях. Для молоди чавычи, выращиваемой при температуре воды 8° С, наиболее адекватными являются комбикорма марки «Ауукко» японского производства и марки «Aller Aqua» датского производства с более высоким уровнем протеина (56–59%) и углеводов (10–14%), но низким — жира (10–11%), энерго-протеиновом отношении 8–8,4 ккал на 1 г белка.

Таким образом, пищевые потребности молоди тихоокеанских лососей при выращивании в конкретных температурных условиях ЛРЗ Камчатки имеют свои биохимические особенности. Низкие температуры воды при подращивании молоди кеты обуславливают повышенную ее потребность в липидах и полиненасыщенных жирных кислотах ω -3 типа в составе диет, а более высокая температура содержания чавычи — в протеине.

Полученные результаты в перспективе можно будет использовать при разработке и совершенствовании рецептов отечественных комбикормов для молоди тихоокеанских лососей.

AN ASSESSMENT OF PHYSIOLOGICAL AND BIOSHEMICAL PARAMETERS OF HATCHERY JUVENILE PACIFIC SALMON REARED WITH IMPORTED DIETS IN KAMCHATKA

E.I. Kalchenko¹, T.V. Gavruseva¹, M.I. Yureva²

¹ Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography, Petropavlovsk-Kamchatsky

² Central Pacific Research Institute of Fisheries and Oceanography, Vladivostok, Russia

A complex qualitative assessment of hatchery juvenile Pacific salmon reared with imported diets is made on the hatchery, biochemical and histological parameters. It is found that low water temperatures (3–5° C) in the course of rearing juvenile chum salmon can determine the juvenile requirement to have lipids and ω -3 polysaturated fatty acids in the diet composition, and a higher temperature (8° C) in the course of rearing juvenile chinook salmon – to have protein.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КАРДИОРЕГУЛЯТОРНЫЕ РЕФЛЕКСЫ У МОЛЛЮСКОВ

Н.Н. Камардин, Е.Л. Корниенко, Г.П. Удалова, С.В. Холодкевич

Санкт-Петербургский Научно-исследовательский Центр экологической безопасности РАН,
Санкт-Петербург, Россия
nik-kamardin@yandex.ru

Среди методов биоиндикации наиболее эффективными являются неинвазивные, основанные на биоэлектронных системах, способных регистрировать и анализировать в реальном времени кардиоактивность беспозвоночных животных и её реакции на изменения в окружающей среде (Vamber, Depledge, 1997; Kholodkevich et al., 2008). Биомаркеры кардиоактивности отчетливо реагируют на различные химические воздействия. Однако, физиологические механизмы, лежащие в основе той или иной биомаркерной реакции исследованы недостаточно. Известно, что ионы тяжелых металлов (ТМ), в особенно Cd и Cu, в больших концентрациях высоко токсичны для бентосных беспозвоночных. Они проникают из окружающей среды в организм гидробионтов, в частности моллюсков, обычно с пищей и водой. Первоначально ионы ТМ могут оказывать влияние на периферические рецепторные осфрадиальные органы, находящиеся у большинства классов *Mollusca* в мантийной полости в непосредственном контакте с водной средой. Осфрадий состоит из зон специализированных рецепторных клеток, соединенных с осфрадиальным ганглием, который в свою очередь иннервируется из ЦНС (Камардин, Ноздрачев, 2004). По-видимому, осфрадий первый подвергнется воздействию ТМ и по цепочке командных и моторных нейронов способен в ответ на это запускать регуляцию организма в ответ на воздействие.

Целью работы было выяснение влияния ионов Cd, Cu на рецепторные процессы в осфрадиях пресноводных и морских моллюсков и отражения этих воздействий в кардиоактивности животных.

Исследовали переднежаберных моллюсков видов *Littorina littorea* и *Viviparus sp.*, а так же легочного моллюска *Lymnaea stagnalis*. Животных содержали в лабораторных условиях в искусственной морской воде или отстоянной водопроводной при температуре соответственно $11 \pm 0,3^\circ\text{C}$ и $22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$. Кардиоактивность моллюсков регистрировали неинвазивно с помощью многоканального волоконно-оптического фотоплетизмографа (Kholodkevich et al., 2008). Специальная программа «VarPuls» записывала и анализировала в реальном времени сердечную активность одновременно

7 животных. Для средних значений частоты сердечных сокращений (ЧСС) за сутки вычислялись доверительные интервалы при $p < 0,05$.

Импульсную активность рецепторных клеток прудовика регистрировали методом пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка». Суммарный рецепторный потенциал поверхности (СРП) осфрадия живородки отводился хлорсеребряными электродами. В опытах на пресноводных моллюсках перфузию изолированных осфрадиев осуществляли растворами Cd^{2+} , Cu^{2+} , приготовленными на физиологическом растворе для моллюсков.

В опытах на *Littorina littorea* в мантийную полость инъецировали 1,0 мл в течение минуты морской воды с добавлением солей $CdCl_2$ или $CuSO_4$. В длительных опытах (до 26 суток) с аккумуляцией литоринами меди, использовали концентрацию 45,5 мкг/л. Концентрация Cu , аккумулярованная тканями, определяли с помощью атомно-адсорбционного спектрофотометра С-117-М.

Основываясь на известной чувствительности моллюсков к аминокислотам, первоначально регистрировали ответы осфрадия живородки на раствор *L*- глутаминовой аминокислоты (10^{-4} моль/л), апплицированный на поверхность осфрадия. СРП представлял собой волну деполяризации длительностью до 40 секунд. Последующее трехминутное воздействие Cu^{2+} в концентрации 4,0 ммоль/л приводило к снижению амплитуды СРП на 51%, что указывало на влияние меди на рецепторные процессы в осфрадии. У прудовика нейроны осфрадия отвечали возбуждением на аппликацию *L*- аспартата в концентрации

10^{-5} моль/л. Применение перфузии препарата осфрадия 4,0 ммоль/л раствором Cd^{2+} приводило к модификации этой реакции. По-видимому, непосредственное воздействие ионов ТМ на периферические рецепторы моллюсков вызывает изменение текущих электрических процессов в этих органах, что в свою очередь посредством активации нейронов ганглиев ЦНС оказывает влияние на нейрогуморальную регуляцию состояния гидробионтов (Kamardin, 1995)

У морского моллюска *Littorina littorea* инъекция в мантийную полость 1–1,5 мл³ воды с Cd^{2+} или Cu^{2+} вызывала кратковременное увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС) на 2–7 ударов в минуту, что зависело от концентрации инъецированного раствора. Латентный период реакции колебался от 3 до 5 минут. Длительность реакции так же определялась концентрацией и в случае раствора Cu^{2+} 5,0 мг/л составила 1,5 часа. Контрольные инъекции морской воды достоверно не изменяли ЧСС. Прямое действие ТМ на периферические отделы нервной системы, очевидно, могут запускать нейрогуморальные регуляторные механизмы, вызывающие увеличение ЧСС.

В природных условиях ТМ редко встречаются в концентрациях, использованных в наших опытах. Однако у моллюска высокие концентрации ТМ в тканях могут быть достигнуты за счет биоаккумуляции при длительном пребывании гидробионтов в загрязненных водах. В сериях длительных, до 1,5 месяцев, наблюдений за кардиоактивностью литорин при пребывании их при более высокой (45,5 мкг/л), по сравнению с нормальной (для Белого моря это 3,0–5,0 мкг/л) концентрации Cu в морской воде, выявили уже на 3–5 сутки у большинства моллюсков небольшое, но достоверное увеличение ЧСС. На 5 сутки увеличивалась также внутритканевая концентрация Cu^{2+} , которая превысила нормальную на 17%. В течение последующих 26 дней ЧСС увеличивалась уже на 50–75% по сравнению с нормой. Последующее увеличение экспозиции животных не приводило к значительному росту внутритканевой концентрации меди. Замена загрязненной воды на чистую, морскую незначительно снижало концентрацию Cu^{2+} в тканях (Kamardin et al., 2010).

Биохимический механизм детоксикации заключается в переводе ионов меди из активной, растворенной в гемолимфе ионной формы, в менее биологически активную за счет связывания ионов меди тионеин-подобными белковыми молекулами. Этот механизм может снижать концентрации Cu^{2+} в гемолимфе, что в свою очередь нормализует ЧСС на 10 сутки отмывания. В то же время концентрация связанной меди в тканях может даже возрасти. Другой, физиологический механизм детоксикации, сопровождается усилением процессов фильтрации, что в свою очередь требует увеличения ЧСС, которые и наблюдалось в наших опытах. Миогенный ритм сердечных сокращений у моллюсков регулируется тормозными и возбуждающими мотонейронами соответственно ацетилхолиновой и катехоаминовой природы. Обнаруженная при воздействии ТМ тахикардия по-видимому, указывает на активизацию катехоаминовой системы.

И так, на периферии нервной системы рецепторные органы реагируют на появление ТМ изменением текущих сенсорных реакций, что может служить сигналом к запуску кардиорегуляторных возбуждающих механизмов. Поступление ТМ в гемолимфу вызывает модуляцию нервных и

медиаторных процессов, которые включают различные физиологические и биохимические механизмы детоксикации. Один из них, физиологический, может включать в себя увеличение ЧСС, что будет способствовать усилению фильтрации гемолимфы в полости сердечной сумки, адсорбции ТМ в почечном эпителии и их последующим выведением из организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № 08-04-92424- BONUS_a.

EFFECT OF HEAVY METAL IONS ON CARDIOREGULATORY REFLEXES IN MOLLUSKS

N.N. Kamardin, E.L. Kornienko, G.P.Udalova, S.V. Kholodkevich

St.-Petersburg Research Center for Ecological Safety, RAS. Russia
nik-kamardin@yandex.ru

By the electrophysiological and non-invasive on-line recording and processing of photoplethysmogram of mollusks was studied. The influence of Cd^{2+} and Cu^{2+} on osphradium sensory processes of *Prosobranchia* species (*Littorina littorea*, *Viviparus sp.*) and Pulmonary mollusk *Lymnaea stagnalis* was illustrated. The application of $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l *L*-glutamine amino acid on osphradium surface of *Viviparus sp.* caused summary receptor potential (SRP). Solution of Cu^{2+} decreased by 51% the amplitude of the SRP. For *Lymnaea stagnalis* ions Cd modified the impulse response of osphradium neurons caused by $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l solution of *L*-aspartic acid. Injection of sea water with Cu^{2+} and Cd^{2+} in the mantle cavity of *Littorina littorea* led to a short but noticeable tachycardic reaction. Long (26 days) exposure *Littorina littorea* in sea water with 45.5 $\mu\text{g/l}$ also causes tachycardia, which gradually decreased during washing in clear sea water. Possible mechanisms of influence of heavy metal ions on different levels of the chemical sensory system of mollusks and their reflection in the HR changes was discussed.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ НЕКОТОРЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ И РЫБ

Н.П. Канцерова¹, Н.В. Ушакова², Л.А. Лысенко¹, Н.Н. Немова¹

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия
nkantserova@yandex.ru

² Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия

Кальпаины – кальций-зависимые протеиназы, ответственные за селективную деградацию белков в цитозоле клеток живых организмов – от прокариот до млекопитающих. К настоящему времени наиболее полно изучены два белка этого семейства из тканей позвоночных – μ (микро)- и m (милли)-кальпаины, различающиеся необходимым для активации уровнем кальция, а также их эндогенный ингибитор кальпаистатин. Сведения о кальпаин-кальпаистатиновой системе у рыб и беспозвоночных ограничены, между тем, такая информация крайне важна для установления хода молекулярной эволюции семейства. Несмотря на ограниченность структурных исследований кальций-зависимых протеиназ и кодирующих их генов у беспозвоночных и рыб, продемонстрирована роль этой внутриклеточной протеолитической системы во многих клеточных процессах (перестройке цитоскелета, пролиферации, дифференцировке, слиянии, апоптотической и некротической гибели, гаметогенезе, оплодотворении и др.), включая патологические, а также их участие в развитии ответных реакций на изменяющиеся условия окружающей среды. В данной работе приводятся результаты исследования базового уровня активности и ферментативных характеристик кальпаинов у некоторых пресноводных беспозвоночных и рыб.

Были изучены показатели у беспозвоночных 17 видов, относящихся к следующим классам: Малощетинковые черви (Олигохеты), Пиявки, Ракообразные, Насекомые, Брюхоногие и Двустворчатые моллюски, и у рыб двух видов – карася *Carassius auratus* и щуки *Esox lucius*. Материалом для исследования активности кальпаинов, как правило, служили гомогенаты целых животных, у неко-

торых видов двустворчатых моллюсков – гомогенаты мышц-замыкателей, у рыб – белые скелетные мышцы. Активность кальпаинов определяли во фракциях цитоплазматических и мембраносвязанных клеточных белков. Первый показатель отражает общий уровень ферментативного белка, второй – долю активированного (путем ассоциации с фосфолипидами мембран) фермента. У некоторых объектов были исследованы структурно-биохимические характеристики препаратов кальций-зависимых протеиназ после предварительной очистки ферментов.

Анализ полученных результатов показал, что максимальные величины удельной активности кальпаинов в цитозольной фракции характерны для представителей типа Кольчатые черви – пиявок и олигохет. У остальных исследованных гидробионтов активность кальций-зависимых протеиназ в цитозольной фракции значительно ниже (в 2–14 раз). При сравнении уровня удельной активности кальпаинов в мембраносвязанной фракции было установлено, что наивысшие значения активности также характерны для кольчатых червей, несколько меньшие – для двустворчатых моллюсков, минимальные – для членистоногих.

Установленные различия в конститутивном уровне внутриклеточной кальций-зависимой протеолитической активности у изученных видов беспозвоночных и рыб могут быть связаны как с физиологическими особенностями, так и с таксономической принадлежностью объектов. Так, ранее высказывалось предположение, что кальций-зависимые протеиназы эволюционно более древних организмов преимущественно вовлечены в базовый катаболизм клеточных белков, в ходе эволюции живого кальпаины приобретали все большее значение как высокоселективные регуляторы клеточных процессах. Действительно, наиболее высокие значения активности кальций-зависимых протеиназ характерны для представителей типа Кольчатые черви – наиболее древних и просто организованных животных среди исследованных групп беспозвоночных. Значительно ниже уровень активности кальпаинов у более прогрессивных в эволюционном отношении беспозвоночных – членистоногих. Особенностью кальпаинов низших животных, по-видимому, является низкая селективность их действия по сравнению с гомологами из теплокровных, которая отражается в более широкой субстратной специфичности и более полном гидролизе белков-субстратов (до составляющих коротких пептидов) непосредственно в цитозоле.

Исследование структурных и энзиматических характеристик кальпаинов проводили у равноногих рачков, двустворчатых моллюсков и рыб. Чувствительность исследуемых ферментов к ингибиторам цистеиновых протеиназ, абсолютная зависимость активности от присутствия ионов кальция и нейтральный pH оптимум однозначно позволяют отнести изучаемые ферменты к цистеиновым протеиназам семейства кальпаинов С2 согласно современной классификации протеолитических ферментов. На основании результатов исследования и данных литературы можно сделать вывод о том, что протеиназы изученных беспозвоночных отличаются от типичных μ - и m -кальпаинов позвоночных животных по нескольким параметрам: 1) не содержат малой субъединицы, подобной 28 кДа субъединице; 2) могут существовать в виде мономеров или гомодимеров, но не гетеродимеров; 3) их протеолитическая активность в ряде случаев частично ингибируется PMSF и пепстатинном, которые не влияют на активность кальпаинов позвоночных; 4) отсутствует эндогенный регулятор их активности – кальпастатин. Что касается концентрации кальция, необходимой для активации кальпаинов у различных групп животных, то экспериментально было доказано, что в эволюционном ряду чувствительность кальпаинов к кальцию увеличивается.

Результаты работы подтверждают и экспериментально обосновывают представления о том, что кальпаинам беспозвоночных и рыб свойственны эволюционные особенности структурной организации и регуляции активности. Обобщение полученных данных и данных литературы о структуре, свойствах, субстратной специфичности и чувствительности к кальцию кальпаин-подобных протеолитических ферментов у различных групп животных подтверждает высказанное ранее предположение, что кальций-зависимые протеиназы эволюционно более древних организмов ответственны, главным образом, за низкоселективный катаболизм клеточных белков, в то время как у более высокоорганизованных животных на первый план выходит их регуляторная функция в жизнедеятельности клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 08-04-01140-а, 09-04-90733-моб ст), Программы Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4 и проекта Программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие» на 2009–2011 гг., и Программы ОБН РАН «Биоресурсы» на 2009–2011 гг.

INTRACELLULAR CALCIUM-DEPENDENT PROTEOLYTIC ENZYMES IN SOME INVERTEBRATES AND FISH

N.P. Kantserova¹, N.V. Ushakova², L.A. Lysenko¹, N.N. Nemova¹

¹ Institute of Biology, Karelian Research Centre of RAS, Petrozavodsk, Russia

² Institute for Biology of Inland Waters of RAS, Borok, Russia
nkantserova@yandex.ru

The biochemical properties, activity and structural features of intracellular calcium-dependent proteases (calpains) in some invertebrates and fish are considered. The correlation between the level of activity and some calpain properties with evolutionary and physiological characteristics of the studied organisms was shown.

АКТИВНЫЙ ОБМЕН И АДАПТАЦИИ ВОДНЫХ ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ОРГАНИЗМОВ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Л.И. Карамушко

Учреждение Российской академии наук Мурманский морской биологический институт

Кольского научного центра РАН, Мурманск, Россия

karamushkol@mmbi.info

Результаты исследования энергетики холодноводных пойкилотермных организмов показывают, что в пределах относительно узкого диапазона низких температур обитания (при которых наблюдается низкая скорость стандартного обмена и ограниченный аэробный метаболический диапазон), скорость энергетического обмена, в основном, зависит от потенциальной активности животных. По отношению к этим животным в первую очередь возникает вопрос, как холодноводные эктотермные организмы могут поддерживать максимальные аэробные скорости активного обмена и не могут ли рассматриваться низкие температуры, как фактор "давления" на их энергетику. Нами были проанализированы с позиций адаптационных возможностей организма к низким температурам среды, скорости движения и активного обмена водных пойкилотермных животных на примере рыб разных экологических групп. А также определены зависимости между скоростью минимального жизнеподдерживающего обмена и максимальной скоростью активного обмена, т.е. показатели аэробного метаболического диапазона.

Исследованные нами морские виды рыб разных экологических групп показывали значительные отличия в скоростях энергетического обмена, что по-видимому, в первую очередь связано с различиями в образе жизни этих видов и доказывает существование относительно постоянной зависимости между обменом покоя и максимальной скоростью аэробного метаболизма. Чтобы оценить, во сколько в энергетическом выражении обходится рыбам их движение, проведен анализ зависимостей расхода энергии от скорости плавания, температуры окружающей среды и ряда других параметров.

Ихтиофауна обеих полярных областей (Арктики и Антарктики) представлена почти всеми экотипами рыб, за исключением возможно только скумбриевидных форм тела (Андряшев, 1986; Zimmermann, 1997; Zimmermann, Hubold, 1998). Это означает, что скорости активного обмена у рыб разной естественной подвижности будут различаться в значительной степени, в зависимости от особенностей обитания вида, поскольку именно экологические различия в первую очередь касаются активного обмена. Андряшев (1986) отмечает также особый морфоэкологический класс жизненных форм антарктической фауны рыб – криопелагические виды, к которым относятся активно плавающие рыбы, живущие почти постоянно при температуре воды на грани замерзания (например, малый и большой широколобик, *Pagothenia brachysoma* и *P. borchgrevinki*). К представителям активно плавающих криопелагических видов рыб арктической фауны относятся широко известные *Boreogadus saida* и *Arctogadus glacialis*.

Анализ данных по скоростям и затратам энергии при движении у ряда полярных видов рыб показал, что компенсация длительного плавания, например у антарктических рыб, достигается за счет увеличения числа митохондрий в мышцах (Johnston et al., 1988). При созревании гонад содержание

липидов в печени и мышцах нототениевых рыб снижается, и на примере результатов экспериментальных работ по голоданию с чешуйчатым трематомом *Trematomus eulepidotus* показано, что высокоантарктические нототениевые виды рыб могут выдерживать длительные периоды недостатка пищи из-за пониженных скоростей энергетического обмена (Wöhrmann, 1998). Нототениевые виды рыб имеют и низкие концентрации гликолитических ферментов. Концентрация и состав антифризных структур у рыб зависят от температуры воды, глубины обитания вида, уровня активности и образа жизни. Медлительные и донные виды имеют количество антифризов даже больше, чем им необходимо в их естественной среде обитания. Концентрация антифризов у более активных видов рыб, таких как бентопелагические и пелагические, являются специализированными для окружающей температуры воды и глубины обитания, вследствие метаболических расходов на синтез этих антифризов – гликопептидов и пептидов (Wöhrmann, 1998). Низкие скорости потребления кислорода и активности АТФ-генерирующих ферментов у глубоководных пелагических организмов отражают также пониженную двигательную активность, и связь между концентрацией протеинов в белых мышцах и скоростью потребления кислорода может быть очень высокой (Torres, Somero, 1988).

Отмечается, что в неразрывной связи между низкой и умеренно высокой мышечной активностью полярные виды рыб развивают свои особенности аэробного метаболизма, которые эквивалентны таковым у рыб, обитающих в теплых водах. Существует постоянная зависимость между обменом покоя и максимальной скоростью аэробного метаболизма: высокие скорости потребления кислорода в покое сопровождаются высокими скоростями активного обмена. Присутствие в экосистемах Антарктики пелагических рыб, плавающих с "крейсерской" скоростью (Johnston et al., 1991), показывает, что какие бы ограничения к обитанию при низких температурах морской воды не существовали, эти ограничения не препятствуют экологическому успеху для широкого ряда полярных морских организмов. Очевидно, чтобы понять энергетику холодноводных пойкилотермных организмов необходимо в первую очередь выяснять зависимость между расходом энергии при активной работе и в покое.

Таким образом, проведенный анализ количественных данных, характеризующих, во сколько раз активный обмен может превышать основной у рыб, обитающих в относительно узком диапазоне низких температур, показал, что максимальный аэробный размах активности у рыб высоких широт находится в тех же пределах, что и у бореальных и тропических видов, при условии их принадлежности к одной и той же биотопической группе.

ACTIVE METABOLISM AND ADAPTATIONS IN AQUATIC POIKILOTHERMOUS ANIMALS AT LOW TEMPERATURES

L.I. Karamushko

Murmansk Marine Biological Institute, Kola Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Murmansk, Russia
karamushkol@mmbi.info

The quantitative data on the comparison of active and basal metabolism in fish living in the areas with a relatively narrow range of low temperatures are analyzed. The maximal activity of aerobic metabolism in fish of high latitudes is within the same range characteristic of boreal and tropical species upon condition that they belong to the same biotopic group. Low temperatures are shown not to prevent ecological success for a wide number of polar marine organisms.

ВКУСОВАЯ РЕЦЕПЦИЯ У РЫБ: ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

А.О. Касумян

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
alex_kasumyan@mail.ru

Вкусовая система у рыб характеризуется высоким уровнем структурного и функционального развития. Многочисленные вкусовые почки распределены у рыб в ротовой полости и на поверхности тела и плавников и образуют периферический отдел интраоральной (внутриротовой) и экстра-

оральной (наружной) вкусовых субсистем. По широте воспринимаемых стимулов и уровню чувствительности вкусовой рецепции рыбы превосходят многих других позвоночных животных. Благодаря этим особенностям рыбы способны проводить не только завершающую, но и предварительную оценку вкусовых свойств объектов питания, а некоторые из рыб – осуществлять дистантный поиск источника распространяющихся в воде пищевых химических стимулов. Представления о функциональных свойствах вкусовой системы рыб многие годы базировались на результатах электрофизиологических исследований. В последние годы благодаря созданию и использованию поведенческих методов эти знания значительно расширены, установлены новые важные особенности вкусовой рецепции, определены вкусовые предпочтения многих видов рыб к различным типам вкусовых раздражителей.

Выяснено, что спектры веществ (свободные аминокислоты, органические кислоты, сахара и др.), обладающих для рыб отталкивающими, привлекательными или индифферентными вкусовыми свойствами, характеризуются высокой видовой специфичностью. Вкусовые предпочтения, опосредуемые интраоральной вкусовой рецепцией, отличаются у разных видов рыб, в том числе и у близкородственных, у рыб со сходным образом жизни и питанием – у кеты и кижуча, у трески и наваги, у карпа и линя, у серебряного и золотого карасей, у голяна, ельца и голавля, у севрюги, русского осетра, сибирского осетра и персидского осетра. Однако вкусовые предпочтения к небольшому числу стимулов у близкородственных рыб могут быть сходными, а у некоторых из таких рыб, например, у трехиглой и девятииглой колюшек, совпадает отношение к вкусу большинства веществ (свободные аминокислоты, классические вкусовые раздражители). При сравнении вкусовых спектров особей одного вида, но относящихся к разным популяциям специфичность вкусовых предпочтений не обнаруживается и вещества с сильными негативными или позитивными вкусовыми свойствами у таких рыб совпадают (кумжа Белого, Балтийского, Каспийского и Черного морей; трехиглая колюшка Северного, Балтийского, Белого и Охотского морей; девятииглая колюшка Белого и Охотского морей и р.Москвы). Сходными вкусовыми предпочтениями обладают особи разного пола (гуппи) и разного внутривидового иерархического статуса (мешкожаберный сом), а также рыбы разных поколений (девятииглая колюшка, карп). Отсутствует заметное влияние на состав вкусовых спектров индивидуального пищевого опыта рыб (белый амур, выращенный на растительной и животной пище), что указывает на высокую генетическую детерминированность вкусовых предпочтений. Отношение рыб к вкусу веществ слабо подвержено влиянию абиотических факторов среды (соленость, температура) и стимуляции пищевого возбуждения запахами (треска, карп), но изменяется при усилении пищевой мотивации рыб, вызванной голодом (карп).

Вкусовые предпочтения, опосредуемые экстраоральной вкусовой рецепцией, шире, чем опосредуемые интраоральной вкусовой рецепцией и характеризуются меньшей видовой специфичностью (севрюга, русский осетр, сибирский осетр, персидский осетр, усатый голец). Чувствительность экстраоральной вкусовой рецепции в 10 раз выше, чем интраоральной (сибирский осетр). В онтогенезе рыб функциональное развитие экстраоральной вкусовой системы начинается раньше и происходит более быстрыми темпами, чем интраоральной (функциональная гетерохрония; русский осетр). Короткая по времени (1, 3, 6, 24, 48 и 72 час) экспозиция рыб в воде, содержащей тяжелые металлы (соли ртути, меди, кобальта, свинца, цинка; 1 мкМ), вызывает полное блокирование способности различать вкусовые свойства объектов питания. При переводе рыб в чистую воду после однократного воздействия растворов тяжелых металлов происходит полное восстановление вкусовой чувствительности, скорость этого процесса зависит от продолжительности экспозиции и концентрации загрязняющего вещества (карп).

Необратимая хроническая anosmia приводит к компенсаторному развитию наружной вкусовой системы и частичному восстановлению на ее основе способности рыб реагировать на пищевые запахи и проявлять характерный видовой стереотип пищевого поискового поведения (севрюга, карп, голян). У рыб, у которых наружные вкусовые почки отсутствуют, поисковое поведение на пищевые запахи после хронической anosmia не восстанавливается (радужная форель). На поведенческом уровне процесс восстановления чувствительности к пищевым запахам у рыб-аносмиков начинает проявляться через 6 недель после полной ольфакторной депривации и завершается спустя 3–5 месяцев. Функциональное взаимодействие между обонятельной и вкусовой системами, проявлением которого является выявленный феномен, рассматривается в качестве сенсорного механизма, способствующего надежностной реализации рыбами такой важнейшей формы поведения как пищевое.

Исследовано поведение, связанное с тестированием рыбами вкусовых свойств пищевых объектов. Для рыб с наружными вкусовыми почками и плохо развитой зрительной рецепцией касание пищевого объекта усами или другими структурами, несущими наружные вкусовые почки, является обязательным и всегда предваряет его схватывание (осетровые рыбы, усатый голец, мешкожаберный сом, ерш). После схватывания и удержания пищевой объект может отвергаться и спустя небольшой интервал схватываться вновь. Число таких повторных тестирующих схватываний зависит от образа жизни рыб и вкусовых свойств объекта и может достигать 10–15 и более. Менее характерны повторные схватывания для рыб, живущих в потоке, и для рыб со слабым зрением, а также по отношению к пищевым объектам с сильно выраженными позитивными или негативными вкусовыми свойствами. Удержание объекта обычно наиболее длительно при первом схватывании, с каждым следующим схватыванием продолжительность удержания закономерно снижается. Интервалы между схватываниями объекта такой динамике не подчиняются. При тестировании пищевых объектов с отталкивающими вкусовыми свойствами рыбам для формирования и реализации решения об отказе от потребления обычно требуется менее 1 с. Обосновано существование у рыб двух разных стереотипов поведения тестирования пищевых объектов, один из которых проявляется при потреблении пищи, другой при ее отвергании.

Работа осуществлена при поддержке РФФИ (проект 10-04-00349).

TASTE PERCEPTION IN FISH: FUNCTIONAL AND BEHAVIORAL ASPECTS

A.O.Kasumyan

Moscow State University, Moscow, Russia
alex_kasumyan@mail.ru

The fish gustatory system provides the final sensory evaluation in the feeding process. Unlike other vertebrates, the gustatory system in fishes may be divided into two distinct subsystems, oral and extraoral, both of them mediating behavioural responses to food items brought in contact with the fish. In the present review, basic principles in the taste preferences of fish are formulated. Fish taste preferences are highly species specific. There is strong similarity in taste preferences between conspecifics belonging to different populations, the taste preferences are similar in males and females. Taste preferences in fish show low plasticity in relation to the diet and water salinity, and shift in relation to the fish feeding motivation and water pollutants such as heavy metals and low pH water.

ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА *NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS* ИЗ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ

Т.Б. Ковыршина¹, С.О. Омельченко²

¹ Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина
mtk.fam@mail.ru

² Государственное предприятие «Крымский региональный научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации», Симферополь, Украина

Загрязнение Азово-Черноморского бассейна тяжелыми металлами является известной проблемой и требует подбора биомаркеров чувствительных к загрязнению и адекватно отражающих качество водной среды. В нашей работе изучали влияние токсичных элементов (ТЭ) в мышцах бычка-кругляка, обитающего в прибрежье Черного (г. Севастополь) и Азовского (мыс Казантип) морей на биохимические параметры крови. Определяли активность пяти ключевых антиоксидантных (АО) ферментов крови (каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПЕР), глутатионредуктазы (ГР) и глутатион-S-трансферазы (ГТ)) и уровень окислительной модификации сывороточных белков (содержание 2,4-динитрофенилгидразонов).

Концентрация ТЭ в мягких тканях рыб из двух морей не превышает ПДК и имеет характерные отличия. Содержание Cu, As и Hg выше в мышцах бычка-кругляка из Черного моря, а Pb у рыб из Азовского моря, что свидетельствует о высокой концентрации этих компонентов в воде и донных отложениях районов исследования.

Как можно видеть из таблицы 1, активность ПЕР и ГР достоверно выше, а СОД достоверно ниже в эритроцитах крови бычка-кругляка, обитающего в воде черноморских бухт. Активность КАТ и ГТ не имеет достоверных различий. ИП ФАОА выше у бычка-кругляка из Азовского моря.

Таблица 1. Активность антиоксидантных ферментов (на мг гемоглобина/мин, $M \pm m$) в крови бычка-кругляка, обитающего в прибрежной зоне Черного и Азовского морей

Море	КАТ, мг H ₂ O ₂	СОД, усл. ед.	ПЕР, опт. ед.	ГР, нмоль НАДФН	ГТ, нмоль конъюгата	ИП ФАОА, усл. ед.
Черное	0,76 ± 0,08	274,5 ± 29,0	10,6 ± 0,74	10,3 ± 1,2	69,2 ± 12,5	365,36
Азовское	0,87 ± 0,03	472,3 ± 57,5*	6,0 ± 0,4*	7,5 ± 0,7*	44,7 ± 6,1	531,37

Примечание: * – достоверность различий между активностью СОД ($p \leq 0,01$), ПЕР ($p \leq 0,001$), ГР ($p \leq 0,05$) в эритроцитах крови бычка-кругляка из двух морей; ИП ФАОА – интегральный показатель ферментной антиоксидантной активности, представляющий арифметическую сумму активностей всех исследованных ферментов

Уровень окислительной деструкции белков представлен в таблице 2.

Таблица 2. Содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в сыворотке крови бычка-кругляка, обитающего в прибрежной зоне Черного и Азовского морей

Море	Единицы опт. плотности ($M \pm m$) при длине волны, нм				ПО ОМБ
	346	370	430	530	
Черное	5,79±0,33*	7,85±0,45*	5,02±0,46*	0,77±0,1*	19,43
Азовское	3,2±0,27	4,33±0,31	2,99±0,24	0,44±0,06	10,96

Примечание: * – достоверность различий между содержанием 2,4-динитрофенилгидразонов в сыворотке крови бычка-кругляка из двух морей $p \leq 0,01$; ПО ОМБ – показатель общей окислительной модификации белков, представляющий арифметическую сумму значений 2,4-динитрофенилгидразонов, полученных при всех длинах волн (346–530 нм)

При всех длинах волн уровень окислительной модификации белковых молекул и, как следствие ПО ОМБ, выше в сыворотке крови бычка-кругляка, обитающего в прибрежной зоне Севастополя.

Для удобства оценки состояния баланса прооксидантно-антиоксидантных процессов был введен коэффициент прооксидантно-антиоксидантного равновесия КПАР = ИП ФАОА / ПО ОМБ. Его значение для бычка-кругляка из Черного моря составило 18,8, для азовских бычков 48,5.

Таким образом, в наших исследованиях установлены определенные различия как в накоплении ТЭ в мышцах рыб из двух морей, так и в характере ответных реакций биохимических параметров крови. При этом отклики АО ферментов на содержание ТЭ неоднозначны. С одной стороны, увеличение активности ГР и ПЕР в эритроцитах рыб из севастопольских бухт обусловлено адаптацией к окислительному стрессу, вызванному высоким содержанием токсикантов в среде. В противоположность этому, активность СОД падает, что может быть следствием инактивации этого фермента в результате его окислительной модификации.

Снижение активности СОД в крови черноморских бычков приводит к усилению процессов окислительной деструкции биомолекул, в том числе сывороточных белков. Это подтверждает рассчитанный нами ПО ОМБ, который почти в 2 раза выше у рыб из Черного моря.

В то же время, антиоксидантные реакции у азовских бычков превалируют над деструктивными процессами. КПАР почти в 3 раза выше у рыб из Азовского моря, что говорит об эффективной работе ферментативной АО системы крови у азовских бычков и / или более благополучном экологическом состоянии воды.

Таким образом, активность АО ферментов и показатель окислительной модификации белков являются информативными при оценке состояния защитных систем организма рыб и могут быть использованы для анализа качества водной среды

INFLUENCE OF TOXIC ELEMENTS ON THE PRO-OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE OF BLOOD IN ROUND-GOBY *NEOGOBIUS MELANOSTOMUS* FROM THE BLACK AND THE AZOV SEAS

T.B. Kovyrshina¹, S.O. Omelchenko²

¹ Institute of the Biology of the Southern Seas, Sevastopol, Ukraine
mtk.fam@mail.ru

² Public enterprise «Crimean regional scientific production centre of standardization, metrology and certification»,
Simferopol, Ukraine

Influence of toxic elements in fish muscle on the activities of antioxidant enzymes and oxidative modification of serum blood proteins were determined in round-goby *Neogobius melanostomus*, collected from coastal zones of the Black Sea (area of Sevastopol) and the Azov sea (Cape Kazantip). The obtained results showed that concentrations of toxic elements in fish muscle and responses of blood biochemical parameters have certain differences for fish from both seas. The activities of antioxidant enzymes and oxidative modification of serum blood proteins can be used for evaluation of fish status and water quality.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛОВЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ СПЕКТРОВ БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ СКОРПЕНЫ

А.В. Королёва

Таврический Национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
anna.undymiel@gmail.com

Известно, что наследственные особенности организма имеют непосредственное отражение в белковом составе различных тканей. Особенно ярко проявляются наследственные признаки в тех белковых системах, которые отличаются высокой полиморфностью. Системы полиморфных белков специфичны и индивидуальны для каждого животного. В последние десятилетия накопилось большое количество данных о проявлении генетически детерминированного полиморфизма белков сыворотки крови, а также образование их постсинтетических изомеров, изменяющих электрофоретическую картину. Современные представления и методы белковой химии нашли широкое применение в исследованиях по биохимической систематике и генетике рыб. В связи с этим представляло интерес изучить электрофоретические спектры мышечных белков особей рыб различного пола.

Объектом исследования был выбран донный вид рыб – морской ерш (*Scorpaena porcus L.*), отловленный в апреле 2009 в районе города Севастополя. Материалом для исследования служил гомогенат мышечной ткани морского ерша.

Электрофоретический состав мышечных белков изучали методом электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле. Стандартные среднестатистические электрофоретические спектры (ЭФ-спектры) рассчитывали с учетом относительной электрофоретической подвижности фракций. Сравнивали как стандартные ЭФ-спектры, так и статистические показатели ЭФ-состава. Сравнительный анализ полученных спектров осуществляли качественно и количественно. Обработку статистических данных производили с помощью стандартной программы «EXCEL».

Проведенные исследования показали, что среднестатистические электрофоретические спектры белков мышечной ткани самок и самцов морского ерша содержат одинаковое количество фракций – 24.

Известно, что к водорастворимым мышечным белкам относятся белки группы миогенов (миоальбумины, глобулин X и т.д.), поэтому в полученных мышечных гомогенатах присутствовали главным образом белки этой группы.

Общая картина электрофоретических спектров белков мышечной ткани морского ерша разного пола похожа, однако отмечаются незначительные отличия. К примеру, в миоальбуминовой зоне белкового спектра самцов проявились две фракции: одна яркая и практически совпадает по относительной электрофоретической подвижности (Кэф) с яркой миоальбуминовой фракцией самок

($K_{\text{эф}}=0,82-0,88$ и $K_{\text{эф}}=0,81-0,87$ соответственно), а вторая неяркая с $K_{\text{эф}}=0,88$. Преальбуминовая зона в ЭФ-спектре самцов и самок одинаково гетерогенна – по 4 фракции (см. таблицу 1).

Таблица 1. Распределение фракций в электрофоретических спектрах белков мышечной ткани морского ерша

Зоны эф-подвижности	Пределы $K_{\text{эф}}$ белковых фракций	Количество фракций в ЭФ-спектре	
		Самки	Самцы
Преальбуминовая	1,1–0,90	4	4
Миоальбуминовая	0,90–0,80	1 (я)	1 (я), 1
Постальбуминовая	0,80–0,60	4	4
Трансферриновая	0,60–0,40	3	2
Посттрансферриновая	0,40–0,20	6	6
Предстартовая	0,20–0,00	6	6

Примечание: я – яркая фракция.

В постальбуминовой зоне ЭФ-спектров обеих групп рыб также отмечалось одинаковое количество фракций (4). А вот трансферриновая зона ЭФ-спектра самок морских ершей содержит в себе большее количество фракций (3), чем ЭФ-спектр самцов (2). Наиболее гетерогенными зонами ЭФ-спектров обеих групп являются посттрансферриновая и предстартовая зоны (по 6 фракций в каждой зоне и группе). Таким образом, качественный анализ ЭФ-спектров белков мышечной ткани скорпен разного пола показал, что они не имеют резких отличий.

Изучение статистических показателей ЭФ-спектров не выявило резких отличий в пределах числа электрофоретических фракций (n) в спектрах белков мышечной ткани рыб разного пола: минимальное число белковых фракций совпадает (10), максимальное же у самок составило 17, а у самцов 16 (см. таблицу 2).

Таблица 2. Статистические показатели электрофоретических спектров белков мышечной ткани особей морского ерша разного пола

Пол	Показатели							
	Пределы n		$M \pm m$	σ	Пределы $K_{\text{эф}}$		$C_v, \%$	$K_p, \%$
	min	max			min	max		
Самки	10	17	$13,54 \pm 0,35$	3,14	0,00	1,12	23	95 ¹
Самцы	10	16	$12,58 \pm 0,36$	3,16	0,00	1,15	25	

Примечания: Пределы n – минимальное и максимальное количество белковых фракций у особей; $M \pm m$ – среднее арифметическое количество фракций в спектре, ошибка среднего; σ – среднее квадратичное отклонение; C_v – коэффициент вариации (варьирование считается слабым при C_v до 10%, если $C_v=11-25\%$ – среднее варьирование, а если $C_v>25\%$ – сильное); K_p – коэффициент подобия среднестатистических спектров самок и самцов скорпен.

Среднее число фракции ($M \pm m$) ЭФ-спектров обеих групп различается в пределах доверительного интервала. Показатели среднее квадратичного отклонения (σ) практически совпадают. ЭФ-спектры белков мышечной ткани самок имеют меньшие пределы относительной электрофоретической подвижности ($K_{\text{эф}}=0,00-1,12$) по сравнению с пределами $K_{\text{эф}}$ ЭФ-спектров самцов ($K_{\text{эф}}=0,00-1,15$), однако эти различия также не значительны. При вычислении коэффициента вариации (C_v) оказалось, что белковые спектры обеих групп скорпен обладают средним варьированием (23–25%). При сравнении среднестатистических электрофоретических спектров белков мышечной ткани рыб разного пола выяснилось что они подобны ($K_p=95\%$). Таким образом, статистический анализ ЭФ-спектров белков мышечной ткани самок и самцов скорпен также подтверждает отсутствие резких отличий между ними.

Отсутствие резких отличий ЭФ-спектров белков мышечной ткани особей морского ерша разного пола может быть связано с активизацией метаболических процессов, вызванной подготовкой организма самок и самцов к размножению, так как рыбы были отловлены весной в период нереста. Возможно, при изучении ЭФ-спектров организмов рыб в период покоя будут выявлены более резкие отличия, это и будет изучаться в ходе дальнейших исследований.

Таким образом, в ходе качественного и количественного анализа электрофоретических спектров белков мышечной ткани скорпен разного пола не было выявлено резких отличий, что может быть связано с особенностями метаболических процессов в организме рыб, который готовится к размножению. Намечены перспективы дальнейших исследований.

THE INVESTIGATION SEXUAL PARTICULARITY OF THE ELECTROPHORETIC PROTEIN SPECTRES

A.V. Korolyova

The Taurida National University named by V.I. Vernadskiy, Simferopol, Ukraine

The protein composition of the muscles tissue of specimen *Scorpaena porcus* different sex was studied using the electrophoretic method in polyakryamid gel. The sharp differences between electrophoretic protein spectres were not obtained. It may be bound with specific metabolism of the fish organism, which were preparing to duplication in spring.

ВЛИЯНИЕ ТОКСИКАНТОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН У ПРЭСНОВОДНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

К.В. Костюк

Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина
kostyuk.katya@gmail.com

Среди антропогенных факторов, представляющих серьезную угрозу для гидросферы, особое место занимают тяжелые металлы (ТМ) и дизтопливо (ДТ). При этом клеточные мембраны первыми испытывают влияние этих веществ, в следствие чего изменяется их текучесть, плотность и проницаемость (Кравцов А. В., 1993). В связи с этим, целью настоящей работы было исследование проницаемости клеточных мембран у пресноводных водорослей при действии повышенных концентраций ТМ и ДТ.

В качестве объектов исследования выбраны: одноклеточная водоросль – хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer.), погруженный макрофит элодея (*Elodea canadensis*) и плавающий на поверхности – ряска (*Lemna minor* L.). Как известно, у этих видов выработаны разнообразные механизмы адаптации к токсическим условиям среды обитания. Например, хлорелла отмечается хорошими адаптационными способностями, близким к эврибионтным видам, а в некоторых случаях и превышает их. Элодея и ряска характеризуется крайне слабыми резистентными способностями (Зотина и др., 2009). Таким образом, выбор именно этих растений обусловлен как видовыми различиями, так и отличиями адаптационных способностей.

Растения выращивали в присутствии солей $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ и $Pb(NO_3)_2$ (1, 5 ПДК), ДТ (1, 5, 10, 20, 30 ПДК) (Давыдова С. Л. и др., 2002) в течение 1, 3, 7, 14 суток в условиях естественного освещения и температуры 24°C. Контролем служили культуры, которые росли на среде без добавления ТМ и ДТ. Для изучения проницаемости мембран использовалась методика окраски цитоплазмы метиленовым синим (Кучеренко, Васильев, 1985), основанная на том, что большинство красителей плохо проникает через клеточную мембрану неповрежденных клеток и слабо связывается внутриклеточными структурами. Увеличение проницаемости клеточной и внутриклеточной мембран при повреждении клетки приводит к возрастанию количества красителя, вошедшего в клетку и связавшегося с компонентами цитоплазмы. Экспериментальные данные обработаны методами вариационной статистики (Лакин Г. Ф., 1990).

Показано, что в присутствии ионов цинка в среде культивирования у хлореллы проницаемость мембран значительно уменьшается, что препятствует проникновению в клетку излишних ионов цинка. Касательно многоклеточных водорослей, им сложнее изменить проницаемость клеточных мембран. Поэтому, в случаи элодеи и ряски проницаемость мембран возрастает тем интенсивней, чем выше концентрации ионов в окружающей среде. Даже ионы цинка отрицательно влияли на выживаемость клеток.

Ионы свинца оказались намного токсичнее, чем ионы цинка для всех растений, в том числе и для хлореллы. Одноклеточная зеленая водоросль уменьшала проницаемость мембран к 3-им суткам действия токсиканта, но на 7-е сутки влияние металла оказалось настолько отрицательным, что проницаемость возросла. Заметим, что в элодеи проницаемость мембран увеличивалась уже на 3-и сутки, а для ряски – на первые. Это еще раз подтверждает эволюционную способность одноклеточных водорослей к лучшей адаптации к среде существования по сравнению с высшими растениями.

Аналогично, увеличение мембранной проницаемости при действии свинца связываем с многочисленными разрывами в мембранах (Бойко Н. и др., 2004).

Заметим, что при действии ДТ происходит не общее, а избирательное увеличение, либо уменьшение проницаемости мембраны в зависимости от концентрации токсиканта в среде. Обнаружено, что у хлореллы ДТ в концентрации 1 и 5 ПДК увеличивает проницаемость мембран. Это связано в первую очередь, с тем, что нефтепродукты способны растворяться в липидных компонентах мембран, в некоторых случаях наблюдается даже замещение ими некоторых липидов (Ковалева Г. И., 1976). Известны данные о том, что наибольшей проницаемостью мембран является в первые минуты процесса, когда концентрация токсиканта в жидкой фазе наибольшая (Гусев А. Г., 1960). Чем ниже исходная концентрация, тем ниже скорость поглощения токсиканта (Брагинский Л. П., 1975). Более высокие концентрации ДТ (10, 20, 30 ПДК) способствовали уменьшению проницаемости мембран, вероятно, как следствие адаптации к токсиканту. У элодеи увеличение концентрации ДТ вызывало увеличение проницаемости мембран и тем самым определяло низкий процент выживаемости растений в загрязненных условиях. Особенностью реакции ряски является: морфологические изменения, связанные с уменьшением верхней листовой пластинки и увеличением длины корней. Однако, показатели проницаемости мембран у ряски к ДТ аналогичны с реакцией хлореллы на ионы цинка. Как показывает опыт, эта закономерность линейна и способствует выживанию растений.

Таким образом, на основании экспериментальных данных сделан вывод о том, что цинк, свинец и ДТ неодинаково влияют на проницаемость мембран, которая зависит от природы токсиканта, концентрации и времени действия, а также определяется особенностями адаптивной стратегии вида водных растений.

THE INFLUENCE OF TOXICANTS ON PERMEABILITY OF MEMBRANES AT FRESHWATER WATER-PLANTS

K.V. Kostyuk

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ternopil, Ukraine
kostyuk.katya@gmail.com

The influence of heavy metals (zinc, lead – 1, 5 МТС) and diesel fuel (1–30 МТС) is considered on permeability of cellular membranes at freshwater algae (*Chlorella vulgaris* Beijer., *Elodea canadensis*, *Lemna minor* L.). It is found out the row of changes in relation above all things from chemical properties, the concentration of action, the continuance of time, and also by the specific features of algae.

ВЛИЯНИЕ НЕФТЯНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ГИДРОЛИТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА КАРПОВЫХ РЫБ

П.А. Кравецкий, И.В. Волкова, С.В. Шипулин

Астраханский Государственный Технический Университет, Астрахань, Россия
kravetsky_p@mail.ru

По оценкам аналитиков Минэнерго и Минприродресурсов РФ суммарные ресурсы сырой нефти всей акватории Каспийского моря составляют до 20 млрд. тонн, при этом в настоящее время через Астраханский воднотранспортный узел в год проходит около 550 тыс. тонн нефтеналивных грузов, на 2010 г запланировано начало эксплуатации крупного месторождения им. Ю.Корчагина на Северном Каспии с организацией танкерных перевозок, так что количество нефтеналивных грузов, проходящих через дельту Волги, в перспективе будет только возрастать. Лидирующее по численности место в ихтиофауне Нижней Волги занимают карповые рыбы, поэтому проблема изучения воздействия сырой нефти на их физиологию является весьма актуальной. Ферментативная активность является важным показателем физиологического состояния рыб, изучение ее изменений при токсическом воздействии нефти позволит отслеживать не только характер модификаций пищеварительной системы, но и судить об общей токсикорезистентности рыб к данному поллютанту. Необходимость изучения перестроек ферментативной активности рыб при воздействии токсикантов отмечалась в ряде исследований.

Для проведения эксперимента были использованы годовики белого толстолобика (*Hypophthalmichys molitrix* Val.), белого амура (*Ctenopharyngodon idella* Val.), карпа (*Cyprinus carpio* L.), и серебристого карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch). Рыбы каждого вида были распределены в 3 группы: контрольную, группу, содержащуюся в аквариумах с концентрацией нефти 10 мг/л, и группу, содержащуюся в аквариумах с концентрацией нефти 100 мг/л. Кормление рыб не осуществлялось. В качестве модельного токсиканта использовалась сырая нефть с Хвалынского месторождения Каспийского моря. Определялось воздействие эмульгированной в воде сырой нефти на карповых рыбах, различающихся по характеру питания (фитофаг – белый амур, фитопланктофаг – белый толстолобик, всеядные карп и серебристый карась). При этом исследовались различные по локализации ферменты: казеинлитические протеиназы, α -амилаза, мальтаза, осуществляющие гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи. Определение активности α -амилазы производилось методом Смита и Роя в модификации Уголева, активность казеинлитических протеиназ (рН = 7,4) определялась модифицированным методом Лоури, активность мальтазы определялась модифицированным глюкозооксидазным методом. Лабораторные исследования проводились в лаборатории кафедры Гидробиологии и общей экологии Астраханского Государственного Технического Университета, результаты исследования отображены в таблице.

Активность пищеварительных ферментов карповых рыб при интоксикации сырой нефтью

Вид	День эксперимента	Активность α -амилазы (мг/(г*мин))			Активность казеинлитических протеиназ (мкмоль/(г*мин))			Активность мальтазы (мкмоль/(г*мин))		
		Контроль	10 мг/л	100 мг/л	Контроль	10 мг/л	100 мг/л	Контроль	10 мг/л	100 мг/л
Белый толстолобик	1 день	20,86±0,25	20,86±0,25	20,86±0,25	2,62±0,15	2,62±0,15	2,62±0,15	14,33±0,12	14,33±0,12	14,33±0,12
	7 дней	23,21±0,67	8,41±0,34	8,33±0,76	2,83±0,17	2,56±0,21	1,18±0,11	19,81±0,36	11,98±0,12	11,56±0,18
	14 дней	25,32±0,54	14,97±0,25	6,31±0,25	3,73±0,54	2,64±0,25	1,23±0,09	21,15±0,32	9,03±0,31	6,98±0,24
Белый амур	1 день	21,79±0,5	21,79±0,5	21,79±0,5	1,54±0,13	1,54±0,13	1,54±0,13	17,28±0,06	17,28±0,06	17,28±0,06
	7 дней	25,61±0,39	12,11±0,59	10,21±0,41	3,21±0,29	3,08±0,11	2,1±0,15	20,82±0,39	13,79±0,31	9,18±0,23
	14 дней	26,49±0,27	17,23±0,43	9,92±0,52	3,67±0,27	3,59±0,23	3,32±0,27	23,76±0,35	9,99±0,19	8,55±0,15
Карп	1 день	21,45±0,42	21,45±0,42	21,45±0,42	4,36±0,21	4,36±0,21	4,36±0,21	17,04±0,06	17,04±0,06	17,04±0,06
	7 дней	28,35±0,34	12,39±0,62	10,35±0,34	5,21±0,37	3,81±0,27	1,85±0,16	20,48±0,64	10,36±0,18	8,14±0,42
	14 дней	31,34±0,56	19,51±0,5	6,98±0,28	6,17±0,56	4,82±0,32	3,62±0,28	22,82±0,42	7,38±0,27	6,86±0,25
Серебристый карась	1 день	22,25±0,39	22,25±0,39	22,25±0,39	4,67±0,31	4,67±0,31	4,67±0,31	15,78±0,18	15,78±0,18	15,78±0,18
	7 дней	31,46±0,59	12,62±0,59	11,22±0,46	5,74±0,52	2,82±0,21	1,74±0,05	19,52±0,26	11,68±0,3	8,24±0,08
	14 дней	33,22±0,59	18,42±0,17	7,23±0,67	6,67±0,31	4,36±0,26	3,18±0,21	21,29±0,44	7,95±0,36	6,68±0,16

Было установлено, что растворенная в воде нефть оказывает негативное воздействие на метаболизм рыб и подавляет активность всех исследованных ферментов. На седьмые сутки эксперимента активность всех исследованных ферментов снижается похожим образом вне зависимости от концентрации. Через 14 дней при концентрации 10 мг/л отмечалась тенденция к восстановлению активности ферментов (за исключением мальтазы, активность которой продолжает падать), тогда как при концентрации 100 мг/л наблюдалось дальнейшее угнетение активности исследованных ферментов. Исключение составляли казеинлитические протеиназы, активность которых восстанавливалась со временем. Наибольшая устойчивость ферментов к нефтяной интоксикации отмечается у белого амура и белого толстолобика, данные виды демонстрируют наибольшую скорость восстановления пищеварительной функции.

INFLUENCE OF OIL INTOXICATION TO HYDROLYTIC FUNCTION OF DIGESTIVE TRACT OF CYPRINIDS

P.A. Kravetsky, I.V. Volkova, S.V. Shipulin

Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russia
kravetsky_p@mail.ru

Influence of crude oil to enzymatic systems of cyprinids in vivo was viewed in the article. Different localized enzymes of cyprinids with various nutrition types were investigated. White amur and white silver carp showed superfine stiffness of enzymes to oil intoxication, that species demonstrated the biggest speed of recovery of hydrolytic function.

ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ МЕДИ И КАДМИЯ НА АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ПРОТЕИНАЗ МИДИЙ *MYTILUS EDULIS* L.

М.Ю. Крупнова, Н.Н. Немова, В.С. Скидченко

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия

Тяжелые металлы – одни из основных поллютантов, поступающих в морскую среду, главным образом, с атмосферными осадками и в процессе таяния снега. Одними из наиболее удобных объектов для изучения влияния ксенобиотиков, в том числе тяжелых металлов, признаны морские беспозвоночные. В сравнении с позвоночными животными многие виды моллюсков обладают слаборазвитой способностью к биотрансформации ксенобиотиков. Известно, что реализация защитной функции лизосом при воздействии на организм внутренних и внешних факторов осуществляется при участии лизосомальных гидролаз, в том числе протеолитических (катепсинов) (Дин, 1981).

В настоящей работе изучали изменение активности основных лизосомальных протеиназ животных тканей – катепсинов В (тиолзависимой приетиназы) и D (карбоксилзависимой протеиназы) в жабрах и гепатопанкреасе мидий *Mytilus edulis* L. при воздействии солей меди и кадмия в эксперименте *in vitro*. В условиях аквариального эксперимента моллюски подвергались воздействию кадмия, неэссенциального металла, способного связываться с SH-группами биомолекул, и меди – эссенциального металла, в высоких концентрациях токсичного для организма.

Аквариальный эксперимент был выполнен на одноразмерных мидиях, отловленных на сублиторали в губе Чупа Кандалакшского залива Белого моря. После акклимации к лабораторным условиям мидии были разделены на 7 групп и помещены в аквариумы, содержащие растворы солей (хлоридов) меди и кадмия (концентрация приведена в пересчете на катион): группа 1 – 5 мкг/л Cu^{2+} , группа 2 – 50 мкг/л Cu^{2+} , группа 3 – 250 мкг/л Cu^{2+} , группа 4 – 10 мкг/л Cd^{2+} , группа 5 – 100 мкг/л Cd^{2+} , группа 6 – 500 мкг/л Cd^{2+} . Контролем служили моллюски, содержащиеся в аквариуме без добавления металлов (группа 7). Время экспозиции составляло одни и трое суток, а затем из каждой группы отбирали для дальнейшего изучения по 7 особей. До начала эксперимента жабры и гепатопанкреас замораживали и хранили при -80°C .

На основании полученных данных по изменению содержания белка и активности катепсинов в тканях мидий при воздействии исследуемых металлов, можно сделать следующие выводы:

возрастает удельная активность катепсина В в гепатопанкреасе мидий, помещенных в аквариумы с различным разведением меди при разведении 5 мкг/л, затем уровень активности фермента снижается при 50 мкг/л и вновь повышается (особенно в 1 сутки эксперимента) при максимальной концентрации металла – 250 мкг/л. В жабрах активность катепсина В снижается при разведении 5, 50 мкг/л и резко возрастает при максимальных (250 мкг/л) концентрациях меди;

активность катепсина D в изученных органах мидий повышается как при экспозиции в 1, так и в 3 суток. Исключением являются жабры, в которых в первые сутки при разведении металла до 5 мкг/л активность возрастает в 5 раз и резко снижается через 3 суток. При максимальном разведении соли меди (250 мкг/л) активность данного фермента превышает уровень контрольных значений в 2–3 раза как в гепатопанкреасе, так и в жабрах мидий;

активность цистеинзависимой (или тиоловой) протеиназы лизосом – катепсина В в гепатопанкреасе и жабрах мидий, помещенных в аквариумы с разбавлением солей кадмия, значительно снижена по сравнению с контролем и с аналогичным экспериментом с использованием солей меди. Наиболее выраженные изменения уровня активности данного фермента обнаружены в гомогенатах жабр у мидий в аквариумах с разведением 10, 100 мкг/л (экспозиция 3 суток) и наблюдается особенно резкое падение активности катепсина В в жабрах мидий в аквариумах с максимальным разведением соли кадмия; активность катепсина D в гепатопанкреасе мидий почти не зависит от времени экспозиции с кадмием и несколько снижается при концентрации металла 500 мкг/л. В жабрах мидий активность фермента немного выше при 3-суточной экспозиции при концентрациях металла до 10 и 100 мкг/л и эти различия исчезают при концентрации кадмия 500 мкг/л;

Таким образом, было установлено, что активность лизосомальных протеиназ изменяется в зависимости от типа действующего металла, его концентрации и времени воздействия. По совокупно-

сти наблюдений, очевидно, что присутствие меди стимулирует компенсаторные изменения, в то время как кадмий угнетающе действует на кальций-зависимый протеолиз.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Программы Президента «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4, РФФИ № 08-04-01140-а, Программы Президиума РАН «Биоразнообразие»,

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛИНИИ *DAPHNIA MAGNA* STRAUS В ОТВЕТ НА ДЕЙСТВИЕ СЛАБОГО НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ В ТЕЧЕНИЕ НЕСКОЛЬКИХ ПОКОЛЕНИЙ

В.В. Крылов

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
Борок, Россия
kryloff@ibiw.yaroslavl.ru

Адаптивные процессы в популяциях при действии слабых низкочастотных магнитных полей (МП) практически не описаны. Такие процессы, предположительно, могут протекать в ситуации, когда организмы не могут покинуть зону действия МП.

Эксперименты с целью выявления возможности адаптивных изменений в биологических системах в ответ на действие МП проводились в два этапа. В качестве объекта исследования использовалась культура *Daphnia magna*, Straus. Условия культивирования дафний соответствовали стандартной методике биотестирования. МП (240 Гц, 75 мТ) создавалось в паре колец Гельмгольца. Эффективность МП с такими параметрами была установлена ранее в экспериментах с этой же линией дафний.

1 этап – длительное непрерывное действие МП. По 10 потомков одной самки *D. magna* помещали в две идентичные ёмкости. Одна ёмкость была подвержена длительному непрерывному действию МП, другая находилась в контрольных условиях. Обе линии развивались 10–12 дней, затем по 10 особей из второго выводка рачков перемещали в такие же ёмкости и в те же условия, что производителей. Таким образом произвели смену 8 поколений в каждой линии дафний. Учитывали общую численность и биомассу, для морфометрических показателей (длина тела от головы до основания хвостовой иглы, расстояние от глаза до основания хвостовой иглы, длина хвостовой иглы, максимальная высота створок) рассчитывали обобщённую дисперсию (generalized variance) и индекс Животовского (μ).

Действие МП на протяжении 1–5 поколений приводило к большей морфометрической разнородности в экспериментальной линии по сравнению с контролем. Затем, в 6–8 поколениях распределения исследуемых признаков и показатель внутривидового разнообразия приближались к контрольным значениям.

Общая численность дафний в линии, экспонировавшейся в МП, на протяжении 1–5 поколений была ниже, чем в контроле. Позднее, в 6–8 поколениях численность дафний в экспериментальной линии приближалась к контрольным значениям. Биомасса в экспериментальной линии напротив была близка к контрольной в 1, 2 поколениях, а с 3 по 8 поколение стабилизировалась ниже контрольных значений.

Описанные изменения в экспериментальной линии соответствуют адаптационным изменениям в биологических системах при действии различных факторов. Флуктуации различных параметров среды ведут к колебаниям частоты встречаемости морф. Во время изменения условий увеличивается полиморфизм особей в популяции. Вероятно, животные в экспериментальной линии проходили этап адаптивных изменений в ответ на действие МП. Эти изменения характеризовались увеличением разнородности по сравнению с контролем на начальном этапе. Затем, вероятно, уже модифицированная линия, на уровне 6–8 поколений характеризовалась сходными с контролем значениями обобщённой дисперсии признаков и μ . При этом размерные показатели производимого потомства, а, следовательно, и общая биомасса были стабильно ниже контрольных при несущественной разнице в численности. Возможно, в экспериментальной линии происходили физиологические преобразования в сторону замедления скорости развития рачков. Описанные изменения, без выявления

адаптивной значимости, вполне можно отнести и к действию онтогенетического шума. Для прояснения этого вопроса был проведён второй этап экспериментов.

2 этап – выявление адаптивных изменений в экспериментальной линии *D. magna*. С девятым поколением рачков из контрольной и экспериментальной линии были проведены отдельные тесты по описанной ранее схеме (Крылов, Биология Внутренних Вод, 2008). Во время тестов смертности среди производителей не наблюдалось. Различий между экспериментальной и контрольной линиями в отношении сроков появления первого потомства, периодичности в появлении потомства, и количества жизнеспособного потомства производимого самкой за 21 день обнаружено не было. Разница в численности производимого потомства между вариантами в линиях была недостоверна.

Для оценки влияния условий содержания дафний на протяжении 8 поколений, условий при созревании 9 поколения рачков, условий во время репродуктивного периода и взаимодействия этих факторов на размеры новорожденных потомков до первой линьки (10 поколение), был проведён многофакторный дисперсионный анализ. Показано, что на размеры новорожденных влияли условия содержания рачков в течение 8 поколений ($F=386.9$, $p<0.01$). В целом, более крупные особи рождались у самок из экспериментальной линии. Длительное действие МП приводило к изменениям, аналогичным тем, что наблюдаются в естественных условиях при действии неблагоприятных факторов. Кроме того, было обнаружено влияние условий созревания 9 поколения самок, взаимодействия условий содержания в течение 8 поколений и условий во время репродуктивного периода 9 поколения рачков, а также взаимодействия условий созревания и условий во время репродуктивного периода 9 поколения самок на размеры новорожденных ($F=10.9$, $p<0.01$; $F=45.3$, $p<0.001$; $F=21.8$, $p<0.001$ соответственно). Рачки из контрольной линии производили крупное потомство в контрольных условиях, но более мелкое, если во время репродуктивного периода на них действовали МП. Дафнии из линии, которая на протяжении 8 поколений развивалась в МП, напротив, производили крупное потомство в условиях действия МП и более мелкое, если репродукция проходила в контрольных условиях.

Действие МП на самок из контрольной линии во время репродуктивного периода приводило к увеличению доли мертворожденных потомков. У самок из экспериментальной линии доля мертворожденных особей напротив, была ниже, если производители во время репродуктивного периода находились в условиях действия МП.

Таким образом, биологически более качественное потомство рождалось тогда, когда его производство проходило в тех условиях, в которых рачки жили прежде на протяжении восьми поколений. Можно предположить, что внутри партеногенетической линии дафний происходили физиологические модификации приспособительного характера в ответ на действие слабого низкочастотного МП.

ADAPTIVE CHANGES IN *DAPHNIA MAGNA* STRAUS (CRUSTACEA, CLADOCERA) CAUSED BY WEAK LOW-FREQUENCY MAGNETIC FIELD.

V.V. Krylov

Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Russia
kryloff@ibiw.yaroslavl.ru

We have carried out an experimental study revealing presence of a general adaptive pattern in response to weak low-frequency magnetic field (MF). Clonal line of *Daphnia magna* Straus parthenogenetic females was subject to long continuous action of 240 Hz, 75 μ T MF. Exposure for the first five generations led to higher heterogeneity in line of experimental animals compared with control. Then, at 6–8 generations distributions of studied morphometric characteristics (population diversity) became close to control values. At the same time, size and total biomass of daphnids exposed to MF were lower than that of control's while abundance difference was insignificant. Such changes correspond to the concept of adaptations in biological systems. In order to find possible adaptive changes in the experimental line of *D. magna* caused by continuous MF action separate tests were performed using the ninth generation of crustaceans from the control and experimental lines. It was shown that daphnia from the experimental line produced more viable and well-grown offspring in conditions of MF action comparing with the control. Therefore, continuous MF action may yield adaptive changes and this should be taken into consideration when evaluating this factor's influence upon ecosystems.

ВЛИЯНИЕ ФЛУКТУАЦИЙ МАГНИТНОГО ПОЛЯ СООТВЕТСТВУЮЩИХ МАГНИТНОЙ БУРЕ В НАПРАВЛЕНИИ Н-КОМПОНЕНТЫ НА РАННИЙ ОНТОГЕНЕЗ *DAPHNIA MAGNA* STRAUS И *RUTILUS RUTILUS* (L.)

В.В. Крылов¹, О.Д. Зотов², Ю.В. Чеботарева¹, Ю.Г. Изюмов¹,
Е.А. Осипова¹, А.В. Знобищева³, Н.А. Демцун⁴

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
Борок, Россия

kryloff@ibiw.yaroslavl.ru

² Геофизическая обсерватория «Борок», филиал ИФЗ РАН, Борок, Россия

³ Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

⁴ Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

Накоплено огромное количество информации о связи магнитных бурь, вызванных вспышечной активностью Солнца, с различными физическими, биологическими и социальными явлениями. Публикации по этой тематике сводятся к обнаружению корреляций между случившейся магнитной бурей и наблюдаемым явлением. Отсутствие синхронного контроля не позволяет уверенно говорить о принципах действия магнитных бурь на биологические системы.

Мы провели экспериментальное исследование влияния модели Н-компоненты типичной магнитной бури (ММБ) на раннее развитие *Daphnia magna* Straus и плотвы *Rutilus rutilus* (L.) в сравнении с синхронным контролем.

Эксперименты проводились во время спокойной геомагнитной обстановки (по данным, представленным на сайте ИЗМИРАН <http://forecast.izmiran.ru>). ММБ создавалась в рабочем объеме пары колец Гельмгольца. Реальный сигнал Н-компоненты магнитной бури воспроизводился в диапазоне частот 0–5 Гц. Направление магнитного поля ММБ совпадало с направлением Н-компоненты, а величина складывалась с соответствующей компонентой естественного магнитного поля Земли. В качестве модели была использована запись типичной магнитной бури в Киото 28–30 декабря 1976 года.

Опыты проводили в 2009–2010 годах. Объектом экспозиции в ММБ была икра плотвы и развивающиеся *in vitro* партеногенетические яйца *D. magna* (Krylov, Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010). У плотвы оценивали выживаемость икры, скорость выклева предличинок, морфологические и морфометрические показатели сеголеток. У *D. magna* оценивали темпы выхода развивающихся эмбрионов из яйцевых оболочек, выживаемость и размеры новорожденных особей.

Действие ММБ на плотву *R. rutilus*. Действие ММБ на икру плотвы продолжалось с момента оплодотворения до органогенеза. Разница в выживаемости икры между контрольным и экспериментальными вариантами была незначима. Вылупление предличинок, экспонированных в ММБ, проходило более интенсивно по сравнению с контролем, где этот процесс был более растянут во времени. Смертность вылупившихся предличинок в обоих вариантах была минимальной.

Действие ММБ в раннем онтогенезе приводило к снижению размерно-весовых показателей ($p < 0.001$), уменьшению числа лучей в анальном плавнике ($p < 0.01$) и к увеличению их количества в брюшных плавниках ($p < 0.001$) у сеголеток из экспериментального варианта по сравнению с контролем. Были обнаружены достоверные различия между экспериментальным и контрольным вариантами по дисперсиям флуктуирующей асимметрии числа лучей в брюшных плавниках ($0.14 \sigma_s^2$ в контроле, $0.24 \sigma_s^2$ в опыте, $p < 0.05$) и числа прободенных чешуй в боковой линии ($1.27 \sigma_s^2$ в контроле, $0.87 \sigma_s^2$ в опыте, $p < 0.05$).

У рыб из экспериментального варианта число позвонков в хвостовом отделе позвоночника было достоверно больше, а число позвонков в переходном отделе позвоночника было достоверно меньше по сравнению с контрольными. Разнообразие сочетаний числа позвонков в отделах, Va-Vi-Vc у сеголеток, раннее развитие которых прошло в ММБ, было ниже, чем в контроле. Формирование различных позвонковых фенотипов напрямую связано со скоростью раннего развития. Более растянутое во времени вылупление предличинок в контрольном варианте приводило к большему внутривидовому разнообразию.

В экспериментальном варианте было обнаружено меньше рыб с различными аномалиями осевого скелета, чем в контроле (17.52% и 35.06% соответственно). Корреляционный анализ показал

достоверную положительную связь между длиной тела и числом аномалий в хвостовом отделе позвоночника ($R=0.45$) у рыб, раннее развитие которых прошло в ММБ.

