

October-November, 1989. It was established that the content of protein in crustacea varied from 5.0 to 20.6% per wet body mass, that of total lipids — from 0.5 to 2.4%. True correlation (0.79) between the protein content in the euphausiira body and their biomass has been found. Investigation results prove that the data concerning the protein level in the Euphausia body may be used for the spatial estimate of the state of their populations.

УДК 591.148.1.577.472 (26)

П. В. ЕВСТИГНЕЕВ

ВЛИЯНИЕ СОЛЕННОСТИ СРЕДЫ НА БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ КОПЕПОД

Исследовано влияние солёности среды на биолюминесцентную реакцию *P. borealis*. Рассмотрены выявленные закономерности в изменении индуцированной электрическим током биолюминесценции.

Биолюминесцентная реакция морских организмов и выделенных из них активных светогенных субстратов все интенсивнее используется в практике морских и лабораторных исследований. Индуцированная внешним раздражением биолюминесценция планктона служит экспрессным показателем структуры и биопродуктивности морских вод [3]. Биолюминесцентная реакция морских организмов является чувствительным индикатором присутствия в среде веществ антропогенного происхождения [5]. Биолюминесценция бактерий уже на практике используется в целях оценки степени загрязнения различных сред [6].

Указанные исследования проводились на фоне действия на организм мощных природных факторов, на которые отклик физиологических реакций, в том числе биолюминесцентных, зачастую недостаточно изучен. Одним из таких факторов является концентрация солей во внешней среде, обуславливающая существование и функционирование осморегуляторных механизмов, по-разному действующих даже на близкие виды [14]. Светящиеся копеподы во многом определяют характер морской биолюминесценции, влияют на результаты ее натурных изменений. Большинство из них совершают заметные вертикальные и горизонтальные перемещения, пересекая при этом слои с пониженной либо повышенной концентрацией солей. Цель данной работы — изучение влияния различной солёности среды на характеристики светоизлучения веслоногих рачков.

Материал и методы. Планктон собирали тотальными ловами (0—300 м) в вечерние часы во время 29-го рейса НИС «Профессор Водяницкий» в центральной Атлантике в 1989 г. После 1,5—2 ч отстаивания изначально разбавленной в общей пробе (до 8 л) с использованием бинокулярной оптики отбирали половозрелых самок *Pleuromma borealis* Dahl, 1893 и помещали в сосуды с профильтрованной водой. Через следующие 1,5—2 ч организмы (по 18—20 экз.) переносили в двухлитровые сосуды с водой заданной солёности. Солёность среды с шагом 3‰ (от 26 до 44‰) задавали на основе разбавления дистиллированной водой поверхностной морской воды (исходная солёность 35‰) либо приготовлением соответствующих растворов (35, 38, 41 и 44‰) из искусственной морской соли. Животных содержали без добавления корма. В качестве агента, индуцирующего светоизлучение, использовали электрические импульсы надпороговой плотности [4]. Раздражение организмов осуществляли в кюветах для электростимуляции, используя серийный электростимулятор ЭСЛ-1. Регистрацию светоизлучения организмов проводили с помощью ранее используемой установки [1], статистическую обработку данных — по пакетам стандартных программ „STATGRAPHICS“ и „LOTUS“ на IBM PC/AT.

© П. В. Евстигнеев, 1992

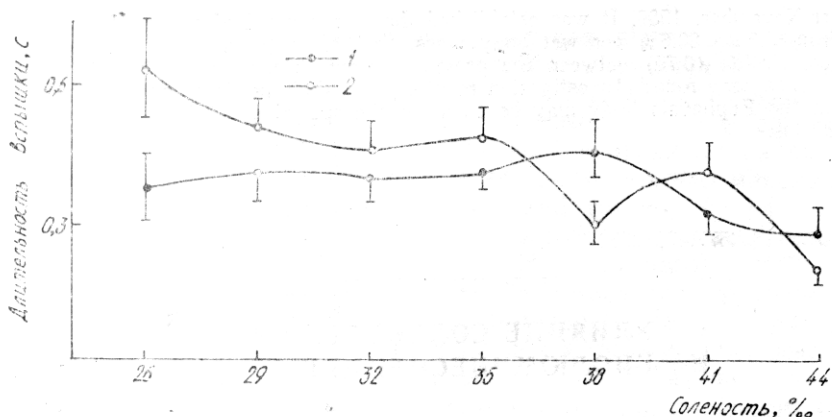


Рис. 1. Зависимость длительности вспышек *P. borealis* от солености среды при экспозиции 6 (1) и 18 ч (2)

