

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ ИМ. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

ISSN 0203—4646

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ

1871



33

1989

Е. В. ПАВЛОВА, А. Л. МОРОЗОВА,
Р. ГОДИ, В. Я. ЩЕПКИН

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ И ДЫХАНИЕ ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ ГОЛОДАНИИ У МЕЛКИХ ПЛАНКТОННЫХ РАКООБРАЗНЫХ

Введение. При расчете продукционных характеристик гидробионтов одним из необходимых показателей является величина потребляемого в процессе дыхания кислорода. Традиционно оценка дыхания осуществляется, как правило, на основе стандартного обмена и проводится в респирометрах малого объема (30—50 мл), где подвижность животных в значительной степени ограничена.

В результате сопоставления двигательной активности животных разной систематической принадлежности — из черноморского [5, 6, 8], средиземноморского [7] и тропического планктона [4, 8] — показано, что большинство видов не безразлично к увеличению пространства и реагирует повышением степени подвижности, что влечет за собой рост потребляемого при дыхании кислорода [3]. Если такие факты не принимать во внимание, это может привести к занижению величин общего дыхания по сравнению с естественными. Поэтому мы использовали респирометры значительно большего объема (600 и 1400 мл), что позволило получить энергетический обмен, приближающийся к общему. Отсутствие пищи в течение экспозиции (6 ч) стимулировало ее поиск и создавало для ракообразных условия кратковременного голодания.

Одновременно в тех же условиях были рассчитаны энерготраты по непосредственной убыли основных биохимических компонентов органического вещества (липидов, белка и гликогена), что дало возможность сравнить расход энергии, полученный по количеству потребленного организмами кислорода и основанный на потере субстратов тела.

Методика. Эксперименты проведены при $T=22-24^{\circ}\text{C}$, что соответствовало температуре воды в море: ночью — в темноте, днем — при слабом рассеянном свете. При вылове рачков из моря соблюдался максимум осторожности, чтобы избежать их травмирования. Скорость подъема планктонной сети не превышала $0,4 \text{ м}\cdot\text{с}^{-1}$. Группа одновременно выловленных из моря особей одного вида, пола и размера делилась на две части. Одна из них использовалась для определения исходного содержания липидов, гликогена, азота, углерода и общей массы тела, другая помещалась в экспериментальные сосуды. В зависимости от размера и массы животных концентрация их в респирометрах изменялась: в 100 мл помещалось 1—2 экз. при индивидуальной сухой массе тела в пределах $0,7-1,0 \text{ мг}$, 5 экз. при массе $0,22 \text{ мг}$ и 9—11 экз. при массе $0,14-0,16 \text{ мг}$. Экспериментальные сосуды заполнялись фильтрованной водой с добавлением антибиотиков ($25 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$). В течение экспозиции трижды проводились наблюдения за активностью животных. При обнаружении лежащих на дне особей опыт выбраковывался. Спустя 6 ч измерялись аммонийная экскреция, содержание гликогена, общих липидов и количество потребленного кислорода.

Величины экскретируемого азота получены по методу Королева [13], липиды экстрагированы методом Фолча [10], гликоген определяли энзиматическим методом [17], кислород-микрометодом Винклера. Содержание азота и углерода в высушенных при 50°C образцах определено на CHN-анализаторе сотрудниками отдела экологической физиологии водорослей ИнБЮМ. При пересчете на калории использовались следующие энергетические коэффициенты: белок — 4,3 [19], липиды — 9,3, гликоген — 4,2, кислород — 3,5, углерод — 9,36. Эксперименты проведены на борту нис «Профессор Водяницкий» в тропических районах Индийского океана с 3 видами копепод (*Scolecithrix danae*

