

**ОСОБЕННОСТИ ВАРЬИРОВАНИЯ СЕРДЕЧНОГО РИТМА
У НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *Bivalvia***

© 2006 г. И. Н. Бахмет*, В. В. Халаман**

*Институт биологии КарНЦ РАН, 186610 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

E-mail: bakmet@bio.krc.karelia.ru

**Беломорская биологическая станция им. О.А. Скарлато Зоологического института РАН,
199134 Санкт-Петербург, Университетская наб., 1

E-mail: wsbs@rol.ru

Поступила в редакцию 30.09.2005 г.

Исследовались особенности изменения сердечной ритмики у сублиторальных (аквакультура) и литоральных мидий *Mytilus edulis* L. и двустворчатого моллюска *Hiatella arctica* L. в долговременном эксперименте при постоянных солености (25‰) и температуре (10°C). Как у литоральных, так и у сублиторальных мидий были обнаружены периодические изменения частоты сердечных сокращений. Регулярные снижения сердечной активности могут идти вплоть до временного прекращения сердцебиений. Изменение частоты сердечных сокращений у *H. arctica* L. было выражено гораздо слабее, чем у мидий, а остановки сердцебиений отмечено не было.

В эколого-физиологических исследованиях морских беспозвоночных в настоящее время все более широко применяется метод регистрации сердечной активности (Marshall, McQuaid, 1992; Santini *et al.*, 1999 и т.д.). Это обусловлено как изобретением неинвазивной методики записи частоты сердечных сокращений животных (ЧСС) (Depledge, Andersen, 1990), так и наличием достоверной корреляцией между изменениями сердечной ритмики и уровнем обмена веществ у исследованных объектов (Marshall, McQuaid, 1992; Santini *et al.*, 2000). Основная часть работ в этой области посвящена изучению влияния природных и антропогенных факторов на ЧСС беспозвоночных (Grace, Gainey, 1987; Marshall, McQuaid, 1994; Naefner *et al.*, 1996; De Pirro *et al.*, 1999 и т.д.). Учитывая резкие периодические изменения факторов окружающей среды на литорали, в последние годы появились исследования динамики сердечной активности в долговременных экспериментах. К примеру, было показано наличие как циркадного, так и приливного ритма ЧСС у некоторых крабов (Aagaard *et al.*, 1995; McGaw, McMahan, 1998).

На этом фоне обращает на себя внимание почти полное отсутствие работ по долговременному отслеживанию ЧСС у мидий, которые служат модельным объектом в многочисленных исследованиях. В тоже время, учитывая условия местообитания мидии можно ожидать наличия у них эндогенной ритмичности сердечной активности. В работе Curtis с соавт. (2000) уже было показано варьирование ЧСС *M. edulis*, однако этому факту

не придавалось большого значения, и флуктуации сердечной ритмики не анализировались.

Анализ эндогенной ритмики ЧСС у *M. edulis* необходим, на наш взгляд, для более корректной интерпретации результатов исследований по влиянию как природных, так и антропогенных воздействий на сердечную активность этих животных. Таким образом, целью нашей работы был анализ флуктуаций ЧСС *M. edulis* во времени при константных условиях факторов внешней среды. В качестве контрольного объекта был выбран сугубо сублиторальный в условиях Белого моря двустворчатый моллюск *Hiatella arctica* L, предположительно не обладающий подобного рода ритмикой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была выполнена на Беломорской биологической станции (губа Чупа Кандалакшского залива Белого моря).

Сбор и содержание моллюсков. Сублиторальные животные как *M. edulis*, так и *H. arctica* были собраны в бухте Круглой с искусственных субстратов, применяемых для выращивания мидий, с глубины 2.0 м. Литоральные мидии собирались в районе о. Матренин (Керетский архипелаг, г. Чупа) на уровне +0.7 м. Температура воды в обоих случаях была равна 13°C. После сбора у моллюсков измерялась длина раковины. У мидий был определен возраст по кольцам зимней остановки роста раковины (табл. 1). Перед началом наблюдений животных в течение 7 сут акклиматизировали к лабораторным условиям. Моллюсков со-

Таблица 1. Размеры и возраст моллюсков, использованных в эксперименте

Вид	Длина раковины, мм	Возраст, лет
<i>M. edulis</i> (сублиторальные)	49.27 ± 2.34	3
<i>M. edulis</i> (литоральные)	41.49 ± 2.55	6–7
<i>H. arctica</i>	25.50 ± 2.01	–

держали в аквариумах из оргстекла с аэрируемой морской водой соленостью 25‰ при постоянном освещении и температуре 10°C. Ежесуточно проводилась частичная смена воды.

