

## PHYTOPLANKTON IN THE NORTHERN PART OF VYGOZERSKOYE RESERVOIR (REPUBLIC OF KARELIA, RUSSIA)

**T.A. Chekryzheva**

Northern Water Problems Institute, Karelian Research Centre of RAS,  
Petrozavodsk, Russia, e-mail: Tchekryzheva@mail.ru

Phytoplankton in Vygozerskoye impoundment reservoir (Republic of Karelia, Russia) is known to comprise 264 algal taxa. The phytoplankton species composition is mainly made up of diatoms (45 %), green (32 %) and golden (9 %) algae. Data on characteristics of the phytoplankton eco-floral composition are provided; indicator species of water status and quality were identified. Changes were noted in the taxonomic structure of the phytoplankton communities, manifest in an increased number of species indicating higher trophic status and organic pollution. Long-term data (1971–2008) on quantitative development of phytoplankton in the northern part of Vygozerskoye impoundment reservoir, which has long been exposed to the impact of wastewater from Segezha pulp-and-paper mill, were analysed. Saprobiological condition of water in the surveyed part of the impoundment reservoir was assessed.

## ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ БЕЛОМОРСКОЙ ТРЕСКИ НА БОЛЕВУЮ СТИМУЛЯЦИЮ

**Л.С. Червова**

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
каф. ихтиологии, г. Москва, Россия  
e-mail: lily\_chervova@mail.ru

### Введение

На современном этапе изучение биологических основ гуманного отношения к рыбам как объектам лова, хозяйственного использования и научного экспериментирования является наиболее динамично развивающимся направлением в биологии рыб и включает эволюционные, экологические, поведенческие, этические, биохимические и физиологические аспекты (VII<sup>th</sup> Congress on biology of fish, 2006). Значительно возросло число работ, направленных на изучение рецепции болевых стимулов, структуры ноцицептивных рецепторов, а также фармакологических средств обезболивания у рыб (Червова, Лапшин, 2000; Sneddon, 2003; Newby et al., 2008).

Изучение болевых реакций у рыб, как и у других безголорых немлекопитающих, очень затруднено из-за сложности выработки методических приёмов, позволяющих дозировать стимул и измерять величину ответа на него.

Целью нашей работы было изучение способности морских рыб отвечать на болевые стимулы, а также возможности модуляции болевой чувствительности опиоидными и неопиоидными анальгетиками у беломорской трески.

### Материал и методика

Опыты проводили на Беломорской биологической станции МГУ, залив Великая Салма. Объектом исследований служила беломорская треска *Gadus morhua maris albi* массой 100–300г. Всего использовано около 200 особей. Выловленных рыб держали в садках в течение 10 дней, затем переносили в лабораторный аквариум и через три дня брали в опыт.

Для изучения ответов рыб на болевые стимулы была разработана оригинальная методика, базирующаяся на регистрации моторно-двигательной реакции, направленной на устранение болевого стимула.

Рыбу фиксировали в станке (в области рта и грудных плавников), при этом хвостовой стебель оставался незакрепленным. Жабры постоянно орошались проточной водой. Подвижная плексигласовая «вилка» охватывала хвостовой стебель в задней трети тела. Каждое движение хвостового стебля, которое отклоняло «вилку» от нулевой точки, регистрировалось специально сконструированным электронным интегратором с цифровой индикацией. Ампли-

туда и длительность этих движений, отражающих импульс силы (ньютон·с), характеризовали величину усилия, развиваемого хвостовым стеблем рыбы в ответ на болевую стимуляцию. В качестве болевого стимула использовали точечные уколы кожи иглой, сильное сдавливание плавников ножницами или пинцетом, не приводящее к разрыву тканей, а также электрическое раздражение хвостового плавника (залп длительностью 0,1 с, состоящий из 30 импульсов по 0,5 мс каждый). Раздражающие электроды вводили в эпителиальную ткань лопасти хвостового плавника, что исключало непосредственное раздражение мышечных волокон. Амплитуду стимула подбирали в каждом опыте индивидуально (4–7в). Регистрирующая система запускалась одновременно с подачей болевого раздражителя. В качестве анальгетиков использовали:  $\mu$ -опиоидные пептиды  $\beta$ -казоморфин и дерморфин, психотропный препарат сиднофен, анальгин и новокаин. Эти вещества предъявляли различными способами: интраназально ( $\beta$ -казоморфин и дерморфин) по 20 мкл в оба обонятельных мешка одновременно, внутривентрально (сиднофен,  $\beta$ -казоморфин, анальгин), внутримышечно (анальгин), подкожно (новокаин). Треске вводили растворы  $\beta$ -казоморфина интраназально (2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 мг/кг) и внутривентрально (10, 15, 20, 25, 30 мг/кг), дерморфина интраназально 0,02–0,20 мг/кг), растворы сиднофена (15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 100 мг/кг) внутривентрально, 50% раствор анальгина (0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 мл) внутривентрально и внутримышечно (0,25, 0,5, 0,75, 1мл), 2% раствор новокаина подкожно и в ткань плавника (0,1, 0,25, 0,5, 0,75 мл). Контрольным животным вводили такие же объёмы физраствора.