Действие ММБ на *D. magna*. Изучение действия ММБ на ранний онтогенез *D. magna* проводилось в серии экспериментов при температурах 21⁰С и 23⁰С. Начало экспозиции развивающихся эмбрионов приходилось на время соответствующее фазе внезапного начала (1-е сутки) и фазе восстановления (2-е сутки) ММБ.

Для оценки влияния действия ММБ, фазы ММБ на момент начала экспозиции, температурного режима, и взаимодействия этих факторов на темпы выхода эмбрионов из первой яйцевой оболочки был проведён многофакторный дисперсионный анализ. Установлено влияние фазы ММБ на момент начала экспозиции ($F=4.66$, $p<0.05$), температуры ($F=437.28$, $p<0.001$), взаимодействия температуры и фазы ММБ на момент начала экспозиции ($F=6.53$, $p<0.05$), а также взаимодействия трёх изучаемых факторов ($F=11.13$, $p<0.01$) на темпы выхода эмбрионов из первой яйцевой оболочки. Развитие эмбрионов дафний при 23⁰С проходило быстрее, чем при 21⁰С. Наблюдалась зависимость темпов выхода развивающихся эмбрионов из первой яйцевой оболочки от той фазы ММБ, на которую пришлось начало экспозиции.

Эмбрионы, развивавшиеся в ММБ, отличались повышенной смертностью по сравнению с контролем. После экспозиции рачки развивались до дефинитивного состояния и производили потомство, размеры которого также зависели как от температурных условий, так и от той фазы ММБ, на которую пришлось начало экспозиции.

Таким образом, биологическая эффективность типичной магнитной бури подтверждена экспериментально. Действие ММБ приводило как к эффектам, сходным с теми, что были получены ранее в экспериментах с искусственными магнитными полями с интенсивностью на порядок выше, так и к противоположным эффектам. Причина расхождений может крыться в сложной комбинации сменяющих друг друга факторов флуктуирующего магнитного поля в ММБ. Кроме того, экспериментально установлены различия в биологической эффективности различных фаз ММБ.

Работа поддержана Советом по грантам Президента РФ. Грант МК-239.2009.4.

EFFECTS OF TYPICAL MAGNETIC STORM ON THE EARLY ONTOGENESIS OF *DAPHNIA MAGNA* STRAUS *RUTILUS RUTILUS* (L.)

V.V. Krylov¹, O.D. Zotov², Yu.V. Chebotareva¹, Yu.G. Izyumov¹,
E.A. Osipova¹, A.V. Znobischeva³, N.A. Demtsun⁴

¹ Institute of Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia

² Borok Geophysical Observatory Institute of Physics of the Earth RAS, Borok, Russia

³ Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Pushchino, Russia

⁴ Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Ukraine

The action of the model of the magnetic storm, created in a confined volume, on the early ontogenesis of *Rutilus rutilus* and *Daphnia magna* was studied. The biological efficiency of the magnetic storm was confirmed in experiment. Dependence of biological effects on phases of the magnetic storm was shown. Study was supported by grant МК-239.2009.4.

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ РЫБ ПОСЛЕ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

В.Н. Крючков

Астраханский государственный технический университет

В обычных условиях для печени характерен высокий уровень резистентности в поддержании нормальной морфологической структуры. Закономерно возникает вопрос, какова степень морфологической адаптации ткани печени при токсических поражениях.

Исследования проводились на карпах массой 40–45 г, которые подверглись интоксикации кадмием в концентрации 0,25 мг/л, а затем следовал период восстановления (до 30 суток). Структура печени изучалась методами световой и электронной микроскопии.

Результаты исследования показали, что морфологическим субстратом функциональных резервных возможностей органа является гипертрофия и гиперплазия внутриклеточных органелл гепатоцита.

Состояние ядер большинства гепатоцитов свидетельствовало об их высокой функциональной активности. В большинстве ядер были четко видны гранулярный и фибриллярный компоненты ядрышка, а также центральные светлые зоны ядрышка, где располагается рибосомальная РНК. Количество ядерных пор по сравнению с контролем увеличилось.

Наблюдалось формирование новых участков эргастоплазмы. Скопления канальцев эндоплазматического ретикула (новообразованные) отмечались как вокруг ядер, так и на более отдаленных от ядра участках цитоплазмы. Если постараться воссоздать по препаратам этот процесс в динамике, то можно отметить, что, по всей видимости, образование новых мембран эндоплазматической сети происходит от ядра и далее к периферии клетки. Также отмечалась регенерация ретикула вблизи митохондрий.

Как правило, митохондрии были довольно многочисленными, вокруг них располагались канальца гранулярной эндоплазматической сети. Канальца, расположенные ближе к митохондриям, несли на поверхности своих мембран большее количество рибосом, чем более удаленные от митохондрий. Таким образом, формировался комплекс «митохондрии – гранулярная эндоплазматическая сеть», обеспечивающая эффективный синтез белков. Постепенно все большее количество клеток приобретало вид, характерный для нормально функционирующей печени. В центре клетки располагалось ядро с крупным хорошо выраженным ядрышком. Большая часть цитоплазмы при этом была заполнена гранулярным эндоплазматическим ретикулом и митохондриями. Обычно в нормальных клетках печени эндоплазматическая сеть развита умеренно и занимает небольшую часть цитоплазмы, обычно около митохондрий. При регенерации эндоплазматическая сеть занимает почти всю цитоплазму (Саркисов, Втюрин, 1967), что имело место и при данных исследованиях.

Активная синтетическая функция клетки требует большого количества энергии, в связи с этим идут активные процессы репарации митохондрий.

Несмотря на активные компенсаторные и репаративные процессы, в гепатоцитах оставались вакуоли, образованные расширенными каналами эндоплазматического ретикула. Высокая степень функционального напряжения митохондрий нашла свое отражение в нарушениях их структуры.

Отдельные гепатоциты или группы гепатоцитов подвергались деструкции, в результате которой обнаруживался детрит, состоящий из ядер и различных органелл цитоплазмы в различной степени разрушения.

Итак, обобщим полученные данные.

Первыми (и вообще наиболее отчетливо) на токсическое воздействие реагировали митохондрии и эндоплазматический ретикулум. Конечно, было бы неверно выделять эти органеллы среди других клеточных структур по признаку их большей чувствительности к вредным воздействиям. Несомненно, клетка реагирует как единое целое, т.е. всеми составными частями. Аппарат Гольджи тоже очень чувствителен к воздействиям, но митохондрии и эндоплазматический ретикулум, как структуры функционально связаны с внутриклеточным синтезом белка и ферментативными системами, и поэтому являются особенно лабильными и чувствительными к изменениям среды. Характерно, что и регенераторные процессы начинаются с восстановления этих структур.

Параллельно была исследована функция печени, по изменению содержания в крови билирубина.

У контрольных рыб уровень билирубина составил в среднем 7,56 ммоль/л. У отравленных рыб операции уровень билирубина был равен 14,6 ммоль/л. После помещения рыб в чистую воду началось постепенное снижение уровня билирубина в крови рыб. Эта тенденция была весьма устойчивой, и через 10 суток концентрация билирубина в крови составила уже 10,6 ммоль/л. Из этого можно сделать вывод, что функция печени после интоксикации начала постепенно восстанавливаться. К концу эксперимента уровень билирубина в крови рыб нормализовался.

Следовательно, нормализация функций печени началась раньше регенеративных процессов и шла параллельно им.

Полученные данные по ультраструктурной морфологии гепатоцитов после интоксикации позволяют сделать следующее заключение. Ультраструктуры клетки подвержены своеобразным изменениям, весьма сходными и при патологических процессах (интоксикация) и при различных функциональных состояниях, в частности, при усилении рабочей активности, вызванной, например, компенсаторной гиперфункцией при удалении части органа (Крючков, Фомин, 2005). При усилении функциональной нагрузки все большее число органоидов включается в работу, меняя при этом свою структуру, а затем подвергаясь гибели и смене новыми. По-видимому, сходные изменения структур органоидов могут наступать как при изменении их функционального состояния, так и при некоторых патологических процессах. Возможно, это сходство не является случайным, т.к. нередко причиной деструктивных изменений тканей является прогрессирующая, т.е. нерегулируемая функциональная нагрузка (Саркисов, 1988). Патологическое состояние возникает как результат функционального перенапряжения.

ИССЛЕДОВАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ НА ОСНОВЕ ИХ КАРДИОАКТИВНОСТИ И ДВИГАТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ

Т.В. Кузнецова¹, В.В. Трусевич², А.С. Куракин¹, С.В. Холодкевич¹

¹ Научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия
kuznetsova_tv@bk.ru

² Карадагский природный заповедник НАН Украины, Украина, Феодосия

Проведено изучение основных характеристик кардиоактивности и движения створок, регистрируемых неинвазивно, на двустворчатых моллюсках (*Mytilus edulis* L., *Mytilus galloprovincialis* Lam.). Эксперименты проводили одновременно на группах из 7 мидий, параллельно регистрируя их кардиоактивность и движение створок.

Исследования суточной динамики движения створок моллюсков в условиях естественной среды обитания, а также в аквариумных условиях содержания показали определенные различия в ритмической организации двигательных актов и кардиоактивности моллюсков, содержащихся в неволе и в море.

В естественных условиях обитания в движении створок мидий наблюдался ярко выраженный суточный ритм, с особенностями ночного и дневного периода активности. Переходы от ночного периода к дневному и обратно точно совпадали с моментом восхода и захода солнца и осуществляются в течение 5–10 мин. Ночной период активности характеризуется большей амплитудой раскрытия створок и частотой схлопывания (аддукция): 3–4 раза в час, в естественных условиях обитания. Величина раскрытия створок разных животных колебалась в широких пределах и у *M. galloprovincialis* Lam. 2–3-х летнего возраста достигала 7–8 мм и более. Дневной период активности характеризуется меньшей величиной амплитуды раскрытия створок и частотой аддукции 1 раз в 2–3 часа. Особенности двигательных актов створок и их паттерн у моллюсков могут варьировать в широких пределах, имеют ярко выраженный индивидуальный характер, сохраняя при этом, однако, четкую суточную ритмику.

В суточном ритме движений створок мидий в естественных условиях отмечаются также периоды продолжительного, от нескольких десятков минут до 1–1,5 часов, полного закрытия створок, определяемого различными исследователями как период «сна», «расслабления» или «отдыха». Эти периоды «отдыха» в наших наблюдениях у разных моллюсков проявлялись в различное время, хотя чаще – в конце ночного или дневного периода суток. Напротив, при содержании мидий в аквариальных условиях, начиная с 4–5-х суток и далее, постепенно нарастают изменения характера и ритма движения створок: начинают учащаться и удлиняться периоды «отдыха», постепенно достигая от нескольких часов до суток и более. Эти периоды прерываются постепенно все более редкими кратковременными всплесками активности движений створок с меньшей амплитудой раскрытия створок, при этом постепенно нарушается суточный ритм движения створок. Такой характер изме-

нений движений створок моллюсков наблюдался рядом исследователей при ухудшении условий питания мидий (Ortmann, Grieshaber, 2003). В наших условиях экспериментов это явление требует дополнительного изучения.

Особое место в исследованиях физиологических и поведенческих реакций животных в нашей работе было уделено выявлению ультрадианных ритмов, поскольку они отражают особенности протекания основных физиологических процессов, могут характеризовать механизмы краткосрочных физиологических адаптаций организма животных и осуществляться на разных уровнях их организации. Обнаруженные нами в исследованиях *in situ* ультрадианные ритмы отражают, по-видимому, регулируемые сифоном и движением створок циклические изменения в скорости фильтрации и в пищевом поведении мидий в конкретных условиях обитания.

Проведенные нами токсикологические эксперименты показали приспособительный характер реакций моллюсков при поступлении вредных для их организма веществ (солей тяжелых металлов, аммония, детергентов, гидрохинона и др.) в среду, который выражался в быстром закрытии створок и продолжительном (достигающем иногда 9–12 часов) состоянии моллюска с закрытыми створками после отмывания от токсиканта.

Для оценки экологического состояния различных водных объектов в работе применялся методический прием, основанный на перемещении моллюсков одного вида из чистых мест обитания (референтная станция) в районы, подверженные антропогенному загрязнению, и дальнейшему содержанию животных в специальных садках (кейджах) в течение некоторого выбранного исследователями периода времени (3 недели). Адаптивные возможности двустворчатых моллюсков тестировали с помощью активного метода биоиндикации, т.е. по ответам («откликам») организмов на один или более стандартных стимулов (быстрое изменение солености и/или температуры) и по оценке динамики характеристик кардиоактивности каждой отдельной особи до и после такого воздействия. Было обнаружено, что в загрязненных акваториях уровень адаптивных возможностей организмов ослаблен по сравнению с таковым в условно чистых акваториях. Это выражалось в существенно большем времени восстановления характеристик кардиоактивности после снятия функциональной нагрузки.

Таким образом, показатели кардиоактивности могут служить маркерами адаптивных возможностей организма в конкретной среде обитания. Полученные данные позволяют нам предполагать, что реакции кардио- и двигательной систем организмов на изменения качества среды обитания, могут служить индикаторами адаптационных возможностей организма. На наш взгляд, данный методический подход может оказаться эффективным также при решении задач, связанных с оценкой здоровья морских экосистем.

Работа выполнена при финансовой поддержке грант № 08-04-92424-BONUS_a.

INVESTIGATIONS OF PHYSIOLOGICAL ADAPTATIONS OF BIVALVE MOLLUSKS BASED ON BIOMARKERS OF CARDIAC ACTIVITY AND SHELL MOVEMENTS

T.V. Kuznetsova¹, V.V. Trusevich², A.S. Kurakin¹, S.V. Kholodkevich¹

¹ Scientific Research Center for Ecological Safety RAS, Sankt-Petersburg, Russia
kuznetsova_tv@bk.ru

² Карадагский природный заповедник НАН Украины, Украина, Феодосия

The paper presents results of the studies *in situ* and in laboratory conditions of valve movements (VM) and heart rate (HR) of *Mytilus edulis* L. and *Mytilus galloprovincialis* Lam.

Special attention was paid to reveal expression of circadian and ultradian rhythms in HR and VM and to study organism's responses to environmental challenges (temperature, salinity, detritus content in water). A new approach to study physiological adaptations was carried out in caging experiments in mussels transplanted from pure zone and kept in cages for 3 weeks in 3 areas subjected to anthropogenic stress. After exposure mussels were tested by standard stimuli (salinity and/or temperature changes). The responses to stimuli in these 3 mussel's groups were compared with their initial ones and among groups. It was shown that HR in recovery process after salinity stimulus in exposed mussels differed from their initial values. This fact can be explained by changes in their adaptive capacities, depended on habitat quality.

РОЛЬ СЕРОТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКЗОТРОФИИ У РЫБ

В.В. Кузьмина

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН,
Борок, Ярославская обл., Россия
vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru

Регуляция экзотрофии – сложный процесс, находящийся под нейро-гуморальным контролем. Наиболее подробно исследована регуляция начального звена экзотрофии – пищевого поведения рыб. Продемонстрировано участие в центральной регуляции пищевого поведения рыб различных гормонов и нейропептидов. Твердо доказано ингибирующее влияние на количество потребляемой рыбами пищи таких гормонов и пептидов, как гистамин, кортиколиберин, дофамин, серотонин, бомбезин, холецистокинин, а также стимулирующее действие галанина, нейропептида Y и β-эндорфина. Есть сведения об увеличении потребления пищи под влиянием гормона роста. Обсуждается влияние на этот процесс α-меланоцитстимулирующего и тиреотропного гормонов, глюкагона глюкагоно-подобного пептида -1, инсулиноподобного фактора-1, пептида YY, а также норадреналина, γ-аминомасляной кислоты, меланинконцентрирующего гормона, тиреоидных гормонов, инсулина и лептина. Вместе с тем роль моноаминов в регуляции пищевого поведения рыб изучена недостаточно. При исследовании влияния серотонина (5-НТ) на потребление пищи карасем *Carassius auratus* выявлен аноректический эффект только в случае его центрального (интравентрикулярного) введения. Достоверный ингибиторный эффект при внутрибрюшинном введении 5-НТ не обнаружен (De Pedro et al., 1998).

Особо следует отметить, что традиционно во всех известных работах учитывалось только количество потребляемой пищи. Вместе с тем изучение пищевого поведения должно по возможности охватывать все этапы этого процесса, в том числе двигательную активность. Сведения о влиянии 5-НТ на характеристики пищеварительных ферментов, реализующих центральный этап экзотрофии – процессы пищеварения у рыб до последнего времени отсутствовали. В докладе будут представлены данные по влиянию периферически введенного серотонина на пищевое поведение и процессы пищеварения у рыб на примере карпа *Cyprinus carpio* L. В условиях, имитирующих «бентосный» тип питания, регистрировали четыре параметра – время нахождения рыб в камере (стартовом отсеке) после подъема передней стенки камеры (t1), время, необходимое для достижения рыбами корма – латентное время питания, величина которого обратно пропорциональна скорости пищевой реакции (1/t2), время потребления рыбами корма (t3), а также рацион (R). В последнем случае учитывали количество съеденных личинок хирономид за 3 мин наблюдения. Наблюдения проводили 2 раза в сутки – в 9 и 14 час на протяжении 3-х суток. Важно отметить, что периферическое (внутрибрюшинное и внутримышечное) введение (10 мкг/г массы тела) приводит к значительному изменению поведения рыб. Через 2 мин после инъекции 0.1 мл 5-НТ рыбы всплывают к поверхности воды, активно поглощают воздух и держатся в поверхностном слое 20–30 мин. Затем они опускаются в придонные слои воды, что характерно для рыб-бентофагов. К моменту начала регистрации пищевого поведения, рыбы опытной группы не отличаются по поведению от рыб контрольной группы. Указанный феномен обусловлен тем, что 5-НТ является стимулятором 5-НТ₂- рецепторов, локализованных в гладкой мускулатуре стенок сосудов. Сужая сосуды, 5-НТ негативно влияет на дыхательную функцию. Предварительное введение папаверина, обладающего спазмолитическим действием, снимает этот эффект. Время пребывания рыб в стартовом отсеке (t1) у рыб опытной группы достоверно увеличивается через 1, 5, и 53 ч (в последнем случае на 70%), что свидетельствует о снижении у рыб уровня адаптивного любопытства. Изменение времени достижения кормового пятна (t2) носит колебательный характер. Достоверное увеличение значений t2 наблюдается через 5, 29 и 53 ч после введения 5 НТ (максимум на 110%). Время питания (t3) у рыб опытной группы достоверно увеличивается лишь в первые часы после введения 5 НТ. При этом рацион у рыб опытной группы достоверно снижается через 1, 5 и 24 ч (максимум на 35%). Кроме того, при исследовании тех же показателей установлено усиление ингибиторного эффекта кайромона хищника (щуки) на пищевое поведение карпа под влиянием 5-НТ.

Ранее снижение количества потребляемой рыбами пищи, наблюдавшееся при интравентрикулярном введении той же дозы 5-НТ объяснялось тем, что кортикотропин-релизинг-фактор (CRF)

осуществляет не только собственные аноректические эффекты, но и может участвовать в качестве медиатора в эффектах серотонина, активируя CRF-нейроны, которые в свою очередь ингибируют серотонинергическую трансмиссию. При этом отсутствие эффекта при внутривентральном введении 5-HT объяснялось крайне слабым его проникновением через гематоэнцефалический барьер. Однако в последние годы была доказана как возможность проникновения молекул 5-HT из пищеварительного тракта в кровь, так и возможность преодоления ими гематоэнцефалического барьера.

Эти факты дают основания полагать, что в регуляции потребления пищи у рыб участвуют как центральные, так и периферические механизмы. Это предположение подтверждается сведениями о том, что у млекопитающих 5-HT действует как периферический посредник сытости. При этом в реализацию ингибиторного действия серотонина включены рецепторы двух типов – 5-HT_{1B} 5-HT_{2C}. Более того, известно, что в состав кишечного эпителия входят энтерохромаффинные клетки, вырабатывающие серотонин. Этот факт делает понятным то обстоятельство, что 5-HT стимулирует секрецию ферментов поджелудочной железы, воздействует на моторику желудочно-кишечного тракта, а также, по-видимому, индуцирует эффекты гормонов. Возможность вовлечения инсулина в эффекты 5-HT подтверждается двумя обстоятельствами. При введении рыбам инсулина не только выявлено дозозависимое снижение потребления пищи, но и отмечено значительное изменение уровня гликемии. Так, через 30 мин после введения 5-HT уровень гликемии снижается в 5.3 раза по сравнению с контролем, что обычно наблюдается при введении инсулина. О вовлечении других гормонов в регуляцию гликемии свидетельствует колебательный характер ее изменения. Действительно, уже через 3 ч после введения 5-HT уровень гликемии увеличивается в 11.5 раз (от 1.6 до 18.4 ммоль/л). Этот факт может свидетельствовать об увеличении секреции адреналина и кортизола, ингибирующее влияние которых на пищевое поведение рыб хорошо документировано. Вовлечение адреналина подтверждается наблюдающейся при этом дефекацией, обусловленной усилением моторики желудочно-кишечного тракта рыб. Через сутки уровень гликемии приближается к норме. Также не исключено влияние серотонина на эффекты глюкагона, холецистокинина и мелатонина. На вовлечение гормонов указывает и тот факт, что в наших опытах наблюдалось колебательное пролонгированное влияние серотонина как на рацион рыб, так и на их двигательную активность. Помимо этого, опосредованное влияние на эффекты 5-HT оказывает физиолого-биохимический статус рыб. В частности, в условиях голодания или недостаточного питания эффекты 5-HT усиливаются.

Таким образом, на примере карпа впервые показано, что серотонин, введенный периферически (внутрибрюшинно или внутримышечно), пролонгированно влияет на различные аспекты пищевого поведения рыб: снижает уровень адаптивного любопытства, замедляет скорость пищевой реакции и время питания, а также уменьшает рацион рыб. Имеющиеся данные свидетельствуют о возможности не только прямого, но и опосредованного влияния периферически введенного 5-HT как на пищевое поведение рыб, так и на активность пищеварительных гидролаз. Полученные данные расширяют сведения о действии серотонина на различные характеристики пищевого поведения и пищеварения, существенно дополняя представления о роли этого моноамина в регуляции экзотрофии у рыб.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 09-04-00075).

ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГИДРОЛАЗ КОНСУМЕНТОВ, ЖЕРТВ И ЭНТЕРАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ (НА ПРИМЕРЕ РЫБ)

В.В. Кузьмина¹, Е.Г. Скворцова², М.В. Шалыгин²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Ярославская обл., Россия
vkuzmina@ibiw.yaroslavl.ru

² ФГОУ ВПО Ярославская государственная сельскохозяйственная академия, Ярославль, Россия
kafiza@mail.ru

Температура – один из важнейших факторов, влияющих на активность ферментов у пойкило-термных животных. Изучение влияния температуры на активность пищеварительных гидролаз у рыб имеет почти 140-летнюю историю (Fick, Murisier, 1873). Вместе с тем ранее, как правило, исследовались только характеристики ферментов слизистой оболочки пищеварительного тракта. Опи-

сание механизма индуцированного аутолиза и симбионтного пищеварения позволило пересмотреть схему пищеварения у рыб (Кузьмина, 1996). Однако до последнего времени изучению температурных характеристик гидролаз объектов питания и энтеральной микробиоты рыб уделялось слабое внимание, несмотря на то, что они являются одним из инструментов исследования адаптивных перестроек ферментов. Ранее при изучении влияния температуры на активность гликозидаз и протеиназ слизистой оболочки пищеварительного тракта, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения, были выявлены существенные различия t° -функции, а также величин Q_{10} и энергии активации ($E_{\text{акт}}$) ферментов у рыб, различающихся по характеру питания и пищевой активности в течение годового цикла. Было показано, что наибольшая адаптивная изменчивость характерна для пепсина и α -амилазы, обеспечивающих начальные этапы гидролиза белков и углеводов (Кузьмина, 1985, 2005; Уголев, Кузьмина, 1993). Сведения о температурных характеристиках гидролаз, реализующих полостное пищеварение у рыб из естественных популяций, а также о влиянии температуры на активность протеиназ тканей целого организма жертв и энтеральной микробиоты до начала наших работ отсутствовали.

Сопоставление результатов изучения влияния температуры на активность протеиназ химуса и слизистой оболочки кишечника у ряда видов рыб по казеину (преимущественно активность трипсина) и по гемоглобину (преимущественно активность химотрипсина) показало, что характер t° -функции ферментов у рыб разных видов различен. Так, температурный оптимум ферментов слизистой по обоим субстратам у тюльки находится при 40, у судака и плотвы в зоне 50, у синца – 60°C, по гемоглобину – у плотвы при 40°C, но зона парамаксимальной активности исключительно широка (20–50°C). Температурный оптимум протеиназ химуса у большинства видов рыб находится при 50°C, но у плотвы зона парамаксимальной активности значительно шире (30–60°C), чем у других видов. Относительная активность протеиназ слизистой по казеину при 0°C колеблется от 1.3 до 45.7%, по гемоглобину – от 6.5% до 20.0% от максимальной активности, принятой за 100. Относительная активность протеиназ химуса при 0°C по обоим субстратам колеблется от 6.1 до 46.0% от максимальной активности. В зоне постмаксимальных температур наблюдаются еще более значительные различия. Так, при 70°C относительная активность протеиназ слизистой и химуса у плотвы по казеину составляет 5.6 и 88.0, у синца – 46.0 и 40.6, у тюльки – 46.0 и 80.0% от максимальной активности. У судака эти величины близки – 66.9 и 68.1%. Различия в уровне относительной активности протеиназ по гемоглобину в этой зоне, как правило, ниже по сравнению с таковыми казеинлитических протеиназ. Различия температурных характеристик слизистой и химуса свидетельствуют о том, что характеристики последних в значительной мере обусловлены наличием в составе химуса ферментов жертв и энтеральной микробиоты.

Величины кажущейся $E_{\text{акт}}$ протеиназ, функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника и химуса, также различны. Так, в диапазоне 0–30°C величины $E_{\text{акт}}$ протеиназ слизистой кишечника по казеину у плотвы и синца близки (12.4 и 12.5 ккал/моль), у судака ниже (9.1 ккал/моль). Для тюльки характерно наличие излома на графике Аррениуса при температуре 10°C. Увеличение температуры приводит к уменьшению величины параметра от 7.4 до 5.4 ккал/моль. Значения $E_{\text{акт}}$ протеиназ химуса по казеину и гемоглобину в большинстве случаев в зоне 0–10°C в 1.2–1.5 раз выше, чем в зоне 10–30°C, особенно у плотвы – 8.6 и 2.8, а также 7.8 и 1.5 ккал/моль соответственно. При этом величины кажущейся $E_{\text{акт}}$ протеиназ слизистой оболочки кишечника по казеину, как правило, выше, чем по гемоглобину, а протеиназ химуса ниже, чем ферментов слизистой оболочки. Наиболее низкие значения параметра при температуре активного питания выявлены при исследовании протеиназ химуса плотвы.

На примере планктофага – факультативного ихтиофага тюльки, играющей роль и консумента, и жертвы, было показано, что характеристики протеиназ целого организма рыб значительно отличаются от таковых слизистой оболочки. Так, относительная активность протеиназ слизистой по казеину и гемоглобину при 0°C ниже, чем при 20°C в 4.8 и 3.4 раза, в целом организме – 2.5 и 1.8 раза соответственно. Относительная активность гемоглобинлитических протеиназ (преимущественно катепсин D) в целом организме беспозвоночных животных – потенциальных объектов питания бенто- и планктофагов, в зоне низких температур выше, а значения $E_{\text{акт}}$ – ниже по сравнению с таковыми протеиназ кишечника консументов.

При изучении температурных характеристик энтеральной микрофлоры у тех же видов рыб были получены противоречивые результаты. Так, характер t° -функции ферментов у судака по казеину в значительной мере близок таковой слизистой оболочки кишечника, у плотвы и окуня – отличается, несмотря на одинаковый температурный оптимум (50°C). При 0°C величина относительной активности протеиназ микрофлоры судака составляет 9, плотвы 13, окуня 38% максимальной активности. Кроме того, для плотвы характерна более узкая зона оптимальных значений. При 70°C относительная активность протеиназ микрофлоры судака составляет 8, плотвы – 15, окуня – 34%. Характер t° -функции протеиназ энтеральной микрофлоры по гемоглобину отличается от такового слизистой оболочки кишечника рыб. Особо следует отметить, что температурный оптимум протеиназ микрофлоры плотвы (60°C) выше, чем у окуня и судака (50°C). При 0°C величина относительной активности протеиназ микрофлоры окуня составляет 24, судака и плотвы – лишь 1 и 3%, при 70°C – у судака 4, у окуня 17, у плотвы 28% от максимальной активности. Однако относительная активность ферментов микроорганизмов, десорбированных с тегумента цестод, обитающих в полости кишечника рыб (щука, налим), значительно выше таковой протеиназ слизистой оболочки кишечника у этих же видов рыб. При этом температурный оптимум ферментов налима соответствует 50°C , щуки – 60°C . Величина относительной активности протеиназ при 0°C в зависимости от pH у щуки составляет 32–55%, у налима – 43–65% от максимальной активности, принятой за 100 (Кузьмина, Первушина, 2003).

Таким образом, характер t° -функции протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб, химуса и энтеральной микрофлоры по казеину и гемоглобину различны. В ряде случаев выявлены адаптивные изменения температурных характеристик исследованных гидролаз. При этом адаптации протеиназ к функционированию при низких температурах реализуются не только за счет изменения характеристик ферментов, синтезируемых пищеварительной системой рыб, но и за счет адаптивных перестроек ферментов объектов питания и энтеральной микрофлоры, обеспечивающих процессы индуцированного аутолиза и симбионтного пищеварения.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 09-04-00075).

КОНЦЕНТРАЦИЯ МАЛЫХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУНОКОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

Н.С. Кузьмина

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина
kunast@rambler.ru

Для характеристики различной степени воздействия антропогенной нагрузки в ихтиотоксикологии используются такие физиологические и биохимические показатели как индексы внутренних органов, активность ферментов, содержание низкомолекулярных антиоксидантов, ряд иммунологических параметров, отражающих детоксикационную и адаптивную способность организма, проводятся гистологические анализы печени, половых продуктов, оценивается содержание различных токсичных элементов в тканях рыб и др.

Информативность ихтиологических исследований зависит от чувствительности анализируемых параметров к действию природных и антропогенных факторов. Изучение физиологических и биохимических показателей позволяет получить данные о здоровье рыб (популяции), и, в частности, понять механизмы откликов животных на изменяющиеся условия обитания. В этом отношении показатель концентрации циркулирующих иммунокомплексов (ЦИК), широко используемый в клинической диагностике, по причине своей информативности и чувствительности, также можно использовать в водной токсикологии. К настоящему времени, имеется ограниченное количество публикаций, включающих анализ изменения ЦИК в крови и тканях теплокровных и холоднокровных животных.

Цель настоящей работы – определить концентрацию циркулирующих иммунокомплексов в крови некоторых видов черноморских рыб.

Концентрацию ЦИК изучали в сыворотке крови черноморских рыб. Для этого кровь отбирали из хвостовой артерии, сыворотку получали путем отстаивания на холоду. Биохимические исследования проводили на индивидуальных и суммарных образцах. Концентрацию ЦИК определяли в 7% растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ) согласно (Чиркин, 2002). Необходимо особо отметить, что при предварительных анализах было установлено, что при концентрациях ПЭГ ниже 7% (3,75% согласно методике) ЦИК не фиксировались, что указывает на то, что в кровеносном русле черноморских рыб персистируют преимущественно малые иммунокомплексы.

Объектами наших исследований явились следующие виды рыб: ставрида *Trachurus mediterraneus* (Staindachner), мерланг *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann), темный горбыль *Sciaena umbra* (L.), зеленушка *Symphodus tinca* (L.), ласкирь *Diplodus annularis* (L.), кефаль-сингиль *Lisa aurata* (Risso), спикара *Spicara flexuosa* (Rafinesque), султанка *Mullus barbatus ponticus* (Essipov), налим *Gaidropsarus mediterraneus* (L.), ошибень *Ophidion rochei* (Muller), морской ерш *Scorpaena porcus* (L.), звездочет *Uranoscopus scaber* (L.), бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas), бычок-мартовик *Mesogobius batrachocephalus* (Pallas), морской язык *Solea nasuta* (Pallas), калкан *Psetta maeotica* (Pallas), глосса *Platichthys flesus luskus* (Pallas), морской кот *Dasyatis pastinaca* (L.), отловленные с помощью донных ловушек в севастопольских бухтах в период 2007–2009 гг.

Как видно из рис. 1, концентрация ЦИК наибольшая у ставриды, ласкиря, султанки, налима, бычков и калкана. На основании сведений о биологических особенностях наших объектов исследований, можно сделать вывод, что связи между величиной ЦИК и принадлежностью рыб к определенной экологической группе, подвижностью и типом их питания нет.

Следующим этапом наших исследований стал сравнительный анализ концентрации ЦИК у массовых видов рыб в разные сезоны года. Интересно, что в весенний период, время подготовки к нересту большинства видов черноморских рыб, величина ЦИК максимальна у спикары, султанки, после чего снижается более чем в 10 раз. Аналогичные данные по изменению ЦИК установлены для белорыбицы, коров и женщин: перед нерестом, до отела и родов соответственно величина ЦИК выше, чем после рождения потомства (Валедская, 2004; Абонеева, 2010). В то же время для бычка-мартовика отмечена такая же годовая динамика, хотя этот вид нерестится с конца зимы до окончания весны. У морского ерша (нерестится летом), напротив, самая высокая концентрация ЦИК – зимой. Такие сезонные отличия у разных видов, на наш взгляд, говорят о том, что величина ЦИК не имеет первостепенной зависимости от стадии развития гонад, а также антропогенной нагрузки, преобладающей в летний период. По-видимому, низкие значения ЦИК летом и осенью у 4-х изученных видов связаны с тем, что в этот период прогрев воды максимальный, а значит, скорость метаболических реакций возрастает, что может отражаться на естественном разрушении ЦИК в крови.

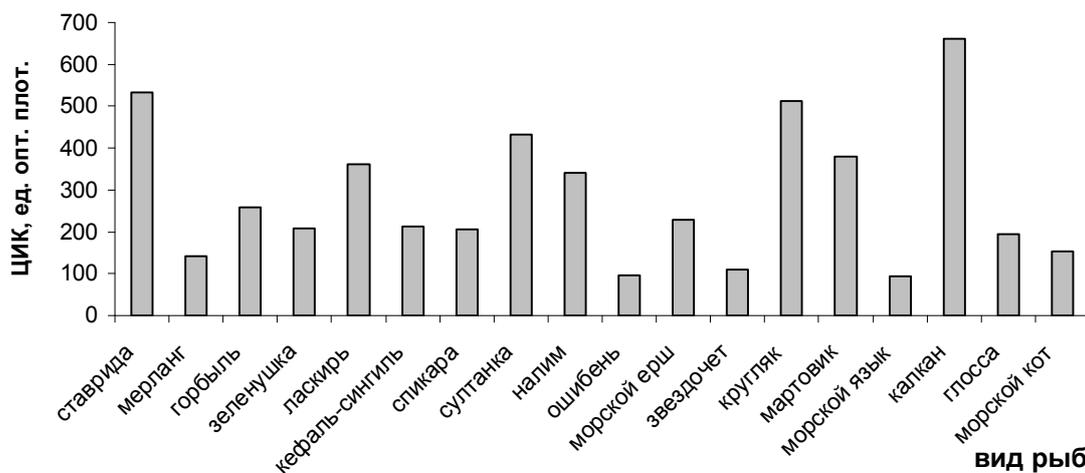


Рис. 1. Концентрация малых циркулирующих иммунокомплексов в сыворотке крови разных видов черноморских рыб из прибрежной зоны г. Севастополя в 2007–2009 гг.

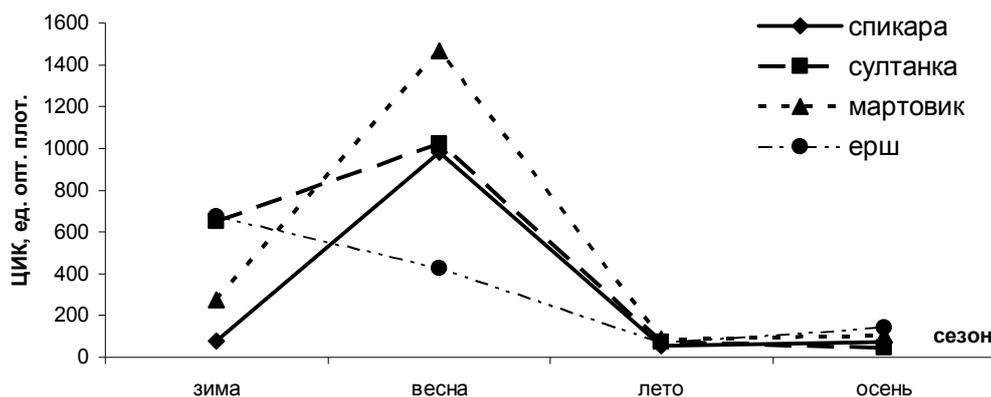


Рис. 2. Концентрация малых циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови черноморских рыб из прибрежной зоны г. Севастополя в разные сезоны 2007–2009 гг.

С целью выяснения зависимости величины ЦИК от других естественных и антропогенных факторов данное исследование будет продолжено.

THE CONCENTRATION OF SMALL CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN SERUM OF SOME SPECIES OF BLACK SEA FISH

N.S. Kuzminova

The Institute of Biology of the Southern Seas of Ukrainian National Academy of Sciences, Sevastopol, Ukraine
kunast@rambler.ru

The Black sea fish species inhabited Sevastopol bays (Ukraine) in 2007–2009 were investigated. It was determined that the level of circulating immune complexes (CIC) was highest for horse mackerel, sea scorpion, red mullet, flounder, shore Mediterranean rockling, goby fish. According literature data, we can conclude that it is not dependence of CIC on species belonging to ecological groups, on fish mobility, and food type. Probably, low values of CIC in serum of high-body pickerel, red mullet, toad goby, sea scorpion in summer and autumn can be explained by highest temperature of water, consequently by high metabolism rate, that influence on CIC destroying.

ПАТОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЫБ КАК ИНДИКАТОРЫ СОСТОЯНИЯ ИХТИОФАУНЫ КОНДОПОЖСКОЙ ГУБЫ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА

Т.Ю. Кучко¹, Л.П. Рыжков¹, Я.А. Кучко²

¹ Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия
kuchko@petsu.ru, rlp@petsu.ru

² Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия
kuchko@drevlanka.ru

В работе представлен анализ патолого-морфологических показателей плотвы, окуня, уклеи и ерша Кондопожской губы Онежского озера. Отмечены отклонения в сторону начального этапа неблагоприятного состояния ихтиофауны.

Работа проводилась в 2008 году в рамках НИР «Экологическая оценка современного состояния вод Кондопожской губы Онежского озера и влияния хозяйственной деятельности на ее водную среду» по заказу Министерства сельского, рыбного хозяйства и экологии Республики Карелия.

Патолого-морфологический анализ проводился методом сбора и кодирования информации о состоянии внешних и внутренних признаков организма рыб с применением системы баллов. Оценивались: внешний вид, состояние челюстного аппарата, мышц, жабр, позвоночника и внутренних органов. На основании полученных данных рассчитывался индекс неблагоприятного состояния

(ИНС) рыб. Экспертной оценке подверглись 130 экземпляров половозрелых рыб в возрасте от 3+ до 5+ лет, в том числе: 48 экземпляров окуней, 25 – плотвы, 30 – уклей и 27 – ершей.

Как известно патолого-морфологические изменения внутренних органов рыб, вызванные разными по природе токсикантами или целыми комплексами загрязнителей сточных вод, весьма сходны. Рыбы отвечают на интоксикацию общими патологическими реакциями и изменениями в организме. Из общих клинических изменений у рыб отмечаются потемнение, бледность, ерошение чешуи, отечность внутренних органов, изменение цвета, консистенции и нормального состояния паренхиматозных органов – печени, селезенки, почек, сердца.

Анализ патолого-морфологического состояния ихтиофауны Кондопожской губы Онежского озера показал, что средний балл индекса неблагополучного состояния (ИНС) исследованных видов рыб изменялся в пределах от 0,00 до 1,15.

Из 130 исследованных экземпляров рыб, выловленных в вершинной и центральной частях Кондопожской губы Онежского озера, на переходном этапе к среднему индексу неблагополучного состояния находилось всего 9 особей (4 – окуня и 5 – ершей), что от общего числа составило 6,93%. Из всех остальных рыб 69,23% (90 экз.) составляли здоровые особи и 23,84% (31 экз.) находились на начальном этапе неблагополучного состояния. В то же время, укляя и плотва характеризовались более низкими ИНС по сравнению с окунем и ершом (табл. 1).

Таблица 1. Баллы индекса неблагополучного состояния рыб Кондопожской губы

Губа	I – начальный этап неблагополучного состояния			II – переходный этап к среднему ИНС		Средний балл	Число наблюдений
	0	1	2	3	4		
Окунь							
Вершинная часть	13	3	2	1	1	0,7	20
Центральная часть	13	8	5	1	1	0,89	28
Плотва							
Вершинная часть	9	1	–	–	–	0,10	10
Центральная часть	13	1	1	–	–	0,20	15
Укляя							
Вершинная часть	13	–	–	–	–	0,00	13
Центральная часть	16	1	–	–	–	0,05	17
Ерш							
Вершинная часть	4	2	1	1	–	0,87	8
Центральная часть	9	3	3	3	1	1,15	19

У рыб, как вершинной, так и центральной частей Кондопожской губы Онежского озера в той или иной степени были выявлены патологические изменения (табл. 2).

Таблица 2. Патолого-морфологические показатели рыб Кондопожской губы

Вид	Патолого-морфологический показатель (аномалий)	Число патологических систем
Вершинная часть		
Окунь	недоразвитые гонады, полевая печень, тканевые разрастания почек	3
Плотва	мозаичная печень	1
Укляя	норма	0
Ерш	недоразвитые гонады, мозаичная печень; тканевые разрастания почек	3
Центральная часть		
Окунь	недоразвитые гонады, полевая печень, тканевые разрастания почек	3
Плотва	мозаичная печень	1
Укляя	колбовидное расширение концов респираторных складок жабр	1
Ерш	недоразвитые гонады, мозаичная или очень бледная печень; тканевые разрастания почек	3

Наибольшее количество изменений патолого-морфологических показателей было характерно для окуня и ерша, как вершинной, так и центральной частей Кондопожской губы.

Среди окуней были отмечены случаи изменения окраски внутренней полости тела рыб от бледно-розовой, до ярко оранжевой (9 особей), что вероятно связано с использованием в их питании форелевых кормов, поступающих в воду от форелевых хозяйств (у всех этих особей в желудке

были обнаружены остатки гранул форелевого корма). Также были выявлены случаи поражения печени окуней (2 особи) и ершей (4 особи) плероциркоидами ленточного червя тринифулюса. Учитывая, что данный паразит рыб является достаточно распространенным, факты обнаружения его у окуня и ерша Кондопожской губы находятся в пределах допустимой нормы.

Таким образом, проведенный патолого-морфологический анализ состояния рыб Кондопожской губы Онежского озера показал в целом удовлетворительный характер развития организмов окуня, плотвы, уклей и ерша с незначительным сдвигом в сторону начального этапа неблагоприятного состояния.

PATHOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF FISHES' CONDITION AS THE INDICATOR OF ICHTHYOFAUNA OF THE KONOPOGAS'S BAY OF THE LAKE ONEGO

T.Yu. Kuchko¹, L.P. Ryzhkov¹, Ya.A.Kuchko²

¹ Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

² Institute of biology of Karelian Resarch Centre RAS, Petrozavodsk, Russia

The author of the research article presents analysis of the pathological and morphological indicators of such fishes as roach, perch, lookup and ruffs, inhabiting the Konopogas's bay of the lake Onego. The author emphasizes the divergences towards the initial stage of the bad condition of ichthyofauna.

РОЛЬ Na^+/K^+ АТФАЗЫ В БИОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИЙ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ

Е.И. Кяйвяряйнен¹, Е.В. Борвинская¹, М.М. Куклина², Н.Н. Немова¹

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

hela_kaiv@mail.ru

² Учреждение Российской академии Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН, Мурманск, Россия

hela_kaiv@mail.ru

Na^+/K^+ АТФаза – фермент активного транспорта, встроенный в наружную плазматическую мембрану клетки, обеспечивает перенос ионов Na^+ и K^+ против их концентрационного градиента и участвует в процессах осмотической и ионной регуляции. Na^+/K^+ -АТФаза является одним из ключевых ферментов, необходимых для жизнедеятельности клетки, так как помимо непосредственной функции – создания оптимального внутриклеточного соотношения ионов Na^+ и K^+ , этот фермент создает электрогенный мембранный градиент, который может обеспечивать перенос различных метаболитов, в том числе сахаров и аминокислот, через клеточную мембрану. В связи с этим, естественно предположить наличие сложной, гибкой, разноуровневой системы регуляции активности Na^+/K^+ АТФазы. Выяснение роли и участия Na^+/K^+ АТФазы в биохимических механизмах развития адаптивных реакций в ответ на изменение факторов среды (абиотических и биотических) было проведено у различных объектов исследования: у рыб семейства осетровые – стерлядь (*Asipenser ruthenus*) при адаптации к среде с различной соленостью и кислотностью и у птиц Баренцева моря: моевка (*Rissa tridactyla L.*), толстоклювые кайры (*Uria lomvia L.*), тонкоклювые кайры (*Uria aalge Pontop L.*) при гельминтной инвазии.

Раскрытие эффективных механизмов ионной и осмотической регуляции для поддержания устойчивости метаболизма в связи с проблемой возможной акклиматизации стерляди к условиям повышенной солености указывает на приспособительный характер реактивности ферментов активного транспорта ионов Na^+ и K^+ при изменении солености и pH среды обитания стерляди *Asipenser ruthenus L.* в диапазоне докритических значений. Исследуемый диапазон солености до 6‰ и кислотности среды (pH от 7,0 до 9,0) находится в пределах адаптивной нормы для стерляди. Полученные данные продемонстрировали, что активность Na^+/K^+ -АТФазы стерляди находится в прямой зависимости от солености внешней среды (в диапазоне до 6‰) и в обратной зависимости от увели-

чения рН среды (при изменении рН от 7,0 до 9,0). Изменение активности Na^+/K^+ АТФазы является примером биохимической адаптации, направленной на поддержание механизмов обмена веществ и его изменений в зависимости от непостоянных условий среды, т.к. особенностью экологии эвригаллиных видов рыб, к которым относится стерлядь, является то, что в своем жизненном цикле они могут сталкиваться со значительными изменениями абиотических факторов среды обитания.

Возрастание активности Na^+/K^+ -АТФазы в печени морских птиц при зараженности паразитами различных семейств позволяет подтвердить участие данного фермента в ответной реакции плазматических мембран клетки. Показано, что один из механизмов адаптации организма хозяина к воздействию представителей различных семейств паразитов связан с усилением процесса транспорта ионов Na^+ и K^+ и различных метаболитов, обусловленного необходимостью сохранения внутреннего гомеостаза. Реактивность ферментов активного транспорта ионов Na^+ и K^+ в печени морских птиц в ответ на паразитарную инвазию зависит от вида гельминта, особенностей экологии и специфичности хозяина.

Изменения биохимического статуса исследуемых организмов в различных экологических ситуациях включают в себя изменения метаболических функций Na^+/K^+ -АТФазы, направленных на компенсацию возможных негативных последствий таких воздействий, чтобы сохранить целостность макромолекул и поддержать регуляторные механизмы метаболизма на уровне, необходимом для осуществления жизненно важных функций организма.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08-04-0140а и Программы Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA, L.*) ИЗ РАЗНЫХ УЧАСТКОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Т.Б. Лапирова, Г.М. Чуйко

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
Борок, Россия
ltb@ibiw.yaroslavl.ru

Как известно, антропогенная нагрузка на экосистему Рыбинского водохранилища весьма велика. Помимо судоходства, сельскохозяйственного освоения, относительно высокой плотности заселения прибрежных городов и сел, одним из важнейших источников загрязнения водоема является сброс сточных вод промышленными предприятиями. К наиболее неблагоприятным участкам водохранилища (по качеству воды, донных отложений, состоянию бентоса и ихтиофауны) относят Шекснинский плес, куда поступают стоки Череповецкого промышленного узла.

Цель настоящего исследования – определение иммунофизиологического статуса леща из районов Рыбинского водохранилища с различным уровнем антропогенного загрязнения. Для этого были проанализированы наиболее общие физиологические показатели, а также некоторые параметры гуморального врожденного иммунитета.

Станции отлова, а именно: Первомайка, Коприно, Волково, Мякса и Любец, охватывают практически всю акваторию водохранилища. Первые две считаются условно чистыми, а Мяксу, и особенно Любец, что находится в непосредственной близости от зоны поступления сточных вод Череповецкого комбината, относят к наиболее загрязненным участкам водоема. Отлов рыбы осуществляли тралом с судна, все отобранные для исследования лещи были половозрелыми, размерно-весовые показатели не имели принципиальных отличий.

Значения концентрации общего белка сыворотки крови на первых 4-ех станциях отличались незначительно: 136–144 мкг/мл, в Любце же показатель был заметно ниже – всего 119 мкг/мл. Размах значений по всем станциям был довольно высок, поэтому статистически эта разница оказалась недостоверна. Колебания концентрации глюкозы в крови также были велики, особенно на станциях Шекснинского плеса, тем не менее, по значениям данного показателя рыб можно условно подразделить на 3 группы: Первомайка-Коприно, со средним уровнем показателя выше 5, но ниже 6 ммоль/л, Мякса-Любец, где значения показателя были самые низкие – меньше 5 ммоль/л, и Волково, где концентрация глюкозы была самой высокой и составила 6 ммоль/л.

Максимальная концентрация сывороточного лизоцима выявлена в Любце – 5 мкг/мл, здесь же отмечен и наибольший размах показателя. На остальных станциях значения примерно одинаковые – от 3 до 3.6 мкг/мл, на ст. Волково – самое низкое – 2.4 мкг/мл.

Интересные результаты дал подсчет процента рыб, не обладающих лизоцимной активностью. Анализ этих данных выявил в выборках те же 3 группы, что и по глюкозе: Первомайка-Коприно с минимальным процентом особей – 38–50, Мякса-Любец – 60–71, и максимальное количество рыб с нулевой активностью фермента на ст. Волково – 89%. Т.е. при сопоставлении полученных данных по лизоциму леща со ст. Волково: минимальная концентрация и максимальный процент нулевых особей, можно заключить, что на этой станции активность данного фактора наименьшая. В Любце картина иная: с одной стороны – относительно высокое содержание лизоцима в сыворотке, с другой – высокий процент нулевых особей, что в целом говорит об очень высокой разнокачественности рыб из районов с хроническим загрязнением.

У всех обследованных нами рыб содержание иммунных комплексов (ИК) в сыворотке крови было довольно близким и колебалось от 33 до 46 усл. ед. Размах показателя опять один из наибольших – в Любце. Для того чтобы получить более детальную информацию о течении иммунокомплексных процессов, нами был проведен анализ содержания ИК в тканях иммунокомпетентных органов.

На всех станциях отбора минимальное содержание ИК было выявлено в почках, более высокое – в селезенке и печени, что согласуется с литературными данными о том, что основными органами, ответственными за переработку и выведение ИК у рыб являются именно селезенка и печень. При этом значения показателя на всех станциях по селезенке и печени были довольно однородны. В почках же у рыб со ст. Любец выявлено резкое возрастание показателя – до 58 усл. ед., по сравнению с лещом с остальных станций, где уровень значений составил от 16 до 26 усл. ед. Этот факт свидетельствует о более высокой антигенной нагрузке в этой точке, а также позволяет предположить участие почек наряду с селезенкой и печенью в процессах переработки ИК. Поскольку, как уже говорилось, ИК образуются в крови, циркулируют в ней и затем транспортируются в органы для дальнейшей переработки и элиминации, интересным представляется анализ взаимозависимости изменений показателя в сыворотке и органах. Определение коэффициента корреляции показало, что наибольшая взаимосвязь существует между уровнем ИК в сыворотке и печени на ст. Волково, где его значение составило 0.68. Это может свидетельствовать, во-первых, о невысоком уровне содержания ксенобиотиков в воде (значения ИК невысоки как в сыворотке, так и в тканях), и достаточно однородном их химическом составе, во-вторых. Довольно высокий коэффициент корреляции существует и между селезенкой и печенью в Любце. Отсутствие при этом связи с содержанием ИК в сыворотке может являться показателем постоянного присутствия в воде загрязняющих веществ сложного химического состава, претерпевающих в организме трансформацию и элиминацию этих продуктов трансформации в различных органах.

На каждой станции было выявлено некоторое количество рыб, у которых ИК в органах не выявлялись. При подсчете процента особей с нулевыми значениями показателя были выявлены те же группы рыб, что и ранее, а именно: Первомайка-Коприно со значениями по всем органам 20–25, самыми низкими в Мяксе-Любце – 10–20 и Волково, также с максимальной долей нулевых особей – 40–60%, как и для лизоцима.

Таким образом, данные по состоянию показателей врожденного иммунитета у рыб Шекснинского плеса неоднозначны. Уровень содержания лизоцима в Любце максимальный, хотя и процент особей с нулевыми значениями показателя тоже высок. При этом механизмы иммунокомплексного процесса у этих рыб находятся в более активном состоянии, чем у леща с других станций, о чем свидетельствует самая низкая доля особей с нулевыми значениями ИК в органах. Это подтверждает положение о том, что при изменении условий среды происходит смена приоритетов среди различных факторов, обеспечивающих гомеостаз организма.

Заключение. У всех исследованных рыб отмечен большой размах значений исследованных показателей, максимальный уровень колебаний в большинстве случаев выявлен у леща со ст. Любец, что может указывать на рост разнокачественности популяции в условиях хронического токсического стресса. По ряду параметров изученные выборки леща довольно четко можно подразделить на 3 группы: Первомайка-Коприно, Любец-Мякса, и ст. Волково. Лещи с этой станции отличаются хорошим физиологическим состоянием, но при этом уровень напряженности естественной резистентности не высок. Анализ результатов по точке в целом позволяет предположить, что в этом районе водохранилища рыбы находятся в условиях минимального антропогенного воздействия.

Физиологические показатели рыб Шекснинского плеса, особенно со ст. Любец (снижение уровня общего белка и глюкозы сыворотки крови), являются индикаторами неблагополучного состояния рыб, их истощения и снижения жизнестойкости организма. В то же время, анализ иммунологических параметров выявил более высокую активность ряда механизмов врожденного иммунитета у этих рыб по сравнению с особями из менее загрязненных участков. В целом полученные результаты свидетельствуют о хроническом поступлении загрязняющих веществ в районе станций Мякса и Любец, но в концентрациях, не превышающих адаптационные возможности организма.

Работа проведена при поддержке гранта РФФИ 08-05-00805.

SOME INDICES OF IMMUNOPHYSIOLOGICAL STATUS OF BREAM (*ABRAMIS BRAMA*, L.) FROM THE DIFFERENT PART OF RYBINSK RESERVOIR

T.B. Lapirova, G.M. Chuiko

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences (IBIW RAS), Borok, Russia
ltb@ibiw.yaroslavl.ru

The values of all measures in fish caught at different portions of the Rybinsk reservoir especially in the Sheksna Reach had a high level of variability. In spite of this fact the results obtained indicate bream from this place has the worse physiological condition than fish from other sites of the reservoir. At the same time analysis of the immunological parameters revealed more high activities of some mechanisms of innate immunity in these fish in comparison with specimen from other reaches of the reservoir.

УРОВЕНЬ ХОЛИНЭСТЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АННЕЛИД И ЕГО ВОЗМОЖНАЯ СВЯЗЬ С НЕКОТОРЫМИ ЭКОЛОГИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ВИДОВ

Л. Н. Лапкина, Г.М. Чуйко, В.А. Подгорная

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия
e-mail: lapkina@ibiw.yaroslavl.ru

Выявлена положительная связь величины холинэстеразной активности (ХЭА) вида с площадью его ареала у палеарктических пиявок на уровне семейства (плоские, рыбы, челюстные и глоточные): активность фермента выше у транспалеарктов по сравнению с палеарктическими эндемиками с ограниченным распространением (табл. 1).

Таблица 1. Пиявки 4 семейств, их зоогеографическая характеристика, ареалы, места обитания (по Лукину, 1976) и показатели ХЭА (мкмоль /г/мин) с субстратом АТХ-ацетилтихолином

Семейство	Вид, зоогеографическая характеристика	Ареал, места обитания	ХЭА с АТХ
Glossiphoniidae (плоские)	<i>Helobdella stagnalis</i> – транспалеаркт	Палеарктика, Неарктика, Неотропическая область на всем их протяжении, разнообразные типы больших и малых водоемов	0.51±0.27
	<i>Boreobdella verrucata</i> – эндемик Палеарктики с огранич.распростр-ем	Бореальная зона Палеарктики, крупные озера, устья рек	< 0.20
Ichthyobdellidae = Piscicolidae (рыбы)	<i>Piscicola geometra</i> – эндемик Палеарктики, транспалеаркт	Вся Палеарктика, реки, водохранилища, рыбободные пруды	0.72±0.09
	<i>Caspiobdella fadejewi</i> – эндемик Палеарктики с огранич.распростр-ем	Реки, водохранилища Азово-Черноморского и Каспийского бассейнов	0.64±0.05
Hirudinidae (челюстные)	<i>Haemopsis sanguisuga</i> – эндемик Палеарктики, транспалеаркт	Вся Палеарктика, реки, ручьи, озера, водохранилища, пруды	>10.0
	<i>Hirudo medicinalis</i> – эндемик Палеарктики с огранич.распростр-м	Южная часть Палеарктики, преимущественно пруды.	7.0 ± 0.9
Herpobdellidae = Erpobdellidae (глоточные)	<i>Erpobdella octoculata</i> – эндемик Палеарктики, транспалеаркт	Вся Палеарктика, разнообразные типы больших и малых водоемов	5.6 ± 1.1
	<i>Erpobdella nigracollis</i> – (эндемики Палеарктики с огранич.распростр-ем	Европа + Западная Сибирь, преимущественно пруды, реже – реки	1.6 ± 0.8

Отчасти, иллюстрирует эту таблицу очередность появления разных видов пиявок в открытых плавательных бассейнах г Лодзь (Matyziak, 1977). Первой их заселяет плоская пиявка – *H. stagnalis* (спустя 2 месяца обнаруживаются еще 2 вида этого семейства), через 4 месяца появляются челюстная – *H. sanguisuga* и глоточная – *E. octoculata* пиявки, другие виды попадают через 5 месяцев и позже. Указанные пиявки – обладатели наиболее высокого уровня ХЭА в своем семействе (табл. 1) и, вероятно, высокого адаптационного потенциала, судя по их распространенности в природе и разнообразию мест обитания.

Тенденция подобная той, что просматривается в табл. 1, характерна и для водных олигохет 2 семейств – Tubificidae и Lumbriculidae (табл. 2).

Таблица 2. Виды олигохет Tubificidae (№№ 1–4) и Lumbriculidae (№№ 5 и 6), их характеристика, ареалы, типы водоемов, условия обитания (по Попченко, 1988), показатели ХЭА (мкмоль /г/мин) с различными субстратами: АТХ (ацетилтиохолин), БТХ (бутирилтиохолин), ПТХ (пропионилтиохолин), МеТХ (метилтиохолин)

Вид, его ареал	Типы водоемов, грунты	Условия обитания	ХЭА
1. <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> – наиболее широко распространенный вид. СССР, Европа, Япония, Индия, Китай, Африка, Америка Сев. и Южн.	Реки, озера, пруды, лужи, водохранилища, каналы, водопады. Илы, глина, пески (заиленные), обрастания растений, коряг, камней	pH 4.6. – 8.8 Т° С 5.0–25.2 Глубина 0.1–8.7м Течение <0.3м/сек 4000–10000 экз/ м ²	АТХ–33.5 БТХ–23.6 ПТХ–42.6
2. <i>Tubifex tubifex</i> – широко распространенный вид. СССР, Европа, Япония, Индия, Африка, Америка Сев. Южн. Н. Зеландия	Обитает в любых типах водоемов. Разнообразнейшие серые, оливковые, коричневые илы	pH 4.8–8.2 Т° С 3.5–25 Глубина до 100 м Течение <0.2м/сек 13 000 экз/м ²	АТХ–29.2 БТХ–22.9 ПТХ–38.4
3. <i>Potamothrix moldaviensis</i> – редок на европ. Севере. Обл. – Ленинградская, Архангельская, Волгоградская. Европа, Сев. Америка	Преимущественно реки, Ладожское озеро Песчаный, илисто-песчаный	Данные не приводятся	АТХ–24.2 БТХ–22.5 ПТХ–32.2
4. <i>Ilyodrilus templetoni</i> – редкий вид. Ирландия, Англия, Чехия, СССР – (Север Евр.ч), Коми, Ненецкий нац. округ	Озера, Выгозерское в-ще. Заиленные пески, глины, макрофиты, различные илы профундальной зоны	pH 7–7.6 Т – 11–14° С 40–80 экз/м ² , Макс. – 800 экз/м ²	АТХ–21.3 БТХ–8.6 ПТХ–24.5
5. <i>Lumbriculus variegatus</i> – распространен повсеместно. СССР, Европа, Япония, Сев Америка	Реки, водохранилища, ручьи, озера, пруды, лужи, ключи, водопады, болота. Илы, заиленные пески, чистый песок, галька, гравий, коряги и водные растения	pH – 4.2–9.2 Т° С – 4.7–24.3 Глубина – 0–47 м НСО ₃ – 0–73 мг/л Течение до 2.2 м/сек 400–700 экз/м ²	АТХ–77.7 БТХ–54.4 ПТХ–63.0 МеТХ–55.8
6. <i>Rhynchelmis limosella</i> – попадает не часто. Европа, Карелия, Коми АССР Вологодская, Ленинградская, Архангельская обл.	Водоемы не указаны. Илы, заиленные пески, каменистые отложения и водные растения	pH – 6–7.4 Т° С – 4.2–19.1 Глубина – 0–40 м НСО ₃ 2–42 мг/л Течение <0.6 м/сек Единичные экз.	АТХ–15.5 БТХ–4.9 ПТХ–7.8 МеТХ–7.8

Виды *L. hoffmeisteri*, *T. tubifex* (тубифициды) и *L. variegates* (лумбрикулида) занимают обширные ареалы. Они же, являясь эврибионтами, заселяют разнообразнейшие типы водоемов, способны существовать в широком диапазоне меняющихся факторов среды и имеют при этом более высокий уровень ХЭА по сравнению с другими представителями своих семейств, соответственно *P. moldaviensis*, *I. templetoni* и *R. limosella*. Ареалы последних меньше, места обитания ограничены преимущественно 2–3 типами водоемов, диапазон толерантности к внешним условиям среды уже и значения ХЭА ниже. Т.о., в обоих семействах олигохет просматривается положительная связь величины ХЭА вида с его эврибионтичностью и широтой распространения в природе.

Полагаем, что ХЭА аннелид (пиявок и олигохет) – одна из многочисленных составляющих адаптационного комплекса червей, обеспечивающих их приспособляемость к новым условиям среды.

LEVEL OF CHOLINESTERASE ACTIVITY AND ITS POSSIBLE RELATIONSHIP WITH SOME ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ANNELIDS SPECIES

L.N Lapkina, G.M. Chuiko, V.A. Podgornaya

Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia
lapkina@ibiw.yaroslavl.ru

Level of ChE activity in annelids studied (representatives of 4 families of leeches and 2 families of freshwater oligochaetes) is related with eurybiontness and zoogeographic prevalence of species. This parameter reflects the ability of worms to the environmental adaptations.

ОЦЕНКА ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У ГИДРОБИОНТОВ НА РАННИХ СТАДИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ СТРОБИЛУРИНОВЫМИ ФУНГИЦИДАМИ

И.Л. Левина, О.А. Зинчук, Е.А. Федорова, Л.Я. Кузнецова, Е.Н. Козлов

Азовский НИИ Рыбного Хозяйства (ФГУП «АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия
ir_lev@rambler.ru

Стробилурины являются новым IV поколением химических соединений с фунгицидной активностью, использование которых в сельском хозяйстве увеличивается год от года, в результате возрастает опасность попадания их в рыбохозяйственные водоемы. В то же время степень токсического воздействия стробилуринов на водные сообщества не установлена, не исследованы адаптивные биохимические механизмы у гидробионтов при интоксикации этими фунгицидами. Целью данной работы стало изучение ранних проявлений интоксикации стробилуринами у рыб и моллюсков в дозах малой интенсивности.

Изучено действие 2-х фунгицидов Трифлоростробина и Пираклостробина на катушку роговую (*Coretus corneus*) и сеголетков карпа (*Cyprinus carpio*). Отбор проб проводился через 24, 48 и 96 часов после внесения пестицидов на уровне минимальных летальных концентраций (ЛК₁₆). В качестве показателей пестицидной интоксикации в гомогенатах моллюсков, жабр и печени рыб определяли содержание вторичного молекулярного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) – малонового диальдегида (МДА); содержание восстановленного глутатиона (GSH), активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КТ), кислой фосфатазы (КФ), глутатион-S-трансферазы (GST).

Известно, что характер и степень изменения ПОЛ зависит от химической структуры пестицидов и уровня действия. Определение МДА используется как интегральный показатель активности процессов ПОЛ. У катушки роговой увеличение содержания МДА при действии минимальных летальных концентраций обоих стробилуринов отмечали на 1-е и 4-е сутки опыта. В печени карпа содержание МДА возрастало через 48 и 96 часов. В жабрах опытных рыб происходило наиболее интенсивное возрастание содержания МДА во все сроки экспозиции. Максимальные изменения показателя отмечали к концу эксперимента. Увеличение содержания МДА в тканях гидробионтов свидетельствует об усилении процессов ПОЛ на ранних стадиях действия фунгицидов.

Смещение равновесия между интенсивностью ПОЛ и активностью антиоксидантной системы принято считать молекулярной основой развития патологических реакций при действии пестицидов. Первичными звеньями антиоксидантной ферментной системы являются СОД и каталаза. Действие фунгицидов приводило к ингибированию активности СОД у гидробионтов. Активность фермента снижалась у моллюсков на протяжении всего опыта. В печени карпа ингибирование СОД отмечали на 2-е сутки действия Пираклостробина и после 2-х и 4-х суточного действия Трифлоростробина. Снижение показателя в жабрах опытных рыб регистрировались со 2-х суток воздействия стробилуринов. Динамика активности КТ в тканях опытных гидробионтов была противоположна динамике СОД – активность фермента только возрастала. У катушки роговой действие стробилуринов приводило к увеличению активности КТ во все сроки экспозиции. В печени и жабрах карпа активность фермента возрастала через 48 и 96 часов.

Известно, что мембранотоксические агенты, в том числе пестициды, вызывающие усиление процессов ПОЛ, могут способствовать повреждению как структурных, так и функциональных свойств мембран лизосом, что сопровождается выходом и активацией кислых гидролаз. Маркерным ферментом лизосом считается КФ. В проведенных экспериментах установлено увеличение активности КФ после 96-ти часов воздействия стробилуринов. У моллюсков и в жабрах рыб увеличение активности КФ отмечали после воздействия Трифлуксистеробина. В печени карпа увеличение активности фермента к концу экспозиции вызывали оба фунгицида – Пиракlostробин и Трифлуксистеробин.

Компоненты глутатионовой системы (ГС) выполняют как антиоксидантную, так и конъюгирующую функции и участвуют в детоксикации пестицидов. Воздействие стробилуринов вызывало снижение содержания ГSH у моллюсков на протяжении всей экспозиции. В жабрах рыб отмечали снижение уровня ГSH при действии Пиракlostробина в течение 96-ти часов, под влиянием Трифлуксистеробина количество ГSH уменьшилось к 4-м суткам. В печени рыб содержания ГSH возросло со 2-х суток опыта. Активность GST однонаправлено увеличивалась в тканях рыб и моллюсков в течение всего эксперимента.

В результате проведенных исследований установлено, что повышение интенсивности ПОЛ в тканях гидробионтов, подвергшихся действию стробилуринов в течение 4-х суток, сопровождалось ингибированием СОД. В то же время, активность КТ увеличивалась. Наблюдаемые изменения про/антиоксидантного баланса возможно объяснить следующей последовательностью событий. Действие стробилуринов на гидробионтов сопровождалось усилением свободнорадикальных процессов и генерацией активных форм кислорода, что приводило к интенсификации ПОЛ. При нейтрализации активных форм кислорода с помощью СОД образовывалась перекись водорода, которая, накапливаясь в высоких концентрациях, блокировала СОД и одновременно вызывала усиление активности каталазы, необходимой для её утилизации до воды и кислорода. Усиление ПОЛ приводило к некоторым нарушениям лизосомальной системы у гидробионтов, о чем косвенно свидетельствует увеличение активности КФ. В результате метаболических превращений стробилуринов образовывались реакционноспособные метаболиты и токсичные продукты ПОЛ, в обезвреживании которых принимала участие ГС. Об этом свидетельствует увеличение активности GST, фермента катализирующего реакцию конъюгации SH-группы глутатиона с продуктами ПОЛ и гидрофильными метаболитами. Одновременно происходило изменение уровня ГSH. У моллюсков и в жаберной ткани карпа снижение пула ГSH могло быть обусловлено его необратимым расходом на конъюгацию с метаболитами фунгицидов, а также переход в окисленную форму при осуществлении реакций антирадикальной защиты. Увеличение уровня ГSH в печени рыб можно объяснить стимуляцией глутатионредуктазы и замедлением его распада в связи с ингибированием гамма-глутамилтрансферазы – фермента, лимитирующего скорость катаболизма ГSH.

Таким образом, действие стробилуринов на рыб и брюхоногих моллюсков в начальные сроки интоксикации приводило к существенному нарушению про/антиоксидантного баланса в тканях. На фоне интенсификации процессов ПОЛ формировались и активировались первичные адаптивные механизмы антиоксидантной защиты и детоксикации.

