

О. В. МАШУКОВА, А. Н. ХАНАЙЧЕНКО, Ю. Н. ТОКАРЕВ,
Н. В. БУРМИСТРОВА

ВЛИЯНИЕ ПИТАНИЯ НА БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРЕБНЕВИКА *MNEMIOPSIS LEIDY* (STENOPHORA: LOBATA)

У гребневика *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz – недавнего вселенца в Чёрное море – исследованы биофизические характеристики светозлучения в связи с условиями питания. У накормленных гребневиков амплитуда в 4 – 5 раз, а энергия светозлучения в 2 – 3 раза выше аналогичных показателей у голодающих особей. Характеристики светозлучения свежевыволвленных гребневиков близки к таковым у накормленных организмов, что свидетельствует об их хорошей обеспеченности пищей в природе. Зарегистрировано существенное влияние на характеристики биолюминесценции состава пищи *M. leidyi*: высокие энергетические показатели наблюдаются при питании гребневиков коловратками *Brachionus plicatilis* и копеподами *Acartia tonsa*, низкие – при питании кладоцерами *Moina micrura*. Предполагается, что различия в биолюминесцентных характеристиках гребневиков с разным составом пищи могут быть обусловлены особенностями биохимического состава потребляемой ими пищи.

Одним из факторов, радикально повлиявшим на экосистему Чёрного моря, явилось вселение в него в 1980-е годы гребневика *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, по-видимому, привнесённого из эстуариев Северной Америки вместе с балластными водами судов. Массовое развитие мнемипсиса в Чёрном море к 1988 г. подорвало запасы кормового мезозoopланктона и, как следствие, планктоноядных рыб [7], что существенно изменило таксономическую, трофическую и размерную структуру сообществ эпипелагиали.

В настоящее время изучены интенсивность обмена, потребления пищи, скорость роста, сезонная динамика, состав органического вещества гребневиков [1, 5]. Тем не менее, столь важная характеристика жизнедеятельности гребневиков, как параметры их биолюминесценции, остаётся малоизученной. Неясна, в частности, связь между трофодинамикой *M. leidyi* и его биолюминесценцией. Поэтому целью данного исследования было изучение влияния питания на биолюминесценцию гребневиков. Одна задача заключалась в определении различий биолюминесцентных характеристик у свежевыволвленных, голодающих и экспериментально накормленных гребневиков, вторая – в определении вариабельности биофизических характеристик светозлучения гребневиков от состава их пищи при естественных температурных условиях.

Материал и методы. Опыты проводили в июле – августе 2006 г. Гребневиков собирали на станциях Севастопольской и Камышовой бухт вертикальным ловом малой сетью Джеди, с диаметром входного отверстия 27 см, оборудованной ситом с ячейей 500 мкм. Облавливаемый столб воды 0 – 30 м. Для опытов отбирали одноразмерную группу особей – 40 мм (орально-аборальная длина). Для перехода от длины к сырой и сухой массе тела гребневиков использовали эмпирические уравнения [6]: $W_{сыр} = 2,36 \cdot L^{2,35}$, $W_{сух} = 0,0331 \cdot W_{сыр}^{0,939}$, где L – длина тела, мм; $W_{сыр}$ – масса сырого, а $W_{сух}$ – сухого вещества, мг. Сухая масса тела гребневиков данной размерной группы составляла 0,25 г; сырой вес – 13,73 г. Гребневиков содержали в ёмкостях с профильтрованной (диаметр пор мембранных фильтров 0,25 мкм) морской водой объёмом 3–5 л при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Для определения влияния накормленности гребневиков на их биолюминесценцию организмы разделяли на 3 группы: свежевыволвленные (контроль), голодающие в течение 2 сут. и накормленные особи, объектом питания которых были копеподы *Acartia tonsa* Dana. Выбор экспериментального кормления был обусловлен тем, что обычно в составе мезозoopланктона во второй половине лета в Севастопольской бухте, в районе отлова гребневиков, преобладают каланоидные копеподы [4]. Вместе с

тем, в природных условиях встречаемость *A. tonsa* в пище черноморского мнемипсиса составляет до 29,0 % [6].