За сутки до начала эксперимента к раковинам тестируемых животных приклеивали оптические сенсоры (CN-70) и помещали по 3 особи в аквариумы объемом 2 л с постоянной продувкой. Ежесуточно осуществлялась частичная смена воды. Всего в эксперименте было использовано по 8 особей литоральных и сублиторальных мидий и 7 особей *H. arctica*.

Регистрация сердечного ритма и обработка полученных данных. Определение ЧСС проводили ежечасно в течение 3 сут при помощи методики дистантной регистрации изменения объема сердечной мышцы (плетизмограмма), основанной на излучении инфракрасного света в область расположения сердца и записи соответствующе измененных отраженных лучей (Depledge, Andersen, 1990). Были использованы оптические сенсоры CNY-70. С помощью специально разработанного усилителя с системой фильтров и портативного цифрового осциллографа Fluke 125 сигнал передавался на персональный компьютер, где записывался в виде последовательных волн сердечных сокращений и обрабатывался при помощи программы FlukeView 3.0 (De Pirro *et al.*, 1999; Santini *et al.*, 2000). При расчете ЧСС получали время, за которое происходило одно сокращение сердца. Затем вычисляли количество сокращений, которое происходило в одну минуту.

Для выявления ритмических изменений ЧСС применялась фильтрация данных по методу главных компонент (Colebrook, 1978; Ibanez, Dauvin, 1988; Халаман, 1998; Наумов, 2004). Суть фильтрации заключалась в том, что после расчета главных компонент, основанного на матрице автокорреляций, каждый из выделенных факторов подвергался обратному расчислению до исходных значений. Таким образом, временной ряд раскладывался на несколько числовых последовательностей, которые в сумме давали исходные данные. Важной особенностью использованного метода является то, что он в отличие от других позволяет выделять не только правильные периодические изменения, но и флуктуации с переменным периодом. Последнее особенно важно

при анализе биологических данных. Матрица автокорреляции для проведения компонентного анализа рассчитывалась с максимально возможным лагом в 14 ч. После фильтрации внимание уделялось только тем числовым последовательностям, корреляция между которыми составляла не более 0.3–0.5, т. е. они не являлись разложением одной и той же зависимости. Для дальнейшего анализа использовались выделенные флуктуации, соответствующие первым двум–трем главным компонентам, выбирающим наибольшее количество дисперсии.

В качестве показателя варьирования признака в тексте и в таблицах указана ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные плетизмограммы как мидий, так и *H. arctica* позволяли четко разделять сокращения предсердия (короткий и высокий пик) и желудочка (пик более длительный и уплощенный). Сила регистрируемого сигнала (по показаниям осциллографа) у мидий достигала 7 В, тогда как у *H. arctica* была ниже и не превышала 2 В, что связано, по-видимому, с меньшими размерами этого моллюска.

ЧСС мидий в ходе наблюдений изменялась от 0 до 17.2 ударов в минуту (уд./мин) у литоральных и от 0 до 23.6 уд./мин у сублиторальных животных. Средняя ЧСС составила 11.3 ± 0.2 уд./мин для литоральных и 13.6 ± 0.3 уд./мин у мидий, собранных в сублиторали. Таким образом, сердечная активность мидий время от времени прекращалась без каких-либо регистрируемых воздействий со стороны. Это явление носило ярко выраженный индивидуальный характер, и какой-либо синхронности в прекращении сердечной деятельности у тестируемых мидий выявлено не было. Индивидуальные различия у разных особей *M. edulis* описывались и ранее при использовании других методик – поведенческих, биохимических и физиологических (Sukhotin, Portner, 1999; Curtis *et al.*, 2000; De Pirro *et al.*, 2001).

После некоторого периода покоя сердечная деятельность мидий полностью восстанавливалась (рис. 1). Падение ЧСС моллюсков от основного уровня активности до нулевых значений происходило достаточно резко – в течение 1–2 мин. Продолжительность периодов остановки сердца колебалась от 1 до 6 ч и в среднем составила 3 ч как у сублиторальных, так и у литоральных животных. Однако следует заметить, что снижение ЧСС у мидий далеко не всегда приводило к полной остановке сердца (рис. 1).

