УДК 591.148: 593.8(262.5)

Ю. Н. ТОКАРЕВ, О. В. МАШУКОВА, В. И. ВАСИЛЕНКО

БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЧЕРНОМОРСКИХ ГРЕБНЕВИКОВ-ВСЕЛЕНЦЕВ *MNEMIOPSIS LEIDYI* И *BEROE OVATA* ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ И ХИМИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Исследованы биофизические характеристики светоизлучения при механической и химической стимуляции у гребневиков *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz и *Beroe ovata* Eschscholtz – недавних вселенцев в Чёрное море. Амплитуда и энергия светоизлучения *M. leidyi* при химической стимуляции в 3,5 раза выше аналогичных показателей при механической стимуляции. У гребневиков *B. ovata*, напротив, зарегистрированы высокие энергетические показатели при механической стимуляции, что объясняет более интенсивном светоизлучении *in situ* гребневиков *B. ovata*. Обоснован вывод о том, что различия в биолюминесцентных характеристиках гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata* могут быть обусловлены механизмом светоизлучения гребневиков и особенностями передачи раздражения по их нервной системе.

Экосистема Чёрного моря подверглась значительным изменениям вследствие техногенного пресса и глобального изменения климата. Одно из проявлений этого – вселение в Чёрное море в 1980-е годы ктенофоры *Mnemiopsis leidyi*, радикально повлиявшей на черноморскую экосистему. Так, массовое развитие мнемиопсиса явилось одной из причин нанесения значительного экономического ущерба Украине из-за снижения более чем в 5 раз уловов планктоноядных рыб (шпрота, хамсы и ставриды) к 1991 г. [5]. Последовавшее за этим вселение в Чёрное море гребневика *Beroe ovata* привело к уменьшению биомассы *Mnemiopsis* и, как следствие, улучшению трофического состояния пелагических рыб и рыболовства [5]. Таким образом, вклад гребневиков в круговорот вещества и энергии в экосистеме и важность изучения их эколого-физиологических характеристик трудно переоценить. Вместе с тем, наряду с хорошо изученными эколого-физиологическими параметрами гребневиков [1, 3, 4, 5, 6], биолюминесцентные характеристики их жизнедеятельности, являющиеся важными показателями функционального состояния организмов и элементом их экологии, исследованы недостаточно.

Цель настоящей работы – выявить различия между биофизическими характеристиками биолюминесценции свежевыловленных гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata* при разных методах стимуляции их светоизлучения.

Материал и методы. Опыты проводили в августе – октябре 2006 и 2007 гг. Гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata* собирали в прибрежных районах на станциях Стрелецкой и Камышовой бухт г. Севастополя. Сбор проб проводили в столбе воды 0 – 30 м вертикальным ловом малой сетью Джеди, с диаметром входного отверстия 37 см, оборудованной ситом с ячеёй 500 мкм. Для опытов отбирали одноразмерную группу особей – 40 мм.

Для исключения попадания в пробу с гребневиками светящихся динофлагеллят их содержали в профильтрованной (диаметр пор мембранных фильтров 0,25 мкм) морской воде. Свежевыловленные неповреждённые особи помещали в ёмкости объёмом 3 – 5 л при температуре 18 ± 2°С и адаптировали к условиям опыта в течение 2 ч. По прошествии данного времени проводили индивидуальную стимуляцию светоизлучения гребневиков. При этом организмы *M. leidyi* и *B. ovata* разделяли на 2 группы по 40 особей в каждой: подвергающихся механической и химической стимуляции.

Приборный лабораторный комплекс для изучения биофизических характеристик гребневиков “Свет” включал высоковольтный блок питания (ВС-22); люминескоп, состоящий из приёмника светового излучения (ФЭУ-71) и темновой камеры для объекта, а также приёмного цифрового интерфейса. В темновую камеру люминескопа устанавливали специально изготовленную кювету из прозрачного оргстекла для механиче-

© Ю. Н. Токарев, О. В. Машукова, В. И. Василенко, 2008

ской и химической стимуляции гребневиков объёмом в 50 см^3. Определение характеристик биолюминесценции гребневиков проводили в дневное время при полной темноте.

