

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОФИЗИКА

УДК 574.24;57.084.1

С. В. Сладкова, Д. В. Сафронова, С. В. Холодкевич

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕННОСТИ, ТЕМПЕРАТУРЫ И ПРОЦЕССА КОРМЛЕНИЯ НА КАРДИОАКТИВНОСТЬ РАКОВ-БИОИНДИКАТОРОВ В БИОЭЛЕКТРОННЫХ СИСТЕМАХ МОНИТОРИНГА КАЧЕСТВА ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

Частоту сердечных сокращений раков *Astacus leptodactylus* (Esch.) непрерывно измеряли в реальном времени в течение 2 месяцев. Измерения проводили неинвазивным волоконно-оптическим методом в лабораторных условиях и в производственных условиях биоиндикации качества воды реки Невы на водозаборе водопроводной станции. При двух значениях температуры воды исследовано влияние изменений режимов освещенности, а также процесса кормления на частоту сердечных сокращений раков. Показано, что у раков вида *Astacus leptodactylus* после периода акклимации устанавливается выраженный циркадианный ритм кардиоактивности, который имеет бимодальный характер, связанный с режимом искусственного освещения «день — ночь». Установлено, что сдвиги в режиме освещенности на 1,5 часа, кормление и повышение температуры с 10 до 18 °С не влияют на циркадианность ритма. Величина температуры оказывает влияние только на амплитудные характеристики ритма частоты сердечных сокращений в этом температурном диапазоне. Процесс кормления вызывает кратковременное повышение частоты сердечных сокращений, что не отражается на динамике частоты сердечных сокращений животного в последующие сутки. Библиогр. 28 назв. Ил. 3. Табл. 1.

Ключевые слова: освещенность, температура воды, кардиоактивность, десятиногие раки, мониторинг качества воды.

S. V. Sladkova¹, D. V. Safronova², S. V. Kholodkevich^{1,2}

THE STUDY OF THE EFFECT OF LIGHT INTENSITY, TEMPERATURE AND FEEDING CONDITIONS CHANGES ON THE CARDIAC ACTIVITY OF CRAYFISH-BIOINDICATORS IN BIOELECTRONIC SYSTEMS FOR SURFACE WATER QUALITY MONITORING

¹ St. Petersburg Scientific Research Center for Ecological Safety RAS, 18, Korpusnaya ul., St. Petersburg, 197110, Russian Federation; sladkova_sv1@mail.ru, kholodkevich@mail.ru

² St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034, Russian Federation; dollydolly@mail.ru

Heart rate of crayfish species *Astacus leptodactylus* (Esch.) was measured continually in the real-time regime during 2 months. Measurements were carried out with non-invasive fiber optic method under laboratory conditions and under factory conditions during the bioindication of the Neva river water

С. В. Сладкова (sladkova_sv1@mail.ru), С. В. Холодкевич (kholodkevich@mail.ru): Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Российская Федерация, 197110, Санкт-Петербург, Корпусная ул., 18; Д. В. Сафронова (dollydolly@mail.ru): Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9.

© Санкт-Петербургский государственный университет, 2016

quality at the waterworks intake of the water supply station. The effect of light intensity and feeding conditions changes on the crayfish heart rate is studied at 2 temperature values. It is shown that after the acclimation period of crayfish species *Astacus leptodactylus* a marked circadian rhythm is settled, it has bimodal formation that is connected with the artificial lighting regime «day — night». It is established that 1.5-hour shifts in the lighting regime, feeding and temperature rise from 10 to 18°C don't affect circadian periodicity of the rhythm. In this temperature range the temperature value affects only amplitude characteristics of the heart rate rhythm. Feeding causes the short-term rise of the heart rate, that doesn't impact on the heart rate dynamics of an animal during next 24-hour period. Refs 28. Figs 3. Tables 1.

Keywords: light intensity, water temperature, cardiac activity, decapods, water quality monitoring.

Введение

Взаимосвязь функционального состояния речных раков и суточного ритма их физиологических процессов и поведения установлена в ряде исследований [1–3]. Как в естественных условиях, так и при длительном содержании в лабораторных условиях здоровые животные демонстрируют ярко выраженную ночную локомоторную и кардиореспираторную активность [4, 5]. Ранее в экспериментальных экотоксикологических исследованиях, где в качестве тест-организмов использовались узкопалые раки *Astacus leptodactylus*, нами было показано, что группа животных, демонстрирующих устойчивое проявление циркадного ритма, реагирует на внешние воздействия синхронизованно и однонаправленно, в отличие от животных, у которых такого ритма не наблюдается [6]. Данное обстоятельство позволило нам обосновать критерии отбора раков этого вида по их функциональному состоянию для использования в качестве тест-организмов в биоэлектронных системах мониторинга качества воды (БСМКВ) [6, 7]. Основанные на принципе первичной «аларм»-реакции гидробионтов на вредное воздействие биологические системы раннего предупреждения в настоящее время активно разрабатываются и создаются во многих странах [8–10]. Поскольку проявление характерного для раков циркадного ритма кардиоактивности, синхронизированного с искусственным суточным режимом освещенности, является существенным показателем хорошего функционального состояния (здоровья) раков в межлиночный период, в системах биомониторинга качества поверхностных и очищенных сточных вод [11, 12], установленных на предприятиях ГУП «Водоканал Санкт-Петербурга», успешно функционирует система самодиагностики их работоспособности, основанная на автоматической регистрации суточного ритма частоты сердечных сокращений (ЧСС) раков-биоиндикаторов [13, 14]. В ней используется искусственное освещение 12С:12Т (в суточном режиме 12 часов с освещением и 12 часов без освещения), синхронизирующее ритм ЧСС раков. В связи с вышеизложенным, изучение и учет влияния возможных изменений такого режима освещенности, связанных с различными технологическими отклонениями от штатного режима работы (сбои в электроснабжении и т. д.), на кардиоритмику раков-биоиндикаторов имеет принципиальное значение для обеспечения корректной работы данной системы. Важно также знать и влияние некоторых других частых воздействий, которые в процессе непрерывного мониторинга общей токсичности сырой воды источника централизованного водоснабжения (реки Невы) могут приводить к выработке системой сигнала тревоги при отсутствии опасности химического загрязнения воды. К ним

относятся, например, стрессовые воздействия, обусловленные, в частности, периодическим (раз в 3 дня) кормлением животных и чисткой аквариумов. Поскольку мониторинг качества воды проводится непрерывно в течение всего года, а в зимнее время, когда температура воды в реке Неве близка к 0°C, ее приходится подогревать до температуры не ниже 10°C для сохранения раков в состоянии активности (предотвращения перехода животных в состояние зимнего анабиоза). Отметим, что для некоторых видов высших раков, а именно *Orconectes clypeatus* (Hay), *Procambarus clarkii* (Girard), *Astacus astacus* (L.) и *Pacifastacus leniusculus* (Dana), ранее проводились исследования по выявлению влияния колебаний освещенности на спонтанную локомоторную активность и ЧСС этих животных [1, 15–18]. Однако для раков вида *Astacus leptodactylus* такие данные в литературе отсутствуют.