При определении вариабельности биофизических характеристик светозлучения от состава пищи гребневиков разделяли на 3 экспериментальные группы, для которых использовали разные объекты питания (кормовые организмы): 1) Сорепода: *Acartia tonsa* (группа *Mnemiopsis* – *Acartia*), 2) Rotatoria: *Brachionus plicatilis* (группа *Mnemiopsis* – *Brachionus*) и 3) Cladocera: *Moina micrura* (группа *Mnemiopsis* – *Moina*). Кормовым организмам один раз в сутки добавляли микроводоросли сем. Naptophyceae: *Isohrysis galbana* Parke (*A. tonsa* и *B. plicatilis*) и *Monochrysis lutheri* (*M. micrura*), концентрация которых в течение суток варьировала от $5 \cdot 10^5$ до $5 \cdot 10^4$ кл/мл.

Концентрацию кормовых организмов корректировали ежесуточно, поддерживая её на уровне не менее 0,35 мг-сухой массы $\cdot$ л⁻¹. При таком уровне обеспеченности пищей гребневики достаточно подвижны (активно плавают) и максимально потребляют кислород [5], что предполагает их способность к интенсивной биолюминесценции [3]. Для поддержания данного питания гребневиков, в экспериментальные сосуды вносили кормовые организмы в следующих концентрациях: (1) копепод *A. tonsa* – 70 экз $\cdot$ л⁻¹; (2) коловраток *B. plicatilis* – 600 экз $\cdot$ л⁻¹; (3) кладоцер *M. micrura* – 40 экз/л. Концентрации кормовых организмов ежесуточно определяли путём их подсчёта в аликвоте объёма в камере Богорова, после чего доводили до исходных значений.

Эксперименты по регистрации светозлучения гребневиков начинали по прошествии 2 сут. после начала кормления определённым видом корма. Опытные и контрольные организмы (в каждой группе: 50 особей) адаптировали к условиям опыта по регистрации сигналов в течение 2 час.

Приборный лабораторный комплекс для изучения биофизических характеристик *M. leidyi* "Свет" включал высоковольтный блок питания (BC-22); люминескоп, состоящий из приёмника светового излучения (ФЭУ-71) и темновой камеры для объекта, а также регистрирующего устройства – цифрового интерфейса. В темновую камеру люминескопа устанавливали специально изготовленную кювету объёмом в 50 см³ из прозрачного оргстекла для механической и химической стимуляции гребневиков. Определение характеристик биолюминесценции гребневиков проводили в дневное время при полной темноте.

Биофизические характеристики светозлучения *M. leidyi* изучали при механической и химической стимуляции. Для получения адекватного природным стимулам раздражения использовали механическую стимуляцию гребневиков [2, 3]. 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, светозлучения.

Для получения информации о максимальном [2] биолюминесцентном потенциале гребневиков использовался метод химической стимуляции. При помощи шприца в кювету вводили 3 – 5 см³ 96% спирта, выбранного в качестве химического раздражителя.

Результаты. Зависимость усреднённых по выборке биолюминесцентных характеристик *M. leidyi* от степени накормленности организмов представлена на рис.1. Выявлено, что амплитуда, энергия и длительность светозлучения биолюминесценции свежевывловленных гребневиков *M. leidyi* в 2 раза больше ($p < 0,05$), чем у голодающих в течение 2 сут. особей (рис.1). При сравнении накормленных копеподами и голодающих гребневиков установлено, что амплитуда светозлучения накормленных особей в 4-5 раз, а энергия светозлучения в 2-3 раза выше, чем аналогичные характеристики биолюминесценции у голодающих гребневиков. Длительность светозлучения свежевывлов-

ленных особей (в контроле) в 1,5 раза превышает таковые в экспериментальных группах, длительности сигналов в которых практически не отличались.

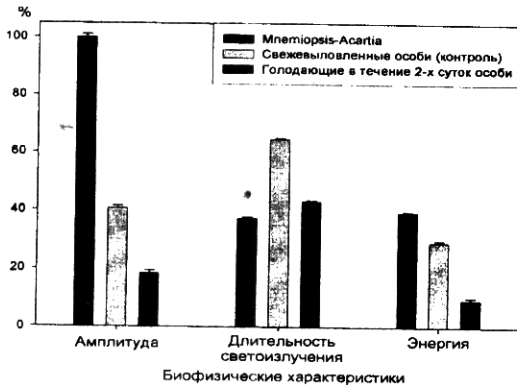


Рисунок 1. Соотношение амплитуды, длительности и энергии светового излучения *M. leidy* при разной накормленности

Figure 1. The amplitude, duration and energy of the light-emission ratio of *M. leidy* with different nutritional status

Типичные биолюминесцентные сигналы гребневика *M. leidy* при разных трофических условиях представлены на рис. 2.