Для получения адекватного природным стимулам раздражения использовали механическую стимуляцию гребневиков [2]. Метод механической стимуляции сводился к созданию потока воды в сосуде с биолюминесцентом с помощью электромеханического устройства. Возникающие при перемещении воды изменения гидрофизических характеристик приводят к деформации клеточной мембраны гребневика, которая, в свою очередь, индуцирует возникновение потенциала действия, и как следствие, светоизлучения.

Для получения информации о максимальном [2] биолюминесцентном потенциале гребневиков использовался метод химической стимуляции. При помощи шприца в кювету вводили 3 – 5 см^3 96%-го спирта, выбранного в качестве химического раздражителя.

Результаты. Типичные биолюминесцентные сигналы свежевыловленных гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata* представлены на рис. 1а, б.

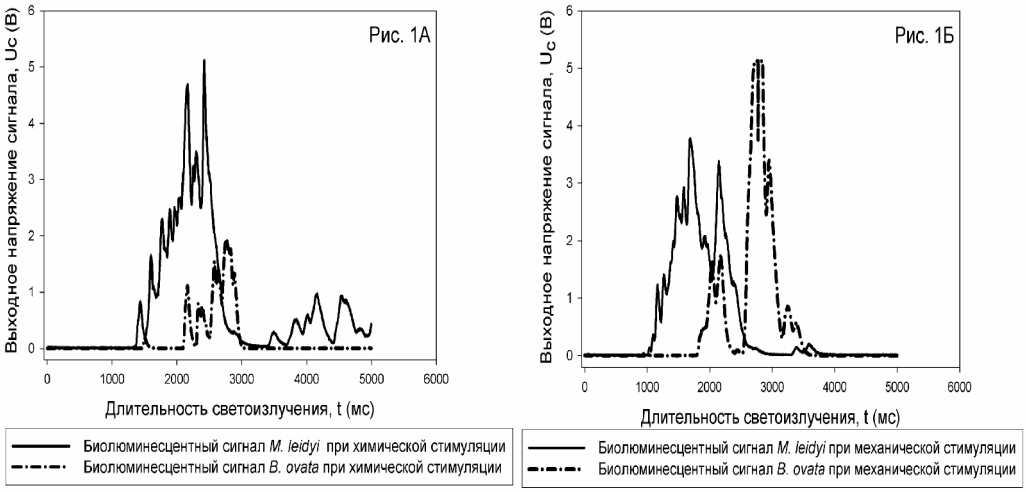

Рисунок 1. Биолюминесцентные сигналы *M. leidyi* и *B. ovata* при: А – химической стимуляции; Б – механической стимуляции
Figure 1. The bioluminescence signals of *M. leidyi* and *B. ovata*: A – at the chemical stimulation; B – at the mechanical stimulation

Типичные световые сигналы гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata* представляют собой ряд последовательных вспышек, зачастую накладывающихся друг на друга. В сигнале гребневика *M. leidyi* можно выделить две составляющие: первая – постепенно нарастающее свечение со средней амплитудой и пологим фронтом нарастания и спада; и на этом фоне выделяется вторая – резкие непродолжительные вспышки большой амплитуды быстро достигают максимума и также быстро спадают.

Сигнал *B. ovata*, как правило, более синхронен, в нём представляется более трудным выделить две вышеописанные составляющие. В ответ на механические стимулы *B. ovata* формирует один или несколько интенсивных пиков с крутым фронтом нарастания, и таким же фронтом затухания. Следует отметить, что в большинстве случаев несколько последовательных пиков отчётливо разделены небольшим временным интервалом и не сливаются друг с другом. В случае же применения химических стимулов интенсивность светоизлучения падает. При этом последовательные вспышки накладываются одна на другую, световой сигнал напоминает таковой гребневика *M. leidyi,* отличаясь при этом более низкой интенсивностью.

В табл. 1 представлены значения биолюминесцентных характеристик свежевыловленных одноразмерных гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata*. Результаты соотношения характеристик светоизлучения гребневиков *M. leidyi* при механической и химической стимуляции представлены на рис. 2.