Поэтому основной целью настоящего исследования были изучение и оценка влияния изменений в режиме освещенности, приводящих к смещению времени начала светового периода и его длительности на 1–2 часа, а также процесса кормления на хронотропные характеристики кардиоритма раков при температурах 10 и 18°C.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены в лабораторных условиях и в проточной не-вской воде на водозаборных сооружениях Волковской водопроводной станции ГУП «Водоканал Санкт-Петербурга» с середины октября до середины декабря 2014 г. Экспериментальная группа животных состояла из 12 половозрелых самцов узкопалых раков *Astacus leptodactylus* из озера Мостовое Алтайского края, не имевших признаков заболеваний, весом $30,9 \pm 2,5$ г и общей длиной и длиной карапакса соответственно $104,5 \pm 3,7$ и $52,8 \pm 1,9$ мм. Об удовлетворительном функциональном состоянии животных, адаптированных к экспериментальным условиям в течение двух недель, до опыта судили по их подвижности и потреблению корма, а также по хорошо выраженной реакции опистотонуса (поднимание обеих клешней в ответ на приближение визуального раздражителя или во время хэндлинга).

Проявление циркадной ритмики у животных изучалось по суточной динамике ЧСС. Для этого использовали оригинальный неинвазивный волоконно-оптический метод измерения и анализа фотоплетизмограмм беспозвоночных с жестким наружным покровом в режиме реального времени, позволяющий, в частности, исследовать функциональное состояние раков непрерывно в течение длительного периода, поскольку он не влияет на поведение раков и не вызывает у них состояния стресса [19, 20]. Суть метода регистрации пульсаций сердечной мышцы состоит в том, что по тонкому волоконно-оптическому кабелю излучение инфракрасного полупроводникового лазера, расположенного в малогабаритном корпусе фотоплетизмографа, передается к карапаксу рака над областью расположения сердца [21]. Далее отраженный от сокращающегося сердца свет, содержащий информацию о ритме сердечной деятельности, передается по волоконно-оптическому кабелю на фотоприемник фотоплетизмографа. После соответствующего усиления, фильтрации и преобразования в цифровую форму кардиосигнал в виде фотоплетизмограммы передается на компьютер для анализа кардиоактивности раков по характеристикам ЧСС. Перед началом эксперимента на карапакс каждого рака над областью сердца приклеивали миниатюрный держатель, к которому прикрепляли

волоконно-оптической кабель. Каждый из 6 раков помещался в отдельный непрозрачный аквариум размером 400×350×195 мм, заполненный до уровня 100 мм проточной дехлорированной водопроводной водой, предварительно отфильтрованной мембранным фильтром при температуре $18,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в лабораторных условиях. Качество воды обеспечивалось также циркуляцией ее через биофильтр. В течение всего эксперимента уровень растворенного кислорода в воде был не ниже 6 мг/л, рН воды — 7,2–7,4, содержание нитратов не превышало 40 мг/л.

На водопроводной станции через такие же аквариумы протекала природная невская вода температурой $10 \pm 1^\circ\text{C}$. Смена воды в аквариуме происходила за 10–15 минут. В каждом аквариуме имелось убежище для рака с продольной щелью на верхней поверхности для беспрепятственного захода и нахождения животного в убежище с подключенным к нему волоконно-оптическим кабелем. Длина волоконно-оптического кабеля позволяла животному свободно передвигаться по аквариуму. Выбранные температуры 10 и 18°C целесообразно поддерживать в аквариумах при мониторинге качества воды для зимнего и летнего периода соответственно. Световой режим 12С:12Т около 1000 люкс поддерживали в течение двух недель. Свет включался в 8 часов и выключался в 20 часов. Животных кормили один раз в 3 дня личинками хирономид (в пересчете на суточный рацион 3% от веса рака) спустя 7 ± 1 часов после включения света. После записи контрольного ритма одновременно у 6 животных при обоих значениях температуры в течение 14 суток световой цикл изменяли с 12С:12Т на 13С:11Т с включением света в 9.30 и выключением в 22.30 и снова записывали ритм в течение того же периода. Затем режим снова изменяли, сдвигали на 1.5 часа раньше включение и выключение света, не изменяя продолжительности светового периода. В день, когда производили изменение режима освещенности, осуществляли также кормление раков личинками хирономид и чистку аквариумов, вынуждая раков покидать убежища на 5–10 минут, тем самым вызывая стресс у раков. Такое сочетание факторов воздействия с высокой степенью вероятности возможно при работе биоэлектронных систем мониторинга качества воды в режиме реального времени. Кардиоактивность раков регистрировали непрерывно в течение всего эксперимента. При математической обработке фотоплетизмограмм в реальном времени определяли ЧСС (уд./мин.) с усреднением по 100 кардиоинтервалам. Программа математической обработки позволяла, кроме выведения и архивации числовых данных, строить графики зависимости ЧСС от времени суток. При построении таких графиков и при вычислении средних значений ЧСС в дневное время не учитывались значения ЧСС во время кормления раков и чистки аквариумов. Полученные данные обрабатывали статистическими методами с применением парного *t*-критерия Стьюдента для зависимых выборок при оценке влияния исследуемых факторов на кардиоактивность каждого рака и двухвыборочного *t*-критерия для независимых величин при сравнении независимых групп. Значимыми считали различия сравниваемых величин при $p < 0,05$.