Ноцицептивную чувствительность рыб измеряли с интервалом 5мин в течение одного часа до (норма) и одного двух часов после введения анальгетика. Величину анальгезии (снижение болевой чувствительности) рассчитывали в процентах по отношению к норме. Полученные данные статистически обрабатывали по Манну-Вилкоксоу-Уитни.

### Результаты

Наиболее чувствительными ноцицептивными зонами были хвостовой и спинные плавники, грудные плавники, кожа вокруг глаз, эпителий обонятельного мешка; менее чувствительными – кожа поверхности головы и тела. Двигательные ответы на ноцицептивную стимуляцию хвостового плавника путем кратковременного (1 с) механического сжатия или электрического раздражения были наиболее сильными и стабильными. В дальнейшем для исследований эффектов анальгетических веществ мы наносили болевой стимул только на лопасть хвостового плавника. В момент нанесения ноцицептивного стимула частота дыхательных движений достигала 4–5/с.

Инъекция в эпителиальную ткань плавников или подкожно в месте нанесения стимула 0,25 мл 2% раствора новокаина (локально блокирующего нервное проведение) полностью устраняло ноцицептивные ответы.

Анальгетический эффект опиоидного анальгетика  $\beta$ -казоморфина (снижение реакций на механические болевые стимулы) наблюдался через 10–15 мин после введения на 15–37% (интраназально) (рис. 1а) и на 14–35% (внутрибрюшинно) (рис. 1б). Одна и та же концентрация  $\beta$ -казоморфина при интраназальном введении вызывала больший анальгетический эффект, чем при внутрибрюшинном. Дерморфин (интраназально) снижал болевую чувствительность на 55% в концентрации 0,20 мг/кг в июле и 0,02 мг/кг в сентябре. Сиднофен, вводимый внутрибрюшинно, вызывал снижение ответов на механические болевые стимулы на 15–89% в зависимости от концентрации (рис. 2). Однако следует отметить, что этот препарат в концентрациях 40 мг/кг и более вызывал гибель рыб через 1–3 часа после окончания опыта и переноса рыб в лабораторный аквариум. У рыб, которым вводили меньшие концентрации сиднофена, по окончании опыта поведение было обычным.

Анальгин, вводимый треске в виде 50% раствора внутривентрально, оказывал очень слабое действие на ноцицептивные ответы рыб. Реакции на механические болевые стимулы снижались на 16–21%, хотя применяемые концентрации были высокими (после введения 2 мл/100г наблюдалась гибель рыб в лабораторном аквариуме через несколько часов после окончания опыта). Этот же препарат, вводимый внутримышечно вблизи хвостового плавника, оказывал значительный анальгетический эффект (29–45%), хотя применялся в более низких концентрациях.

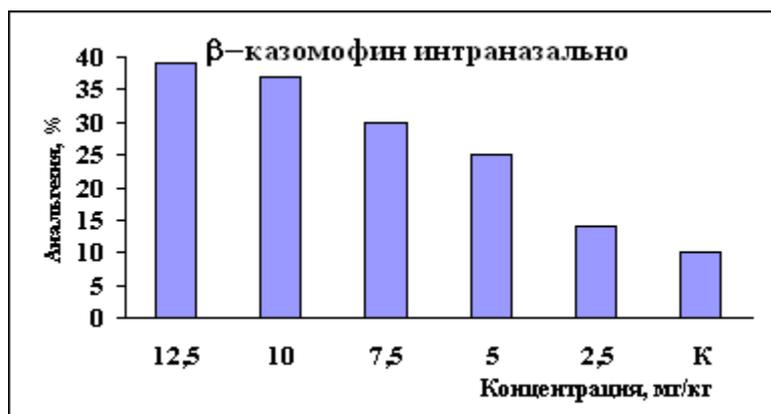


Рис.1а



Рис.1б

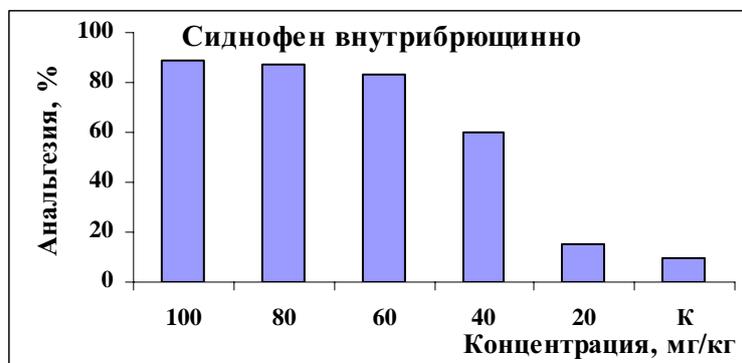


Рис.2

Отмечено также, что порог болевой чувствительности значительно повышается у беломорской трески в результате стресса, связанного с выловом и переносом рыб в лабораторный аквариум в течение 2–3 суток после вылова наблюдалось почти полное угнетение двигательных ответов на механические болевые стимулы.