Результаты. Экспозиция копепод в растворах, приготовленных из искусственной соли (38; 41 и 44 ‰), могла способствовать проявлению рапического фактора (изменение соотношения ионов) и повлиять на результаты экспериментов. Поэтому был приготовлен раствор с концентрацией искусственной морской соли 35 ‰. Биолуминесценция экспонированных в нем *P. borealis* не показала статистически достоверных различий ($t_{\text{эксп}} < t_{05}$) с параметрами светоизлучения организмов, экспонированных при этой солености в естественной среде. Эффект влияния разных концентраций солей на характеристики биолуминесценции 152 экземпляров *P. borealis*, использованных в данных экспериментах, оценивали по изменению временных и энергетических параметров их светоизлучения.

Временные характеристики. Продолжительность световых вспышек копепод менялась в зависимости от содержания организмов при той или иной концентрации солей. Общая тенденция — сокращение времени светоизлучения при увеличении концентрации солей во внешней среде. Рис. 1 свидетельствует об относительно плавном снижении продолжительности вспышек (экспозиция 18 ч) от распресненных вод к более соленым. Различие между длительностью вспышек при 26 и 44 ‰ статистически значимо ($t_{\text{прибл}}=3,81$; $t_{01}=2,20$). Различие также достоверно между длительностью вспышек копепод в контроле (35 ‰) и содержащихся в сосудах с водой 44 ‰ ($t_{\text{прибл}}=4,31$; $t_{01}=2,85$). Средняя продолжительность вспышек в контроле равнялась $(0,5 \pm 0,06)$ с, а в сосуде с наиболее распресненной водой — $(0,64 \pm 0,11)$ с, т. е. статистически была однородна. При малой (6 ч) и большой (72 ч) экспозициях эта тенденция менее выражена. Дисперсионный анализ показал существование статистически достоверного влияния концентрации солей и времени экспозиции в них на длительность светоизлучения копепод (табл. 1).

Таблица 1. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния солености и времени экспозиции на длительность биолуминесцентных импульсов *P. borealis*

Источник дисперсии	Сумма квадратов	Степень свободы	Средний квадрат	F-отношение	Уровень значимости
Главный эффект	285,92	10	26,6	3,19	0,0008
Экспозиция	119,02	4	29,8	3,57	0,008
Соленость	134,36	6	22,4	2,69	0,016
Остаточная	1781,88	214	8,33	—	—
Общая	2047,79	224	—	—	—

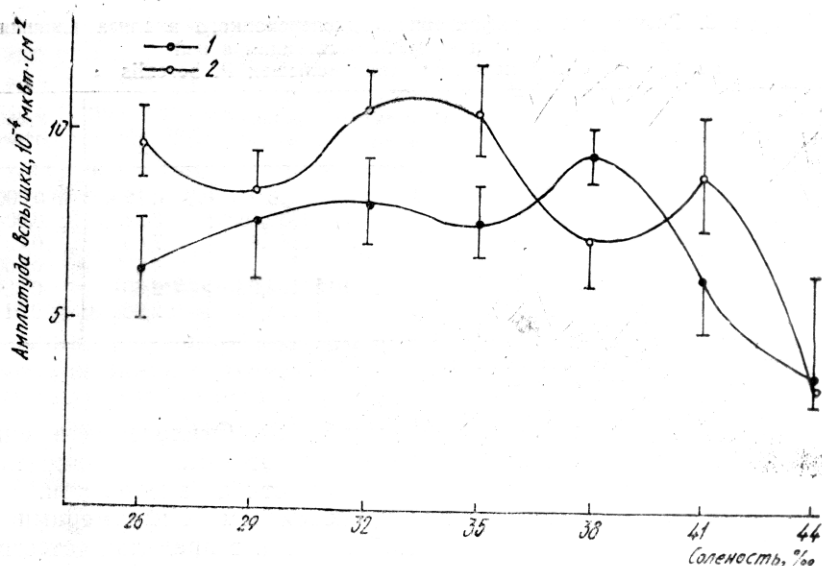


Рис. 2. Амплитуда вспышек *P. borealis* при различных солености среды и экспозиции (обозначения, как на рис. 1)