Результаты

У животных, подвергавшихся освещению в режиме 12С:12Т интенсивностью 1000 люкс, спустя 2–3 дня от начала эксперимента устанавливался стабильный суточный ритм периодических изменений ЧСС. На представленной записи типичной

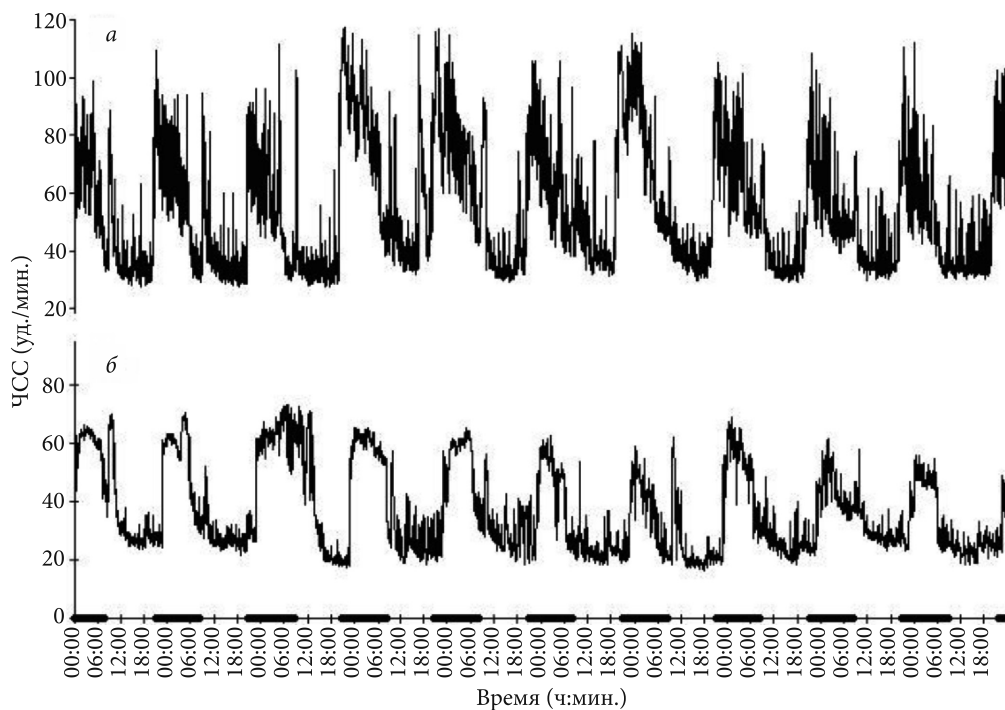


Рис. 1. Типичная динамика ЧСС рака в течение 10 суток непрерывной регистрации: а — температура 18°C, б — температура 10°C. Черные участки временной шкалы показывают длительность темного периода

зависимости ЧСС раков от времени суток в течение 10 дней при обеих исследованных температурах (рис. 1) четко прослеживаются регулярно повторяющиеся (с периодом равным 24 часам) изменения кардиоактивности — высокие значения ЧСС в темное время и более низкие — в светлый период. Указанные сдвиги количественных характеристик кардиоактивности отражают изменения физиологического состояния раков, соответствующие переходу при наступлении темноты из состояния покоя в активное состояние. Активизация кардиоактивности начинается с момента выключения освещения. При этом значения ЧСС в течение почти всего темного периода были выше дневных. Однако необходимо отметить, что кардиоритм ночной фазы не поддерживается на одном уровне в течение всего темного периода. Почти все раки демонстрировали максимальную ЧСС в промежутке от 22 до 4–6 часов утра, далее значения ЧСС неуклонно понижались вплоть до момента включения света. На включение света все исследованные животные реагировали кратковременным повышением ЧСС и быстрым (менее часа) спадом до исходного уровня с последующим медленным снижением ЧСС до низких дневных значений в покое (таблица). При температуре 18°C максимальная реакция на свет состоит в превышении на 83 %, а минимальная — на 28 % ЧСС в покое, которая в дневное время в среднем по выборке составляла $37,7 \pm 3,0$ уд./мин. В ночной период ЧСС максимально возрастала на 102 % (рак № 6) и минимально на 74 %, а в среднем по выборке на 86 % и составляла $69,9 \pm 3,4$ уд./мин.

**Амплитудные характеристики суточного ритма
кардиоактивности раков-биоиндикаторов и их реакция на включение света**

№ рака	ЧСС в «дневной» период (уд./мин.)	ЧСС после включения света (уд./мин.)	ЧСС после включения света (% от ЧСС в покое)	Длительность реакции на включение света (мин.)	ЧСС в «ночной» период (22.00–6.00) (уд./мин.)	ЧСС в «ночной» период (22.00–6.00) (% от ЧСС в покое)
При температуре воды 18 °С						
1	39,1±3,2	50,3±5,9	128	38±5	71,3±10,5	182
2	34,7±4,3	49,8±3,2	143	48±7	64,2±12,5	185
3	39,3±3,8	52,8±4,3	134	36±4	69,5±13,5	176
4	34,7±4,0	48,2±2,8	138	43±5	68,2±9,8	196
5	42,2±3,3	68,3±5,4	161	58±3	73,5±11,3	174
6	36,1±2,7	66,2±3,7	183	61±5	72,8±12,0	202
При температуре воды 10 °С						
7	21,6±3,8	25,5±4,1*	118*	28±3	24,9±4,1*	115*
8	25,9±1,7	41,5±9,0	160	40±6	40,3±7,8	156
9	26,8±3,6	32,7±6,3	122	36±8	37±5,8	140
10	21,4 ±3,5	35,1±5,8	164	48±4	35,7±3,2	166
11	27,2±4,1	53,2±6,1	195	54±5	47,8±12,3	175
12	25,0±2,4	41,1±9,3	164	32±5	38,0±11,3	152

* недостоверное повышение $p > 0,05$

Группа из 6 раков, которая находилась при температуре 10 °С, демонстрировала большой диапазон индивидуальной вариабельности реакции на свет. Так, максимальная величина реакции на свет составляла 95 % (рак № 11), а минимальная — 18 % (рак № 7). ЧСС покоя составляла в среднем по выборке $24,7 \pm 2,5$ уд./мин. и ЧСС активности $37,3 \pm 7,4$ уд./мин. соответственно. Превышение ночных значений ЧСС над дневными составляло 58 %. Следует особо отметить, что у рака № 7 различия между кардиоактивностью на свету и в темноте недостоверны (таблица).