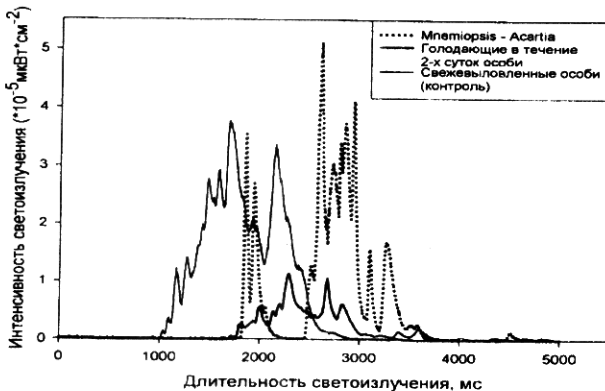


Рисунок 2. Типичные биолюминесцентные сигналы *M. leidy* при разной накормленности

Figure 2. The typical bioluminescence signals of *M. leidy* with different nutritional status

У накормленных особей, по сравнению с контролем (рис. 2), наблюдается более интенсивное световое излучение, в 3-4 раза превышающее контроль. У голодных гребневиков отмечается слабое световое излучение, выражающееся в низких пиках амплитуды, незначительных показателях энергии светового излучения и коротком сигнале — до 1,902 с. Однако, в контрольной группе гребневиков длительность сигнала вспышки достигала максимальных значений — до 3,694 с и превышала длительность вспышки опытных организмов, питавшихся *A. tonsa*.

Сопоставлены показатели светового излучения накормленных особей, источником питания которых были *A. tonsa*, *B. plicatilis* и *M. Micrura*, с таковыми у контрольной группы. На рис. 3. показаны усреднённые по выборке изменения амплитуды, длительности и энергии светового излучения *M. leidy* при различном типе питания. Максимальные значения амплитуды наблюдались в группе *Mnemiopsis* – *Brachionus*, которые в 2-3 раза ($p < 0,05$) превышали интенсивность светового излучения в контрольной группе. Амплитуды светового излучения в группах *Mnemiopsis* – *Acartia* и *Mnemiopsis* – *Moina* практически не отличались, но были вдвое выше, чем в контрольной группе.

Длительность импульса гребневиков при питании *A. tonsa* сходна с данными показателями в контрольной группе, время светового излучения в которой достигало, по сравнению с другими опытными организмами, максимальных значений — до 3,612 с.

Наименее продолжительные сигналы – до 0,416 с. ($p < 0,05$) наблюдали у особей из группы, питавшихся *M. micrura*.

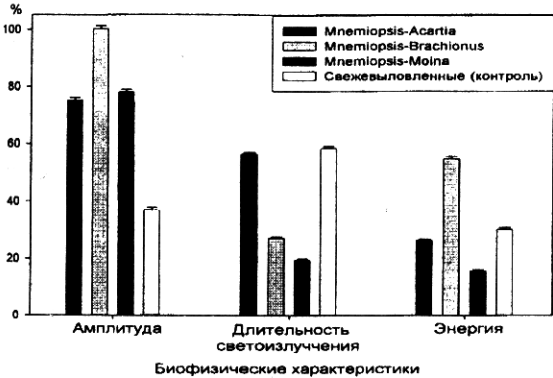


Рисунок 3. Соотношение биофизических характеристик светозлучения гребневика *M. leidy* при разном питании

Figure 3. The biophysical characteristics of the light-emission ratio of *M. leidy* with different nutrition

Энергетические показатели у особей из контрольных групп также практически не отличались от таковых из группы, питавшейся *A. tonsa*. Так, энергия светозлучения гребневиков при питании коловратками в 2 раза превышала аналогичные показатели у особей из контрольной и опытной группы – *Mnemiopsis* – *Acartia* и в 3 раза ($p < 0,05$) превышала данные показатели у *Mnemiopsis* – *Moina*, причём у особей группы *Mnemiopsis* – *Moina* энергетические показатели оказались самые низкие.

Типичные биолюминесцентные сигналы гребневиков *M. leidy* при разном составе пищи представлены на рис. 4.