Энергетические характеристики. Определяли интенсивность вспышек, амплитуду и интегральную энергию [1]. Амплитуда вспышек в среднем варьировала в пределах 10–20% при соленостях среды от 26 до 38 ‰, однако различия оказались статистически недостоверными. При повышении солености (41 и 44 ‰) различия с контролем становились значимыми как на уровне дисперсий ($F_{\text{эксп}}=45,6$; $F_{01}=9,86$), так и по средним величинам ($t_{\text{эксп}}=5,61$; $t_{001}=3,79$). Амплитуда вспышек *P. borealis* снизилась более чем в 3 раза по сравнению с контролем (35 ‰) и составила $(3,5 \pm 0,33 \cdot 10^{-4})$ мкВт·см⁻²·экз⁻¹ (рис. 2). Тенденция снижения амплитуды вспышек сохранялась и при больших экспозициях, однако различие с контролем составило около двух раз (табл. 2). Дисперсионный анализ показал достоверность с высокой степенью вероятности влияния солености и экспозиции на амплитуду биолюминесценции *P. borealis* (табл. 3). В той или иной мере сдвиги в интенсивности и интегральной энергии вспышек копепод повторяют отмеченный выше эффект. Влияние этих факторов на них также достоверно.

Таким образом, параметры биолюминесценции меняются при изменении концентрации солей в среде. Однако изменения, связанные с повышением солености, более заметны и во всех случаях статистически достоверны. Например, интегральная энергия биолюминесценции *P. borealis* при экспозиции, равной 18 ч, в среде с соленостью 44 ‰ почти

Таблица 2. Средние значения отношения физических показателей вспышек *P. borealis* к контрольным при разных солености среды и экспозиции *

Время экспозиции, ч	Соленость **					
	26 ‰			44 ‰		
	A	H	E	A	H	E
6	1,6	1,2	1,3	2,1	1,0	2,8
18	1,1	1,2	1,2	3,0	3,1	9,1
36	0,9	1,1	0,8	0,7	0,5	0,4

* A — амплитуда вспышек; H — интенсивность; E — интегральная энергия.

** Соленость среды в контроле 35 ‰.

Таблица 3. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния солености среды и времени экспозиции в ней на энергетические характеристики вспышек *P. borealis*

Параметр вспышки *	Источники дисперсии **	Сумма квадратов	Степень свободы	Средний квадрат	F-отношение	Уровень значимости
А	Э	24904,15	4	6226,04	6,12	0,0001
	С	20016,63	6	3336,10	3,28	0,0042
Н	Э	5373,81	4	1343,45	7,65	0,0001
	С	4305,42	6	717,57	4,09	0,0007
Е	Э	204781,11	4	51195,28	2,89	0,02
	С	298671,56	6	49778,59	2,90	0,01

* Обозначение параметров, как в табл. 2.

** Э — экспозиция; С — соленость.

на порядок ниже таковой при 35 ‰ (табл. 2). Отклонения в концентрации солей от контроля на 3 ‰ не вызывают заметных изменений в параметрах биолюминесценции вне зависимости от экспозиции.

Обсуждение. Веслоногие рачки являются осмоконформерами [11]. Однако несмотря на определенную лабильность в пределах естественно меняющейся солености, что само по себе видоспецифично и зависит даже от популяционной принадлежности организма [14], копеподы, по-видимому, сохраняют небольшую гиперосмотичность [15]. Иными словами, их физиологические функции не абсолютно зависимы от внешней среды. Диапазон вертикальных миграций копепод, которые совершает большинство светящихся видов [4], свидетельствует о возможности пересечения ими среды с различным содержанием солей или длительного пребывания в слоях с различной соленостью (на поверхности или на глубинах более 500 м). В районе сбора животных концентрация солей в слое 0—200 м различалась не более, чем на 1,5 ‰ (данные отряда гидрологии). Но верхний слой эпипелагиали может содержать и более резкие градиенты солености, связанные с затоком прибрежных вод, дождевым распреснением, гидротермальными выбросами и т. д. Линзы вод с аномальным содержанием солей отмечаются в прибрежной и центральной зонах Атлантики [2]. Отмечено [7], что планктонные организмы, в том числе и копеподы (*Calanus*, *Oithona* и др.), достаточно чувствительны к изменению солености вод, что фиксируется по изменению их поведения. Копеподы при наличии выраженного галлоклина имеют тенденцию скапливаться у нижних либо верхних его границ, причем минимальный градиент для возникновения соленостного барьера составляет 0,54 ‰ на 1 м³ [12]. Таким образом, океанические копеподы существуют в среде с меняющейся соленостью и, несмотря на осмоконформность, реагируют на сдвиги в ее концентрации. Биолюминесцентная реакция копепод относится к ферментзависимым процессам и осуществляется через систему интегументальных желез [13]. Внешнее неспецифическое воздействие приводит к выбросу секрета желез во внешнюю среду и эмиссии света, причем кинетика вспышек свидетельствует об отчетливой регуляции процесса [3, 4].