Таблица 1. Основные характеристики биолюминесценции *M. leidyi* и *B. ovata*
Table 1. The main bioluminescence characteristics of *M. leidyi* and *B. ovata*

Вид	Амплитуда светоизлучения, квант•сек$^{-1}$•см$^{-2}$		Энергия светоизлучения при взаимном расстоянии между кюветой и плоскостью фотокатода ФЭУ=2 см, квант·см$^{-2}$		Длительность фронта нарастания, с		Длительность спада, с		Общая длительность светоизлучения, с	
	Мех	Хим	Мех	Хим	Мех	Хим	Мех	Хим	Мех	Хим
M. leidyi	$11{,}9\cdot10^8$	$46{,}1\cdot10^8$	$13{,}6\cdot10^8$	$49{,}9\cdot10^8$	0,8	0,71	0,7	1,8	1,5	2,5 2,8
B. ovata	$7{,}99\cdot10^8$	$3{,}94\cdot10^8$	$2{,}07\cdot10^8$	$0{,}88\cdot10^8$	0,36	0,54	1,03	1,7	1,4	2,27

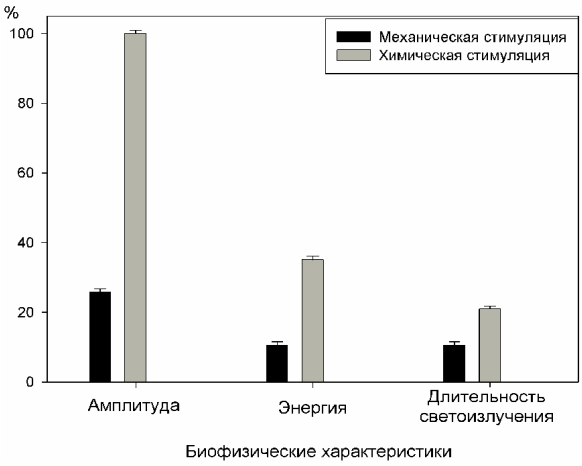

Рисунок 2. Соотношение биофизических характеристик светоизлучения *M. leidyi* при разном методе стимуляции
Figure 2. The biophysical characteristics of the light-emission ratio of *M. leidyi* at the different method of stimulation

Как следует из представленного иллюстративного материала (табл. 1; рис. 2), характеристики светоизлучения *M. leidyi* при механической и химической стимуляциях существенно отличаются. Так, в результате химической стимуляции организмы демонстрировали серию ярких вспышек, перетекающих одна в другую, причём последующие вспышки сравнимы с первоначальной по амплитуде.

При химической стимуляции (табл. 1) амплитуда светоизлучения гребневика составляла $46{,}08\cdot10^8 \pm 2{,}3$ квант·сек$^{-1}$·см$^{-2}$, при этом регистрировались высокие энергетические показатели – до $49{,}89\cdot10^8 \pm 2{,}99$ квант·см$^{-2}$ и длительный сигнал светоизлучения: в среднем 2,54 – 2,80 с, достигая у отдельных особей до $3{,}694 \pm 0{,}18$ с. Длительность фронта нарастания составляла при этом 0,71 с, фронта спада – 1,84 с ($p<0{,}05$).

При механическом типе стимуляции *M. leidyi* наблюдается более слабое светоизлучение, выражающееся в низких пиках амплитуды (до $11{,}88\cdot10^8 \pm 0{,}59$ квант·сек$^{-1}$·см$^{-2}$), незначительных показателях энергии светоизлучения (до $13{,}6\cdot10^8 \pm 0{,}67$ квант·см$^{-2}$) и коротком биолюминесцентном сигнале ($1{,}5 \pm 0{,}075$ с). Длительность фронта нарастания составляла при этом 0,8 с, фронта спада 0,7 с ($p<0{,}05$).

Таким образом, амплитудно-энергетические параметры биолюминесценции при химической стимуляции мнемиопсиса в 3,5 раза превышают таковые при механической стимуляции.

Энергетические показатели биолюминесценции *B. ovata*, в отличие от биолюминесцентных характеристик *M. leidyi*, наиболее чувствительны к действию механической стимуляции. Параметры светоизлучения *B. ovata*, осреднённые по выборке, представлены на рис. 3.