ASSESSMENT OF PRO/ANTIOXIDANT BALANCE OF HYDROBIONTS AT EARLIER STAGES OF THEIR INTOXICATION BY STROBILURIN FUNGICIDES

I.L. Levina, O.A. Zinchuk, E.A. Fedorova, L.Ya. Kuznetsova, E.N. Kozlov

Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH), Rostov-on-Don, Russia
ir_lev@rambler.ru

In acute tests Gastropoda and carp fishes were exposed to the concentrations of two strobilurin fungicides. We have studied lipid peroxidation processes, and enzyme activity of antioxidants and components of glutathione system. The minimum lethal concentrations of strobilurins at the onset of intoxication caused the serious damage to pro/antioxidant balance in hydrobiont tissues. Adaptive mechanisms of antioxidant protection and detoxication have been starting and activating at the background of lipid peroxidation processes being intensified.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ БИОТЫ В ЭСТУАРНЫХ ЗОНАХ

О.Н. Лукьянова, С.А. Ирейкина

Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (ТИНРО-Центр), Владивосток, Россия
onlukyanova@tinro.ru

Эстуарные экосистемы как природные границы между материками и океанами являются особенно изменчивыми и уязвимыми, и в значительной степени подвержены влиянию антропогенного загрязнения. Особенности эстуариев выражаются прежде всего в пониженной солёности в целом и ее значительном непостоянстве в пространстве и во времени. Вариабельность физико-химических факторов может изменять биодоступность и, соответственно, токсичность поллютантов. Присутствие большого количества органики в этих зонах обычно приводит к истощению кислорода, что негативно сказывается на обитающих здесь организмах. Некоторые поллютанты могут прямо или косвенно изменять баланс между концентрацией прооксидантов во внешней среде и антиоксидантов внутри клеток, вызывая развитие окислительного стресса. Загрязнение в эстуарных районах часто является критическим фактором, т.к. высокая вариабельность различных абиотических показателей усиливает воздействие на организмы, живущие в этих условиях.

В залив Петра Великого (Японское море), расположенный в умеренной зоне с муссонным климатом, впадает множество рек, водосборные бассейны которых отличаются по степени антропогенной трансформации. В наибольшей степени подвержены техногенному загрязнению реки Раздольная и Артемовка, к умеренно загрязненным можно отнести реки Тесная, Суходол и Шкотовка. В качестве вида-индикатора для оценки физиологического состояния водных организмов был использован мохнаторукий краб *Eriocheir japonica*, жизненный цикл которого связан с эстуариями при размножении и развитии личинок. Живут крабы в основном в реках, а перед нерестом выходят в море. Определение показателей окислительного стресса в водных организмах является примером неспецифических молекулярных биомаркеров, которые успешно применяются в полевых условиях с целью характеристики импактных районов, где обычно присутствует смесь поллютантов. Их также используют при изучении состояния биоты в эстуариях различных рек мира. В наших исследованиях крабы были собраны в эстуариях пяти рек бассейна залива Петра Великого летом 2007–2008 гг. В жабрах крабов были определены активность каталазы и глутатион-S-трансферазы (GST), а также уровень перекисного окисления липидов. Наибольшая активность GST была выявлена у крабов из рек Тесная, Артемовка, Раздольная, наименьшая – в р. Шкотовка. Для каталазы максимальная активность зарегистрирована у животных из Раздольной и Артемовки, минимальная – из р. Тесная. Интегральный биохимический индекс (ИБХИ), рассчитанный как сумма активностей ферментов и концентрации малонового диальдегида, выраженных в процентах от максимального значения, составил: Артемовка – 93%, Суходол, Раздольная, Тесная – 74%, Шкотовка – 55%. Параллельно с определением молекулярных биомаркеров была проанализирована токсичность грунтов (методом биотестирования с использованием мизид в качестве тест-объектов) и содержание нефтяных углеводородов в грунтах и воде с тех же станций. Интегральный абиотический индекс (ИАИ) составил 92% для Раздольной, 74% для Артемовки, 52% для Тесной, 43% для Суходола и 37% для Шкотовки. Суммарный индекс загрязнения, рассчитанный как сумма ИБХИ + ИАИ, позволил ранжировать эстуарные зоны в следующем порядке: Раздольная = Артемовка (суммарный индекс 167); Тесная = 126; Суходол = 117, Шкотовка = 92. Коэффициент корреляции между ИБХИ и ИАИ составил 0,78. Таким образом, ИБХИ у эстуарных организмов с высокой степенью достоверности отражает антропогенное воздействие на конкретную экосистему.

BIOCHEMICAL INDICES FOR AN ESTIMATION OF A BIOTA STATE IN ESTUARINE ZONES

O.N. Lukyanova, S.A. Ireykina

Pacific Research Fisheries Center (TINRO-Center), Vladivostok, Russia
onlukyanova@tinro.ru

Pollution in estuarine areas often is the critical factor, since high variability of environmental parameters influence on organisms. Many rivers with different anthropogenic transformation degree run into Peter the Great Bay (Japan/East Sea). Molecular biomarkers of biotransformation and oxidative stress were determined in crab *Eriocheir japonica* collected in five estuaries of the Bay. The integrated biochemical index (IBCI) was calculated as a sum of enzymatic activity and lipid peroxidation level, expressed in percentage of the maximal value. Acute toxicity of bottom sediments determined by biotesting with mysid shrimps, and petroleum hydrocarbons content in bottom sediments and seawater from the same stations were also analyzed, and an integrated abiotic index (IAI) was computed. Total index of pollution, calculated as IBCI + IAI, allowed ranging the estuarine zones. The correlation coefficient between IBCI and IAI was 0,78. Thus, IBCI at estuarine organisms with a high degree of reliability reflects anthropogenic influence on a specific ecosystem.

СОДЕРЖАНИЕ ИОНОВ НАТРИЯ, КАЛИЯ, КАЛЬЦИЯ, МАГНИЯ В ПОЗВОНКАХ И ЧЕШУЕ ПЛОТВЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ

А.С. Маврин, В.И. Мартемьянов

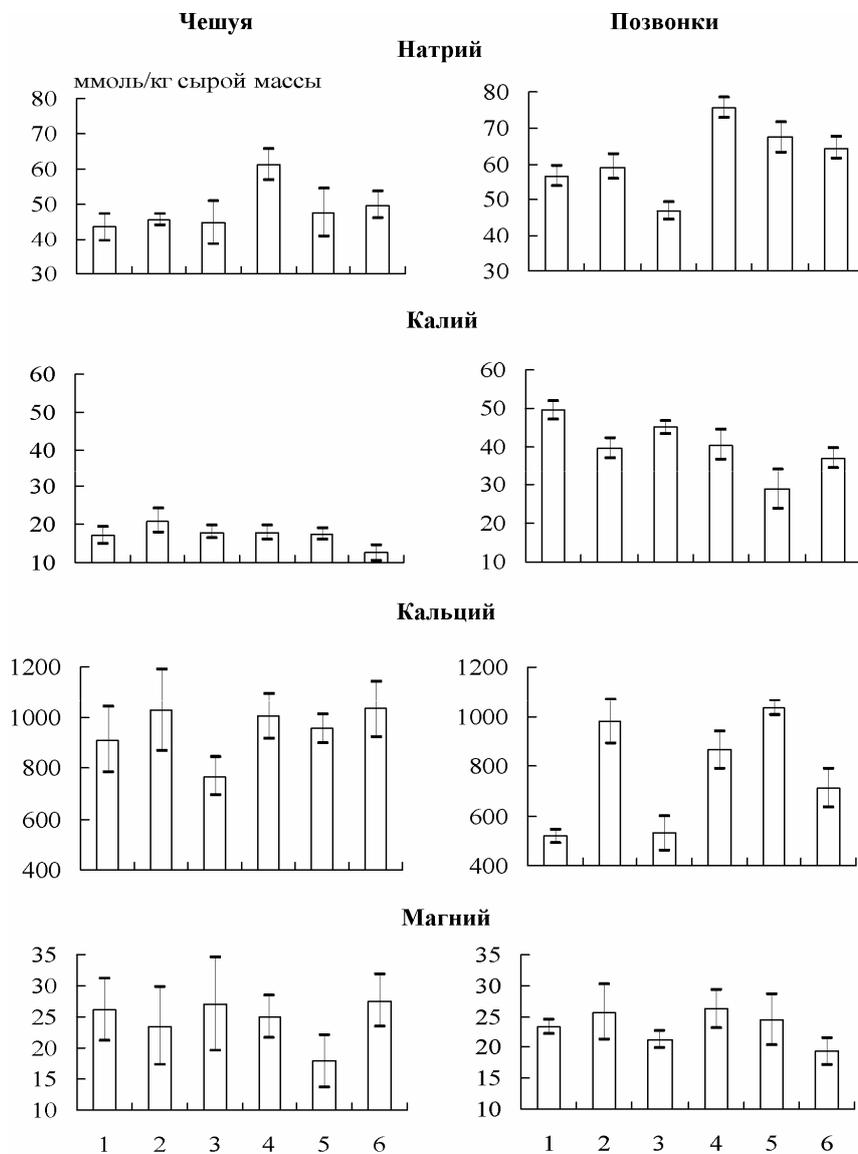
Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
Борок, Россия
mavr_as@mail.ru

Известно, что ионы натрия, калия, кальция, магния входят в состав различных органов и тканей. Они выполняют различные функции в организме животных и растений. Показано, что внешние условия оказывают влияние на ионный обмен (Русанов, 1979; Шаповал, 1979; Алексеев, 1980), изменяя содержание электролитов в костях и чешуе рыб. Чешуя рыб является полифункциональной регистрирующей структурой (Бурдак, 1979; Мина, Клевезаль, 1970; Дгебуадзе, Чернова, 2009), на которой отражаются, как внешние условия жизни (Лапин, 1965; Ваганов, 1978; Касьянов, Сметанин, 1980, Бугаев, 1986), так и внутренние физиологические перестройки, вызванные нерестом (Замахаев, 1940; Menon, 1953; Garrad, Newell, 1958; Чугунова, 1959; Липская, Овен, 1970). Это проявляется в образовании широких и узких межкольцевых зон на чешуе и может быть использовано для понимания закономерностей созревания. Известно, что половое и скелетное развитие, тесно взаимосвязаны (Хрисанфова, Перевозчиков, 2002). Остается неизвестным: имеется ли какая-либо взаимосвязь между половым созреванием рыб и содержанием ионов в скелете и чешуе.

Цель работы: определить содержание ионов натрия, калия, кальция, магния в позвонках и чешуе у самок и самцов плотвы (*Rutilus rutilus* L.) в зависимости от зрелости гонад в преднерестовый период.

Материалом для работы послужила плотва, пойманная в реке Ильдь в период с 9 марта по 3 апреля 2009 года. Всего было исследовано 30 самок и 15 самцов. Позвонки брали из туловищного отдела позвоночника, чешую в первом и втором ряду над боковой линией посередине тела. Чешую для определения возраста рыб и расчета ширины межкольцевых зон брали в первом ряду над боковой линией в количестве 3-х штук. Самки и самцы были разделены на 2 группы: незрелые и зрелые. Учитывая эколого-физиологические подходы к периодизации онтогенеза рыб (Шатуновский, 1980, 2001), на основе сопоставления размеров краевых и внутренних межкольцевых зон роста чешуи и выбора наиболее типичного их расположения, все самки были разделены на 4 группы: ювенильные, впервые созревшие, пропускающие нерест и повторно созревшие. Определение ионов в чешуе и позвонках проводили методом пламенной спектрофотометрии.

Исследования показали, что по сравнению с чешуей, наиболее значимые различия изученных параметров наблюдались в позвонках (рис.). Содержание натрия в позвонках самок пропускающих нерест и повторно нерестящихся достоверно отличалось от всех других групп. Содержание калия в позвонках половозрелых самок было меньше, чем у неполовозрелых. Обратная зависимость наблюдалась у самцов. Содержание кальция в позвонках половозрелых самок было больше, чем у неполовозрелых. Самцы показали обратную зависимость. Мы полагаем, что повышенный уровень кальция в позвонках зрелых самок свидетельствует о более высокой способности их организма поглощать эти ионы из воды и возможно из пищи. Данные показывают, что созрели те самки, в позвонках которых кальция накопилось не менее 700 ммоль/кг сырой массы костной ткани. Установленная обратная картина содержания катионов у самцов в отличие от самок, очевидно, обусловлена действием разных стероидных гормонов, у самок – эстрогенов, а у самцов – андрогенов. Корреляционный анализ между содержанием калия и кальция в позвонках показал высокую обратную зависимость. Это свидетельствует об их связи в ионных обменных процессах в костях. Содержание магния в чешуе и позвонках у всех исследованных групп рыб достоверно не отличалось.



Содержание катионов в чешуе и позвонках плотвы

Самки плотвы: 1 – ювенильные; 2 – впервые созревшие; 3 – пропускающие нерест; 4 – повторно созревшие.

Самцы плотвы: 5 – ювенильные; 6 – созревшие

SODIUM, POTASSIUM, CALCIUM, MAGNESIUM CONTENT IN VERTEBRAE AND SCALES OF ROACH IN DEPENDENCE ON PUBESCENCE

A.S. Mavrin, V.I. Martemyanov

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Science, Borok, Yaroslavl region, Russia
mavr_as@mail.ru

As a result of the studies it is shown that the most notable changes of the studied parameters were observed in vertebrae as compared to scales. The content of sodium in vertebrae of females missing spawning and spawning a new differed significantly from juvenile and pubescent for the first time fish. The content of potassium in vertebrae of mature females was less than in impuberal ones. The reverse dependence was found in males. The content of calcium in vertebrae of pubescent females was higher than in impuberal females and amounted to 700 mm/kg of wet weight of bone tissue. The males demonstrated the reverse dependence. Differences in the magnesium content in scales and vertebrae of the investigated group of fish were not found.

ПИГМЕНТНЫЙ АППАРАТ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПРИЛИВНО-ОТЛИВНОЙ ЗОНЫ СЕВЕРНЫХ МОРЕЙ

Е.Ф. Марковская¹, А.А. Корзунина², Н.Ю. Шмакова³,

1, 2 Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия
1 – botanika@psu.karelia.ru; 2 – korzunina84@mail.ru

³ Полярно-альпийский ботанический сад-институт Кольского НЦ РАН, Кировск, Россия
shmanatalya@yandex.ru

Приливно-отливная зона морей занимает особое положение в спектре местообитаний прибрежно-водных растений и относится к интразональным образованиям. Эта экотонная территория на стыке моря и суши. Прибрежные места обитания являются гетерогенными во времени и в пространстве.

Целью работы было сравнение пигментного аппарата растений, произрастающих на приливно-отливной зоне северных морей.

Материал был собран в 2008 г. на побережье Кандалакшского залива Белого моря, в 2009г. на побережье Баренцева моря в окрестностях поселка Дальние Зеленцы и на побережье Шпицбергена (район п. Баренцбург). Содержание фотосинтетических пигментов определяли по общепринятым методикам спектрофотометрически (СФ-26, Россия), содержание хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) – расчетным путем. Содержание пигментов было определено у 9 видов растений. Исследованные виды относятся к экологической группе галофитов (облигатные – *Honckenia peploides* (L.) Ehrh. s.l., *Ligusticum scoticum* L., *Cochlearia arctica* Schlecht. ex DC., *Triglochin maritimum* L., *Stellaria humifusa* Rottb., *Mertensia maritima* (L.) S. F. Gray, факультативные – *Lathirus aleuticus* (Greene) Pobed., *Leymus arenarius* (L.) Hohst., *Potentilla egedii* Wormsk.), и произрастают в среднем и верхнем горизонтах литорали.

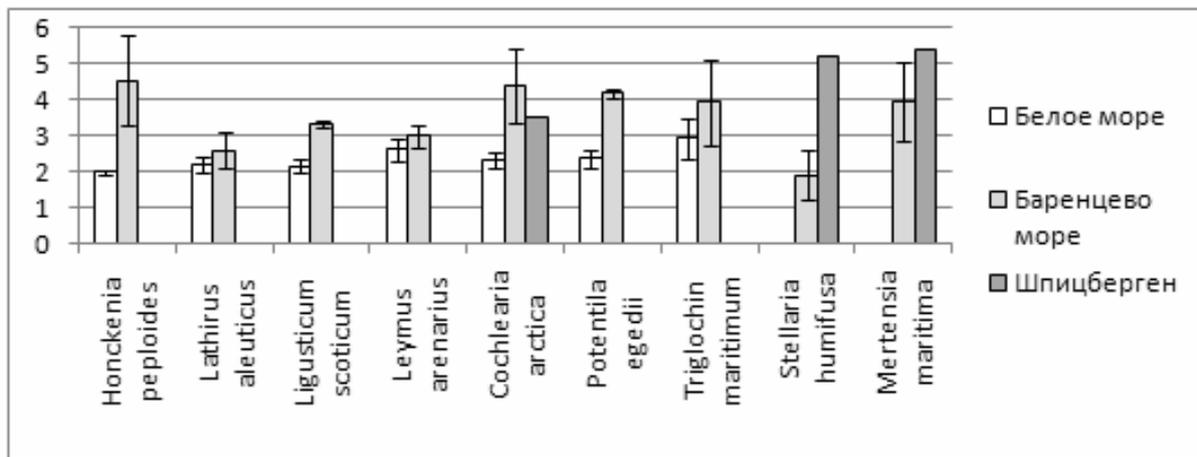
Проведенное исследование показало, что содержание хлорофиллов у изученных видов варьирует от 2.35 (*Stellaria humifusa*, Шпицберген) до 7.01 ± 2.12 (*Lathirus aleuticus*, Белое море) мг/г сухой массы. Содержание каротиноидов варьирует от 0.45 (*Stellaria humifusa*, Шпицберген) до 3.17 ± 0.70 (*Lathirus aleuticus*, Белое море) мг/г сухой массы. Наименьшие значения содержания пигментов отмечаются у более северных растений.

Среднее значение соотношения хлорофиллов а/б у всех исследованных видов, кроме *Leymus arenarius*, уменьшается или не изменяется при продвижении на север. Это свидетельствует об увеличении доли хлорофилла б в ССК ФСII с продвижением в высокие широты.

На Белом море все изученные виды были близки по значению ССК, которое составляет от $40.9 \pm 6.1\%$ у *Honckenia peploides* до $54.1 \pm 9.9\%$ у *Triglochin maritimum*. На побережье в окрестностях Дальних Зеленцов по значению ССК виды разделились на две группы. В первую вошли *Lathirus aleuticus*, *Ligusticum scoticum*, *Leymus arenarius*, *Stellaria humifusa*, у которых ССК оказа-

лось более низким $46.3 \pm 7.2\%$; во вторую – *Honckenia peploides*, *Cochlearia arctica*, *Potentilla egedii*, *Triglochin maritimum* и *Mertensia maritima*, у которых ССК увеличивается до $66.2 \pm 15.9\%$. Для растений побережья Шпицбергена были получены более высокие значения у *Stellaria humifusa* – 58%, *Mertensia maritima* – 75% и более низкие у *Cochlearia arctica* – 45%.

Среднее значение отношения суммы хлорофиллов к каротиноидам, наоборот, увеличивается с юга на север, исключение составляют *Lathirus aleuticus*, *Leymus arenarius*, *Triglochin maritimum* и *Mertensia maritima*, у которых этот показатель значительно не изменяется (рис.). Это свидетельствует о снижении относительного содержания желтых пигментов у более северных растений.



Соотношение хлорофиллов и каротиноидов у изученных видов

Общие закономерности изменения различных параметров пигментного аппарата у видов приливо-отливной зоны при продвижении от таежной зоны до Арктики соответствуют данным литературы. Однако закономерности изменения исследуемых параметров у отдельных видов зависят от их принадлежности к экологической группе по отношению к солености, от биологических особенностей и ареала распространения.

Работа выполнена по гранту № 3832 в рамках Аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы» и при поддержке Министерства экономического развития и торговли Российской Федерации.

PIGMENT APPARATUS OF VASCULAR PLANTS OF INTERTIDAL ZONE OF NORTHERN SEAS

E.F. Markovskaya¹, A.A. Korzunina², N.Y. Shmakova³

1,2 Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

1 – botanika@psu.karelia.ru, 3 – korzunina84@mail.ru

3 Polar-Alpine Botanical Garden-Institute, Kola Science Center RAS, Kirovsk, Russia

shmanatalya@yandex.ru

The pigment apparatus of plants growing in the intertidal zone of northern seas (White Sea, Barents Sea and Greenland Sea) was compared. Chlorophyll content of the studied species varied from 2.35 to 7.01 ± 2.12 mg/g DW, carotenoids content – from 0.45 to 3.17 ± 0.70 mg/g DW. Ratio of chlorophylls/carotenoids increased from south to north, while ratio of chlorophylls a/b decreased or remained unchanged with increasing latitude of growth. Changes of studied parameters for different species depend on their relation to the salinity, biological characteristics and areal.

ПОРОГОВЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ КАТИОНОВ В ВОДЕ НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ ИОННОГО БАЛАНСА МЕЖДУ ОРГАНИЗМОМ ГИДРОБИОНТОВ И ВНЕШНЕЙ СРЕДОЙ

В.И. Мартемьянов, А.С. Маврин

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
п. Борок, Ярославская обл., Россия
martem@ibiw.yaroslavl.ru

Минеральный состав воды является важнейшим экологическим фактором, который существенно влияет на развитие, рост, устойчивость и физиологические процессы гидробионтов. Уменьшение минерализации воды сопровождается увеличением нагрузки на системы обеспечения осмотического, ионного и кислотно-щелочного баланса организма. При достижении определенных минимальных концентраций того или иного электролита в воде, способность к поддержанию ионного гомеостаза нарушается. Поэтому границы ареала вида в низко минерализованных водоемах определяются предельно низкими (пороговыми) концентрациями различных ионов во внешней среде при которых возможно поддержание ионного баланса между организмом и средой.

Метод определения пороговых концентраций основан на измерении кинетических характеристик трех параметров: скорости потери ионов из организма во внешнюю среду, скорости их активного транспорта из среды в организм и чистого (результатирующего) потока, представляющего разность между потерями и активным транспортом. При реализации используемого способа, гидробионты вначале акклимируются к широкому ряду различных концентраций изучаемых ионов. После этого животных перемещают на непродолжительное время (15–30 мин) вначале в дистиллированную, а затем пресную воду. По изменению содержания электролитов в экспериментальных средах рассчитывают скорость потери ионов из гидробионтов в дистиллированную воду и скорость их активного транспорта организмом из пресной воды. Находят такие концентрации ионов в воде, при которых потери из организма выше, чем поступление, что свидетельствует о неспособности поддержания ионного баланса. Этот способ является очень трудоемким, из-за чего применяется редко. Полученные данные по пороговым концентрациям носят фрагментарный характер и имеют отношение к моллюскам (Виноградов и др., 1987; Виноградов, 2000; Виноградов, Биочино, 2005).

Нами апробирован более простой способ по выявлению предельно низких концентраций натрия, калия, кальция, магния во внешней среде необходимых для поддержания жизнедеятельности гидробионтов. Метод основан на содержании организмов в дистиллированной воде и отбора проб воды во времени из экспериментальных емкостей для определения концентрации ионов.

После помещения рыб в дистиллированную воду, в течение первых 5 суток наблюдалось постепенное повышение с определенными скоростями концентрации различных ионов в воде (рис.), свидетельствуя об их утечке из организма рыб. В дальнейшем, содержание катионов в воде стабилизировалось на определенных уровнях, указывая на достижение ионного баланса между организмом и средой. Скорости потерь ионов из организма и их обратный транспорт были уравновешены между собой. Эти минимальные концентрации ионов в воде, при которых достигается ионный баланс между организмом и средой, являются пороговыми (предельными) для выживания плотвы. При содержании электролитов в воде ниже пороговых, рыбы погибают вследствие обессоливания организма.

В докладе приводятся обобщенные данные по содержанию ионов в различных пресноводных водоемах Земли в сравнении с пороговыми концентрациями, полученными для изученных видов гидробионтов. На основе этого анализа четко выявляются водоемы, в которых изученные виды не смогут выживать из-за низких концентраций того или иного иона.

ГИСТОГЕНЕЗ ГОНАД, КАК ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АНДРОГЕНАМИ НА *ONCORHYNCHUS MYKISS*(WALBAUM) И *HUSO HUSO* X *ACIPENSER RUTHENUS* (ГИБРИД БЕСТЕРА (F₂))

К.В. Метальникова

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия
ksenia@vniro.ru

В России реверсантов у форели, стальноголового лосося и бестера (F₂) получали в период 1978–1996гг. с использованием искусственных аналогов тестостерона (метилтестостерона (МТ) и тестостерон-пропионата (ТП)). Независимо от места проведения работы, климатической зоны, вида рыбы во всех экспериментах наблюдали следующие общие процессы гистогенеза гонад у реверсантов из генетических самок: 1. Ускоренный темп генеративного роста клеток, обусловленных генотипом. 2. У самок резорбции ооцитов (лизис, фагоцитоз, амитозы и др.). 3. При этом за счет усиления общего энергетического обмена (Шентякова, 1986; Метальникова, 1987–2008), вследствие анаболического эффекта аналогов тестостерона (МТ или ТП) наблюдали ускоренные митотические деления гониальных клеток в местах резорбирующихся ооцитов и в межовариальных пространствах. С последующими мейотическими преобразованиями и превращениями гоний в сперматогонии, сперматоциты разных порядков, которые обуславливают развитие тестикулярной, в кранио-каудальном направлении и вытеснение овариальной, ткани. 4. Одновременная закладка семенных ампул из сперматоцитов 2-го порядка, образование сперматид и в дальнейшем – сперматозоидов. 5. Окончательное формирование тестикулярной ткани зрелых реверсантов с функциональными способностями сперматозоидов к оплодотворению икры. А у зрелых реверсантов – способности выделять сперму, при сцеживании (Метальникова, 1987–2008). Использовали схемы работ, отраженные в таблице 1.

Таблица 1. Схемы работы по получению реверсантов с использованием аналогов тестостерона

Схема****	Дозы МТ мг/кг корма	Дозы ТП мг/кг корма	Выход рыбы с реверсией гонад,%
Oncorhynchus mykiss (Walbaum), оз.Селигер, 1980	не проводили	1	88,2
	не проводили	6	83,3
	не проводили	16	100,0
Huso huso x Acipenser ruthenus (F ₂), Донецкая область, 1981	не проводили	1 (в масле)	
		16 (в масле)	
		32 (в масле)	
Oncorhynchus mykiss (Walbaum), Краснодарский край, 1985 г.	3	3	81,8/66,8*
	6	6	77,8/77,8**
Oncorhynchus mykiss (Walbaum), Калининградская обл., 1990	3 (после гиногенеза и купания икры в р-ре МТ)	нет***	100,0
	6	нет	92,8
	не проводили	6	83,3
Oncorhynchus mykiss (Walbaum), Калининградская обл., 1996	5		75,0
Oncorhynchus mykiss (Walbaum), Заполярье, 1991	3 (после купания икры в р-ре МТ)	нет	83,0
	6	нет	85,7

Примечание: * – в числителе выход самок с реверсией при обработке молоди МТ, в знаменателе – при обработке молоди стальноголового лосося ТП; ** – то же, что и в предыдущем столбце; *** – нет, то есть не проводили; **** – длительность кормления не менее 800 градусо-дней, начало обработки рыбы гормонами рассчитывали индивидуально по каждому виду рыб, в зависимости от температуры воды.

При обработках рыб андрогенами, наблюдали у них высокое потребление кислорода на единицу массы рыб, также высокое содержание гемоглобина в крови и увеличения выживания у экспериментальных рыб по сравнению с контролем. Процессы реверсии продолжались после окончания гормонального воздействия на рыб извне. Как теперь известно, различные реверсанты (из генетических самок) при скрещивании с обычными, не обработанными гормонами, самками продуцируют в потомстве разное количество самок от 60 до 100% (Метальникова, 1992, 1995, 2000). Это может зависеть от генетических особенностей реверсантов. Реверсантов ис-

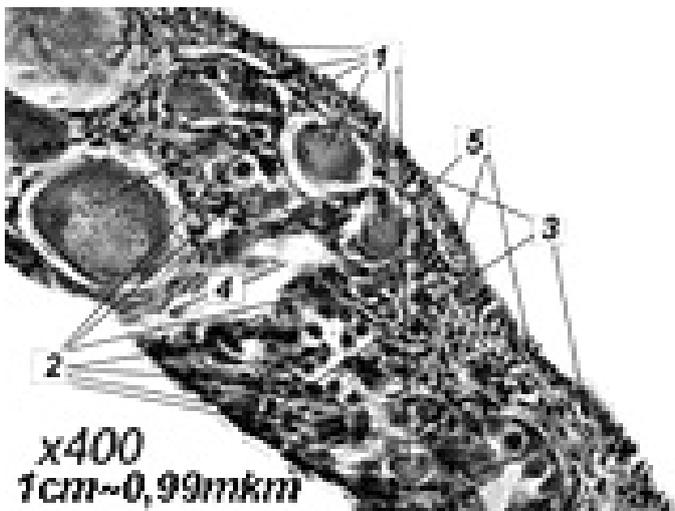
пользовали несколько лет (Метальникова, 1991, 1992, 2000а, б). На основании изучения гонад предложили гистологический способ отбора будущих реверсантов с целью прогноза их выхода (Метальникова, 1999), таблица 2.

Таблица 2. Гистогенез гонад у будущих реверсантов

Схема	Ювениль- ные	Ооциты фазы протоплазматического роста						Резорбир. ооциты,%	Возраст самок, дни	Прогноз выхода реверсантов
		1 ступень	2 ступень	3 ступень	4 ступень	5 ступень				
Озеро Селигер, <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum)										
Контроль	100	0	0	0	0	0	0	128	0	
1 (1мгТП/кг корма)	0	40	49	11	0	0	81	128	+	
2 (6мгТП/кг корма)	0	5	92	6	0	0	90	128	+	
3 (16мгТП/кг корма)	0	0	31	69	0	0	100	128	+	
Заполярье, <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum)										
Контроль	0	0	100	0	0	0	0	286	0	
1 (купание+кормление 3мгМТ/кг корма)	0	50	25	25	0	0	54	286	+	
2 (6мгМТ/кг корма)	100	0	0	0	0	0	0	286	?	
Краснодарский край, <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum)										
Контроль	0	0	0	100	0	0	17	267	0	
1 (3мгМТ/кг корма)	0	17	17	20	6	40	83	267	+	
2 (6мгМТ/кг корма)	0	0	0	29	71	0	100	267	+	
3 (3мг ТП/кг корма)	0	0	0	96	4	0	91	267	+	
4 (6 мгТП/кг корма)	0	0	0	35	39	26	74	267	+	

Далее использовали метод визуального отбора реверсантов по экстерьерным особенностям, сформировавшимся в процессе реверсии (Патент, 2009). Потомства (главным образом самки) *O. mykiss* от реверсантов, при скрещивании их с обычными самками, не обработанными гормонами, в Краснодарском крае и Калининградской области были получены дважды в течение двух лет. Потомство не обрабатывали андрогенами.

Маскулинизирующий эффект аналогов тестостерона у самок лососевых видов рыб это – генотипическая норма реакции их организма на стрессовое воздействие извне, как самое рациональное физиологическое проявление индивидуальных особенностей при неблагоприятной окружающей среде, каким является воздействие аналогов тестостерона. Требуется исследование приспособительного потенциала генетической группы субпопуляции цитоплазматической наследственности, определяемой материнским источником, который в процессе оплодотворения может быть утрачен (Махихина, Метальникова, Ананьев, 1999).



Сагиттальный срез между овариальной и тестикулярной тканью гонады формирующегося реверсанта форели, Заполярье.

Цифрами обозначены: 1 – резорбции ооцитов, 2 – образование гоний на месте резорбировавшихся ооцитов, 3 – строма гонады, 4 – яйцевод, 5 – интерстициальные клетки. Процессы реверсии продолжались после окончания гормонального воздействия на рыб извне. Увеличение ок.10х, об.40х

HISTOGENESIS IN RESPONSE TO ANDROGENS IN *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM) AND *HUSO HUSO X ACIPENSER RUTHENUS* (HYBRID F₂)

K.V. Metalnikova

Russian Federal Research Institute of Fisheries & Oceanography, Moscow, Russia
ksenia@vniro.ru

The reversion of secondary sexual characters in trout in Russia was obtained between 1978 and 1996. We applied various methods for obtaining reversal fishes using 3, 6 and 16 mg of analogues of Testosterone (Methyltestosterone (MT) or Testosteroni-propioni (TP)) by adding it into feeds to salmonids under different climatic areas. The changes in ovaries of females were histologically analysis. As a result, we found that androgens were responsible for the following changes gonads of treated fishes: a) accelerated development of the ovary in experimental females compared with the control fishes; b) degenerated oocytes and development of testis; c) normal development of testis but permeated with blood vessels. Steelhead and trout produced mainly females as progeny. The progenies were not treated by hormones. Upon the maturation of reversants they are used for crossing when sex products are taken from live fish which makes it possible to obtain sex products from the same reversants for several years.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ОРГАНОВ РЫБ ПРИ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКЕ

О.В. Мещерякова, М.В. Чурова, Н.Н. Немова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия
mesch@krc.karelia.ru

Исследовали активность митохондриальных ферментов – цитохром с оксидазы и малатдегидрогеназы в различных органах сигов, шук и плотвы, подверженных неблагоприятному воздействию воды Костомукшского хвостохранилища (высокая минерализация, щелочной рН, ионы некоторых тяжелых металлов). Обнаружены тканеспецифичные, видоспецифичные и возрастные особенности изменения активности исследованных ферментов. Показано, что изменения в активности ферментов носят как компенсаторный характер, так и являются следствием прямого ингибирования ферментов и разрушения клеточных структур, в частности митохондриальных мембран. Результаты исследования показывают, что в наибольшей степени ингибирующему влиянию подвержены клетки печени всех исследованных видов рыб. Активность цитохромоксидазы клеток печени снижалась у сигов на 56%, у шук на 35% и у плотвы на 69%, активность малатдегидрогеназы снижалась, соответственно, на 63%, 29% и 74%. Присутствующие в отходах Костомукшского ГОКа загрязняющие вещества, например, такие тяжелые металлы как, кадмий, цинк, самарий, олово способны проникать во внутриклеточное пространство и реагировать с сульфгидрильными группами, активных центров ферментов, ингибируя МДГ и цитохромоксидазу (Collier, Varanasi, 1989; Sarker, 1989; Сорока и др., 1991; Strmac, Braunbeck, 2002; Reddy et al., 2008). Кроме того, одним из механизмов нарушения энергетических процессов и аэробного синтеза АТФ в митохондриях под действием свинца является взаимодействие ионов металла с фосфолипидными компонентами мембран, приводящее к повреждению митохондриальной мембраны, а следовательно к разобщению процессов окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ (Herrera, Luzares, 1990) в результате чего значительно снижается активность таких ферментов, как ЦО и МДГ. В печени шуки снижение уровня ведущего процесса синтеза АТФ (аэробного метаболизма) частично компенсировалось за счет интенсификации анаэробного пути образования энергии из углеводов.

Обнаружены видоспецифичные различия в активности исследованных ферментов. Так, у плотвы сильному воздействию были подвержены жабры, активность ЦО в них снижалась на 40%. Известно, что при действии ртути, свинца, кадмия, железа, цинка происходит повышение ослизне-

ния жабер, разрушается их респираторный эпителий, повреждаются мембраны хлоридных клеток и мембраны содержащихся в них митохондрий (Dhavale, 1987; Wood, McDonald, 1987; Dietrich, Schlatter, 1989; Ingersoll et al., 1990 и др.), что приводит к значительному снижению активности цитохромоксидазы и снижению уровня аэробного синтеза АТФ. В жабрах щук, наоборот, наблюдалось значительное повышение уровня ЦО и аэробного синтеза АТФ и использования углеводов, в частности в пластическом обмене (активность ЦО увеличивалась в два раза и Г-6-ФДГ – в три раза). Интенсификация энергообмена в жабрах, обнаруженная у щуки, является важнейшей компенсаторной приспособительной реакцией, направленной на усиление функции жаберного аппарата и поддержания целостности его структур. Значительное снижение активности ЦО и МДГ было обнаружено в почках щук. Наблюдаемые биохимические сдвиги у щуки могут соответствовать начальным стадиям токсического воздействия на почки, сопровождающиеся разобщением окислительного фосфорилирования и соответствующим усилением некоторых восстановительных процессов. Согласно данным анализа липидного обмена рыб, испытывавших негативное воздействие воды Костомукшского хвостохранилища (Немова, Высоцкая, 2004), у рыб были обнаружены существенные изменения в соотношении фосфолипидных фракций, что является результатом необходимой перестройки структуры биомембран почек и других органов при адаптации организма рыб к повышенной концентрации металлов в воде.

Возрастные изменения в активности ЦО и МДГ наблюдались в мышцах сигов. В Отмечено значительное снижение активности этих ферментов в мышцах старших возрастных групп сигов, в то время как, в мышцах более молодых групп сигов не выявлено негативных изменений. Предположительно, это связано с продолжительностью неблагоприятного воздействия в процессе онтогенеза рыб и эффектом многолетнего накопления тех или иных токсических веществ. Возможно, за несколько лет в мышцах сигов происходит накопление некоторых тяжелых металлов, которые ингибируют цитохромоксидазу и малатдегидрогеназу и, таким образом, снижают интенсивность аэробного метаболизма.

Таким образом, вредное воздействие на организм рыб вызывает нарушения целостности органов и тканей, повреждения клеток, их мембран, митохондрий, структуры ферментов, что приводит к нарушению регуляции и разобщению процессов окислительного фосфорилирования на мембранах митохондрий и, как следствие, к значительному снижению энергообеспечения клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ «Ведущие научные школы Российской Федерации» НШ 3731.2010.4; Программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России» на 2009–2011 гг.; Программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие» на 2009–2011 гг., Гранта РФФИ № 08-04-01140-а.

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДВУХГОДОВИКОВ ТРИПЛОИДНОЙ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ВЬЕТНАМА

Е.В. Микодина, Е.В. Ганжа, Е.Д. Павлов

ФГУП «ВНИРО», Москва, Россия
mikodina@vniro.ru

Материал для исследования собран в апреле-мае 2009 г. на рыбоводном хозяйстве «Клонг-Кланх» (Klong-Klanh), которое расположено в южном Вьетнаме на высокогорном плато (1700 м над уровнем моря) в 70 км от г. Далат.

Исследованы двухлетние самки (21 мес.) триплоидной радужной форели *Oncorhynchus mykiss* породы Дональдсон, выращенные из импортированной в 2007 г. из Финляндии икры. У 11 экз. форели измеряли длину тела по Смитту, массу тела и гонад, определяли стадию зрелости. Для биохимического анализа кровь у рыб собирали из хвостовой вены в пробирки с ЭДТА, замораживали и хранили при температуре около -10 °С. Пробы обработаны по методам, указанным ранее (Ганжа, 2008). Определяли количество общего белка, альбумина, С-реактивного белка, глюкозы, лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов, прогестерона, эстрадиола, тесто-

стерона, а также иммуноглобулинов А, М, G, E. Проанализировано 11 образцов крови, каждый в трех аналитических повторностях.

Средняя длина исследованных рыб 39.5 (36.7–42.5) см, масса – 839 (610–990) г, масса яичников, находящихся на III ранней стадии зрелости – 3.6 (1.9–6.6) г.

Глюкоза – один из наиболее важных показателей физиологического состояния организма, отражающий уровень метаболизма, стресса и осмотического давления крови. Ее среднее содержание в крови триплоидной форели повышено и составляет 6.9 ± 0.20 (4.8–10.8) ммоль/л. Это может быть связано с достаточно слабым механизмом регуляции уровня глюкозы в крови у радужной форели (Coweу et al., 1977b). Этот показатель может изменяться в зависимости от состава корма. Так, при стандартном кормлении радужной форели в ее крови содержится 3.0 ммоль/л глюкозы, при использовании высокобелкового корма – 4.0 ммоль/л, а при высокоуглеводном кормлении – 5.3 ммоль/л, т.е. почти в 2 раза больше, чем в норме (Coweу et al., 1977a). Поскольку при выращивании изучаемых рыб использовали разнообразные корма, вероятно, их состав мог отразиться на показателе глюкозы крови.

Содержание общего белка в сыворотке крови триплоидных двухгодовиков радужной форели у разных особей различается более чем в два раза, в среднем составляя 131.2 ± 5.2 (77.7–178.0) г/л. У лососевых рыб из естественных популяций этот показатель обычно ниже, иногда в 2–3 раза (Пустовит, Пустовит, 2005; Ganzha, Mikodina, 2009). Основная фракция общего белка – альбумин, среднее содержание которого в крови исследованных триплоидов составляет 91.6 ± 2.32 (57.9–111.4) г/л. Считают, что в норме доля альбумина от общего белка должно составлять около 60% (Коган, 1984; Назаренко, Кишкун, 2000), однако у исследованных нами рыб эта доля несколько больше и достигает почти 70%. Содержание C-реактивного белка у разных особей различается более чем в 30 раз, в среднем по выборке составляет 3.3 ± 0.32 (0.2–6.4) мг/л. Этот показатель тесно взаимосвязан с показателями гуморального иммунитета.

В крови триплоидов радужной форели из южного Вьетнама выявлена иммунореактивность к таким показателями гуморального иммунитета, как иммуноглобулины А, М, G и E. Содержание IgA составляет 32.4 ± 0.70 (25.8–42.0) мг/мл, IgM – 39.5 ± 0.77 (34.2–46.4) мг/мл, IgG – 193.0 ± 4.24 (154.9–247.5) мг/мл, IgE – 15.6 ± 6.34 (0.2–74.3) МЕ/мл. Преобладает IgG, однако его содержание несколько снижено (72.9%), а доля IgM (14.9%) – увеличена по сравнению с данными литературы (Назаренко, Кишун, 2000). Известно, что уровень IgM у самок отрицательно коррелирует с содержанием в крови стероидных гормонов (тестостерона и эстрадиола), и положительно – с температурой воды (Suzuki et al., 1997). Наши данные подтверждают это мнение. В крови трети изученных рыб уровень IgE был выше, чем у остальных, что может указывать на проявление аллергической реакции именно у этих особей радужной форели. Аллергию могут вызывать некоторые компоненты потребляемого рыбами корма. В целом, судя по содержанию иммуноглобулинов в крови двухгодовиков триплоидной радужной форели, можно заключить, что их иммунная система адекватно отражает функциональное состояние рыб.

В крови двухгодовиков выявлена иммунореактивность к ФСГ и ЛГ человека. Ранее считали, что репродуктивная функция у рыб регулируется двумя специфическими гонадотропными гормонами: ГТГ-I (фоллитропин) и ГТГ-II (лютропин) (Макеева, 1992; Бурлаков, 2002). В настоящее время доказано, что по ФСГ является аналогом ГТГ-I, а ЛГ – аналогом ГТГ-II (Li, Ford, 1998; Querat et al., 2000; Swanson et al., 2003).

Содержание ФСГ в среднем составляло 18.6 ± 5.96 мМЕ/мл, но варьировало в широких пределах – от 1.2 до 47.0 мМЕ/мл. Этот гормон у самок в течение оогенеза вызывает рост фолликулов и отвечает за транспорт вителлогенина в ооците (Idler, Ng, 1983). Его количество позволяет выявить возможные патологии в строении яичников, у данных рыб они имеются в виде деформации гонад и резорбции части ооцитов.

Лютеинизирующий гормон в крови 7 из 11 особей не выявлен, что согласуется с нашими данными по двухгодовикам кижуча. У 4-х других рыб, наоборот, его содержание в крови высокое – 22.2 ± 2.87 (0.0–48.0) мМЕ/мл. Как правило, ЛГ синтезируется на поздних стадиях гаметогенеза, влияя в половых клетках на синтез эстрогенов и прогестерона. Вероятно, половые железы данных рыб, развиваются несколько быстрее, чем остальных.

Взаимодействие ФСГ и ЛГ стимулирует синтез стероидных гормонов. В крови триплоидной радужной форели из южного Вьетнама содержание андрогенного стероидного гормона – тестостерона, было самым высоким из всех изученных гормонов. Его среднее количество в крови составля-

ет 5.6 ± 0.09 нг/мл и варьировало в очень узких пределах – от 5.1 до 6.1 нг/мл. Такой высокий уровень тестостерона в большей степени характерен для самцов, тогда как нами исследованы самки. Средняя концентрация эстрадиола в крови составляет 51.7 ± 10.84 пк/мл, широко варьируя от 1.9 до 113.8 пк/мл. Этот гормон имеет наибольшую физиологическую активность, ускоряя протоплазматический рост ооцитов и формирование в них цитоплазматических включений (Федоров, 1997; Suzuki et al., 1988). По данным Грусловой (2004), в период вителлогенеза концентрация эстрадиола максимальна. Поскольку исследованные особи находились начальной фазе вителлогенеза, полагаем, что обнаруженный у них уровень эстрадиола понижен. Прогестерон был выявлен только у двух рыб (18%) в концентрации 1.6 ± 0.73 (0.0–3.9) нг/мл.

Такие разнонаправленные и, зачастую, нехарактерные данные по гонадотропинам и низкий уровень женских стероидных гормонов, вероятно, связаны с триплоидией изучаемых рыб, повлекшей нарушение механизма синтеза половых гормонов в организме. В литературе указывают на значительное снижение концентрации гонадотропных и стероидных гормонов в крови у триплоидных рыб по сравнению с диплоидными (Tiwarý et al., 2001). К тому же, гонадотропный статус у особей с близкими морфофизиологическими показателями может отличаться (Федоров, 1997), что согласуется с нашими данными. Не исключено, что полученная варибельность в содержании половых и стероидных гормонов, связана с воздействием на радужную форель специфического климата южного Вьетнама, который отличается от естественного, например, фотопериодом, более высокой температурой воды, высокогорными условиями; возможно также влияние использованных кормов.

SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF TWO-YEAR OLD TRIPLOID RAINBOW TROUT CULTIVATED IN SOUTH VIETNAM

E.V. Mikodina, E.V. Ganzha, E.D. Pavlov

VNIRO, Moscow, Russia
mikodina@vniro.ru

The biochemical parameters of blood serum for the first time in triploid rainbow trout from all-female stock were assessed. The fish at the age of 21 months were cultivated in the mountainous area of South Vietnam. The high levels of total protein, albumin, C-reactive protein, and glucose in blood serum were registered. The immune reactivity of four classes of immunoglobulins (A, M, G, and E) were determined. The content of FSH was measured, and LH was determined only in 64% of fishes. A high level of male steroid hormone, testosterone (that is usual only in males), extremely low content of progesterone (detected only in 18% of fishes), and almost normal concentration of estradiol were registered.

ВРЕМЕННЫЕ (ТЕМПОРАЛЬНЫЕ) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОВЕДЕНИЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ВКУСОВЫХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ОБЪЕКТОВ У РЫБ С РАЗНЫМ ТИПОМ ПИТАНИЯ

Е.С. Михайлова¹, О.М.Исаева², А.О. Касумян¹

¹ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
elena_mikhailova@mail.ru

² ФГНУ НИИЭРВ, Красноярск, Россия
olga-isa2@yandex.ru

Пищевое поведение рыб представляет собой последовательную цепь разнообразных двигательных актов и реакций, заканчивающуюся схватыванием пищевого объекта и оценкой его соответствия потребностям особи. В отличие от пищевого поиска, проявление которого изучено у большого числа видов, поведение тестирования рыбами объектов питания остается практически неисследованным. Известно, что большое значение в сенсорном обеспечении этого завершающего этапа пищевого поведения принадлежит внутриротовой вкусовой рецепции. Согласно имеющимся в литературе данным, рыбы часто принимают решение о заглатывании или об отказе от потребления схваченной добычи после многократных отверганий ее и повторных схватываний. Число повторных схватываний и длительность удержаний пищевого объекта во многом связаны с образом жизни

конкретного вида. В задачи настоящей работы входило изучить структуру поведенческого ответа рыб с разным типом питания на искусственные пищевые объекты с известными вкусовыми свойствами, выяснить его динамику и длительность отдельных поведенческих актов.

Эксперименты выполнены на 4 видах рыб: девятииглой колюшке *Gasterosteus aculeatus* (6–7 см), горчаке *Rhodeus sericeus amarus* (5 см), леще *Abramis brama* (7.5 см) и линя *Tinca tinca* (8–9 см). Рыб помещали в аквариумы поодиночке и обучали схватывать подаваемые поштучно гранулы, изготовленные из агар-агарового геля. В ходе каждого опыта в аквариум вносили 1 гранулу и регистрировали длительность реагирования рыбы (время от падения гранулы в воду и до первого ее схватывания), длительность всех последовательных удержаний гранулы и интервалов между схватываниями. Продолжительность событий регистрировали с точностью 0.1 сек с помощью компьютерной программы VH-fish. Для каждого вида рыб были использованы гранулы, содержавшие аминокислоты, которые согласно нашим предварительным опытам, вызывали максимальное число повторных схватываний и потребление которых было близким к 50%. Для девятииглой колюшки таким веществом была аспарагиновая кислота (0.01 М), для леща – цистеин (0.1 М), линя и горчака – аланин (0.1 М). Всего выполнено 407 опытов с девятииглой колюшкой, 199 опытов с лещом, 110 с линем и 22 с горчаком.

В опытах рыбы всех исследованных видов схватывали тестируемые гранулы неоднократно, однако максимальное число таких схватываний оказалось разным. У леща в опытах было зафиксировано до 16 повторных схватываний, у девятииглой колюшки – 11, у линя и горчака – 6. В большинстве опытов число схватываний было меньше. Так, горчак чаще всего заглатывал или окончательно отказывался от потребления гранулы после одного схватывания, лень после 1–2, лещ – после 2–3, а колюшка – после 1–4 схватываний. Чем больше происходило повторных схватываний, тем более продолжительным был опыт. Для леща, горчака и девятииглой колюшки средняя продолжительность удержаний гранулы всегда была больше средней продолжительности интервалов между схватываниями, причем во всех случаях интервалы между схватываниями были короче предшествовавшего и последующего удержания гранулы. И лишь для линя периоды удержания гранул были значительно короче (2.72 с), чем интервалы между схватываниями (4.52 с). Для всех исследованных видов наиболее продолжительным было первое удержание гранулы, продолжительность последующих удержаний закономерно снижалась. Возможно, первое тестирование пищевого объекта может иметь особое значение в установлении его вкусовых качеств. Продолжительность интервалов между схватываниями варьирует гораздо слабее и остается примерно на одном уровне по мере прохождения опыта, какой либо отчетливой тенденции в изменении этого параметра не удается выявить ни у одного из исследованных видов рыб.

Продолжительность вкусового поведенческого ответа зависит и от итогового результата опыта, то есть, была ли, в конечном счете, гранула заглочена или отвергнута рыбой: при равном числе схватываний опыты с заглатыванием гранулы всегда более продолжительны, чем опыты, заканчивающиеся ее отверганием, однако это различие снижается с увеличением числа повторных схватываний. В тех случаях, когда гранула рыбами заглатывается, средняя продолжительность каждого удержания всегда больше, чем в опытах, завершающихся отверганием гранулы, различие уменьшается с каждым последующим схватыванием. В опытах, заканчивающихся отверганием, первое удержание у исследованных рыб значительно короче, чем в опытах, в которых гранула заглатывалась: у линя – в 3.5 раза, у девятииглой колюшки – в 3.9 раза, у леща и горчака – в 10 и 20 раз соответственно. Таким образом, по продолжительности уже первого удержания гранулы можно с большой долей вероятности прогнозировать закончится ли опыт заглатыванием гранулы или ее окончательным отверганием.

Достоверная связь между продолжительностью удержания гранулы и последующим интервалом между отверганием и следующим схватыванием гранулы не выявлена ни для одного вида рыб ни в случаях отвергания гранулы, ни в случаях ее заглатывания. Обнаружено также, что в опытах, заканчивающихся отверганием, период реагирования рыб на упавшую в воду гранулу, т. е. промежуток времени от подачи гранулы до ее первого схватывания рыбой, более продолжительный. Так, для леща эта величина превышала 6 сек и была почти в 2 раза выше, чем в опытах, закончивающихся заглатыванием гранулы, а для девятииглой колюшки составила почти 3 сек и превышала аналогичную величину в опытах с потреблением гранулы в 3 раза. Возможно, быстрота реагирования на гранулу связана с физиологическим состоянием подопытных особей и отражает их пищевую мотивацию, влияющую на проявление рыбами вкусового ответа.

Таким образом, исследованные рыбы принимают окончательное решение о заглатывании или отвергании объекта после нескольких его тестирований с помощью внутриротовых рецепторов. Чем больше число таких повторных апробаций, тем длительнее в целом вкусовой ответ. Это в полной мере относится к опытам, завершившимся заглатыванием гранулы и к опытам, в которых гранула в итоге была рыбой отвергнута. Продолжительность вкусового ответа в последнем случае значительно короче, прежде всего из-за менее длительных периодов удержания гранулы в ротовой полости. Продолжительность удержания гранулы быстро и закономерно снижается с каждым последующим схватыванием, тогда как интервалы между схватываниями изменяются менее существенно. Следовательно, время, затрачиваемое рыбами на оценку вкусовых качеств схваченного пищевого объекта, последовательно уменьшается с каждым повторным его схватыванием.

Одной из интереснейших задач физиологии вкуса в настоящее время является выяснение количества времени, требуемого на проявление реакции. У девятиглазой колюшки и линя длительность удержания гранулы во рту часто составляет менее 1 сек, а в отдельных опытах – менее 0.5 сек. Это время затрачивается на реализацию целого комплекса процессов – рецепцию содержащегося в грануле вкусового вещества, передачу полученной информации во вкусовые центры и ее обработку, формирование и осуществление одного из возможных поведенческих сценариев: заглатывание гранулы, отвергание гранулы с целью последующего ее схватывания, окончательное отвергание гранулы. Согласно имеющимся литературным данным, большая часть этого времени затрачивается на обработку информации в мозговых центрах и формирование соответствующего поведенческого ответа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 10-04-00349) и Программы «Ведущие научные школы» НШ-186.208.4.

TEMPORAL CHARACTERISTICS FOR FLAVORED PELLET TESTING BEHAVIOR IN FISH WITH DIFFERENT FEEDING

E.S. Mikhailova¹, O.M. Isaeva², A.O. Kasumyan¹

¹ Moscow State University, Moscow, Russia
elena_mikhailova@mail.ru.

² Federal State Research Institution ‘Institute of Ecology of Fishery Water Bodies’, Krasnoyarsk, Russia
olga-isa2@yandex.ru.

Fish make several repeated tests (grasping-retention-rejection) for the final decision about swallowing or rejection a food object (agar-agar pellets flavored with free amino acids). The response on flavored pellets was studied for ninespined stickleback *Gasterosteus aculeatus*, european bitterling *Rhodeus sericeus amarus*, bream *Abramis brama* and tench *Tinca tinca*. It was found that number of repeated tests reaches up to 16 in bream, 11 in stickleback, and 6 in both bitterling and tench. The more repeated tests, the longer the pellet testing. For all species, except a tench, the first retention of pellet was longest; duration of the subsequent pellet keepings naturally decreases from the first grasp to the last one. Duration of intervals between keepings was shorter than pellet retention time, had low variability and remains approximately at the same level during the experiment.

ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕСНОВОДНЫХ ВИДОВ РЫБ ИЗ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

А.А. Морозов, Г.М. Чуйко

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
пос. Борок Ярославской обл., Россия
morozov@ibiw.yaroslavl.ru

В основе повреждающего действия большинства внешних факторов в организме животных на молекулярно-клеточном уровне лежит избыточное образование активных форм кислорода (АФК). В результате чего в клетке развивается окислительный стресс (ОС). Один из показа-

телей ОС в клетке – усиление процессов накопления продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), в частности, малонового диальдегида (МДА). Для защиты от повреждающего действия АФК у аэробных организмов служит антиоксидантная система (АОС; Руднева, 2003; Довженко, 2006; Гостюхина, 2008).

При изучении АОС нельзя не учитывать органную и видовую специфику, связанную с конкретными физиологическими функциями исследуемых органов и условиями обитания изучаемых видов рыб. Поэтому целью работы стало проведение сравнительного анализа активности отдельных компонентов АОС, выявление особенностей механизма и степени участия АОС в защитной реакции у разных видов рыб.

Объектами исследований выбраны распространенные в Рыбинском водохранилище виды рыб: лещ *Abramis brama* L. и плотва *Rutilus rutilus* L., относящиеся к разным экологическим группам. В печени, жабрах, гонадах, селезенке и мышцах рыб определяли содержание и активность: малонового диальдегида (МДА; Владимиров, Арчаков, 1972); восстановленного глутатиона (GSH; Moron et al, 1979); белка (Bradford, 1976); каталазы (К.Ф. 1.11.1.6; Королук и др., 1988); супероксиддисмутазы (СОД; К.Ф. 1.15.1.1; Чевари и др., 1985); глутатион-S-трансферазы (GST; К.Ф. 2.5.1.18; Habig et al, 1974).

Результаты проведенных исследований представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Значения некоторых параметров биотрансформации ксенобиотиков, ПОЛ и АОС в различных органах леща из Рыбинского водохранилища

Орган	МДА, пкмоль/мкг белка	GSH, пкмоль/мкг белка	GST, нмоль/мкг белка в мин.	Каталаза, нмоль/мкг белка в мин.	СОД, $\Delta E \times 10^{-6}$ /мкг белка в мин.
Гонады	6.56 ± 1.17^1	5.15 ± 0.94^1	1.16 ± 0.15^1	2.37 ± 0.40^1	21.16 ± 1.91^1
Жабры	3.28 ± 0.19^2	0.62 ± 0.07^3	0.51 ± 0.07^2	0.48 ± 0.09^2	9.92 ± 1.42^2
Селезенка	2.32 ± 0.67^2	$1.61 \pm 0.31^{2,3}$	0.20 ± 0.04^2	$0.74 \pm 0.12^{1,2}$	11.47 ± 4.16^2
Печень	$1.71 \pm 0.50^{2,3}$	2.57 ± 0.27^2	1.09 ± 0.20^1	19.90 ± 1.19^3	18.67 ± 1.91^1
Мышцы	0.29 ± 0.05^3	$1.64 \pm 0.25^{2,3}$	0.53 ± 0.08^2	$2.09 \pm 0.24^{1,2}$	5.92 ± 0.78^2

Примечание: представлены средние значения и стандартные ошибки ($x \pm SE$), количество исследованных особей – 9. Значения с различными цифровыми индексами, для каждого параметра АОС, достоверно отличаются (ANOVA, LSD тест, $p=0,05$).

Таблица 2. Значения некоторых параметров биотрансформации ксенобиотиков, ПОЛ и АОС в различных органах плотвы из Рыбинского водохранилища

Орган	МДА, пкмоль/мкг белка	GSH, пкмоль/мкг белка	GST, нмоль/мкг белка в мин.	Каталаза, нмоль/мкг белка в мин.	СОД, $\Delta E \times 10^{-6}$ /мкг белка в мин.
Гонады	$1.53 \pm 0.97^{1,2}$	1.90 ± 0.60^2	0.95 ± 0.53^1	2.41 ± 0.91^1	16.29 ± 8.81^2
Жабры	4.33 ± 0.36^3	2.12 ± 0.14^2	1.34 ± 0.19^1	0.61 ± 0.09^1	2.15 ± 0.27^1
Селезенка	$2.95 \pm 0.33^{2,3}$	2.04 ± 0.18^2	0.53 ± 0.10^1	0.91 ± 0.07^1	4.79 ± 0.97^1
Печень	3.55 ± 0.79^3	2.34 ± 0.72^2	11.77 ± 0.75^2	35.01 ± 3.44^2	3.20 ± 0.36^1
Мышцы	0.58 ± 0.09^1	0.62 ± 0.05^1	0.47 ± 0.08^1	1.86 ± 0.09^1	1.38 ± 0.26^1

Примечание: представлены средние значения и стандартные ошибки ($x \pm SE$), количество исследованных особей – 10. Значения с различными цифровыми индексами, для каждого параметра АОС, достоверно отличаются (ANOVA, LSD тест, $p=0,05$).

АОС жабр плотвы и леща отличается минимальной активностью практически всех ее компонентов. Это, видимо, обусловлено функцией дыхания и обмена кислородом между внешней и внутренней средой, которую жабры выполняют в организме рыб. Ткани этого органа обладают высокой степенью насыщенности кровью. Основную нагрузку по АО защите в них берет на себя мощная АОС эритроцитов, где и генерируется основная часть АФК, как побочный продукт взаимодействия кислорода с гемоглобином. В печени рыб продукты ПОЛ образуются в меньшем количестве, чем в жабрах. При этом АОС этого органа выделяется высокой эффективностью всех своих компонентов. В первую очередь, это относится к каталазе печени обоих видов рыб, и к GST печени плотвы. Печень рыб принимает участие в процессах детоксикации, аккумуляции антигенов и выведения их из организма (Микряков и др., 2001). Такие уровни активности каталазы и GST свидетельствуют о том, что в гепатоцитах процессы ПОЛ протекают с высокой интенсивностью, а указанным фермен-

там принадлежит ключевая роль в АО защите данного органа исследованных видов рыб. В селезенке рыб, по сравнению с другими органами, показатели АОС и ПОЛ на среднем уровне. При этом активность СОД в этом органе у обоих видов относительно высокая. У рыб селезенку считают основным местом эритро- и тромбопоэза, также отмечают лимфо-, грануло- и плазмопоэтическую активность (Микряков и др., 1979). Лейкоциты, образующиеся в селезенке, и, в первую очередь, нейтрофилы обладают фагоцитарной активностью в отношении микробов и старых клеток крови (Микряков и др., 2001). Эта функция лейкоцитов связана с их способностью генерировать АФК. Защита собственных клеток селезенки от их повреждающего действия, видимо, и обеспечивается, в основном, СОД. Профили ПОЛ и АОС отличаются в половых продуктах исследованных видов рыб. В гонадах леща, по сравнению с другими органами этого вида и гонадами плотвы, где содержание МДА близко к минимальному, повышенное содержание продукта ПОЛ связано, вероятно, со значительным количеством липидов, содержащихся в половых продуктах рыб (Лапин, Шатуновский, 1981). Среди особей леща преобладали самцы, молоки которых содержат большое количество липидов, а среди особей плотвы – самки, икра которых богата каротиноидами, обеспечивающими дополнительную защиту от АФК. Высокий уровень GSH, свидетельствует о том, что нейтрализация H₂O₂, образующейся в результате деятельности СОД, происходит как через глутатионовый цикл, так и за счет каталазы (Di Giulio et al, 1995). По сравнению с другими органами, в мышцах рыб отмечаются самые низкие уровни МДА и СОД, хотя активность каталазы – на среднем уровне. Такой уровень продуктов ПОЛ связан, возможно, с невысоким, по сравнению с другими исследованными органами, содержанием липидов. В то же время низкое содержание МДА может объясняться и относительно высокой активностью каталазы.

Таким образом, в зависимости от функционального назначения, стратегия участия АОС в защите от ОС в различных тканях пресноводных рыб существенно отличается.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 08-05-00805.

FEATURES OF THE MECHANISMS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM OF SOME FRESHWATER FISH SPECIES FROM THE RYBINSK RESERVOIR

A.A. Morozov, G.M. Chuiko

Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia
morozov@ibiw.yaroslavl.ru

The results of analyses of some indicators of AOS and the content of LPO product – MDA – in liver, gill, gonads, spleen, muscles of bream *Abramis brama* L. and roach *Rutilus rutilus* L. are presented. It was shown that there is organ specificity in the organization of the AOS. The maximum level of MDA is registered in the gonads and the gills of bream and roach, respectively, whereas the minimum level of MDA in muscle of both species. The highest level of enzyme activity is established in liver and gonads of both species, lowest level is demonstrated in muscles of both species.

ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ, КАЛЕНДАРНЫЙ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ВОЗРАСТ МОЛОДИ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ *SALMO SALAR* L.

И.Г. Мурза, О.Л. Христофоров

Санкт-Петербургский университет, Санкт-Петербург, Россия
bigfish@OC4414.spb.edu

Периодизацию онтогенеза рыб разрабатывали Т.С. Расс (1946), В.В. Васнецов (1953), С.Г. Крыжановский (1956), Н.Н. Дислер (1957), П.А. Дрягин (1961), но до настоящего времени руководства и нормативные документы по заводскому воспроизводству лососевых содержат неточности и противоречия в интерпретации этапов. Их необходимо устранять, так как ещё Р. Декарт писал: «Уточняйте понятия и вы избавите мир от половины заблуждений». Например, в «Инструкции по разведению атлантического лосося. Л. 1979.» сообщается, что при попадании яиц в воду «... в яд-

рах половых клеток осуществляются митотические деления» (С. 8). В действительности, ядра к этому времени нет (оно превращается в зародышевый пузырь) и возобновляется мейоз, блокированный ранее на метафазе II. Представляется анахронизмом также подразделение в «Инструкции ... , 1979» эмбрионального периода на развитие в яйцевой оболочке («зародыши в икринках») и после выхода из нее («свободные зародыши» или «постэмбрионы») (С. 5–6, 8–20). Эти термины давно не используются в лососеводстве и современные справочники, например Большой Энциклопедический словарь, чётко определяют термин «зародыш» (=эмбрион), как животное в период от начала дробления яйца до выхода из яйцевых или зародышевых оболочек. С момента вылупления из икринки и до превращения в малька, согласно ряду руководств по изучению развития рыб, осуществляется личиночный период. В «Инструкции ... , 1979» ему соответствует лишь этап смешанного питания (С.6), а мальковому периоду – основное выращивание молоди, которое начинается с переходом лосося на экзогенное питание и длится в течение всего речного (заводского) этапа жизни – до начала смолтификации. Совершенно иначе трактуется мальковый период в «Инструкции по биотехнике разведения семги ... , 1966»: с появлением чешуйного покрова связывают его завершение. Эта концепция представляется нам более правильной. Не совпадает интерпретация малькового периода в «Инструкции ... , 1979» и с таковой во «Временных биотехнических нормативах по разведению атлантического лосося на рыбоводных заводах Севзапрыбвода» (Приложение № 24 к приказу Госкомрыболовства России № 264 от 21.09.1999 г.), подлежащих в ближайшее время пересмотру. В них лосося называют «мальками» на коротком отрезке развития между «личинками» и «сеголетками». По-разному выделяют, обозначают этапы онтогенеза лососей и за рубежом. Согласно В. Е. Рикеру (Ricker, 1973), морфологически сформировавшаяся молодь, то есть малёк, у англичан – «fry», а у американцев – «fingerling». По И. Р. Аллану и Дж. А. Риттеру (Allan, Ritter, 1977), «alevin» соответствует развитию лосося от вылупления до завершения зависимости от желточного питания, «fry» – со времени независимости от желточного мешка до рассеивания из нерестовых бугров (в природе). В других публикациях термины «alevin» и «fry» рассматриваются как английский и американский синонимы этапа от вылупления до исчезновения внешнего выпячивания, либо полного рассасывания желточного мешка. Привязка смолтификации лосося в «Инструкции ... , 1979» к серебрению и изменению экстерьера при весе всего 5–7 г. (С.22, 72) не просто ошибочна, но чревата негативными последствиями с точки зрения эффективности рыбоводных мероприятий. Ссылаясь на неё, нередко рекомендуют выпускать в реки мелких серебрящихся сеголеток и двухлеток лосося в качестве «смолтов», в то время как в действительности такие рыбы – псевдосмолты. Наши исследования на реках Северо-Запада РФ показывают, что они, обычно, не мигрируют на нагул в год выпуска и не обеспечивают в дальнейшем удовлетворительного возврата производителей. Измерения смолтов, мигрирующих в устья российских рек бассейна Балтики, как и обратные расчисления их размеров по чешуе производителей, дают значения, соответствующие стандарту, принятому в Скандинавских странах (длина по Смитту от 14,5–15,0 см). Вес таких рыб – от 30 г. Не раскрывается в «Инструкции ... , 1979» принцип разграничения молоди по возрасту. Из Таблицы 4 (С. 29), содержащей нормативные плотности посадки на зимовку «сеголеток» и «двухлеток», упоминаний о выживаемости «годовиков» и «двухгодовиков» за зимовку, расчетов в процентах от количества перезимовавших «годовиков» (С. 30), можно лишь предполагать, что переход из одной категории в другую подразумевается с началом зимовки, но сроки её также не оговариваются. Всё это осложняет обозначение возраста молоди в документации заводов (р/з) и сопоставление показателей выпускаемой ими продукции с бионормативами для конкретных этапов рыбоводного цикла. В 1990-е гг. рабочей группой ИКЕС по балтийским лососям и кумже, в деятельности которой мы принимали участие, решено считать точкой отсчета календарного (=хронологического, астрономического) возраста лосося сроки его вылупления в реках и на р/з конкретных природно-климатических зон, а не придерживаться везде единой даты при подразделении рыбоводного материала на возрастные категории. В рамках данной концепции нами проанализированы многолетние данные по температурному режиму, времени прохождения основных этапов развития и темпу роста молоди на 4 лососевых р/з Ленинградской области. С учётом степени сходства динамики этих показателей, подразделили р/з на 2 группы: «северо-восточные» (холодные) – Свирский и Невский в системе стока Великих Озер Европы и «юго-западные» (более теплые) – Нарвский и Лужский на реках южного побережья Финского залива. Установлено, что на каждом р/з даты начала массового вылупления личинок и его завершения, перехода на экзогенное питание и т.д. различаются по годам (в зави-

симости от температуры воды), а в один и тот же год не совпадают у разных особей каждой генерации (в зависимости от времени закладки партий икры, её размеров). Для унификации результатов определены средние многолетние диапазоны сроков осуществления отдельных этапов и, на их основе, условные календарные границы возрастных категорий лосося. Их применяем как к генерациям, так и к отдельным особям. В условиях «северо-восточных» р/з личинки вылупляются с середины апреля до середины мая, а основное выращивание в 1-й год жизни длится с середины июня до конца октября. Исходя из этих сроков, предлагаем называть молодь на них «сеголетками» в период с 16 июня в год вылупления по 14 апреля следующего года, «двухлетками» – с 16 мая на следующий год после вылупления по 14 апреля 2 года спустя, «годовиками» и «двухгодовиками» – с 15 апреля по 15 мая через 1 и 2 года после вылупления. На «юго-западных» р/з вылупление происходит на протяжении апреля, а основное выращивание в 1-й год жизни – с начала июня до конца октября. Соответственно, молодь на них классифицируем как «сеголеток» в период с 1 июня в год вылупления по 30 марта следующего года, «двухлеток» – с 1 мая на следующий год после вылупления по 30 марта 2 года спустя, «годовиков» и «двухгодовиков» – с 1 по 30 апреля через 1 и 2 года после вылупления. Календарный возраст отражает время, прожитое после вылупления, но не этап онтогенеза. Рост и развитие лосося проявляют индивидуальные, популяционные особенности и существенно зависят от температурного, светового, трофического и иных экологических факторов. В северных реках лосось остаётся пестряткой 3–5 (до 7) лет, в южной части ареала – 1–2 года, а при акселерации в аквакультуре – всего несколько месяцев. Для сравнительной характеристики рыб из различных условий важнее **физиологический (= функциональный, биологических) возраст**, отражающий индивидуальное развитие. Он оценивается по комплексу морфофункциональных показателей на организменном, системном, тканевом, клеточном и/или молекулярном уровнях путём сопоставления их со среднестатистической нормой для конкретных этапов онтогенеза. Учитываются особенности поведения, метаболизма, роста, адаптационные возможности, устойчивость к стрессу, заболеваниям и т.д. Одна из особенностей определения физиологического возраста при системном подходе обусловлена явлением гетерохронии, из-за которой показатели этого возраста применительно к разным функциональным системам организма могут не совпадать.