У *H. arctica* прекращения сердцебиений обнаружены не были (рис. 1). Частота сердечных сокращений варьировала от 8.2 до 10.2 уд./мин и в среднем составила 9.0 ± 0.1 уд./мин. Таким обра-

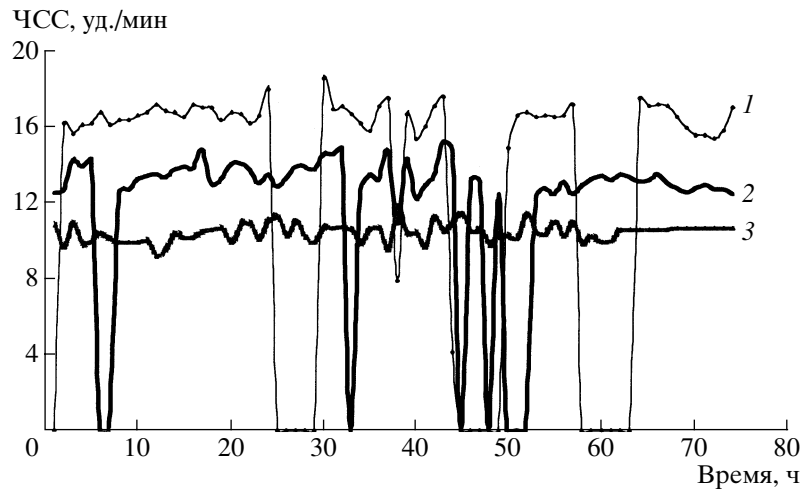


Рис. 1. Примеры варьирования ЧСС: 1 – *M. edulis*, сублиторальные; 2 – *M. edulis*, литоральные; 3 – *H. arctica*.

зом, средние показатели ЧСС достоверно уменьшались в ряду: сублиторальных мидий – литоральных мидий – *H. arctica*.

Коэффициент вариации ЧСС у тестированных мидий, если не учитывались периоды покоя, не превышал 10%, тогда как с учетом остановок сердца достигал 25%. Вариабельность сердечной ритмики у *H. arctica* также в среднем составила 10%.

Анализ временных рядов по методу главных компонент позволил выделить как у сублиторальных, так и у литоральных мидий три типа флуктуаций ЧСС, различающихся между собой по длине периода (рис. 2). Вместе они выбирают в среднем $61.5 \pm 17\%$ от всей дисперсии ЧСС, что можно считать достаточно высоким показателем. У отдельных животных этими флуктуациями объяснялось до 85% дисперсии, минимум (36%) был отмечен у одной из литоральных мидий. В целом только у 4 тестируемых особей доля дисперсии, приходящаяся на эти флуктуации, была ниже 50%.

Флуктуации с наибольшей длиной волны были названы нами “максимальными” и представляли

собой тренды. Они не всегда рассматривались как периодические изменения ЧСС в силу того, что длина их периода (от 18.5 до 70 ч) в некоторых случаях сравнима с длительностью наблюдений и крайне изменчива (табл. 2). Тем не менее, на долю трендов могла приходиться значительная (до 39%) доля дисперсии ЧСС.

Флуктуации с наименьшей длиной волны (“минимальные”) четко выделялись у всех тестированных мидий и представляли собой, за исключением одного случая, правильные колебания с длиной периода от 3 до 6 ч. Было отмечено, что эти периодические изменения ЧСС у литоральных мидий короче, чем у сублиторальных. При этом различие близко к порогу достоверности ($t = 1.85$; $p = 0.086$) (табл. 2). Возможно, при большем числе тестированных особей можно было бы говорить о статистически значимых отличиях.

“Средние” по длине периода колебания сердечной активности мидий характеризовались, в основном, переменной длиной волны. Вместе с тем они были хорошо выражены и стабильно прослеживались у всех мидий. Необходимо отметить также, что в среднем длина периода этих волн у литоральных мидий была достоверно

Таблица 2. Параметры выделенных флуктуаций ЧСС у исследованных моллюсков

Вид	Флуктуации					
	“минимальные”		“средние”		“максимальные”	
	длина периода, ч	доля выбираемой дисперсии, %	длина периода, ч	доля выбираемой дисперсии, %	длина периода, ч	доля выбираемой дисперсии, %
<i>M. edulis</i> (сублиторальные)	5.1 ± 0.3	19.9 ± 3.9	11.2 ± 0.6	17.3 ± 3.2	36.0 ± 7.3	21.0 ± 3.1
<i>M. edulis</i> (литоральные)	4.1 ± 0.4	18.7 ± 3.2	8.6 ± 0.7	17.9 ± 2.2	34.0 ± 6.4	24.2 ± 2.8
<i>H. arctica</i>	4.5 ± 0.4	14.9 ± 1.0	9.9 ± 1.2	13.4 ± 1.0	29.0 ± 1.6	19.9 ± 4.7