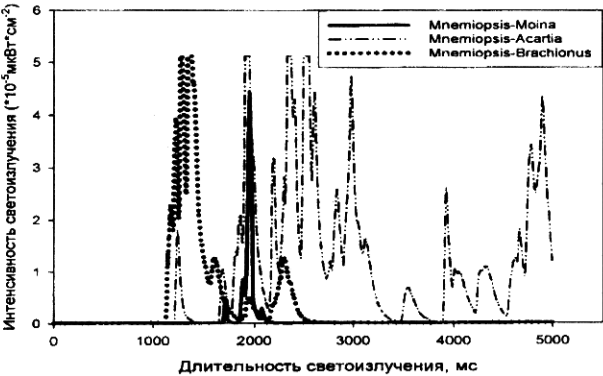


Рисунок 4. Типичные биолюминесцентные сигналы гребневиков *M. leidy* при разном питании

Figure 4. The typical bioluminescence signals of *M. leidy* with different nutrition type

Биолюминесцентные сигналы *M. leidy* в значительной мере зависят от состава пищи. Так, гребневиков, получавшие в пищу *M. micrura*, в ответ на стимуляцию реагировали короткими интенсивными вспышками, но при этом общая энергия светозлучения оставалась невелика. Организмы, получавшие в качестве пищи *A. tonsa*, напротив, демонстрировали серию ярких вспышек, перетекающих одна в другую, причём последующие вспышки были сравнимы с первоначальной по амплитуде.

Общая длительность светозлучения и энергия вспышки ктенофор в группе *Mnemiopsis* – *Acartia* значительно превосходят таковые у группы *Mnemiopsis* - *Moina*. Биолюминесцентные характеристики группы гребневиков, получавших в пищу коловраток, носят промежуточный характер: интенсивные вспышки более продолжительны, чем у гребневиков, потреблявших *M. micrura*, однако они лишь изредка сопровождаются появлением последующих вспышек, а их интенсивность ниже первоначальной.

Обсуждение. Биолюминесценция гребневиков, как и любых других светящихся организмов, тесно связана с особенностями их метаболизма. Различия в характеристиках

светоизлучения гребневиков могут быть обусловлены различным уровнем потребления ими кислорода. Так, связь люминесцентных реакций с дыхательной цепью обнаружена у динофлагеллят – чем больше кислорода потреблялось ими, тем интенсивнее они светились [3].

Уровень потребления кислорода у свежельвовленных гребневиков такой же, как у животных, содержащихся при концентрации пищи $60 \text{ экз} \cdot \text{л}^{-1}$ *A. tonsa* при той же температуре среды, и составляет в среднем $0,35 \text{ мл } \text{O}_2 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$. Интенсивность потребления кислорода у голодающих особей значительно снижается в течение 2 сут. [5]. Возможно, именно гипоксия организмов, вызванная голоданием, приводит к снижению у них энергетических показателей биолюминесценции.

Учитывая биохимическую природу биолюминесцентных реакций, вполне вероятно также предположить, что изменения биохимического состава гребневиков при голодании приводят к существенным изменениям биофизических характеристик их светоизлучения. Наиболее энергоёмкими соединениями являются липиды, которые ктенофоры не обладают способностью резервировать в больших количествах, и поэтому могут получать их только из пищи. Наблюдаемое в экспериментах угнетённое состояние гребневиков при голодании объясняется, по-видимому, пониженным содержанием резервного полисахарида – гликогена (36,9 – 40,3%), помимо которого они вынуждены расходовать структурные липиды (фосфолипиды и стереины), углеводы и белок [1].

Кроме того, различия характеристик биолюминесцентных сигналов гребневиков разных экспериментальных групп могут быть обусловлены разным биохимическим составом потребляемого гребневиками корма [1]. Возможно, именно липидный состав пищи гребневиков, в частности, содержание в них ненасыщенных жирных кислот, особенно, докозагексаеновой кислоты (ДГК), при питании разными пищевыми объектами оказывает влияние на характеристики их биолюминесцентных сигналов [10]. Содержание липидов и, особенно, жирных кислот в составе липидов у коловраток, копепод и мойн различно и в значительной мере определяется составом начального звена их трофической цепи, микроводорослей, которыми они питаются [9]. Так, состав микроводорослей, которыми питалась мойна, существенно отличается от состава микроводорослей, употребляемой в пищу коловратками и копеподами: в *I. galbana* содержится 4,2% ДГК от всех жирных кислот, а у *M. lutheri* – только 0,6% [8]. Липидный состав коловраток обычно соответствует составу микроводорослей, которыми они питаются. У акарций он колеблется в меньшей степени и ДГК в них варьирует от 1,5 до 20%, а в липидном составе мойн ДГК редко превышает следовые количества [11].

Наконец, можно предположить, что на характеристики светоизлучения гребневиков влияет проницаемость их мембран, определяемая, в частности, концентрацией в пище кальция, которая варьирует в разных кормовых организмах: от 0,015% от химического состава коловраток до 0,01% у мойн и 0,05% у акарций [11].

Таким образом, исходя из полученных нами данных, можно предположить, что характеристики биолюминесцентных сигналов гребневиков обусловлены как степенью их накормленности, так и составом потребляемой ими пищи.