STAGES OF DEVELOPMENT, CALENDAR AND PHYSIOLOGICAL AGE OF YOUNG ATLANTIC SALMON *SALMO SALAR* L.

I.G. Murza, O.L. Christoforov

Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia
bigfish@OC4414.spb.edu

The paper deals with subdividing of ontogenesis of young salmon into stages as well as with determination of chronological (calendar) borders for each age category of the fish under the hatchery conditions of Leningrad region of Russia and criteria to recognize their physiological age.

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ КОРМА И ТКАНЕЙ САМОК РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (*PARASALMO MYKISS* WALB.) РАЗНОГО ВОЗРАСТА

М.А. Назарова, О.Б. Васильева, П.О. Рипатти, Н.Н. Немова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
г. Петрозаводск, Россия
vasil@krc.karelia.ru

Для успешного разведения радужной форели на севере европейской части России, в частности в республике Карелия, необходимо учитывать многие факторы, такие как экологические условия региона, жизненный цикл выращиваемого вида и другие, особенно состав комбикормов. Благодаря веществам, входящим в состав корма, в том числе липидной компоненте, органы и ткани рыб снабжаются всеми необходимыми органическими элементами для энергетического и пластического обменов. Накопление и перераспределение липидов в организме рыб зависит не только от состава

корма, но и от сезона, возраста, пола и условий культивирования радужной форели. Нагульный период (лето и начало осени) характеризуются активным ростом и развитием рыб разного возраста. У половозрелых самок радужной форели данный период совпадает с экзогенным вителлогенезом, когда в ооциты поступают питательные вещества, как синтезированные в печени, так и из других органов и тканей. Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы являлось изучение липидного состава корма и тканей (мышц и печени) самок радужной форели двух возрастов.

Проведено исследование липидного состава корма и тканей (мышц и печени) самок радужной форели возраста 1+ (ювенильные особи) и 2+ (половозрелые особи), которые культивировались при одинаковых экологических и трофических условиях, что позволяет нивелировать влияние различных факторов. Сбор материала осуществляли в августе 2008 года. Липидный статус оценивали по следующим параметрам: общие липиды (ОЛ), общие фосфолипиды (ФЛ), холестерин (ХС), эфиры холестерина (ЭХС) и жирные кислоты общих липидов (ЖК). Пробы фиксировали смесью Фолча (хлороформ: метанол в соотношении 2:1 по объему). Разделение общих липидов проводили с помощью метода тонкослойной хроматографии восходящим способом в системе растворителей: петролейный эфир: диэтиловый эфир: уксусная кислота (в соотношении 90:10:1 по объему) при комнатной температуре. Концентрацию исследуемых параметров определяли спектрофотометрическими методами. Для анализа жирных кислот экстрагированные липиды подвергались прямому метилированию. Полученные метиловые эфиры ЖК разделяли на хроматографе «Кристалл 5000» («Хромотек»), идентификацию ЖК проводили с помощью сравнения логарифмических индексов с табличными значениями. Обработку данных осуществляли общепринятым методом вариационной статистики.

В результате проведенных исследований установлен одинаковый качественный липидный состав всех изученных образцов корма и тканей (мышц и печени) радужной форели, однако, количественное содержание изучаемых компонентов варьировалось. Доминирующими веществами в корме являлись ТАГ (82% от суммы общих липидов), преобладание которых возможно связано с тем, что цель введения липидов в состав корма, в первую очередь, заключается в обеспечении рыб энергией. Пластический обмен у рыб осуществляется преимущественно благодаря белковой составляющей комбикормов. Сравнение данных о содержании общих липидов в тканях радужной форели и корме выявило достоверные различия ($p \leq 0,05$) в изучаемых образцах. Концентрация всех групп ОЛ в корме оказалась выше, чем в тканях. Однако, уровень ФЛ в печени форели был значительно выше, чем в корме, что, вероятно, зависит не только от поступления данной группы соединений в организм в составе пищи, но и их активным синтезом в печени. Анаболические процессы наиболее интенсивно протекают в нагульный период (август), когда идет активный рост и жиროнакопление.

Сырьем для производства рыбной муки, которая служит основной составляющей корма для радужной форели, являются промысловые рыбы (треска, сельдь), поэтому состав жирных кислот в корме соответствует распределению жирных кислот в тканях рыб. Наибольший уровень ЖК в корме установлен для насыщенных ЖК (23% от суммы ЖК), где доминировала пальмитиновая кислота (16:0); и моноеновых (44% от суммы ЖК), мажорным компонентом которых являлась олеиновая жирная кислота (18:1(n-9)). При сравнении жирнокислотного состава мышц радужной форели и корма достоверных различий ($p \leq 0,5$) в содержании сумм насыщенных, моноеновых, n-3, n-6 полиненасыщенных ЖК обнаружено не было. Однако, уровень пальмитиновой ЖК (16:0) оказался достоверно ниже ($p \leq 0,5$), а олеиновой (18:1(n-9)) достоверно выше ($p \leq 0,5$) в корме, чем в мышцах. Концентрация предельных жирных кислот установлена выше для самок трехлеток, а моноеновых – для двухлеток. Таким образом, уровень ЖК в мышцах практически идентичен их концентрации в корме, что, вероятно, связано с депонирующей функцией данной ткани.

Установлено, что содержание предельных ЖК в корме достоверно ($p \leq 0,05$) более низкое, чем в печени, а уровень n-3 полиненасыщенных ЖК, напротив, значительно выше. Концентрация незаменимых ЖК: линолевой (18:2(n-6)) и линоленовой (18:3(n-3)) – в корме была выше, чем в печени. Обнаружено, что содержание моноеновых жирных кислот в корме значительно выше, чем в печени ювенильных самок и достоверно ($p \leq 0,05$) ниже, чем в печени половозрелых особей. Установленные различия, вероятно, связаны с тем, что в печени идут активные синтетические процессы, которые наиболее интенсивны в нагульный период, когда возрастает, в том числе, синтез липидов и жирных кислот.

Таким образом, выявлен одинаковый качественный липидный состав всех представленных образцов корма и тканей (мышц и печени) радужной форели, однако, в различной концентрации. Поступая в организм, липиды и жирные кислоты перераспределяются в зависимости от потребностей организма и выполнения тканями своих физиологических функций.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 08-04-01140-а, программы Президента РФ «Ведущие научные школы России» НШ № 3731.2010.4 и Программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России» на 2009–2010 гг.

FORAGE INFLUENCE ON LIPID STRUCTURE OF FABRIC DIFFERENT AGE RAINBOW TROUT (*PARASALMO MYKISS WALB.*) FEMALES

M. Nazarova, O. Vasiljeva, P. Ripatty, N. Nemova

Institute of biology of Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia
vasil@krc.karelia.ru

Studies of full lipid and fatty acids of fabrics (muscles and liver) of rainbow trout 1+ and 2+ as well as forage have been done. In all presented samples the parameters studied are present although in various concentrations. Arriving in an organism, lipids and fatty acids are redistributed depending on requirements of an organism and performance by fabrics of the physiological functions.

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ПИТАТЕЛЬНАЯ ЦЕННОСТЬ МЯГКОГО ТЕЛА МОЛЛЮСКОВ РОДА *DREISSENA* В ВОДОЕМАХ МАНЫЧСКОГО КАСКАДА

Н.А. Небесихина

ФГУП «АзНИИРХ», Ростов-на-Дону, Россия
nebo_N_71@mail.ru

Основу донных биоценозов водоемов Манычского каскада (Веселовское и Пролетарское водохранилища) составляют моллюски из родов *Dreissena*, *Unio* и *Anodonta*. Среди них доминирующую позицию (до 96–99%) занимает род *Dreissena*, представленный *Dreissena polymorpha* (Pall.) и *Dreissena bugensis* (Andr.).

Dreissena polymorpha и *Dreissena bugensis* относятся к видам-вселенцам, развитие которых играет большую роль в экосистеме водоема. Так, впервые моллюски *D. polymorpha* в водохранилищах Манычского каскада были отмечены в конце 1970-х годов и до конца XX века занимали доминирующее положение в донных биоценозах. Указанные моллюски вошли в пищевой рацион основных промысловых рыб, составляя до 93% пищевого комка у сазана, 73–92% у тарани, до 75% у густеры и 20–30% у леща. Следует отметить, что темп роста тарани и сазана водоемов Манычского каскада, значительно выше, чем этих же видов рыб из Цимлянского и Краснодарского водохранилищ.

В период 1990–2000 гг исследования малакофауны указанных водоемов не проводились. Однако, в этот период во многих водохранилищах наблюдалось появление бугской дрейссены – *D. bugensis*, ранее являвшейся эндемиком Днепровско-Бугского и Ингульского лиманов и нижних участков рек Днепра и Южного Буга. Ряд авторов отмечает тот факт, что во вновь заселяемых водоемах идет активное вытеснение вида *D. polymorpha* новым инвазионным видом *D. bugensis*.

В связи с этим определение различия в биохимическом составе и питательной ценности двух форм моллюсков водоемов Манычского каскада становится актуальным в современный период.

Автором была поставлена задача – определить содержание сухого остатка, общего белка, жира, углеводов, минеральных веществ и калорийности в мягком теле двух видов дрейссен.

Материал для решения указанной задачи был собран в течение вегетационных периодов 2006–2009 гг в водоемах Манычского каскада. Определения проводились по общепринятым методикам.

Полученные результаты по биохимическому составу и калорийности дрейссен, представлены в таблице.

Характеристика биохимического состава и калорийности мягкого тела моллюсков в водоемах Манычского каскада, % на сухой вес.

Показатели	<i>D. polymorpha</i>	<i>D. bugensis</i>
Сухое вещество	14,68 ± 0,86	12,57 ± 1,00
Белок	63,84 ± 1,49	63,98 ± 1,44
Жир	10,90 ± 0,52	10,37 ± 0,74
Углеводы	14,97 ± 2,43	16,88 ± 0,26
Зола	10,30 ± 1,15	9,98 ± 1,08
Калорийность, ккал/г	5,25 ± 0,06	5,29 ± 0,11

Как видно из данных таблицы, содержание белка и жира у обеих форм моллюсков находится на одном уровне.

Сравнение биохимического состава показало, что сухое вещество моллюсков отличается как в качественном, так и в количественном отношении. Так, у *D. bugensis* содержание сухого вещества ниже, чем у *D. polymorpha*, однако оно обладает большим запасом углеводов и более низким содержанием золы.

Расчет калорийности показал разницу по питательной ценности двух форм дрейссены. Если учесть, что мягкая часть у *D. polymorpha* в среднем составляет 40,16% а у *D. bugensis* – 36,76% от общего веса дрейссены, то калорийность моллюска на сырое вещество составит 0,31 ккал/г и 0,24 ккал/г, а на сухое 2,11 ккал/г и 1,94 ккал/г соответственно.

Таким образом, судя по биохимическому составу, мягкая часть *D. bugensis* содержит больше органических веществ, но при пересчете на вес целого моллюска калорийность *D. polymorpha* Манычских водохранилищ обладают большой питательной ценностью.

Следовательно, обладая меньшей питательной ценностью *D. bugensis* в ситуации доминирования в донных биоценозах в водоемах Манычского каскада, увеличит кормовые затраты основных промысловых рыб.

BIOCHEMICAL COMPOSITION AND NOURISHING VALUE OF SOFT BODY OF *DREISSENA* MOLLUSKS FROM THE MANYCH CASCADE WATERBODIES

N.A. Nebesikhina

Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH), Rostov-on-Don, Russia
nebo_N_71@mail.ru

Biochemical composition of the soft body of two dreissena species, *D. polymorpha* and *D. bugensis*, having been caught over last years in the Proletarski and Veselovski reservoir is assessed. We have determined the ash-free dry matter, proteins, fats, carbohydrates, ash and calorific content of the soft body of the mollusks.

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ РАЗНЫХ ПОРЦИЙ ТЕКУЧЕЙ ИКРЫ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ *SALMO SALAR* L.

З.А. Нефедова, С.А. Мурзина, Т.Р. Руоколайнен, О.Б. Васильева, Н.Н. Немова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия
znedfed@krc.karelia.ru

Одним из основных биохимических критериев зрелости икры и готовности ее к оплодотворению является содержание в ней липидов, а соотношение и уровень отдельных

фракций являются показателями жизнеспособности потомства (Крыжановский, 1960; Tocher, 2003). К началу нереста в яйцах лосося накапливаются (большой запас) структурные и энергетические липиды, которые должны обеспечивать нормальное развитие зародыша и выживание личинок после выклева.

Проведена сравнительная оценка липидных спектров разных порций текучей икры, обозначенных как начальная (1), средняя (2) и конечная (3) индивидуально из самок лосося *Salmo salar* L. в период нереста.

Методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли концентрацию общих липидов, в том числе триацилглицеринов (ТАГ), холестерина (ХС), эфиров холестерина (ЭХС), фосфолипидов (ФЛ) и их отдельных фракций: фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА), лизофосфатидилхолина (ЛФХ), фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилинозитола (ФИ) и сфингомиелина (СФМ) в разных порциях текучей икры лосося.

Установили, что уровень общих липидов в начальной и средней порциях текучей икры практически одинаков и составлял 21,9% и 21,4% сухой массы, соответственно, а в конечной порции икры был несколько выше – 23,4% сухой массы за счет повышенного содержания структурных ФЛ (11,0% сухой массы). При этом доля ФЛ в начальной и средней порциях икры составляла 9,1% и 9,5% сухой массы, соответственно. Повышенный уровень ФЛ в последней порции текучей икры связан с большей долей в них ФХ, ФЭА, ФС и ФИ по сравнению с первыми двумя порциями икры. ФХ наряду с ФЭА составляет основную массу фосфолипидов в яйцах лосося, как и у других видов рыб. Известно, что значительное количество ФХ связано со специфическим белком яиц – липовителлином, который под действием половых гормонов синтезируется в печени рыб, транспортируется кровью в ооциты и откладывается в желтке. В небольших количествах этот белок синтезируется в самих ооцитах (Айзенштадт, 1977). Липовителлин является основным резервным веществом яиц рыб, обеспечивающим энергетическими и структурными компонентами развивающиеся эмбрионы, а также личинки после выклева до перехода их на внешнее питание.

Известно, что близкие по своей химической природе глицерофосфолипиды ФХ, ФЭА и ФС метаболически связаны, и между ними возможны различные взаимопревращения. Так, при распаде ФХ специфический компонент холин служит одним из источников лабильных метильных групп, которые участвуют в синтезе фосфолипидов, что важно для развивающегося зародыша лосося с длительным эмбриональным периодом развития. Кроме того, ФХ может быть использован в процессе эмбриогенеза не только как структурное, но и как энергетическое вещество (Cowe et al., 1985; Sejas et al., 2004). ФХ, ФЭА и ФС являются не только структурными компонентами биомембран животных организмов, но и специфическими активаторами ряда мембраносвязанных ферментов (Тюрин и др., 1996; Коломийцева и др., 2003).

В последней порции текучей икры содержание запасных ТАГ превалировало по сравнению с двумя предыдущими, однако показатель отношения ТАГ/ФЛ был выше в первой порции (0,8 и по 0,7 – во второй и третьей). Следует отметить, что первая порция текучей икры отличалась повышенным уровнем структурных липидов – СФМ, ХС и его запасной формы ЭХС, а также показателем ХС/ФЛ.

Выявленные различия в содержании как общих липидов, так и их отдельных фракций (структурных ФЛ, ХС, запасных ТАГ и ЭХС) в сравниваемых порциях текучей икры одной самки лосося указывают на её липидную разнокачественность, которая может влиять на жизненную стратегию поведения будущих личинок лосося. Обсуждается важность полученных результатов для изучения биохимических предпосылок формирования разных фенотипических группировок молоди лосося.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 08-04-01140-а, РФФИ 08-04-01691-а, Программы Президента РФ «Ведущие научные школы НШ-3731.2010.4.

LIPID SPECTRUM OF DIFFERENT UNFERTILIZED EGG PORTIONS OF *SALMO SALAR* L.

Z.A. Nefedova, S.A. Murzina, T.R. Ruokolainen, O.B. Vasil'eva, N.N. Nemova

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia
znfed@krc.karelia.ru

The comparative study of total lipid spectrum and individual phospholipids in three portions of unfertilized eggs from individual females of *Salmo salar* L. during spawning was made using TLC and HPLC methods. The significant differences in amount of total lipids and levels of neutral and polar lipid classes in

portions of unfertilized eggs were determined which might show lipid spectrum distinction of early, middle and late portions of spawn eggs. The established lipid spectrum of eggs might affect on a life strategy and survival rate of larvae *Salmo salar* L. in nature. We discussed importance of results in light of contemporary view on biochemical supposition in formation of different phenotype groups of *Salmo salar* L. larvae.

ГОРМОНЗАВИСИМОСТЬ ЭМБРИОГЕНЕЗА ПРУДОВИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*LYMNEA STAGNALIS*, L., GASTROPODA, PULMONATA)

С.М. Никитина, Н.П. Кудикина

Российский Государственный Университет им. И.Канта, Калининград, Россия
SWETMIN@Gmail.com

Недостаточная изученность гормонзависимости эмбриогенеза и раннего постэмбриогенеза легочных брюхоногих моллюсков определила цель работы – анализ влияния экзогенных нейрогормонов (окситоцин, питуитрин) и стероидных соединений (прогестерон, фолликулин, тестостерон, гидрокортизон и ретаболил и их комбинаций) на репродуктивные особенности и эмбриогенез прудовика обыкновенного.

В эксперименте использовано 480 одноразмерных прудовиков, имевших сходное функциональное состояние. Всем прудовикам внутримышечно вводили физиологическую дозу одного из гормонов. Животные в контроле получали «холостой укол» физиологического раствора. Проведена стандартная статистическая обработка результатов и дисперсионный двухфакторный анализ данных, характеризующих каждую стадию эмбриогенеза. Установлена статистически достоверная синхронность эмбрионального развития в каждой экспериментальной и контрольной группах.

В контроле 10–20% прудовиков ежедневно откладывали яйцевые шнуры. Время между кладками – 7 суток, что больше ($P=0,01-0,001$), чем в эксперименте. Одна особь за 10 суток отложила $1,45 \pm 0,13$ кладки. Динамика «нереста» в эксперименте зависит от действующего гормона. «Нерестится» от 30 до 75% особей (с гидрокортизоном до 2%). Увеличилось ($P=0,001$) количество кладок у прудовиков, инъецированных стероидами.

Фолликулин и ретаболил + тестостерон не влияли на величину кладки. Гидрокортизон и фолликулин + ретаболил вызвали ее уменьшение ($P=0,001$). Количество яиц в кладке в остальных группах больше ($P=0,001$) чем в контроле ($62 \pm 1,8$), также как и количество яйцевых капсул от одной особи за сутки (в контроле – $9,3 \pm 0,2$).

Абсолютный возраст «выклева» в контрольной группе варьирует в широких пределах и зависит от температуры (от $650,00 \pm 2,68$ при 17–18 °С до $339,5 \pm 2,9$ при 20–22°С). Продолжительность эмбриогенеза во всех экспериментальных группах, кроме ретаболила, меньше чем в контроле ($P=0,01-0,001$). Продолжительность выхода молоди в контроле около 5 суток, в эксперименте она варьирует от 4 до 7 суток. Динамика «выклева» эмбрионов в эксперименте определяется действующим гормоном. В контроле к самостоятельному существованию перешли 40,0–46,5% эмбрионов. Во всех экспериментальных группах – 51–74%. И только в группе фолликулин+тестостерон жизнеспособных эмбрионов было всего 10%.

Питуитрин ускоряет прохождение 1–2 стадий (дробления и первичной дифференцировки нервных элементов – клеток креста и розетки), тормозит 15–16 стадии (активная закладка нервной системы) и весь период гастрюляции. Выражен стимулирующий эффект питуитрина на формирование половой, пищеварительной, выделительной систем и органов чувств. Окситоцин не влиял на бластогенез и гастрюляцию, тормозил формирование трохофоры (19 стадия) и стимулировал образование легочной полости, осфрадия, буккальных ганглиев, начало формирования гермафродитной железы, репродуктивной и пищеварительной систем (23, 26–29 стадии). Активным индуктором отдельных стадий бластогенеза (4–7 и 9–15 стадии) был гидрокортизон. Прогестерон ингибировал дробление бластомеров. Начиная с 16–18 стадий (гастрюляция) происходит нарастание его стимулирующего эффекта вплоть до 29 стадии. Остальные стероидные соединения и их сочетания не влияли на ранний эмбриогенез прудовиков вплоть до завершения стадии ранней бластулы (2–13 стадии). Фолликулин, тестостерон и фолликулин + ретаболил достоверно укорачивают время прохождения стадии средней бластулы, ретаболил и тестостерон + фолликулин существенно его удлиняют.

Во всех группах, кроме «ретаболил + тестостерон, достоверно уменьшается время прохождения стадии поздней бластулы и гастрюляции.

Время прохождения ранней трохофоры (19 стадия) в фолликулине укорачивается, тогда как в остальных группах существенно удлиняется. Время прохождения стадии средней трохофоры в группах фолликулин, ретаболил и тестостерон + фолликулин сокращается. В остальных группах (особенно с тестостероном) скорость прохождения данной стадии уменьшается. Стадия поздней трохофоры (закладка церебральных ганглиев и глаз) замедляется фолликулином, ретаболилом и тестостероном. Ускорение наблюдается в комбинированных группах.

Ретаболил и тестостерон + фолликулин достоверно замедляют прохождение стадии велигера (22–24), остальные стероиды увеличивают скорость прохождения этой стадии. На стадии великонха (25 стадия) гормоны оказывают благоприятное влияние на формирование яйцевода, перикарда, на перемещение ноги. Фолликулин, тестостерон, ретаболил + тестостерон и тестостерон + фолликулин сокращают ($P=0,01$) время прохождения 26 стадии в 2, ретаболил – в 9 раз. Образование дивертикулов печени происходит на 27 стадии. Все соединения, особенно ретаболил сократили в 2.0–2.5 раза время ее прохождения. Закладка пениса, появление зоба и гермафродитного протока половой железы происходит на 28 стадии. В экспериментальных группах увеличивается время прохождения этой стадии. На последней (29 стадии) – стадии вылупления – гермафродитный проток уже соединен с яйцеводом. Во всех экспериментальных группах, кроме тестостерон – фолликулин, укорочение срока прохождения этой стадии, облегчает переход эмбрионов к самостоятельному существованию.

К 10-м суткам после выхода из яйцевых капсул размеры молоди в экспериментальных и контрольных группах практически одинаковы.

Проведенный анализ позволяет утверждать гормонзависимость репродуктивных особенностей, эмбриогенеза и постэмбриогенеза (количество и качество молоди) прудовика обыкновенного. Возможно использование изученных соединений при культивировании лабораторных легочных моллюсков.

THE INFLUENCE OF HORMONS ON EMBRIOGENESIS SNAIL ORDINARY (LYMNEA STAGNALIS, L., GASTROPODA, PULMONATA)

S.M. Nikitina, N.P. Kudikina

Russian State University. Kant, Kaliningrad, Russia
Swetmih@Gmail.com

The analysis of the influence of exogenous neurohormones (oxytocin, pituitrin) and steroid connections (the progesterone, folliclene, testosterone, hydrocortisone and retabolile and their combinations) on reproductive features and embryogenesis *Lymnaea stagnalis* the ordinary testifies that they stir up reproductive activity of *Lymnaea stagnalis*, a consequence of that is big, in comparison with the control, individual fruitfulness. The influence of the neurohormones on embryogenesis *Lymnaea stagnalis* is shown with 1–2 stages while steroid connections start to influence on later terms of development of embryos. Total time of embryogenesis, time of passage of separate stages, quantity durable fry are dependent on the hormones.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ И ЦИТОМЕТРИИ ЯДЕРНЫХ ЭРИТРОЦИТОВ ГИДРОБИОНТОВ (РЫБЫ И МОЛЛЮСКИ) В УСЛОВИЯХ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ И АНОКСИИ

В. Н. Новицкая¹, И. А. Парфенова²

¹ Институт биологии южных морей им А. О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,
Севастополь, Украина
novitsky_valya@mail.ru

² Севастопольский национальный технический университет Севастополь, Украина

В настоящей работе изучали морфо-метрические характеристики циркулирующей эритроцитарной массы у морских рыб и моллюсков, толерантных к экстремальным формам гипок-

сии и аноксии в естественных и экспериментальных условиях. Объектами исследования являлись представитель донной ихтиофауны *Scorpaena porcus* (далее скорпена: длина тела 13.5–19.0 см) и двустворчатый моллюск *Anadara inaequivalvis* (далее анадара: длина раковины 3.0–3.3 см). Скорпена способна выдерживать насыщение воды кислородом менее 15% более двух месяцев. Анадара легко переносит не только гипоксические, но и аноксические условия среды.

Эксперименты выполнены на специально изготовленном стенде, который позволял поддерживать заданные концентрации кислорода и температуру. Особи помещались в камеру объемом 13.5 л (по 3 экз. скорпены или по 20–25 экз. анадары). Содержание кислорода в воде снижали прокачиванием N₂ со скоростью 1.5 мг O₂ л⁻¹ час⁻¹. Контроль за величиной PO₂ осуществляли потенциометрически. В работе применяли оксиметр ELWRO N 5123 (Польша). Особи скорпены содержались при 20–25% насыщении воды кислородом в течение дней 40–45 дней. Анадара находилась в условиях аноксии в течение 3-х суток. Контрольные группы животных находились в хорошо аэрируемых аквариумах при содержании кислорода 8.5–8.7 мг л⁻¹ (95–97% насыщения). Ежедневно в опыте и контроле производили полную смену воды в емкостях для удаления метаболитов.

Кровь у рыб получали из хвостовой артерии путем отсечения хвостового стебля. У моллюсков – из экстрапаллиарного пространства. В качестве антикоагулянта применяли гепарин. Концентрацию гемоглобина определяли при помощи гемиглобинцианидного метода, гематокритная величина оценивалась путем центрифугирования образцов в специальном гематокритном роторе, число эритроцитов подсчитывали в камере Горяева. На основании полученных значений были рассчитаны эритроцитарные индексы: средноклеточное содержание гемоглобина (МСН), средноклеточная концентрация гемоглобина (МСНС), средноклеточный объем (MCV).

Мазки крови и гемолимфы окрашивали по комбинированному методу Паппенгейма. Перед приготовлением мазка эритроидные элементы гемолимфы моллюска трижды отмывали в изотоничном растворе NaCl путем центрифугирования (3500 об мин⁻¹ в течение 15 минут). На мазках при помощи окуляр-микрометра оценивали линейные характеристики эритроцитарной массы. Объем выборки составлял 100 клеток на мазок.

Скорпена. Зрелые эритроциты скорпены имеют эллипсоидную форму, большая и малая оси которых составляют соответственно 14.0±0.15 и 8.6±0.2 мкм. Эритроцитарные индексы близки к известным для других представителей донной ихтиофауны: 250±12.7 мкм³ (MCV), 58.9±2.3 пг (МСН), 23.6±0.41% (МСНС). Ядро компактное, имеет форму эллипса, хроматин сильно конденсирован. Продольная и поперечная оси составляют 5.3 ±0.1 мкм и 3.7±0.1 мкм. Объем ядра, рассчитанный по форме эллипсоида вращения, был равен 40.0±3.9 мкм³. Ядерно-плазматический индекс – 0.16±0.02. Это позволяет констатировать крайне низкую функциональную активность данной структуры клетки.

При гипоксии наблюдался рост линейных и объемных размеров эритроцитов и их ядер. В основном увеличивалась поперечная ось клетки – на 11% (p<0.01). Рост продольной оси фактически выражен не был. Клетки становились более округлыми. Разница между большой и малой осями уменьшалась на 15% (p<0.05). Величина MCV повышалась на 22% (p<0.01). Одновременно понижались значения МСНС при отсутствии выраженных изменений МСН. Такое соотношение показателей указывает на наличие свелинга клеток. Одновременно увеличивались размеры ядер эритроцитов. Размеры большой и малой осей данной структуры повышались на 9–11% (p<0.01), а объем ядра на 30% (p<0.001). Ядерно-плазматический индекс увеличивался на 11.3% (p<0.05).

Анадара. Циркулирующие эритроидные элементы гемолимфы моллюска фактически имеют округлую форму. Большая и малая оси клетки у контрольной группы особей были близки и составили 11.3±0.3 и 10.2±0.3 мкм соответственно. Цитоплазма ацидофильная, что отражает присутствие гемоглобина. Клетки содержат ядро. Оно небольшое и имеет эллипсоидную форму. Продольные и поперечные размеры этой структуры соответствуют 3.79±0.09 и 3.09±0.11 мкм. Содержимое ядра компактное с высоко концентрированным хроматином, цвет резко базофильный, что свидетельствует о низкой функциональной активности данной структуры. Используя формулу эллипсоида вращения, рассчитали объем ядра, который составил 19.3±1.9 мкм³.

Аноксия сопровождалась ростом линейных размеров клеток красной крови и их ядер. Продольное и поперечное сечение эритроцитов увеличивалось соответственно на 5.5 и 8.0% ($p < 0.05$) относительно контрольной группы животных. Клетки становились более округлыми. Разница между значениями большой и малой оси уменьшалась на 18.3% ($p < 0.05$). Это происходило на фоне роста значений MCV, снижения MCHC и отсутствии изменений со стороны MCH, что также позволяет констатировать наличие свелинга. Параллельно увеличивались и линейные размеры клеточных ядер на 3–8%. Особенно был выражен рост объема ядра – 22.5% ($p < 0.05$). Он превышал рост объема клетки, что нашло отражение в увеличении значений ядерно-плазматического индекса. В гемолимфе моллюсков возрастало число разрушенных эритроидных элементов. Количество эритроцитарных теней на мазках повышалось в 4.5 раза ($p < 0.001$) и достигало $56.3 \pm 5.0\%$ от общего числа клеток. Лизису подвергались, по-видимому, старые эритроидные формы, что отражает характер изменения морфо-метрических характеристик клеток.

Таким образом, независимо от систематического положения организма гипоксия и аноксия вызывали однонаправленные изменения в зрелых эритроцитах. Они сводились к росту линейных и объемных характеристик клеток на фоне увеличения размеров ядер и ядерно-плазматических отношений. Последнее отражает омоложение циркулирующей эритроцитарной массы и, по-видимому, связано со значительным лизисом старых эритроидных форм.

THE MORPHOLOGY AND CYTOMETRY CHARACTERS OF HYDROBIONTS NUCLEATED ERYTHROCYTES (FISHES AND MOLLUSCA) UNDER EXTREME HYPOXIA AND ANOXIA CONDITIONS

V. N. Novitskaya¹, I. A. Parfyonova²

¹ Institute of Biology of the Southern Seas, Sevastopol, Ukraine
novitsky_valya@mail.ru

² Sevastopol National Technical University, Sevastopol, Ukraine

The hypoxia and anoxia effect on circulated nucleated erythrocytes of Black sea hydrobionts was investigated. The hypoxia and the anoxia excited unidirectional changes in mature erythrocytes irrespective of systematic position of organism. It is observed rise of linear and volume characteristics of the cells against the background increasing of nucleus dimensions and nucleocytoplasmic ratio. This shows rejuvenation of red blood cells and it seems to depend on lysis of old erythroid forms.

ПРИМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНДЕКСА ПЕЧЕНИ РЫБ ДЛЯ ОЦЕНКИ СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ

Ю.В. Новоселова

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина
yunovosyolova@yandex.ru

Известно, что печень рыб наиболее чувствительна к химическим загрязнителям, которые аккумулируются в этом органе и подвергаются в нем биотрансформации. Совершенно очевидно, что индекс печени (ИП) рыб является информативным биоиндикатором состояния организма и среды его обитания. В связи с этим был проведен сравнительный анализ показателей вариации ИП рыб, принадлежащих к разным экологическим группам (донной и придонно-пелагической) – морского ерша *Scorpaena porcus* (L.) и султанки *Mullus barbatus ponticus* (Essipov) в период 2008–2009 гг из двух бухт Севастополя с различной степенью антропогенной нагрузки.

Отловленных рыб подвергали стандартному биологическому анализу, по результатам которого рассчитывали индекс печени, выражающийся в ‰ (промилле) как отношение массы печени рыбы к массе ее тушки. Выборки были дифференцированы по полу рыб, статистическую оценку проводили по Лакину (1990). Результаты анализа представлены в таблице.

Статистические показатели ИП рыб из двух бухт Севастополя в период 2008–2009 гг.

Показатели	Вид	Год	б. Александровская		б. Карантинная	
			♀	♂	♀	♂
Количество п	ерш	2008	112	56	144	143
		2009	39	19	161	214
	султанка	2008	35	32	133	117
		2009	39	22	265	125
Разброс R (min – max)	ерш	2008	6,93–55,42 48,49	5,14–55,09 49,95	7,76–65,47 57,71	2,83–54,97 52,14
		2009	7,50–41,70 34,20	8,54–32,68 24,14	5,33–66,27 60,94	3,04–60,38 57,34
	султанка	2008	14,14–34,59 20,45	9,56–29,57 20,01	5,34–37,11 31,77	5,45–32,15 26,70
		2009	14,23–59,44 45,21	12,31–44,38 32,07	9,26–53,03 43,37	8,30–33,79 25,49
Среднее M ± m	ерш	2008	22,21 ± 0,98	22,35 ± 1,42	26,15 ± 1,12	26,23 ± 1,11
		2009	17,32 ± 1,46	19,57 ± 1,63	22,97 ± 1,10	21,11 ± 0,73
	султанка	2008	20,92 ± 0,89	14,86 ± 1,48	21,57 ± 1,06	15,35 ± 0,81
		2009	23,30 ± 1,25	17,32 ± 1,52	20,95 ± 0,44	15,44 ± 0,38
Стандартное отклонение σ	ерш	2008	10,40	10,63	13,44	13,32
		2009	9,14	7,10	13,90	10,62
	султанка	2008	5,27	4,28	6,22	4,49
		2009	7,79	7,12	7,18	4,23
Коэффициент вариации V, %	ерш	2008	46,82	47,55	51,38	50,79
		2009	52,79	36,29	60,51	50,32
	султанка	2008	25,20	28,81	28,85	29,23
		2009	33,45	41,10	34,25	27,40
Коэффициент асимметрии As	ерш	2008	0,99	1,84	0,90	0,55
		2009	1,28	0,42	1,36	1,49
	султанка	2008	1,21	1,91	0,12	0,97
		2009	2,79	2,86	1,82	1,19

В результате исследований морского ерша, относящегося к донной группе, не выявлено достоверных различий значений ИП печени самок и самцов из обеих бухт. Однако в 2008 г. у рыб обоих полов, а в 2009 г. только у самок из бухты Карантинной показатели ИП были достоверно выше по сравнению с соответствующими параметрами рыб из бухты Александровской. В 2008 показатели ИП у рыб обоих полов из бухты Карантинной, а также у самок из бухты Александровской были достоверно выше, чем в 2009 г. Следует отметить, что показатели вариации ИП у самок морского ерша из обеих бухт выше, чем у самцов, а у рыб из бухты Карантинной выше, чем у рыб из бухты Александровской. Незначительное снижение показателей вариации наблюдалось у самцов из Александровской бухты в 2009 г. по сравнению с 2008 г.

У пелагического вида султанки ИП самок был достоверно выше, чем у самцов. Достоверные отличия между самками и самцами из различных бухт отмечены только в 2009 г, причем показатели ИП рыб в Александровской бухты были выше по сравнению с параметрами рыб из бухты Карантинной. В период с 2008–2009гг. достоверных изменений показателей ИП султанки не установлено в Карантинной бухте, тогда как показатели ИП в Александровской бухте в 2009г. существенно возросли. Показатели вариации ИП султанки не имеют существенных различий в зависимости от пола и места обитания, но в 2009 г. они существенно возросли.

По сравнению с морским ершом у султанки отмечены более низкие значения ИП и показатели вариации, что может быть обусловлено более комфортной средой обитания в срединных слоях воды, которую предпочитает этот придонно-пелагический вид. Морской ерш подвержен большому влиянию химического загрязнения, аккумулированного в грунтах, что отразилось на значениях его ИП и показателях вариации.

Можно заключить, что придонный слой воды в бухте Карантинной является неблагоприятной средой обитания для рыб по сравнению с бухтой Александровской, где к 2009 г можно отметить тенденцию к улучшению состояния среды. В отношении пелагиали отмечается обратная закономерность – бухта Александровская имеет тенденцию к большему загрязнению, чем Карантинная, и к 2009 г. эта тенденция продолжает возрастать. Это может быть связано с диффузией вод – донная зо-

на литорали позже реагирует на загрязнители, но уровень загрязнения бентосных вод ощутимо выше, чем пелагических. Таким образом, ИП рыб является информативным показателем состояния рыб и среды их обитания.

APPLICATION OF FISH LIVER INDEX VALUES FOR THE EVALUATION OF ECOLOGICAL STATUS OF ENVIRONMENT

J.V. Novoselova

Institute of the biology of the Southern Seas National Ukrainian Academy of Sciences, Sevastopol, Ukraine
yunovosyolova@yandex.ru

The comparative study of liver index (LI) variations in two Black Sea fish species belonging to benthic and suprabenthic-pelagic groups was conducted. The differences of LI values and fluctuations connected with fish sex, ecological status and locations were observed. The use of LI as bioindicator of fish health and ecological status of their environment is discussed.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, ИСПОЛЬЗУЮЩИЕСЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ СЕВЕРНОГО БАССЕЙНА

С.И. Овчинникова., Л.И. Тимакова, Н.А. Панова

Мурманский государственный технический университет, кафедра биохимии, Мурманск, Россия
biochemistry@mail.ru

Был проведен сравнительный анализ биоэнергетического состояния рыб семейства Тресковые, *Gadidae*, (пикша, *Melanogrammus aeglefinus*, треска, *Gadus morhua morhua*, сайка, *Boreogadus saida*, сайда, *Pollachius virensu*) и семейства Камбаловые, *Pleuronectidae*, (морская камбала, *Platessa platessa*, палтус синекорый, *Reinhardtius hippoglossoides*) обладающих разной двигательной активностью. Использовались такие биохимические маркеры, как содержание аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), аденозиндифосфорной кислоты (АДФ), аденозинмонофосфорной кислоты (АМФ), величина аденилатного энергетического заряда (АЭЗ) и процентное соотношение компонентов фракций адениловых нуклеотидов (АД) в белых мышцах самцов и самок в различные периоды годового цикла.

В работе представлены результаты сравнительного анализа для морской камбалы и трески. Проанализированы особенности сезонной динамики содержания адениловых нуклеотидов, величины АЭЗ и процентного соотношения АТФ: АДФ: АМФ в белых мышцах рыб. Определены половая специфика и причины различий в обмене адениловых нуклеотидов у самцов и самок морской камбалы и трески. Установлено, что наименьшее суммарное содержание АД и АТФ, было характерно для преднерестового периода. Для этого этапа АЭЗ имеет низкие значения. Преднерестовый период также характеризуется наибольшим количеством АМФ в белых мышцах. Ближе к нересту наблюдалось значительное повышение содержания АТФ в мышцах самцов морской камбалы – в 3,2 раза, самок – в 2,5 раза по сравнению с преднерестовым периодом. Для трески в период нереста характерно увеличение количества АТФ в 2,4 раза у самцов и в 1,6 раза у самок по сравнению с преднерестовым периодом. У самцов морской камбалы в период нереста уровень АДФ и АМФ понизился в 1,5 и в 10 раз, у самок – в 1,4 и 3,4 раза соответственно. В мышечной ткани трески во время нереста содержание АДФ и АМФ уменьшилось в 1,7 и в 13 раз у самцов, в 1,4 и в 2,9 раза у самок. Начало восстановительного периода характеризовалось более низким уровнем АТФ по сравнению с предыдущими значениями: в 2,4 и 2,1 раза у самцов и самок морской камбалы, в 2 и 1,3 раза у самцов и самок трески. Значительную разницу колебаний уровня АТФ у самцов следует объяснить большими энергетическими расходами в период размножения. Содержание АДФ в посленерестовый период возрастало: в 1,7 и 2 раза у самцов и самок морской камбалы, в 2 и 2,2 раза у самцов и самок трески. В посленерестовом периоде зафиксированы максимумы содержания АДФ у морской камбалы и трески обоих полов. Количе-

ство АМФ в белых мышцах самцов и самок морской камбалы и трески также было больше, чем в период нереста: у самцов, соответственно, в 9,8 и 13,5 раза, у самок в 3 и в 2,8 раза. В преднерестовый, нерестовый и посленерестовый периоды выявлены различия в энергетическом обеспечении мышечной ткани самцов и самок, связанные, вероятно, с их разной ролью в репродуктивном процессе и особенно выраженные в период нереста. Содержание АТФ у самок в эти периоды было ниже, чем у самцов: для морской камбалы в преднерестовый период разница составила 21,6%, в период нереста – 37,5%, в посленерестовый период – 30,2%. В аналогичные периоды для трески показатели содержания АТФ у самок были ниже, чем у самцов соответственно на 19,8%, 45,4% и 18%. В преднерестовый период для самцов характерно также большее содержание АДФ в белых мышцах: значения этого показателя у них превосходили таковые для самок морской камбалы на 11,6%, для самок трески – на 18,5%. После нереста количество АДФ было выше у самок – на 14,4% у морской камбалы и на 12,3% у образцов трески. Наиболее значительная разница в содержании АМФ была зафиксирована лишь в нерестовый период. АМФ характеризовалась повышенными значениями у самок по сравнению с самцами. В белых мышцах самок морской камбалы количество адениловой кислоты было больше на 66%, в образцах ткани самок трески – на 80% по сравнению с тканями самцов. Суммарное содержание адениловых нуклеотидов отличалось у особей разного пола перед нерестом и в большей степени во время нереста – у самцов морской камбалы в эти периоды показатели АД были выше по сравнению с самками на 13,1% и 23,1%, у самцов трески – соответственно на 25,8% и 32,4%. У самцов обоих видов в нерестовый период отмечено существенное повышение значений АД. В преднерестовый период, во время нереста и в восстановительный период АЭЗ характеризуется пониженными величинами у самок – АЭЗ у них меньше, чем у самцов в среднем на 3,6%, 9,6%, 6,8% для морской камбалы и на 3,0%, 10,2%, 6,1% для трески. Наблюдаемые половые различия обмена адениловых нуклеотидов, вероятно, во многом обусловлены поведением рыб в период размножения, во время которого самцы чрезвычайно подвижны, агрессивны и раздражительны, а самки спокойны и флегматичны. Максимальные содержания АТФ, АД и значения аденилатного энергетического заряда установлены для периода нагула. Уровень АТФ по сравнению с посленерестовым периодом возрос в среднем в 3,6 раза у самцов и в 5,2 раза у самок морской камбалы, в 3,4 раза у самцов и в 4,1 раза у самок трески. Это самое значительное повышение содержания АТФ во всем годовом цикле. В период нагула отмечено наиболее существенное колебание уровня АДФ по сравнению с периодом после нереста. Содержание АДФ понизилось в 3,5 и 4 раза у самцов морской камбалы и трески, в 3,8 и 4 раза у самок данных рыб. Осенью содержания АТФ, АД и АЭЗ снизились, но уровень АТФ оставался достаточно высоким, что свидетельствует о том, что физиологические ритмы размножения вызывают гораздо большие сдвиги в энергетическом метаболизме мышечной ткани, чем колебания температуры воды в зависимости от времени года. В преднерестовый, нерестовый и посленерестовый периоды для самок морской камбалы и трески характерно в основном меньшее процентное содержание АТФ по сравнению с самцами своего вида. Массовые доли АДФ и АМФ в указанные периоды больше у самок. Кроме половых различий в содержании адениловых нуклеотидов, величинах АЭЗ и процентном соотношении АТФ: АДФ: АМФ, были установлены и значительные видовые различия в уровне макроэнергетических фосфатов и адениловой кислоты для морской камбалы и трески. Количество этих адениловых нуклеотидов на протяжении годового жизненного цикла у трески было ниже, чем у морской камбалы. Для трески характерно более высокое суммарное количество адениловых нуклеотидов АД и значение аденилатного энергетического заряда. Значения АД для самцов трески превышают таковые у самцов морской камбалы на 19,4%, для самок трески АД в больше, чем у самок морской камбалы на 13,9%. Величина АЭЗ для всех исследованных периодов больше у трески – на 10% у самцов и на 10,4% у самок по сравнению с морской камбалой.

Таким образом, установленное преимущество мышечной ткани трески по таким показателям, как абсолютное и относительное содержание аденозинтрифосфорной кислоты, суммарное содержание адениловых нуклеотидов и величина аденилатного энергетического заряда свидетельствует о более высоком уровне энергетического обмена у самцов и самок трески по сравнению с морской камбалой.

BIOCHEMICAL MARKERS, USING FOR ESTIMATION OF ENERGETIC STATE OF FISHES OF NORTH BASIN

S.I. Ovchinnikova, L.I. Timakova, N.A. Panova

Department of biochemistry, faculty of Biology Murmansk State Technical University, Murmansk, Russia
biochemistry@mail.ru

In this article we suggest the analysis of the seasonal dynamics of adenil nucleotides in north fish white muscle. We compare energy metabolism of *Gadus morhua morhua* L. and *Pleuronectes platessa* (L.) of the same age. Our results show that the quantity of macroergic compounds depends on life's stage, the sex (male or female), and different environmental factors. We also show that there are more ATP in the muscle tissues of more active cod.

РОЛЬ НЕЙПРОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПРОЦЕССАХ РАЗВИТИЯ СТРЕКАЮЩИХ (*AURELIA AURITA* (SCYPHOZOA) И *GONOTHYRAEA LOVENI* (HYDROZOA)) И ИХ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НА СТАДИЯХ РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА

Т.Д. Орлова, И.А. Косевич

Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
planyla@gmail.com, ikosevich@gmail.com

Многие представители Стрекающих (Cnidaria) в течение жизненного цикла претерпевают метаморфоз и, следовательно, смену жизненной формы.

Gonothyraea loveni (Hydrozoa, Campanulariidae) является морским колониальным гидроидным. Эмбриональное развитие и формирование личинки – планулы – происходят в медузоиде, после чего зрелые планулы покидают родительскую колонию. Личинка свободно плавает в толще воды, после чего оседает на подходящий субстрат и претерпевает метаморфоз, в результате которого образуется первичный побег будущей колонии.

Aurelia aurita (Scyphozoa, Semaestomeae) имеет сложный жизненный цикл с закономерным чередованием полового и бесполого размножения. Половое размножение присуще раздельнополой медузоидной форме. Эмбриональное развитие завершается формированием личинки планулы, которая покидает материнский организм и некоторое время ведёт планктонный образ жизни. Затем планула оседает на субстрат и претерпевает метаморфоз, формируя полипоидную форму жизненного цикла, отвечающую за бесполое размножение. Одна из форм бесполого размножения полипов – стробиляция – ведёт к появлению эфир, которые впоследствии трансформируются в половозрелую медузу.

Существенную роль в координации и реализации последовательных превращений из одной формы в другую выполняют нейропептиды и нейротрансмиттеры. Нейротрансмиттеры задействованы в качестве регуляторов морфогенеза и поведения. Нейропептиды представлены в эктодермальных сенсорных клетках и связанной с ними нервной сети.

Нами были исследованы стадии раннего онтогенеза *G. loveni* и *A. aurita* до формирования первичного побега колонии или полипа соответственно. При помощи метода иммуногистохимии были изучены пространственно-временные паттерны серотонина, FMRF-амида, γ -аминомасляной кислоты (для *A. aurita*), тирозинированного и ацелированного тубулина. Результат визуализировали при помощи конфокальной микроскопии. Кроме того, для эмбрионов и планул *G. loveni* был проведен ряд экспериментов по внесению в культуру с животными экзогенного серотонина или его блокаторов.

Основным результатом проведённых исследований стало обнаружение серотонина и FMRF-амида в апикальном органе препланул и зрелых планул *A. aurita*. У *G. loveni* серотонин также показан в апикальном органе, но только у зрелой планулы. Апикальный орган находится на переднем полюсе личинки и состоит из столбчатых эктодермальных клеток (более высоких, чем в окружающей эктодерме). В апикальном органе содержатся нейрональные клетки, благодаря чему его считают сенсорной структурой, позволяющей личинке получать внешние сигналы.

лы среды и выбирать подходящий субстрат для оседания и метаморфоза. По всей видимости, в приёме и передаче различных сигналов участвуют серотонин и FMRF-амид. Скорее всего, эти вещества выделяются из сенсорных клеток во внешнюю среду и межклеточное пространство, после чего взаимодействуют с рецепторами на поверхностях других клеток, передавая таким образом сигнал. На *A. aurita* было также проведено исследование наличия γ -аминомасляной кислоты, которое показало присутствие отдельных иммуноположительных клеток в эктодерме, в том числе в апикальном органе.

Чтобы доказать роль серотонина в передаче сигналов о метаморфозе были проведены эксперименты по внесению в культуру с планулами *G. loveni* блокаторов серотониновых рецепторов и серотонинового транспорта. Блокаторы серотониновых рецепторов не дали специфического эффекта, в высоких концентрациях вызывая летальный исход. Однако, блокатор серотонинового транспорта (белка транспортера SERT) имипрамин оказал специфическое подавление метаморфоза, которое частично снималось при введении в культуру серотонина, что доказывает специфичность воздействия. Эти опыты подтверждают связь серотонина с процессами метаморфоза, а также возможность захвата серотонина извне белком SERT, что, по всей видимости, происходит после выделения серотонина в окружающую среду.

В ходе метаморфоза, а также при формировании первичного полипа *A. aurita* или побега колонии *G. loveni* серотонин, FMRF-амид и γ -аминомасляная кислота не выявляются.

Работа поддержана контрактами с Роснаукой № 02.740.11.0280 и Рособразованием № П1291, а также программой Ведущих научных школ НШ-4456.2010.4

THE ROLE OF NEUROACTIVE SUBSTANCES DURING THE DEVELOPMENT OF CNIDARIA (*AURELIA AURITA* (SCYPHOZOA) AND *GONOTHYRAEA LOVENI* (HYDROZOA)) AND THEIR DISTRIBUTION IN EARLY ONTOGENESIS STAGES

T.D. Orlova, I.A. Kosevich

Moscow State University, Moscow, Russia
planyla@gmail.com, ikosevich@gmail.com

Majority of cnidarian are characterized by complex life cycle, when different life forms consecutively change one another via metamorphosis. Neurotransmitters and neuropeptides are probably able to control behavior, metamorphosis and development processes in cnidarians life cycle. We studied some development stages of *Gonothyraea loveni* and *Aurelia aurita* for the presence of serotonin, FMRF-amide, γ -aminobutyric acid, tyrosinated and acetylated tubulin. Also we conducted experiments with the application of serotonin blockers to developing *G. loveni* larvae. Serotonin and FMRF-amide (*A. aurita* only) are localized in the ectoderm cells of planula apical organ. Serotonin transport blocker (imipramin) suppresses settlement and metamorphosis of planulae, but serotonin receptor blockers do not affect larvae specifically. There are no serotonin-positive cells in developing polyps of *G. loveni* and *A. aurita*.

ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА ПОПУЛЯЦИИ ЧЕРНОМОРСКОЙ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARK, 1819)

Н.В. Панасюк

Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону, Россия
nikita@mmbi.krinc.ru

В настоящей работе использован двусторонний подход, включающий оценку степени загрязнения по содержанию металлов (Cu, Ni, Zn, Fe, Pb) в тканях *Mytilus galloprovincialis* Lamark, 1819, а также оценку степени антропогенного воздействия на организмы – по физиологической устойчивости к стрессу отдельных особей.

Мы исследовали локальные популяции моллюсков, обитающих в прибрежных водах Сочи (43°35' с.ш. 39°43' в.д.), Мацесты (39°08' с.ш. 43°55' в.д.), Гагры (43°17' с.ш. 40°16' в.д.) и Таманского полуострова (мыс Панагия) (45°08' с.ш. 36°36' в.д.).

Анализ тяжелых металлов осуществляли на атомно-абсорбционном спектрометре «Квант-ЗЭТА». Величины концентраций металлов выражены в мкг/г сухого веса.

В качестве биомаркера загрязнения определяли физиологическую устойчивость моллюсков в безводной среде (Лебедева, Панасюк 2008). В течение всего эксперимента мидии держали в темном проветриваемом помещении при постоянной температуре 20°C и регистрировали продолжительность жизни моллюсков в этих условиях каждые 6 часа до гибели последнего животного.

Содержание тяжелых металлов в моллюсках. Ряды абсолютных величин накопления исследованных химических элементов в мягких тканях исследуемых моллюсков выглядели следующим образом: Fe > Zn > Cu > Pb, Ni. Мидии, собранные вблизи Мацесты, показали тенденцию к накоплению максимального, по отношению к остальным станциям, накопления 4-х из 5 исследуемых металлов. У мидий, собранных в прибрежных водах в окрестностей Сочи и Гагры, наблюдались сходные показатели в накоплении металлов. Мидии этих пунктов содержали минимальное количество свинца, железа и цинка, по сравнению с другими станциями.

Содержание Ni было максимальным у мидий собранных в прибрежных водах вблизи Мацесты ($1,3 \pm 0,04$). На всех остальных станциях содержание этого металла было значительно ниже, при этом минимальное среднее значение было отмечено на М. Панагия.

Содержание Cu было максимальным в тканях мидий, собранных в прибрежных водах вблизи Мацесты ($2,8 \pm 0,3$). Также достаточно высоким, по сравнению с остальными станциями, содержание Cu было отмечено в тканях моллюсков из прибрежных вод Гагры ($1,9 \pm 0,6$). В районах Сочи и м. Панагия содержание Cu в моллюсках было минимально.

Содержание Pb было максимальным у мидий собранных в прибрежных водах вблизи Мацесты ($0,3 \pm 0,01$). Среднее для м. Панагия был незначительно ниже, однако отличие не было достоверным. На одинаково низком уровне Pb содержался в тканях мидий собранных в прибрежных водах Сочи и Гагры.

Содержание Zn было максимальным в тканях мидий, собранных в прибрежных водах вблизи Мацесты ($55,5 \pm 5,4$). На втором месте по накоплению этого металла находилась Панагия ($42,2 \pm 4,4$). Меньше всего цинка обнаружено в моллюсках Сочи и Гагры. Среднее содержание металла было ниже у мидий собранных в районе Гагры, однако отличие не было достоверным.

Содержание Fe было максимальным в тканях мидий, собранных в прибрежных водах вблизи м. Панагия ($390,2 \pm 60$). Мацеста находилась на втором месте по накоплению этого металла ($295,7 \pm 13,7$). На фактически одинаково низком уровне Fe содержалось в тканях мидий собранных в прибрежных водах Сочи и Гагры.

Выживаемость в безводной среде.

Минимальное время жизни на суше составляло 3 дня у мидий из Мацесты и 4 дня у мидий, обитающих в водах у м. Панагия, 5 дней у мидий отобранных возле Гагры и 4 дня у мидий отобранных вблизи Сочи. Время гибели 50% тестируемых особей (LD50) варьировало от 4,5 дней для популяции мидии близ Мацесты до 8,9 дней у группы из прибрежных вод в районе Гагры. Для м. Панагия LD50 составляло 8,3, для Сочи – 5,8. Максимальное время жизни на суше для особей из Мацесты, Сочи, м. Панагия и Гагры составляло 8, 9, 12 и 13 дней и соответственно. Таким образом, мидии, обитающие вблизи Гагры и у мыса Панагия, демонстрировали более высокую жизнеспособность вне водной среды, в то время как моллюски, добытые в водах возле Мацесты, оказались более ослабленными.

На основе полученных данных мы можем сделать выводы, что накопление металлов у мидий проходит неоднородно, могло наблюдаться повышение содержание одного металла на фоне снижения содержания другого. Наши данные свидетельствуют о более низком показателе устойчивости в условиях стресса вызванного помещением в безводную среду мидий из прибрежных вод Мацесты. Можно предположить, что одним из факторов стресса является высокое содержание в воде этой части залива свинца, цинка и никеля который накапливается в тканях моллюсков. Данные металлы характеризуются медленным выведением из организма и обладают токсическим и мутагенным действием. Можно так же предположить, что накопление железа и меди, оказывают менее выраженное стрессовое воздействие на организм мидий.

MUSSEL (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAMARK, 1819) IN BIOINDICATION OF THE BLACK SEA POLLUTION

N.V. Pansyuk

nikita@mmbi.krinc.ru

The data on the contents of heavy metals (copper, nickel, zinc, iron and lead) in tissues of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lamark, 1819 of the Black sea are resulted in this publication. Four populations of mollusks living in coastal waters of the Sochi, Macesta, Gagra, and the Panagija cape (Taman) are investigated. Population from more polluted site (concentration of some metals in mollusk tissues were higher) characterized by lower stability under stress (the waterless environment). Authors assume that the stress (biomarker of pollution) could be determinate by water pollution by nickel, zinc and lead.

АКТИВНОСТЬ НУКЛЕАЗ В ТКАНЯХ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA L.*) ИЗ РАЗНЫХ ПО СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ РАЙОНОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

А.П. Попов, Л.В. Поликарпова, А.С. Коничев

Московский государственный областной университет, Москва, Россия

alexpopoff@rambler.ru

Рыбинское водохранилище – один из крупнейших искусственных пресноводных водоемов Европы – представляет собой интересный объект для проведения сравнительных экотоксикологических исследований. Воды основных питающих водохранилище рек (Волги, Мологи и Шексны), поступающая в водоем замедленного водообмена, продолжительное время сохраняют свои свойства и представляют собой в соответствующих районах (Волжский, Моложский и Шекснинский плесы) обособленные водные массы, что обуславливает существенные гидрохимические различия между отдельными участками водоема (Рыбинское водохранилище и его жизнь, 1972). Проведенные исследования показали пространственную неравномерность загрязнения Рыбинского водохранилища различными токсикантами антропогенного происхождения (Козловская, Герман, 1997; Флеров и др., 2000; Чуйко и др., 2008; Siddall et al., 1994). В связи с этим несомненный теоретический и практический интерес представляют эколого-биохимические исследования рыб из различных по степени антропогенной нагрузки районов водохранилища.

Целью настоящей работы являлось изучение активности ДНКазы и РНКазы – гидролитических ферментов, участвующих в обмене нуклеиновых кислот – в печени и жабрах леща (*Abramis brama L.*). Указанный вид рыб не совершает больших миграций, что позволяет получить биологический материал с привязкой к конкретным местам обитания (Моисеенко, 2005). Объектом для исследования служили лещи, выловленные траловым методом в конце июля 2008 года на 4 станциях Рыбинского водохранилища. Количество исследованных особей для каждой станции равнялось 10, для анализа использовали экстракты водорастворимых белков из соответствующих тканей. Активность ДНКазы и РНКазы определяли спектрофотометрически по приросту продуктов деградации ДНК и РНК соответственно (Попов и др., 2003; Rassel, Khorama, 1961). Определенные нами рН-оптимумы активности нуклеаз из тканей леща находились в пределах 5,2–5,6. За единицу активности принимали такое количество фермента, которое вызывало увеличение оптической плотности при 260 нм на 1 единицу после 1 ч инкубации при 37°C. Удельную активность ферментов рассчитывали в единицах активности на 1 мг белка, определенного по методу Лоури. Статистическую обработку результатов проводили по Стьюденту.

Полученные данные свидетельствуют о существенных отличиях в уровне активности нуклеаз между лещами, обитающими на разных участках водохранилища (табл.). Так, наиболее высокие значения активности ДНКазы и РНКазы в печени и жабрах были отмечены у лещей, выловленных на станции Первомайка. В остальных районах активность нуклеаз у лещей относительно этих величин имела тенденцию к угнетению, что особенно ярко выражено для станции Мякса, где все 4 исследуемые показателя были достоверно ниже таковых в Первомайке. В частности, на станции Мякса отмечен самый низкий уровень нуклеазной активности в печени лещей, при этом активность ДНКазы оказалась достоверно снижена относительно значений не только станции

Первомайка, но и станции Коприно. Несколько меньше, но также статистически достоверно относительно Первомайки, снижена активность ДНКазы в печени лещей на станции Волково. Активность РНКазы в жабрах лещей приблизительно одинаково угнетена на станциях 1–3 относительно ее уровня в Первомайке, активность ДНКазы в жабрах наиболее низка у рыб, выловленных на станциях Коприно и Мякса.

Согласно многолетним данным ряда авторов, по степени антропогенного загрязнения из исследуемых станций наиболее чистой является Первомайка, самой неблагополучной – Мякса, а Коприно и Волково занимают промежуточное положение (Козловская, Герман, 1997; Флеров и др., 2000; Чуйко и др., 2008; Siddall et al., 1994). Это позволяет предположить, что снижение уровня нуклеазной активности в тканях лещей обусловлено загрязнением соответствующих участков Рыбинского водохранилища, при этом выраженность наблюдаемых изменений находится в прямой зависимости от фактического уровня загрязнения конкретных районов. Полученные нами результаты хорошо соотносятся с данными о содержании малонового диальдегида и активности ферментов антиоксидантной системы (АОС) в печени рыб, полученными ранее (Морозов и др., 2008) для тех же особей лещей, которые были использованы в нашей работе. Эти данные свидетельствовали об активном функциональном состоянии АОС у лещей на станции Первомайка и подавленном состоянии АОС у лещей на станции Мякса, что позволяло предположить у последних развитие окислительного стресса, обусловленного загрязнением среды обитания.

Активность нуклеаз в тканях у лещей, выловленных на разных станциях Рыбинского водохранилища

Станция	Печень		Жабры	
	ДНКазы, ед./мг	РНКазы, ед./мг	ДНКазы, ед./мг	РНКазы, ед./мг
1. Коприно	2,52 ± 0,29* ³	9,25 ± 0,47	5,13 ± 0,25* ^{2,4}	14,67 ± 1,76* ⁴
2. Волково	2,02 ± 0,19* ⁴	9,00 ± 0,71	6,36 ± 0,17* ^{1,3}	14,29 ± 0,79* ⁴
3. Мякса	1,69 ± 0,13* ^{1,4}	8,27 ± 0,44* ⁴	5,30 ± 0,17* ^{2,4}	14,44 ± 1,05* ⁴
4. Первомайка	3,16 ± 0,36* ^{2,3}	9,83 ± 0,46* ³	7,23 ± 0,63* ^{1,3}	18,11 ± 1,56* ^{1,2,3}

Примечание: представлены средние значения и стандартные ошибки ($x \pm S$); * – активность достоверно ($p \leq 0,05$) отличается от активности на станции с указанным цифровым индексом.

Результаты нашей работы свидетельствуют, что уровень активности нуклеаз может служить не менее информативным показателем хронической интоксикации рыб, чем маркеры окислительного стресса. Гидролитические ферменты гидробионтов, и нуклеазы в том числе, напрямую не связаны с метаболизмом токсичных агентов в клетках, но играют существенную роль в функционировании лизосомального аппарата клеток и адаптивных перестройках метаболизма, что обуславливает их высокую чувствительность к токсическому воздействию (Высоцкая, Немова, 2008; Попов и др., 2008; Цветков и др., 2003; Цветков, Коничев, 2006).

Работа выполнена при содействии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (грант РФФИ № 08-05-00805). Авторы выражают глубокую признательность зав. лабораторией физиологии и токсикологии водных животных ИБВВ РАН, д.б.н. Г.М. Чуйко за предоставленный биологический материал.

THE ACTIVITY OF NUCLEASES IN TISSUES OF BREAM (*ABRAMIS BRAMA L.*) FROM DIFFERENT TO EXTENT OF POLLUTION AREAS OF RYBINSK RESERVOIR

A.P. Popov, L.V. Polikarpova, A.S. Konichev

Moscow State Regional University, Moscow, Russia
alexpopoff@rambler.ru

The activities of DNase and RNase were determined in branchiae and liver of breams caught by trawl net at four lab-stations of Rybinsk Reservoir. The highest activity of nucleases was detected at the station «Pervomayka» which had (according to literary data) the least extent of pollution. In other areas the activity of enzymes was smaller, especially at station «Mjakska». We suppose that the reduction of nucleases activities in tissues of bream is connected with anthropogenic pollution of respective areas of Rybinsk Reservoir.

ОЦЕНКА ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ЭМБРИОНОВ, ЛИЧИНОК И СЕГОЛЕТКОВ ЛОСОСЯ *SALMO SALAR* (LINNAEUS, 1758) MORFHA *SEBAGO* (GIRARD, 1853) В ПОКОЛЕНИЯХ *M* И *F1*

Э.К. Попова

ФГУ «Государственный природный заповедник «Кивач», п. Кивач, Республика Карелия
popova.kivach@list.ru

Одним из важных вопросов использования методов квантовой биологии в аквакультуре является выяснение возможности закрепления возникших эффектов (положительных модификаций) в последующих поколениях. На примере гуппи *Poecilia reticulata* нами было показано, что признаки, возникшие под влиянием лазерного излучения, сохраняются и в отсутствие индуцирующего фактора, то есть они ауторепродуцируются и проявляются в последующих поколениях. В результате экспериментальной работы, выполненной в 1998–2005 гг., впервые получено потомство первого поколения от производителей лосося, испытавших в раннем онтогенезе действие лазерного излучения в определенном дозовом интервале.

Работа выполнена в производственных условиях Кемского лососевого рыбоводного завода ФГУ «Карелрыбвод». Материалом для исследования служили икра, личинки и сеголетки онежского лосося исходного (*M*) и первого экспериментального (*F1*) поколений. Воздействие излучения гелий-неонового лазера (с определенной нами оптимальной энергетической экспозицией) на икру поколения *M* осуществлено в 1998 г. на стадии начала дробления, на личинок – в 1999 г. через несколько дней после выклева (вариант «ЛГН»). Контролем служили икра, личинки и молодь лосося, содержащиеся в обычных условиях. Инкубация икры и выращивание личинок поколения *F1* (варианты «ЛГН *F1*» и «Контроль *F1*») осуществлялись без фотобиологической стимуляции.

Отличительной особенностью раннего эмбриогенеза лосося, как и других видов рыб, при фотобиологической стимуляции является синхронность дифференцировки клеточного материала и формообразовательных процессов, симметричное расположение бластомеров на стадиях дробления, усиление синтеза меланина. Незначительное ускорение темпа морфогенеза отмечено у эмбрионов лосося, испытавших действие излучения гелий-неонового лазера. Аналогичная картина развития зародышей лосося наблюдается и в первом экспериментальном поколении.

Диаметр икры, полученной от самок природной популяции (*M*), в среднем составляет 6,8 мм. Икра, взятая у мелких «заводских» производителей (*F1*), мельче. Однако, диаметр икры в выборках из варианта «ЛГН *F1*» достоверно больше (6,1 мм), чем диаметр икры из контрольного варианта (5,8 мм), а коэффициент вариации признака – ниже (3,5 и 6,5% соответственно). Разница в уровне изменчивости размеров тел эмбрионов в первом экспериментальном поколении выражена ярче, чем в исходной группе (табл. 1). Выживаемость эмбрионов первого экспериментального поколения составляет в контрольном варианте 68,2, в опытном – 73,0%.

Таблица 1. Изменчивость длины тел эмбрионов лосося в поколениях *M* и *F1*

Варианты	Контроль		Лазерное воздействие	
	Длина ($S_x \pm x_{cp}$), мм	Коэффициент вариации (V),%	Длина ($S_x \pm x_{cp}$), мм	Коэффициент вариации (V),%
Исходное поколение <i>M</i> (декабрь 1998 г.)	5,28 ± 0,09	3,6	6,10 ± 0,06	18,1
Первое поколение <i>F1</i> (февраль 2004 г.)	9,31 ± 0,60	2,3	9,70 ± 0,11	3,6

В личиночном периоде развития лосося, как в исходном, так и в первом поколении, отмечено снижение коэффициента вариации размерно-весовых признаков как реакция на воздействие излучения He-Ne-лазера. Под влиянием фотобиологической стимуляции резорбция желточного мешка происходит быстрее. В пробах, взятых из контрольного варианта (*F1*) обнаружено достаточно большое количество аномалий развития (искривление туловища, водянка миокарда, кровоизлияния в области головы или желточного мешка). Уровень тератогенных проявлений у личинок из варианта «Контроль *F1*» составляет 18,5, из варианта «ЛГН *F1*» – 3,5%.

Прирост длины тел молоди лосося за период летнего выращивания в *F1* составляет 0,59 (контроль) и 0,96% в сутки (опыт). в то время как в *M* средний прирост сеголетков – 1,16–1,19% в сутки

в разных вариантах опыта. Различия в темпе роста молоди лосося в исходном и первом экспериментальном поколениях связаны, по-видимому, с разным температурным режимом лета 1999 и 2004 гг. Сеголетки исходного поколения из опытных вариантов по длине тел не отличаются достоверно от рыб из контрольного варианта. Длина тел сеголетков лосося из варианта «ЛГН F_1 » достоверно больше, чем из контрольного. Коэффициент вариации этого признака в опытном варианте ниже, чем в контроле как в M , так и в F_1 .

Как в исходной группе, так и в первом поколении, вариабельность признака «высота тела» выше у сеголетков лосося из контрольных вариантов. В отличие от рыб из M , в первом экспериментальном поколении средние показатели высоты тел лосося достоверно выше, чем в контроле.

В сентябре самые высокие показатели массы тел имели сеголетки лосося из варианта «ЛГН F_1 », причем, в отличие от сеголетков генерации 1998 года, различия статистически достоверны. В отсутствие индуцирующего фактора уровень изменчивости признака снижается незначительно (табл. 2).

Таблица 2. Изменчивость размеров и массы тел сеголетков лосося

Варианты опыта	$S_x \pm x_{cp.}$	σ	V, %	$S_x \pm x_{cp.}$	σ	V, %
	1999 г. (M)			2004 г. (F_1)		
<i>Длина тела, см</i>						
Контроль	8,10 ± 0,23	0,89	11,0	6,79 ± 0,16	0,62	9,1
«ЛГН»	8,08 ± 0,15	0,60	7,4	7,82 ± 0,17*	0,67	8,6
<i>Высота тела, см</i>						
Контроль	1,41 ± 0,05	0,21	15,1	1,16 ± 0,03	0,13	11,4
«ЛГН»	1,49 ± 0,03	0,14	9,3	1,48 ± 0,04*	0,14	9,2
<i>Масса тела, г</i>						
Контроль	5,11 ± 0,46	2,06	40,4	2,81 ± 0,22	0,87	30,9
«ЛГН»	5,03 ± 0,29	1,13	22,5	4,53 ± 0,33*	1,28	28,2

Примечание: * – $P < 0,001$

Таким образом, результаты проведенного эксперимента подтверждают вывод о том, что признаки, возникшие под влиянием малых доз мягкого электромагнитного излучения в исходном поколении, сохраняются у эмбрионов, личинок и сеголетков лосося первого поколения и в отсутствие индуцирующего фактора.