Удлинение светлого периода на один час с изменением режима освещенности с 12С:12Т на 13С:11Т и варьирование включения света в пределах 1,5 часов не повлияло на характер ритма ЧСС. Амплитудные характеристики ритма и его период (24 часа) не изменились. Синхронно с изменением соотношения свет — темнота изменилось соотношение фаз ритма ЧСС (покой — активность). Иными словами, длительность периода покоя с низкими значениями ЧСС увеличилась в соответствии с увеличением длительности светового периода на один час, что хорошо видно на графиках суточной динамики ЧСС (рис. 2, 3).

Из рисунков 2 и 3 видно также, что животные, находящиеся в режиме освещения 13С:11Т, сохраняют бимодальный ритм повышения ЧСС при обеих данных температурах, так как на кривой суточной динамики ЧСС имеются два пика. Первое кратковременное повышение ЧСС — реакция на включение света, ЧСС достигает пика в течение 3–5 минут и возвращается к базовой линии в пределах часа с последующим медленным снижением до минимальных дневных значений. Второе продолжительное повышение ЧСС — реакция на выключение света, ЧСС достигает своего максимума в первый час после выключения света, бывает, как

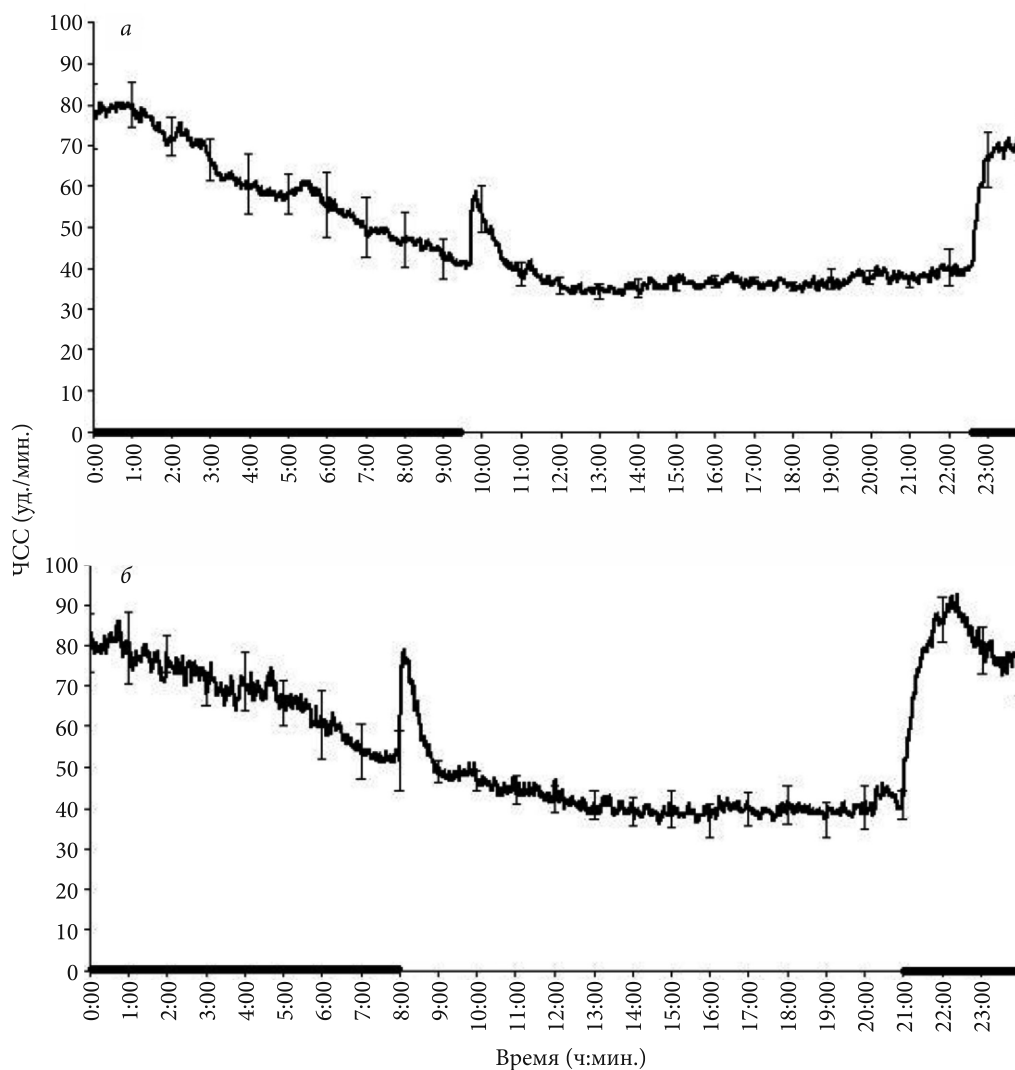


Рис. 2. Суточная динамика ЧСС раков в условиях лабораторного эксперимента ($T=18^{\circ}\text{C}$): а — световой режим 13С:11Т, б — сдвиг светового периода на 1,5 часа раньше с тем же режимом освещения. Приведены средние значения ($n=6$) кривых для каждого рака, полученных усреднением ЧСС за 10 дней. Вертикальными отрезками отмечены значения СКО ($n=6$). Черные участки временной шкалы демонстрируют длительность темного периода.

правило, выше пика на включение света, на большинстве фотоплетизмограмм этот высокий уровень ЧСС сохраняется 5–8 часов. При температуре воды 10°C все амплитудные характеристики ритма заметно меньше, чем при 18°C , тем не менее все описанные изменения ЧСС достоверны. Также видно (рис. 3,б), что процессы кормления раков и чистки аквариумов, оказывающие стрессовое воздействие на раков в течение часа, приводят к повышению ЧСС до максимальных значений — «аларм»-реакции в течение всего воздействия, которая нивелируется до фонового

