

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



24
—
1986

3. Борисенко В. С. Морфоэкологические особенности личинок камбалы калкана (*Scorpthalmus maeoticus* Pallas) и кефали лобана (*Mugil cephalus* L.) в связи с искусственным воспроизводством: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1980. — 28 с.
4. Дука Л. А., Синюкова В. И. Руководство по изучению питания личинок и мальков морских рыб в естественных и экспериментальных условиях. — Киев: Наук. думка, 1976. — 132 с.
5. Протасов В. Р. Зрение и ближняя ориентация рыб. — М.: Наука, 1968. — 206 с.
6. Brownell C. L. Water quality requirements for first-feeding in marine fish larvae. — Exp. Mar. Biol. and Ecol., 1980, 44, N 2, p. 269—283.
7. Hunter J. R. Swimming and behavior of larval anchovy *Engraulis mordax*. — Fish. Bull. U. S., 1972, 70, N 3, p. 821—839.
8. Rosenthal H., Hempel G. Experimental studies in feeding and food requirements of herring larvae (*Clupea harengus* L.). — In: Marine food chains ed. by J. H. Steele. — Edinburgh, 1970, p. 344—364.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 02.04.84

A. V. СHERPURNOV, Yn. E. BITYUKOVA,
N. K. TKACHENKO

EATING BEHAVIOUR OF PSETTA MAEOTICA PALLAS LARVAE AT THE STAGE OF MIXED NUTRITION AND DENSITY OF FOOD ORGANISMS UNDER CULTIVATION

Summary

Basing on the data of eating behaviour of the *Psetta maeotica* Pallas larvae, it is stated that the Rotatoria density in cultivators must be 2-3 specimen/ml, in the end of the stage it may be decreased to 1-1,5 specimen/ml.

УДК 591.148.1:577.472(26)

П. В. ЕВСТИГНЕЕВ, Э. П. БИТЮКОВ

О СУТОЧНОЙ РИТМИКЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ МОРСКИХ КОПЕПОД И ВЛИЯНИИ НА НЕЕ ТЕМПЕРАТУРЫ

Изучению ритмической активности уделяется большое внимание, поскольку она отмечается на всех уровнях организации живых форм и может касаться внутриклеточных механизмов и проявляться на уровне сообществ. Количественные характеристики суточных ритмов биолюминесценции морских организмов, в основном представителей фитопланктона, достаточно освещены в литературе [6, 10, 12, 13, 16—18]. В частности, отмечаются циркадные ритмы у перидиней (например, *Gonyaulax polyedra*; период между пиками максимальной интенсивности свечения которого 23 ч, причем ночной уровень превышает дневной в 40—60 раз) [17]. Свечение подавляется освещением, однако при помещении в темноту восстанавливается [5, 14]. Эти ритмы весьма стабильны и не изменяются даже при повышении температуры. В равной мере наблюдаются суточные изменения интенсивности биолюминесцентного поля в толще пелагиали, при этом различие может достигать двух порядков [8].

Специальные исследования ритмов биолюминесцентной активности гетеротрофов выполнены в незначительном объеме. Проведенные исследования биолюминесценции *Noctiluca miliaris* показали, что уровень ее светоизлучения в ночные часы отличается от дневного не более чем в два раза [1]. Суточные ритмы биолюминесценции копепод, являющихся массовыми планктонными биолюминесцентами, не определены.

В связи с этим поставлены два параллельных эксперимента для выяснения изменчивости характеристик светоизлучения копепод рода *Pleuromamma*, находящихся на протяжении суток при естественной

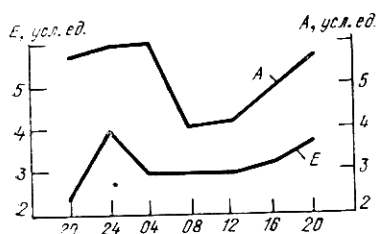


Рис. 1. Суточные изменения амплитуды (A) и энергии (E) светозлучения у копепода *P. gracilis*.

lis и *P. xiphias*. Примерно по 100 половозрелых особей обоих видов в течение суток выдерживали при естественном освещении и температуре воды около 22°C. В дневные часы освещенность достигала 1500 лк. В темноте содержали эквивалентное количество рачков.

Для выяснения светозлучательной способности животных использовали электрическую и механическую стимуляции. Характеристики биолуминесценции определяли инструментально [1]. Плотность раздражающего тока в импульсе длительностью 25 мс составляла 1,5 мА/мм². Кюветы для экспериментов соответствовали описанным ранее [7]. Механическое возбуждение достигалось с помощью специально созданного механического стимулятора.