EVALUATION OF PHENOTYPIC VARIABILITY OF EMBRYO, LARVAE AND YEARLING SALMON SALMO SALAR (LINNAEUS, 1758) MORPHA SEBAGO (GIRARD, 1853) M AND F_1 GENERATIONS

Е.К. Попова

State nature reserve «Kivach», Republic of Karelia
popova.kivach@list.ru

The eggs and larvae of the salmon were exposed to the treatment of He-Ne-laser radiation. The producers (M -generation) have been grown up under factory conditions, further giving the next generation. There have been studied the peculiarities of growing and developing of embryos, larvae and yearling of the salmon of F_1 -generation. The features, which appeared under laser radiation, also remain when the inducing factor is away.

ФОТОРЕАКЦИИ ЦЕРКАРИЙ ТРЕМАТОД, КАК АДАПТАЦИЯ К ЗАРАЖЕНИЮ ХОЗЯИНА

В.В. Прокофьев

Псковский государственный педагогический университет, Псков, Россия
prok58@mail.ru

В жизненном цикле трематод церкария (свободноживущая личиночная фаза) выполняет расселительную функцию. После выхода из моллюска-хозяина в воду церкария должна выполнить свою главную биологическую задачу – найти и заразить следующего хозяина. Для успешного реше-

ния последней, личинки обладают сложным комплексом поведенческих адаптаций, среди которых одно из первых мест занимают фотореакции, особенно характерные для активно плавающих церкарий. Вместе с тем, исследований специально посвященных изучению фотореакций церкарий, явно недостаточно, причем большинство из существующих работ посвящены пресноводным видам.

Поэтому, с целью хотя бы частично восполнить это пробел, нами, с помощью специально разработанных приборов (микроаквариумы, волоконнооптические осветители) и методик (Прокофьев, 1997, 2006), были изучены реакции на свет церкарий различных систематических и экологических групп.

В качестве объектов исследований были выбраны литоральные церкарии:

1) пресноводные (Чудское озеро) – *Diplostomum chromatophora* (Diplostomidae) и *Cercaria laticaudata* (Echinostomatidae);

2) морские (Белое море) – *Himasthla elongata*, *H. militaris* (Echinostomatidae), *Cryptocotyle concavum*, *C. lingua* (Heterophyidae), *Maritrema subdolum*, *Microphallus claviformes* (Microphallidae).

С целью выяснения степени влияния уровня освещенности на распределение церкарий в толще воды, данные, полученные в ходе экспериментов, были обработаны методом однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты экспериментов и анализа показали, что церкарии разных видов реагируют на свет по-разному (табл.). При этом можно отметить ряд закономерностей.

Личинки диплостомид и гетерофиид обладают четко выраженной положительной реакцией на свет, особенно в первые часы жизни во внешней среде. При этом, как для *D. chromatophora*, так и для *Cryptocotyle concavum* и *C. lingua*, вторым промежуточным хозяином, которого заражают церкарии, служит молодь рыб. Наличие положительной фотореакции и дискретного типа локомоции (Прокофьев, 2006) обеспечивает личинкам возможность активно перемещаться и удерживаться в верхних, наиболее прогретых слоях воды, где как раз и концентрируется в дневное время молодь рыб. На наш взгляд, указанные особенности служат хорошей иллюстрацией того, как необходимость решить сходную биологическую задачу приводит к формированию сходных поведенческих реакций даже у представителей разных систематических и экологических групп трематод.

Влияние уровня освещенности на распределение церкарий в световом градиенте через 1 и 6 часов после выхода из моллюска

Вид церкарий	Возраст церкарий, час.	Знак реакции	Степень влияния освещенности (F _{эсп.})
<i>Diplostomum chromatophora</i>	1	+	66,3 (19,995)
	6	+	21,8 (2,822)
<i>Cercaria laticaudata</i>	1	+	92,8 (130,932)
	6	+	88,0 (74,342)
<i>Himasthla elongata</i>	1	-	89,5 (86,301)
	6	-	87,9 (73,970)
<i>Himasthla militaris</i>	1	-	85,7 (60,833)
	6	-	75,0 (30,228)
<i>Cryptocotyle concavum</i>	1	+	89,9 (90,286)
	6	+	69,3 (22,856)
<i>Cryptocotyle lingua</i>	1	+	87,6 (71,775)
	6	+	59,8 (15,081)
<i>Maritrema subdolum</i>	1	-	17,3 (2,121)
	6	не выражен	Н (1,942)
<i>Microphallus claviformes</i>	1	-	21,7 (2,797)
	6	-	17,2 (2,100)

Примечание. Н – различия дисперсий недостоверны при выбранном уровне значимости ($P \leq 0,05$); числовые значения – доля дисперсии объясняемая влиянием фактора (%); выделенные значения – $P \leq 0,005$; невыделенные значения – $P \leq 0,05$.

Иную картину демонстрируют изученные нами эхиностоматидные церкарии, вторым промежуточным хозяином для которых служат моллюски. Личинки *C. laticaudata* инвазируют пресноводных легочных гастропод (чаще всего различных прудовиков), которые держатся, в основном, на верхушках водных растений. Соответственно эти церкарии обладают ярко выраженной положительной реакцией на свет, обеспечивающей им попадание в зону контакта с потен-

циальным хозяином. И наоборот, церкарии *H. elongata* и *H. militaris* заражают, литоральных двустворок, главным образом мидию. Наличие отчетливой отрицательной фотореакции позволяет личинкам держаться в менее освещенных придонных участках, где как раз и обитают мидии. На примере эхиностоматидных церкарий отчетливо видно, что у близкородственных видов необходимость инвазировать хозяев с различной биологией приводит к появлению различий в поведенческих реакциях.

Микрофаллидные личинки *Maritrema subdolum* и *Microphallus claviformes* заражают высокоподвижных литоральных гаммарид, активность которых наиболее высока в сумерки. Днем на свету рачки малоподвижны и, в силу отрицательного фототаксиса, концентрируются у дна в затененных местах. Церкарии покидают моллюска-хозяина днем в наиболее светлое время суток (Прокофьев, 2006) и, обладая отрицательной реакцией на свет (особенно в первые часы жизни во внешней среде), также концентрируются в придонных затененных участках, т.е. в зоне, где вероятность контакта с амфиподами максимальна.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показывают, что фотореакции церкарий служат важной адаптацией к заражению хозяина. При этом характер реакций определяется не столько систематической принадлежностью личинок, сколько биологией заражаемого хозяина.

Работа выполнена при содействии Российского Фонда Фундаментальных Исследований.

THE BEHAVIOR RESPONSE OF CERCARIAE OF TREMATODA AS THE ADAPTATION TO INFECTION OF THE HOST

V.V. Prokofiev

The Pskov state pedagogical university, Pskov, Russia
prok58@mail.ru

Behavior response to the light effect of cercariae of some intertidal Trematoda is studied. Larvae demonstrate the different phototaxis. The revealed behavior of studied species allows the larvae reach areas where a contact with the host is most possible. The difference in behavior between cercariae Trematoda species in the response to the light effect depends on the difference in habitats of their hosts.

СЕРОВОДОРОД ЭНДОГЕННЫЙ ГАЗООБРАЗНЫЙ РЕГУЛЯТОР СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КОСТИСТЫХ РЫБ

Е.В. Пущина¹, Д.К. Обухов²

¹ Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия
puschina@mail.ru

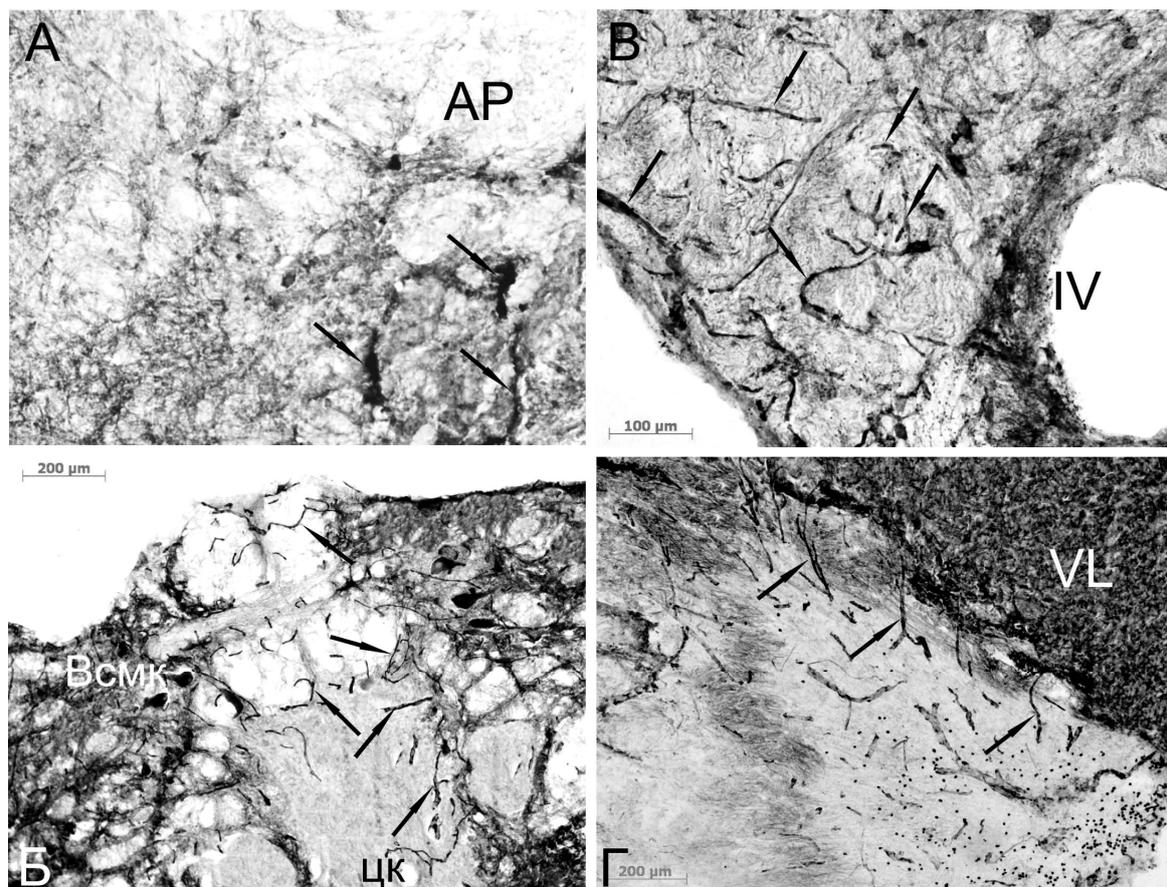
² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Большинство исследований по сероводороду (H₂S), впервые описанному в 1713 году, было посвящено его токсическим эффектам, однако недавно H₂S стал рассматриваться в качестве физиологически активного посредника. Предположения о физиологической роли H₂S возникли только в последнее время, что было связано с обнаружением высоких эндогенных концентраций сульфидов в крови и тканях мозга млекопитающих и некоторых позвоночных животных. Локализация цистатианин-β-синтазы, иммуногистохимического маркера H₂S – нового нейромодулятора/нейротрансмиттера в сосудах головного мозга костистых рыб ранее не исследовалась. Наличие H₂S в ЦНС системы рыб, интересно по нескольким причинам. Во-первых, рыбы являются наиболее древними представителями позвоночных. Во-вторых, в исследованиях на рыбах не было убедительно показано, что их сосуды продуцируют NO, или высвобождают NO-подобные факторы релаксации. В-третьих, у водных позвоночных базовый уровень продукции H₂S может быть выше, чем у наземных позвоночных, как за счет продуцирования клетками организма эндогенного H₂S, так и за счет образования экзогенного H₂S в ходе промышленных и сельскохозяйственных процессов, вследствие чего уровень H₂S в плазме рыб может превышать токсические ПДК в среде их обитания. Целью

настоящей работы стало сравнительное исследование локализации цистатианин- β -синтазы в сосудах головного мозга двух представителей костистых рыб Тихоокеанской симы *Onchorhynchus masu* и обыкновенного карпа *Carpinus carpio*.

Для идентификации H₂S-продуцирующих областей использовали метод непрямого авидин-биотинового-пероксидазного (АВС метод) иммуногистохимического маркирования цистатианин- β -синтазы на свободно плавающих срезах. Криостатные срезы головного мозга 5 представителей Тихоокеанской симы и 4 представителей карпа инкубировали с поликлональными антителами мыши против цистатианин- β -синтазы (Vector Laboratories, Burlingame, USA) в разведении 1: 5 000 при 4° С. Срезы далее инкубировали с вторичными биотинилированными антителами лошади против иммуноглобулинов мыши (Vector Labs, Burlingame, USA) при комнатной температуре. Иммуногистохимическую реакцию проявляли с помощью стандартной авидин-биотиновой системы визуализации АВС (Vectastain Elite ABC Kit, Vector Labs, Burlingame, USA). Для выявления продуктов реакции срезы инкубировали в субстрате для выявления пероксидазы (VIP Substrate Kit, Vector Labs, Burlingame, USA), контролируя процесс развития окраски под микроскопом Axiovert Apotome, срезы промывали и монтировали на предметные стекла, обезвоживали по стандартной методике и заключали в бальзам.

В сосудах Тихоокеанской симы иммунолокализация CBS была выявлена в продолговатом мозге в области, прилежащей к *area postrema* (рис. А). Средний диаметр иммунореактивных сосудов составлял 4–7 мкм, более крупные сосуды этой области имели диаметр 13–18 мкм. У карпа иммунолокализация CBS в сосудах была выявлена на всей территории головного и спинного мозга. Наиболее крупные CBS-ир сосуды обнаружены в дорсо- и вентро-медиальной областях спинного мозга, средний диаметр составляет 20 мкм (рис. Б). Внутрисосудистая иммунолокализация CBS у карпа также была обнаружена в продолговатом мозге (рис. В), и волокнистом белом слое, окружающем долю вагуса (рис. Г). Проведенные исследования показали, что в сосудах мозга симы иммуногистохимический маркер сероводорода цистатианин- β -синтаза распространена значительно меньше чем у карпа. Это позволяет предполагать, что у симы H₂S не является основным вазорегулятором, а эту роль берут на себя другие химически реактивные молекулы, например NO. Сероводород представляет собой третий газотрансмиттер воздействующий на кровеносные сосуды млекопитающих и впервые идентифицированный в сосудах головного мозга у рыб. Немногие сосудорасширяющие молекулы, отличные от H₂S, были обнаружены в плазме рыб в физиологически значимых концентрациях, и это возможно указывает на первостепенную роль H₂S в сердечно-сосудистом гомеостазе рыб. У крыс H₂S вызывает релаксацию артерий и вен *in vitro*, и понижает уровень кровяного давления *in vivo* (Hayashi et al., 2004). В клетках гладкой мускулатуры H₂S синтезируется перидоксаль-зависимыми ферментами и уровень его содержания в плазме определяет направленность вазоактивных эффектов (Gutterman et al., 2005, Hayashi et al., 2004). Механизмы, посредством которых реализуются отсроченные эффекты H₂S исследованы далеко не полностью, однако показано, что H₂S вызывает релаксацию сосудов посредством гиперполяризации и открытия АТФ-зависимых калиевых каналов (Haesslein, 2003). В некоторых случаях H₂S вступает во взаимодействие с NO, действуя как молекулы-синергисты, таким образом, взаимоотношения между этими двумя газотрансмиттерами возможно составляют дополнительный уровень сердечно-сосудистой интеграции. Регуляция синтеза, метаболизма и экскреции сероводорода у рыб, а также вопрос о том, почему уровень H₂S в плазме рыб может превышать токсический ПДК в среде, представляют значительный исследовательский интерес. Ранее проведенные исследования на Тихоокеанской симе показали низкую активность NADPH-диафоразы в сосудах головного мозга в норме и многократное его повышение при острой гипоксии (Пушина, Обухов, 2009). Распределение CBS в сосудах мозга симы в целом соответствует низкому уровню активности NO-продуцирующих систем в норме, однако NO возможно стимулирует метаболическую активность H₂S-путей. Исследования на форели показали, что в сердечно-сосудистой системе лососевых рыб могут проявляться токсические эффекты H₂S, а способность к вазорегуляции может определяться компромиссным соотношением экзогенного и эндогенного H₂S (Dombkowski et al., 2006). В сосудах головного мозга карпа CBS иммунолокализация была обнаружена в большинстве областей, что позволяет рассматривать H₂S в качестве превалирующего вазорегулятора у карпообразных. H₂S-продуцирующие системы в мозге костистых рыб, имеют существенные особенности организации, и значительные видовые отличия, коррелирующие с особенностями нейромедиаторных, в частности NO-продуцирующих систем.



Иммунолокализация цистатианин-β-синтазы в сосудах (показаны стрелками) головного мозга Тихоокеанской симы *Onchorhynchus masu* (А) и карпа *Carpinus carpio* (Б-Г).

Обозначения: ар – area postrema, IV – четвертый делудочек, VL – вагусная доля, Всмк – вентральная спинномозговая колонна мотонейронов, ЦК – центральный канал

HYDROGEN SULFIDE IS AN ENDOGENOUS VASOREGULATOR IN THE BRAIN OF TELEOST FISHES

E.V. Pushchina¹, D.K. Obukhov²

¹ Institute of Marine Biology Far East Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok
pushchina@mail.ru;

² Department Cytology and Histology, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

H₂S has been proposed to be an endogenous «gasotransmitter» similar to two other vasoactive gases, nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO). To our knowledge, the physiological function(s) of H₂S, or the presence of H₂S in the brain blood vessels, have not been investigated in nonmammalian vertebrates, and it is unclear if there is an evolutionary precedent for H₂S as a gasotransmitter. The existence of H₂S in fish is perhaps most intriguing. First, they are the most ancient of vertebrates. Second, many studies have been unable to show that fish vessels produce NO or release NO-like relaxing factors. Third, aquatic vertebrates may be subjected to substantially elevated ambient H₂S both through natural production and from a variety of industrial and agricultural processes, and vasoregulatory capability may therefore be compromised by exogenous H₂S. In the present study we examined the distribution of H₂S in the brain blood vessels of two teleost species *Onchorhynchus masu* and *Carpinus carpio*. Our findings provide strong support for H₂S as a physiologically important endogenous vasoactive "gasotransmitter" in teleost fishes.

СЕРОВОДОРОД КАК МОДУЛЯТОР ГАМК-ЭРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ В ЦНС КАРПА *CARPINUS CARPIO*

Е.В. Пущина¹, Д.К. Обухов²

¹ Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия
puschina@mail.ru;

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

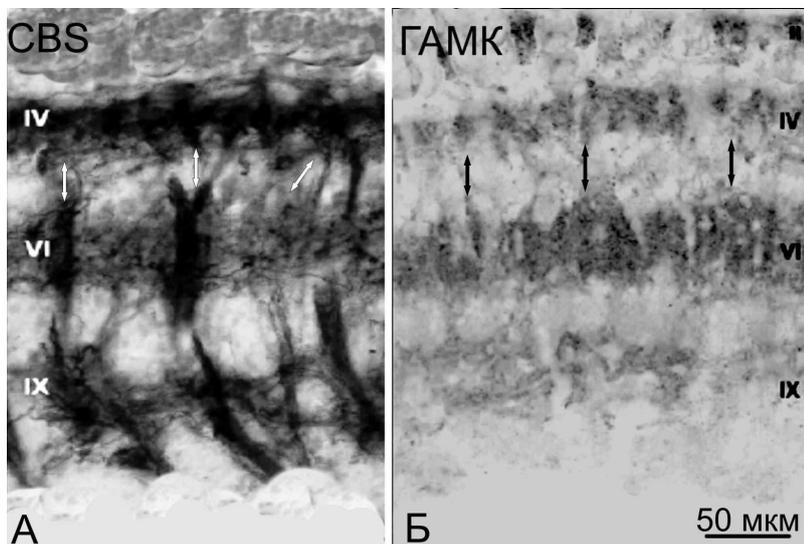
Изучение функционального влияния сероводорода (H₂S) в нервной системе млекопитающих началось относительно недавно, а выявления его роли в ЦНС низших позвоночных, в т.ч. рыб не проводилось, таким образом, до настоящего времени не ясно, является ли эволюционно оправданной тенденция H₂S как газотрансмиттера. Исследование внутриклеточных механизмов влияния NO и H₂S при нейромышечных взаимодействиях позволили установить основные мишени для газообразных посредников, участвующих в модуляции синаптических функций (Ситдикова, 2008). В наших исследованиях H₂S-продуцирующих ферментов в ЦНС костистых рыб выявило наличие CBS-иммунолокализации в нейронах, волокнах, глиальных клетках и внутримозговых сосудах.

Результаты наших исследований показывают, что у карпа в области вагусной доли, сенсорные слои которой являются гомологами ядра одиночного пути млекопитающих присутствует CBS-иммунолокализация (рис. А). У карпообразных первичные вкусовые волокна X нерва заканчиваются в вагусной доле (VL), представляющей собой крупную, ламинарно организованную структуру продолговатого мозга. Вкусовые ветви блуждающего нерва иннервируют небный орган и жаберную поверхность глотки, позволяя рыбе использовать ощущение, возникающее при раздражении слизистой оболочки языка для отделения потенциально пищевых объектов от несъедобных (Sibbing et al., 1986; Finger, 1988). Вагусная доля карпообразных организована в соответствии с соматотопическим принципом, при котором каждая участок внутри ротовой поверхности проецируется в строго определенные слои вагусной доли (Morita and Finger, 1985; Finger, 1988). Вагусные афференты заканчиваются в трех различных слоях сенсорной зоны (от внутреннего к наружному). Подавляющее большинство нейронов вагусной доли ориентированы радиально, как в гиппокампе млекопитающих (Morita et al., 1983; Smeraski et al., 2001). Таким образом, ламинарная структура вагусной доли карпа и наличие в ней радиально ориентированных нейронов позволяет рассматривать эту область мозга в качестве модели для исследования феноменов долговременной потенциации (ДВП) у низших позвоночных. В исследованиях на переживающих препаратах гиппокампа крысы было показано, что на физиологическом уровне H₂S избирательно стимулирует токи опосредованные НМДА-рецепторами. Такая стимуляция способствует индукции ДВП в гиппокампе, однако H₂S не индуцирует ДВП, а поддерживает ее в активных синапсах (Kimura, 2000). Механизм того, как H₂S потенцирует функции НМДА рецепторов остается неизученным. В большинстве сенсорных систем ГАМК может модулировать информацию, переносимую от первичных афферентных синапсов, как через пресинаптические, так и через ближайшие постсинаптические рецепторы (Johnston, 1996). В ядре одиночного пути млекопитающих выявлена ГАМК-эргическая модуляция нейронов второго порядка, участвующих в проведении вкусовой информации (Smith and Li, 2000). Исследования иммунолокализации ГАМК-переносчика (GAT-1) в вагусной доле карпообразных рыб позволили установить паттерны распределения ГАМК-эргических синапсов (Finger, 2001). Данные иммуномаркирования GAT-1 показали плотные точечные GAT-1-иммуногенные области, совпадающие со слоями окончания первичных афферентных волокон. Таким образом, ГАМК-эргические окончания расположенные вблизи первичных вкусовых афферентов проводят вкусовую сигнализацию как через GABA_A так и GABA_B рецепторы. В наших исследованиях было установлено, что распределения CBS в VL карпа в IV, VI и IX слоях сенсорной области совпадают с иммунолокализацией ГАМК (рис. Б). Эти данные согласуются с результатами маркирования окончания первичных афферентных волокон и распределения GAT-1 у золотой рыбки (Finger, 2001) и позволяют предполагать, что H₂S действует как посредник, легко проникающий через пресинаптическую мембрану и модулирующий тормозную нейротрансмиссию на уровне постсинаптических рецепторов.

Исследования гиппокампа млекопитающих показало, что H₂S регулирует GABA_B рецепторы, связанные с G-протеином в пре- и постсинаптических областях (Han et al., 2005). Стимуляция постсинаптических рецепторов порождает долговременные тормозные постсинаптические потенциалы, кото-

рые необходимы для тонкой настройки тормозной нейротрансмиссии. Показано, что H₂S участвует в гиперполяризации нейронов гиппокампа CA1 и дорсальном ядре шва путем увеличения оттока K⁺ через АТФ-зависимые калиевые каналы (Reiffenstein et al., 1992). В пресинаптических областях, GABA_B-рецепторы регулируют высвобождение ГАМК и глутамата, ингибируя потенциалзависимые Ca²⁺ каналы. H₂S может участвовать в поддержании баланса между возбуждением и торможением в мозге, путем воздействия на GABA_B рецепторы. ГАМК-эргическая нейротрансмиссия характеризуется высокой изменчивостью синаптических ответов. Главными компонентами этой изменчивости являются пре- и постсинаптические факторы, участвующие в высвобождении ГАМК, детерминирующие период существования ГАМК в синаптической щели, включающие диффузию ГАМК и действие ГАМК-переносчиков. Действие постсинаптических факторов связано с подтипами ГАМК-эргических рецепторов, локализация и количество которых может модулироваться при участии сероводорода.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что сероводород может выступать в качестве постсинаптического модулятора ГАМК-эргических рецепторов в вагусной доле карпа, а морфологическая и нейрохимическая структура VL позволяет рассматривать эту область мозга в качестве модели для исследования феноменов долговременной потенциации (ДВП) у низших позвоночных.



Иммунолокализация цистотионин-β-синтазы (А) и ГАМК (Б) в сенсорных слоях вагусной доли карпа *Carpinus carpio*. II, IV, VI, IX – сенсорные слои вагусной доли, двусторонними стрелками показаны зоны иммунолокализации

HYDROGEN SULFIDE AS MODULATOR GABA-ERGIC NEUROTRANSMISSION IN CNS OF *CARPINUS CARPIO*

E.V. Pushchina¹, D.K. Obukhov²

¹ Institute of Marine Biology Far East Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok
pushchina@mail.ru;

² Department Cytology and Histology, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

In most sensory systems, GABA can modulate information transfer at primary afferent synapses either via presynaptic receptors or proximate postsynaptic receptors. In *Carpinus carpio*, the primary gustatory fibers of the vagus nerve terminate in the vagal lobes (VL), which are large, laminated structures. The vagal afferents largely terminate in three distinct layers within the outer, sensory zone of the VL. Also, the vast majority of the neurons in the VL are radially oriented as in the mammalian hippocampus. These peculiarities of structural and neurochemical organization of VL suggest considered this brain area as a model for investigation phenomena of LTP in low vertebrates. In our investigation were established, that CBS-ir layers in VL coincided with GABA immunolocalisation. At presynaptic sites, GABA_B receptors regulate the release of neurotransmitters, such as GABA, by inhibiting the voltage-sensitive Ca²⁺ channels. Upregulation of GABA_B receptors expression by H₂S implies that H₂S may play a part in maintaining the excitation/inhibition balance in brain.

**ОЦЕНКА ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЯИЧНИКОВ
АНТАРКТИЧЕСКОГО КЛЫКАЧА *DISSOSTICHUS MAWSONI* (NOTOTHENIIDAE)
В РАЗНЫХ РАЙОНАХ ВЫЛОВА**

С.В. Пьянова

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО),
Москва, Россия
pjanova@vniro.ru

Антарктический клыкач – один из ценных объектов лова в зоне действия АНТКОМ. Гистологический анализ необходим для уточнения стадии зрелости яичников клыкача, поскольку выявлено несоответствие ее визуального определения и реального состояния ооцитов. Цель работы – гистологическое исследование оогенеза и стадий зрелости самок антарктического клыкача в различных районах Антарктики.

Проанализированы яичники 95 рыб из 5 выборок, выловленных в ходе промысла в декабре–марте 2004–2006 гг.: в море Росса судами «Янтарь» (статистические подрайоны 88.1 С, К, Н и 88.2 А) и «Волна» (подрайоны 88.1 С, К, Н, L, Е и 88.2 А), в море Амундсена (подрайон 88.2 F) и в Индоокеанском секторе (подрайоны 58.4.3, 58.4.1). Диаметры клеток измеряли на микро-срезах, стадии зрелости гонад определяли по шкале Юхова (1982) и данным Пьяновой, Петрова (2010).

Длина тела самок, отобранных на анализ, составляла 99,5–151,3 см в разных районах вылова, коэффициент зрелости 1,9–4,3%, коэффициент упитанности по Фультону 1,2–1,8% (табл. 1). Среди исследованных рыб преобладали самки в состоянии преднерестового нагула с гонадами на III стадии зрелости, их доля составила 47,0–92,3% в разных районах вылова. Длина самок в группах особей с созревающими яичниками IV стадии превышала длину всех самок в каждом районе вылова. Отмечена связь между величинами К зр. и диаметром вителлогенных ооцитов в яичниках самок. Коэффициент зрелости у созревающих самок в целом низкий 1,3–5,0%, но в 2006 г. в м. Росса выловлена 1 самка с К зр. =20% и наибольшим диаметром крупных вителлогенных ооцитов 2331,5 мкм по сравнению с другими районами.

Для клыкача характерен прерывистый тип оогенеза, при котором в яичниках, начиная с III стадии зрелости (рис. 1), присутствуют две изолированные размерные группы вителлогенных ооцитов: более крупные ооциты ближайшего нерестового сезона и резервная группа следующего года нереста.

Таблица 1. Сравнительные биологические характеристики самок антарктического клыкача с яичниками на IV стадии зрелости, выловленных в разных районах и подвергнутых гистологическому анализу

Средние показатели	Выборки в различных сезонах и районах вылова				
	2004/2005 г			2005/2006 г	
	1	2	3	4	5
	м. Росса ^а	м. Росса ^б	Индоокеанский	м. Росса ^б	м. Амундсена
	Все самки				
Количество самок, шт	17	21	24	13	7
Длина рыб, см	135,2	146,1	151,3	146,2	99,5
К зр.,%	1,9	2,6	3,6	3,0	4,3
К уп. Ф,%	1,8	1,4	1,2	1,4	1,3
Доля рыб с яичниками на III стадии зрелости	47,0	71,4	66,7	92,3	57,0
	Самки с яичниками на IV стадии зрелости				
Количество самок, шт	5	6	5	1	3
Длина рыб, см	152,8	146,2	172,2	153	109,7
К зр.,%	1,3	2,2	5,0	20	4,0
К уп. Ф,%	1,2	1,41	1,2	1,3	1,0
Диаметр крупных вителлогенных ооцитов, мкм	1093,8	1166,4	1244,0	2331,5	1143,5

Примечания: даны средние данные, ^а – вылов судном «Янтарь», ^б – судном «Волна».

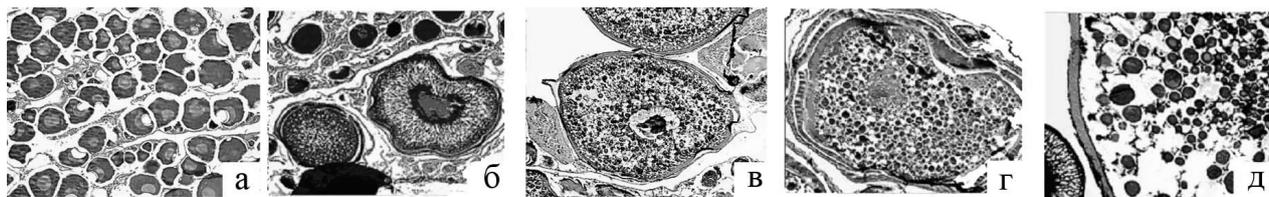


Рис. 1. Микроструктура яичников антарктического клыкача на разных стадиях зрелости, увеличение ок. 10×об. 10:

а) II стадия зрелости, б) III ранняя стадия зрелости, в) III поздняя стадия зрелости, г) III–IV стадия зрелости, д) IV стадия зрелости.

Для уточнения шкалы зрелости самок клыкача приведены цитологические показатели ооцитов в яичниках и их средние диаметры на разных стадиях (табл. 2).

Таблица 2. Гистологические критерии для определения стадий зрелости яичников клыкача

Стадии зрелости яичников	Гистологические критерии состояния ооцитов	Диаметр вителлогенных ооцитов, мкм	
		крупных	мелких
II	Ооциты цитоплазматического роста, редкие оогонии	нет	нет
III ранняя	Вакуолизация цитоплазмы ооцитов, мелкие гранулы желтка, ядро расположено в центре	522,0 ¹ –765,9 ⁴	294,9 ² –404,4 ⁴
III поздняя	Желточные гранулы заполняют цитоплазму ооцита, жировые вакуоли мелкие, не слившиеся, ядро теряет правильную форму	738,7 ⁴ –995,5 ³	541,6 ⁵ –672,5 ³
III–IV	Желточные гранулы начинают сливаться, жировые вакуоли многочисленные, ядро сильно уменьшается	999,8 ² –1229,1 ⁴	507,9 ² –758,1 ⁴
IV	Желток полностью гомогенный, жировые вакуоли многочисленные, ядро не выявляется	1093,8 ¹ –2331,5 ⁴	526,1 ² –727,5 ³

Примечания: даны пределы варьирования средних показателей в каждой выборке, номера районов и сезонов вылова соответствуют таблице 1.

Вариационные кривые размерного состава ооцитов в яичниках IV стадии зрелости у самок различных выборок подтверждают наличие двух обособленных групп вителлогенных ооцитов со средними диаметрами 800–1200-мкм и 1600–2000-мкм.

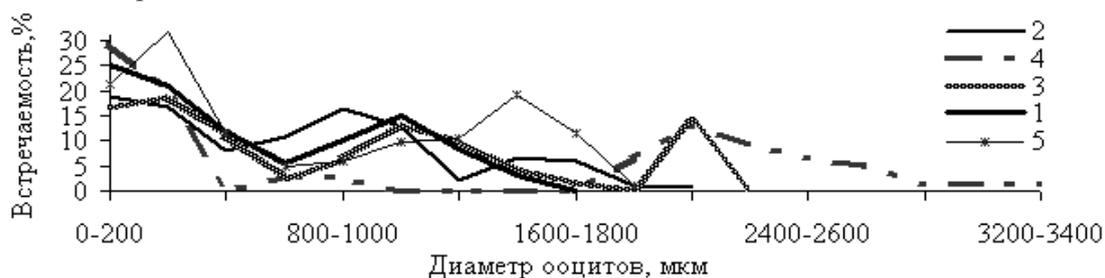


Рис. 2. Размерный состав ооцитов в яичниках IV стадии зрелости у антарктического клыкача, выловленного в разных районах, номера районов соответствуют таблице 1

Как видно, порция ближайшего нереста сформирована у самок из большинства районов вылова. Таким образом, для клыкача характерен прерывистый тип оогенеза при синхронном созревании ооцитов ближайшего нереста. На заключительной стадии созревания яичников (в марте–апреле) ооциты в фазе завершения вителлогенеза формируют группу клеток, обособленную от клеток резервного фонда. Предположительно, нерест антарктического клыкача происходит в июне–августе (Hanchet et al., 2003).

Полученные результаты войдут в банк данных АНТКОМ для анализа и рекомендаций по управлению нерестовым запасом антарктического клыкача как ценного промыслового вида рыб.

ASSESSMENT OF OVARIES HISTOLOGICAL CONDITION OF ANTARCTIC TOOTHFISH *DISSOSTICHUS MAWSONI* (NOTOTHENIIDAE) IN THE DIFFERENT REGIONS OF CATCH

S.V. Piyanova

Russian Federal Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, Russia
pjanova@vniro.ru

The results of the histological comparative analysis of the Antarctic toothfish reproductive system, caught in different regions during two fishing seasons, 2005–2006 in austral summer are presented. The morphological parameters of females, indices of gonads and condition by Fulton have been described. The histological criteria of the assessment of the ovary maturity stages, cytological parameters and size composition of oocytes, and type of the toothfish oogenesis have been determined. It was obtained that for Antarctic toothfish during the fishing period the individuals with gonads of the late III stage of maturity were dominated. Their ovaries contained two groups of vitellogenous oocytes. The large oocytes of the nearest spawning season have composed minority group of total cell number.

НЕНАСЫЩЕННЫЕ ЦЕПИ МОЛЕКУЛ ФОСФОЛИПИДОВ И СВОЙСТВА ГИДРАТИРОВАННЫХ ЛИПИДНЫХ БИСЛОЕВ: КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

А.Л. Рабинович¹, А.Р. Lyubartsev²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия
rabinov@krc.karelia.ru

² Department of Materials and Environmental Chemistry, Stockholm University, Stockholm, Sweden

Большую актуальность приобрели в последние годы исследования различных самоорганизующихся систем. Интерес к этим вопросам обусловлен стремлением не только расширить и углубить знания о фундаментальных законах природы, но и использовать принцип самоорганизации, как таковой. Изучение биологических мембран, бислоев и их отдельных компонентов – важнейшее направление в этом ряду.

В настоящей работе проведено компьютерное моделирование методом молекулярной динамики совокупности гомогенных бислоидных систем, образованных липидными молекулами с неразветвленными углеводородными цепями, – насыщенной sn-1 и ненасыщенной sn-2. Двойные связи последней были во всех вариантах метиленпрерывающимися. Липиды различались количеством двойных связей в sn-2 цепи во всем возможном диапазоне, при постоянном количестве углеродных атомов в цепях sn-1 и sn-2; длиной цепи sn-1 во всех вышеперечисленных вариантах липидных молекул с sn-2-цепями разной ненасыщенности; длиной цепи sn-2 для бислоев из полиненасыщенных липидов. Липиды рассмотренного строения входят в состав мембран большинства биологических объектов. Моделирование осуществлено в одинаковых условиях по температуре, давлению, методике проведения имитации.

Рассчитан ряд важных характеристик: профили плотности масс разных атомов и групп атомов вдоль нормали к поверхности каждой из мембран; средние положения разных атомов вдоль нормали; среднеквадратичные пространственные тепловые флуктуации атомов углеводородных цепей разного типа и полярных головных групп молекул липидов; профили параметров порядка всех связей молекул относительно нормали к поверхности бислоя; функции распределения векторов-связей по ориентациям относительно нормали к поверхности. Проведена аппроксимация последних и установлены соотношения между характеристиками функций распределения и типом связи (простая, двойная), ее расположением в цепи, величиной ее параметра порядка. Такой подход дает возможность выявить физическую картину упорядочения каждой связи в липидных молекулах разных типов. Проведен анализ различий в свойствах разных бислоидных систем.

Показано, что в гидратированном липидном бислое, образованном молекулами фосфатидилхолинов, среднеквадратичные пространственные тепловые флуктуации (вдоль нормали Z к поверхности бислоя, RMSZ) атомов относительно своих равновесных положений не являются одинаковы-

ми, они существенно зависят от местоположения атома в липидной молекуле. Наименьшие значения величин RMSZ соответствуют атомам глицеринового основания молекулы ФХ, в особенности атому углерода в «развилке» глицеринового основания. Тепловые флуктуации атомов, RMSZ, увеличиваются по мере продвижения от глицеринового основания по направлению (I) к атому азота вдоль цепи полярной головной группы липидов и (II) в наибольшей степени – вдоль жирнокислотных ацилов от групп C=O по направлению к концевым группам CH₃. В насыщенных *sn*-1 углеводородных цепях это увеличение RMSZ вдоль по цепи как атомов углерода, так и соответствующих атомов водорода является монотонным. В ненасыщенных *sn*-2 углеводородных цепях тенденция к увеличению флуктуаций RMSZ атомов вдоль по цепи по направлению к свободным концам также имеет место, но рост RMSZ монотонным не является. В моноеновой *sn*-2 цепи 18:1(*n*-9)*cis* липидной молекулы флуктуации RMSZ атомов углерода № 9 и № 10 при двойной связи превышают величину флуктуаций RMSZ соответствующих по номеру атомов углерода насыщенной *sn*-1 цепи того же бислоя («C=C-эффект»); при этом RMSZ атомов углерода двойной связи C=C больше по величине, чем RMSZ атомов углерода тех CH₂-групп, которые примыкают к двойной связи с обеих сторон. В полиеновых *sn*-2 цепях «C=C-эффект» тоже наблюдается, но его характер для той или иной двойной связи может претерпевать изменения. Характер зависит от количества, местоположения двойных связей в данной цепи, длины цепи. Нарушения «C=C-эффекта» наблюдаются для некоторых двойных связей, либо расположенных очень близко к группам C=O, т.е. к полярной головной группе липидов, где флуктуации RMSZ двойных связей, по-видимому, более затруднены, чем флуктуации связей простых, либо вблизи конца насыщенной цепи *sn*-1 при наличии в молекуле липида ненасыщенной цепи *sn*-2, более длинной, чем *sn*-1.

В центральной части зависимостей среднеквадратичных пространственных флуктуаций RMSZ атомов углерода от номера атома вдоль насыщенной *sn*-1 и ненасыщенной *sn*-2 цепи гидратированного липидного бислоя (т.е. профилей RMSZ) существует участок сравнительно медленного роста RMSZ (участок «плато»); заметный рост величин RMSZ наблюдается лишь для ~5–6 атомов, наиболее близких к концу цепей (к центру бислоя).

Угловые флуктуации относительно наиболее вероятного направления связи для C-H-связей CH₂-групп, примыкающих с обеих сторон к *cis*-двойным связям C=C в липидных цепях всех бислоев, оказались больше, чем угловые флуктуации C-H-связей при двойных связях C=C («эффект уширения ориентационных функций распределения»).

«Эффект уширения», а также «C=C-эффект» основаны на фундаментальных особенностях внутреннего вращения в ненасыщенных цепях и иллюстрируют физический механизм, который приводит к формированию более высокой равновесной гибкости ненасыщенных и полиненасыщенных углеводородных цепей по сравнению с насыщенными.

Средние *Z*-положения ($\langle Z \rangle$) центров концевых атомов C насыщенных *sn*-1 цепей противоположных монослоев изученных бислоев могут перекрываться (концевые атомы цепей одного монослоя – проникать в область другого, или располагаться очень близко друг к другу. Аналогичного перекрывания или сближения для ненасыщенных *sn*-2 цепей не отмечено ни в одном из 16 исследованных бислоев, хотя в серии бислоев 16:0/... ФХ наблюдается более заметное сближение концевых атомов ненасыщенных *sn*-2 цепей, чем в серии бислоев 18:0/... ФХ. Таким образом, толщина углеводородной области группы бислоев 18:0/... ФХ с насыщенной *sn*-1 углеводородной цепью 18:0 и ненасыщенной *sn*-2 цепью определяется главным образом насыщенной цепью 18:0, а толщина аналогичных бислоев 16:0/... ФХ с более короткой насыщенной *sn*-1 цепью может определяться не только насыщенной 16:0, но и (частично) ненасыщенной цепью *sn*-2.

Основной эффект, который вызывает замена в насыщенной углеводородной цепи одной или нескольких простых связей C-C на двойные C=C (но так, чтобы последние были метиленпрерывающимися), состоит в резком уменьшении упорядочения тех простых связей C-C, которые оказываются непосредственными соседями двойных, и в возрастании степени упорядочения двойных связей по сравнению со связями соответствующей насыщенной цепи.

Профили параметра порядка $-S_{CH}$ связей C-H ненасыщенных цепей обладают характерными «провалами» на участках локализации двойных связей *cis*-: параметры S_{CH} двух связей C-H во фрагментах H-C=C-H оказываются неодинаковыми.

Системы, содержащие цепи с наиболее протяженными полиеновыми участками, существенно выделяются по своим характеристикам. Причины различий являются фундаментальными, они связаны с раз-

личиями во внутренних вращениях. Совокупность этих особенностей можно рассматривать как молекулярный механизм, который и обеспечивает реализацию свойств цепей того или иного строения.

Работа поддержана РФФИ (проект 10-03-00201а), программой Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4 и Visby programme 00961/2008.

UNSATURATED CHAINS OF PHOSPHOLIPID MOLECULES AND PROPERTIES OF HYDRATED LIPID BILAYERS: COMPUTER SIMULATIONS

A.L. Rabinovich¹, A.P. Lyubartsev²

¹ Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia
rabinov@krc.karelia.ru

² Department of Materials and Environmental Chemistry, Stockholm University, Stockholm, Sweden

In order to investigate systematically the role of double bonds in physical properties of lipid membranes we have carried out series of molecular dynamics simulations of hydrated liquid crystalline phase phosphatidylcholine bilayers consequently changing the number of double bonds in the *sn*-2 chain of phospholipids having *sn*-1 saturated and *sn*-2 unsaturated chains. Different equilibrium structural and dynamic parameters of the bilayers were defined.

СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА, ФУНКЦИИ ДЛИННОЦЕПОЧЕЧНЫХ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО)

А.Л. Рабинович, П.О. Рипатти

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия
rabinov@krc.karelia.ru

Основу биологических мембран образуют молекулы фосфолипидов. Ключевое значение для функционирования биомембран имеют полиненасыщенные (ПН) цепи липидов. Большинство жирнокислотных (ЖК) цепей имеет длину $N = 12, \dots, 22$ углеродных атома и количество двойных $C=C$ связей $k = 1, 2, \dots, 6$, двойные связи являются метиленпрерывающимися. В некоторых биомембранах, наряду с перечисленными выше, обнаружены цепи «необычные», выделяющиеся по этим параметрам из общего ряда цепей (их длина N достигает $\sim 38-40$ углеродных атомов). Подобные необычные цепи идентифицированы в составе липидных молекул мембран многих организмов, – это общебиологическое явление. Обнаружено, что необычно длинные цепи находятся в составе молекул фосфатидилхолинов (ФХ) тоже исключительно необычных типов. Их необычность в том, что длинные цепи локализованы в положении *sn*-1 глицеринового основания, тогда как в молекулах ФХ «обычных» типов положение *sn*-1, как правило, занято насыщенной углеводородной цепью (например, 16:0, 18:0). При этом в положении *sn*-2 молекул ФХ как обычных, так и необычных типов, расположены обычные насыщенные, мононенасыщенные или ПН цепи длиной $N < 24$.

Экспериментальные данные о свойствах необычных ЖК цепей (встречающихся в малых количествах) в литературе фактически отсутствуют или чрезвычайно скудны. В настоящей работе методом статистических испытаний (Монте-Карло, МК) проведена компьютерная имитация конформационного поведения одной из типичных совокупностей необычных ПНЖК цепей. Изучены при температуре 25°C свойства набора необычных ПН цепей, избранного в итоге анализа биохимических данных для многих объектов: $N:4(n-6)cis$, $N:4(n-3)cis$, $N:5(n-6)cis$, $N:5(n-3)cis$, $N:6(n-6)cis$, $N:6(n-3)cis$. Количеством атомов углерода было четным, $N = 24, 26, 28, \dots, 38$. Вычислены характеристики равновесной гибкости цепей.

Оказалось, что конкуренция влияния на свойства цепи количества k двойных связей и их местоположения приводит к совпадению величины гибкости в результате специфического «ком-

пенсационного эффекта». Выявленный компенсационный эффект представляется чрезвычайно важным: компенсация достигается в том случае, когда количество двойных связей сокращается на единицу (что уменьшает гибкость цепи) при одновременном смещении всей группы двойных связей на 3 углеродных атома к середине цепи (что увеличивает гибкость). Выполняется ли это правило для всех номеров j атомов углерода вдоль по цепи рассмотренных необычных ацилов, а также ацилов в ином диапазоне N , подлежит дальнейшему исследованию, но оно выполняется, во всяком случае, при $j=3$ и 6 .

Равенство гибкостей у подобных цепей с равным N означает, что их вклад в жидкость мембраны примерно одинаков. Кроме того, известны данные о температурных коэффициентах размеров ПНЖК. Это позволяет развить концепцию о локализации молекул липидов с такими необычными цепями в специальных областях: пограничных слоях с мембраносвязанными включениями, белками. В ее пользу свидетельствует также необычное, *sn-1*, расположение этих ПН цепей в липидной молекуле, – при том, что вторая (обычная) ПН цепь локализована в положении *sn-2*.

Исследование свойств необычных ПН цепей липидов позволяет продвинуться к более глубокому пониманию взаимосвязей «структура – свойства – функции» для молекул обширного класса, включающего и такие ЖК цепи различных биомембранных структур.

Работа поддержана РФФИ (проект 10-03-00201а), программой Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4 и Visby programme 00961/2008.

STRUCTURE, PROPERTIES, FUNCTIONS OF VERY LONG POLYENOIC FATTY ACIDS (MONTE CARLO COMPUTER SIMULATION STUDY)

A.L. Rabinovich, P.O. Ripatti

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk
rabinov@krc.karelia.ru

Monte Carlo computer simulations of very long polyunsaturated fatty acid chains $N:4(n-6)cis$, $N:4(n-3)cis$, $N:5(n-6)cis$, $N:5(n-3)cis$, $N:6(n-6)cis$, $N:6(n-3)cis$ have been carried out, where N is carbon atom number ($N=24,26,28,\dots,38$). The approach is applied to an investigation of the equilibrium flexibility and other properties of the fatty acid chains.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ «ЖЕЛТКА» В СЕМЕННИКАХ МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ *PISASTER OCHRACEUS*

А.А. Реунов¹, Б.Д. Крафорд², Ю.А. Реунова¹

¹Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия
arkadiy_reunov@hotmail.com

²Университет Виктории, Отделение медицинских наук, Виктория, Канада
bcrawfor@uvic.ca

Механизмы питания гонад находятся в сфере внимания исследователей, изучающих степени подобия таких механизмов в различных таксонах с филогенетической точки зрения. Наибольшие успехи достигнуты в понимании питающих систем у морских ежей. Установлено, что у Echinoidea питающая субстанция, в англоязычной интерпретации называемая «МУР» (major yolk protein), формируется в перивисцеральном целоме и гемальной системе, а затем, как у самок так и у самцов, проникает через стенку гонад, накапливается во вспомогательных клетках (питающих фагоцитах), которые в свою очередь снабжают развивающиеся гаметы. Таким образом для морских ежей характерна физиологически универсальная система питания женских и мужских гонад.

Принципы питания гонад морских звезд были рассмотрены некоторыми исследователями для *Pisaster ochraceus*. Как это было показано для самок, эпитоп PY4F8, характерный для питающей субстанции, сравнимой с МУР морских ежей, присутствует в целомической жидкости и в желточных гранулах ооцитов, что указывает на экзогенное проникновение питательной субстанции в ооциты.

В нашей работе результаты, полученные для самок, были дополнены данными о механизмах питания семенников *P. ochraceus* с целью формирования морфо-функциональной концепции питания гонад обоих полов Asteroidea. В исследовании были использованы первичные антитела к «женской» питающей субстанции *P. ochraceus*. С помощью вестерн блоттинга показано, что эпитоп PY4F8 у самок включен в несколько полос, имеющих молекулярную массу 90, 110, 120 и 180 кДа, а у самцов этот эпитоп присутствует только в полосе 180 кДа. На основе теста был сделан вывод о более простом строении питающей субстанции семенников. Однако наличие общей полосы 180 кДа свидетельствует об общности молекулярного состава питающей субстанции самок и самцов. С использованием методов иммуногистологии и электронной микроскопии в сочетании с иммунным окрашиванием вторичными антителами конъюгированными с коллоидным золотом было показано, что PY4F8 изобилует в гемальном синусе семенников и через базальную мембрану проникает в полость мужской гонады. Морфологически это проникновение возможно благодаря наличию промежутков между основаниями вспомогательных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность базальной мембраны, которые были обнаружены благодаря использованию обычной электронной микроскопии. Кроме полости семенника PY4F8 эпитоп был также найден в цитоплазме как вспомогательных, так и сперматогенных клеток, что свидетельствует о проникновении питательной субстанции в эти клетки. Подобно ооцитам, в сперматогониях и сперматоцитах PY4F8 эпитоп локализован в желточных гранулах, исчезающим в более поздних стадиях сперматогенных клеток, таких как сперматиды и спермии.

Таким образом, в результате нашего исследования показано, что как у самок, так и у самцов *P. ochraceus* питательная субстанция свободно проникает в гонады из гемального синуса и обеспечивает метаболизм как вспомогательных клеток, так и формирующихся гамет. Данный механизм значительно отличается от системы питания гонад морских ежей, у которых вспомогательные клетки выполняют промежуточную роль в передаче питания от гемального синуса к гаметам. Данное отличие либо связано с филогенетически обусловленным отличием питающей системы гонад у Asteroidea и Echinoidea или свидетельствует о недостаточном уровне изученности механизмов питания гонад морских ежей.

AN INVESTIGATION OF «YOLK» LOCALIZATION IN THE TESTES OF THE SEA STAR *PISASTER OCHRACEUS*

A.A. Reunov¹, B.J. Crawford², Yu.A. Reunova¹

¹ A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences,
Vladivostok, Russia
arkadiy_reunov@hotmail.com

² University of Victoria, Division of Medical Science, Victoria, BC, Canada
bcrawfor@uvic.ca

The presence and distribution of the «female» yolk epitope, PY4F8, was studied in the testes of the starfish *Pisaster ochraceus*. Western blotting test have revealed the same nature of both female and male yolk. It was shown by immunohistological method and immunogold electron microscopy that PY4F8 abounds in the testes haemal sinus and penetrate into the testes lumen to sustain metabolism of both the germinative and accessory cells cells. This mechanism is rather distinct from that in the sea urchins where nutrition is transported into gametes through the accessory cells.

МЕХАНИЗМЫ ДЕСТРУКЦИИ ООЦИТОВ У МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ *PISASTER OCHRACEUS*

А.А. Реунов¹, Б.Д. Крафорд², Ю.А. Реунова¹

¹ Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, Россия
arkadiy_reunov@hotmail.com

² Университет Виктории, Отделение медицинских наук, г. Виктория, Канада
bcrawfor@uvic.ca

Атрезия является физиологическим механизмом, осуществляющим деструкцию ооцитов как у беспозвоночных, так и у позвоночных животных. Благодаря атрезии в яичниках разрушаются дефектные клетки, а полноценные растущие ооциты обеспечиваются необходимым пространством. Атрезия является также средством очистки постнерестовых яичников от невыметанных гамет. Считается, что основным способом запрограммированной клеточной смерти (ПКС), осуществляющей атрезия, является апоптоз. Согласно ряду статей, у некоторых видов апоптотический способ деструкции может быть дополнен аутофаговой клеточной гибелью. В данном исследовании впервые описан механизм деструкции ооцитов морской звезды *P. ochraceus*, также происходящий комплексным способом.

Экземпляры *P. ochraceus* были собраны в июле 2008 г. в бухте «Deer Cove» (остров Ванкувер, Канада). Ингибирование нереста и деструкцию ооцитов вызывали путем помещения животных в tanks с морской водой без доступа света на два месяца. Для изучения состояния репродуктивных клеток отобрали яичники трех самок и ооциты были зафиксированы в 2.5% глутаральдегид в какодилатном буфере (pH 7.4). Материал дофиксировали два часа в 1% растворе четырехоксида осмия (*OsO4*) при комнатной температуре. После дегидратации в этаноле и ацетоне образцы заключали в смолу Эпон 812. Ультратонкие срезы получали на ультратоме Sorval Porter-Blum MT-1. Исследование и фотографирование срезов осуществлялось с использованием светового микроскопа Zeiss III RS и электронного микроскопа Hitachi H-7000.

Благодаря последовательному анализу ооцитов возрастающей степени зрелости, было показано, что начальным этапом деструкции является сливание мелких литических пузырьков, постепенно формирующих обширные некротические зоны. Следующий паттерн деструкции ультраструктурно сравним с аутофаговой клеточной смертью. В этом случае отмечалось объединение морфологически сходных электронно-светлых вакуолей в более крупные в результате чего возникала аутофаговая вакуоль. Данная вакуоль поглощала содержимое цитоплазмы и, в конечном итоге, занимала все пространство ооцита. В третьем паттерне деструкции наблюдалась изоляция цитоплазмы и фрагментов ядра внутри сфероподобных апоптотических тел. Таким образом, показано, что деструкция ооцитов *P. ochraceus* является комплексным механизмом, включающим элементы некроза, аутофаговой клеточной смерти и апоптоза.

OOCYTE DESTRUCTION MECHANISMS IN SEA STAR *PISASTER OCHRACEUS*

A.A. Reunov¹, B.J. Crawford², Yu.A. Reunova¹

¹ A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences,
Vladivostok, Russia
arkadiy_reunov@hotmail.com

² University of Victoria, Division of Medical Science, Victoria, BC, Canada
bcrawfor@uvic.ca

The oocyte atresia of the starfish *Pisaster ochraceus* were investigated. It was shown that initially, the small electron-lucent vesicles produced by the Golgi complex underwent amalgamation. This was followed by the loss of vesicle membranes and formation of transparent necrotic zones in the cytoplasm. The second pattern, ultrastructurally comparable with autophagic cell death, was marked by appearance growing vacuoles, giving rise to a multibranching autophagic vacuoles. In addition, the cytosol insulation inside of the «apoptotic body-like spheres» was regularly observed. Thus, it appears that oocyte atresia occurs by a complex mechanism that includes elements of necrosis, autophagic cell death and apoptosis.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ГИДРОБИОНТОВ

И.И. Руднева, В.Г. Шайда, Н.С. Кузьмина, Е.Н. Скуратовская

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина
svg-41@mail.ru

Изучение влияния физических факторов на водные объекты приобретает все большее значение по двум причинам. Первая обусловлена глобальными изменениями, прежде всего климатическими, происходящими в биосфере и сопровождающимися повышением температуры и усилением ультрафиолетовой радиации. Вторая причина заключается во все большем антропогенном воздействии на водные экосистемы, которое приводит не только химическому и биологическому загрязнению гидросферы, но также и физическому. Если первые два вида загрязнения достаточно хорошо изучены и возможен прогноз их последствий для биоты, то информация о влиянии физических полей на гидробионтов весьма ограничена. В связи с этим является актуальным оценить биологические эффекты некоторых физических факторов на водных организмов.

Известно, что ультрафиолет обладает большей энергией фотона, чем остальное излучение, достигающее поверхности Земли. УФ-радиация повреждает биомолекулы, инициирует окислительный стресс, в результате чего образуются свободные радикалы, взаимодействующие с белками, липидами и нуклеиновыми кислотами, модифицирующие клеточные мембраны и другие структурные компоненты клеток и тканей, что в ряде случаев приводит к их гибели или канцерогенезу.

Действие УФ-излучения на водные объекты зависит от физико-химических свойств воды и глубины. Рыбы и другие гидробионты, живущие в придонных слоях и наиболее чувствительные к действию УФ-радиации, могут подвергаться повышенной опасности, особенно их ранние онтогенетические стадии, наиболее чувствительные к ультрафиолету. Однако в наибольшей степени от УФ-радиации страдают планктонные организмы, обитающие на поверхности водных экосистем или мигрирующие туда в поисках пищи, в процессе размножения и в различные периоды жизненного цикла.

Прямые эффекты УФ-излучения у рыб и других гидробионтов выражаются в повреждении ДНК и развитии окислительного стресса. В первом случае следствием являются мутации, приводящие к ненормальному развитию рыб и беспозвоночных, гибели эмбрионов и личинок на ранних стадиях развития. Второй тип повреждающего влияния УФ-радиации обусловлен образованием свободных радикалов, обладающих высокой реакционной активностью и повреждающих биологические молекулы, мембраны и другие клеточные структуры. У водных организмов, подверженных избыточным дозам УФ-излучения, возникают ожоги кожи и развитие эрозии, кровоизлияний и некроза, усиливается проникновение бактерий, вирусов, грибов и эктопаразитов. Для многих гидробионтов, особенно на ранних стадиях развития, даже малые дозы УФ-радиации являются смертельными.

Наши исследования действия УФ-излучения на личинок атерины *Atherina mochon pontica* – широко распространенного прибрежного вида многих морей и океанов, показали значительное снижение теплопродукции у облученных рыб, что свидетельствует о разбалансировании процессов генерации и утилизации энергии, вызванное, прежде всего, повреждением митохондрий и нарушением протекающих в них метаболических реакций. В то же время нельзя исключать и изменения уровня свободнорадикальных процессов, инициируемых УФ-излучением, что также может существенно повлиять на состояние энергетического обмена личинок рыб. В связи с этим нами были установлены существенные изменения активности ключевых антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, пероксидазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы) у облученных личинок. Однако отмеченные нами эффекты носили нелинейный характер. Известно, что ультрафиолетовое облучение рыб в экспериментальных условиях значительно снижает содержание глутатиона в коже и в мышцах, увеличивает концентрацию супероксидрадикала и перекиси водорода, ТБК-реактивных продуктов, что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Таким образом, снижение теплопродукции и модификация статуса ферментной антиоксидантной системы является неспецифическим комплексным ответом личинок рыб на действие УФ-облучения, а исследуемые параметры – чувствительными индикаторами состояния гидробионтов, подвергнутых действию ультрафиолета.

Уменьшение теплового потока и изменение активности ключевых антиоксидантных ферментов было отмечено нами ранее у личинок артемии, вылупившихся из облученных ультрафиолетом яиц. Полученные данные могут быть использованы в мониторинге состояния личинок рыб и беспозвоночных, обитающих в акваториях, подверженных высокой инсоляции, а также для контроля дозы УФ-облучения, применяемой для обеззараживания воды в условиях аквакультуры.

В то же время в наших исследованиях не отмечено различий показателей выживаемости УФ-облученных рыб по сравнению с контрольными личинками. Вероятно, в этом случае следует учитывать видовые особенности и стадию развития гидробионтов. Установлено, что икра беспозвоночных более чувствительна, чем икра рыб, а личинки более уязвимы, чем икра. Кроме того, чувствительность даже близкородственных видов водных организмов к ультрафиолету может существенно различаться благодаря многообразию защитных механизмов. Описаны различные способы адаптации гидробионтов к условиям жизни в шельфовой зоне, которые направлены на снижение действия УФ-облучения: вертикальные суточные миграции, наличие и синтез специальных пигментов – фикоэритрина, каротиноидов, фикоэритробилина, поглощающих ультрафиолетовые лучи и таким образом снижающих их негативное действие, повышенный уровень антиоксидантов и активация реакций темновой репарации. Однако дальнейшее сокращение озонового слоя и усиление УФ-радиации над поверхностью водоемов может привести к катастрофическим и необратимым последствиям. Подсчитано, что если 13% ежегодной продукции личинок анчоусов может быть потеряно в результате действия УФ-излучения в поверхностных слоях воды, то этот показатель возрастет до 18% в случае уменьшения озонового слоя на 25%. Морепродукты обеспечивают 18% потребляемого человеком белка, особенно в развивающихся странах, население которых быстро увеличивается. В случае дальнейшего сокращения озонового слоя и усиления интенсивности УФ-радиации в комплексе с возрастающим загрязнением акваторий следует ожидать крайне негативных последствий как для водных экосистем и их обитателей, так и для людей, использующих морские ресурсы в пищевых целях.

THE EFFECTS OF PHYSICAL IMPACT ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF AQUATIC ORGANISMS

I.I. Rudneva, V.G. Shaida, N.S. Kuzminova, E.N. Skuratovskaya

Institute of the Biology of the Southern Seas National Ukrainian Academy of Sciences, Sevastopol, Ukraine
svg-41@mail.ru

The effects of UV-irradiation on the aquatic organisms are shown. The principal mechanisms of their adaptation to UV-damage are observed. The consequences of ozone layer depletion together with the pollution of aquatic ecosystems on biota are discussed.

ДИНАМИКА РОСТА ПЛОТВЫ (RUTILUS RUTILUS L) В СЕВЕРНЫХ ОЗЕРАХ

Л.П. Рыжков

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия
rlp@petsu.ru

В настоящее время ихтиологи проявляют большой интерес к изучению механизмов динамики линейного роста и накопления массы тела у рыб на разных этапах онтогенеза и обитающих в различных условиях водной среды. Это, по-видимому, обусловлено не только теоретическим интересом, но и большой практической ценностью таких знаний. Такие знания становятся необходимыми при интенсивном развитии аквакультуры, особенно возможного влияния ее на функционирование водных экосистем. В дальнейшем такие исследования потребуют не только общих количественных оценок роста рыб, но и изучения динамики взаимосвязи различных сторон этого процесса в онтогенезе при обитании рыб в различных условиях водной среды. Как было показано ранее особенно перспективными становятся исследования соотношений величин массы и линейных размеров рыб в возрастном аспекте и при обитании в разных условиях (Рыжков2007, 2008, 2009).

Для анализа выявленных соотношений величин массы и размеров тела рыб предложено использовать индекс соотношения между величиной массы тела (мг) и кубом линейных размеров (см³) рыбы (ИС). При увеличении линейных размеров рыбы величина ИС будет уменьшаться, а при интенсификации накопления массы тела, наоборот, увеличиваться. Зная динамику ИС можно оценивать не только экологические факторы среды, но и определять наиболее продуктивные этапы развития рыб, что перспективно при развитии рыбного хозяйства.

Объектом настоящего исследования является плотва (*Rutilus rutilus* L), широко распространенная в водоемах Северо-Запада и представляющая интерес для спортивного и любительского рыболовства. Было обследовано 1430 рыб, отловленных как в больших, так и в малых водоемах Карелии. Возрастной состав исследованных рыб в некоторых больших озерах колебался в пределах 1–15 лет, в большинстве озер лишь от 1 до 8–10 лет. У каждой анализируемой рыбы определялись масса тела (М) и измерялись общая длина (L), максимальная высота и ширина (см). Индекс ИС рассчитывался по следующей формуле – $ИС = M_{\text{мг}} / L_{\text{см}^3}$.

Общая величина ИС для всего возрастного ряда исследованной плотвы равняется 19,2, что свидетельствует о более интенсивном накоплении массы тела по сравнению со скоростью роста. Однако на протяжении онтогенеза ее значение не сохраняется стабильными. В первые два года плотва интенсивно накапливает массу тела (ИС – 18,9), которая необходима для добычи пищи. В это время плотва питается мелкими растительными (обрастаниями) и животными организмами. В период полового созревания ускоряется линейный рост рыб (ИС -17,1). В это время завершается формирование воспроизводительной системы и изменяется характер питания. У половозрелой плотвы в пище начинают преобладать растительные организмы. Одновременно ускоряется накопление массы тела. Линейные размеры рыб увеличиваются весьма медленно. Средняя величина ИС – 18,8, при колебаниях от 18 до 19,3. С возраста 11–12 лет биомасса плотвы существенно увеличивается (ИС – 20,2). В результате чего тело плотвы становится более высоким и широким. Линейный рост рыб в длину очень замедленный. В это время плотва питается как высшими водными растениями (рдест, элодея), так и низшими водорослями (диатомовые, нитчатые). Наряду с растительностью плотва питается личинками насекомых, донными ракообразными, олигохетами и даже мелкими моллюсками. Об их значении в формировании тела плотвы можно судить по следующим результатам. В озерах акваторией менее 1000 га при биомассе бентоса < 10 кг/га величина индекса ИС – 19,4 (преобладание накопления массы тела и замедление линейного роста). В озерах такой же акватории, но при биомассе бентоса 10–50 кг/га величина ИС сокращается до 17,5 (усиление линейного роста), а при биомассе бентоса > 50 кг/га вновь усиливается накопление массы тела (ИС 21,3). Следовательно, количественный и качественный состав пищевых организмов связаны с динамикой исследуемого соотношения величин накопления массы тела и изменения линейных размеров.

Наряду с состоянием кормовой базы нельзя исключить влияние других факторов. Очень четко прослеживается зависимость формы тела от величины акватории водоемов. В водоемах площадью менее 1000 га величина ИС для всего возрастного ряда плотвы (до 15 лет) равняется 19, а в водоемах площадью более 1000 га этот показатель уменьшается до 18. Для возрастного ряда до 8 лет величина ИС соответственно равняется 19,4 и 16,4. Особенно эти различия четко проявляются в первый год жизни рыб. В малых озерах величина ИС – 19,1, а в больших – 15,8. Во время полового созревания рост плотвы приближается к изометрическому и различия сглаживаются. Величина ИС у плотвы из малых озер – 16,6 и из больших озер – 16,2. У половозрелой плотвы вновь начинает преобладать накопление массы тела, но темп его различен в озерах разной акватории. Величина ИС у рыб из малых озер – 19,5, из больших – 17,2. Это значит, что в малых озерах плотва растет в высоту и ширину (накапливая массу), а в больших в длину (линейный рост). Биологическая целесообразность выявленной динамики роста плотвы в водоемах различной акватории заключается в необходимости обеспечить рыбам в крупных озерах большую подвижность и возможность использовать большие площади пищевых угодий. О важности формы тела для рыб из разных условий обитания можно судить по изменениям абсолютных показателей массы и длины тела. Средняя масса тела плотвы в возрасте 5 лет была в малых озерах 60 г (длина – 15 см), а в больших 95 г (длина -19 см). В возрасте 10 лет соответственно масса тела равнялась 350 и 240 г и длина 26 и 23 см. С возрастом рыб требуется большее количество энергетических ресурсов, чтобы осваивать пищевые угодья в больших озерах.

У плотвы, обитающей в водоемах различной глубины существенных различий в соотношении показателей роста не выявлено. В озерах глубиной менее 5 м величина ИС колебалась в пределах 19,0–19,4, а при глубине более 5 м – 19,7–20,3. Различия не достоверны. Отсутствие различий в показателях роста плотвы из водоемов различной глубины обусловлено исключительно ее биологическими особенностями. В озерах различной акватории и различной глубины плотва большую часть жизненного цикла проводит в прибрежных районах или в зарослях вблизи островов, где расположены ее основные пищевые плантации. Глубина же в этих участках обычно не превышает 3–5 м.

В заключение следует отметить, что выявленные у плотвы особенности динамики соотношения величин накопления массы и длины тела (ИС) в возрастном аспекте и в озерах различной акватории и глубины целесообразно использовать при дальнейших исследованиях механизмов роста рыб. При этом, конечно, необходимо дальнейшее совершенствование методов оценок возрастной динамики роста и трансформации пищи рыбами из различных условий среды.

TRACK RECORD OF THE GROWING OF THE ROACH (RUTILUS RUTILUS L) IN NORTH LAKES

L.P. Ryzhkov

Petrozavodskiy state university, Petrozavodsk, Russia
rlp@petsu.ru

The Broughted information about speaker of the linear growing and accumulations of the mass of the body. They Are Shown age change the correlation of these factors in progress roeches. The Revealled relationship of the change the explored factors with concrete condition of life roech (the area of lakes, condition of the stern base).