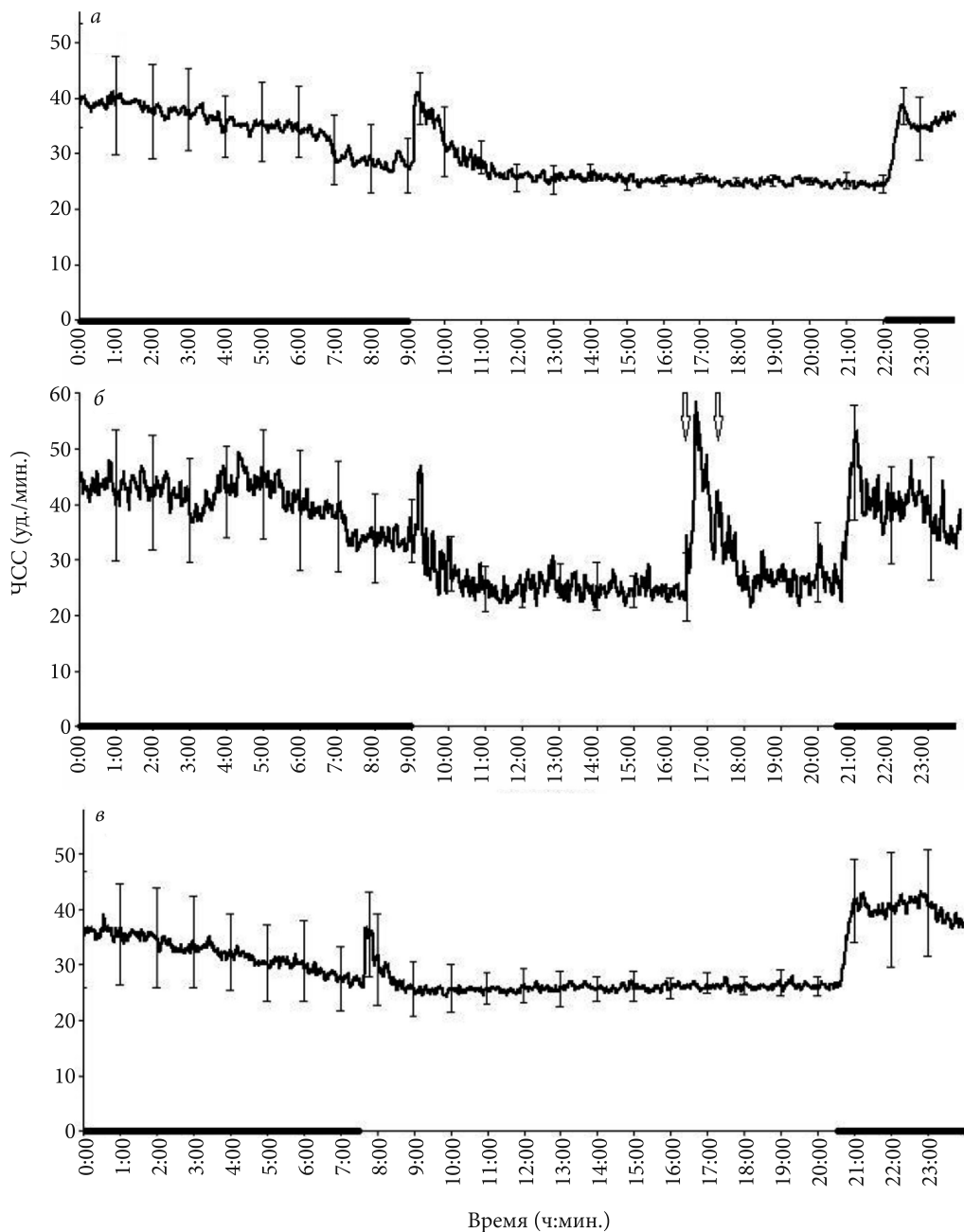


Рис. 3. Суточная динамика ЧСС раков на Волковской водопроводной станции ГУП «Водоканал Санкт-Петербурга» ($T=10^{\circ}\text{C}$):

a — световой режим 13С:11Т, *б* — день переключения таймера, *в* — сдвиг светового периода на 1,5 часа раньше с тем же режимом 13С:11Т. *a*, *в* — средние значения ($n=6$) кривых для каждого рака, полученных усреднением ЧСС за 10 дней; *б* — средняя кривая ($n=6$) в день переключения таймера. Вертикальными отрезками отмечены значения СКО ($n=6$). Вертикальными стрелками показаны начало и конец процедуры уборки аквариумов и кормления раков. Черные участки временной шкалы — длительность темного периода.

уровня за 30–60 мин после его окончания. Причем такое стрессовое воздействие не оказывает существенного влияния на динамику ЧСС животного в последующие сутки (рис. 3,в).

Обсуждение результатов

Изучению различных ритмов биологических процессов у высших раков посвящено немало работ. В некоторых работах [15, 17] показано, что у пресноводных раков циркадные ритмы локомоций, потребления кислорода и ЧСС, связанные со сменой дня и ночи, имеют эндогенное происхождение. В ряде исследований [1, 5, 22] была обнаружена корреляция суточных ритмов локомоторной активности и ЧСС как в условиях искусственной освещенности, так и *in situ*. В естественных условиях показано влияние на формирование этих ритмов суточных колебаний температуры и интенсивности света. Также к настоящему времени установлено [2, 3, 23], что нарушение ритма кардиоактивности, присущего здоровым ракам, является показателем неблагополучия их состояния. Ранее нами показано [4], что нарушение суточного ритма ЧСС происходит также и на последнем этапе предлиночной стадии естественного цикла жизнедеятельности раков, а, как известно, линька и подготовка к ней являются сильным физиологическим стрессом для раков.

В настоящем исследовании установлено, что у здоровых раков *Astacus leptodactylus*, использующихся в качестве тест-животных в биологических системах мониторинга качества воды (БСМКВ), после некоторого периода акклимации устанавливается отчетливо выраженный суточный ритм кардиоактивности, синхронизированный с режимом искусственного освещения «день — ночь» (12С:12Т). Анализ полученных результатов показал, что при смене режима искусственного освещения на 13С:11Т характер суточного ритма сердечной деятельности раков-биоиндикаторов сохраняется как в лабораторных, так и в производственных условиях на водопроводных станциях города. Сдвиги в режиме освещения на 1,5 часа не влияют на характер суточного ритма ЧСС и, следовательно, на функциональное состояние животных. Фазовые характеристики ритма регулируются режимом освещения. Перестройка фазы суточного ритма кардиоактивности начинается сразу в ответ на изменение времени выключения света. Четко прослеживается бимодальный характер суточного ритма ЧСС, заключающийся в наличии двух пиков активности. Впервые модальность суточного ритма кардиоактивности раков была обнаружена и описана у красных болотных раков *Procambarus clarkii* [17]. Кратковременный пик ЧСС, возникающий сразу после включения света, является рефлекторным ответом на свет, как и индуцированная локомоторная активность, связанная с попыткой спрятаться в убежище [15]. Пик на выключение света считается циркадным, так как он наблюдается и при свободно бегущем ритме с периодом, отличным от 24 часов [17].

