

## COMPARISON OF GENETIC POLYMORPHISM OF RUSSIAN STURGEON AND BELUGA

N.N. Timoshkina<sup>1</sup>, A.E. Barmintseva<sup>2</sup>, D.V. Kovalenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH), Rostov-on-Don  
Russia, n\_timoshkina@mail.ru

<sup>2</sup> 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 последствия. 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-