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ CERIODAPHNIA AFFINIS ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ

Е.В. Рябухина, О.А. Ботяжова, Ю.А. Никифорова

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия
e-mail: Kifirrrchik@mail.ru

Синтетические моющие средства (СМС) и поверхностно-активные вещества (ПАВ), входящие в их состав, оказывают отрицательное влияние на функциональное состояние живых организмов, качество воды и самоочищающую способность водоемов. Загрязнение вод моющими средствами осложняется еще и тем, что продукты их химического и биологического разрушения в некоторых случаях являются более токсичными, чем исходные вещества.

В задачи исследования входило изучение роли абиотических и биотических факторов в процессах трансформации двух рецептурных композиций синтетического моющего средства (СМС) «Миф» нового поколения «Миф автомат» (МА) и «Миф свежий цвет» (МСЦ) в хроническом эксперименте на карасях (*Carassius carassius*) методами биотестирования на *Ceriodaphnia affinis*, а также анализ изменения кислородного режима в растворах при различных условиях проведения опытов. Для изучения влияния различных факторов на процессы трансформации СМС в водной среде, ставили две серии экспериментов длительностью 15 суток с растворами СМС «Миф автомат» и «Миф свежий цвет» с концентрациями 25,0 и 75,0 мг/л. В одну из серий помещали рыб. Для контрольных опытов и приготовления растворов СМС использовали отстоянную, аэрированную водопроводную воду. Оба варианта опытов находились при одинаковых условиях: температура воды 10–12⁰С, естественная освещенность, без принудительной аэрации. Наблюдения за выживаемостью рыб проводили каждые сутки. В процессе эксперимента отбирали пробы воды из контрольных и опытных вариантов на 1, 2, 4, 10 и 15 сутки для оценки токсичности среды по функциональному состоянию цериодафний (метод Дафниевого теста (48 часов) (Жмур, 2001) и анализа динамики кислородного режима с помощью кислородомера. Такой подход к постановке эксперимента позволил выявить роль гидробионтов в процессах трансформации в водной среде двух СМС, отличающихся наличием в со-

ставе МА активного кислорода, в МСЦ – катионных ПАВ, на фоне химических превращений веществ под действием абиотических факторов (температура, свет). Критерием изменения токсичности СМС являлась динамика выживаемости цериодафний в пробах воды из исследуемых водоемов по сравнению с контролем. Результаты эксперимента обрабатывали методами вариационной статистики.

Анализ результатов наблюдения за выживаемостью рыб при хроническом воздействии двух рецептурных композиций СМС «Миф» показало отсутствие гибели животных за период экспозиции в изученных концентрациях веществ. Однако последующая пересадка рыб в чистую воду выявила наличие значительных функциональных изменений в организме животных по показателю двигательной активности, приводящих к гибели рыб в течение 7 суток (в зависимости от концентраций) после пересадки.

Исследование изменения качества водной среды, формируемого в 1 серии опытов благодаря жизнедеятельности рыб, показало, что за период экспозиции в водоемах происходили значительные изменения исходных свойств растворов СМС не только по физико-химическим показателям, но и по токсичности, свидетельством чего служили результаты Дафниевого теста. Предполагалось, что выбранные концентрации веществ заведомо токсичные для цериодафний в начале пятнадцатисуточного эксперимента, к концу экспозиции не будут вызывать гибели рачков, т.е. произойдет детоксикация растворов благодаря химической и биологической трансформации веществ. Однако наблюдение за выживаемостью рачков в пробах воды из всех серий опытов выявило повышение токсичности растворов с концентрацией 25,0 мг/л на пятнадцатые сутки эксперимента. При этом в первые сутки выживаемость цериодафний в пробах воды из 1 серии для растворов МА составила 60%, для растворов МСЦ – 46% от контроля (100%) (достоверно при $p \leq 0,05$). К концу эксперимента в водоемах с рыбой токсические свойства растворов МА усилились на 20% (выживаемость снизилась до 40%), а МСЦ – на 13%. В водоемах без рыбы, где деструкция СМС проходила по действием микробиологических и физико-химических процессов (2 серия) токсичность проб для цериодафний в среднем была ниже на 5–10%, чем в среде с рыбой, что объясняется образованием и накоплением метаболитов при интоксикации карасей в 1 серии опытов.

Анализ динамики кислородного режима в растворах с концентрацией 25,0 мг/л обоих веществ 1 серии опытов показал повышенное (на 20%) содержание растворенного кислорода по сравнению с контролем и с растворами из 2 серии, где исследуемый показатель был на 10% ниже, чем в контроле, и на 30% – чем в водоемах с рыбой. Также необходимо отметить, что в пробах МА 2-й серии количество растворенного кислорода снижалось к концу эксперимента значительно (на 11%), чем в МСЦ.

При анализе результатов оценки состояния водоемов по показателю выживаемости цериодафний в пробах с концентрацией 75,0 мг/л установлено, что токсичность растворов за 15 суток снизилась в МА на 12% (со 100% до 88%), а в МСЦ – на 5% (до 95%). Эти данные свидетельствуют не только о высокой токсичности для цериодафний исследуемых веществ в указанной концентрации, но и, возможно, о полном подавлении в водоемах процессов биотрансформации, включая микробиологические, поскольку достоверных различий в выживаемости цериодафний по сериям опытов не установлено. Кроме того, количество кислорода за период эксперимента снизилось в водоемах с МА 2 серии на 20%, в МСЦ – на 12% от контроля, тогда как в начале эксперимента показатель на 17% превышал контрольные значения по обоим веществам. В водоемах 1 серии снижения концентрации растворенного кислорода за период эксперимента не наблюдалось и уровень кислорода весь период экспозиции находился в пределах контрольных значений.

Таким образом, можно утверждать, что за период эксперимента под влиянием факторов среды произошла трансформация СМС с образованием соединений, стойких к биоразложению, но более агрессивных к биологическим структурам, чем исходные, что, в свою очередь, послужило причиной ухудшения кислородного режима и повышения токсичности среды для *Ceriodaphnia*.

CHANGE OF FUNCTIONAL CONDITION CERIODAPHNIA AFFINIS AT INFLUENCE OF VARIOUS FACTORS OF ENVIRONMENT

E.V. Ryabuhina, O.A. Botyazhova, J.A. Nikiforova

P.G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia
Kifirrrchik@mail.ru

Research problems included studying change of toxicity of two compositions of a synthetic washing-up liquid "Myth" in chronic experiment on fishes a method of biotesting on Ceriodaphnia and the analysis of change of an oxygen mode in solutions under various experimental conditions. Criterion of change of toxicity of environment was dynamics of destruction Ceriodaphnia in tests of water in comparison with the control. It is established, that for 15 day in reservoirs there was an increase in toxicity of solutions in concentration of 25,0 mg/l on 13–20%. It is drawn a conclusion, that at transformation of synthetic washing-up liquids there was a formation of the connections proof to biodecomposition and more toxic, than initial. It was the reason of deterioration of an oxygen mode and increase of toxicity of tests of water for Ceriodaphnia.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОНСТИТУТИВНЫХ И ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ *ESCHERICHIA COLI*, КАК ИНДИКАТОР ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ

Н. А. Сидорова

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия
vanlis@petrsu.ru

Одним из критериев стабильного состояния водной экосистемы является сохранение постоянного баланса между необходимыми для поддержания жизнедеятельности различными биодеградативными процессами и огромным количеством биосинтетических процессов. Процессы биодеградации обеспечивают клетку высокоэнергетическими соединениями, необходимыми для выполнения такой работы, как ионная регуляция и процессы биосинтеза. Клеточный гомеостаз достигается благодаря функционированию эффективной и сложной системы регуляции, приводящей каждый отдельный метаболический процесс в строгое соответствие с нуждами организма в целом. Согласно работам Гусева М.В. и Минеевой Л. А (1992), координация метаболизма прокариот сводится к регуляции интенсивности протекания ферментативных реакций, образующих метаболические пути. Эффективность биологического катализа в клетке может регулироваться двумя путями: во-первых, путем изменения количества катализатора и, во-вторых, путем регулирования активности фермента [Коэн Ф., 1989].

Для изучения активности конститутивных и индуцибельных ферментативных систем сапрофитных форм *E. coli* была изучена β - галактозидазная и каталазная активность 65 изолятов *E. coli*, выделенных из акватории бассейна Онежского озера. Целесообразность использования ферментативного анализа представителей микрофлоры воды обусловлена несколькими причинами: 1. интегративностью показателей активности ферментов, которые выделяются компонентами биоты и сохраняются в воде, способствуя ее очищению от загрязняющих веществ; 2. специфичностью действия ферментов на различные субстраты, что позволяет использовать методы ферментативной активности в условиях специфического загрязнения; 3. информативностью этих методов, позволяющей оценить экологическую напряженность в зонах антропогенного влияния на водоем.

Как и другие микроорганизмы, *Escherichia coli* находится в прямой зависимости от объектов окружающей среды. В природе эшерихия подвергается прямому действию дисгенетических и селективных факторов, что способствует формированию локальных субпопуляций вида с характерными биологическими и биохимическими свойствами. В отечественных и зарубежных публикациях существует много сведений о биохимических особенностях *E. coli*, однако данных о ферментативной изменчивости вида в определенном регионе – недостаточно. С целью экологической эксперти-

зы бассейна Онежского озера и изучения сапрофитической фазы существования вида была изучена биохимическая активность *Escherichia coli*, выделенной из разных по уровню антропогенного воздействия экологических ниш: 1. бытовых сточных вод, 2. смешанных промышленных стоков с территории целлюлозно-бумажного комбината (г. Кондопога), 3. бассейна Петрозаводской губы Онежского озера, 4. водопроводной воды. Учитывая различия в процессах самоочищения водных экосистем от загрязнителей и гетерогенность выделенных культур по изучаемому параметру считалось целесообразным сравнение ферментативной активности аборигенных эшерихий с чистой культурой лабораторного штамма K₁₂ (leu- thi-(λ)-str-rF⁻)- источник штамма ГИСК им. Л.А. Тарасевича – штамм растет на ГМС с глюкозой.

Активность β-галактозидазы измерялась по методу Парди. Реакция протекала в присутствии бесклеточного экстракта. Реакционная смесь включала: 4, 1 мл 0,05 М натрий-фосфатного буфера рН 7,5 и 0,2 мл 0,032 М восстановленного глутатиона. Смесь выдерживали до установления температуры 30 град. С., добавляли клетки в объёме 0,2 мл и начинали реакцию внесением 0, 50 мл лактозы. По окончании времени инкубации 15 мин реакцию останавливали, смесь встряхивали и измеряли оптическую плотность при 420 нм. За единицу ферментативной активности принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль 0-нитрофенола за 1 ч в условиях эксперимента. Строили калибровочную кривую, отражающую зависимость в условиях проведения эксперимента между оптической плотностью при 420 нм и концентрацией 0-нитрофенола.

Активность каталазы устанавливалась по методу Баха и Опарина, основанному на том, что две молекулы H₂O₂ разлагаются на 2H₂O + O₂. Избыток перекиси титровали перманганатом в кислой среде. В опыте определяли количество оставшейся неразрушенной перекиси водорода, а в контроле – общее количество взятой H₂O₂ в присутствии каталазы, инактивированной кипячением. Учитывая разность результатов опыта и контроля, определяли количество разрушенной за определенное время (30 мин) перекиси и по результату судили об активности каталазы. Для проверки полученных данных был использован статистический метод Стюарта – Фишера.

Способность к синтезу β-галактозидазы была обнаружена у 12% выделенных культур эшерихий. Активность фермента изменялась в пределах от 8,27 до 14,41 усл.ед. Превышение активности галактозидазы, по сравнению с контролем, отмечено у культур, выделенных из рек Неглинка, Лососинка и Кондопожской губы Онежского озера. Видимо, изменение химического состава воды приводит к увеличению активности специфичных индуцибельных ферментов, что является результатом адаптации вида к антропогенным условиям обитания. Активность каталазы изменялась от 1,87 до 6,97 мг H₂O₂, при этом, активность каталазы *E. coli* «загрязненного» водоёма почти всегда превосходила уровень активности данного фермента у контрольного штамма в 1,5–2,3 раза. Содержание органических соединений в «грязных» акваториях также было выше о чем свидетельствует превышение ПДК по БПК₅. Величины БПК, соответственно концентрации органического загрязнения в исследуемых водоемах – колебались. Возможно, колебания уровня содержания органических соединений в пробах речной и озерной воды связаны с дополнительным влиянием прочих антропогенных факторов, либо с погодными условиями; соответственно им изменялись и уровни ферментативной активности выделенных культур эшерихий. Процент не активных по каталазе штаммов эшерихий колебался от 1, 87 до 2, 12% от общего количества активных штаммов.

По полученным данным можно сделать следующие выводы: 1. Активность как конститутивных, так и индуцибельных ферментов эшерихий зависит от степени антропогенного нарушения экологического статуса бассейна Онежского озера; 2. Активность каталазы и β-галактозидазы *Escherichia coli* являются чувствительными тестами, которые можно использовать для ранней диагностики экологического и санитарного неблагополучия водной среды; 3. С помощью ферментативной активности каталазы *E.coli* возможно установить интенсивность процессов бактериального самоочищения водоемов от органического загрязнения; 4. Ферментативная активность *E.coli* по β-галактозидазе позволяет выявлять следовые дозы колиформных эшерихий и устанавливать присутствие в водоеме органических загрязнителей фекального происхождения.

В качестве объективной оценки состояния водных экосистем, их способности к самоочищению от органических соединений можно предложить величину каталазной активности эшерихий. Этот показатель может выражать уровень напряженности адаптационных процессов водной сис-

темы к загрязнению органическими соединениями с одной стороны, с другой – может служить объективным тестом на степень деградации водной системы. Чем выше значение активности каталазы эшерихий выделенных из загрязненного водоема, тем активнее в нем идут процессы окисления и самоочищения от органических загрязнений. Таким образом, исследования по определению активности β- галактозидазы и каталазы аборигенных эшерихий, выделенных из акваторий разной степени загрязнения органикой промышленного и бытового происхождения показали возрастание этого показателя по мере усиления загрязненности воды отходами до определенных пределов. Возможно, при превышении предела толерантности бассейна Онежского озера к высоким уровням концентрации ОВ, будет наблюдаться снижение ферментативной активности изученного вида энтеробактерий.

ОСОБЕННОСТИ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ МОРСКИХ РЫБ РАЗНОЙ ЭКОЛОГИИ

Ю.А. Силкин, Е.Н. Силкина

Карадагский природный заповедник НАН Украины, Феодосия, Украина
ysilkin@mail.ru

Исследовали фосфолипидный состав плазматических мембран 2-х видов хрящевых и 3-х видов костистых рыб Черного моря. Как показали исследования, около 70–80% от всех фосфолипидов мембран эритроцитов приходится на долю фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА). Причем, ФХ и ФЭА представлены как диацильной, так и плазмалогенной формах. Эти результаты хорошо согласуются с данными других исследователей (Bolis, Finger, 1979) показавшими, что ФХ и ФЭА являются основными структурообразующими фосфолипидами плазматических мембран эритроцитов как хрящевых, так и костистых рыб.

Содержание ФХ в мембранах эритроцитов исследованных рыб существенно различалось. Так, у морского кота (*Dasyatis pastinaca L.*) содержание этого фосфолипида в мембранах красных клеток крови составляло около 39%. У морской лисицы (*Raja clavata L.*), а также и у костистых рыб его количество было более высоким и составляло 50–60%. На долю плазмалогенной формы приходилось не более 2–5% ФХ, а 95–98% этого липидного субстрата были представлены диацильной формой.

Содержание ФЭА у хрящевых рыб составляло чуть больше 30%, у костистых рыб значение этого показателя было ниже, и варьировало в диапазоне 20–26%. Половину всего ФЭА у хрящевых, было представлено в плазмалогенном виде. У костистых рыб, почти весь ФЭА состоял из диацильной формы. Соотношение плазмалогенной и диацильной форм ФЭА у хрящевых рыб было более высоким (1,1–0,8), чем у костистых (0,2–0,06). Более низкое содержание плазмалогенной формы ФЭА у холодолюбивой м. лисицы может свидетельствовать в пользу гипотезы Рутса и соавторов (Driedzic et al. 1976) показавших, что при холодовой адаптации в тканях золотой рыбки (*C. auratus*) уменьшается содержание плазмалогенной формы ФЭА. Авторы полагают, исходя из модели Брокерхоф (Brockenhoff, 1974), что уменьшение плазмалогена действует на мембрану в том же направлении, что и увеличение индекса ненасыщенности.

Фосфолипидный состав плазматических мембран эритроцитов некоторых черноморских рыб
(% от суммы фосфолипидов)

Виды рыб	Относительное содержание (% суммы ФЛ)										
	ФХ			ФЭА				ФС	МФИ	СФМ	ФК
	плаз.	диац.	сумма	плаз.	диац.	сумма	П/Д				
М.лисица	1.2	49.5	50.7	13.6	17.7	31.3	0.8	6.1	5.7	3.8	0.8
М.кот	1.8	37.0	38.8	15.8	14.3	30.1	1.1	6.2	8.5	12.1	–
Скорпена	0.8	50.3	51.1	1.8	24.2	26.0	0.07	13.1	4.3	4.3	0.1
Ставрида	1.0	60.6	61.6	1.2	19.1	20.3	0.06	8.9	2.7	6.2	–
Смаида	2.1	58.0	60.1	3.8	16.6	20.4	0.2	8.7	6.6	3.0	–

Отношение ФХ и ФЭА, у теплолюбивого представителя хрящевых рыб (м. кот) находится примерно в паритетных отношениях $\text{ФХ} \approx \text{ФЭА}$. Однако, у холодолюбивой хрящевой рыбы (м. лисица) это отношение такое же, как и у костистых рыб, где $\text{ФХ} > \text{ФЭА}$. Такая же тенденция была отмечена шведскими исследователями (Bolis, Fange, 1979), которые показали преобладание ФХ над ФЭА в плазматических мембранах у 6 видов океанических костистых и одной хрящевой рыбы.

Фосфолипиды, обладающие повышенной кислотностью и в связи с этим, несущие отрицательный заряд: фосфатидилсерин (ФС), монофосфоинозитид (МФИ) и фосфатидная кислота (ФК) у исследованных рыб относятся к минорным компонентам плазматических мембран их эритроцитов. ФК присутствует в эритроцитарных мембранах рыб в очень низких или следовых количествах. ФС больше в мембранах костистых рыб, тогда как в отношении (МФИ) прослеживается обратная тенденция. Небольшой отрицательный заряд, при нейтральном рН, несет и ФЭА. Поэтому общий заряд липидной составляющей этих мембран – отрицательный.

Сфингомиелин (СФМ) также может быть отнесен к минорным компонентам мембран эритроцитов рыб. В эритроцитах м. кота его содержание составляет 12,1%, тогда как у остальных исследованных рыб содержание СФМ колебалось в пределах 3,0–6,2%.

Полученные данные по фосфолипидному составу мембран эритроцитов хрящевых и костистых рыб, отражают особенности строения их липидного матрикса. Соотношение главных и второстепенных компонентов плазматических мембран, свидетельствуют о необходимости «подстройки» состава мембран, для выполнения своих функций у рыб разной экологии.

CHARACTERISTIC PROPERTY OF THE PHOSPHOLIPIDS COMPOSITION OF PLASMATIC MEMBRANE OF ERYTHROCYTES FROM SOME MARINE FISHES OF DIFFERENT ECOLOGY

Yu. A. Silkin, Ye.N. Silkina

Karadag natural reserve of Ukraine National Academy of Sciences, Feodosia, Ukraine
ysilkin@mail.ru

Characteristic property of the phospholipidic composition of erythrocytes from 2 species of Chondrichthyes class of fish and 3 species of fish of the class Osteoichthyic was analysed. It was indicated, that the phosphatidylcholine and the phosphatidylethanolamin were major components and they presented the 70–80% of all phospholipids of plasmatic membranes. The group of minor components of erythrocyte membranes was presented by phosphotidylserin, monophosphoinozitid, sphingomielin and phosphatic acid. This data showed that the phospholipids composition of plasmatic membranes of erythrocytes reflected the important characteristic properties of lipid matrix structure of Chondrichthyes and Osteoichthyes fishes.

The correlation of dominant and minor components of plasmatic membranes indicated the necessary of adjustment of membrane composition for the function assurance of fishes of different ecology.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ФОСФОЛИПИДОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ ХРЯЩЕВЫХ И КОСТИСТЫХ РЫБ ЧЕРНОГО МОРЯ

Ю.А. Силкин, Е.Н. Силкина

Карадагский природный заповедник НАН Украины, Феодосия, Украина
ysilkin@mail.ru

Исследовали жирнокислотный (ЖК) состав фосфолипидов плазматических мембран эритроцитов двух видов хрящевых и трех видов костистых рыб. Два вида черноморских скатов – морская лисица (*Raja clavata L.*) и морской кот (*Dasyatis pastinaca L.*) различались по температурным параметрам биотопа обитания (Световидов, 1971). Морская лисица держится на относительно больших глубинах (60–70 м) и относится к более холодолюбивому виду по сравнению с морским котом, предпочитая температурный диапазон +10 – +15°C. Морской кот, прибрежный

вид, обитает до 20-ти метровой глубины и часто, даже в летнее время, подходит к берегу. Легко переносит прогрев воды до +25 – +27°C. Исследованные костистые рыбы были теплолюбивыми видами, но различались по своей подвижности. Скорпена (*Scorpaena porcus L.*) – оседлый, прибрежный хищник, засадчик. Смарида (*Spicara flexuosa Raf.*) – хищник, прибрежная, маневренная рыба, больших миграций не совершает. Ставрида (*Tracurus mediterraneus ponticus Aleev*) – активная пелагическая рыба, хищник, совершает длительные и протяженные миграции. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Основные группы жирных кислот суммарных фосфолипидов плазматических мембран эритроцитов черноморских рыб (%)

Название	Хрящевые рыбы		Костистые рыбы		
	М. лисица	М. кот	Скорпена	Ставрида	Смарида
Насыщенные	44,1	35,0	54,2	48,9	41,7
C _{12:0}	–	0,4	–	–	–
C _{14:0}	1,9	0,3	4,0	1,4	9,5
C _{15:0}	–	–	1,2	0,3	2,4
C _{16:0}	33,2	15,3	21,6	34,8	20,3
C _{17:0}	–	3,0	–	–	–
C _{18:0}	9,0	16,0	27,4	12,4	9,5
Ненасыщенные	55,9	65,0	45,8	51,1	58,3
Моноеновые	19,0	20,0	17,4	39,4	21,2
Диеновые	2,9	1,7	3,7	–	1,6
Триеновые	–	–	0,6	2,8	1,6
Тетраеновые	22,0	19,3	10,8	4,1	23,3
Пентаеновые	7,4	10,2	5,0	4,8	10,6
Гексаеновые	4,6	13,8	8,3	–	–
И Д С	1,8	2,3	1,5	0,9	1,8
Коэф.ненасыщен.	1,3	1,9	0,6	1,0	1,4

В состав фосфолипидов (ФЛ) мембран эритроцитов рыб входят как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты (ЖК) (см. таблицу 1). Плазматические мембраны эритроцитов м. лисицы содержат в сумме больше насыщенных ЖК (44,1%) по сравнению с мембранами м. кота (35,0%). Среди костистых рыб, больше всего насыщенных ЖК в мембранах скорпены (54,2%), ставрида занимает промежуточное положение (48,9%), а в мембранах смариды их меньше всего (41,7%). Для фосфолипидов мембран хрящевых и костистых рыб основными компонентами среди насыщенных ЖК являются пальметиновая (C_{16:0}) и стеариновая (C_{18:0}) кислоты. Их сумма в мембранах м. лисицы, м. кота, скорпены и ставриды составляет от 89% до 98%. В мембранах эритроцитов смариды эта сумма равна 71%, а доля других насыщенных кислот выше, чем у других рыб.

В состав ненасыщенных ЖК фосфолипидов мембран эритроцитов рыб входят моно-, ди-, три-, тетра-, пента- и гексаеновые кислоты. У хрящевых рыб, суммы моно-, ди-, тетра-, пентаеновых кислот практически совпадают (51,3% – у м. лисицы и 51,2% – у м. кота). Основное различие вносит трехкратно более высокое содержание гексаеновых кислот в мембранах эритроцитов м. кота. Гексаеновые кислоты представлены в ФЛ рыб докозогексаеновой кислотой. Наличие в составе ФЛ мембран эритроцитов м. кота высокого содержания докозогексаеновой кислоты обеспечивает у этого ската самый высокий индекс двойных связей (ИДС) и коэффициент ненасыщенности. У костистых рыб, основную долю ненасыщенных ЖК составляют моно-, тетра- и пентаеновые кислоты. Докозогексаеновая кислота присутствует только в мембранах эритроцитов скорпены. Тем не менее, в отличие от м. кота, наличие этой кислоты хотя и повышает ИДС, однако коэффициент ненасыщенности у скорпены оказался самым низким среди исследованных рыб. У ставриды, основной вклад среди ненасыщенных кислот принадлежит моноеновым кислотам (39,4%), а у смариды моно- (21,2%), тетра- (23,3%) и пентаеновым кислотам (10,6%). Исходя из ИДС и коэффициента ненасыщенности самыми «текучими» оказались мембраны м. кота и смариды. В отношении м. лисицы этот результат отчасти не совпадает с установленной закономерностью структурного адаптивного ответа мембран более холодолюбивых видов, которые показаны,

например, в исследованиях Крепса Е.М. (Крепс, 1979) и Хочачки П. и Сомеро Дж. (Хочачка, Сомеро 1977, 1988). В соответствии с этими исследованиями структурные перестройки фосфолипидов клеточных мембран тканей у холодолюбивых видов происходят за счет увеличения двойных связей в углеродной цепи кислот и/или увеличения короткоцепочечных кислот. У м. лисицы, в эритроцитарных мембранах мы отмечаем высокое содержание пальмитиновой кислоты (C_{16:0}), которая в сумме с другими короткоцепочечными насыщенными ЖК на 9,1% превышает аналогичную сумму кислот у м. кота. Тем не менее, за счет ненасыщенных кислот ИДС и коэффициент ненасыщенности у м. кота выше это, на наш взгляд, свидетельствует о большей «текучести» их плазматических мембран эритроцитов.

Таким образом, проведенные исследования по жирнокислотному составу фосфолипидов плазматических мембран эритроцитов рыб показали, что мембраны эритроцитов рыб имеют достаточно широкий спектр варьирования ЖК. Причины этих различий, на наш взгляд, связаны с особенностями вязкости бислойного матрикса у каждого вида и обеспечения кислородтранспортной функции эритроцитами в соответствии с их эволюционными и экологическими особенностями.

PHOSPHOLIPID FATTY ACID COMPOSITION OF R B C PLASMA MEMBRANES OF SOME CARTILAGINOUS AND BONY FISHES FROM THE BLACK SEA

Yu. A. Silkin, Ye.N. Silkina

Karadag Nature Reserve of Ukraine National Academy of Sciences, Feodosia, Ukraine
ysilkin@mail.ru

The fatty acid composition of phospholipids of the red blood cells plasma membranes of two species of cartilage (*Raja clavata* L. and *Dasyatis pastinaca* L.) and three species of bony fish (*Scorpaena porcus* L., *Spicara flexuosa* Raf. and *Tracurus mediterraneus ponticus* Aleev) was studied. The particular fatty acid composition of phospholipids of fish of different evolutionary and ecological specialization was showed.

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У МИДИЙ *MYTILUS EDULIS* ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКСКРЕТОРНО-СЕКРЕТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ НЕКОТОРЫХ ГИДРОБИОНТОВ БЕЛОГО МОРЯ

В.С. Скидченко¹, Р.У. Высоцкая¹, М.Ю. Крупнова¹, В.В. Халаман²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия
amelina@bio.krc.karelia.ru

² Учреждение Российской академии наук Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

В условиях лабораторного эксперимента исследовали биохимический ответ тканей мидий (*Mytilus edulis*) на присутствие в среде метаболитов некоторых наиболее массовых видов, характерных для сообществ обрастания Белого моря. Среди них двустворчатые моллюски *Hiatella arctica* и *Mytilus edulis*, губка *Halichondria panicea*, одиночная асцидия *Styela rustica*, морская звезда *Asterias rubens*. Подопытных моллюсков помещали в аквариумы с профильтрованной кондиционированной водой (морская вода, в которой предварительно в течение 2 суток содержали особей одного из перечисленных видов из расчета 100 г живого веса на 1 л воды). Контролем служили мидии, содержащиеся в морской воде, выдержанной без животных. Материал для анализа отбирали через каждые 6 часов воздействия. Общее время экспозиции – одни сутки. Перед началом опыта были взяты пробы тканей мидий для получения исходного уровня исследуемых биохимических показателей («нулевой контроль»). Об изменении биохимического статуса моллюсков судили по изменению активности ряда лизосомальных ферментов, принимающих участие в метаболизме нуклеиновых кислот, белков и некоторых углеводов. Удельную активность ферментов (РНКаза, ДНКаза, β-глюкозидаза, β-галактозидаза, катепсин В, катепсин

Д) определяли в органах мидий, имеющих тесный контакт с окружающей средой: жабры и край мантии.

Анализ полученных данных выявил наличие определенной динамики исследуемых биохимических показателей у контрольных мидий, причем принципиально различной в жабрах и в краевом участке мантии. Так, если в мантии наблюдалась тенденция к монотонному уменьшению активности лизосомальных гидролаз, указывающая на снижение общего уровня метаболизма в органе, то в жабрах для каждого из ферментов был характерен свой профиль изменения активности. Однако практически все исследуемые показатели контрольных моллюсков в конце эксперимента возвращались к исходному уровню активности (не отличались от «нулевого контроля»), позволяя предположить, что наблюдаемая динамика метаболических функций у мидий контрольной группы отражала акклимацию к условиям содержания.

Помещение моллюсков в среду, содержащую экскреторно-секреторные продукты (ЭСР) того или иного вида, приводило к отклонению активности лизосомальных гидролаз от динамики, наблюдаемой в контроле. Причем, биохимический ответ на сигналы других видов был тканеспецифичен. Различия в профилях активности лизосомальных ферментов у моллюсков из разных экспериментальных групп отчетливо прослеживались в жабрах, тогда как в мантии были выражены слабо.

Наименьшие отличия в активности исследуемых ферментов от контрольной группы отмечены у мидий, содержащихся с ЭСП своего же вида. У мидий данной экспериментальной линии происходили небольшие модуляции активности ДНКазы и катепсина В, однако, общая картина биохимических изменений была полностью аналогична контролю. Под действием метаболитов *H. arctica* в тканях мидий происходила активация ферментов прямо или косвенно связанных с обменом белка – кислой РНКазы и катепсинов. Динамика активность лизосомальных гликозидаз и ДНКазы под действием данного вида не отличалась от контрольной, что говорит об отсутствии значительного «стрессированного» воздействия *H. arctica* на мидий в эксперименте.

Выдерживание мидий в воде, кондиционированной представителями наиболее «агрессивных» по отношению к мидии видов: хищника, *A. rubens* и конкурентов *S. rustica* и *H. panicea*, – вызывало у экспериментальных моллюсков различные по амплитуде, но сходные между собой по направленности, отклонения от «нормальной» динамики активности ферментов. Так, в жабрах моллюсков после 12–18 ч экспозиции отмечено повышение активности нуклеаз, свидетельствующее об оперативной перестройке метаболизма в клетке, имеющей, по всей видимости, компенсаторный характер. Кроме того, в жабрах мидий, подвергавшихся воздействию ЭСП указанных видов, был зафиксирован резкий всплеск гликозидазной активности лизосом, особенно сильный в присутствии сигналов морской звезды. Нарастание ДНКазной активности в присутствии ЭСП *A. rubens* в сочетании с максимальной активацией лизосомальной β -гликозидазы в жабрах моллюсков, принимающей участие в мобилизации углеводных запасов, может указывать на закрытие раковины в присутствии хищника. С другой стороны, активация гликозидазной активности лизосом под действием ЭСП *S. rustica* и *H. panicea*, как наиболее вероятных продуцентов вторичных метаболитов аллелопатического действия, а также более выраженная, по сравнению с реакцией на сигналы морской звезды, активация галактозидазной активности, может быть связана с реализацией другой защитной реакции мидий – выработки слизи, углеводные компоненты которой содержат большое количество производных глюкозы и галактозы. Слизистый слой, покрывающий практически все поверхности мягких тканей *Bivalvia*, контактирующие с водой, помимо прочих, выполняет защитную функцию, препятствуя попаданию патогенных микроорганизмов и ксенобиотических веществ во внутреннюю среду моллюска. Кроме того, нельзя исключить, что в данном случае активация лизосомальных гликозидаз может быть направлена на обеспечение гидролиза действующих веществ исследуемых видов, предполагая, в таком случае, наличие в их структуре олиго/полисахаридных фрагментов.

Таким образом, биохимическую реакцию в тканях экспериментальных моллюсков на присутствие в среде сигналов других организмов можно условно разделить на 2 типа: «норма», к которой можно отнести воздействие своего же вида, полностью аналогичное контролю; и второй тип – сходные между собой по направленности изменения, вызываемые ЭСП асцидии, губки и морской звезды. *H. arctica* занимает промежуточное положение.

Работа выполнена при поддержке грантов Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4, РФФИ № 10-04-00310.

ALTERATIONS OF SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLUE MUSSEL *MYTILUS EDULIS* UNDER THE INFLUENCE OF SECRETORY/EXCRETORY PRODUCTS (SEPS) OF THE SEVERAL WHITE SEA INVERTEBRATES

V.S. Skidchenko ¹, R.U. Vysotskaya ¹, M.Yu. Krupnova ¹, V.V. Khalaman ²

¹ Institute of Biology Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia
amelina@bio.krc.karelia.ru

² Zoological Institute of RAS, Saint-Petersburg, Russia

Biochemical response of blue mussels *Mytilus edulis* to SEPs of five invertebrates species (bivalve mollusks *Hiatella arctica* and *Mytilus edulis*, sponge *Halichondria panicea*, solitary ascidian *Styela rustica*, starfish *Asterias rubens*) was studied in the laboratory by assaying several lysosomal enzymes (nucleases, glycosidases and cathepsins). According to the SEPs effect on mussel metabolism, tested species could be divided in two types: «neutral» (*M. edulis*) with the least effect on experimental mussels, and «aggressive» (*H. panicea*, *S. rustica*, *A. rubens*), causing activation of the same enzymes, mainly acid RNase and glycosidases, but to different extend. *H. arctica*, slightly affecting protein metabolism in mussel tissues, could be placed in the interjacent position.

СЕЗОННЫЕ ВАРИАЦИИ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ *MULLUS BARBATUS PONTICUS* СУЛТАНКИ ИЗ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ г. СЕВАСТОПОЛЯ

Е.Н. Скуратовская

Институт биологии южных морей НАНУ, Севастополь, Украина
skuratovskaya2007@rambler.ru

Большинство показателей метаболизма гидробионтов подвержены значительным сезонным изменениям. Такая изменчивость в характере обмена связана с существованием физиологических ритмов, которые обусловлены, в свою очередь, колебаниями температурного, кислородного и водно-солевого режима водоемов, освещенности, обеспеченности пищей в течение года.

Известно, что параметры антиоксидантной защитной системы, характеризующие функциональное состояние организмов и среды их обитания, подвержены сезонным колебаниям. Поэтому для корректного использования данных показателей в качестве биомаркеров необходимо учитывать пределы их естественной вариабельности в популяциях изучаемых видов.

На основании вышеизложенного цель работы состояла в изучении сезонных вариаций активности антиоксидантных ферментов крови султанки *Mullus barbatus ponticus* (Essipov) из прибрежной зоны г. Севастополя.

Объектом исследований служила султанка *Mullus barbatus ponticus* (Essipov), отловленная с помощью донных ловушек в прибрежных районах г. Севастополя. Этот вид широко распространен в Черном море и представляет большой интерес в связи с промысловым значением. Материалом исследований служили эритроциты крови рыб. Кровь отбирали из хвостовой артерии, получали гемолизаты, в которых определяли активность антиоксидантных ферментов каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПЕР), глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (ГТ) спектрофотометрическими методами. Активность ферментов вычисляли в пересчете на концентрацию гемоглобина (Hb). Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если $p \leq 0.05$.

Результаты исследований показали, что активность антиоксидантных ферментов крови султанки подвержена сезонным колебаниям (табл.).

Активность антиоксидантных ферментов (на мг Hb/мин, $M \pm m$) в эритроцитах крови султанки в разные сезоны года

Фермент	Зима n=10	Весна n=33	Лето n=30	Осень n=9
КАТ, мг Н ₂ O ₂	0,42±0,03***	0,58±0,04	0,44±0,04***	0,41±0,08
СОД, усл. ед.	232,24±38,51*	253,95±27,02*	340,91±32,78	336,91±30,07
ПЕР, опт. ед.	8,28±1,20	3,94±0,72**	4,35±0,75**	9,23±1,98
ГР, нмоль НАДФН	1,78±1,10	5,18±0,96****	8,83±1,63****	7,47±3,50
ГТ, нмоль конъюг.	9,64±3,48	25,86±5,31****	30,00±6,38****	17,40±3,97

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с показателями осенне-летнего периода, ** – осенне-зимнего, ***-весеннего, ****- зимнего ($p < 0,05-0,01$); n – количество особей

Активность каталазы в крови рыб достоверно выше весной по сравнению с остальными сезонами. Активность СОД летом и осенью превышает соответствующие значения рыб в зимне-весенний периоды ($p < 0,05$), тогда как активность пероксидазы максимальна осенью и зимой ($p < 0,05$). Для ГР и ГТ отмечена одинаковая тенденция: активность ферментов имеет минимальные значения зимой по сравнению с остальными периодами года.

Изменение активности антиоксидантных ферментов в течение года может быть связано как с существованием сезонных физиологических ритмов, так и с различным уровнем антропогенной нагрузки в каждый период года. При этом обе группы факторов тесно взаимосвязаны между собой. С одной стороны, весной с повышением температуры наблюдается интенсификация обменных процессов в организме рыб, подготовка к нересту и нерест. Преднерестовый и нерестовый периоды характеризуются высоким уровнем метаболизма у султанки и сопровождается интенсивным питанием. В это время ферменты антиоксидантной системы наряду с процессами детоксикации поллютантов осуществляют метаболизм физиологически активных веществ, в связи с чем их активность возрастает. С другой стороны, с повышением температуры увеличивается рекреационная нагрузка на прибрежные акватории, что способствует попаданию в организм биогенов и ксенобиотиков в высоких концентрациях. Все это приводит к росту активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови рыб в теплый период года.

Высокие значения активности ферментов у рыб в летне-осенний периоды могут быть обусловлены также интенсификацией процессов кровообращения в нерестовый и посленерестовый периоды, попаданием в акватории веществ не только антропогенного, но и природного происхождения. Так, осенью происходят процессы разложения фито- и зоопланктона, в результате чего в морскую среду проникают дополнительные органические соединения, что стимулирует активность антиоксидантных ферментов в крови рыб.

Зимой, с понижением температуры воды, уровень метаболизма у рыб снижен, потребление кислорода и тканевое дыхание гораздо меньше, чем в остальные сезоны; питание в значительной степени сокращено. Рекреационная нагрузка на места обитания рыб минимальна, в связи с чем активность ферментов крови в данный период года низкая.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови рыб подвержена сезонным изменениям, обусловленным физиологическим состоянием особей, колебаниями температуры воды в течение года, а также уровнем антропогенного загрязнения.

SEASONAL VARIATIONS OF ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN BLOOD OF RED MULLET *MULLUS BARBATUS PONTICUS* OF THE COASTAL AREA OF SEVASTOPOL

E.N. Skuratovskaya

Institute of Biology of the Southern seas of National Academy of Science, Sevastopol, Ukraine
skuratovskaya2007@rambler.ru

Seasonal peculiarities of antioxidant enzyme activities in blood of red mullet *Mullus barbatus ponticus* collected in marine coastal area of Sevastopol were investigated. It was shown, that the parameters studied are effected by seasonal variations, characterized by the activity increase in warm time of the year (an exception is Peroxidase). It can depend on metabolism level intensification in fish and increase of anthropogenic impact.

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО

В. В. Слободскова, Е. Е. Солодова, В. П. Челомин

Тихоокеанский Океанологический Институт им. В. И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток, Россия
slobodskova@poi.dvo.ru

В настоящее время пристальное внимание привлекает проблема возрастающего поступления токсичных веществ в окружающую среду и последствия их воздействия на биоту. Значение загрязнения морских прибрежных акваторий обусловлено негативным влиянием ксенобиотиков на гидробионтов, действие которых проявляется только после их поглощения и накопления клеточными структурами организма. На сегодняшний день уже известно достаточное количество фактов нарушения структуры биоценозов и популяций, поведенческих реакций, физиологических функций и множественных патологий особей из сред с хроническим загрязнением. В основе подобных реакций лежат биохимические изменения на субклеточном и молекулярном уровнях.

Цель нашей работы – оценка генотоксичности среды обитания на степень повреждения молекулы ДНК жабренных клеток двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* методом ДНК-комет (Comet assay, SCGE).

Сбор животных проводился в лагунах и эстуариях залива Петра Великого в октябре 2009 года. В работе использовали половозрелых особей (размер 30–34 мм) *C. japonica*.

На рис. 1 представлены микрофотографии комет, формируемых клетками жабр корбикулы японской из разных районов залива Петра Великого. Результаты нашего исследования показывают значительные повреждения ДНК у моллюсков, собранных из мест с антропогенной нагрузкой (эстуария реки Раздольная. У животных, встречающихся в лагуне Лебяжья и эстуарии реки Артемовка, отмечено отсутствие ДНК-разрывов или слабое их проявление.

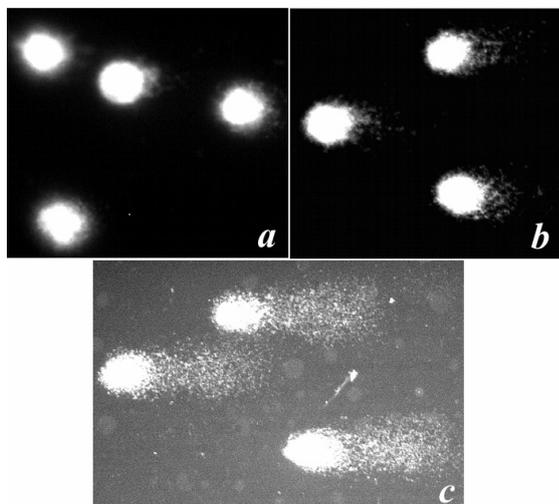


Рис. 1. Степень повреждения молекулы ДНК жабренной ткани

C. japonica (a) эстуария реки Артемовка; (b) лагуна Лебяжья (c) эстуария реки Раздольная

Полученные экспериментальные данные показывают, что неблагоприятная среда обитания может инициировать серьезные нарушения в структуре генома, которые могут привести к возникновению мутаций и злокачественных трансформаций клетки. Учитывая исключительную роль генома в функционировании биологической системы, выявленные повреждения в структуре молекулы ДНК, следует отнести к наиболее важным проявлениям токсичности среды обитания. Мы считаем, что метод ДНК – комет обладает высокой чувствительностью, и может быть применен в мониторинге генотоксичности среды.

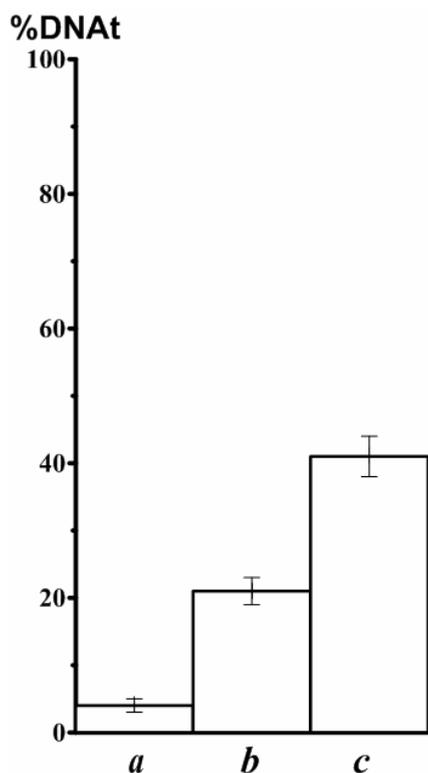


Рис. 2. Доля ДНК в хвосте комет (%DNAт) формируемых клетками жабр корбикулы, обитающей в (a) эстуария реки Артемовка ($P < 0.05$); (b) лагуна Лебяжья ($P < 0.05$); (c) эстуария реки Раздольная ($P < 0.05$)

На диаграмме (рис.2) приведен один из параметров полученных комет (доля ДНК в хвосте кометы – %DNAт), отражающий степень повреждения жаберной ДНК *S. japonica*, обитающей в разных районах залива Петра Великого. Анализ этих данных показывает, что в клетках жабр моллюсков отобранных с мест с повышенной антропогенной нагрузкой (эстуария реки Раздольная), доля ДНК в хвосте кометы существенно выше, чем у животных собранных в относительно чистых местах.

APPLICATION OF GENOTOXIC ANALYSIS FOR MONITORING OF COASTAL ZONE OF PETER THE GREAT BAY

Slobodskova V.V., Solodova E. E., Chelomin V.P.

V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute,
of the Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia
slobodskova@poi.dvo.ru

The coastal zones of seas and oceans, where the center of the main stocks of biological resources that may be susceptible to a variety of anthropogenic factors, which have various effects on marine organisms and affects all levels of the organization of living systems – from the molecular to the ecosystem. In connection with, the actual problem is reliable and operational ecotoxicological assessment of the relevant sea areas.

АКТИВНОСТЬ АМФ-ДЕЗАМИНАЗЫ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ, ИМЕЮЩИХ РАЗНУЮ СКОРОСТЬ ПЛАВАНИЯ

Ю. Д. Смирнова

Карадагский природный заповедник НАН Украины, Феодосия, Крым, Украина
karadag@ukrpost.ua

АМФ-дезаминаза (АМФДА, АМФ-аминогидролаза, КФ 3.5.4.6) – интегральный фермент цикла пуриновых нуклеотидов (в результате его оборота происходит циклическое дезаминирование

АМФ). Как известно, именно дезаминирование АМФ является главным источником аммония при активации мышечных сокращений. АМФДА катализирует гидролитическое дезаминирование АМФ до ИМФ (инозинмонофосфата) и аммония. В мышечной клетке существует равновесие между разными формами адениловых нуклеотидов. Реакция, катализируемая АМФ-деаминазой, имеет важное значение, так как сдвигает это равновесие. Изменение соотношения между содержанием разных форм аденилатов и его восстановление регулирует многие клеточные процессы, в том числе и мышечные сокращения (Лушак В.И., 1996).

В мышцах животных значительная часть АМФ-деаминазы связана с миофибриллами. Японскими биохимиками (Shiraki et al., 1979) на кроликах и крысах было показано перераспределение свободной и связанной форм АМФДА в мышцах при увеличении двигательной нагрузки, что трактуется ими, как участие перераспределения вышеназванных форм в регуляции активности АМФДА. При неизменном уровне общей активности, в результате стимуляции мышечных сокращений доля связанного фермента возрастала, а после отдыха возвращалась к исходному уровню. Одновременно зарегистрировали убыль содержания АМФ и рост уровня ИМФ и аммония. Авторы сделали вывод о возможной корреляции между связыванием АМФДА и скоростью аммиогенеза, причем рассматривали связанную форму фермента как активную. Аналогичные результаты были получены П. Туллсоном с соавторами (Rundell et al., 1993) на мышцах крыс при беговой нагрузке.

В.И. Лушак также нашел увеличение связывания АМФДА в белых мышцах лосося при плавательной нагрузке в условиях эксперимента, описанных в упомянутой работе (Rundell et al., 1993), когда ткани сразу замораживали в жидком азоте, а позднее анализировали. Однако, если изучали свежие ткани, такое перераспределение свободной и связанной фракций АМФДА обнаружить не удалось (Lushchak, Storey, 1994).

Результаты, полученные нами при исследовании активности АМФ-деаминазы и соотношения ее свободной и связанной форм в тканях рыб, отличающихся скоростью плавания, позволяют взглянуть иначе на роль свободной фракции фермента. Были изучены ткани скорпены (*Scorpaena porcus* L.), темного горбыля (*Sciaenops ocellatus* L.), султанки (*Myxus barbatus ponticus* E.), ставриды (*Trachurus mediterraneus* Staindachner).

Оказалось, что активность фермента в мозге, жабрах, печени и сердце этих рыб не велика: 0,3–3,3 усл.ед. (условных единиц) на 1 г ткани и не взаимосвязана, кроме жабр, с физиологической скоростью плавания. У морского ерша, преимущественно находящегося в покое и совершающего короткие рывки лишь за добычей и при перемене укрытия, активность фермента максимальна в печени, не велика и почти одинакова в жабрах, сердце и клетках мозга. У самого крупного по массе тела темного горбыля активность АМФДА нарастает в ряду: мозг – жабры – печень – сердце, причем в клетках сердца она в три раза выше, чем у ерша и достоверно выше, чем у ставриды и султанки. В белых мышцах уровень активности АМФДА намного выше, чем в тканях других органов рыб, и возрастает от 10 усл.ед. /г ткани у ерша до 66–78 усл.ед./г у более подвижных султанки и ставриды. Процент свободной АМФДА, регистрируемый в белых мышцах, также изменяется в сторону увеличения у рыб, обладающих большей скоростью плавания, т.е. большей интенсивностью метаболических процессов, от 21% у ерша до 66% у ставриды.

Логично предположить, что свободная, слабее связанная с мембраной, фракция АМФДА в тканях рыб – это активированная форма фермента, а связанная фракция – это «депо», откуда фермент переходит в активную форму при нарастающей мышечной нагрузке, что подтверждается данными о степени высвобождения АМФДА при изменении рН экстрагирующего раствора (Смирнова, Лушак, 1996). Максимальный выход АМФДА наблюдался при отклонении рН от физиологических значений, при сдвиге в кислую или щелочную области, то есть накопление щелочных или кислотных остатков может стимулировать процесс перехода фермента в «свободную», форму. Это согласуется с интерпретацией Т.Моммсена и П.Хачачки (Mommesen, Hochachka, 1988) об участии АМФДА в стабилизации кислотно-щелочного баланса через образование иона аммония, нейтрализующего кислотные эквиваленты, накапливающиеся при интенсивном метаболизме.

Если считать высвобождение АМФДА – ее активацией, можно было бы рассматривать процесс «связывание-освобождение» как механизм регуляции активности фермента. Такая трактовка роли свободной АМФДА не противоречит данным, по увеличению процента связанной фракции при длительной мышечной нагрузке (Shiraki et al. 1979; Rundell et al., 1993; Lushchak, Storey, 1994). Исследователи фиксировали ткани в жидком азоте и при практически мгновенном торможении ме-

таболизма регистрировали истощение активной, свободной фракции АМФДА, поступающей из «депо» и тут же расходуемой, поэтому получали увеличение доли связанного фермента. Когда же ткани помещали в среду при +4 °С, то за время охлаждения их до остановки метаболизма накапливался пул свободной – активной АМФДА, выход которой из «депо» был стимулирован мышечной нагрузкой, и перераспределение фракций не наблюдалось (Lushchak, Storey, 1994).

Установлено, что, так называемая, связанная форма ферментов (экстрагируемая из гомогената ткани 0,5 М раствором КСl), более устойчива к воздействию инактивирующих факторов: связанная лактатдегидрогеназа из белых мышц ската, в отличие от свободной, не ингибировалась избытком пирувата и в 2–3 раза медленнее инактивировалась под действием протеазы трипсина, чем свободная; связанная форма гексокиназы из мозга скорпены инактивировалась при нагревании в несколько раз медленнее свободной, а связанная пируваткиназа из мозга султанки даже активировалась при 45 °С (Лушчак, 1997; Lushchak, 1998). Связанная (неактивная, по нашей версии) форма фермента менее повреждается под влиянием инактивирующих факторов, так как, вероятно, ее активные центры закрыты и не доступны для воздействия. Данные, полученные на тканях млекопитающих, также подтверждают нашу интерпретацию роли свободной фракции ферментов, как активной формы. Так, общая активность глицеральдегидфосфатдегидрогеназы в эритроцитах крови человека возрастает при увеличении количества свободного, несвязанного с мембранами фермента (Антонович, Слобожанина, 2002).

THE ACTIVITY OF THE AMP-DEAMINASE IN THE TISSUES OF THE BLACK SEA FISH WHICH HAVE DIFFERENT PHYSIOLOGICAL SWIMMING SPEEDS

Yu.D. Smirnova

Karadag Nature Reserve of the National academy of sciences of Ukraine, Feodosiya, Crimea, Ukraine
karadag@ukrpost.ua

The activity of the AMP-deaminase in the tissues of the Black Sea fish, which have different physiological swimming speeds was investigated. The activity of the enzyme in red muscles is 5–10 times and in white muscles 8–15 times was higher than its activity in other fish tissues. The level of AMPDA activity in gills and muscles is higher in those fish that have a higher speed of swimming. The portion of free, easily extractable fraction of AMPDA of the white muscles is also connected with the swimming speed, and it is minimal in the scorpion-fish (20%) and it is maximal in the horse-mackerel (66%). It is supposed the free fraction is an activated form of enzyme and the bound fraction is depot of AMPDA from which this enzyme could be turned into an active form if necessary.

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И КОМПЕНСАЦИИ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ У МОРСКИХ РЫБ

А.А. Солдатов

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина
alekssoldatov@yandex.ru

Кислород, выполняя функцию акцептора электронов в дыхательной цепи митохондрий, в конечном итоге определяет энергетический статус тканей и организма в целом. В условиях водной среды, где диффузия его протекает в 10000 раз менее эффективно в сравнении с воздухом, возникновение гипоксических состояний у гидробионтов становится более вероятным событием. Особенно это актуально для рыб, у которых энергетические траты на обмен существенно превалируют над конструктивными процессами.

Сравнительные исследования показали, что диффузионная способность тканей костистых рыб (скелетные мышцы) была в 2–21 раз ниже, чем у рептилий, амфибий и птиц. При этом величина гемодинамического эквивалента у них, напротив, оказалась в 2–8 раз выше (Солдатов, 2007). Столь существенные различия диффузионных характеристик предполагают высокую чувствительность кислородного гомеостаза тканей рыб к различным факторам среды. Исследуя характер рас-

предела PO_2 в тканях, соотношение аэробных и анаэробных процессов, состояние систем кислородного обеспечения организма рыб нам удалось определить ряд механизмов, ответственных за развитие и компенсацию гипоксических состояний.

Механизмы развития тканевой гипоксии.

Показано, что возникновение тканевого дефицита кислорода у рыб может быть связано с изменением функционального состояния, как физиологических, так и молекулярных систем.

- Артериальная гипоксемия была отмечена у рыб не только в условиях внешней гипоксии, но и гиподинамии. Ограничение подвижности ухудшает газообмен в жаберной полости, особенно у активных видов, часто использующих таранный тип вентиляции. Низкая подвижность предполагает длительное нахождение организма в одном и том же объеме воды. Известно, что диффузия O_2 в воде ограничена. При отсутствии активного перемешивания уровень его быстро понижается. Существование в таких условиях фактически соответствует хроническим формам респираторной гипоксии и приводит к падению PaO_2 .

- Случаи анемии были описаны у рыб в преднерестовый период и в условиях гипоосмии. В обоих случаях они определялись снижением числа эритроцитов в крови. Преднерестовая анемия была обусловлена старением эритроцитарной массы в виду нерегулярности эритропоэтических процессов в кроветворной ткани. Она дополнялась развитием метгемоглобинемии. В условиях гипоосмии наблюдали свелинг и последующий лизис части циркулирующих эритроцитов.

- Гипоосмия морской среды сопровождалась гидратацией мышечной ткани рыб, особенно у стеногалинных видов. Это явление периодически отмечалось и на протяжении годового цикла. Оно снижало диффузионную способность мышц по отношению к O_2 и приводила к уменьшению тканевого PO_2 .

- Тепловой эффект реакции оксигенации гемоглобина у теплолюбивых рыб в условиях гипотермии повышался. Это определялось изменением характера взаимодействия белка с внутриклеточным микроокружением и приводило к чрезмерному росту сродства крови к O_2 . Последнее осложняло разрядку оксигемоглобина и сопровождалось снижением тканевого PO_2 .

- В условиях гипотермии сосуды мышц теплолюбивых рыб утрачивали способность активно реагировать на функциональные нагрузки, что было связано с повышением содержания Ca^{2+} в мышечной ткани. Это приводило к неконтролируемой вазоконстрикции, снижению плотности капиллярной сети, росту диффузионных пространств и уменьшению тканевого PO_2 .

Механизмы компенсации тканевой гипоксии.

Анализ гипоксических состояний организма рыб позволил выявить группу процессов направленной коррекции кислородного режима мышечной ткани. Некоторые из них развивались в относительно короткий промежуток времени (срочная компенсация), другие наблюдались спустя многие часы (длительная компенсация).

Механизмы компенсации гипоксических состояний скелетных мышц рыб

N	Процесс	Функциональное назначение	Тип компенсации	Условия реализации
1	Опорожнение кровяных депо	Рост кислородной емкости крови	Срочный	Гипоксия, гипотермия
2	Гиперемия (на фоне роста подвижности)	Сокращение диффузионных расстояний. Рост объемного кровотока	Срочный	Гипоксия
3	Перестройка гетерогенной структуры гемоглобина	Повышение сродства крови к кислороду. Изменение ее чувствительности к рН	Длительный	Гиподинамия, гипоксия
4	Изменение уровня НТР в эритроцитах	Изменение сродства крови к кислороду	Длительный	Гипотермия
5	Повышение уровня терминальной группы цитохромов (aa_3)	Связывание следовых количеств O_2 в мышечной ткани	Длительный	Гиподинамия, гипоксия, гипотермия, сезон
6	Рост содержания миоглобина в красных мышцах	Повышение диффузионной способности мышечной ткани	Длительный	Гипотермия
7	Рост тканевого уровня липидов. Снижение степени гидратации мышц	Повышение диффузионной способности мышечной ткани	Длительный	Гипотермия, сезон

Срочные механизмы компенсации: гиперемия, опорожнение кровяных депо, были выявлены в основном у представителей пелагической ихтиофауны. Ранее показано, что резервы депо крови у них почти в 5 раз выше, чем у донных видов (Солдатов, 1992). Гиперемия у рыб была выявлена в условиях внешней гипоксии. Однако она наблюдалась на фоне роста двигательной активности особей, которые пытались компенсировать дефицит O_2 напорной вентиляцией жаберной полости. Известно, что движение является основным фактором гиперемии скелетной мускулатуры у рыб (Шошенко и др., 1984; Egginton, 1997). Поэтому данную реакцию не следует рассматривать как компенсационную.

Процессы, определяющие длительную компенсацию, развивались на уровне циркулирующих эритроцитов и мышечной ткани. В эритроцитах происходила направленная коррекция сродства гемоглобина к O_2 и чувствительности его к рН. Это достигалось путем перестройки гетерогенной структуры белка или на основе изменения внутриклеточной концентрации НТР. В конечном итоге сродство к O_2 повышалось. Изменение чувствительности к рН было не однозначным. У донных видов она росла, а у пелагических падала. Первая стратегия облегчала разрядку оксигемоглобина на тканевом уровне, а вторая снижала зависимость процесса оксигенации и деоксигенации белка от рН. Выбор стратегии, по-видимому, определялся степенью плазменного ацидоза. У пелагических рыб он был выше.

В мышцах все изменения были направлены на увеличение диффузионной способности ткани по отношению к O_2 : рост содержания миоглобина, липидов и снижение степени ее гидратации. Одновременно повышался уровень цитохромов, а дыхательная цепь приобретала гипоксический тип организации, что позволяло утилизировать следовые количества O_2 в ткани.

MECHANISMS OF DEVELOPMENT AND COMPENSATION OF TISSUE HYPOXIA IN MARINE FISHES

A.A. Soldatov

Institute of Biology of the Southern seas of National Academy of Science,
Sevastopol, Ukraine
alekssoldatov@yandex.ru

Physiological and molecular systems of transport and utilization of oxygen determining oxygen homeostasis in tissues of marine fishes were investigated. Simultaneously the character of PO_2 distribution in tissue and an orientation of tissue metabolic processes were estimated. The groups of processes responsible for development of tissue hypoxia were distinguished. These are some kinds of respiratory, circulating and hemic forms of hypoxia which develop under different functional state of the organism and environment conditions. Some of these hypoxia form were specific for hydrobionts and did not meet in terrestrial organisms. In circulating, hemic systems and tissue molecular systems were registered compensatory reactions. These reactions were resulted in increase of volume of transporting oxygen and in diffusion characteristics of tissue liquid.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИЙ РЫБ ВОДОЕМОВ СЕВЕРНОЙ ФЕННОСКАНДИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ СРЕДЫ И ИНТЕНСИВНОСТИ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

П.М. Терентьев

Учреждение Российской академии наук Институт проблем промышленной экологии Севера Кольского
научного центра РАН, Апатиты, Россия
p_terentjev@inep.ksc.ru

Присутствие тяжелых металлов в водной среде способно оказывать биологическое действие на организмы. Токсичность металлов у рыб проявляется на клеточном и субклеточном уровнях. У рыб отмечаются поражения внутренних органов, в том числе имеющих специфические проявления (Кашулин и др., 1999; Моисеенко, 1997, 1999). Комбинат «Печенганикель», являющийся одним из

крупнейших медно-никелевых предприятий Европы, расположено на территории водосбора крупной озерно-речной системы Северной Фенноскандии оз. Инари-р. Пасвик, представляющей собой цепь водохранилищ, расположенных на различном расстоянии от предприятия и испытывающих долговременное влияние тяжелых металлов и кислотообразующих соединений. Целью данного исследования является выявление пространственных закономерностей в развитии патологий сига водоемов бассейна р. Пасвик, расположенных по направлению увеличения интенсивности загрязнения тяжелыми металлами в последовательности: Инари–Раякоски–Ваггетем–Скрюккебукта–Куэтсъярви.

Установлено, что патологические изменения внутренних органов сига отмечаются во всех исследованных водоемах. Наиболее распространенными изменениями в организмах сига бассейна р. Пасвик в настоящее время являются патологии почек и печени. Частота встречаемости соединительно-тканых перерождений почек наиболее высока по сравнению с другими органами. Для водоемов системы р. Пасвик характерно увеличение встречаемости патологий органов сига по мере приближения к предприятию «Печенганикель» (рис. 1). Наиболее серьезные поражения внутренних органов характерны для рыб оз. Куэтсъярви. В настоящее время поражения печени, почек и жабр сига данного водоема отмечаются в 75–100% случаев. На фоне наиболее высоких показателей встречаемости патологий печени и почек сига, поражения органов репродуктивной системы рыб также являются наиболее высокими из всех исследованных водоемов. У всех рыб оз. Куэтсъярви отмечается снижение тургора мышц, депигментация кожных покровов. В жабрах были выявлены нарушения в структуре жаберных тычинок, депигментация окраски жаберных лепестков. Явление почечнокаменной болезни сига, отмечаемой только для данного района, отмечено в более 9% случаев.

Наиболее распространенные изменения – соединительно-тканые разрастания почек сига могут свидетельствовать о нарастающей нагрузке никеля на водоемы, провоцирующего развитие патологий именно данного органа. Кроме того, в настоящее время не наблюдается снижения встречаемости патологий жабр и внешних покровов сига в зависимости от уровня нагрузки и удаленности водоема от источника загрязнения. Объяснением этому, по-видимому, являются особенности питания рыб. Содержание тяжелых металлов в придонных слоях, а, следовательно, и в придонных организмах, как правило, выше. Преимущественный бентосный тип питания сига определяет повышенные уровни поступления тяжелых металлов в организм. Таким образом, повышенные концентрации металлов, поступивших с пищей, вероятно, способны оказывать патологическое действие именно на печень и почки. Кроме того, в условиях антропогенного закисления водоемов, в них возможна интенсификация процессов вторичного загрязнения, что также может служить мощным дополнительным фактором активизации патологических процессов в органах и тканях рыб.

Интенсивность и частота встречаемости изменений организмов хищных рыб (щука), на фоне закономерного увеличения по мере приближения к источнику аэротехногенного загрязнения, также как и у сегов, характеризовалась проявлением начальных стадий патологий у рыб в значительно удаленных от источников загрязнения водоемах.

Общая оценка патологических изменений сига исследованных водоемов показала, что частота встречаемости нарушений органов и тканей рыб была ниже у сига водохранилища Ваггетем. Кроме того, развитие патологий рыб здесь носит начальный характер. Водоохранилище нижнего течения р. Пасвик – Скрюккебукта, испытывающее более высокие уровни антропогенной нагрузки, характеризуется более высокой частотой встречаемости патологий. Необходимо отметить, что среди сегов Скрюккебукта в 60% случаев регистрировались внешние изменения, выражающиеся в снижении тургора мышечных тканей, бледной окраске кожных покровов и депигментации покровов черепа.

Результаты исследований по оценке интенсивности и характера проявлений патологий рыб бассейна р. Пасвик в условиях аэротехногенного и прямого загрязнения тяжелыми металлами свидетельствует о значительной уязвимости ихтиофауны водохранилищ. Функционирование рыбной части сообщества водоемов бассейна в современных условиях, несмотря на значительно снижение промышленных выбросов в условиях существующей нагрузки на территории водосбора и потенциальной опасности интенсификации процессов вторичного загрязнения, сохраняют тенденции к изменению на всем протяжении реки. Однако разнородностью условий обитания водохранилищ, вариабельностью гидрологических параметров, многообразии кормовой базы способно компенсировать негативное влияние токсичности среды.

The particularities of the fish pathology development of the Pasvik River basin under the long-term industrial pollution of heavy metals were analyzed. The strong correlation between the specific biological responses and intensity of pollution was registered. The degradation signs of fish (intensive development of internal's pathologies) are the most clearly registered in the vicinity of industrial smelter. The unfavorable changes of different intensity are touch upon all the waterbodies along the Pasvik River and may denote the high vulnerability of fish fauna to anthropogenic transformations.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА РУССКОГО ОСЕТРА И БЕЛУГИ

Н.Н. Тимошкина¹, А.Е. Барминцева², Д.В. Коваленко¹

¹ Азовский НИИ рыбного хозяйства (АзНИИРХ), Ростов-на-Дону, Россия
n_timoshkina@mail.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО),
Москва, Россия
bae69@mail.ru

Драматическое снижение численности большинства осетровых видов вследствие сокращения мест естественного размножения, неконтролируемого вылова, привлекло внимание к генетике этих рыб. Микросателлитные ядерные маркеры, благодаря высокой степени мутирования и небольшим размерам аллелей, широко применяют для популяционных исследований, в судебной практике (например, контроль происхождения продуктов из осетровых), их используют для оценки эффективности восстановительных мероприятий, что особенно важно при искусственном воспроизводстве популяций.

Методом STR-анализа четырех локусов (An20, Afug41, Afug51, AoxD165) мы исследовали генетический полиморфизм *A.gueldenstaettii* и *H.huso*, выловленных в бассейне Каспийского, Чёрного и Азовского морей. Основные результаты представлены в таблице.

Анализ генотипов продемонстрировал диплоидное распределение STR-аллелей у белуги и тетраплоидное – по тем же локусам у русского осетра. Полиплоидностью последнего, очевидно, обусловлены более высокие значения гетерозиготности. Уровень полиморфизма в выборках двух видов прямо коррелирует с размером популяции. Так, дефицит гетерозигот в азовских популяциях отражает стремительное падение численности исследуемых видов на фоне их полувекового искусственного воспроизводства в Азовском море.

В целом русский осетр и белуга по исследованным микросателлитным локусам обнаружили достаточное генетическое разнообразие, которое позволяет анализировать степень родства особей для научного планирования работ с маточным стадом и оценки эффективности воспроизводства, контролировать динамику генетического разнообразия и популяционной структуры двух видов, численность которых восполняется искусственно. В тоже время данные микросателлитного анализа свидетельствует об изменениях в сложившейся популяционной структуре и геномном разнообразии русского осетра и белуги уже в исторический период в результате искусственного воспроизводства и интенсивного рыболовства.

Генетическое разнообразие русского осетра и белуги по четырем STR- локусам (средние значения)

Выборка	<i>A.gueldenstaettii</i>				<i>H.huso</i>			
	N	L	H ₀	H _E	N	L	H ₀	H _E
Азовская	88	49	0.892	0.981	32	21	0.507	0.581
Каспийская (р.Волга)	380	70	0.941	0.990	80	35	0.564	0.574
Черноморская (р.Дунай, Днепр)	85	58	0.881	0.968	28	25	0.620	0.625

Примечание: N – размер выборки, L – количество обнаруженных аллелей, H₀ – гетерозиготность наблюдаемая, H_E – гетерозиготность ожидаемая

COMPARISON OF GENETIC POLYMORPHISM OF RUSSIAN STURGEON AND BELUGA

N.N. Timoshkina¹, A.E. Barmintseva², D.V. Kovalenko¹

¹ Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH), Rostov-on-Don
Russia, n_timoshkina@mail.ru

² Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, Russia
bae69@mail.ru

Genetic polymorphism *A.gueldenstaetii* and *H.huso* of the Caspian, Black and Azov seas was investigated by method of the STR-analyses of four loci (An20, Afug41, Afug51, AoxD165). The polymorphism level of two species samples directly correlates with the size of each population.

ЦИРКАДИАННЫЙ КАРДИОРИТМ И ИЗМЕНЕНИЯ ЧСС В ТЕСТЕ НА ПОДВЕС КАК КРИТЕРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОРМАЛЬНОГО И СТРЕССОВОГО СОСТОЯНИЙ РАКОВ *PONTASTACUS LEPTODACTYLUS*

Г.П. Удалова, В.П. Федотов, А.В. Иванов, Е.Л. Корниенко, С.В. Холодкевич

Санкт-Петербургский Научно-исследовательский Центр экологической безопасности РАН,
Санкт-Петербург, Россия
udalova39@mail.ru

Перспективными методами биомониторинга химической безопасности водной среды являются применения автоматических систем регистрации и анализа кардиоактивности беспозвоночных животных (раков, крабов, моллюсков) неинвазивно в реальном времени (Depledge et al., 1995; Vamber, Depledge, 1997; Федотов и др., 2000; Kholodkevich et al. 2005). Такая регистрация изменений ЧСС позволяет определять функциональное состояние животных в нормальных условиях их обитания, а также при действии стрессовых факторов. В настоящей работе у раков *Pontastacus leptodactylus* Esch исследовали проявление циркадианного ритма кардиоактивности, а также изменения ЧСС при проведении специального теста – подвешивании животного над дном аквариума в толще воды в течение 1–2 часов. Записи ЧСС вели при оптимальном для этого вида значении pH (6, 8) и при низких (4–3,4).

