

ISSN 0203-4646

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



22
—
1986

7. McAllister D. E. A collection of oceanic fishes from off British Columbia with a discussion of the evolution of black peritoneum. — Bull. Nat. Mus. Can., 1961, 172, p. 39—43.
8. Porter K., Porter J. Bioluminescence in marine plankton: a coevolved antipredation system. — Amer. Natur., 1979, 114, N 3, p. 458—461.

Ин-т биологии юж. морей

им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 14.03.83

P. V. EVSTIGNEEV

LUMINESCENCE OF COPEPODS UNDER STIMULATION OF VARIOUS TYPES

Summary

Statistically significant differences are shown in the characteristics of bioluminescence signals evoked by various types of stimulation. The maximal values of the time and energy parameters of luminescence of copepods from the *Pleuromamma* genus are observed under chemical stimulation. The mechanical excitation induces an order-lower intensity flashes. There are differences in the flash kinetics as well: less synchronous outburst of the light substrate is observed under chemical stimulation than in the case of mechanical and electrical excitations. Duration of the stimulus effect is the most essential characteristic of the irritant affecting all the parameters of the light signal.

УДК 582.263:581.1(262.5)

В. Б. ВЛАДИМИРОВ, О. И. ОСКОЛЬСКАЯ
Ю. С. ЧУРИЛОВ

ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОСТОЯНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА У ЧЕРНОМОРСКОЙ *ULVA RIGIDA* (AG.)

Среди водорослей-макрофитов Черного моря одним из перспективных видов с точки зрения увеличения биопродуктивности водоема является *Ulva rigida* (Ag.), так как она обладает высоким темпом роста и имеет пищевую ценность [3]. Промышленный лов ульвы возможен лишь в случае увеличения ее сырьевых запасов путем искусственного выращивания на плантациях по методам, предложенным А. А. Калугиной-Гутник [3] и К. Суббарамаях [5].

Не менее важной особенностью ульвы является ее способность усваивать растворенное в воде органическое вещество и тем самым ослаблять воздействие антропогенного фактора на экологию отдельных участков моря при создании искусственных плантаций.

Существенное значение при культивировании могут представлять данные о биохимических процессах, происходящих в талломе ульвы в период ее роста и размножения. Перспективным подходом для определения состояния энергетического аппарата в разные моменты жизненного цикла может служить метод люминесцентного спектрального анализа.

Нами сделана попытка проследить за изменением состояния энергетического аппарата ульвы на разных этапах ее развития и при воздействии различных факторов среды с целью разработки экспресс-метода определения состояния водоросли.

Материал и методика. Работа выполнена в июне 1981 г. в период интенсивного роста ульвы. Водоросль собирали ежедневно в течение месяца в районе Севастопольской бухты на глубине 1—2 м. В экспериментах использовались водоросли, собранные вместе с субстратом.

Снятие люминесцентного спектра проводили на спектрофлуориметре собственной конструкции, собранном на базе спектрофотометра СФ-4А при длине волны возбуждающего света 365 нм.

Периферийный участок слоевища водоросли фиксировали в расправленном состоянии в специальном магнитном держателе, что позволило избавиться от фона стеклянной кюветы. Результаты отображались на двухкоординатном плоскостном самописце. Интерпретацию полученных спектров иллюстрирует рис. 1, на котором показано соотношение окисленных и восстановленных форм ключевых коферментов при переносе электронов по дыхательной цепи как в состоянии покоя,

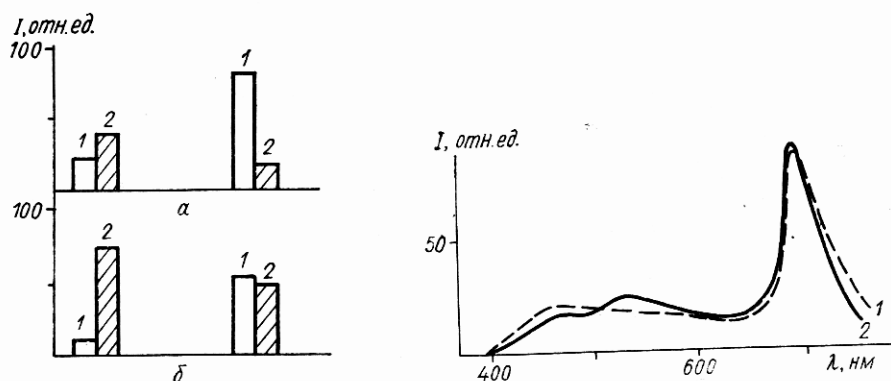


Рис. 1. Соотношение окисленных (1) и восстановленных (2) форм пиридиннуклеотидов (слева) и флавопротеинов (справа) в состоянии активного обмена (а) и в состоянии покоя (б). Люминесценция в областях: $\lambda=520-530$ нм (1); $\lambda=470-480$ нм (2).

Рис. 2. Типичные люминесцентные спектры *Ulva rigida* в период размножения (1) и роста (2).