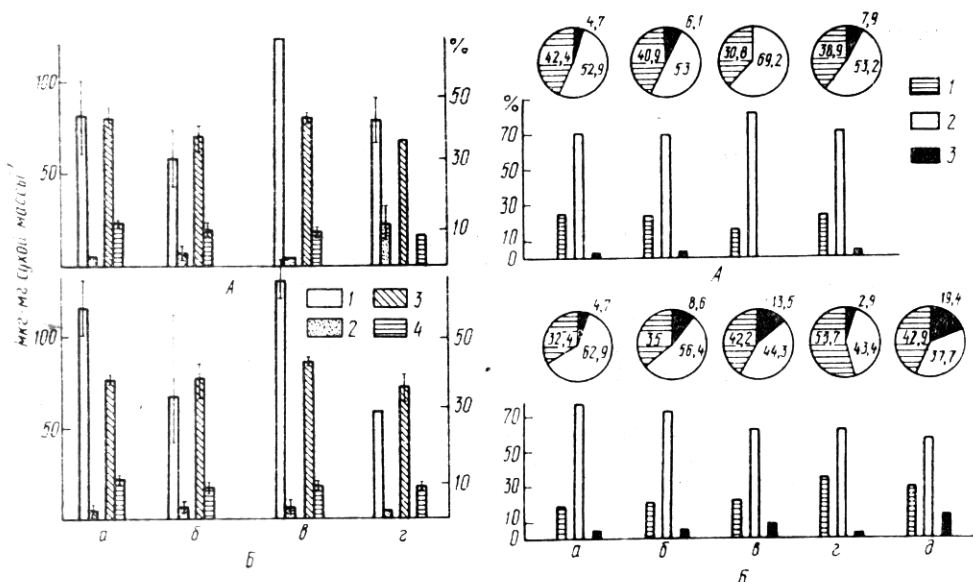


Рис. 1. Содержание биохимических субстратов в теле морских планктонтов:
 А — до 10.00 ч, Б — после 21.00 ч; а — *Scolecithrix*, б — *Pleuromamma*, в — *Eucheirella*, г — *Cypridina*; 1 — липиды, мкг·мг сухой массы⁻¹; 2 — гликоген, мкг·мг⁻¹; 3 — углерод, % сухой массы; 4 — азот, % сухой массы

Рис. 2. Использование биохимических субстратов при 6-часовом голодании (% общих затрат):

А — день, Б — ночь; а — *Scolecithrix*, б — *Pleuromamma*, в — *Eucheirella*, г — *Cypridina* (август), д — *Cypridina* (июль); 1 — белок, 2 — липиды, 3 — гликоген. Круговые диаграммы — расчет по веществу, прямоугольники — по энергетическому эквиваленту

Lubbock, *Pleuromamma abdominalis* *Lubbock* и *Eucheirella curticauda* *Giesbr.*) и 1 видом остракод (*Cypridina serrata* *Müller*). В разное время суток для каждого из видов выполнено 3—4 повторности.

Результаты и обсуждение. Содержание исследуемых субстратов в теле животных сразу после отлова из моря представлено на рис. 1. Количество липидов у исследованных видов составило 72—137, а гликогена 3—27 мкг·мг сухой массы⁻¹, азота — 7,3—11,5%, углерода — от 30,0 до 43,0% сухой массы тела. Отмечена большая стабильность уровня белка, рассчитанного по азоту, по сравнению с уровнем углеводов, а тем более липидов. Из представленных материалов следует, что достоверных различий содержания гликогена, липидов, углерода и азота в теле ракообразных в утренние и вечерние часы не наблюдалось, за исключением гликогена у остракод. В последнем случае количество гликогена утром в 6 раз превышало его среднюю величину, полученную в вечернее время. Пределы колебаний исходного количества исследуемых показателей в целом незначительны. Наибольшей вариабельностью характеризовалось содержание липидов. Вместе с тем необходимо отметить наличие специфической видовой изменчивости содержания исследуемых биологических субстратов.