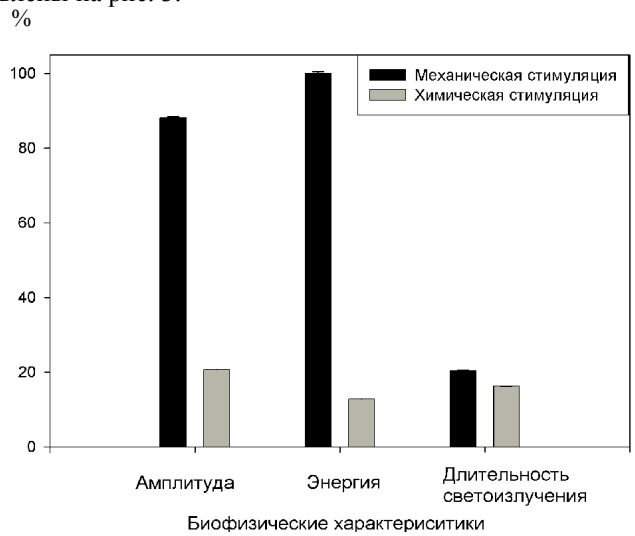

Рисунок 3. Соотношение биофизических характеристик светоизлучения *B. ovata* при разном методе стимуляции
Figure 3. The biophysical characteristics of the light-emission ratio of *B. ovata* at the different method of stimulation

Амплитуда сигнала *B. ovata* (рис. 3, табл. 1) в 2 раза выше при механической стимуляции, чем при химической, составляя $7{,}99 \cdot 10^8$ квант·сек$^{-1}$·см$^{-2}$; энергия свечения механически стимулируемых особей достигает $2{,}07 \cdot 10^8 \pm 0{,}10$ квант·см$^{-2}$, что в 2 раза превышает аналогичные показатели при химической, квантовый выход которой составляет $0{,}88 \cdot 10^8 \pm 0{,}04$ квант·см$^{-2}$. Длительности вспышек *B. ovata* практически не отличаются от таковых у *M. leidyi*, достигая в среднем при механической стимуляции 1,39 ± 0,06 с, при химической – 2,27 ± 0,13 с, при этом длительности фронта нарастания и спада составляют при механической стимуляции 0,36 и 1,03 с соответственно; при химической – 0,54 и 1,7 с ($p<0{,}05$).

Обсуждение. Известно, что биолюминесцентный свет гребневиков дезориентирует зрячих хищников и отпугивает быстро движущихся крупных животных, способных повредить желеобразный светящийся организм при случайном столкновении с ним. Поэтому защитная импульсная биолюминесценция обычно возникает синхронно с двигательной реакцией испуга [7]. Вместе с тем, вполне вероятно, что биолюминесценция гребневиков является средством их коммуникации. Так, по нашим визуальным наблюдениям, реакция механически потревоженной особи как у *B. ovata*, так и *M. leidyi* вызывает подражательное свечение других особей, находящихся поблизости. Такое явление наблюдали у гребневиков *Bolinopsis*, колониальных оболочников *Pyrosoma*, эвфаузиевых раков *Meganyctiphanes* [7].

Между тем различия в характеристиках светоизлучения гребневиков при разном способе стимуляции могут быть обусловлены как разной чувствительностью организмов к тому или иному стимулу, так и различием механизмов их светоизлучения. Так, химическая стимуляция *M. leidyi* приводит к полному высвечиванию особей, заканчивающемуся их гибелью, а также изменяет химизм самой реакции. Именно этим объясняются высокие показатели амплитуды и энергии светоизлучения при химической стимуляции. Механическая стимуляция *M. leidyi*, которая соответствует по способу и интенсивности воздействия природным гидродинамическим стимулам (волнению воды, перемешиванию водных масс и т.д.), в большинстве случаев не приводит к гибели организмов, а лишь раздражает часть механорецепторных клеток гребневиков.

Напротив, можно предположить, что гребневики *B. ovata* обладают определённой устойчивостью к действию этилового спирта, реагируя, в основном, на механическое раздражение. Возможно, именно поэтому в природе при визуальном наблюдении *B. ovata* светится намного ярче, чем *M. leidyi*.