Выводы: 1. Установлено влияние состава пищи на варибельность характеристик биолюминесценции *Mnemiopsis leidyi*. 2. Наиболее высокие энергетические показатели светоизлучения наблюдаются у гребневиков, потребляющих в пищу копепод *Acartia tonsa* и коловраток *Brachionus plicatilis*; низкие – при питании клadoцерами *Moina micrura*. 3. Параметры биолюминесценции свежельвовленных гребневиков в 2 раза выше, чем аналогичные показатели у голодающих особей. 4. Различия в биолюминесценции гребневиков могут быть обусловлены особенностями биохимического состава потребляемой ими пищи.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за помощь при работе с лабораторным оборудованием ведущим инженерам отдела биофизической экологии ИнБИОМ НАНУ В.И. Василенко и М.В. Силакову, за ценные советы – старшим научным сотрудникам отдела

физиологии животных и биохимии ИнБЮМ НАНУ, к.б.н. З.А. Романовой и Г.И. Аболмасовой. Особую благодарность авторы выражают за сбор экспериментального материала ведущим инженерам отдела биофизической экологии Д.В. Чуб и планктона Д.А. Алтухову.

1. Аннинский Б. Е. Сезонная динамика химического состава органического вещества гребневиков *Mnemiopsis leidyi* A.Agassiz в Чёрном море // Океанология. – 1995. – 35, вып. 3. – С. 426 – 429.
2. Бородин Д. В. Стимуляция биолюминесценции морских динофлагеллят: Анализ методов // Экология моря. – 2002. – 21, №5. – С. 315 – 320.
3. Гительзон И. И., Левин Л. А., Утюшев Р. Н. и др. Биолюминесценция в океане. – С.-Петербург: Гидрометеиздат, 1992. – 283 с.
4. Губанова А. Д. Многолетние изменения в сообществе зоопланктона Севастопольской бухты / Под ред. В.Н. Еремеева, А.В. Гаевской. Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма НАН Украины. – ИнБЮМ, Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. – С. 83 – 94.
5. 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. – 21, №5. – С. 315 – 320.
6. Цихон-Луканина Е. А., Резниченко О. Г., Лукашева Т. А. Количественные закономерности питания черноморского гребневика *Mnemiopsis leidyi* // Океанология. – 1991. – 31, № 2. – С. 272 – 276.
7. Шушкина Э. А., Мусаева Э. И., Анохина Л. Л. и др. Роль желетелого макропланктона: медуз аурелий, гребневиков мнемипсиса и берес в планктонных сообществах Чёрного моря // Океанология. – 2000. – 40, №6. – С.859 – 861.
8. Ben-Amotz A., Fishler R., Schneller A. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids // Mar.Biol. – 1987. – 9. – P. 31 – 36.
9. Brett M., Müller-Navarra D. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes // Freshwater Biology. – 1997. – 38, N 3. – P. 483 – 499.
10. Brown M. R., Jeffrey S. W., Volkman J. K. et al. Nutritional properties of microalgae for mariculture // Aquaculture. – 1997. – 151. – P. 315 – 331.
11. Watanabe T., Arakawa T., Kitajima C. et al. Nutritional quality of living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish // Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. – 1978. – 44, N 11. – P. 1223 – 1227.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Поступила 25 апреля 2008 г.

O. V. MASHUKOVA, A. N. KHANAICHENKO, Yu. N. TOKAREV,
N. V. BURMISTROVA

INFLUENCE OF NUTRITION ON THE BIOLUMINESCENCE CHARACTERISTICS OF *MNEMIOPSIS LEIDYI* (CTENOPHORA: LOBATA)

Summary

Biophysical characteristics of light-emission of ctenophore *Mnemiopsis leidyi* Agassiz recent introducer to the Black Sea have been researched in connection with conditions of their nutrition. Amplitude of fed ctenophore was 4 – 5 times more, and energy of light-emission 2 – 3 times more than similar parameters in starving specimens. Characteristics of light-emission of quite recently caught ctenophore are close to those in fed organisms that testifies to their good being supplied with food in nature. Essential influence of food composition on characteristics of bioluminescence in *M. leidyi* is registered: high energy parameters are observed when ctenophore was fed with *Brachionus plicatilis* (Rotatoria) and *Acartia tonsa* (Copepoda), low – with *Moina micrura* (Cladocera). We suppose that distinctions in bioluminescent characteristics of ctenophore with different food composition can be caused by features of biochemical structure of food they consume.