Приведенные результаты указывают на влияние солености среды на все параметры биолюминесцентной реакции, но существенно оно лишь при значительных изменениях концентрации солей в среде, в первую очередь при ее возрастании. Как уже показано, энергетические характеристики светозлучения наиболее рельефно отражают понижение и повышение солености: в обоих случаях снижаются абсолютные величины (см. табл. 2). С увеличением времени экспозиции параметры биолюминесценции организмов, содержащихся в инадаптивных условиях, сближаются с таковыми в контроле, однако это может быть следствием и колебательного характера акклимации [10].

Компенсация соленостного градиента со средой и достижение изосмотичности является энергозависимым процессом [14]. Происходит это путем транспорта неорганических катионов либо синтеза органи-

ческих низкомолекулярных веществ, например аминокислот, что более характерно для Crustacea [8]. Полученная энергия необходима для поддержания гомеостаза. Однако снижение энергетики биолюминесцентных вспышек, по-видимому, в меньшей мере определяется блокированием синтеза люциферина. Одиночные стимуляции копепод электрическими импульсами небольшой силы, осуществляемые нами для оценки потенциальной световосприимчивой способности организмов, приводили к потере не более 5—10% депонированного субстрата [4]. При полном его иссякании на восстановление требуется 2,5—3 ч [4] и на порядок меньше в случае проведенных экспериментов.

В большей мере, по нашему мнению, изменение характера световослучения может определяться состоянием мышечной системы копепод. Мышечная ткань отличается значительной способностью сохранять сократимость в гипотонической среде [9], что, возможно, нашло отражение в меньшем влиянии распресненных вод на биолюминесценцию по сравнению с гипертонической средой, но в ней возникает комплекс неспецифических паранекротических реакций. При инадаптивных величинах солёности копеподы могут впадать в состояние локомоторного шока [16].

Экскреция содержимого биолюминесцентных желез происходит в той или иной мере с помощью мышечной системы. Нарушение степени и времени сократимости ее элементов, ответственных за выброс компонентов световой реакции в среду, несомненно, отражается и на количественных характеристиках световослучения.

Выводы. 1. Изменение солёности среды влияет на временные (длительность вспышек) и энергетические (амплитуда, интенсивность, энергия) параметры биолюминесцентных вспышек копепод, однако они являются значимыми при сдвигах концентрации солей на 15—20% от контроля и при экспозиции более 6 ч. 2. Время световослучения максимумно в распресненных водах и минимумно в наиболее солёных. 3. Энергетические характеристики биолюминесценции копепод снижаются в гипо- и гипертонической среде. Эти изменения зависят от времени экспозиции в них.

1. Битюков Э. П., Евстигнеев П. В. Основные черты световослучения и его видовая специфичность у копепод рода *Pleuromma* // Экология моря. — 1982. — Вып. 11. — С. 53—62.
2. Булаков Н. П. Конвекция в океане. — М.: Наука. — 1975. — 272 с.
3. Гительзон И. И., Чумакова Р. И., Дегтярев В. И. и др. Биолюминесценция моря. — М.: Наука, 1969. — 169 с.
4. Евстигнеев П. В., Битюков Э. П. Биолюминесценция морских копепод. — Киев: Наук. думка, 1990. — 144 с.
5. Евстигнеев П. В., Серикова И. М. Изучение воздействия нефти на биолюминесценцию планктонных организмов // Эксперим. вод. токсикология. — 1987. — № 12. — С. 122—136.
6. Кондратьев Е. Н. Светящиеся бактерии. — Новосибирск: Наука, 1984. — 279 с.
7. Константинов А. С. Общая гидробиология. — М.: Высш. шк., 1986. — 472 с.
8. Проссер Л. Сравнительная физиология животных. — М.: Мир, 1977. — 608 с.
9. Хлебович В. В. Критическая солёность биологических процессов. — Л.: Наука, 1974. — 236 с.
10. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов. — Л.: Наука, 1981. — 135 с.
11. Шмидт-Нильсен К. Физиология животных. — М.: Мир, 1982. — Т. 1. — 414 с.
12. Haertel L., Osterberg C. Ecology of zooplankton, benthos and fishes in the Columbia River estuary // Ecology. — 1967. — 48. — P. 459—472.
13. Harvey E. N. Bioluminescence. — N. Y.: Acad. Press, 1952. — 649 p.
14. Kinne O. (ed.) Marine ecology. — London; N. Y.; Sydney; Toronto: Wiley-Interscience Publ. — 1971. — 1, p. 2. — P. 821—996.
15. Lance J. Respiration and osmotic behaviour of copepod *Acartia* // Comp. Biochem. Physiol. — 1965. — 14. — P. 155—165.
16. Ranade M. Observations on the resistance of *Tigtiopus fulvus* to changes in temperature and salinity // J. mar. biol. Assoc. U. K. — 1957. — 36. — P. 115—119.