Эксперименты проведены в 11-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» в Южной Атлантике в январе 1982 г. Материал собирали в ночное время с глубины 150 м вертикальными ловами сетью Джеди. Статистическую обработку материала провели на ЭВМ по стандартным программам.

Результаты и обсуждение. Результаты опытов с применением электрической стимуляции *P. gracilis*, находящихся в течение 24 ч в темноте, показали, что значения всех параметров биолуминесценции на протяжении суток изменялись незначительно, и, несмотря на несколько пониженный уровень сигналов в дневные часы, данное различие оказалось в пределах ошибки эксперимента. Таким образом, эндогенный элемент биолуминесцентной активности исследованного вида незначителен.

При выдерживании *P. gracilis* в условиях естественного хода освещенности на протяжении суток характеристики светозлучения менялись. Интенсивность вспышек и их общая энергия были максимальными в полночь и минимальными в полдень (рис. 1). В среднем различие за данный промежуток времени составило для обоих измеряемых параметров 150%. Аналогичная разница зафиксирована между средними значениями максимальных амплитуд.

Отличительной чертой биолуминесцентных сигналов в светлое время суток является разброс значений интенсивности свечения, о чем свидетельствуют большие коэффициенты вариации рассматриваемых характеристик. Например, коэффициент вариации интенсивности свечения в дневные часы превышает его значение в темное время суток в два раза. Очевидно, нахождение организмов в течение эксперимента в небольшом объеме отражается на их физиологическом состоянии и, следовательно, биолуминесцентной активности. Следует также учитывать, что в дневные часы виды рода *Pleuromamma* находятся преимущественно на глубине 300—500 м, характеризующейся более низкими температурами по сравнению с поверхностными, при которых они находились в наших экспериментах, что также может отразиться на состоянии рачков.

Различия в характеристиках светозлучения проявились также в числе ответов организмов на раздражение. Максимальное количество биолуминесцентных ответов зарегистрировано в 20 и 24 ч. В измене-

освещенности и в темноте. Такие эксперименты с активно мигрирующими видами, обитающими в относительно малом диапазоне естественного освещения, но пересекающими при вертикальных перемещениях слой воды со значительным градиентом температуры, могут способствовать оценке роли биолуминесценции, экологический смысл которой у планктонных организмов пока не определен.

Материал и методика. Исследовали два вида копепода: *Pleuromamma gracilis*

ниях временных характеристик световых сигналов аналогичных тенденций не обнаружено.

Результаты механической стимуляции *P. xiphius* также показали различия в уровнях свечения в разное время суток. Максимальная энергия светоизлучения зарегистрирована в полночь, а в рассветные часы среднее значение ее почти в два раза меньше. Минимальная энер-

Сводные данные дисперсионного анализа по результатам исследования действия температуры («С») и света («Д») на длительность, энергию и амплитуду светоизлучения *Pleuromamma gracilis*

Исследуемый параметр	Источник вариации	Критерий Фишера	
		$F_{\text{эксп}}$	$F_{\text{ст}}$
Длительность	По фактору «С»	6,2	4,1
	По фактору «Д»	1,3	4,1
	Совместное «СД»	2,0	4,1
Энергия	По фактору «С»	1,1	4,1
	По фактору «Д»	1,8	4,1
	Совместное «СД»	4,3	4,1
Амплитуда	По фактору «С»	3,4	4,1
	По фактору «Д»	7,7	4,1
	Совместное «СД»	2,5	4,1

гия биолюминесценции была в полдень: она составляла лишь треть ночного уровня. Аналогичные соотношения получены и для других энергетических характеристик свечения этого вида.

Таким образом, в случае экзогенной мотивации указанной ритмической активности в процессе генерации света внешним стимулом, контролирующим данный процесс, оказывается повышенный уровень освещенности. Другим таким фактором могут быть температурные условия, которые в процессе суточных вертикальных перемещений планктонных ракообразных изменяются с четкой цикличностью. Для проверки этого предположения, а также для оценки роли света и температуры, которую они могут оказывать на уровень биолюминесцентного потенциала копепод, поставлен эксперимент по двухуровневому ортогональному плану ПФЭ 2^2 [9].

Дисперсионный анализ результатов показал, что на длительность биолюминесцентных ответов статистически достоверное влияние оказывает температура среды (фактор «С»). На энергию всплесков значительно влияет совместное действие температуры и освещенности. Наконец, на амплитуду светоизлучения достоверно влияет освещенность (фактор «Д»). Сводные результаты дисперсионного анализа приведены в таблице.