На основании полученных данных можно предположить, что влияние температуры в диапазоне 10–18 °С на фазу и период суточного ритма кардиоактивности незначительно. Из данных литературы известно, что время запуска суточного ритма и его фаза не зависят от температуры в зоне толерантности вида [5, 24]. Температура влияет на амплитудные характеристики кардиоактивности — значения ЧСС в покое в дневное время и при ночной активности. Известно, что

повышение температуры на 10°C повышает уровень метаболизма гидробионтов примерно в два раза в физиологическом диапазоне температуры [25]. Результаты наших экспериментов показывают, что повышение температуры на 8°C приводит к увеличению ЧСС в покое более чем в 1,5 раза, и хорошо согласуются с данными, полученными для аналогичных по размеру раков других видов [22, 26, 27]. Однако при температуре 10°C мы обнаружили большую индивидуальную вариабельность, чем при 18°C. Это обстоятельство и тот факт, что 1 из 6 раков не продемонстрировал выраженного суточного ритма, но в процессе эксперимента выжил и не полинял, наводит на предположение, что, возможно, температура порядка 10°C является пограничной температурой, ниже которой раки начинают впадать в состояние зимнего анабиоза. Для проверки этого предположения необходимы дополнительные исследования.

Кратковременное стрессирование животных в процессе кормления и чистки аквариумов в светлое время суток вызывает у них повышение ЧСС во время манипуляций. Такое воздействие не оказывает существенного влияния на динамику ЧСС животного в последующие сутки и поэтому не сказывается заметным образом на характере суточного ритма. Это заключение хорошо согласуется с литературными данными о влиянии подачи пищи на локомоторную активность у одного из наиболее изученных видов раков *Procambarus clarkii* [28]. Однако во время кормления и чистки аквариумов раки не могут выполнять функции тест-организмов в БСМКВ.

Таким образом, можно утверждать, что небольшие изменения выбранного искусственного режима освещенности «день — ночь» и режим кормления не приводят к нарушению суточных ритмов кардиоактивности раков-биоиндикаторов в БСМКВ. Стойкое проявление синхронизированного с режимом освещенности циркадного ритма ЧСС, присущего здоровым ракам, может служить индикатором функционального состояния организма и его адаптации к условиям и качеству окружающей среды. Это обстоятельство, на наш взгляд, чрезвычайно важно учитывать при разработке алгоритмов работы систем непрерывного биомониторинга качества поверхностных и очищенных сточных вод, основанных как на регистрации характеристик кардиоактивности, так и поведения тест-организмов.

Работа была выполнена с использованием оборудования Ресурсного центра «Обсерватория экологической безопасности» Научного парка СПбГУ.

Литература

1. Bojsen B. H., Witthoff H., Styrishave B. et al. Diurnal variation in physiology and behaviour of the noble crayfish, *Astacus astacus* (L.) and the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana). Specialerapport. Roskilde Univ. Denmark. 1997. P. 48–61.
2. Styrishave B., Depledge M. Evaluation of mercury-induced changes in circadian heat rate rhythms in the freshwater crab, *Potamon potamon* and the crayfish, *Astacus astacus* as an early predictor of mortality // Comp. Biochem. Physiol. 1996. Vol. 115A, N 4. P. 349–356.
3. Styrishave B., Rasmussen A. D., Depledge M. H. The influence of bulk and trace metals on the circadian rhythm of heart rates in freshwater crayfish *Astacus astacus* // Marine Pollution Bulletin. 1995. Vol. 31, N 1–3. P. 87–92.
4. Удалова Г. П., Холодкевич С. В., Сладкова С. В. и др. Исследование циркадианной активности раков *Pontastacus leptodactylus* при их многомесячном содержании в протоке речной воды // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2009. Т. 45, № 3. С. 304–312.
5. Bojsen B. H., Witthoff H., Styrishave B. et al. In situ studies on heart rate and locomotor activity in the noble freshwater crayfish, *Astacus astacus* (L.) in relation to natural fluctuation in temperature and light intensity // Freshwater Biology. 1998. Vol. 39. P. 455–465.

