

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  $\omega$ -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. Kalchenko<sup>1</sup>, T.V. Gavruseva<sup>1</sup>, M.I. Yureva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography, Petropavlovsk-Kamchatsky

<sup>2</sup> 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  $\omega$ -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 мл<sup>3</sup> 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. Канцерова<sup>1</sup>, Н.В. Ушакова<sup>2</sup>, Л.А. Лысенко<sup>1</sup>, Н.Н. Немова<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup> 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 –  $\mu$ (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-