Исследование проведено на половозрелых раках-самцах, не имевших признаков заболеваний, с весом не менее 50 г, длиной общей и карапакса соответственно 11.5 см и 6 см. До начала эксперимента животных не менее двух недель содержали в пластиковых лотках с убежищами, обеспечивая обратное водоснабжение отстоянной, дехлорированной водой. Поддерживали температуру 16°C и близкий к естественному сезонному световой режим. Дважды в неделю животных кормили мотыльём. На карапакс каждого рака над областью расположения сердца приклеивали держатель для крепления волоконно-оптического датчика, необходимого для регистрации кардиоактивности. Затем рака помещали в аквариум размером 40x35x19.5 см, заполненный до 8–10 см проточной дехлорированной водой. Длина волоконно-оптического кабеля позволяла записывать активность животного при его свободном передвижении и при нахождении в убежище. При помощи семиканального фотоплетизмографа (Kholodkevith et al., 2007) регистрировали кардиоактивность одновременно у семи раков в одинаковых экспериментальных условиях.

Группа из 11 животных находилась 10 дней в воде с pH 6,8–6,5. Уже в первые сутки можно было наблюдать типичный для этого вида циркадианный ритм ЧСС, проявлявшийся в увеличении её в ночной период по сравнению с дневным. В целом для группы ЧСС равнялась 45,48±6,3 уд/мин в дневной период, а в ночной – 57,7±10,3 уд/мин, т.е. ЧСС в ночное время возросла на 27±4,96% при длительности такого изменения около десяти часов. Наблюдались существенные индивидуальные различия у животных группы. Так, дневная ЧСС колебалась от 28 до 78 уд/мин. У 8 раков (72,7% группы) суточный ритм проявился достоверно, хотя и в различной степени. Минимально в ночное время ЧСС увеличилась на 23,18%, а максимально – на 95,4%. У этой подгруппы ЧСС в дневной и ночной периоды равнялась соответственно 39,4±6,7 и 58,2±11,4 уд/мин, а возрастание ЧСС в активный, ночной период суток составило 47,5±10,9% при длительности этого изменения до 9 ч. Циркадианный ритм ЧСС за редким исключением проявлялся в течение всего эксперимента,

хотя степень выраженности ночной активности в разные сутки варьировала. У раков первой группы в дневное время проводили до 4 тестов на подвес с промежутками в 2–3 дня. Степень выраженности реакции на это воздействие определяли, сравнивая величину ЧСС до подвеса с таковой во время теста и после его окончания: за первый час (последствие) и последующий. У всех раков при изменении их обычного положения сразу резко возрастала ЧСС. Достоверность реакции на подвес в виде устойчивого повышения ЧСС выявилась при сравнении средних для группы величин ЧСС до и во время подвеса (соответственно $39,13 \pm 3,15$ и $115,69 \pm 43,82$ уд/мин, $p < 0,01$) и по числу тестов, в которых эта реакция возникала (23 из 27; $p < 0,01$). Выраженность реакции на подвес у раков была различной. Максимально ЧСС увеличивалась у раков, у которых дневная ЧСС не превышала 35 уд/мин и был хорошо выражен циркадианный ритм, но значительно слабее у раков, имевших относительно высокую дневную ЧСС (более 50 уд/мин) при нарушенном циркадианном ритме. В большинстве проведённых тестов (в 19 из 27, $p < 0,05$) после опускания раков на дно аквариума ЧСС снижалась в течение часа последствие. Двухчасовой подвес вызывал более выраженное и продолжительное усиление ЧСС, чем часовой (соответственно на $226,9 \pm 29,4\%$ и $144,9 \pm 12,0\%$, $p < 0,01$). Во второй час подвеса ЧСС усиливалась слабее, чем в первый ($p < 0,05$). После двухчасового подвеса ЧСС медленнее восстанавливалась до исходного уровня, чем при часовом тесте. При проведении 3–4 тестов с промежутками в 2–3 дня наблюдалась тенденция к ослаблению реакции на это воздействие, что обуславливалось, по-видимому, процессом привыкания.

У второй группы из 7 раков сначала 10 суток записывали ЧСС при рН равной 6,8, затем 8 дней при рН от 4,31 до 3,36 и ещё двое суток вновь при рН 6,8. При разных значениях рН проводили тесты на часовой подвес. На первом этапе опыта у всей группы ЧСС в дневной и ночной периоды равнялась соответственно $59,6 \pm 6,7$ уд/мин и $70,6 \pm 8,0$ уд/мин и наблюдалась лишь тенденция к увеличению ЧСС (на 18,4%) в ночной период. Достоверно суточный ритм ЧСС проявился только у трёх раков (при максимальном увеличении ЧСС ночью на 35,3%). Очевидно, что эти раки несмотря на оптимальное для вида значение рН даже по прошествии 10 суток находились в состоянии повышенной возбудимости, имели днём относительно высокие значения ЧСС, что препятствовало установлению у них циркадианного ритма ЧСС. При нахождении раков второй группы в воде с низкими величинами рН значение ЧСС ($56,47 \pm 6,57$ уд/мин) практически не отличалось от такового до ацидификации, а также при восстановлении исходного уровня рН ($60,97 \pm 4,61$ уд/мин). При рН 6,8 у раков этой группы реакция на подвес проявилась в 9 случаях из 12 ($p < 0,05$) и была более выраженной и постоянной у раков, имевших относительно невысокую дневную ЧСС и циркадианный ритм. Для всей группы в целом и всех тестов ЧСС увеличилась на $64,6 \pm 8,1\%$ при средней ЧСС до подвеса $59,7 \pm 3,9$ уд/мин. Очевидно, что во второй группе, по сравнению с первой, ЧСС до проведения тестов была выше ($p < 0,01$), а увеличение ЧСС при подвесе проявлялось слабее ($p < 0,01$). При ацидификации ЧСС до проведения тестов на подвес равнялась $52,65 \pm 2,0$ уд/мин, а увеличение ЧСС при подвесе составило $42,8 \pm 4,4\%$, т.е. было достоверно меньшим ($p < 0,05$), чем в начале опыта. При восстановлении рН до 6,8 ЧСС в среднем за два-три дня записи равнялась $59,6 \pm 8,1$ уд/мин, а при проведении тестов на подвес ЧСС увеличилась всего на $33,2 \pm 14,5\%$.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии взаимосвязи следующих показателей ЧСС: величины её в дневной период, проявления циркадианного ритма и реакции в тесте на подвес. У раков с невысокой дневной ЧСС и с хорошо выраженным циркадианным кардиоритмом реакция на подвес проявляется в существенном увеличении ЧСС и, что важно подчеркнуть, в сохранении такого уровня в течение всего часа тестирования. Предполагается, что раки, имеющие такие показатели ЧСС, обладают нормальным функциональным состоянием. Показателем ухудшенного состояния, в частности в условиях кислотного стресса, является не только нарушение циркадианного кардиоритма, но и слабая реакция и неспособность поддерживать повышенный уровень ЧСС во время теста на подвес. Выявление существенных индивидуальных различий проявления реакции со стороны ЧСС при подвесе даёт возможность использовать указанный тест для быстрого определения степени возбудимости и лабильности кардиосистемы, а опосредованно организма в целом, причём как в благоприятных условиях существования раков, так и при действии стрессорных факторов, в том числе при изменении кислотности воды.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № 08-04-92424- BONUS_a.

THE CIRCADIAN CARDIORHYTHM AND THE CARDIAC RESPONSE IN SUSPENSION TEST AS CRITERIA OF NORMAL AND STRESS STATES IN CRAYFISH *PONTASTACUS LEPTODACTYLUS*

G.P. Udalova, V.P. Fedotov, A.V. Ivanov, E. L. Kornienko, S.V. Kholodkevich

St.Petersburg Research Center of Ecological Safety, St.Petersburg, Russia

The circadian cardiorhythm and the cardiac response in suspension test were studied in crayfish *Pontastacus leptodactylus* under different levels of pH (6,8–3,4). Characteristics of the crayfish cardiac activity were measured by non-invasive fiber-optic method developed for invertebrates with exoskeleton. The crayfish were kept in laboratory conditions with natural illumination regime, in aquariums with running water. In experiments with suspension the crayfish were suspended by the fiber-optic cable over the aquarium bottom for 1 hour. During acid-stress the established typical circadian cardiorhythm broke down whereas the cardiac response to suspension significantly changed. These peculiarities of the crayfish cardiac activity are considered as criteria of stress and suggested to be used in systems for water quality biomonitoring.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И ПЛАСТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ ЗАПОРОЖСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Е.В. Федоненко, Т.В. Ананьева, Т.С. Шарамок

Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара, Днепропетровск, Украина
hydro-dnu@mail.ru

У основных промысловых видов рыб Запорожского водохранилища (судака, окуня, плотвы, леща, карася) изучали общее содержание белка, жира и гликогена, а также уровень свободных аминокислот в мышечной ткани в зависимости от уровней накопления тяжелых металлов в естественных условиях водоема.

Результаты исследования динамики биохимических показателей в мышцах и некоторых других тканях и органах (печени, половых продуктах) основных промысловых видов рыб Запорожского водохранилища показали, что в условиях антропогенного загрязнения обнаружилось достоверно сниженное содержание общего белка в мышцах и более низкое накопление жира и гликогена как в мышечной ткани, так и в «энергетическом депо» печени. Сниженное содержание белка, уровень общих липидов и гликогена в гонадах рыб свидетельствовал о нарушении процессов вызревания и биологического качества половых продуктов, что может приводить к срывам нереста, снижению процента выхода и выживаемости личинок, а в дальнейшем – иметь негативные последствия для численности и продуктивности стада. Процессы метаболизма липидов и гликогена были более чувствительны к влиянию условий внешней среды, содержание белка в тканях характеризовалось относительно большей стабильностью.

Результаты проведенного корреляционного анализа показали, что у хищных рыб на содержание общего белка в мышцах влияли такие тяжелые металлы, как кадмий, железо, свинец, никель. У мирных рыб значимые коэффициенты корреляции были получены также для цинка и марганца. Содержание липидов в мышечной ткани хищных рыб зависело от накопления кадмия, железа, никеля, свинца, ртути, марганца, у мирных кроме перечисленных элементов медь имела важное значение для накопления липидов в мышцах. Содержание гликогена в тканях коррелировало с концентрациями кадмия, железа, никеля, свинца, ртути и марганца, у мирных рыб как значимый агент добавлялся еще и цинк.

Динамика свободных аминокислот в тканях отражает общие тенденции метаболизма, следовательно увеличение пула свободных аминокислот свидетельствует об усилении катаболических процессов и расщепления белков как источника энергии, или их использования в адаптивных перестройках метаболизма. Снижение содержания свободных аминокислот явля-

ется свидетельством их утилизации как резервных энергетических ресурсов организма. Отмечены тенденции, характерные для организма рыб в условиях стресса, вызванного неблагоприятным действием различных факторов водной среды, в частности ионов тяжелых металлов. В мышечной ткани исследуемых рыб были выявлены 19 свободных аминокислот. В большом количестве в мышцах плотвы содержались моноаминокарбоновые аминокислоты (40,5% от общего количества свободных аминокислот), в мышцах хищных рыб преобладали гетероциклические аминокислоты. В мышечной ткани рыб Запорожского водохранилища были идентифицированы некоторые незаменимые аминокислоты, а именно: лизин, гистидин, треонин, валин, метионин, лейцин, изолейцин и фенилаланин. Содержание большинства незаменимых аминокислот не зависело от типа питания исследуемых рыб и было невысоким, что свидетельствует о недостаточном количестве этих аминокислот в кормовых организмах. Однако суммарное количество свободных незаменимых аминокислот было максимальным в мышцах плотвы (55,3%) и немного отличалось в мышцах окуня (53,2%). Суммарное содержание свободных незаменимых аминокислот в мышцах судака было значительно ниже (51%), по сравнению с их суммарным содержанием в мышцах плотвы. В мышцах судака и плотвы количество заменимых аминокислот (фенилаланина, аспарагиновой кислоты, цистеина, тирозина, аргинина, гидроксипролина и метионина) зависело от типа питания. Суммарное содержание свободных аминокислот значительно преобладало в мышцах хищных видов рыб по сравнению с бентофагом плотвой. Однако, максимальное количество незаменимых аминокислот наблюдалось в мышечной ткани плотвы.

Выявлена отрицательная корреляционная связь между накоплением тяжелых металлов и процентом свободных незаменимых аминокислот в мышечной ткани плотвы, за исключением свинца и ртути. Наиболее значимые отрицательные коэффициенты корреляции были получены для кадмия и марганца ($r=-0,78$, $r=-0,83$). У судака выявлена отрицательная корреляционная зависимость между содержанием свободных незаменимых аминокислот в мышечной ткани и накоплением меди и цинка ($r=-0,98$, $r=-0,97$), значимая положительная связь – для свинца и железа ($r=0,75$, $r=0,62$). Для содержания заменимых аминокислот у плотвы положительная корреляционная связь была получена с накоплением кадмия и меди ($r=-0,96$, $r=-0,97$), значимая отрицательная связь – с накоплением ртути ($r=-0,81$). Процент свободных заменимых аминокислот в мышечной ткани судака существенно увеличивался при накоплении ртути ($r=0,76$), с концентрациями других тяжелых металлов корреляционные связи были более слабыми.

Обобщая полученный материал, можно отметить, что из рассмотренных нами биохимических показателей содержания пластичных и энергетических веществ в тканях рыб Запорожского водохранилища содержание жира и гликогена отличаются наибольшей вариабельностью, быстро реагируют на сезонные изменения экологических факторов и отражают состояние физиолого-функционального состояния организма в зависимости от годового ритма его жизнедеятельности. Сравнивая данные биохимического анализа тканей и органов хищных и мирных рыб из разных биотопов Запорожского водохранилища, можно отметить меньшую вариабельность изучаемых показателей у хищных рыб, по сравнению с мирными. Это свидетельствует о том, что мирные рыбы в большей степени испытывают на себе влияние токсикантов, ввиду своего способа питания.

По результатам проведенного корреляционного анализа показано, что хищные рыбы по сравнению с мирными проявляют относительную токсикорезистентность к большему числу тяжелых металлов, которые попадают в Запорожское водохранилище. Наиболее токсичны для них – кадмий, железо, свинец, никель, ртуть. На мирных рыб, кроме названных элементов, значительное токсичное влияние оказывают марганец, цинк и медь. Необходимо отметить, что попадание марганца в организм хищных рыб приводит к нарушению липидного и углеводного обмена и влияет на уровень энергетических запасных веществ в тканях и органах.

SOME ASPECTS OF ENERGY AND PLASTIC METABOLISM AT INDUSTRIAL FISHES OF THE ZAPOROZHIAN RESERVOIR UNDER THE CONDITIONS OF HEAVY METAL CONTAMINATION

E.V. Fedonenko, T.V. Ananieva, T.S. Sharamok

Dnepropetrovsk National University of Oles Gonchar named, Dnepropetrovsk, Ukraine
hydro-dnu@mail.ru

At the main industrial types of fishes of the Zaporozhian Reservoir (pike perch, perch, roach, bream, European carp) the total contents of protein, lipids and glycogen, and also level of free amino acid in muscle tissue was studied depending on the heavy metals accumulation levels under the natural terms of reservoir. Comparing data of biochemical analysis of tissues at predatory and peaceful fishes from various biotops of the Zaporozhian Reservoir, we pointed the less index variability at predatory fishes, then at peaceful ones. The biochemical adaptation mechanism study and correlation analysis resulted in the indication of cadmium, iron, lead, nickel, mercury as most toxic elements for predatory fishes; manganese, zinc and copper additionally showed a considerable toxic effects for peaceful fishes. The peaceful fishes had been exposed intensively to the toxicants in comparison to predatory ones.

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ СТРОБИЛУРИНОВЫХ ФУНГИЦИДОВ ДЛЯ ВЕТВИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ

Е.А. Федорова

Азовский НИИ Рыбного Хозяйства (ФГУП «АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия
riasfp@aanet.ru

Зоопланктонное сообщество один из важнейших компонентов водных экосистем и является индикатором их состояния, что определяется функцией зоопланктона – фильтрация взвеси и ее трансформация. Планктонные ракообразные являются основными потребителями первичной продукции и в то же время пищевыми объектами для многих рыб. По численности в пресноводных водоемах преобладают ветвистоусые ракообразные, являющиеся наиболее уязвимой группой в составе водного сообщества при пестицидной интоксикации.

Стробилуриновые фунгициды относятся к новому четвертому поколению фунгицидов, которые были введены в мировое сельскохозяйственное производство в 1999 году. Эти химические соединения могут поступать в водоемы с поверхностным стоком. Однако их поведение в водных экосистемах и степень токсического действия на зоопланктон пока не изучены.

В связи с вышесказанным, целью работы являлось оценка токсичности 2-х стробилуриновых фунгицидов Димоксистробина и Флуокастробина, являющихся техническими продуктами (действующие вещества) на представителей ветвистоусых ракообразных – дафний (*Daphnia magna* Straus). Физиологические показатели жизнедеятельности дафний – выживаемость, скорость полового созревания, плодовитость, численность, биомасса и возрастной состав популяции исследовались в течение 30-ти суток с различными концентрациями стробилуринов. Диапазон концентраций Флуокастробина составил 0,000005–0,5 мг/л, Димоксистробина – 0,0001–0,05 мг/л.

На основе изучения выживаемости дафний в токсических средах стробилуринов определены их токсикометрические параметры в остром 4-х суточном и хроническом 30-ти суточном экспериментах (таблица 1). Рассчитанные среднелетальные концентрации острых опытов позволили определить, что оба фунгицида относятся к группе особо токсичных пестицидов для дафний ($ЛК_{50} < 0,5$ мг/л). Более токсичным для ветвистоусых ракообразных оказался Флуокастробин, среднелетальная концентрация которого рассчитанная по результатам выживаемости в хроническом опыте составила 0,003 мг/л, максимальная недействующая – 0,000003 мг/л. Для Димоксистробина среднелетальная концентрация оказалась равной 0,005 мг/л, максимально недействующая – 0,0001 мг/л.

Таблица 1. Токсикометрические параметры стробилуринов для дафний в остром и хроническом экспериментах (мг/л)

Экспозиция опыта, сутки	Пестицид	
	Димоксистробин	Флуоксастробин
4	ЛК ₀ = 0,0005	ЛК ₀ = 0,00004
	ЛК ₁₆ = 0,001	ЛК ₁₆ = 0,0004
	ЛК ₅₀ = 0,057	ЛК ₅₀ = 0,005
30	ЛК ₀ = 0,0001	ЛК ₀ = 0,000003
	ЛК ₁₆ = 0,0007	ЛК ₁₆ = 0,0003
	ЛК ₅₀ = 0,005	ЛК ₅₀ = 0,003

Дафнии являются организмами с коротким биологическим циклом развития, что дало возможность определить воздействие различных концентраций стробилуринов в течение 30-ти суток на ряд поколений и определить накопление их отрицательного влияния в трех генерациях рачков. Хроническая интоксикация может изменить рождаемость дафний либо путем снижения плодовитости или снижения выживаемости яиц и молоди, либо в связи с действием указанных факторов одновременно. Анализ исследованных физиологических показателей жизнедеятельности дафний показал, что с увеличением концентраций фунгицидов усиливалось их негативное воздействие на дафний.

Общее количество народившейся жизнеспособной молоди от одной самки отражает величину реальной плодовитости дафний. Эта величина, в конечном итоге, определяет сохранность вида и играет решающую роль при оценке токсичности. Отмечено дозозависимое снижение реальной плодовитости особей в исходном и трех последующих поколениях при действии стробилуринов. Снижение плодовитости происходило за счет увеличения времени созревания и уменьшения количества пометов. Одновременно с увеличением концентраций стробилуринов происходило снижение численности и биомассы популяции дафний. Фунгициды не оказывали существенного влияния на соотношение возрастных групп в популяциях дафний во всех исследованных растворах. Ювенильные особи по численности доминировали над половозрелыми рачками.

В результате статистической обработки данных установлены недействующие (NOEC) и пороговые (LOEC) концентрации стробилуринов для ветвистоусых ракообразных по изученным показателям в хроническом эксперименте (таблица 2).

Таблица 2. Недействующие (NOEC) и пороговые (LOEC) концентрации стробилуринов для дафний (мг/л)

Пестициды	Физиологические показатели		
	Плодовитость	Численность	Биомасса
Димоксистробин			
NOEC	0,0001	0,0001	0,0001
LOEC	0,0005	0,0005	0,0005
Флуоксастробин			
NOEC	0,000005	0,000005	0,000005
LOEC	0,00005	0,00005	0,00005

В результате проведенных исследований установлено, что стробилуриновые фунгициды оказались высокотоксичными для *Daphnia magna* Straus, порог чувствительности рачков к действию Флуоксастробина составил 0,00005 мг/л, для Димоксистробина – 0,0005 мг/л. Начиная с этих концентраций фунгицидов, снижалась плодовитость рачков в четырех поколениях, численность и биомасса популяции. Таким образом, при попадании стробилуриновых фунгицидов в рыбохозяйственные водоемы, они могут быть потенциально опасны, в первую очередь, для зоопланктона, который является кормовой базой молоди рыб.

ASSESSMENT OF STROBILURIN FUNGICIDES TOXICITY TO DAPHNIA

E.A. Fedorova

Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH), Rostov-on-Don, Russia
riasfp@aanet.ru

The acute and chronic toxicity of two strobilurin fungicides, belonging to the fourth generation, was determined for *Daphnia magna* Straus, and its effect on the physiological parameters was studied under conditions of acute and chronic tests. Judging by their acute toxicity, the strobilurins can be referred to the group of especially toxic pesticides to daphnia.

A 30-day exposure of the strobilurins caused a dose-dependant decrease in the fecundity and age structure over four generations of the population accompanied by less gain in weight of the organisms. The data obtained in the chronic test allowed us to assess non-effective and threshold concentrations of Dimoxistrobin and Fluoxastrobin. It has been concluded that in waterbodies these fungicides can be dangerous, first of all, for zooplankton which is a food base for young fish.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ФОРМИРОВАНИЮ РЕФЕРЕНТНЫХ ГРУПП БЕНТОСНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ОЦЕНОК ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ

С.В. Холодкевич, Т.В. Кузнецова, С.В. Сладкова, Г.П. Удалова, В.А. Любимцев

Научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия
kholodkevich@mail.ru

При проведении биомониторинговых или экотоксикологических исследований часто приходится сталкиваться с тем, что даже в однородной группе тест-животных, взятых из одной природной микропопуляции, могут наблюдаться значительные количественные различия их реакций на одни и те же воздействия. Обычно при отборе тест-животных для токсикологических исследований применяют стандартные методы отбора животных одного вида: одной генетической линии, одного возраста и пола, сходных по морфометрическим характеристикам и без внешних повреждений. Однако, как показали наши исследования, такой подход является необходимым, но не достаточным. В результате многочисленных экспериментов на бентосных беспозвоночных: речных раках (*Astacus astacus*, *Pontastacus leptodactylus*) и моллюсках (*Mytilus edulis* L., *Mytilus galloprovincialis* Lam., *Littorina littorea* L. и др.) нами установлено, что различия в ответах тест-животных, отобранных по общепринятым показателям, могут достигать 40–50% по характеристикам кардиоактивности (ЧСС) и общему белку гемолимфы. Последнее обстоятельство диктует необходимость стандартизации отбора тест-организмов для получения достоверных результатов и облегчения дальнейшей интерпретации данных.

В связи с вышеизложенным нами предложено формировать референтные группы тест-организмов (биоиндикаторов) из животных, состояние здоровья которых, рассматриваемое как способность адаптации организма к изменениям среды обитания, определено и однородно по своим физиологическим показателям.

В качестве основного критерия отбора предложена оценка функционального состояния (ФС) животного. Принято выделять 2 класса состояний организма. Первое (здоровое) характеризуется адекватной мобилизацией функций организма при оптимальном уровне активности всех его систем. Второе состояние обусловлено динамическим рассогласованием функций, при которых рассматриваемая система (например, сердечно-сосудистая) работает с повышенным напряжением или не в полной мере обеспечивает деятельность организма. Животные в таком состоянии не пригодны для использования в качестве биоиндикаторов. Например, для раков таким состоянием, кроме болезни, являются некоторые стадии личиночного цикла.

Для оценки ФС животных нами предложен комплекс оценочных показателей, включающий в себя, кроме общепринятых морфометрических характеристик, биохимические и физиологические показатели (биомаркеры), характеризующие работу сердечно-сосудистой системы.

При этом биомаркерами состояния организма могут служить характеристики кардиоритма и его вариабельности: частота сердечных сокращений (ЧСС) и параметр вариационной пульсометрии – стресс индекс (SI), характеризующий напряжение регуляторных систем, а в ряде случаев поведенческие реакции животных и концентрация общего белка в их гемолимфе. Применение разработанного в лаборатории метода неинвазивной регистрации кардиоактивности бентосных животных (*Decapoda* и *Mollusca*) в режиме реального времени позволило нам по вышеперечисленным характеристикам определять ФС животных-биоиндикаторов при естественной для них суточной ритмике в отсутствие необычных внешних стимулов. В результате анализа данных длительной регистрации кардиоактивности выявлены и количественно описаны: значения и пределы изменения ЧСС и SI, стабильность проявления циркадного ритма в кардиоактивности, наличие других ритмов в ЧСС, главным образом ультрадианного диапазона. Среди них важнейшими являются стабильное проявление циркадного ритма кардиоактивности и ЧСС в состоянии покоя. Характер циркадного ритма, генетически обусловленный для изучаемых видов, отражает особенности их поведения, а его устойчивое проявление свидетельствует о нормальном ФС. ЧСС покоя характеризует работу сердечно-сосудистой системы при энергетических затратах близких к уровню основного обмена. Концентрация общего белка в гемолимфе позволяет косвенно оценивать степень доставки кислорода к органам и тканям животного.

Для выявления адаптационных возможностей животного необходимо оценивать деятельность сердечно-сосудистой системы в условиях высоких энергетических затрат организма. С этой целью рядом авторов предлагается использовать функциональную нагрузку. В качестве функциональной нагрузки можно использовать неповреждающие механические, физические или химические, лимитированные по силе и продолжительности, кратковременные тест-стимулы. Изменение солёности и повышение температуры среды для гидробионтов – наиболее приемлемые тест-стимулы. Кроме того, поскольку в экспериментах на животных невозможно обойтись без хэндлинга, мы также предлагаем использовать его в качестве тест-воздействия, вызывающего генерализованную реакцию всего организма. Ответная реакция кардиосистемы животного на хэндлинг позволяет характеризовать предельные величины изменений ЧСС и максимальный уровень напряжения его регуляторных систем.

Такой комплексный подход к отбору тест-организмов позволяет формировать однородные по выбранному критерию группы раков, сходных по своим физиологическим показателям и, следовательно, наиболее подходящих для токсикологических исследований и для использования их в качестве биоиндикаторов в создаваемых системах биомониторинга в режиме реального времени. В качестве примера в таблице представлены диапазоны значений показателей функционального состояния отобранных раков (температура воды 16 °С).

Вес, г	Белок мг/мл	ЧСС покой уд/мин	Превышение ЧСС при хэндлинге над ЧСС покоя, %	SI покой отн.ед.	SI хэндлинг отн.ед.	Превышение ЧСС при изменении солёности на 1% над ЧСС покоя, %	Параметры циркадной ритмики	
							Длительность ночной активности, ч	Превышение ЧСС активности над ЧСС покоя, %
55–80	50–70	20–40	150–200	5–40	7000–15000	50	8–10	100–120%

Как показали наши исследования, раки сформированных таким образом референтных групп демонстрируют высокую однородность реакций на воздействие различных токсикантов (гидрохинона, тяжелых металлов и др.) При кратковременном воздействии гидрохинона временно вызывал увеличение ЧСС и стресс-индекса, но не оказывал заметного влияния на общий белок гемолимфы. При длительном (1 сутки) воздействии гидрохинона вызывал заметную тахикардию, нарушение циркадного ритма кардиоактивности, уменьшение общего белка гемолимфы на 40%.

В ходе дальнейших исследований предложенный перечень критериев может быть изменён или дополнен. Ясно, что при использовании других видов животных, критерии отбора референтных групп могут несколько отличаться, что будет отражать особенности биологии этих организмов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 08-04-92424-BONUS_a.

METHODOLOGICAL APPROACHES FOR SELECTION OF REFERENCE GROUPS OF BENTHIC INVERTEBRATES BASED ON COMPLEX OF ASSESSMENTS OF THEIR FUNCTIONAL STATE

S.V. Kholodkevich, T.V. Kuznetsova, S.V. Sladkova, G.P. Udalova., V.A. Lyubimtsev

Scientific Research Center for Ecological Safety RAS, Sankt-Petersburg, Russia
kholodkevich@mail.ru

In the present study common criteria based on organism's functional state (FS) assessment were worked out to form reference groups of benthic animals for further biomonitoring and toxicological investigations. Cardiac activity characteristics: stable expression of circadian rhythm in heart rate and stress-index, and particular content of hemolymph total protein were suggested to be an essential parameters for functional state evaluation. Selected groups of crayfish demonstrated similar responses being exposed to organic toxicant (hydroquinone). It was shown that criteria and methods for selection of reference groups could increase the reliability of toxicological studies results.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИОНОВ ЦИНКА В ОРГАНИЗМЕ КАРАСЯ (*CARASSIUS CARASSIUS* L.)

В.А. Хоменчук, С.Р. Симчук, М.А. Миронюк, В.З. Курант

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина
vovanbox74@mail.ru

Рост содержания тяжелых металлов в водной среде в результате нерациональной хозяйственной деятельности человека приводит к избыточному аккумулярованию их водными организмами и нарушению нормального функционирования у них метаболических систем.

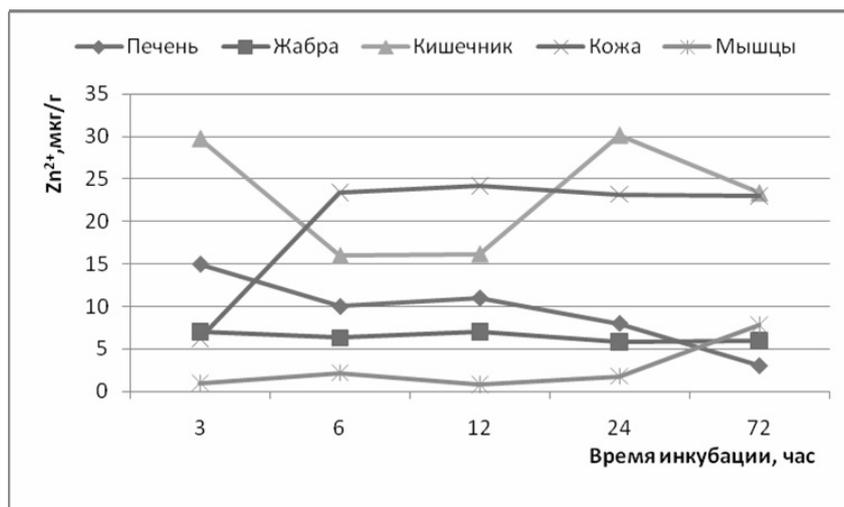
Значительный интерес представляет исследование механизмов связывания, перераспределения и экскреции в организме гидробионтов металлов при их чрезмерном поступлении. Поэтому целью работы стало изучение динамики распределения ионов цинка в организме рыб.

Исследование проведено на однолетках карася (*Carassius carassius* L.). Для этого ионы металла вводили внутримышечно в виде сульфата в дозе 1/20 от их ЛД₅₀. Соль растворяли в растворе Рингера для хладнокровных. Изучали часовую динамику (3, 6, 12, 24 и 72 час) накопления цинка в печени, жабрах, кишечнике, коже и мышцах рыб. После отмеченного срока определяли содержание цинка в указанных тканях. Уровень накопления цинка исчисляли как разницу между содержанием металла в контрольной (без добавления ионов цинка) и опытных группах и выражали в мкг/г влажной ткани. Содержание металлов определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра (С-115м), пробы ткани предварительно сжигали в концентрированной азотной кислоте в соотношении 1:5 (масса: объем). Все получены данные обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента.

Как показали результаты исследований в печени карася основное количество цинка аккумуляруется уже в течение первых 3 часов инкубации (рис.). После этого количество металла остается практически неизменным в исследуемом часовом диапазоне и находится в пределах 6–7 мкг/г ткани. Отмечена тенденция к уменьшению количества аккумулярованного цинка через 3 суток после введения металла в организм, что, вероятно есть следствием его транспортировки к местам депонирования.

Полученные данные подтверждаются предыдущими исследованиями, в которых показано, что при долговременной акклимации карпа к повышенным концентрациям ионов цинка его накопления в печени не происходит (McGeer J.C. et al., 2000).

Можно допустить, что с увеличением времени инкубации, печень перестает играть доминирующую роль в перераспределении и депонировании цинка, поскольку этот металл является одним из самых подвижных в организме и активно выводится из него. Кроме того, сродство цинка к органическим лигандам, включая аминокислоты и белки, в организме животных является одним из наименьших в сравнении с ионами других тяжелых металлов (Мецлер Д., 1980).



Динамика накопления ионов цинка в тканях карася, $M \pm m$, $n=4$

В жабрах карася отмечено максимальное накопление цинка в течение первых 3 часов после введения ионов металла в организм рыб с последующим уменьшением количества цинка в исследуемом часовом интервале. Возможно, при действия цинка в организме карася со временем включаются механизмы тканевого перераспределения металла, что приводит к транспортировке его с последующим депонированием, например, в мышцах. Нельзя полностью отбрасывать и экскрецию из организма цинка путем ослизнения жаберного эпителия, характерного для предельных эпителиальных тканей (Linder M.C., 1991).

Распределение цинка в кишечнике карася в исследуемом часовом диапазоне имеет сложный характер. Следует отметить высокий уровень аккумулированного металла именно в кишечнике карася (от 16 до 30 мкг/г), что подчеркивает значительную роль данного органа в метаболизме цинка. Нами отмечено уменьшение количества аккумулированного металла в интервале от 3 до 12 часов, после чего его содержание в кишечнике растет до 24 часов, с последующим уменьшением при трехсуточной инкубации. Очевидно, при 72 часовой инкубации имеет место шелушение кишечного эпителия в просвет со следующим выведением его из организма.

Как показали результаты исследований, цинк в значительной мере аккумулируется в мышцах. Особенно четко данная закономерность отмечается при увеличении времени инкубации до 72 часов, при этом количество аккумулированного металла достигает 7,8 мкг/г. Очевидно, мышцы карася являются органом, который исполняет роль депо цинка, и обеспечивает гомеостаз его при поступлении в количествах, которые превышают метаболическую потребность. Можно отметить, что мышцы, которые составляют 50% массы тела у костных рыб, есть основным депонирующим органом для цинка, невзирая на относительно низкое абсолютное содержание его в сравнении с другими органами (Петухов С.А. и др., 1983).

Кривая накопления цинка кожей карася в исследуемом часовом диапазоне характеризуется эффектом насыщения с максимумом 12 час. В интервале от 6 до 72 часов не был отмечен рост количества металла. Можно допускать, что кожа играет важную роль в поддержании гомеостаза цинка, способствуя выведению металла через шелушение слизи и эпителия. Вероятно, в часовом интервале 6–72 год устанавливается динамическое равновесие, когда количество металла, который поступает к тканям кожи, эквивалентно выводимому его количеству.

Следовательно, тканевое перераспределение ионов тяжелых металлов за действия их повышенных концентраций, может быть эффективным средством поддержания оптимального уровня металлов в организме, а следовательно механизмом формирования функционального гомеостаза металлов.

DISTRIBUTION PECULIARITIES OF ZINC IONS IN ORGANISM OF *CARASSIUS CARASSIUS* L.

V.A. Khomenchuk, S.R. Simchuk, M.A. Myronyuk, V.Z. Kurant

Vladimir Hnatyuk Ternopol National Pedagogical University, Ternopol, Ukraine
vovanbox74@mail.ru

The dynamics of distribution of zinc ion in separate tissues of *Carassius carassius* L. was studied. Tissue redistribution of heavy metals' ions for the actions of their raised concentrations can be the effective tool of maintenance of optimum level of metals in an organism.

ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ПЕЧЕНИ ЛОСОСЕВЫХ

А.И. Чепкасова

«ТИНРО-Центр», Владивосток, Россия
chepkasova@tinro.ru

Печень лососей, являющихся массовым объектом морского промысла на Дальнем Востоке и составляющая значительную часть отходов, до недавнего времени не использовалась. Использование ее в пищевой промышленности для приготовления продукции, аналогичной продукции из печени трески и минтая препятствует трудность отделения желчного пузыря, придающего печени лососей горький привкус и небольшой срок хранения мороженого сырья из-за быстрого окисления липидов. В качестве источника рыбьего жира печень лососевых рыб не используется из-за низкого содержания жирорастворимых витаминов.

В процессе хранения печени горбуши (*Oncorhynchus gorbusha*) и кеты (*O. keta*) выявлено, что кислотное число (КЧ), в соответствии с СанПиН 2.3.2.1078-01, имеет допустимое значение только в течение 2-х месяцев хранения. Уже к 4-му месяцу хранения этот показатель превышает допустимый уровень на 50%. Таким образом, для организации переработки сырья необходимо разработать эффективную технологию его консервирования.

Одним из способов консервации тканей для увеличения срока хранения для промпереработки является сушка. В результате проведенных экспериментов (сушка циклонного типа) были получены образцы сухой печени кеты (остаточная влажность 7%) с выходом 17–20% от массы исходного сырья. Установлен срок хранения сухой печени, при положительных температурах: при 20⁰ С сухая печень может храниться не более 2 месяцев; при 4⁰ С срок хранения может составлять не менее 6 месяцев.

Общее содержание липидов в мороженой печени составило 36 мг/г ткани, а в сушеной 110 мг/г ткани. Главными жирными кислотами липидов печени горбуши и кеты являются пальмитиновая (16:0), стеариновая (18:0), олеиновая (18:1n-9), эйкозапентаеновая (20:5n-3) и докозагексаеновая (22:6n-3).

Однако, при определении сроков хранения основными показателями служили характеристики качественного состава липидов и не учитывались показатели состава и свойств водорастворимых компонентов. По нашему мнению именно изучение состава и свойств водорастворимых компонентов позволит обосновать разработку технологий переработки ранее не используемого сырья.

При определении условий более полного выхода в водную фазу растворимых веществ пептидно-белковой природы из высушенной измельченной печени горбуши было установлено, что оптимальными условиями экстракции для сушеной печени являются соотношение печень : экстрагент = 1 : 100 при рН = 3.0, причем выход белкового материала составляет 30% от содержания белка в исходном материале. Из мороженой печени горбуши белковый материал экстрагировался лучше всего в щелочной среде с соотношением фарша к экстрагенту 1 : 5 в первые 2 часа экстракции.

От липидного материала экстракты очищали раствором хитозана. Выход конечного продукта (высушенный комплекс водорастворимых соединений) составил 4,2% от первоначальной массы сухого порошка сублимированной печени и 4,5% массы замороженной печени.

Обработка экстрактов хитозаном показала, что в хитозановый осадок переходит подавляющее большинство растворенного белково-пептидного материала – концентрация белка в растворе пада-

ет от 20 до 1,6 мг/мл. Электрофорез в полиакриламидном геле показал в экстракте наличие двух фракций с молекулярной массой 30–60 кДа. При этом препарат, полученный из мороженой печени, практически не отличается по составу от препарата, полученному из сублимированной печени. Образцы, полученные из мороженой и сублимированной печени содержат 40% и 43% белка, соответственно.

В полученных образцах проводили определение антиоксидантной активности с использованием в качестве стандарта сравнения дипептида карнозина. Показано, что антиоксидантная активность образцов, полученных из цельной мороженой и сублимированной печени горбуши в 6,5 и 4,9 раз выше активности карнозина, соответственно.

Известно, что антиоксидантной активностью могут обладать аминокислоты. В препарате из сырой мороженой печени отмечено высокое содержание фосфосерина, пролина, глутаминовой кислоты, аланина, валина и таурина. Определение состава свободных аминокислот в сублимированных экстрактах печени горбуши показало весьма высокое содержание пролина, аланина, лейцина и таурина.

Проведенные исследования показывают возможность использования мороженой и сушеной печени рыб сем. лососевых для получения водорастворимых компонентов, определены оптимальные условия для его получения. Показана высокая антиоксидантная активность полученных водорастворимых образцов, а также наличие в них высокого уровня сульфоаминокислоты таурина.

PRACTICAL ASPECTS OF SALMON LIVER BIOTECHNOLOGY

A.I. Chepkasova

«TINRO-Centre», Vladivostok, Russia
chepkasova@tinro.ru

At first time the liver of some salmon fishes was investigated. Shelf life of dried salmon liver and total lipids content and fatty acids composition was determined. Was shown possibility to use frozen and dried salmon's liver for getting of water-soluble ingredients complex, and its optimal conditions getting. Proteins content and its composition before and after chitosan processing was determined. Water-soluble complexes was prepared from frozen and dried salmon liver, with high antioxidant activity. High level of the taurine was showed in the preparations.

ДЕЙСТВИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗУ МОЗГА РЫБ И ЭРИТРОЦИТОВ БЫКА И НЕКОТОРЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ЕЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ

Г.М. Чуйко, П.А. Гдовский, В.А. Подгорная

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
п. Борок, Ярославская обл., Россия
gko@ibiw.yaroslavl.ru

Одним из проявлений неспецифического действия многих экологических факторов, вызывающих стресс у животных, является образование в клетках свободных радикалов, в том числе активных форм кислорода (АФК). АФК – сильные окислители или крайне реакционно-способные свободные радикалы. Среди основных и наиболее известных форм АФК выделяют супероксид анион-радикал (O_2^-), синглетный кислород (1O_2), гидроксил радикал (OH^\cdot) и перекись водорода (H_2O_2). В силу своей высокой реакционной способности АФК легко вступают в реакции с основными классами биомолекул (белками, липидами, нуклеиновыми кислотами) вследствие чего обладают высокой цитотоксичностью в отношении любых типов клеток и субклеточных структур. Выделяются четыре наиболее вероятные мишени окислительной цитотоксической атаки АКМ: индукция процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах, повреждение мембраносвязанных белков, инактивация ферментов и повреждение ДНК. В результате чего в организме накапливаются продукты взаимодействия

АФК с этими биомолекулами и развивается состояние оксидативного или окислительного стресса (ОС). Для защиты от повреждающего действия АФК на биомолекулы в клетке существует антиоксидантная защитная система (АОС), состоящая из высоко- и низкомолекулярных компонентов. К первым относятся ферменты каталаза, супероксиддисмутаза, пероксидаза и др., ко вторым – глутатион, каротиноиды и др. (Меньщикова и др., 2006). К настоящему времени основные знания в этой области получены главным образом в ходе проведения исследования цитотоксического действия АФК и его механизмов, а также роли АОС в его предотвращении на млекопитающих. Поэтому изучение особенностей данных процессов у других групп животных, включая гидробионтов, являются актуальным.

Цель работы – исследовать влияние одного из АФК – перекиси водорода, на активность фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ; КФ 3.1.1.7) в мозге рыб и оценить некоторые биологические механизмы защиты от этого действия.

Исследования проводились на годовиках карпа (*Cyprinus carpio* L.), выращенных в прудовом хозяйстве института, и 4–5 летках плотвы (*Rutilus rutilus* L), выловленных в летний период в Рыбинском водохранилище. До эксперимента рыб содержали в аквариумах в лабораторных условиях в течение месяца, кормя комбикормом для карповых рыб *ad libitum* раз в сутки. В ходе эксперимента у рыб извлекали мозг, гомогенизировали и центрифугированием получали супернатант, содержащий АХЭ. Для сравнения использовали коммерческий препарат частично очищенной АХЭ из эритроцитов быка. Активность АХЭ определяли методом Элмана (Ellman et al., 1961). Все процедуры и условия анализа подробно описаны ранее (Чуйко и др., 2005). Исследовалось влияние H_2O_2 на активность АХЭ карпа и быка в условиях *in vitro*. В экспериментах на АХЭ плотвы образование АФК генерировалось путем добавления в инкубационную среду вместе с АХЭ (супернатант) $FeSO_4$ и аскорбиновой кислоты (Tsakiris et al., 2000). Для защиты АХЭ от действия АФК использовали коммерческий препарат каталазы (КФ 1.11.1.6), растворы сахарозы (9%) и $MgCl_2$ (20мМ).

Показано, что растворы H_2O_2 в концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М и выше практически полностью угнетали активность АХЭ как карпа, так и быка. При уменьшении содержания пероксида водорода в инкубационной среде активность фермента пропорционально возрастала, но степень восстановления активности у двух видов АХЭ различалась. У фермента карпа недействующая концентрация H_2O_2 равнялась $1.5\text{--}2 \cdot 10^{-3}$ М, у быка – $2.5\text{--}5 \cdot 10^{-4}$ М. Более низкое его содержание в среде повышало активность АХЭ карпа на 56%, а у быка – 20% от контроля.

В настоящее время принято считать, что один из механизмов ингибирующего действия АФК на АХЭ заключается в преобразовании третичной структуры белка к частично развернутому состоянию, при котором, однако, сохраняется большинство его вторичных структур. При этом изменяется конфигурация активного центра фермента и его активность падает. Такое состояние ферментного белка получило название «расплавленный шар» (molten globe) (Weiner et al., 1994).

Введение в инкубационную среду каталазы до внесения пероксида водорода (10^{-2} М), снимало ингибирующий эффект полностью и даже активировало АХЭ на 30–40%. Наиболее вероятно это связано с разложением перекиси водорода под действием каталазы и уменьшением ее содержания до концентраций, способных активировать АХЭ.

При генерировании АФК в инкубационной среде с помощью системы $FeSO_4$ + аскорбиновая кислота наблюдалось зависимое от времени экспозиции снижение активности АХЭ плотвы. При максимальном времени (60 мин) инкубации фермента с АФК-генерирующей системой уменьшение его активности достигало 50% от интактного уровня. Введение в инкубационную среду сахарозы и $MgCl_2$, способность которых защищать третичную структуру АХЭ от воздействия АФК известна, показало восстановление активности фермента к концу экспозиции до контрольного уровня.

Таким образом, в ходе исследования установлено, что пероксид водорода оказывает влияние на активность АХЭ и оно носит дозозависимый характер. При концентрациях выше 10^{-3} М у рыб происходит ингибирование активности фермента, а при более низких – активирование. АХЭ рыб в отличие от фермента млекопитающих более чувствительна к действию перекиси водорода. Показано, что ингибирующий эффект АФК на активность АХЭ обусловлен структурно-функциональными нарушениями в третичной структуре ферментного белка.

ACTION OF THE REACTIVE OXYGEN SPECIES UPON ACETYLCHOLINESTERASE OF FISH BRAIN AND BOVINE ERYTHROCYTES AND SOME ELEMENTS OF ITS ANTIOXIDATIVE DEFENSE

G.M. Chuiko, P.A. Gdovskii, V.A. Podgornaya

IBIW RAS, Borok, Russia
gko@ibiw.yaroslavl.ru

The action of the reactive oxygen species (ROS) upon acetylcholinesterase (AChE) activity in brain of fish, common carp *Cyprinus carpio* L. and roach *Rutilus rutilus* L., and bovine erythrocytes is studied. It is shown hydrogen peroxide affects AChE activity in dose depended manner. Enzyme activity is inhibited by hydrogen peroxide in concentrations higher than 10^{-3} M but it is activated by less concentrations. Fish AChE in contrast to bovine enzyme is more sensitive to action of hydrogen peroxide. Inhibiting effect of ROS upon AChE is determined by structure functional alterations in tertiary structure of enzyme protein.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ УГЛЕВОДНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У СИГОВ (*COREGONUS LAVARETUS* L.), ОБИТАЮЩИХ В ХВОСТОХРАНИЛИЩЕ ГОРНО-ОБОГАТИТЕЛЬНОГО КОМБИНАТА

М.В. Чурова, О.В. Мещерякова, Н.Н. Немова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия
mchurova@yandex.ru

Оценивали влияние сточных вод на состояние сигов *Coregonus lavaretus* L., обитающих в озере Костомукшское, хвостохранилище Костомукшского горно-обогатительного комбината (ГОК). Вода в озере отличается высокой минерализацией, щелочным значением pH, высоким содержанием ионов калия, сульфатов и нитритов, повышенным содержанием тяжелых металлов (Zn, Ni, Cr, Co, Cd, Cu), наличием мелкодисперсной механической взвеси.

Важной составляющей в оценке состояния, роста и развития рыб при изменении условий окружающей среды является исследование их биохимических параметров. Изменения на клеточном и молекулярном уровне, возникающие в организме рыб, происходят на самых ранних этапах негативного воздействия задолго до того, как проявятся изменения на физиологическом, организменном и популяционном уровне. Исследуя уровень экспрессии генов и активность ключевых ферментов энергетического обмена и метаболизма углеводов у рыб при воздействии различных факторов среды можно оценить интенсивность и направление путей энергетического и пластического обмена и выявить механизмы поддержания необходимого уровня метаболического гомеостаза. В оценке состояния и темпов роста рыб в зависимости от влияния различных условий (питание, стресс, чистота водоема) также используется индекс отношения нуклеиновых кислот между собой РНК/ДНК. Он показывает, как меняется уровень клеточной РНК и, соответственно синтез белка, при постоянной концентрации ДНК в клетке. Показатель РНК/ДНК является достаточно чувствительным к различным видам загрязнения водных экосистем.

Определяли уровень экспрессии генов лактатдегидрогеназы изоформы А₄ (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) и цитохромоксидазы (ЦО, КФ 1.9.3.1) определяли в белых мышцах рыб методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Активность ферментов ЛДГ, ЦО, малатдегидрогеназы (МДГ, КФ 1.1.1.37), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ, КФ 1.1.1.49), альдолазы (КФ 4.1.2.13), α-глицерофосфатдегидрогеназы (1-ГФДГ, КФ 1.1.1.8) в белых мышцах и печени определяли спектрофотометрически. Концентрацию РНК и ДНК определяли спектрофотометрически.

Контролем служили сиги, выловленные в чистом озере с аналогичным температурным режимом и глубиной (оз. Каменное). Выборки составили рыбы возраста 3+ и 4+.

Согласно полученным значениям активностей исследуемых ферментов в органах сигов из хвостохранилища наблюдались значительные изменения в метаболизме. Происходило снижение

аэробного синтеза АТФ, о чём свидетельствовало уменьшение по сравнению с контролем активности цитохром с оксидазы на 31% ($p \leq 0,05$) и 39% ($p \leq 0,05$), подавление активности малатдегидрогеназы на 21% ($p \leq 0,05$) и 50% ($p \leq 0,05$) в мышцах и печени, соответственно. Уровень экспрессии гена цитохром с оксидазы в мышцах не изменялся. Такой результат связан, скорее всего, с тем, что мелкодисперсная механическая взвесь накапливается в жабрах и блокирует поступление кислорода в органы, вызывая гипоксическое состояние организма.

Изменения в углеводном обмене мышц и печени различались. В мышцах по сравнению с контролем увеличивались уровень экспрессии гена ЛДГ-А₄ на 27% ($p \leq 0,05$) активность ЛДГ на 30% ($p \leq 0,05$), что указывает на усиление анаэробного синтеза АТФ в ходе гликолиза вследствие снижения аэробных процессов энергообеспечения. Однако снижение активности альдолазы на 20% ($p \leq 0,05$), свидетельствовало о снижении уровня использования углеводов в энергетическом обмене. Активность α -ГФДГ в мышцах уменьшалась на 23% ($p \leq 0,05$). Уровень активности Г-6-ФДГ в мышцах был ниже на 53% по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$), что указывает на снижение окисления углеводов в пентозофосфатном пути (ПФП). В процессе ПФП образуются восстановительные эквиваленты НАДФН для реакций синтеза липидов, восстановления глутатиона; и пентозы, необходимые для синтеза нуклеиновых кислот. Действительно, наблюдалось снижение концентрации РНК на 25% ($p \leq 0,05$). Значение показателя РНК/ДНК составляло $0,81 \pm 0,02$, что было ниже, чем у сигов из контрольного озера $0,91 \pm 0,03$ ($p \leq 0,05$), что указывает на снижение темпов роста рыб.

В печени сигов, наоборот, значительно усиливался метаболизм углеводов. Активность альдолазы повышалась на 47% ($p \leq 0,05$), активность ЛДГ на 53% ($p \leq 0,05$). В связи со снижением аэробного синтеза АТФ в печени интенсификация метаболизма углеводов была обусловлена усилением их использования в процессах анаэробного энергообеспечения. В условиях гипоксии повышенное значение активности ЛДГ указывает также на усиление глюконеогенеза, что связано с поступлением в печень лактата из других органов. Активность Г-6-ФДГ была выше в 3 раза по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$), что свидетельствует об интенсивном окислении углеводов в ПФП. Возможно, это связано с увеличением потребности в эквивалентах НАДФН для восстановления глутатиона, компонента глутатионредуктазной системы, участвующей в процессах детоксикации ксенобиотиков. Активность α ГФДГ была выше в 3 раза ($p \leq 0,05$), что вместе с повышенной активностью Г-6-ФДГ указывает на усиление синтеза липидов.

Таким образом, выявленные изменения в уровне экспрессии генов и активности исследуемых ферментов, показателе РНК/ДНК в органах сигов позволяют оценить общее состояние рыб и предположить механизмы биохимической адаптации к неблагоприятному воздействию сточных вод ГОКа. Наблюдаемое снижение роста сигов из хвостохранилища можно объяснить перераспределением энергетических затрат в сторону некоторых метаболических процессов, а именно на компенсаторные реакции анаэробного синтеза АТФ при снижении аэробного, синтез липидов и детоксикацию.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ «Ведущие научные школы России» НШ-3731.2010.4; гранта РФФИ 08-04-01140, программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России на 2009–2011 гг.», программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие на 2009–2011 гг.»

GENE EXPRESSION AND ACTIVITIES OF ENZYMES OF ENERGY AND CARBOHYDRATE METABOLISM OF WHITEFISH (*COREGONUS LAVARETUS* L.) FROM THE TAILING DUMP OF KOSTOMUKSHA IRON MINING AND ORE DRESSING MILL

M.V. Churova, O.V. Mescherjakova, N.N. Nemova

Institute of biology of Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia
mchurova@yandex.ru

To assess impacts of metal mining effluent on fish condition, we have studied enzymes of energy and carbohydrate metabolism in whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) from the tailing dump of the Kostomuksha iron mining and ore dressing mill. Expression of genes of lactate dehydrogenase isoform A₄ (LDH) and cytochrome c oxidase (CCO) and RNA/DNA ratio were measured in white muscle. Activities of CCO, LDH, aldolase,

glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and α -glycerophosphate dehydrogenase (1-GPDH) were studied in muscles and liver. There were significant changes in the RNA/DNA ratio, expression of LDH-A₄ gene and activities of all studied enzymes both in liver and muscles.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ТЕПЛОПРОДУКЦИЮ ГИДРОБИОНТОВ

В.Г. Шайда

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина
svg-41@mail.ru

Изучение действия физических полей на водные экосистемы приобретает все большее значение в связи с интенсивной эксплуатацией прибрежных территорий и морских акваторий. Совершенно очевидно, что различные физические поля, генерируемые установками, расположенными на морском транспорте и объектах береговой инфраструктуры, могут существенным образом повлиять на метаболизм гидробионтов. Оценка этих изменений требует разработки быстрых, хорошо воспроизводимых и адекватных методов тестирования. Проблема приобретает особое значение в настоящее время в связи с интенсивным антропогенным воздействием на гидросферу, что приводит к существенным, порой необратимым изменениям жизнедеятельности обитателей водных систем. В связи с этим своевременная и адекватная оценка их состояния и разработка соответствующих методов для этого приобретает все большую значимость и актуальность. Существующие методы анализа в основном касаются определения содержания химических загрязнителей в биоте и основаны на длительных и дорогостоящих процедурах, требующих наличия специальной технической базы, включающей комплекс дорогостоящих приборов и реагентов, специального оборудования и обученного персонала, что не всегда возможно осуществить централизованно. Для оценки действия физических факторов и их нормирования для водных организмов число таких методов крайне ограничено. В связи с этим все большую популярность приобретают методы биотестирования, то есть исследование ответных реакций различных живых организмов на действие физических факторов в водной среде.

Известно, что пагубный эффект стрессового воздействия в первую очередь нарушает состояние обменных процессов, что предполагает анализировать именно эти отклики как наиболее чувствительные. Однако, изменения биохимических показателей не всегда четко выражены и имеют одинаковую направленность, их вектор во многом зависит от концентрации действующего фактора и физиологического состояния организма. Следует учитывать также, что все биохимические измерения возможны только после гибели животных, что вносит дополнительный стрессовый фактор. В связи с этим особую значимость приобретают такие методы, которые позволяют оценить биологические эффекты стрессоров при жизни организма в течение достаточно короткого времени, не травмируя тест-объект. Для этих целей нами был использован один из достаточно чувствительных методов – микрокалориметрия, позволяющая с высокой точностью измерить общий метаболизм организма и его изменения при действии неблагоприятных факторов прижизненно.

Жизнедеятельность организма связана с переходом одних видов энергии в другие, что сопряжено с выделением и поглощением тепла. Исследование тепловых процессов живых систем позволяет проанализировать такие важнейшие свойства объекта как теплоемкость, теплопроводность, внутренняя энергия, энтальпия, энтропия, а также их изменения под действием различных, в том числе неблагоприятных факторов. Водные организмы очень чувствительны к изменениям среды обитания. Вариации биотических и абиотических факторов вызывают сдвиги обмена веществ, влияют на рост, развитие, поведение, плодовитость и воспроизводство гидробионтов. В связи с этим теплопродукция организма является достаточно чувствительным и интегральным параметром, реагирующим даже на незначительные изменения окружающей среды.

Метод микрокалориметрии позволяет изучать процессы ранних сдвигов обменных реакций гидробионтов в прижизненном состоянии. В изменяющихся условиях среды в процессе адаптивных реакций происходит интенсивное поглощение кислорода, усиление энергетического обмена, смена энергетических субстратов, изменение степени проницаемости клеточных мембран. Все эти реакции оказывают существенное влияние на проявление метаболической активности, которую можно определить с помощью метода микрокалориметрии на Мониторе биологической активности ТАМ

2277 (Швеция, LKB). Получаемые при этом термограммы фиксируют с высокой степенью точности теплопродукцию организма в течение определенного заданного времени и заданных интервалов.

Анализ теплопродукции ранних онтогенетических стадий черноморских гидробионтов (личинок рыб и ракообразных) позволил установить ее снижение при действии различных физических факторов – УФ-радиации, температуры, импульсного излучения. Проведенные нами исследования показали существенные изменения характера термограмм у разных видов гидробионтов, что свидетельствует о разбалансировании процессов генерации и утилизации энергии морских животных в стрессовых условиях. В этом случае реакция является универсальной и неспецифической, однако весьма чувствительной, так как отклики фиксировали при достаточно низких дозах действующих факторов.

Таким образом, показатели теплопродукции гидробионтов, подвергнутых действию различных физических факторов, отражают комплексный ответ и могут служить эффективным биоиндикатором для оценки состояния организма в неблагоприятных условиях и использоваться в мониторинговых программах и исследованиях состояния окружающей среды и ее обитателей.

EFFECTS OF PHYSICAL FACTORS ON HEAT PRODUCTION OF AQUATIC ORGANISMS

V.G. Shaida

Institute of the Biology of the Southern Seas National Ukrainian Academy of Sciences, Sevastopol, Ukraine
svg-41@mail.ru

The application of the microcalorimetric method for the study the effects of some physical factors on aquatic organisms is shown. The possibilities of the heat production parameters use for the evaluation of physical pollution of aquatic ecosystems are discussed.

К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ КАЧЕСТВА КОРМА НА ОБМЕН ВЕЩЕСТВ У РЫБ

М.А. Щербина

ФГУП Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства,
Московская область; Дмитровский р-он, п/о Рыбное, Россия
VNIPRH@mail.ru

Для обнаружения изменений в обмене веществ используется достаточно много методических подходов, которые различаются той или иной степенью сложности, трудоемкостью и длительностью, а также необходимостью высокой профессиональной подготовки исследователей. К наиболее часто применяемым методам относятся гематологические, гистохимические и биохимические, которые позволяют выявлять направленность изменений обменных процессов.

В то же время для оценки состояния рыб в случае питания дисбалансированными или недоброкачественными кормами, а также кормами, содержащими различные антипитательные факторы, важно не только установить, но и количественно охарактеризовать степень нарушения метаболических процессов. С этой целью мы предлагаем относительно простой способ, позволяющий за счет определения соотношения воды и пластических веществ в единице прирастающей массы рыб отследить эти процессы и внести коррективы в состав кормов. Его выполнение несложно и требует соблюдения только одного условия – синхронности в определениях массы и химического состава рыб в начале и конце экспериментов. Расчеты ведутся по следующей формуле: $K_{np} = 10 (MtPt - M0P0) / (Mt - M0)$ г, МДж/ кг прироста массы, где: $M0$, Mt и $P0$, Pt – средняя масса рыб и содержание отдельных веществ или энергии в их теле в начале и конце опытов, % или кДж/100 г;

Этот показатель, который ранее был назван нами как «концентрация веществ в единице прироста массы», (Щербина, 1975) представляет собой разность между количеством веществ или энергии, содержащихся в теле рыб в конце эксперимента, и их количеством в начале, отнесенную к приросту массы. Он позволяет выявлять изменения в метаболизме рыб на основе сопоставления соотношения воды и пластических веществ в единице прироста массы. Его применение в сочетании с показателем среднесуточной (или удельной) скорости роста, $[C_w, \% = 200 (Mt - M0) / (Mt + M0) t]$, где t : период экспериментов, сутки], дает представление об интегральном воздействии нового корма на метаболизм и рост рыб.

В качестве примера предлагается таблица. При ее составлении из обширного массива экспериментальных данных, которыми располагает наша лаборатория, были избраны серии опытов 1979–2005 гг. Объектом исследований обычно служили сеголетки и годовики карпа и форели. Опыты, как правило, проводились на установках замкнутого водоснабжения или в природных условиях.

Влияние особенностей питания на обмен веществ у молоди карпа и форели

Серия экспериментов, вид корма	масса рыб, до опыта, г	C _w , % сутки	Содержание воды и пластических веществ в единице прироста рыб, г/кг массы					Энергия прироста МДж/к
			вода	сухое в-во	сырой протеин	сырой жир	минеральные в-ва	
1. Опыты на карпе								
1.1. Питание рыб естественной пищей и комбикормом								
Chironomus tummi	22	1,48	782	218	137	24	44	4,5
Ch.tummi 16,6% + Кк ₁	22	1,42	749	251	147	68	25	6,4
Кк ₁ - ВБС-РЖ	21	0,69	721	279	133	116	24	7,7
1.2. Питание комбикормом, дисбалансированным по незаменимым аминокислотам и минералам								
Кк ₂ -ВБС-РЖ, 16% рыбн. м	24	1,30	650	350	170	140	30	9,8
Кк ₂ с заменой рыбной муки на кукурузный глютен.	25	1,14	597	403	157	217	18	12,6
1.3.1. Питание рыб комбикормом, обогащенным различными формами витамина. С								
Кк ₃ - ВБС-РЖ-81	9,6	1,25	649	351	133	187	20	10,8
Кк ₃ +200 мг/кг АСТФ	8,9	1,32	626	374	148	189	21	11,3
Кк ₃ +500 мг/кг АСТФ	9,9	1,37	645	355	142	179	20	10,8
Кк ₃ +500мг/кг аскорбин.кты	8,5	1,27	656	344	161	145	27	9,8
1.3.2 Питание рыб комбикормом, обогащенным β – каротином								
Кк ₄ - ВБС-РЖ-4	16,9	1,58	632	368	174	158	22	10,7
Кк ₄ + 50мг/кг β – каротина	20,0	1,75	661	339	156	154	19	10,0
Кк ₄ + 80мг/кг β – каротина	18,6	1,35	586	414	179	199	18	12,5
М±δ, n=12	17±6,3	1,3±0,3	663±59	337±59	153±16	148±56	24±7	9,7±2,4
Коэффициенты вариации	38	19	9	18	10	38	31	25
1.4. Влияние качества корма и введения в его состав микроэлементов в период выращивания сеголетков на поддерживающий обмен у голодающей молоди в зимний период								
Кк ₅ -ВБС-РЖ(16% рыбн. м.)	29,9	14,4*	540	460	196	187	38	12,8
Кк ₆ с заменой рыб. м. БВК	21,7	15,2	430	570	252	257	4	16,5
Кк ₆ +селенит Na 0,1 мг/кг	28,1	14,9	623	377	205	134	8	11,0
Кк ₆ + KI 1,6 мг/кг	25,1	14,7	501	499	212	263	20	16,4
Кк ₆ + селенит Na+ KI	28,9	14,2	482	518	216	197	26	14,4
М±δ, n=5	27±3,3	15±0,4	515±72	485±7215	216±21	208±54	19±14	14,2±2,41
Коэффициенты вариации	13	2,7	14		10	27	72	7
2. Опыты на форели								
2.1. Питание рыб комбикормом, обогащенным витаминами								
Кк – РГМ-1ФЭ	36,2	1,50	708	292	106	145	36	8,2
РГМ-1ФЭ+В ₁ (15 мг/кг)	36,0	2,06	711	289	119	116	47	7,6
РГМ-1ФЭ + В ₂ (30 мг/кг)	35,8	1,97	772	228	92	84	44	6,0
2.2 Питание рыб комбикормом, обогащенным различными жировыми добавками								
Кк – РГМ – 5В	35,6	1,30	704	296	178	92	21	8,0
Кк+3,8% подсолнечн масла	46,7	1,30	726	274	161	86	25	7,4
Кк+3,8% кальмаров. жира	42,2	1,40	711	289	156	106	21	8,0
Кк+3,8% лецитина	45,5	1,30	711	289	166	98	17	7,9
Кк+1,0% лецитина	36,4	1,40	692	308	174	111	17	8,6
М±δ, n=8	39±4,7/	14±0,3/	717±24/	283±24/	144±33/	105±20/	28,5±21/	7,7±0,8/
Коэффициенты вариации	12	20	34	9	23	20	43	10

* Потери массы за зиму, %. В публикации приведены данные пересчетов материалов из научных отчетов лаб. физиологии питания рыб ВНИИПРХ, в работе над которыми принимали участие Л.Н. Трофимова, И.Ф. Першина, И.А. Салькова, Н.В. Линник, О.А. Бондаренко, Л.Н. Дума, Н.Т. Сергеева, Н.Ф. Шамаков.

Можно видеть, что замена в рационе питания молоди карпа естественной пищи на комбикорм (серия опытов 1.1), сопровождалась значительным торможением скорости роста и привела к сдвигу в приросте массы соотношения воды и пластических веществ в сторону последних. Это произошло

за счет дегидратации прироста и резкого усиления синтеза липидов (от 2,8 до 4,8 раз), а также меньшего включения в ткани минералов.

В серии 1.2. при переводе сеголеток карпа на комбикорм, имеющий дисбалансированный по аминокислотному составу белок с дефицитом лизина, аргинина, триптофана и, кроме того, недостаток минеральных элементов, можно было наблюдать резкое снижение скорости роста, которое шло одновременно со сгущением прироста. Сдвиг соотношения в сторону пластических веществ в основном был следствием усиления в 1,5 раза липогенеза, несмотря на то, что одновременно замедлялся синтез белка и включение минеральных элементов.

Обогащение комбикормов различными витаминами (серии опытов 1.3.1. и 1.3.2.) вызывало неоднозначные изменения. Аликвотные дозы (500 мг/кг) аскорбиновой кислоты и ее устойчивой формы – аскорбилтрифосфата (АСТФ) оказали разнонаправленный ростовой эффект со сходным, но различным по величине действием на синтез пластических веществ. Доза β -каротина 50 мг/кг хорошо стимулировала рост карпов, но при одновременном обводнении прирастающей массы, угнетении синтеза белка и отложения минеральных элементов. Напротив, доза 80 мг/кг вызвала резкое торможение роста (на 23%), которое сопровождалось сгущением прироста за счет его обезвоживания и одновременной стимуляции липогенеза.

В опытах с форелью (серия 2.1) введение в комбикорм РГМ-1ФЭ вит. В₁ в дозе 15 мг/кг, резко стимулируя рост рыб (на 37%), практически не повлияло на исходное (в контроле) соотношение воды и пластических веществ. Однако внутри последних произошли изменения, которые сопровождались активизацией синтеза белка и включения минеральных элементов при весьма существенном (на 20%) сокращении синтеза липидов.

Витамин В₂ в дозе 30 мг/кг при стимуляции роста рыб вызвал очень резкий сдвиг соотношения в сторону воды. Разжижение прироста происходило не только за счет его гидратации, но и вследствие резкого торможения синтеза липидов (на 42%) а также в меньшей степени (на 13%) белка.

Интересной оказалась метаболическая и ростовая реакция форели на введение в достаточно полноценный комбикорм РГМ-5В различного вида жировых добавок. Дополнительный ввод подсолнечного масла в дозе 3,8%, не оказав влияния на рост рыб, вызывал обводнение прирастающей массы при одновременном угнетении синтеза белка и липидов, а также повышенном включении минералов. Кальмаровый жир, стимулируя рост, вызвал усиление липогенеза и близкое по величине торможение синтеза белка. Эффект воздействия лецитина в той же дозе, 3,8%, характеризовался в основном угнетением синтеза белка и пониженным отложением минералов. Сокращение его количества до 1%, максимально ускорило рост рыб при снижении обводненности прироста, резкой активизации синтеза липидов (на 21%), а по сравнению с вариантом дозы лецитина 3,8% – также и белка.

Предлагаемый методический подход был использован нами и для сравнительной оценки изменений в метаболизме у голодавшей во время зимовки молоди карпа. В серии экспериментов 1.4., алиquotная замена летом в полноценном комбикорме ВВС-РЖ рыбной муки на высокобелковый дрожжевой компонент – БВК-паприн, привела во время зимнего голодания рыб к самым большим потерям их массы. Одновременно были отмечены наименьшие потери воды и наиболее интенсивное расходование на поддерживающий обмен пластических веществ: траты жиров составили 37%, белка и энергии – по 29%, при сохранении минеральной части в количестве, большем, чем в контроле, в 9,5 раз.

Введение в состав этого корма микроэлементов оказало сберегающее действие. Добавка селенита натрия обеспечила резкое сокращение трат общего количества пластических веществ в основном за счет более экономного использования липидов и белка. Потери массы на 62% были обеспечены за счет воды.

Эффект йодистого калия был несколько иным. В общих потерях доля пластических веществ была существенно большей – особенно липидов, и в значительно меньшей степени – белка. Потери энергии были велики и сходны с вариантом корма с БВК. Комплекс двух микроэлементов обеспечил у рыб при голодании наибольшую сохранность их массы, однако это произошло в основном за счет относительно низких потерь воды.