6. Кузнецова Т. В., Сладкова С. В., Холодкевич С. В. Оценка функционального состояния раков в нормальной и токсической среде по их кардиоактивности и биохимическим показателям гемолимфы // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2010. Т. 46, № 3. С. 203–210.
7. Холодкевич С. В., Кузнецова Т. В., Сладкова С. В. и др. Методические подходы к формированию референтных групп бентосных беспозвоночных на основе комплекса оценок их функционального состояния // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Экологическая физиология и биохимия водных организмов: сб. науч. статей. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. Т. 1. С. 60–67.
8. Bae M.-J., Park Y.-S. Biological early warning system based on the responses of aquatic organisms to disturbances: a review // Science of the Total Environment. 2014. Vol. 466–467. P. 635–649.
9. Kramer K. J. M. Continuous monitoring of waters by biological early warning systems // Rapid chemical and biological techniques for water monitoring / eds C. Gonzalez, R. Greenwood, P. Quevauviller. Chichester: Wiley, 2009. P. 197–219.
10. Kuklina I., Kouba A., Kozák P. Real-time monitoring of water quality using fish and crayfish as bio-indicators: a review // Environmental Monitoring and Assessment. 2013. Vol. 185. P. 5043–5053.
11. Кармазинов Ф. В., Кинебас А. К., Бекренев А. В. и др. Опыт эксплуатации систем биомониторинга качества воды в Санкт-Петербурге // Водоснабжение и санитарная техника. 2007. Т. 7, № 2. С. 2–6.
12. Мельник Е. А., Рублевская О. Н., Панкова Г. А. и др. Биоэлектронная система контроля токсикологической безопасности биологически очищенных сточных вод, сбрасываемых Юго-Западными очистными сооружениями ГУП «Водоканал Санкт-Петербурга» в Невскую губу // Водоснабжение и санитарная техника. 2013. Т. 1. С. 7–12.
13. Кинебас А. К., Нефедова Е. Д., Гвоздев В. А. и др. Повышение эффективности и надежности биоэлектронных систем станций производственного биологического мониторинга качества воды // Водоснабжение и санитарная техника. 2012. Т. 1. С. 20–27.
14. Холодкевич С. В., Иванов А. В. Способ биологического мониторинга окружающей среды и система для его осуществления // Бюл. изобр. 2012. № 26. Оpubл. 20.09.2012 г. Патент РФ № 2461825. МПК G01N 33/18.
15. Fingerman M., Lago A. D. Endogenous twenty four hour rhythms of locomotor activity and oxygen consumption in the crayfish *Orconectes clypeatus* // The American Midland Naturalist. 1957. Vol. 58. P. 383–393.
16. Page T. L., Larimer J. L. Entrainment of the circadian locomotor activity rhythm in crayfish // J. of Comparative Physiol. 1972. Vol. 78. P. 107–120.
17. Pollard T. G., Larimer J. L. Circadian rhythmicity of heart rate in the crayfish, *Procambarus clarkii* // Comp. Biochem. Physiol. 1977. Vol. 57A. P. 221–226.
18. Viccon-Pale J. A., Fuentes-Pardo B. Synchronization by light of the circadian rhythm of motor activity in the crayfish // Biological Rhythm Research. 1994. Vol. 25, N 3. P. 267–276.
19. Федотов В. П., Холодкевич С. В., Строчило А. Г. Изучение сократительной активности сердца раков с помощью нового неинвазивного метода // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2000. Т. 36, № 3. С. 219–222.
20. Холодкевич С. В. Биоэлектронный мониторинг уровня токсичности природных и сточных вод в реальном времени // Эколог. химия. 2007. Т. 16, № 4. С. 223–232.
21. Kholodkevich S. V., Ivanov A. V., Kurakin A. S., Kornienko E. L., Fedotov V. P. Real time biomonitoring of surface water toxicity level at water supply stations // J. of Environmental Bioindicators. 2008. Vol. 3, N 1. P. 23–34.
22. Styrisshave B., Bojsen B. H., Witthoff H. et al. Diurnal variations in physiology and behaviour of the noble crayfish *Astacus astacus* and the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* // Marine and Freshwater Behaviour and Physiology. 2007. Vol. 40, N 1. P. 63–77.
23. Aagard A. In situ variation in heart rate of the shore crab *Carcinus maenas* in relation to environmental factors and physiological condition // Marine Biology. 1996. Vol. 125. P. 765–772.
24. Naylor E. Temperature relationship of the locomotor rhythm of *Carcinus* // J. of Exper. Biol. 1963. Vol. 40. P. 669–679.
25. Prosser C. L. Oxygen: respiration and metabolism // Comparative animal physiology / ed. by C. L. Prosser. London: W. B. Saunders Company, 1973. P. 170–199.
26. Сладкова С. В., Федотов В. П., Холодкевич С. В. Компенсаторные возможности сердечно-сосудистой системы раков в условиях прогрессирующей гипоксии // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2006. Т. 42, № 1. С. 49–56.
27. Villarreal H. Effect of temperature on oxygen consumption and heart rate of the Australian crayfish *Cherax tenuimanus* (Smith) // Comp. Biochim. Physiology. 1990. Vol. 95. P. 189–193.

28. De Miguel F.F., Aréchiga H. Circadian locomotor activity and its entrainment by food in the crayfish *Procambarus clarkii* // J. of Exper. Biol. 1994. Vol. 190. P. 2–21.

References

1. Bojsen B.N., Witthoff H., Styrihave B. et al. *Diurnal variation in physiology and behaviour of the noble crayfish, Astacus astacus (L.) and the signal crayfish Pacifastacus leniusculus (Dana)*. Specialerapport. Roskilde Univ. Denmark, 1997, pp. 48–61.
2. Styrihave B., Depledge M. Evaluation of mercury-induced changes in circadian heart rate rhythms in the freshwater crab, *Potamon potamon* and the crayfish, *Astacus astacus* as an early predictor of mortality. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1996, vol. 115A, no. 4, pp. 349–356.
3. Styrihave B., Rasmussen A. D., Depledge M. H. The influence of bulk and trace metals on the circadian rhythm of heart rates in freshwater crayfish *Astacus astacus*. *Marine Pollution Bulletin*, 1995, vol. 31, no. 1–3, pp. 87–92.
4. Udalova G.P., Kholodkevich S.V., Sladkova S.V. et al. Issledovanie tsirkadiannoi aktivnosti rakov *Pontastacus leptodactylus* pri ikh mnogomesiachnom sodержanii v protoke rechnoi vody [Study of circadian activity in the crayfish *Pontastacus leptodactylus* during their multimonth maintenance in the river water flow]. *Zhurn. evoliuts. biokhim. i fiziol. [Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology]*, 2009, vol. 45, no. 3, pp. 304–312. (In Russian)
5. Bojsen B.N., Witthoff H., Styrihave B. et al. In situ studies on heart rate and locomotor activity in the noble freshwater crayfish, *Astacus astacus* (L.) in relation to natural fluctuation in temperature and light intensity. *Freshwater Biology*, 1998, vol. 39, pp. 455–465.
6. Kuznetsova T.V., Sladkova S.V., Kholodkevich S.V. Otsenka funktsional'nogo sostoiianiia rakov v normal'noi i toksicheskoi srede po ikh kardioaktivnosti i biokhimicheskim pokazateliyam gemolimfy [Evaluation of functional state of crayfish in normal and toxic environment by characteristics of their cardiac activity and hemolymph biochemical parameters]. *Zhurn. evoliuts. biokhim. i fiziol. [Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology]*, 2010, vol. 46, no. 3, pp. 203–210. (In Russian)
7. Kholodkevich S.V., Kuznetsova T.V., Sladkova S.V. et al. Metodicheskie podkhody k formirovaniu referentnykh grupp bentosnykh bespozvonochnykh na osnove kompleksa otsenok ikh funktsional'nogo sostoiianiia [Methodological approaches to the benthic invertebrates reference groups formation on the basis of complex assessment of their functional state]. *Sovremennye problemy fiziologii i biokhimii vodnykh organizmov. Ekologicheskaiia fiziologiia i biokhimii vodnykh organizmov: sb. nauch. statei [Current problems of physiology and biochemistry of aquatic organisms. Ecological physiology and biochemistry of aquatic organisms: Coll. scientific. articles]*. Petrozavodsk, Karel'skii nauchnyi tsentr RAN Publ., 2010, vol. 1, pp. 60–67. (In Russian)
8. Bae M.-J., Park Y.-S. Biological early warning system based on the responses of aquatic organisms to disturbances: a review. *Science of the Total Environment*, 2014, vol. 466–467, pp. 635–649.
9. Kramer K.J.M. Continuous monitoring of waters by biological early warning systems. *Rapid chemical and biological techniques for water monitoring*. Eds C. Gonzalez, R. Greenwood, P. Quevauviller. Chichester, Wiley, 2009, pp. 197–219.
10. Kuklina I., Kouba A., Kozák P. Real-time monitoring of water quality using fish and crayfish as bio-indicators: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013, vol. 185, pp. 5043–5053.
11. Karmazinov F.V., Kinebas A.K., Bekrenev A.V. et al. Opyt ekspluatatsii sistem biomonitoringa kachestva vody v Sankt-Peterburge [Experience in operation of water quality biomonitoring system in St. Petersburg]. *Vodosnabzhenie i sanitarnaia tekhnika [Water supply and sanitary equipment]*, 2007, vol. 7, no. 2, pp. 2–6. (In Russian)
12. Mel'nik E.A., Rublevskaia O.N., Pankova G.A. et al. Bioelektronnaia sistema kontroliia toksikologicheskoi bezopasnosti biologicheskii ochishchennykh stochnykh vod, sbrasyvaemykh Iugo-Zapadnymi ochistnymi sooruzheniiami GUP "Vodokanal Sankt-Peterburga" v Nevskuii gubu [Bioelectronic system for toxicological safety control of biologically purified wastewater from the South-West wastewater treatment plant "Vodokanal of St. Petersburg" in the Neva Bay]. *Vodosnabzhenie i sanitarnaia tekhnika [Water supply and sanitary equipment]*, 2013, vol. 1, pp. 7–12. (In Russian)
13. Kinebas A.K., Nefedova E.D., Gvozdev V.A. et al. Povyshenie effektivnosti i nadezhnosti bioelektronnykh sistem stantsii proizvodstvennogo biologicheskogo monitoringa kachestva vody [Improving efficiency and reliability of bioelectronic systems of industrial biological water quality monitoring stations]. *Vodosnabzhenie i sanitarnaia tekhnika [Water supply and sanitary equipment]*, 2012, vol. 1, pp. 20–27. (In Russian)