### Обсуждение результатов

Наши данные показывают, что у морских рыб, как и у других позвоночных, в ответ на ноцицептивный стимул первой проявляется поведенческая защитная реакция – движение, направленное на устранение болевых ощущений. У наземных животных это может быть отдёргивание конечности, отведение хвоста, побег, прыжок и т.д. У рыб – попытка уплыть, которая начинается с движения хвостового стебля. Ноцицептивный ответ в большинстве случаев регистрируется как изолированный поведенческий акт, но это только один компонент.

Интегрированный ответ животных на повреждающие воздействия включает также вегетативный (повышение артериального давления, увеличение частоты дыхания и сердечных сокращений, выделение из надпочечников гормонов тревоги – адреналина и норадреналина, и пр.), эмоциональный (страх, тревога), мотивационный (стремление изменить поведение) и другие компоненты.

Как показано в последние годы, у животных существует не только болевая (ноцицептивная) система, но также эндогенная антиноцицептивная морфофункциональная система, поддерживающая и регулирующая порог болевой чувствительности на необходимом функциональном уровне. В ответ на болевой стимул одновременно с запуском немедленного поведенческого ответа происходит усиление активности противоболевой системы, по механизму обратной связи запускающей процессы, притупляющие боль.

Анальгетическая активность для исследованных рыб эндогенных опиоидных пептидов  $\beta$ -казоморфина и дерморфина свидетельствует о существовании у рыб  $\mu$ -опиоидной эндогенной антиноцицептивной системы. Подтверждением этого могут служить данные о том, что  $\mu$ - и  $\kappa$ -опиатные рецепторы, опосредующие антиноцицептивные эффекты опиоидов, были обнаружены в мозгу золотой рыбки (Brooks et al., 1993) и в различных структурах мозга кижучей *Oncorhynchus kisutch*, проходящих смолтификацию (Ebbesson et al., 1993).

Как было показано ранее, дерморфин при введении в обонятельные мешки обладал значительной анальгетической активностью для крыс и вызывал аналгезию намного эффективнее, чем при внутрибрюшинных инъекциях (Батурина и др., 1988).

Представления о том, существует ли у рыб болевая чувствительность, находятся в широком диапазоне мнений – от полного отрицания таковой до существования у рыб осознанного восприятия боли (Sneddon, 2003). Стоит ли говорить о боли у рыб? Безусловно, да. Гуманное отношение к рыбам также обоснованно как и к другим животным, имеющим более сложную организацию головного мозга. У рыб нет слуховой коры, но они слышат, у них нет зрительной коры, но ни видят, у них нет обонятельной коры, но они чувствуют запахи. Наши эксперименты доказывают, что они также чувствуют болевые стимулы. Очевидно, бескорковым животным недоступны сочувствие и сострадание и т.п., но они испытывают чувство боли, запускающее рефлексы избегания как высшие позвоночные и люди. Имеются наблюдения, которые позволяют усомниться в том, что у рыб вообще существует болевая чувствительность, например, – пожирание акулой собственных внутренностей, выпадающих из вспоротого живота. Такие факты можно объяснить тем, что у голодных животных пищевая мотивация бывает настолько сильной, что происходит функциональная блокада пищевым возбуждением механизмов, участвующих в распространении болевых импульсов в центральные структуры. Конкурентная аналгезия локальных болевых воздействий возникает и при действии других экстремальных факторов, например, стресса, что мы также наблюдали в своих опытах. Колебания порога боли, по-видимому, могут играть приспособительную роль, так как позволяют животным при необходимости удовлетворять жизненно важные потребности (пищевую или оборонительную), несмотря на действие повреждающих стимулов.

Уменьшение болевой чувствительности под действием неопиоидных препаратов анальгина и сиднофена, а также аналгезия, вызываемая состоянием стресса свидетельствуют о том, что у рыб имеются, кроме опиоидной, и другие эндогенные системы обезболивания.

Таким образом, полученные данные позволяют считать, что у рыб существуют системы ноцицепции и антиноцицепции. Болевая чувствительность рыб имеет индивидуальную вариабельность по амплитуде и по характеру ответов, зависит от физиологического состояния особи и от сезона года.