Однако дисперсионный анализ не позволяет количественно оценить выявленные закономерности. С помощью методов множественной регрессии полученные закономерности можно представить в виде линейной модели следующего вида:

$$y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{1,2} x_1 x_2,$$

где y — исследуемый отклик системы; b_0 — свободный член; b_1 — коэффициент при кодированном значении первого фактора x_1 (температура); b_2 — коэффициент при кодированном значении второго фактора x_2 (освещенность); $b_{1,2}$ — коэффициент при кодированном значении произведения факторов $x_1 x_2$ [9]. Данные коэффициенты показывают направление и силу влияния соответствующих факторов.

Зависимость длительности всплесков *P. gracilis* от действия разных уровней освещенности и температуры можно выразить уравнением

$$y = 0,52 - 0,12 x_1.$$

Коэффициенты при x_2 и $x_1 x_2$ в данном случае незначимы (критерий Стьюдента). Отсюда можно заключить, что изменение температуры от 12 до 26 °C в целом укорачивает время биолюминесценции в полтора раза.

Уравнение зависимости амплитуды вспышек от исследуемых абиотических факторов имеет вид

$$y = 3,58 + 0,87 x_1 - 1,29 x_2,$$

откуда следует, что основное влияние на величину амплитуды вспышек имеет освещенность, причем при изменении ее от 0 до 400 лк амплитуда биолюминесцентных сигналов снижается более чем в два раза. Изменение температуры в отмеченных пределах увеличивает амплитуду в полтора раза.

Воспроизводимость проведенных экспериментов и соответствие полученных уравнений опытным данным подтверждаются статистически (критерии Кохрена и Фишера).

Таким образом, температура среды оказывает существенное влияние на время светоизлучения исследованных организмов и энергетические характеристики вспышек. Это соответствует сведениям, касающимся влияния температурных условий на биолюминесценцию некоторых планктонных организмов. Например, свечение гребневиков в высоких широтах происходит дольше, но с меньшей интенсивностью выделения энергии [11]. Экспериментально определен температурный оптимум биолюминесценции черноморской ночесветки [2]. По нашим данным, амплитуда свечения *P. gracilis* из приэкваториального района была в 2,5 раза, а средняя интенсивность свечения в три раза выше, чем в субантарктических водах [3].

Накопленный к настоящему времени материал по биолюминесценции в разных температурных условиях позволил построить температурную кривую для *P. gracilis* из экваториальной и нотальной частей Атлантики. На рис. 2 видно, что максимальная интенсивность биолюминесценции наблюдается в пределах 18—26 °C. Виды рода *Pleuromma* — одни из основных мигрантов, вертикальный диапазон перемещений которых до 500 м [4]. Сопоставление температур поверхностных и на глубине 200—300 м в тропической зоне океана показывает, что именно такой диапазон температур является оптимальным для эффективной реакции биолюминесценции.

Ж. Гастингс и Б. Суини [14] на примере очищенных и неочищенных компонентов биолюминесцентной реакции *Gonyaulax polyedra* показали, что ее оптимум, т. е. максимальная интенсивность выхода света, наблюдается при 24—25 °C. Температурная кривая, по данным этих авторов, совпадает с приводимой нами и полученной эмпирическим путем (рис. 2). Ранее аналогичные данные получены А. Чезом и П. Лоренцем (цит. по [6]) для оптимума активности люциферазы остракоды *Cypridina hilgendorffii*. Общий тип реакции и сходство фермент-субстратных комплексов биолюминесценции перидиней, остракод и копепоид позволяют считать, что временные и энергетические сдвиги характеристик биолюминесцентных сигналов копепоид, регистрируемые в более теплых водах, объясняются не физиологическими особенностями, обусловленными адаптивной структурой организма, а зависимостью скорости реакции люциферин—люцифераза от температуры среды. Отмеченная зависимость отражает известный закон Вант—Гоффа об ускорении всех химических процессов с повышением температуры.

Температура влияет также на латентный период световых вспышек. Наиболее короткий период между началом электрического возбуждения и возникновением светового ответа характерен для температур 16—24 °C и в среднем составляет 12 мс (рис. 3). С увеличением и

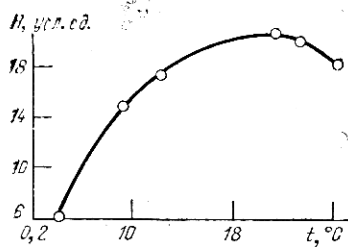


Рис. 2. Интенсивность биолюминесценции *P. gracilis* в различных температурных условиях.

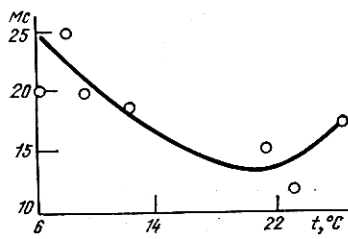


Рис. 3. Зависимость латентного периода сигналов биолюминесценции *P. gracilis* от температуры среды.

уменьшением температуры латентный период увеличивается; например, при 9 °C равен 20 мс.