Результаты математической обработки данных, полученных на питающейся различными кормами молоди карпа (n=12), дали основание полагать, что в диапазоне масс 8,5–25 г, соотношение воды и пластических веществ в прирастающей массе рыб составляет в среднем 2:1, при коэффициентах вариации

ции (V) соответственно 9% и 18%. В пластических веществах наиболее подвижной частью оказались – липиды (V=38%) и минеральные вещества (V=31%). Наименее подвижными были белки (V=10%).

При зимнем голодании сеголетков карпа соотношение воды и суммы пластических веществ в их убывающей массе приблизилось к 1:1 (V=14–15%). Внутри пластических веществ, использовавшихся на поддерживающий обмен, наиболее лабильной была минеральная часть (V=72%). Вариабельность трат липидов была значительно меньшей (V=27%); Утилизация белка колебалась в наиболее узких пределах (V=10%).

У питающейся молоди форели по сравнению с карпом соотношение воды и пластических веществ в прирастающей массе было несколько шире – 2,5:1 (V=34% и 9%). Наиболее подвижная часть – минералы (V=43%), наименее – в равной степени белки и жиры, соответственно (V=23% и 20%).

ON INFLUENCE OF FEED QUALITY ON METABOLISM IN FISH

M.A. Shcherbina

All-Russian Research Institute of Freshwater Fisheries, Rybnoe, Moscow Region, Russia
vniprh@mail.ru.

A new methodical approach to evaluate metabolic alterations in starved or fed fish has been suggested. It consists in determining the ratio of water and organic substances in the unit of body weight, increased or decreased. It is very important that determination of fish weight and sampling for chemical analysis should be performed strongly simultaneously, both in the beginning and end of an experiment. For calculations the following equation is used: $K_{np} = 10 (M_t P_t - M_o P_o) / (M_t - M_o)$, g, MJ/kg of body weight increment, were M_o , M_t and P_o , P_t are average fish weights and content of some substance or energy in their body in the beginning and the end of an experiment, respectively (% or kJ/100 g). The combination of the data obtained with the daily average growth rate [$C_{w,\%} = 200 (M_t - M_o) / (M_o + M_t) t$, were t is the experimental period, days] allows us to realize the integral feed effect (or effect of conditions before starvation) on metabolism and growth of fish. Appropriate corroborated data are presented in the table.

АКТИВНОСТЬ ЭТОКСИРЕЗОРУФИН-О-ДИЭТИЛАЗЫ (ЭРОД) РЫБ КАК БИОМАРКЕР ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ СТОЙКИМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ ЗАГРЯЗНЯЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

В.В. Юрченко, Г.М. Чуйко

ИБВВ РАН, Борок, Россия
viksapiksa@mail.ru

CYP1A-dependent monooxygenases are known to be metabolizing enzymes of many xenobiotics, such as PCDDs, PCDFs, PCBs, PAHs and structurally related compounds. EROD activity in fish is used as an indicator of CYP1A-induction, resulted by environmental contaminants exposure. EROD activity approach is based on the measurement of ethoxyresorufin deethylation product, resorufin. In 1976 (Payne) EROD activity was suggested to serve as a biomarker of environmental pollution.

Органические загрязнители водных объектов неизбежно попадают в организм рыб. Большинство из них являются липофильными ксенобиотиками, что делает их легко переносимыми через клеточные мембраны жабр, кожи, пищеварительной системы. Их последующая судьба и биологические эффекты в значительной степени зависят от способности к биотрансформации. Биотрансформация этих соединений как процесс состоит из двух фаз. В первой фазе (phase I), оксидативной, главная роль принадлежит оксигеназным системам, которые, окисляя гидрофобные молекулы ксенобиотика, увеличивают его водорастворимость. Во второй фазе (phase II) продукты оксигеназных реакций конъюгируют с различными водорастворимыми эндогенными соединениями посредством трансфераз (и некоторых других групп ферментов) и удаляются экскреторными органами (Di Giulio et al., 1995).

Индукция ферментов-трансформаторов в общем смысле рассматривается как адаптивный ответ организма на загрязнение среды обитания, приводящий к выведению чужеродных соединений (Bock et al., 1990).

Биотрансформация ксенобиотиков является функциональным звеном более общего процесса в живой системе – увеличения полярности окисляемых молекул, по этому пути происходит превращение гидрофобных эндогенных соединений (стероидов, длинноцепочечных жирных кислот и др.). Поэтому оксигеназы также получили название «оксидазы смешанных функций». Универсальной оксидазой, обнаруженной у представителей животного, растительного и бактериального миров, является цитохром P450. К настоящему времени выделено множество форм цитохрома P450. Известно, что P450-содержащие ферментные системы обладают выраженной субстратной специфичностью, между тем, некоторые из них трансформируют относительно широкий спектр субстратов (Арчаков, 1983; Katagi, 2010).

Возможно, никаким другим монооксигеназам не было уделено такого большого внимания как подсемейству CYP1A-содержащих оксигеназ (cytochrome P450 family 1 subfamily A), так как оно играет ключевую роль в биотрансформации ПХДД, ПХДФ, ПХБ, ПАУ и структурно сходных соединений. Попадая в организм рыб, эти ксенобиотики вызывают индукцию CYP1A, которая проявляется в повышении активности этоксирезорифин-О-диэтилазы (ЭРОД) (Whyte et al., 2000).

ЭРОД, как и остальные P450-содержащие ферменты, является мембраноассоциированным белком эндоплазматического ретикулама (микросомальная фракция) и митохондрий. Монооксигеназная система микросом, вероятно, состоит из трёх компонентов: НАДФН-специфичный протеид, цитохром b5 и цитохром P450 (Арчаков, 1983).

На субклеточном уровне наибольшая ЭРОД-активность отмечается в микросомальной фракции. На клеточно-тканевом – максимальную индукцию CYP1A демонстрирует эндотелий (Smolowitz et al., 1991; Stegeman et al., 1991). На уровне органов и их систем в организме рыб CYP1A-содержащие ферменты концентрируются главным образом в печени, но они обнаружены также в почках, селезёнке, жабрах, коже, пищеварительном тракте, коре надпочечников, сердце, гонадах, обонятельной системе, мозге, красной мускулатуре (Di Giulio et al., 1995; Sarasquete, Segner, 2000).

Использование каталитической активности ЭРОД в качестве индикатора количества CYP1A основано на определении скорости диэтилирования этоксирезорифина. ЭРОД-активность измеряется как количество резорифина, приходящегося на мг белка в образце микросомальной фракции печени рыбы в минуту времени реакции (моль/мг/мин) (Pohl, Fouts, 1980: цит. по Whyte et al., 2000).

Так, например, у окуня при базовом уровне ЭРОД 440 пмоль/мг/мин внутрибрюшные инъекции в дозе 500мг/кг Clophen 50 (ПХБ) и 50 мг/кг β-нафтофлавона (ПАУ) вызвали индукцию 1100 пмоль/мг/мин и 2560 пмоль/мг/мин, соответственно. У щуки после инъекции β-нафтофлавона в такой же дозе уровень ЭРОД возрос с 480 пмоль/мг/мин до 4660 пмоль/мг/мин (Förlin, Celander, 1993: цит. по Whyte et al., 2000).

Ферментная активность ЭРОД является очень нестабильной и чувствительной к манипуляционным процедурам. Поэтому с момента отлова рыбы до извлечения печени не должно проходить более 10 минут. Если получение печени и определение ЭРОД-активности разделены во времени (например, в полевых условиях) следует замораживать печень в жидком азоте (-196°C), что позволяет сохранять активность фермента. Проведения ЭРОД-анализа подразумевает наличие следующего лабораторного оборудования: гомогенизатор, центрифуга и ультрацентрифуга – для получения микросомальной фракции, спектрофлуориметр – для измерения конечного продукта реакции.

Индукцированная ЭРОД-активность может многократно возрастать по сравнению с базовым уровнем. В целях сравнения результатов исследований сложилась условная градация ЭРОД-индукции на «слабую» (ЭРОД-активность возрастает до 10 раз по сравнению с контролем), «умеренную» (от десяти- до стократного повышения уровней ЭРОД) и «сильную» (активность фермента увеличивается более чем в 100 раз) (Whyte et al., 2000).

Прежде чем говорить о качестве среды на основании данных ЭРОД-анализа и использовать активность фермента в целях биомониторинга необходимо установить, в каких пределах она изменяется у массовых видов рыб и от каких факторов зависит в нормальных условиях.

Ранее установлено, что ЭРОД-активность рыб зависит от концентрации индуктора (-ов), либо от соотношения индуктора (-ов) и ингибитора (-ов), температуры воды, индивидуального физиологического состояния (Whyte et al., 2000).

Ключевым аспектом в выборе вида для мониторинговых исследований является не сама по себе индуцированная ЭРОД-активность, а в большей степени – устойчивая конститутивная ЭРОД-активность и значительная амплитуда между конститутивной и индуцированной ЭРОД-активностью, что позволяет однозначно интерпретировать результаты (Flamarion, Garric, 1997).

BIOMONITORING TOOLS AND RISK ASSESSMENT IN THE ARCTIC

Lionel Camus, Gro Olsen, Jasmine Nahrgang

Akvaplan.niva AS, Tromsø, Norway
lionel.camus@akvaplan.niva.no

The Arctic contains some of the world's largest oil and gas reserves (AMAP 1998). The Barents Sea north of the Norwegian coast was opened for oil and gas exploration in 1980 and petroleum exploration in this region is now expanding. The region is poised to become one of the main oil and gas suppliers in the years to come. The Norwegian authorities control strictly the Norwegian side of the Barents Sea with a «zero discharge» policy. Studies have shown that it is possible to limit environmental impacts from operational discharges, however as Arctic petroleum activities increase, the risk of serious accidents also increases.

More knowledge is needed on the possible effects of oil-related compounds on Arctic organisms and ecosystems. The Norwegian regulatory framework requires thorough monitoring and risk assessment of offshore petroleum activities, however, risk assessment methodologies are based on experiments performed on temperate species. Knowledge on possible effects on Arctic organisms is sparse, and special Arctic characteristics influencing the fate and effects on contaminants may result in different pollutant responses between Arctic and temperate species. Reliable environmental monitoring tools and risk assessment approach adapted for the Arctic environment are required to identify and document potential impacts associated with the expansion of oil and gas industrial activities in the Barents Sea.

Risk assessment

To ensure safe operation, the petroleum industry of Norway has developed a methodology to calculate the risk of harmful effects to the environment from petroleum operations. This approach involves a science-based prediction of potential ecological effects of discharges of produced water, drilling mud as well as risk calculations for acute discharges. The objective is to keep discharges within regulatory guidelines specified in permits issued by the Norwegian State Pollution Control Authority (SFT). These limits are based on results from toxicity testing (acute or chronic). The model used in risk calculations is called the DREAM model (Dose Related Effect Assessment Model), and within this model, the Environmental Impact Factor (EIF) are used. EIF follows the procedures described in the EU-Technical Guidance Document (EU-TGD) and provides a quantitative estimate of possible ecological risks on a regional-scale (Johnsen et al., 2000).

In EIF the predicted environmental concentration (PEC) of any pollutant is compared with the predicted no effect concentration (PNEC). The PEC value is based on modelling of chemical fate and exposure models, while PNEC is derived from toxicity data for different species. Toxicity data are derived from LC₅₀ values from available toxicity test results and an assessment factor is added depending on the quality of the available toxicity data. If the PEC/PNEC is lower than 1, no risk reduction measures are required. If the ratio is higher than one, the risk of effects to organisms is unacceptable and risk reduction measures must be implemented by the operator.

Traditionally, the toxicity assessment in the EIF-model has been based on the LC₅₀ for the most sensitive species, however, a more recent development has been to apply a Species Sensitivity Distribution (SSD) curve in the toxicity assessment. In the SSD approach, toxicity information from a number of species from various taxonomic and functional groups is used instead of only using one species only (the most sensitive). The SSD approach is considered a more ecosystem relevant approach.

Finally, lipid content has been demonstrated to influence both the chemical concentrations and bioaccumulation processes in arctic marine biota. Due to their hydrophobicity the dynamics of chemicals in food chains is closely related to the dynamics of lipids in the organisms. Parameters which describe the kinetic of the bioaccumulation processes of polycyclic aromatic compound remain unknown for arctic organisms which are characterized by high lipid content. These parameters are therefore of critical importance for risk assessment models and includes uptake rate, body burden and depuration rate.

The risk assessment tools have been developed for general use. However application in new regions, such as the Arctic, requires additional site-specific information both for the toxicity assessment used to

derive PNEC values and for the fate and exposure modelling to derive the EIF factor. Major question to be answered is therefore:

- Is the available toxicity data for non-arctic species representative for the sensitivity of arctic species?

- Is the arctic ecosystems protected with the current risk assessment practices based on information from temperate species?

- What are the uptake rate, body burden and depuration rate of Arctic species?

To elucidate these questions we have performed a series of experiments with different arctic organisms and created a SSD curve that can be compared to temperate SSD curves and also be used directly in risk assessment procedures. Uptake/depuration rates and body burden have also been measured.

Monitoring

Environmental monitoring programmes have been developed with the emergence of new contaminants and the concomitant concern for human health and environmental resources. The main goals of monitoring programmes are to (i) verify that environmental standards are being met, (ii) detect sudden adverse changes in the environment, and (iii) allow the prediction of future developments (van der Oost et al., 2003). In the past, monitoring was based mainly on analyses of chemicals such as PAHs in the environment. However, a strong effort has been made in the last decades to develop standardized assays for routine environmental monitoring to assess adverse effects on the biological systems (Lam, 2009). To date, monitoring programmes focus mainly on the effects of contaminants on fish and mussel species for pelagic and benthic ecosystems respectively by the assessment of biomarkers in indicator species (van der Oost et al., 2003). While biomarkers still poses some challenges, notably in linking their responses to higher levels of organization, they have gained broad acceptance and are used in several monitoring programmes (JAMP, 1998; Hylland et al., 2008). For instance, the Norwegian Water Column Monitoring Program uses biomarkers in caged fish (*Gadus morhua*) and blue mussels (*Mytilus edulis*) to evaluate the effect of discharges from oil platforms operating in the North Sea (Hylland et al., 2008).

With the expansion of oil and gas activities to the Arctic shelf Seas, there is an increasing risk of accidental petroleum discharges to Arctic environments, which makes it necessary to implement environmental monitoring programmes in these regions. However, due to the biological specificities of Arctic marine organisms existing monitoring tools i.e. biomarkers, for temperate species cannot be directly applied to their Arctic counterparts and need to be studied and adapted for Arctic marine organisms.

The polar cod (*Boreogadus saida*) is a small gadoid fish (Bakke and Johansen, 2005) that has a circumpolar distribution and is considered a suitable indicator species for environmental monitoring due to its high abundance, key role in the Arctic marine ecosystem and its overlapping distribution with oil and gas related activities in the Barents Sea and other Arctic shelf seas. Stange and Klungsoyr (1997) considered its diet dominated by zooplankton, its short life span and the low variation in contaminant level among and within locations, further advantages for its use as an indicator species. Some studies have investigated biomarker responses to crude oil or PAH compounds in polar cod. George et al. (1995) demonstrated the induction of EROD in polar cod exposed to dietary crude oil. Polar cod exposed to benzo(a)pyrene (B(a)P) showed a major excretion of H³- B(a)P via the bile (Ingebrigtsen et al., 2000) and an increase in DNA adducts (Aas et al., 2003). Nevertheless, the overall knowledge of the biomarker's responsiveness in polar cod is poor. Therefore, a recent series of 7 papers investigated the responsiveness of biomarkers in polar cod exposed to petroleum related compounds and their seasonality in wild fish (Christiansen et al., 2010; Nahrgang et al., 2009a, 2010a, b, c, d). This data allowed assessing the suitability of the selected biomarkers as monitoring tools, and the suitability of polar cod as a sentinel species for environmental monitoring of petroleum related compounds in Arctic waters. Herein, we report the main findings of these studies and discuss their implication for developing oil monitoring programmes in the Arctic using polar cod.

SOME PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF DIATOMS LIPID SYNTHESIS (FOOD RESOURCE FOR ABALONE POSTLARVAE)

Alla Silkina¹, Luc Bourgeois², Effendy A.W.M.¹

¹ Institute of Marine Biotechnology, Universiti Malaysia Terengganu, Kuala Terengganu, Terengganu, Malaysia
alla.silkina@gmail.com

² Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, Canada

Diatoms are eukaryotic microalgae broadly present in freshwater and marine ecosystems. These unicellular organisms dominate the phytoplankton communities and are considered as the most important primary producers in sustaining the marine food chain (Gatidou, 2008).

Benthic diatoms are the main principal of food source for postlarval abalone in hatcheries (Kawamura, 1996 and 1998). In spite of the increasing number of studies on the nutrition of newly settled abalone larvae (Kawamura and Takami, 1995; Kawamura, 1995,1996,1998; Kawamura et al., 1998; Daume 1009, 2000 and Gordon et al., 2006), growth and survival rates during the early postlarval stages as reported in the literature are variable and generally low (Searcy-Bernal et al., 1992). Among those are poor and unpredictable performance is related to availability of food of different diatoms and their composition, as well as the abalone species and the growing conditions in hatcheries (Kawamura, 1998). The aim of this research was to investigate lipids contents and biofilm formation of 4 diatom species *Cylindrotheca closterium*, *Navicula sp.*, *Amphora sp.*, *Nitzshia sp.* and *Cocconeis sp.*

Biochemical composition of algal cells is one important factor to improve the nutritional value of diatoms for feeding marine aquatic organisms in aquaculture (Dunsatn et al, 1994). Diatoms are an important component of the food for zooplankton, shellfish and fish larvae. New biotechnological applications of microalgae lipids widespread and one of the important is for Biofuel production. In metabolic pathways of microalgae, the light-harvesting complex composed by chlorophyll and carotenoids capture light energy as photons. This energy is used by photosystem II in the catalytic oxidation of water, forming protons, electrons, and molecular O₂. Low-potential electrons are transferred through the photosynthetic electron transport chain leading to the reduction of ferredoxin for the formation of NADPH. An electrochemical gradient is formed because of the release of protons after water oxidation into the thylakoid lumen, which is used to drive ATP production via ATP synthase. The photosynthetic products NADPH and ATP, are substrates for the Calvin–Benson cycle where inorganic CO₂ is fixed into 3-C molecules that are assimilated into the sugars, starch, lipids, or other molecules required for cellular growth (Beer et al., 2009). In this study, the biochemical composition of *Cylindrotheca closterium*, *Navicula sp.*, *Amphora sp.* and *Cocconeis sp.* were analyzed, they contained high levels of total lipids (6.4%- 14.5% of dry weight) and fatty acids (16%-22% of lipids); from 39% to 48% of fatty acids were polyunsaturated (PUFA). Fatty acids composition of 4 species was presented in Table.

Fatty acids composition of total lipids from *Cylindrotheca closterium*, *Navicula sp.*, *Amphora sp.* and *Cocconeis sp.*

Fatty acid (molar %)	<i>Cylindrotheca closterium</i>	<i>Navicula sp</i>	<i>Amphora sp.</i>	<i>Cocconeis sp.</i>
14:0	5.5	2.8	5.6	6.2
16:0	25.4	9.1	7.2	21.3
16:1	24.9	30.8	28.9	30.1
16:2	1.8	3.2	26.9	27.3
16:3	3.7	18.3	2.5	2.4
18:0	0.6	trace	0.2	0.3
18:1	2.6	6.2	4.6	5.2
18:2	2.5	3.9	5.0	4.8
20:5	17.2	14.5	12.3	16.2

Fatty acids are easily absorbed by postlarvae (Manahan and Jaekle, 1992), a fact that is especially important in very early life stages, before the complete development of the gut enzymes involved in protein digestion (Takami et al., 1998). For this reason the diatom composition phase of the present study has focused on fatty acids. Studied diatoms had high levels of lipids and polyunsaturated fatty acids (PUFA), especially the essential PUFA 20:5(n-3) (Dunstan et al., 1994 and Brown et al., 1997), and therefore may fulfill the nutritional requirements of abalone postlarvae better than other algae. PUFA of both n-3 and n-6

families are essential for growth of juvenile *Haliotis discus hannai* (Mai et al., 1996). Their primary function is considered to be structural (Mai et al., 1995 and Floreto et al., 1996). Among PUFAs, 20:5(n-3) seems to contribute the most to faster growth of juvenile *H. discus hannai* (Mai et al., 1996).

From the results, obtained in this study, *Cylindrotheca closterium*, *Navicula sp.*, *Amphora sp.* and *Cocconeis sp.* present the suitable nutritional basis proposed for low performance of abalone postlarvae in their natural habitat and in certain artificial settings; the biochemical composition of the diatoms can be proposed as food for abalone postlarvae. In the same moment, the mass culture of these diatoms can be assured. Differences in n-3 PUFA and in FA composition of studied diatoms accentuate the high diatom nutritional value and have to be used in feeding of abalone larvae and as increase the postlarval growth and survival. The findings present the practical help in the reproduction of abalone in culture.

СОДЕРЖАНИЕ

Т.И. Андреевко ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ ТКАНЕВОГО МЕТАБОЛИЗМА МОЛЛЮСКА-ВСЕЛЕНЦА ANADARA INAEQUIVALVIS (BRUGUÈRE, 1789) В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОЛОДАНИЯ	5
Л.А. Базаркина ДИАПАУЗА CYCLOPS SCUTIFER SARS КАК МЕХАНИЗМ ПРИСПОСОБЛЕНИЯ ПОПУЛЯЦИИ ВИДА К ИЗМЕНЕНИЯМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ	7
В.С. Балан, А.О. Касумян ИССЛЕДОВАНИЕ УЧАСТИЯ ВНУТРИРОТОВОЙ МЕХАНОРЕЦЕПЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ У АФРИКАНСКОГО СОМА CLARIAS GARIEPINUS	8
В.Я. Бияк, Ю.В. Синюк, В.З. Курант, В.В. Грубинко ЛИПОПРОТЕИДЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РЫБ ЗАПАДНОГО ПОДОЛЬЯ	9
Т.В. Бонк, В.И. Шершнева БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОДИ НЕРКИ (ONCORHYNCHUS NERKA WALB) ОЗ. КУРИЛЬСКОЕ (КАМЧАТКА) В ПЕРИОД КАТАДРОМНОЙ МИГРАЦИИ	11
Е.В. Борвинская, И.В. Суховская, Л.П. Смирнов ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН S-ТРАНСФЕРАЗЫ У РЫБ	12
О.А. Ботязова, Е.В. Рябухина ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЦЕРИОДАФИЙ В УСЛОВИЯХ СОВМЕСТНОГО ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО И ТОКСИЧЕСКОГО ФАКТОРОВ	14
Л.А. Бугаев, И.Л. Левина, А.В. Войкина, Е.А. Федорова, Л.Я. Кузнецова АКТИВНОСТЬ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ДЕТОКСИКАЦИИ У АЗОВСКОЙ ТАРАНИ (RUTILUS RUTILUS) В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД	16
И.В. Бурлаченко ИЗМЕНЕНИЯ В МЕТАБОЛИЗМЕ МОЛОДИ СТЕРЛЯДИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ КОМБИКОРМОВ В УСЛОВИЯХ ИНДУСТРИАЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	18
О.В. Василенко, П.Д.Клоченко, Т.А. Васильчук, Ю.В. Синюк ВЛИЯНИЕ ФУЛЬВОКИСЛОТ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ, АЗОТНЫЙ И ФОСФОРНЫЙ ОБМЕН У СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ	19
А.Е.Веселов, Д.С. Павлов, М.И. Скоробогатов, Д.А. Ефремов РЕОРЕАКЦИЯ И ФОРМИРОВАНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ГРУПП СЕГОЛЕТОК АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОЯ (Salmo salar L.) В РЕКЕ ВАРЗУГА (КОЛЬСКИЙ ПОЛУОСТРОВ)	21
Р.У. Высоцкая, С.А. Такшеев, В.С. Скидченко НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНАХ БЕЛОМОРСКИХ МИДИЙ MYTILUS EDULIS	23
Р.У. Высоцкая, С.А. Такшеев, В.С. Скидченко НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНАХ БЕЛОМОРСКИХ МИДИЙ MYTILUS EDULIS	24
О.Ю. Вялова ВЫРАЩИВАНИЕ ТРИПЛОИДНОЙ ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ CRASSOSTREA GIGAS В ЧЕРНОМ МОРЕ	26
Д.В. Гарина ЭФФЕКТЫ ВНУТРИБРЮШИННОГО И ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ВВЕДЕНИЯ СЕРОТОНИНА НА ПИЩЕДОБЫВАТЕЛЬНУЮ И ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КАРПА CYPRINUS CARPIO L.	28
В.К. Голованов, Д.С. Капшай СУТОЧНЫЕ РИТМЫ ТЕРМОПРЕФЕРЕНДУМА РЫБ. АНАЛИЗ И ВЗАИМОСВЯЗИ	30
В.К. Голованов, Г.М. Чуйко, В.А.Подгорная ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИЙ РЫБ В ЗОНЕ СУБЛЕТАЛЬНЫХ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР	32
И.Л. Голованова ГИДРОЛИЗ УГЛЕВОДОВ У ПРЕСНОВОДНЫХ КОСТИСТЫХ РЫБ И ОБЪЕКТОВ ИХ ПИТАНИЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ	34
И.В. Голованова, А.А. Филиппов ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ КАРБОГИДРАЗ РЫБ К ДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ	36

И.В. Головина, О.Л. Гостюхина АНТИОКСИДАНТНЫЙ КОМПЛЕКС ТКАНЕЙ У САМЦОВ И САМОК КАМБАЛЫ-КАЛКАН <i>PSETTA MAEOTICA</i> PALLAS В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД	38
А.И. Горда РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ЛИПИДОВ У <i>CHLORELLA VULGARIS</i> BEIJER. ИОНАМИ ЦИНКА И СВИНЦА	40
С.Б. Городовская, В.И. Шершнева ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СОЗРЕВАЮЩИХ ЛОСОСЕЙ В ПЕРИОД АНАДРОМНЫХ МИГРАЦИЙ	42
В.В. Грубинко РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ МЕТАЛЛОВ В АДАПТАЦИИ ГИДРОБИОНТОВ: ЭВОЛЮЦИОННО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ	43
И.М. Дзюбук, Е.А. Клюкина МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЕРША ЛАХТИНСКОЙ ГУБЫ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА	46
И.И. Дорохова УРОВЕНЬ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В КРОВИ МОРСКОГО ЕРША В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ЗРЕЛОСТИ ГОНАД	48
Е.Е.Ежова РОЛЬ РАСТВОРЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ В АДАПТАЦИИ ПОЛИХЕТЫ <i>LAMANEIREIS LITTORALIS</i> К УСЛОВИЯМ СУПРАЛИТОРАЛИ	49
Е.Е.Ежова, С.М. Никитина ВЛИЯНИЕ ГИДРОКОРТИЗОНА И ТЕСТОСТЕРОНА НА НЕЙРОСЕКРЕЦИЮ И ГАМЕТОГЕНЕЗ ЧЕРНОМОРСКОЙ МИДИИ <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>	51
И.А. Ерохина ПРОТЕИНОГРАММЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ ТЮЛЕНЕЙ В СВЯЗИ С ОЦЕНКОЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЖИВОТНЫХ	53
И.А. Ерохина ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛАСТОНОГИХ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ	55
А.А. Жиденко МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ РАЗНОВОЗРАСТНЫХ ГРУПП <i>CYPRINUS CARPIO</i> L. ПРИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ	57
А.Ф. Жуковская, Н.Н. Бельчева, Е.Е. Солодова, В.П. Челомин ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМА АДАПТАЦИИ ГОДОВАЛЫХ ОСОБЕЙ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА <i>MIZUNOPESTEN YESSOENSIS</i> К КАДМИЮ	59
Е.А. Заботкина, Т.Б. Камшилова ИЗМЕНЕНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МОЛОДИ ПЛОТВЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПХБ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В КОРМЕ И ГРУНТАХ	60
А.В. Завьялов, Е.Н. Скуратовская ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕННОСТИ НЕМАТОДОЙ <i>HYSTEROTHYLACIUM ADUNCUM</i> НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ МЕРЛАНГА <i>MERLANGIUS MERLANGUS EUXINUS</i>	62
В.Ф. Зайцев, Э.И. Мелякина, Л.Ю. Ноздрин АНАЛИЗ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ	63
В.А. Илюха, С.Н. Калинина, Т.Н. Ильина, И.В. Баишникова, В.В. Белкин, А.Е. Якимова., Е.А. Хижкин, Б. Барабаш УЧАСТИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В АДАПТАЦИЯХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ К РАЗЛИЧНОМУ УРОВНЮ КИСЛОРОДА: НЫРЯНИЕ, СПЯЧКА И ВЫСОКОГОРНОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ	65
А.А.Истомина, Н.В. Довженко ВЛИЯНИЕ АНОКСИИ И РЕОКСИГЕНАЦИИ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ <i>MIZUNOPESTEN YESSOENSIS</i>	67
В.Я. Кавун, А.И. Чепкасова, О.В. Подгурская, Н.Н. Ковалев ОСОБЕННОСТИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА <i>CRENOMYTILUS GRAYANUS</i> В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В СРЕДЕ	68
Е.И. Кальченко, Т.В. Гаврюсева, М.И. Юрьева ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОДИ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ, ВЫРАЩИВАЕМОЙ НА ИМПОРТНЫХ КОРМАХ В УСЛОВИЯХ РЫБОВОДНЫХ ЗАВОДОВ КАМЧАТКИ	70
Н.Н. Камардин, Е.Л. Корниенко, Г.П.Удалова, С.В. Холодкевич ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КАРДИОРЕГУЛЯТОРНЫЕ РЕФЛЕКСЫ У МОЛЛЮСКОВ	71

Н. П. Канцерова, Н. В. Ушакова, Л. А. Лысенко, Н. Н. Немова ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ НЕКОТОРЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ И РЫБ	73
Л.И. Карамушко АКТИВНЫЙ ОБМЕН И АДАПТАЦИИ ВОДНЫХ ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ОРГАНИЗМОВ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ	75
А.О. Касумян ВКУСОВАЯ РЕЦЕПЦИЯ У РЫБ: ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ	
Т.Б. Ковыршина, С.О. Омельченко ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА <i>NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS</i> ИЗ ЧЕРНОГО И АЗОВСКОГО МОРЕЙ	78
А.В. Королёва ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛОВЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ СПЕКТРОВ БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ СКОРПЕНЫ	80
К. В. Костюк ВЛИЯНИЕ ТОКСИКАНТОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН У ПРЕСНОВОДНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ	82
П.А. Кравецкий, И.В. Волкова, С.В. Шипулин ВЛИЯНИЕ НЕФТЯНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ГИДРОЛИТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА КАРПОВЫХ РЫБ	83
М.Ю. Крупнова, Н.Н. Немова, В.С. Скидченко ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ МЕДИ И КАДМИЯ НА АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ПРОТЕИНАЗ МИДИЙ <i>MYTILUS EDULIS L.</i>	85
В.В. Крылов АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛИНИИ <i>DAPHNIA MAGNA STRAUS</i> В ОТВЕТ НА ДЕЙСТВИЕ СЛАБОГО НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ В ТЕЧЕНИЕ НЕКОЛЬКИХ ПОКОЛЕНИЙ	86
В.В. Крылов, О.Д. Зотов, Ю.В. Чеботарева, Ю.Г. Изюмов, Е.А. Осипова, А.В. Знобищева, Н.А. Демцун ВЛИЯНИЕ ФЛУКТУАЦИЙ МАГНИТНОГО ПОЛЯ СООТВЕТСТВУЮЩИХ МАГНИТНОЙ БУРЕ В НАПРАВЛЕНИИ Н-КОМПОНЕНТЫ НА РАННИЙ ОНТОГЕНЕЗ <i>DAPHNIA MAGNA STRAUS</i> И <i>RUTILUS RUTILUS (L.)</i>	88
В.Н. Крючков МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ РЫБ ПОСЛЕ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ	89
Т.В.Кузнецова, В.В.Трусевич, А.С.Куракин, С.В.Холодкевич ИССЛЕДОВАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ НА ОСНОВЕ ИХ КАРДИОАКТИВНОСТИ И ДВИГАТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ	91
В.В.Кузьмина РОЛЬ СЕРОТОНИНА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКЗОТРОФИИ У РЫБ	93
В.В. Кузьмина, Е.Г. Скворцова, М.В. Шалыгин ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГИДРОЛАЗ КОНСУМЕНТОВ, ЖЕРТВ И ЭНТЕРАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ (НА ПРИМЕРЕ РЫБ)	94
Н.С. Кузьминова КОНЦЕНТРАЦИЯ МАЛЫХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУНОКОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ	96
Т.Ю. Кучко, Л.П. Рыжков, Я.А. Кучко ПАТОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЫБ КАК ИНДИКАТОРЫ СОСТОЯНИЯ ИХТИОФАУНЫ КОНДОПОЖСКОЙ ГУБЫ ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА	98
Е.И. Кяйвярайнен, Е.В. Борвинская, М.М. Куклина, Н.Н. Немова РОЛЬ Na^+/K^+ АТФазы В БИОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИЙ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ	100
Т.Б. Лапирова, Г.М. Чуйко НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛЕЩА (<i>ABRAMIS BRAMA, L.</i>) ИЗ РАЗНЫХ УЧАСТКОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	101
И.Л. Левина, О.А. Зинчук, Е.А. Федорова, Л.Я. Кузнецова, Е.Н. Козлов ОЦЕНКА ПРО/АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У ГИДРОБИОНТОВ НА РАННИХ СТАДИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ СТРОБИЛУРИНОВЫМИ ФУНГИЦИДАМИ	105

О.Н. Лукьянова, С.А. Ирейкина БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ БИОТЫ В ЭСТУАРНЫХ ЗОНАХ	107
А.С. Маврин, В.И. Мартемьянов СОДЕРЖАНИЕ ИОНОВ НАТРИЯ, КАЛИЯ, КАЛЬЦИЯ, МАГНИЯ В ПОЗВОНКАХ И ЧЕШУЕ ПЛОТВЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ	108
Е.Ф. Марковская, А.А. Корзунина, Н.Ю. Шмакова ПИГМЕНТНЫЙ АППАРАТ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПРИЛИВНО-ОТЛИВНОЙ ЗОНЫ СЕВЕРНЫХ МОРЕЙ	110
В.И. Мартемьянов, А.С. Маврин ПОРОГОВЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ КАТИОНОВ В ВОДЕ НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ ИОННОГО БАЛАНСА МЕЖДУ ОРГАНИЗМОМ ГИДРОБИОНТОВ И ВНЕШНЕЙ СРЕДОЙ	112
К.В. Метальникова ГИСТОГЕНЕЗ ГОНАД, КАК ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АНДРОГЕНАМИ НА <i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i>(WALBAUM) И <i>HUSO HUSO X ACIPENSER RUTHENUS</i> (ГИБРИД БЕСТЕРА (F2))	114
О.В. Мещерякова, М.В. Чурова, Н.Н. Немова ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ОРГАНОВ РЫБ ПРИ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКЕ	116
Е.В. Микодина, Е.В. Ганжа, Е.Д. Павлов НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДВУХГОДОВИКОВ ТРИПЛОИДНОЙ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ВЬЕТНАМА	117
Е.С. Михайлова, О.М.Исаева, А.О. Касумян ВРЕМЕННЫЕ (ТЕМПОРАЛЬНЫЕ) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОВЕДЕНИЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ВКУСОВЫХ СВОЙСТВ ПИЩЕВЫХ ОБЪЕКТОВ У РЫБ С РАЗНЫМ ТИПОМ ПИТАНИЯ	119
А.А. Морозов, Г.М. Чуйко ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕСНОВОДНЫХ ВИДОВ РЫБ ИЗ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	121
И.Г. Мурза, О.Л. Христофоров ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ, КАЛЕНДАРНЫЙ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ВОЗРАСТ МОЛОДИ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ <i>SALMO SALAR</i> L.	123
М.А. Назарова, О.Б. Васильева, П.О. Рипатти, Н.Н. Немова ИЗУЧЕНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА КОРМА И ТКАНЕЙ САМОК РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (<i>PARASALMO MYKISS</i> WALB.) РАЗНОГО ВОЗРАСТА	125
Н.А. Небесихина БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ПИТАТЕЛЬНАЯ ЦЕННОСТЬ МЯГКОГО ТЕЛА МОЛЛЮСКОВ РОДА <i>DREISSENA</i> В ВОДОЕМАХ МАНЫЧСКОГО КАСКАДА	127
З.А. Нефедова, С.А. Мурзина, Т.Р. Руоколайнен, О.Б. Васильева, Н.Н. Немова ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ РАЗНЫХ ПОРЦИЙ ТЕКУЧЕЙ ИКРЫ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ <i>SALMO SALAR</i> L.	128
С.М. Никитина, Н.П. Кудикина ГОРМОНЗАВИСИМОСТЬ ЭМБРИОГЕНЕЗА ПРУДОВИКА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>LUMNEA STAGNALIS</i>, L., GASTROPODA, PULMONATA)	130
В. Н. Новицкая, И. А. Парфенова ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ И ЦИТОМЕТРИИ ЯДЕРНЫХ ЭРИТРОЦИТОВ ГИДРОБИОНТОВ (РЫБЫ И МОЛЛЮСКИ) В УСЛОВИЯХ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ И АНОКСИИ	131
Ю.В. Новоселова ПРИМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНДЕКСА ПЕЧЕНИ РЫБ ДЛЯ ОЦЕНКИ СРЕДЫ ИХ ОБИТАНИЯ	133
С.И. Овчинникова., Л.И. Тимакова, Н.А. Панова БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, ИСПОЛЬЗУЮЩИЕСЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ СЕВЕРНОГО БАССЕЙНА	135
Т.Д. Орлова, И.А. Косевич РОЛЬ НЕЙРОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПРОЦЕССАХ РАЗВИТИЯ СТРЕКАЮЩИХ (<i>AURELIA AURITA</i> (SCYRHOZOA) И <i>GONOTHYRAEA LOVENI</i> (HYDROZOA)) И ИХ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НА СТАДИЯХ РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА	137
Н.В. Панасюк ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА ПОПУЛЯЦИИ ЧЕР	139
А.П. Попов, Л.В. Поликарпова, А.С. Конищев АКТИВНОСТЬ НУКЛЕАЗ В ТКАНЯХ ЛЕЩА (<i>ABRAMIS BRAMA</i> L.) ИЗ РАЗНЫХ ПО СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ РАЙОНОВ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	140

Э.К. Попова ОЦЕНКА ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ЭМБРИОНОВ, ЛИЧИНОК И СЕГОЛЕТКОВ ЛОСОСЯ <i>SALMO SALAR</i> (LINNAEUS, 1758) МОРФЫ <i>SEBAGO</i> (GIRARD, 1853) В ПОКОЛЕНИЯХ М И F1	142
В.В. Прокофьев ФОТОРЕАКЦИИ ЦЕРКАРИЙ ТРЕМАТОД, КАК АДАПТАЦИЯ К ЗАРАЖЕНИЮ ХОЗЯИНА	144
Е.В. Пушина, Д.К. Обухов СЕРОВОДОРОД ЭНДОГЕННЫЙ ГАЗООБРАЗНЫЙ РЕГУЛЯТОР СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КОСТИСТЫХ РЫБ	146
Е.В. Пушина, Д.К. Обухов СЕРОВОДОРОД КАК МОДУЛЯТОР ГАМК-ЭРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ В ЦНС КАРПА <i>CARPINUS CARPIO</i>	148
С.В. Пьянова ОЦЕНКА ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЯИЧНИКОВ АНТАРКТИЧЕСКОГО КЛЫКАЧА <i>DISSOSTICHUS MAWSONI</i> (NOTOTHEIIDAE) В РАЗНЫХ РАЙОНАХ ВЫЛОВА	150
А.Л. Рабинович, А.Р. Lyubartsev НЕНАСЫЩЕННЫЕ ЦЕПИ МОЛЕКУЛ ФОСФОЛИПИДОВ И СВОЙСТВА ГИДРАТИРОВАННЫХ ЛИПИДНЫХ БИСЛОЕВ: КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ	152
А.Л. Рабинович, П.О. Рипатти СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА, ФУНКЦИИ ДЛИННОЦЕПОЧЕЧНЫХ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО)	154
А.А. Реунов, Б.Д. Крафорд, Ю.А. Реунова ИССЛЕДОВАНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ “ЖЕЛТКА” В СЕМЕННИКАХ МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ <i>PISASTER OCHRACEUS</i>	156
А.А. Реунов, Б.Д. Крафорд, Ю.А. Реунова МЕХАНИЗМЫ ДЕСТРУКЦИИ ООЦИТОВ У МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ <i>PISASTER OCHRACEUS</i>	157
И.И. Руднева, В.Г. Шайда, Н.С. Кузьминова, Е.Н. Скуратовская ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ГИДРОБИОНТОВ	158
Л.П. Рыжков ДИНАМИКА РОСТА ПЛОТВЫ (<i>RUTILUS RUTILUS L</i>) В СЕВЕРНЫХ ОЗЕРАХ	160
Е.В. Рябухина, О.А. Ботяжова, Ю.А. Никифорова ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ <i>SERIODARINIA AFFINIS</i> ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ	161
Н. А. Сидорова СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОНСТИТУТИВНЫХ И ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i>, КАК ИНДИКАТОР ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ	163
Ю.А. Силкин, Е.Н. Силкина ОСОБЕННОСТИ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ МОРСКИХ РЫБ РАЗНОЙ ЭКОЛОГИИ	165
Ю.А. Силкин, Е.Н. Силкина ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ФОСФОЛИПИДОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ НЕКОТОРЫХ ХРЯЩЕВЫХ И КОСТИСТЫХ РЫБ ЧЕРНОГО МОРЯ	167
В.С. Скидченко, Р.У. Высоцкая, М.Ю. Крупнова, В.В. Халаман ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У МИДИЙ <i>MYTILUS EDULIS</i> ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКСКРЕТОРНО-СЕКРЕТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ НЕКОТОРЫХ ГИДРОБИОНТОВ БЕЛОГО МОРЯ	168
Е.Н. Скуратовская СЕЗОННЫЕ ВАРИАЦИИ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ <i>MULLUS BARBATUS PONTICUS</i> СУЛТАНКИ ИЗ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ г. СЕВАСТОПОЛЯ	170
В. В. Слободскова, Е. Е. Солодова, В. П. Челомин ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО	172
Ю. Д. Смирнова АКТИВНОСТЬ АМФ-ДЕЗАМИНАЗЫ В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ, ИМЕЮЩИХ РАЗНУЮ СКОРОСТЬ ПЛАВАНИЯ	174

А.А. Солдатов МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И КОМПЕНСАЦИИ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ У МОРСКИХ РЫБ	175
П.М. Терентьев ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИЙ РЫБ ВОДОЕМОВ СЕВЕРНОЙ ФЕННОСКАНДИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ СРЕДЫ И ИНТЕНСИВНОСТИ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ	178
Н.Н. Тимошкина, А.Е. Барминцева, Д.В. Коваленко СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА РУССКОГО ОСЕТРА И БЕЛУГИ	179
Г.П. Удалова, В.П. Федотов, А.В. Иванов, Е.Л. Корниенко, С.В. Холодкевич ЦИРКАДИАННЫЙ КАРДИОРИТМ И ИЗМЕНЕНИЯ ЧСС В ТЕСТЕ НА ПОДВЕС КАК КРИТЕРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОРМАЛЬНОГО И СТРЕССОВОГО СОСТОЯНИЙ РАКОВ <i>PONTASTACUS LEPTODACTYLUS</i>	180
Е.В. Федоненко, Т.В. Ананьева, Т.С. Шарамок НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И ПЛАСТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ ЗАПОРОЖСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ	182
Е.А. Федорова ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ СТРОБИЛУРИНОВЫХ ФУНГИЦИДОВ ДЛЯ ВЕСТИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ	184
Холодкевич, Т.В. Кузнецова, С.В. Сладкова, Г.П. Удалова, В.А. Любимцев МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ФОРМИРОВАНИЮ РЕФЕРЕНТНЫХ ГРУПП БЕНТОСНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ОЦЕНОК ИХ С.В.	186
В.А. Хоменчук, С.Р. Симчук, М.А. Миронюк, В.З. Курант ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИОНОВ ЦИНКА В ОРГАНИЗМЕ КАРАСЯ (<i>CARASSIUS CARASSIUS L.</i>)	188
А.И. Чепкасова ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ПЕЧЕНИ ЛОСОСЕВЫХ	190
Г.М. Чуйко, П.А. Гдовский, В.А. Подгорная ДЕЙСТВИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗУ МОЗГА РЫБ И ЭРИТРОЦИТОВ БЫКА И НЕКОТОРЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ЕЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ	191
М.В. Чурова, О.В. Мещерякова, Н.Н. Немова ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ УГЛЕВОДНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У СИГОВ (<i>Coregonus lavaretus L.</i>), ОБИТАЮЩИХ В ХВОСТОХРАНИЛИЩЕ ГОРНО-ОБОГАТИТЕЛЬНОГО КОМБИНАТА	193
В.Г. Шайда ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ТЕПЛОПРОДУКЦИЮ ГИДРОБИОНТОВ	195
М.А. Щербина К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ КАЧЕСТВА КОРМА НА ОБМЕН ВЕЩЕСТВ У РЫБ ..	196
В.В. Юрченко, Г.М. Чуйко АКТИВНОСТЬ ЭТОКСИРЕЗОРУФИН-О-ДИЭТИЛАЗЫ (ЭРОД) РЫБ КАК БИОМАРКЕР ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ СТОЙКИМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ ЗАГРЯЗНЯЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ	199

CONTENT

T.I. Andreenko	CHARACTERISTICS OF ADAPTIVE REORGANIZATIONS OF TISSUE METABOLISM IN MOLLUSK-INVADER <i>ANADARA INAEQUIVALVIS</i> (BRUGÈRIE, 1789) UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL STARVATION	6
L.A. Bazarkina	THE DIAPAUSA FOR <i>CYCLOPS SCUTIFER</i> SARS AS ADAPTIVE POPULATION MECHANISM TO ENVIRONMENTAL CHANGES	7
V.S. Balan, A.O. Kasumyan	INVESTIGATION OF THE ROLE OF INTRAORAL MECHANORECEPTION IN REGULATION OF FEEDING IN AFRICAN CATFISH <i>CLARIAS GARIEPINUS</i>	9
V.Y. Byyak, Yu.V. Synuik, V.Z. Kurant, V.V. Grubinko	LIPOPROTEINS IN THE BLOOD SERUM OF SOME FISH OF WESTERN PODILLYA	11
T.V. Bonk, V.I. Shershneva	BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF JUVENILE SOCKEYE SALMON (<i>ONCORHYNCHUS NERKA</i> WALB) IN KURILSKOYE LAKE (KAMCHATKA) DURING CATADROMOUS MIGRATION	12
E.V. Borvinskaya, I.V. Sukhovskaya, L.P. Smirnov	GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ACTIVITY IN FISH UNDER MINERAL CONTAMINATION	14
O.A. Botyazhova, E.V. Ryabuhina	SURVIVAL RATE OF <i>CERIODAPHNIA AFFINIS</i> L. IN CONDITIONS OF JOINT INFLUENCE OF TEMPERATURE AND TOXIC FACTORS	15
L.A. Bugayov, I.L. Levina, A.V. Voikina, E.A. Fedorova, L.Ya. Kuznetsova	ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTION AND DETOXICATION SYSTEMS IN THE AZOV ROACH <i>Rutilus rutilus</i> DURING THE SPAWNING PERIOD	17
I. Burlachenko	ALTERATION OF METABOLISM OF YOUNG STERLETS UNDER THE INFLUENCE OF MICROORGANISMS IN THE COMBINED FEEDS IN THE CONDITIONS OF INDUSTRIAL CULTURE	19
O.V. Vasylenko, P.D. Klochenko, T.A. Vasilchuk, Y.V. Synyuk	THE FULVIK ACIDS INFLUENCE TO ACTIVITY DYNAMIC OF ENERGETIC, NITROGEN AND PHOSPHORUS METABOLISM ENZYMES OF BLUE-GREEN ALGAE	21
R.U. Vysotskaya, S.A. Taksheev, V.S. Skidchenko	EFFECT OF HEAVY METAL ACCUMULATION ON SOME ENZYMATIC ACTIVITIES OF THE WHITE SEA MUSSELS <i>MYTILUS EDULIS</i>	24
R.U. Vysotskaya, S.A. Taksheev, D.S. Savosin, O.P. Sterligova	LYSOSOMAL ENZYME ACTIVITY IN WHITE FISH TISSUES FROM NORTH-WEST RUSSIA WATER BASINS WITH DIFFERENT LEVEL OF POLLUTION IMPACT	26
O.Yu. Vyalova	THE FIRST RESULTS OF CULTIVATION OF TRIPLOID PACIFIC OYSTER <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> IN THE BLACK SEA	28
D.V. Garina	THE EFFECTS OF INTRAPERITONEAL AND INTRAMUSCULAR INJECTIONS OF SEROTONIN ON FEEDING AND MOVING ACTIVITIES OF CARPS <i>CYPRINUS CARPIO</i> L.	30
V.K. Golovanov, D.S. Kapshay	DAILY THERMOPREFERENDUM RHYTHMS OF FISHES. THE ANALYSIS AND INTERRELATIONS	32
V.K. Golovanov, G.M. Chuiko, V.A. Podgornaya	PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF FISH ADAPTATIONS IN A ZONE HIGH SUBLETHAL TEMPERATURES	34
I.L. Golovanova	EFFECT OF NATURAL AND ANTHROPOGENIC FACTORS ON CARBOHYDRATE HYDROLYSIS IN FISH AND THEIR FOOD OBJECTS	36
I.L. Golovanova, A.A. Filippov	EFFECT OF ANTHROPOGENIC FACTORS UPON FISH DIGESTIVE CARBOHYDRASE SENSITIVITY TO HEAVY METALS	38
I.V. Golovina, O.L. Gostyukhina	THE STATE OF THE SYSTEM OF ANTIOXIDANT DEFENSE IN TISSUES OF MALES AND FEMALES OF THE BLACK SEA FLOUNDER <i>PSETTA MAEOTICA</i> PALLAS DURING THE SPAWNING. I.V. GOLOVINA, O.L. GOSTYUKHINA	40

A.I. Gorda ADJUSTING OF BIOSYNTHESIS OF LIPIDS AT <i>CHLORELLA VULGARIS</i> BEIJER. BY THE IONS OF ZINC AND LEAD	42
S.B.Gorodovskaya, V.I.Shershneva THE DESCRIPTION OF PHYSIOLOGICAL CONDITION OF MATURATING SALMONS IN THE PERIOD OF ANADROMOUS MIGRATIONS	43
V.V. Grubinko A REGULATOR ROLE OF METALS IS IN ADAPTATION OF HYDROBIONTS: EVOLUTIONAL AND ECOLOGICAL ASPECTS	46
I.M. Dzyubuk, E.A. Klyukina THE MORPHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RUFFE FROM LACHTA LIP OF ONEGO LAKE	48
I. I. Dorohova LEVEL OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN SCORPIONFISH BLOOD DEPENDING ON GONADS MATURITY	49
E.E. Ezhova THE ROLE OF DISSOLVED AMINO ACIDS AS FACTOR SUPPORTING ADAPTATION OF POLYCHAETE <i>NAMANEREIS LITTORALIS</i> TO SUPRALITTORAL CONDITION	51
E.E. Ezhova, S.M. Nikitina THE INFLUENCE OF HYDROCORTISONE AND TESTOSTERONE ON NEUROSECRETION AND GAMETOGENESIS IN <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i>	53
I.A. Yerokhina PROTEIN ELECTROPHORESIS OF SEAL'S BLOOD PLASMA IN CONNECTION WITH AN EVALUATION OF A PHYSIOLOGICAL STATE OF ANIMALS	54
I.A. Yerokhina METABOLISM PECULIARITIES OF PINNIPEDS IN EARLY POSTNATAL PERIOD OF DEVELOPMENT	56
A.A. Zhydenko MORPHO-PHYSIOLOGICAL ADAPTATIONS OF UNEVEN-AGED <i>CYPRINUS CARPIO</i> L. GROUPS UNDER ADVERSE INFLUENCE OF ECOLOGICAL FACTORS	58
A.F. Zhukovskaya, N.N. Belcheva, E.E. Solodova, V.P. Chelomin ASSESSMENT OF FEATURES IN BIOCHEMICAL MECHANISM OF ADAPTATION OF YOUNG GROWTH SCALLOP <i>MIZUHOPECTEN YESSOENSIS</i>	60
E.A. Zabotkina, T.B. Kamshilova THE ALTERATION OF HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF YANG FISH ROACH <i>RUTILUS RUTILUS</i> AT EFFECT OF PCBS CONTENTING IN FEEDS AND BOTTOMS	61
A.V. Zavyalov, E.N. Skuratovskaya THE INFLUENCE OF THE NEMATODE <i>HYSTEROETHYLACIUM ADUNCUM</i> INFECTIOUSNESS ON THE ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES OF WHITING <i>MERLANGIUS MERLANGUS EUXINUS</i>	63
V. F. Zaitsev, E.I. Melyakina, L.Y. Nozdrina ANALYSIS OF MICROELEMENT COMPOSITION OF ORGANS AND TISSUES CASPIAN SEAL	65
V.A. Ilyukha, S.N. Kalinina, T.N.Ilyina, I.V. Baishnikova, V.V. Belkin, A.E. Yakimova, E.A. Khizkin, B. Barabash PARTICIPATION OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN MAMMALS ADAPTATIONS TO DIFFERENT LEVEL OF OXYGEN: DIVING, HIBERNATION AND HIGH ALTITUDE ORIGIN	66
A. A. Istomina, N.V. Dovzhenko THE EFFECT OF ANOXIA EXPOSURE AND AEROBIC RECOVERY ON THE ANTIOXIDANT DEFENSES OF SCALLOPS <i>MIZUHOPECTEN YESSOENSIS</i>	68
V.Y. Kavun, A.I. Chepkasova, O.V. Podgurskaya, N.N. Kovalev PECULIARITY OF CHOLINERGIC SYSTEM OF THE MUSSEL <i>CRENOMYTILUS GRAYANUS</i> FROM METAL-ELEVATED ENVIRONMENT	70
E. I. Kalchenko, T.V. Gavrusseva, M.I. Yureva AN ASSESSMENT OF PHISIOLOGICAL AND BIOSHEMICAL PARAMETERS OF HATCHERY JUVENILE PACIFIC SALMON REARED WITH IMPORTED DIETS IN KAMCHATKA	71
N. N. Kamardin, E L. Kornienko, G.P.Udalova, S. V. Kholodkevich EFFECT OF HEAVY METAL IONS ON CARDIOREGULATORY REFLEXES IN MOLLUSKS	73
N.P. Kantserova, N.V. Ushakova, L.A. Lysenko, N.N. Nemova INTRACELLULAR CALCIUM-DEPENDENT PROTEOLYTIC ENZYMES IN SOME INVERTEBRATES AND FISH	75

L.I. Karamushko	ACTIVE METABOLISM AND ADAPTATIONS IN AQUATIC POIKILOTHERMOUS ANIMALS AT LOW TEMPERATURES	76
A.O. Kasumyan	TASTE PERCEPTION IN FISH: FUNCTIONAL AND BEHAVIORAL ASPECTS	78
T.B. Kovyreshina, S.O. Omelchenko	INFLUENCE OF TOXIC ELEMENTS ON THE PRO-OXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE OF BLOOD IN ROUND-GOBY <i>NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS</i> FROM THE BLACK AND THE AZOV SEAS	80
A.V. Korolyova	THE INVESTIGATION SEXUAL PARTICULARITY OF THE ELECTROPHORETIC PROTEIN SPECTRES	82
K. V. Kostyuk	THE INFLUENCE OF TOXICANTS ON PERMEABILITY OF MEMBRANES AT FRESHWATER WATER-PLANTS	83
P.A. Kravetsky, I.V. Volkova, S.V. Shipulin	INFLUENCE OF OIL INTOXICATION TO HYDROLYTIC FUNCTION OF DIGESTIVE TRACT OF CYPRINIDS	84
V.V. Krylov	ADAPTIVE CHANGES IN <i>DAPHNIA MAGNA</i> STRAUS (CRUSTACEA, CLADOCERA) CAUSED BY WEAK LOW-FREQUENCY MAGNETIC FIELD.	87
V.V. Krylov, O.D. Zotov, Yu.V. Chebotareva, Yu.G. Izyumov, E.A. Osipova, A.V. Znobischeva, N.A. Demtsun	EFFECTS OF TYPICAL MAGNETIC STORM ON THE EARLY ONTOGENESIS OF <i>DAPHNIA MAGNA</i> STRAUS <i>RUTILUS RUTILUS</i> (L.)	89
T.V. Kuznetsova, V.V. Trusevich, A.S. Kurakin, S.V. Kholodkevich	INVESTIGATIONS OF PHYSIOLOGICAL ADAPTATIONS OF BIVALVE MOLLUSKS BASED ON BIOMARKERS OF CARDIAC ACTIVITY AND SHELL MOVEMENTS	92
N.S. Kuzminova	THE CONCENTRATION OF SMALL CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN SERUM OF SOME SPECIES OF BLACK SEA FISH	98
T.Yu. Kuchko, L.P. Ryzhkov, Ya. A. Kuchko	PATHOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF FISHES' CONDITION AS THE INDICATOR OF ICHTHYOFAUNA OF THE KONOPOGAS'S BAY OF THE LAKE ONEGO	100
T.B. Lapirova, G.M. Chuiko	SOME INDICES OF IMMUNOPHYSIOLOGICAL STATUS OF BREAM (<i>ABRAMIS BRAMA</i>, L.) FROM THE DIFFERENT PART OF RYBINSK RESERVOIR	103
L.N. Lapkina, G.M. Chuiko, V.A. Podgornaya	LEVEL OF CHOLINESTERASE ACTIVITY AND ITS POSSIBLE RELATIONSHIP WITH SOME ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ANNELIDS SPECIES	105
I.L. Levina, O.A. Zinchuk, E.A. Fedorova, L.Ya. Kuznetsova, E.N. Kozlov	ASSESSMENT OF PRO/ANTIOXIDANT BALANCE OF HYDROBIONTS AT EARLIER STAGES OF THEIR INTOXICATION BY STROBILURIN FUNGICIDES	106
O.N. Lukyanova, S.A. Ireykina	BIOCHEMICAL INDICES FOR AN ESTIMATION OF A BIOTA STATE IN ESTUARINE ZONES	108
A.S. Mavrin, V.I. Martemyanov	SODIUM, POTASSIUM, CALCIUM, MAGNESIUM CONTENT IN VERTEBRAE AND SCALES OF ROACH IN DEPENDENCE ON PUBESCENCE	110
E.F. Markovskaya, A.A. Korzunina, N.Y. Shmakova	PIGMENT APPARATUS OF VASCULAR PLANTS OF INTERTIDAL ZONE OF NORTHERN SEAS	111
K.V. Metalnikova	HISTOGENESIS IN RESPONSE TO ANDROGENS IN <i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i> (WALBAUM) AND <i>HUSO HUSO</i> X <i>ACIPENSER RUTHENUS</i> (HYBRID F₂)	116
O.V. Meshcheryakova, M.V. Churova, N.N. Nemova	CHANGES OF SOME MITOCHONDRIAL ENZYMES ACTIVITY OF FISH UNDER ANTHROPOGENIC CONDITIONS	116
E.V. Mikodina, E.V. Ganzha, E.D. Pavlov	SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF TWO-YEAR OLD TRIPLOID RAINBOW TROUT CULTIVATED IN SOUTH VIETNAM	119
E.S. Mikhailova, O.M. Isaeva, A.O. Kasumyan	TEMPORAL CHARACTERISTICS FOR FLAVORED PELLET TESTING BEHAVIOR IN FISH WITH DIFFERENT FEEDING	121

A.A. Morozov, G.M. Chuiko FEATURES OF THE MECHANISMS OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM OF SOME FRESHWATER FISH SPECIES FROM THE RYBINSK RESERVOIR	123
I.G. Murza, O.L. Christoforov STAGES OF DEVELOPMENT, CALENDAR AND PHYSIOLOGICAL AGE OF YOUNG ATLANTIC SALMON <i>SALMO SALAR</i> L.	125
M. Nazarova, O. Vasiljeva, P. Ripatty, N. Nemova FORAGE INFLUENCE ON LIPID STRUCTURE OF FABRIC DIFFERENT AGE RAINBOW TROUT (<i>PARASALMO MYKISS</i> WALB.) FEMALES .	127
N.A. Nebesikhina BIOCHEMICAL COMPOSITION AND NOURISHING VALUE OF SOFT BODY OF <i>DREISSENA</i> MOLLUSKS FROM THE MANYCH CASCADE WATERBODIES	128
Z.A. Nefedova, S.A. Murzina, T.R. Ruokolainen, O.B. Vasil'eva, N.N. Nemova LIPID SPECTRUM OF DIFFERENT UNFERTILIZED EGG PORTIONS OF <i>SALMO SALAR</i> L.	129
S.M. Nikitina, N.P. Kudikina THE INFLUENCE OF HORMONS ON EMBRIOGENESIS SNAIL ORDINARY (<i>LYMNEA STAGNALIS</i>, L., <i>Gastropoda</i>, <i>Pulmonata</i>)	131
V. N. Novitskaya, I. A. Parfyonova THE MORPHOLOGY AND CYTOMETRY CHARACTERS OF HYDROBIONTS NUCLEATED ERYTHROCYTES (FISHES AND MOLLUSCA) UNDER EXTREME HYPOXIA AND ANOXIA CONDITIONS	133
J.V. Novoselova APPLICATION OF FISH LIVER INDEX VALUES FOR THE EVALUATION OF ECOLOGICAL STATUS OF ENVIRONMENT	135
S.I. Ovchinnikova., L.I. Timakova, N. A. Panova BIOCHEMICAL MARKERS, USING FOR ESTIMATION OF ENERGETIC STATE OF FISHES OF NORTH BASIN	137
T.D. Orlova, I.A. Kosevich THE ROLE OF NEUROACTIVE SUBSTANCES DURING THE DEVELOPMENT OF CNIDARIA (<i>AURELIA AURITA</i> (SCYPHOZOA) AND <i>GONOTHYRAEA LOVENI</i> (HYDROZOA)) AND THEIR DISTRIBUTION IN EARLY ONTOGENESIS STAGES	138
N.V. Pansyuk MUSSEL (<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> LAMARK, 1819) IN BIOINDICATION OF THE BLACK SEA POLLUTION	140
A.P. Popov, L.V. Polikarpova, A.S. Konichev THE ACTIVITY OF NUCLEASES IN TISSUES OF BREAM (<i>ABRAMIS BRAMA</i> L.) FROM DIFFERENT TO EXTENT OF POLLUTION AREAS OF RYBINSK RESERVOIR	142
E.K. Popova EVALUATION OF PHENOTYPIC VARIABILITY OF EMBRYO, LARVAE AND YEARLING SALMON <i>SALMO SALAR</i> (LINNAEUS, 1758) MORPHA SEBAGO (GIRARD, 1853) <i>M</i> AND <i>F₁</i> GENERATIONS	144
V.V. Prokofiev THE BEHAVIOR RESPONSE OF CERCARIAE OF TREMATODA AS THE ADAPTATION TO INFECTION OF THE HOST	145
E.V. Pushchina, D.K. Obukhov HYDROGEN SULFIDE IS AN ENDOGENOUS VASOREGULATOR IN THE BRAIN OF TELEOST FISHES	148
E.V. Pushchina, D.K. Obukhov HYDROGEN SULFIDE AS MODULATOR GABA-ERGIC NEUROTRANSMISSION IN CNS OF <i>CARPINUS CARPIO</i>	150
S.V. Piyanova ASSESSMENT OF OVARIES HISTOLOGICAL CONDITION OF ANTARCTIC TOOTHFISH <i>DISSOSTICHUS MAWSONI</i> (NOTOTHENIIDAE) IN THE DIFFERENT REGIONS OF CATCH	152
A.L. Rabinovich, A.P. Lyubartsev UNSATURATED CHAINS OF PHOSPHOLIPID MOLECULES AND PROPERTIES OF HYDRATED LIPID BILAYERS: COMPUTER SIMULATIONS	154
A.L. Rabinovich, P.O. Ripatti STRUCTURE, PROPERTIES, FUNCTIONS of VERY LONG POLYENOIC FATTY ACIDS (MONTE CARLO COMPUTER SIMULATION STUDY)	155
A.A. Reunov , B.J. Crawford, Yu.A. Reunova AN INVESTIGATION OF "YOLK" LOCALIZATION IN THE TESTES OF THE SEA STAR <i>PISASTER OCHRACEUS</i>	157
A.A. Reunov, B.J. Crawford, Yu.A. Reunova OOCYTE DESTRUCTION MECHANISMS IN SEA STAR <i>PISASTER OCHRACEUS</i>	158

I.I. Rudneva, V.G. Shaida, N.S. Kuzminova, E.N. Skuratovskaya	THE EFFECTS OF PHYSICAL IMPACT ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF AQUATIC ORGANISMS	159
L.P. Ryzhkov	TRACK RECORD OF THE GROWING OF THE ROACH (RUTILUS RUTILUS L) IN NORTH LAKES	161
E.V. Ryabuhina, O.A. Botyazhova, J.A. Nikiforova	CHANGE OF FUNCTIONAL CONDITION CERIODAPHNIA AFFINIS AT INFLUENCE OF VARIOUS FACTORS OF ENVIRONMENT	163
Yu. A. Silkin, Ye.N. Silkina	CHARACTERISTIC PROPERTY OF THE PHOSPHOLIPIDS COMPOSITION OF PLASMATIC MEMBRANE OF ERYTHROCYTES FROM SOME MARINE FISHES OF DIFFERENT ECOLOGY	166
Yu. A. Silkin, Ye.N. Silkina	PHOSPHOLIPID FATTY ACID COMPOSITION OF R B C PLASMA MEMBRANES OF SOME CARTILAGINOUS AND BONY FISHES FROM THE BLACK SEA	168
V.S. Skidchenko, R.U. Vysotskaya, M.Yu. Krupnova, V.V. Khalaman	ALTERATIONS OF SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLUE MUSSEL MYTILUS EDULIS UNDER THE INFLUENCE OF SECRETORY/EXCRETORY PRODUCTS (SEPS) OF THE SEVERAL WHITE SEA INVERTEBRATES	170
E.N. Skuratovskaya	SEASONAL VARIATIONS OF ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN BLOOD OF RED MULLET MULLUS BARBATUS PONTICUS OF THE COASTAL AREA OF SEVASTOPOL	172
Slobodskova V.V., Solodova E. E., Chelomin V.P.	APPLICATION OF GENOTOXIC ANALYSIS FOR MONITORING OF COASTAL ZONE OF PETER THE GREAT BAY	173
Yu.D. Smirnova	THE ACTIVITY OF THE AMP-DEAMINASE IN THE TISSUES OF THE BLACK SEA FISH WHICH HAVE DIFFERENT PHYSIOLOGICAL SWIMMING SPEEDS	175
A.A. Soldatov	MECHANISMS OF DEVELOPMENT AND COMPENSATION OF TISSUE HYPOXIA IN MARINE FISHES	177
N.N. Timoshkina, A.E. Barmintseva, D.V. Kovalenko	COMPARISON OF GENETIC POLYMORPHISM OF RUSSIAN STURGEON AND BELUGA	180
G.P. Udalova, V.P. Fedotov, A.V. Ivanov, E. L. Kornienko, S.V. Kholodkevich	THE CIRCADIAN CARDIORHYTHM AND THE CARDIAC RESPONSE IN SUSPENSION TEST AS CRITERIA OF NORMAL AND STRESS STATES IN CRAYFISH PONTASTACUS LEPTODACTYLUS	182
E.V. Fedonenko, T.V. Ananieva, T.S. Sharamok	SOME ASPECTS OF ENERGY AND PLASTIC METABOLISM AT INDUSTRIAL FISHES OF THE ZAPOROZHIAN RESERVOIR UNDER THE CONDITIONS OF HEAVY METAL CONTAMINATION	184
E.A. Fedorova	ASSESSMENT OF STROBILURIN FUNGICIDES TOXICITY TO DAPHNIA	186
S.V. Kholodkevich, T.V. Kuznetsova, S.V. Sladkova, G.P. Udalova., V.A. Lyubimtsev	METHODOLOGICAL APPROACHES FOR SELECTION OF REFERENCE GROUPS OF BENTHIC INVERTEBRATES BASED ON COMPLEX OF ASSESSMENTS OF THEIR FUNCTIONAL STATE	188
V.A. Khomenchuk, S.R. Simchuk, M.A. Myronyuk, V.Z. Kurant	DISTRIBUTION PECULIARITIES OF ZINC IONS IN ORGANISM OF CARASSIUS CARASSIUS L.	190
A.I. Chepkasova	PRACTICAL ASPECTS OF SALMON LIVER BIOTECHNOLOGY	191
G.M. Chuiiko, P.A. Gdovskii, V.A. Podgornaya	ACTION OF THE REACTIVE OXYGEN SPECIES UPON ACETYLCHOLINESTERASE OF FISH BRAIN AND BOVINE ERYTHROCYTES AND SOME ELEMENTS OF ITS ANTYOXIDATIVE DEFENSE	193
M.V. Churova, O.V. Mescherjakova, N.N. Nemova	GENE EXPRESSION AND ACTIVITIES OF ENZYMES OF ENERGY AND CARBOHYDRATE METABOLISM OF WHITEWISH (Coregonus lavaretus L.) FROM THE TAILING DUMP OF KOSTOMUKSHA IRON MINING AND ORE DRESSING MILL	194
V.G. Shaida	EFFECTS OF PHYSICAL FACTORS ON HEAT PRODUCTION OF AQUATIC ORGANISMS	196

M.A. Shcherbina ON INFLUENCE OF FEED QUALITY ON METABOLISM IN FISH	199
Lionel Camus, Gro Olsen, Jasmine Nahrgang BIOMONITORING TOOLS AND RISK ASSESSMENT IN THE ARCTIC	201
Alla Silkina, Luc Bourgeois, Effendy A.W.M. SOME PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF DIATOMS LIPID SYNTHESIS (FOOD RESOURCE FOR ABALONE POSTLARVAE)	203

Научное издание

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ
ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ**

Материалы III Международной конференции
с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов

*22 июня – 26 июня 2010 г.
Петрозаводск, Республика Карелия, Россия*

Издано в авторской редакции

Подписано в печать 8.06.2010. Формат 60x84¹/₈.
Гарнитура Times New Roman. Печать офсетная.
Уч.-изд. л. 24,0. Усл. печ. л. 25,1.
Тираж 150 экз. Изд. № 115. Заказ 881.

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50