После кратковременного 6-часового голодания зарегистрированы определенные изменения содержания белка, липидов и гликогена. Количество использованных за это время субстратов в процентах общих затрат представлено в виде диаграмм на рис. 2. Полученные данные свидетельствуют о том, что у рассматриваемых видов копепоид днем и ночью в качестве энергетических ресурсов в большей степени используются липиды: 44—69% при расчете по веществу (круговые диаграммы). Траты белка меньше и характеризуются величинами в пределах 30—40%. Расход гликогена не превышал 13,5%. Доля его в общих затратах у всех видов в ночное время была относительно выше. Исследуемые виды ракообразных получали энергию в основном за счет окисления липидов: у остракод — на 57—72, у копепоид — на 63—83% общего количества получаемых калорий. Участие гликогена в данном

случае относительно мало: у копепод — до 8,6, у остракод — до 13,3% (рис. 2, столбики).

Эти материалы подтверждают данные о том, что в процессе непродолжительного голодания исследованные виды копепод используют главным образом липиды [2, 14, 16, и др.], и не согласуются с мнением Т. Икеда [11] о включении липидов в качестве энергетических ресурсов лишь после 6-дневного пребывания рачков без пищи. У остракод в период исследований липиды расходовались не меньше, чем у изученных видов копепод. Это, видимо, можно объяснить особым физиологическим состоянием рачков, которые во время исследований приступили к размножению. В июле яйца остракод находились в теле на стадии созревания, а в августе самки начали вымет яиц в воду. Именно в это время наблюдался также наибольший расход гликогена у *Cypridina serrata*.

В предшествующих работах [1, 9, 18] отмечалось низкое содержание гликогена в теле морской планктонтов, не превышающее 2,2% массы тела. На этом основании участию гликогена в энергетических расходах, как правило, не придавалось особого значения. Полученные нами данные позволяют предположить более существенную роль углеводов в физиологических процессах у планктонных ракообразных.

В целом, приведенные материалы подтверждают возможность использования биохимических показателей в качестве одного из индикаторов физиологического состояния и функциональной активности мелких планктонных животных.

В табл. 1 приведены результаты исследования дыхания четырех видов зоопланктона, полученные при одновременной регистрации использования биохимических субстратов в течение 6-часового нахождения их без пищи. Применение в данной работе экспериментальных сосудов большего объема, чем принято для оценки стандартного обмена, явилось причиной увеличения средних величин интенсивности дыхания за счет добавки на активный обмен. Повышением двигательной активности особей во время опытов можно объяснить также увеличение расхода липидов по сравнению с другими субстратами и снижение в связи с этим доли белка в общем количестве затрачиваемой энергии (табл. 1).

Наличие одновременно полученных данных о дыхании и расходе за то же время субстратов тела позволило сравнить энергетические траты, рассчитанные по сумме окисленных биохимических компонентов органического вещества и количеству потребленного при этом кислорода. При измерениях, выполненных днем, процент расходования энергии субстратов с энергией дыхания варьировал от 8 до 49%. У *Scolecithrix danae* сходимость сравниваемых величин можно считать вполне удовлетворительной. У *Pleuromamma abdominalis* и *Euchirella curticauda* энергия субстратов превышает таковую дыхания на 23 и 49% (табл. 2). В естественных условиях эти 2 вида относятся к активно

Таблица 1. Потребление кислорода (мкг O_2 экз. $^{-1}$ ·ч $^{-1}$) в течение 6-часового голодания четырьмя видами зоопланктона из Индийского океана

Вид	Рассеянный свет, день		Темнота, ночь	
	Сухая масса 1 экз., мг	мкг O_2 × × экз. $^{-1}$ ·ч $^{-1}$	Сухая масса 1 экз., мг	мкг O_2 ·экз. $^{-1}$ ·ч $^{-1}$
<i>Scolecithrix danae</i>	0,224±0,0630	3,56±0,240	0,223±0,0600	2,35±0,540
<i>Pleuromamma abdominalis</i>	0,730±0,0780	7,86±1,700	0,659±0,0550	10,85±1,770
<i>Euchirella curticauda</i>	0,972±0,0080	6,53±0,620	0,839±0,0850	6,58±0,620
<i>Cypridina serrata</i> (июль, в период образования яиц)	—	—	0,178±0,0057	1,23±0,144
<i>Cypridina serrata</i> (август, в момент вымета яиц в воду)	0,164±0,0029	1,92±0,158	0,145±0,0007	1,95±0,309