14. Kholodkevich S.V., Ivanov A.V. Sposob biologicheskogo monitoringa okruzhaiushchei sredy i sistema dlia ego osushchestvleniia [Method and system for carrying out environment monitoring]. *Biul. izobr. [Bull. invention]*, 2012, no. 26. Published 20.09.2012. The patent of the Russian Federation no. 2461825. MPK G01N 33/18. (In Russian)
15. Fingerman M., Lago A.D. Endogenous twenty four hour rhythms of locomotor activity and oxygen consumption in the crayfish *Orconectes clypeatus*. *The American Midland Naturalist*, 1957, vol. 58, pp. 383–393.
16. Page T.L., Larimer J.L. Entrainment of the circadian locomotor activity rhythm in crayfish. *J. of Comparative Physiol.*, 1972, vol. 78, pp. 107–120.
17. Pollard T.G., Larimer J.L. Circadian rhythmicity of heart rate in the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1977, vol. 57A, pp. 221–226.
18. Viccon-Pale J.A., Fuentes-Pardo B. Synchronization by light of the circadian rhythm of motor activity in the crayfish. *Biological Rhythm Research*, 1994, vol. 25, no. 3, pp. 267–276.
19. Fedotov V.P., Kholodkevich S.V., Stochilo A.G. Izuchenie sokratitel'noi aktivnosti serdtsa rakov s pomoshch'iu novogo nein vazivnogo metoda [The study of the contractile activity of the heart of crayfish with a new non-invasive method]. *Zhurn. evoliuts. biokhim. i fiziol. [Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology]*, 2000, vol. 36, no. 3, pp. 219–222. (In Russian)
20. Kholodkevich S.V. Bioelektronnyi monitoring urovnia toksichnosti prirodnykh i stochnykh vod v real'nom vremeni [Bioelectronic monitoring of the toxicity level of natural and sewage water in the real time regime]. *Ekolog. khimiia [Ecological chemistry]*, 2007, vol. 16, no. 4, pp. 223–232. (In Russian)
21. Kholodkevich S.V., Ivanov A.V., Kurakin A.S., Kornienko E.L., Fedotov V.P. Real time biomonitoring of surface water toxicity level at water supply stations. *J. of Environmental Bioindicators*, 2008, vol. 3, no. 1, pp. 23–34.
22. Styryshave B., Bojsen B.N., Witthoff H. et al. Diurnal variations in physiology and behaviour of the noble crayfish *Astacus astacus* and the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2007, vol. 40, no. 1, pp. 63–77.
23. Aagard A. In situ variation in heart rate of the shore crab *Carcinus maenas* in relation to environmental factors and physiological condition. *Marine Biology*, 1996, vol. 125, pp. 765–772.
24. Naylor E. Temperature relationship of the locomotor rhythm of *Carcinus*. *J. of Exper. Biol.*, 1963, vol. 40, pp. 669–679.
25. Prosser C.L. Oxygen: respiration and metabolism. *Comparative animal physiology*. Ed. by C.L. Prosser. London, W.B. Saunders Company, 1973, pp. 170–199.
26. Sladkova S.V., Fedotov V.P., Kholodkevich S.V. Kompensatornye vozmozhnosti serdechno-sosudistoi sistemy rakov v usloviakh progressivnoy gipoksii [Compensator possibilities of the crayfish cardiovascular system under conditions of progressing hypoxia]. *Zhurn. evoliuts. biokhim. i fiziol. [Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology]*, 2006, vol. 42, no. 1, pp. 49–56. (In Russian)
27. Villarreal H. Effect of temperature on oxygen consumption and heart rate of the Australian crayfish *Cherax tenuimanus* (Smith). *Comp. Biochim. Physiology*, 1990, vol. 95, pp. 189–193.
28. De Miguel F.F., Aréchiga H. Circadian locomotor activity and its entrainment by food in the crayfish *Procambarus clarkii*. *J. of Exper. Biol.*, 1994, vol. 190, pp. 2–21.

Статья поступила в редакцию 2 июля, принята 11 декабря 2015 г.

Сведения об авторах:

Сладкова Светлана Владимировна — научный сотрудник
 Сафронова Дарья Вячеславовна — ассистент
 Холодкевич Сергей Викторович — доктор технических наук, профессор

Sladkova Svetlana V. — Researcher
Safronova Daria V. — Assistant
Kholodkevich Sergey V. — Doctor of Engineering Sciences, Professor