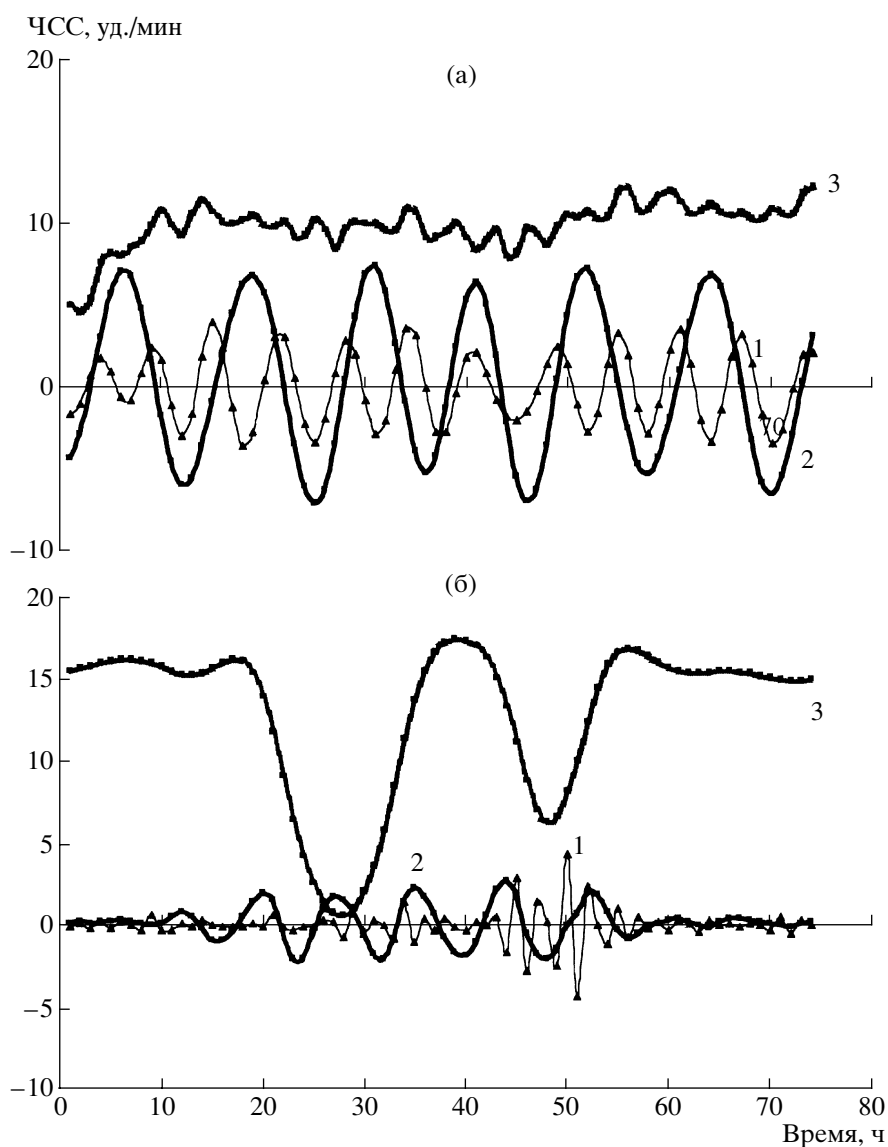


Рис. 2. Примеры разложение временного ряда ЧСС мидий на основные составляющие: (а) – sublittoralные мидии; (б) – littoralные мидии; флуктуации: 1 – “средние”; 2 – “минимальные”; 3 – “максимальные” или тренды.

меньше, чем у sublittoralных ($t = 2.54, p < 0.05$) (табл. 2).

Полученный результат, на наш взгляд, сложно объяснить воздействием приливо-отливных или циркадных ритмов. Длины периодов выделенных флуктуаций не совпадают с приливо-отливным ритмом (6 ч 12 мин между приливом и отливом и 12 ч 24 мин между одинаковыми фазами): “минимальные” и “средние” флуктуации несколько короче, а “максимальные”, напротив, продолжительнее. Кроме того, наличие сходных флуктуаций ЧСС у сугубо sublittoralного в условиях Белого моря моллюска *H. arctica* ставит в еще большей степени под сомнение приливо-отливную природу этого явления.