Таблица 2. Сопоставление использованных биохимических субстратов и количества потребленного кислорода у четырех видов зоопланктона из Индийского океана за период 6-часового голодания (мккал·мг сухой массы⁻¹·ч⁻¹)

Вид	Рассеянный свет, день						Темнота, ночь					
	Биохимические субстраты				Потребленный O ₂	Расхождение, %	Биохимические субстраты				Потребленный O ₂	Расхождение, %
	белок	липиды	гликоген	сумма			белок	липиды	гликоген	сумма		
<i>Scotecithrix danae</i>	21,5	39,0	—	60,5	55,8	8	15,7	51,0	1,8	68,5	44,0	36
<i>Pleuromamma abdominalis</i>	18,5	35,3	1,8	55,6	43,0	23	19,2	59,0	3,7	81,9	57,6	30
<i>Euchirella curticauda</i>	12,0	45,0	—	57,0	28,6	49	15,7	27,6	2,9	46,2	28,5	38
<i>Cypridina serrata</i> (июль)	—	—	—	—	—	—	20,3	26,6	6,6	53,5	27,4	49
<i>Cypridina serrata</i> (август)	9,6	21,3	1,4	32,3	41,1	27	8,4	8,3	0,3	17,0	47,1	—

мигрирующим, отрицательно реагирующим на свет, что могло послужить причиной отмеченных отклонений. У остракод, начавших выметать яйца в воду, наблюдалось обратное: энергия дыхания на 27% превышала энергию суммы израсходованных биохимических субстратов. На наш взгляд, можно предположить две причины такого явления. С одной стороны, отмеченное увеличение потребленного кислорода могло явиться результатом дыхания яиц, выметанных в воду за время экспозиции, с другой — мог иметь место недоучет исследуемых биохимических субстратов в теле рачков за счет частичной их потери с выметанными яйцами. Ночью процесс откладки яиц у остракод более интенсивен, поэтому расхождение величины дыхания с измеренным расходом биохимических субстратов в это время суток возрастает еще больше. У копепод ночью энергия окисленных белков, липидов и углеводов выше энергии дыхания на 30—38%, у остракод до начала вымета яиц — на 49%.

Таким образом, у исследованных видов (не принимая во внимание остракод в момент вымета яиц) при кратковременном 6-часовом голодании полученные величины энергии дыхания, меньше суммы израсходованных при этом субстратов. Поскольку для данных видов темнота в ночное время более соответствует природным условиям, среднюю величину расхождения можно принять равной 38%.

При аналогичных сопоставлениях, проведенных ранее для планктонных животных, также обнаружено превышение энергии окисленных субстратов над кислородным потреблением в пределах 30—70% [11, 15, 16]. Применение различных методов и методических подходов каждым из авторов обуславливает разную степень расхождения сопоставляемых величин. Однако общая тенденция превышения энергии субстратов над энергией дыхания одинакова.

Анализируя возможные причины полученного расхождения в представленном балансе, нужно отметить следующее. Влияние стресса при вылове планктонных организмов из моря намного меньше, чем предполагалось [12]. Поэтому при аккуратном сборе планктонных проб и кратковременном сроке нахождения животных без пищи (как в данных экспериментах) следует считать влияние лабораторных условий на физиологические и биохимические процессы примерно одинаковым. Однако на конечном результате могли отразиться различные погрешности примененных в работе методик. Некоторую ошибку при расчетах вносит необходимость оценивать величины начального и конечного содержания липидов и гликогена у разных групп животных, хотя они и относятся к когорте из одного лова. Несомненно, можно было бы до-

биться большей точности при оценке потерь белка по непосредственному его измерению в теле, а не по величине азотной экскреции, как вынуждены были делать мы. Весьма справедливо также предположение ряда исследователей о том, что используемые калорические коэффициенты, установленные на позвоночных животных, могут быть не полностью пригодны для беспозвоночных [16]. Все сказанное дает основание отнести указанные выше расхождения в балансе за счет методических погрешностей при измерениях и расчете оцениваемых величин, что следует учесть при дальнейших исследованиях.