Вместе с тем, как следует из материалов исследования латентного периода биолюминесцентной реакции, время её наступления у *M. leidyi* в среднем на 987 ± 49,35 мс меньше, чем у *B. ovata*. Предполагается, что параметры светоизлучения *M. leidyi* и *B. ovata* отражают особенности распространения раздражения по нервной системе гребневиков. Так, первая составляющая в сигнале *M. leidyi* отражает общее количество вовлеченных в процесс фотоцитов, при этом направление их светоизлучения может быть направлено в сторону от источника регистрации свечения (ФЭУ). Вторая же составляющая отражает реакцию отдельных фотоцитов или же небольших групп фотоцитов, направленных непосредственно на ФЭУ. Возбуждение в нервной системе у *B. ovata* передается быстрее. Возможно, это связано с его образом жизни как активного хищника и необходимостью при этом синхронно активировать мускулатуру тела.

Таким образом, вследствие выявленных в процессе экспериментов значительных различий в параметрах биолюминесценции гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata* можно сделать вывод о том, что биолюминесцентная вспышка у данных видов организмов видоспецифична. Очевидно, что полученные закономерности могут быть использованы для целей экологического мониторинга, для чего, однако, требуется изучение механизмов биолюминесценции гребневиков при влиянии на них различных абиотических и антропогенных факторов.

Выводы. 1. Показана видоспецифичность биолюминесценции гребневиков-вселенцев *M. leidyi* и *B. ovata*, биофизические характеристики светоизлучения которых при химической и механической стимуляции значимо отличаются. **2.** Показатели биолюминесценции при химической стимуляции выше у *M. leidyi*. Более высокая чувствительность *B. ovata* к действию механической стимуляции объясняется механизмом стимуляции его светоизлучения. **3.** Биолюминесцентные характеристики гребневиков могут быть использованы для экологического мониторинга.

1. *Верещака А. Л.* Особенности микромасштабного распределения желетелого макропланктона в Чёрном море у побережья Геленджика (август 2000 г.) // Океанология. – 2002. – **42**, №1. – С. 91 - 97.
2. *Токарев Ю. Н.* Основы биофизической экологии гидробионтов. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. – 342 с.
3. *Финенко Г. А., Аболмасова Г. И., Романова З. А.* Питание, потребление кислорода и рост гребневика *Mnemiopsis mccradyi* в зависимости от концентрации пищи // Биология моря. – 1995. – **20**, №5. – С. 315 - 320.
4. *Цихон-Луканина Е. А., Резниченко О. Г., Лукашева Т. А.* Уровень потребления личинок рыб гребневиком мнемиопсисом в прибрежье Чёрного моря // Океанология.– 1993. – **33**, № 6. – С. 895 – 899.
5. *Шушкина Э. А., Мусаева Э. И., Анохина Л. Л.* и др. Роль желетелого макропланктона: медуз аурелий, гребневиков мнемиопсиса и берое в планктонных сообществах Чёрного моря // Океанология. – 2000. – **40**, №6. – С. 859 – 861.
6. *Finenko G. A, Romanova Z. A. Abolmasova G. I.* et al. Population dynamics, ingestion, growth and reproduction rates of the invader *Beroe ovata* and its impact on plankton community in Sevastopol Bay, the Black Sea // J. Plankton Res. – 2003. – **25**, No. 5. – P. 539 - 549.
7. *Labas Y. A., Gurskaya N. G., Yanushevich Y. G.* et al. Diversity and evolution of the green fluorescent protein family // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – **99**, No. 7. – P. 4256 - 4261.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 10.09.2008

Yu. N. T O K A R E V, O. V. M A S H U K O V A, V. I. V A S I L E N K O

THE BIOLUMINISCENCE OF CTENOPHORE - ALIENS
MNEMIOPSIS LEIDYI* AND *BEROE OVATA
IN THE BLACK SEA
AT THE MECHANICAL AND CHEMICAL STIMULATION

Summary

Biophysical characteristics of light-emission of ctenophore *Mnemiopsis leidyi* A Agassiz and *Beroe ovata* Eschscholtz - recent aliens to the Black Sea at the mechanical and chemical stimulation have been researched. Amplitude and energy of light-emission at the chemical stimulation of *M. leidyi* were 3,5 times more than similar parameters at the mechanical stimulation. High energy characteristics of *B. ovata*, on the contrary, are registered at the mechanical stimulation. These results explain more intensive light-emission of ctenophore *B. ovata* in situ. The substantiated conclusion: distinctions in the bioluminescent characteristics of ctenophora *M. leidyi* and *B. ovata* can be caused by mechanism of light-emission and features of transfer of irritation on nervous system of ctenophore.