В то же время существуют данные о том, что у некоторых littoralных животных, перенесенных в лабораторию (крабы, личинки крабов, мизиды), фазовое соответствие двигательной активности с приливо-отливными циклами сохраняется только в течение нескольких суток. Далее происходит либо удлинение, либо укорачивание циклов активности животных. (Barnwell, 1966; Pollard, Larimer, 1977; Cronin, Forward, 1979; McGaw, McMahon, 1998). В нашем эксперименте мидии акклиматизировались к константным условиям в течение недели. Если данный феномен справедлив и для моллюсков, этого срока может быть достаточно для разрегулировки настройки организма на приливо-отливной ритм. Однако для проверки этой гипотезы необходимы дополни-

тельные исследования: регистрация динамики ЧСС у моллюсков, начиная с момента их изъятия из природной среды и далее в течении длительно-го времени.

Вероятной причиной выявленных флуктуаций, на наш взгляд, может быть наличие внутреннего, эндогенного ритма, тесно связанного с физиологическим и/или биохимическим состоянием организма. Одним из механизмов, задающих этот ритм может служить периодическое накопление продуктов обмена и их последующее удаление. Подобные биохимические флуктуации были отмечены для растений, у которых происходит периодическая смена синтеза и транспортировки моно- и полисахаров (Марковская, Сысоева, 2004).

Остаются непонятными различия в длинах периодов выделенных флуктуаций у литоральных и сублиторальных мидий. Одно из возможных объяснений может заключаться в разнице возраста использованных в эксперименте моллюсков. При равенстве размеров с сублиторальными мидиями особи, собранные на литорали, были в два раза старше из-за менее благоприятных условий роста, связанных с периодической осушкой. В то же время на связь физиологических и метаболических процессов у двустворчатых моллюсков с возрастом указывают многие авторы (Sukhotin, Porter, 2001; Sukhotin *et al.*, 2002). Для получения ответа на данный вопрос необходимо проведение дальнейших исследований.

Колебания ЧСС у *H. arctica* были выражены значительно слабее, чем у мидий (рис 1). Общая доля дисперсии, выбираемая выделенными флуктуациями, составила в среднем только $37.0 \pm 7.7\%$. Тем не менее, у этого моллюска так же обнаружались периодические изменения ЧСС, которые по своим характеристикам могут быть сопоставимы с таковыми у мидий. Необходимо отметить, что у *H. arctica* устойчиво выделялись только “минимальные” флуктуации, представляющие собой правильные волны с периодом от 3 до 5 ч. Они обнаружены у всех тестируемых *H. arctica*. Тренды, или “максимальные” флуктуации, были отмечены только у пяти из семи протестированных животных, а “средние” лишь у четырех особей. По своим параметрам они статистически не отличаются от таковых у мидий (табл. 2).

В заключение хотелось бы подчеркнуть, что независимо от природы явления естественные флуктуации ЧСС у мидий делают необходимым учитывать это обстоятельство при проведении разного рода экспериментов, в которых проводится регистрация ЧСС. Если для оценки физиологического состояния моллюска в экспериментах был выбран именно этот показатель, то результат опыта напрямую зависит от того, на какую фазу цикла пришлась его регистрация

и/или воздействие. Однако, несмотря на частое использование сердечного ритма в различных работах (Depledge, Andersen, 1990; Marshall, McQuaid; 1992; Santini *et al.*, 1999, 2000), данный феномен упоминался лишь в немногих исследованиях без подробного его анализа (Coleman, Trueman, 1971; Curtis *et al.*, 2000).