В заключение можно констатировать, что условия, более благоприятные для проявления спонтанной подвижности у взрослых тропических копепоид, способствовали увеличению расходуемого при дыхании кислорода и использованию в большей степени липидов, по крайней мере в течение первых 6 ч голодания. Для остракод наибольшая значимость липидов в общей потере массы тела была отмечена лишь в период их активного размножения. Доля гликогена в общих затратах, особенно в ночное время, может быть также довольно значительной.

1. Загородняя Ю. А. Динамика содержания гликогена у копепоид *Pseudocalanus elongatus* в связи с его экологией // Биология моря, Владивосток. — 1979. — № 1. — С. 79—82.
2. Муравская З. А., Павлова Е. В., Шульман Г. Е. О потреблении кислорода и экскреции азота у *Calanus helgolandicus* (Claus) и *Pontella mediterranea* Claus // Экология моря. — 1980. — Вып. 2. — С. 33—40.
3. Павлова Е. В. Интенсивность потребления кислорода у некоторых копепоид при увеличении объема респирометра // Биология моря, Киев. — 1977. — Вып. 42. — С. 86—94.
4. Павлова Е. В. Скорость движения копепоид из планктона Индийского океана // Экология моря. — 1981. — Вып. 5. — С. 61—65.
5. Павлова Е. В., Царева Л. В. Движение *Calanus helgolandicus* по данным киносъемки // Биология моря, Киев. — 1975. — Вып. 33. — С. 64—68.
6. Павлова Е. В., Царева Л. В. Влияние размера сосуда на двигательную активность *Calanus helgolandicus* (Claus) и *Pleurobrachia rhodopsis* Chun // Там же. — 1976. — Вып. 37. — С. 61—68.
7. Павлова Е. В., Царева Л. В. Двигательная активность некоторых животных из планктона Эгейского моря / Распределение и поведение морского планктона в связи с микроструктурой вод. — Киев: Наук. думка, 1977. — С. 66—77.
8. Павлова Е. В., Парчевский В. П., Празукин А. В. Изучение характера локомоции у морских копепоид с помощью метода главных компонент в лабораторных условиях // Экология моря. — 1982. — Вып. 11. — С. 42—53.
9. Павловская Т. В., Морозова А. Л. Изучение энергетического баланса и динамики гликогена у *Scolecithrix danae* (Lubbock) в условиях различных режимов питания // Там же. — 1981. — Вып. 5. — С. 65—76.
10. Folch J., Lees M., Stanley G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. — 1957. — 226, N 1. — P. 497.
11. Ikeda T. Changes in respiration rate and in composition of organic matter in *Calanus cristatus* (Crustacea, Copepoda) under starvation // Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. — 1971. — 21, N 4. — P. 280—298.
12. Ikeda T., Skjoldal H. R. The effect of laboratory conditions on the extrapolation of experimental measurements to the ecology of marine zooplankton. 6. Changes in physiological activities and biochemical components of *Acetes sibogae australis* and *Acartia australis* after capture // Mar. Biol. — 1980. — 58, N 4. — P. 285—293.
13. Koroleff F. Direct determination of ammonia in natural water as indophenol blue // Int. Counc. Explor. Sea Comm. Meet. (Hydrography Comm.). — 1969. — N 9. — P. 1—6.
14. Lee R. F., Nevenzel J. C., Lewis A. G. Lipid changes during life cycle of marine copepod *Euchaeta japonica* Marukawa // Lipids. — 1974. — N 9. — P. 891—898.
15. Mayzaud P. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. 2. Studies of the metabolic characteristics of starved animals // Mar. Biol. — 1973. — 21, N 1.
16. Mayzaud P. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. 4. The influence of starvation on the metabolism and the biochemical composition of some species // Ibid. — 1976. — 37, N 1. — P. 47—58.
17. Murat J. C., Serfaly A. Tissular glycogen enzymatic method // Clin. Chem. — 1974. — 20. — P. 1576.
18. Raymont J. E. G., Conover R. J. Further investigation of the carbohydrate content of marine zooplankton // Limnol. and Oceanogr. — 1961. — 6, N 2. — P. 154—164.
19. Schmidt-Nielsen K. Animal physiology // Adaptation and environment. — Cambridge: Cambridge univ. press, 1979. — P. 800.