EFFECT OF MEDIUM SALINITY ON BIOLUMINESCENCE OF COPEPODS

Summary

Electric current-induced bioluminescence of copepods *P. borealis* has been studied under experimental hypo- and hyperosmoticity. Variations in the medium salinity affect all the parameters of bioluminescent flares of copepods but they are true at 15-20% shifts of salt concentration from the control (35‰) and at expositions over 6 hours. The luminous radiation period is maximum in fresh waters and minimum in the most salty waters. Energy characteristics of luminous radiation decrease in the hypo- and hyperosmotic medium; these changes considerably depend on the time of exposure under experimental conditions.

УДК 577.1:574.652

Н. М. БЕРЕГОВАЯ, А. З. ШАПИРО, Е. М. ХАЗАНОВАРОЛЬ ГЕКСОКИНАЗЫ И ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
В АДАПТАЦИЯХ ГИДРОБИОНТОВ-ОБРАСТАТЕЛЕЙ

На основании двухлетних наблюдений (1986—1987 гг.) дана характеристика изменений активности ключевых ферментов начального этапа гликолиза и пентозофосфатного пути (гексокиназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы) у массовых видов макрообрастания: гидроидов, ботриллюсов, мшанок. Динамика ферментативной активности изучена в периоды активного роста и угасания физиологической активности популяций, а также в условиях нормы и гипоксии. Обсуждается возможность использования параметра Г-6-ФДГ/ГК (соотношение активностей изучаемых ферментов) при биоиндикации.

Исследование особенностей метаболических процессов, отражающих состояние организмов и популяций в различных условиях обитания, весьма актуально при решении экологических проблем. Особое место в изучении адаптаций занимает исследование энергетического обмена гидробионтов в экстремальных условиях: гипоксии, антропогенной нагрузки. Основным источником энергии для гидробионтов, ведущих прикрепленный образ жизни (изучаемые виды макрообрастания), является гликолитический процесс расщепления углеводов [4]. Установлено, что пентозофосфатный путь обмена углеводов (ПФП), являющийся уязвимым звеном метаболизма, играет определяющую роль в адаптациях организмов макрообрастания [5]. В настоящей работе была сделана попытка выявить некоторые закономерности в изменении уровня активности ферментов начального этапа гликолиза и ПФП у массовых видов ценоза макрообрастания на двух физиологически различных стадиях развития популяции, а также в условиях нормы и гипоксии.

Материал и методика. Объектом исследования служили массовые виды сообщества обрастания Черного моря: гидроид (*Obelia laveni*), колониальная асцидия (*Bothryllus schlosseri*), мшанка (*Lepralia pallasiana*). Наблюдение проводили в течение двух лет: гидроидов изучали на протяжении всего цикла развития с марта по май, колонии ботриллюсов и мшанок — в период массового развития с августа по декабрь. В опытах использовали гидробионтов, выращенных на стеклянных пластинах размером 4×10 см в Севастопольской бухте. Физиологическое состояние (период активного роста и старение популяции) оценивали под бинокулярным микроскопом МБС-1 по наличию или отсутствию половых продуктов, характеру разрастания тканей, ряду морфологических признаков.

Условия гипоксии создавали при экспонировании животных в течение 24 ч в закрытых сосудах с морской водой. Концентрация гидробионтов составляла 300 г на 0,5 л воды, содержание кислорода —