Флуктуации ЧСС у *H. arctica*, хотя и слабо выраженные, дают основание для поиска подобного явления у других двустворчатых моллюсков. Это позволит, на наш взгляд, точнее понять природу обнаруженных флуктуаций ЧСС у этой группы животных. Работа выполнена при поддержке программы “Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами” (оценка состояния и динамики важнейших биологических ресурсов, научные основы управления биоресурсами на уровне видов, сообществ и экосистем) и РФФИ, проект № 03-04-49701а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Марковская Е.Ф., Сысоева М.И. Роль суточного температурного градиента в онтогенезе растений. М: Наука, 2004. 119 с.
- Наумов А.Д. Двустворчатые моллюски Белого моря. Эколого-фаунистический анализ: Автореф. дис. докт. биол. наук. СПб: ЗИН РАН, 2004. 48 с.
- Халаман В.В. Сопряженность пространственных распределений организмов в беломорских сообществах обростания // Журн. общ. биологии. 1998. Т. 59. № 1. С. 58–73.
- Aagaard A., Warman C.G., Depledge M.H. *et al.* Dissociation of heart rate and locomotor activity during the expression of rhythmic behaviour in the shore crab *Carcinus maenas* // Mar. Fresh. Behav. Physiol. 1995. V. 26. P. 1–10.
- Barnwell F.H. Daily and tidal patterns of activity in individual fiddler crabs (genus *Uca*) from the woods hole region // Biol. Bull. 1966. V. 130. P. 1–17.
- Colebrook J.M. Continuous plankton records: zooplankton and environment, North-East Atlantic and North Sea 1948–1975 // Oceanol. Acta. 1978. V. 1. P. 9–23.
- Coleman N., Trueman E.R. The effect of aerial exposure on the activity of the mussels *Mytilus edulis* (L.) and *Modiolus modiolus* (L.) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1971. V. 7. P. 295–304.
- Cronin T.W., Forward R.B. Tidal vertical migration: an endogenous rhythm in estuarine crab larvae // Science. 1979. V. 205. P. 1020–1022
- Curtis T.M., Williamson R., Depledge M.H. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper // Mar. Biol. 2000. V. 136. № 5. P. 0837–0846.
- De Pirro M., Santini G., Chelazzi G. Cardiac responses to salinity variations in two differently zoned Mediterranean limpets // J. Comp. Physiol. B. 1999. V. 169. № 7. P. 501–506. De Pirro M., Chelazzi G., Borghini F. *et al.* Variation in cardiac activity following acute exposure to copper in three co-occurred but differently zoned Medi-

- terranean limpets // *Mar. Pollut. Bull.* 2001. V. 42. № 12. P. 1390–1396.
- Depledge M.H., Andersen B.B.* A computer-aided physiological monitoring system for continuous, long-term recording of cardiac activity in selected invertebrates // *J. Comp. Biochem. Physiol.* 1990. V. 96. P. 474–477.
- Grace A.L., Gainey L.F.* The effects of copper on the heart rate and filtration rate of *M. edulis* // *Mar. Pollut. Bull.* 1987. V. 18. P. 87–91.
- Haefner P. A., Sheppard B., Barto J. et al.* Application of ultrasound technology to molluscan physiology: noninvasive monitoring of cardiac rate in the blue mussels, *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 // *J. Shell. Res.* 1996. V. 15. P. 685–687.
- Ibanez F., Dauvin J.-C.* Long term changes (1977–1987) in a muddy fine sand *Abra alba* - *Mellina palmata* community from the Western English Channel: multivariable time-series analysis // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1988. V. 49. P. 65–81.
- Marshall D.J., McQuaid C.D.* Relationship between heart rate and oxygen consumption in the intertidal limpets *Patella granularis* and *Siphonaria oculus* // *J. Comp. Biochem. Physiol. A.* 1992. V. 103. P. 297–300.
- Marshall D.J., McQuaid C.D.* Seasonal and diel variations of in situ heart rate of the intertidal limpet *Siphonaria oculus* Kr. (Pulmonata) // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1994. V. 179. № 1. P. 1–9
- McGaw I.J., McMahon B.R.* Endogenous rhythms of haemolymph flow and cardiac performance in the crab *Cancer magister* // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1998. V. 224. № 1. P. 127–142.
- Pollard T.G., Larimer J.L.* Circadian rhythmicity of heart rate in the crayfish *Procambarus clarkii* // *J. Comp. Biochem. Physiol. A.* 1977. V. 57. P. 221–226.
- Santini G., De Pirro M., Chelazzi G.* In situ and laboratory assessment of heart rate in a mediterranean limpet using a noninvasive technique // *Physiol. Biochem. Zool.* 1999. V. 72. P. 198–204.
- Santini G., Williams G.A., Chelazzi G.* Assessment of factors affecting heart rate of the limpet *Patella vulgata* on the natural shore // *Mar. Biol.* 2000. V. 137. № 2. P. 291–296.
- Sukhotin A.A., Portner H.-O.* Habitat as a factor involved in the physiological response to environmental anaerobiosis of White sea *Mytilus edulis* // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1999. V. 184. P. 149–160.
- Sukhotin A.A., Portner H.-O.* Age-dependence of metabolism in mussels *Mytilus edulis* (L.) from the White Sea // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2001. V. 257. № 1. P. 53–72.
- Sukhotin A.A., Abele D., Portner H.O.* Growth, metabolism and lipid peroxidation in *Mytilus edulis*: age and size effect // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2002. V. 226. P. 223–234.