**APPLICATION OF BIOCHEMICAL SUBSTRATES
AND RESPIRATION DURING SHORT-TERM STARVATION
OF SMALL PLANKTONIC CRUSTACEA**

Summary

The simultaneous study of four planktonic crustacea species from the Indian Ocean for the consumption of protein, glycogen, lipids in the body and oxygen uptake during 6-hour exposition has shown that lipids are a basic energy substrate. The amount of the consumed energy calculated by a sum of the used biochemical substrates is higher than that calculated by the consumed oxygen.

УДК 574.582(262)

В. Е. ЗАЙКА

**КОМПОНЕНТЫ АВТОТРОФНОГО ПЛАНКТОНА
В ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ СРЕДИЗЕМНОГО МОРЯ**

Настоящее сообщение основано на материалах, полученных в ходе совместных советско-французских исследований в 15-м рейсе нис «Профессор Водяницкий» (июнь — июль 1983 г.). Одной из задач рейса была оценка неполноты учета различных компонентов фотосинтезирующего планктона в олиготрофных водах. Игнорирование некоторых групп автотрофных организмов при полевых исследованиях предполагается в качестве одной из важных причин кажущегося дисбаланса между первичной продукцией и суммарным метаболизмом сообщества. Такое расхождение было выявлено при расчетах общего энергетического баланса, в частности для пелагиали открытых районов Средиземного моря [2].

Материал и методы исследований. Хлорофиллоносные организмы пелагиали были сгруппированы следующим образом: 1) «обычный» («осадочный» и «сетной» фитопланктон); 2) фототрофный пикопланктон; 3) автотрофные симбионты зоопланктона; 4) автотрофный пелагический перифитон (микрообrost); 5) плавающие макрофиты. Эта рабочая классификация исходит из того, что каждая из перечисленных групп требует специфических методов количественного учета. Все они известны, но проблема состоит в том, какими из групп можно пренебречь при определении суммарной первичной продукции пелагиали. Так, в последние годы выявлено, что игнорирование пикофитопланктона (из-за неадекватности стандартных методов изучения альгофлоры, определения хлорофилла и первичной продукции) ведет к серьезной недооценке суммарных показателей. Поэтому представляется необходимым для экосистем разных типов заново оценить вклад всех известных компонентов фотосинтезирующего планктона как в биомассу, так и в суммарную первичную продукцию.

В 15-м рейсе получены данные о количественном развитии пикофитопланктона, фототрофных симбионтов зоопланктона, растительного микрообраста живых и косных пелагических субстратов. Методы изучения пикофитопланктона, оброста нефтяных агрегатов и частиц пластмассы описаны в специальных работах [1, 4]. Симбионты планктонных животных учитывались в количественных сетных пробах с применением люминесцентного микроскопа (по автофлуоресценции хлорофилла).

Результаты. *Состав автотрофного пикопланктона.* Содержащие хлорофилл частицы пикопланктона относились к двум типам по цвету их люминесценции: красные и оранжевые. В спектре красных преобладал хлорофилл, т. е. они являются люминесцирующими хлоропластами типичных водорослей; размеры массовых форм — около 0,5 мкм. Оран-