До сих пор нет в существующих российских законах положений, детально регламентирующих условия содержания рыб. Постановление 1977 г. не рассматривает рыб, не прописаны правила обращения с ними. В федеральном законе «О животном мире» провозглашаются, но не прописаны правила охраны и использования объектов животного мира, содержащихся в полувольных условиях или искусственно созданной среде обитания (Никоноров, 2006). В проект федерального закона «Об аквакультуре» в раздел о способе содержания в искусственных, естественных и др. условиях следовало бы внести правила обращения с ры-

бами в условиях экспериментального и промышленного использования, учитывая, что некоторые манипуляции могут причинять им болезненные ощущения.

Отсутствие юридических ограничений на эксперименты с низшими позвоночными и, в частности, с рыбами, отнюдь не снижает актуальности разработки методов эффективного обезболивания при хирургическом вмешательстве или иных действиях, активизирующих ноцицептивную систему подопытных животных. Это касается как порядка проведения научных экспериментов, так и процедур промышленного характера, например, получения икры на осетровых рыбозаводах.

*Работа поддержана грантами: РФФИ №06-04-49266, Ведущие научные школы НШ-2104.2008.4.*

### Литература

- Никоноров С.И. и др. 2006. Правовое регулирование деятельности в области аквакультуры // *Вопр. рыболовства*. Т. 7, N 3(27). С. 414–435.
- Червова Л.С. 1997. Болевая чувствительность и поведение рыб // *Вопр. ихтиологии*. Т. 37, N 1. С. 106–111.
- Червова Л.С., Каменский А.А., Малюкина Г.А. и др. 1992. Исследование механизма интраназального действия дерморфина у представителей двух классов позвоночных // *Жур. эволюцион. биохим. физиол.* Т. 28, N 1. С. 45–48.
- Червова Л.С., Лапшин Д.Н. 2000. Опиоидная модуляция болевых порогов у рыб // *Доклады АН*. Т. 375, N 5. С. 703–704.
- Червова Л.С., Лапшин Д.Н., Каменский А.А. 1994. Болевая чувствительность форели и аналгезия, вызываемая интраназально вводимым дерморфином // *Доклады АН*. Т. 338, N 6. С. 836–837.
- Brooks A.I., Standifer K.M., Ciszewska G.R. et al. 1993. Expression of  $\kappa$ -3 and  $\mu$  binding sites in *Bufo marinus* (Giant toad) and *Carassius auratus* (Goldfish) brain // *Soc. Neurosci. Abstr., Opioids: Recep., III*. V. 19, N 5. P. 1156.
- Ebbesson L.O.E., Daviche P., Ebbesson S.O.E. 1993. Distribution and changes in  $\mu$ - and  $\kappa$ -opiate receptors in the midlife critical period of natural development in Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* // *Abstr. Amer. Assoc. Anat., 106th Ann. Meet. Joint. Jpn. Assoc. Anat., San Diego, Calif., March 27–31, 1993, Anat. Rec. Suppl*, P. 48.
- Newby N.C. et al. 2008. Pharmacokinetics of morphine and its metabolites in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *J. Vet. Pharmacol. Therap.* V. 31. P. 117–127.
- Sneddon L.U. 2003. The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic // *Applied Animal Behav. Sci.* V.83. P. 153–162.
- VII<sup>th</sup> Congress on biology of fish. 2006. Canada. St.-John's, 18–22 July. Abstract Book, pp. 241.

## BEHAVIORAL REACTIONS OF WHITE SEA COD ON THE NOCICEPTIVE STIMULATION

L.S. Chervova

Dept. of Ichthyology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,  
Moscow, Russia, e-mail: lily\_chervova@mail.ru

An originally optico-mechanical system was elaborated to record the behavioral responses to aversive stimuli in cod. The nociceptive stimulation (0.1-s train of 30 electric pulses of 0.5 ms each) and registration of the caudal peduncle moving were made synchronically. Nociceptive thresholds (NT) were measured at 5-min intervals for 1 h before and 1–2 h after administration of analgesic agents. Drugs used were two  $\mu$ -opioids dermorphin and  $\beta$ -casomorphin, and nonopioid agents sydnophenum, analginum, novocainum. Drugs were administrated by different ways – intranasally, peritoneally, subcutaneously. Administration of analgetics produced dose-dependent and lasting for at least 1 h (up to 2–3 h) increase of NT in 1.5–3.0 times. The higher the dose, the more quickly it acted. Local subcutaneous injections of 2% solution of novocainum blocked the nociceptive responses. Stress significantly reduced nociceptive responses in cod. Results suggest that fish as higher vertebrates have nociceptive and opioid and nonopioid antinociceptive systems; and its both take part in the control of fish behavior on the level of central mechanisms