Таким образом, наблюдается соответствие хода суточной кинетики биолюминесцентных сигналов, характеризующегося некоторым увеличением потенциальной светимости планктонных ракообразных в ночное время, и изменения температурных условий обитания при их суточной миграции. Это позволяет рассматривать светонизлучение таких гетеротрофов, максимальный уровень которого совпадает с повышенными пищевой активностью и поведением в более теплой поверхностной водной массе в качестве этологической нагрузки.

1. Битюков Э. П. Характеристика суточного ритма биолюминесценции *Noctiluca miliaris*. — Зоол. журн., 1968, 47, вып. 1, с. 36—41.
2. Битюков Э. П. Биолюминесценция *Noctiluca miliaris* в разных температурных условиях. — Биология моря, 1971, вып. 24, с. 70—77.
3. Битюков Э. П., Евстигнеев П. В. Основные черты светонизлучения и его видовая специфичность у копепод рода *Pleuromamma*. — Экология моря, 1982, вып. 11, с. 53—62.
4. Виноградов М. Е. Вертикальное распределение океанического зоопланктона. — М.: Наука, 1968. — 320 с.
5. Гительзон И. И. Биолюминесценция. — В кн.: Биология океана. Т. 1. Биологическая структура океана. М.: Наука, 1977, с. 318—340.
6. Гительзон И. И., Чумакова Р. И., Дегтярев В. И. Биолюминесценция моря. — М.: Наука, 1969. — 183 с.
7. Евстигнеев П. В. Биолюминесценция *Pleuromamma pisces* при электрической стимуляции. — Экология моря, 1983, вып. 14, с. 56—62.
8. Левин Л. А., Утюшев Р. Н., Артемкин А. С. Распределение интенсивности биолюминесцентного поля в экваториальной части Тихого океана. — Труды ин-та океанологии, 1975, 102, с. 94—101.
9. Лусенков А. Н. Математические методы планирования многофакторных медико-биологических экспериментов. — М.: Медицина, 1979. — 343 с.
10. Bode V. C., De Sa R., Hastings J. W. Daily rhythm of luciferin activity in *Gonyaulax polyedra*. — Sci., 1963, 141, N 3584, p. 913—915.
11. Gruner H. E. Leuchtende Tiere. — In: Wittenberg Lutherstadt, Die Neue Brehm—Buch, 1954. — 141 p.
12. Hardy F. R. S., Kay R. H. Experimental studies of plancton luminescence. — J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 1964, 44, N 2, p. 435—484.
13. Harvey E. N. Further studies on the inhibition of Cypridina luminescence by light, with some observations on methylene blue. — J. Gen. Physiol., 1926, 10, p. 103—110.
14. Hastings J. W., Sweeney B. M. On the mechanism of temperature independence in biological clock. — Proc. Nat. Acad. Sci. (USA), 1957, 43, p. 804—811.
15. Hastings J. W., Sweeney B. M. The luminescent reaction extracts of the marine dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra*. — J. Cell. and Comp. Physiol., 1957, 49, p. 209—225.
16. Krasnow R., Dunlap J. C., Taylor W. et al. Circadian spontaneous bioluminescent glow and flashing of *Gonyaulax polyedra*. — J. Comp. Physiol., 1980, 138, N 1, p. 19—26.
17. Sweeney B. M., Hastings J. W. Characteristics of the diurnal rhythm of luminescence in *Gonyaulax polyedra*. — J. Cell. and Comp. Physiol., 1957, 49, N 1, p. 115—128.
18. Swift E., Mennier V. Effects of light intensity on division rate, stimutable bioluminescence and cell size of the oceanic dinoflagellates *Dissodinium lunula*, *Pyrocystis fusiformis* and *P. noctiluca*. — J. Phycol., 1976, 12, p. 14—22.

P. V. EVSTIGNEEV, E. P. BITYUKOV
ON DIURNAL RHYTHM OF BIOLUMINESCENCE
OF MARINE COPEPODA
AND THE EFFECT OF TEMPERATURE ON IT

Summary

Diurnal fluctuations in the energy parameters of bioluminescent signals are studied in *Pleuromma gracilis* and *P. xiphias* under conditions of natural lighting. The intensity of *P. gracilis* light flashes at night is maximal and exceeds its value in the afternoon by 1.5 times. In the organism, being in the dark for twenty-four hours, the level of light emission is quasistationary. When estimating the effect of temperature and lighting on the bioluminescent signal it is shown that the amplitude of flashes decreases with the lighting rise. The energy parameters of light emission increase with the temperature. The optimal temperature conditions of the emission reaction are determined on the basis of plotting the curve of the Copepoda emission intensity depending on the environmental temperature.