так и в период активного обмена. Если учесть, что пиридиннуклеотиды (Пн) имеют максимум флюоресценции на длине волны $\lambda=470-480$ нм и только в восстановленном состоянии, а флавопротеины имеют максимум флюоресценции на длине волны $\lambda=520-530$ нм и только в окисленном состоянии, то соотношение свечений на указанных длинах волн (ξ) свидетельствует о степени окисленности ключевых коферментов, а следовательно, о состоянии энергетического аппарата клетки [2]:

$$\xi = \frac{B}{A}, \quad (1)$$

где B, A — флюоресценция флавопротеинов и пиридиннуклеотидов соответственно. Вследствие несимметричности флюоресцентных пиков и сдвига их в длинноволновую область, пиридиннуклеотиды дают вклад не только на $\lambda=470-480$ нм (I_{475}), но и половинный на $\lambda=520-530$ нм (I_{525}), что приводит к более точной формуле:

$$\xi = \frac{I_{525} - 0,5 I_{475}}{I_{475}}. \quad (2)$$

Данная методика апробирована [4] на спектрах одиночных клеток и не применялась на многоклеточном уровне. Сложность такого перенесения методики заключается в том, что измеряется суммарный спектр большого количества клеток, захватываемых апертурой прибора. Поскольку каждая клетка имеет свое значение ξ , то измеряемый параметр дает лишь некоторую среднюю оценку состояния энергетического аппарата объекта в целом.

Результаты и обсуждение. Полученные спектры флюоресценции выявили некоторые особенности в состоянии энергетического аппарата ульвы. Прежде всего следует указать на различие флюоресцентных спектров, полученных в разное время. Кривая 2 на рис. 2 относится

к спектру, снятому во время выхода спор [3, 5], а двуворшинная кривая 1 (рис. 2) соответствует, по мнению авторов, периоду активного роста. Информацию о распределении значений ξ в период размножения и интенсивного роста дает гистограмма (рис. 3), по которой можно судить, что ξ имеет разброс вокруг средних значений. Величина ξ синхронизирована для большого количества экземпляров, однако синхронизация ξ , а следовательно, циклов развития, неполная. Из рис. 3 можно

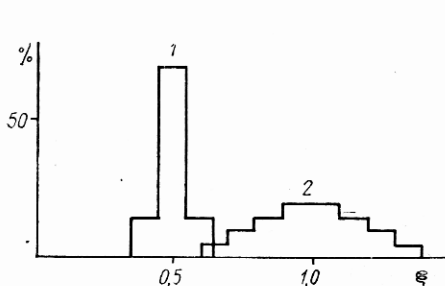


Рис. 3. Распределение ξ в период размножения (1) и в период роста (2).

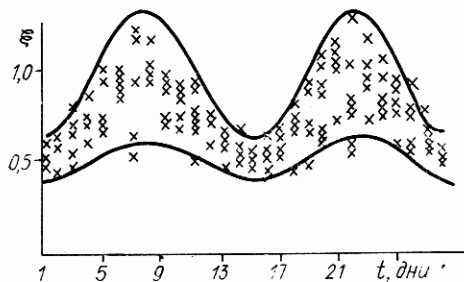


Рис. 4. Зависимость границ доверительного интервала значений ξ от дня измерения.

сделать вывод о значениях ξ в норме в период размножения ($\xi=0,5$) и интенсивного роста ($\xi=1,0$). Однако наиболее полную информацию о зависимости параметра ξ от дня измерения можно получить из рис. 4: каждое измерение отмечено крестиком, а плавные кривые, очерчивающие измерения — верхняя и нижняя — границы доверительного интервала, в которые укладывается 95% полученных значений. Период развития водоросли длится 14 дней, причем начало каждого нового цикла совпадает с ново- или полнолунием, что согласуется с данными А. А. Калугиной-Гутник, полученными для *U. rigida*, и Суббарамаяха [5], отмеченными для *U. fasciata*.

Кроме значений параметра ξ , в каждом случае рассчитывалось изменение величины ξ под влиянием интенсивного солнечного света в течение 10 мин и под действием фенола в концентрации 100 мг/л также в течение 10 мин. Полученные при этом величины $\Delta\xi_{\text{св}}$ (измерение ξ под действием света) и $\Delta\xi_{\text{ф}}$ (под действием фенола) имеют характерные особенности. На рис. 5, а, б изображены функциональные зависимости $\Delta\xi_{\text{св}}=f_1(\xi)$ и $\Delta\xi_{\text{ф}}=f_2(\xi)$, показывающие связь между измерением параметра и его первоначальным значением. Эти данные свидетельствуют о высокой чувствительности ульвы к воздействию внешних факторов, которое значительно больше проявляется в период интенсивного роста, чем в период размножения. Сравнение зависимостей на рис. 5 показывает, что $\Delta\xi_{\text{св}}$ и $\Delta\xi_{\text{ф}}$ — величины, зависящие только от начального значения ξ , поскольку разброс значений ξ в течение дня приводит к соответствующему разбросу значений $\Delta\xi_{\text{св}}$ и $\Delta\xi_{\text{ф}}$.

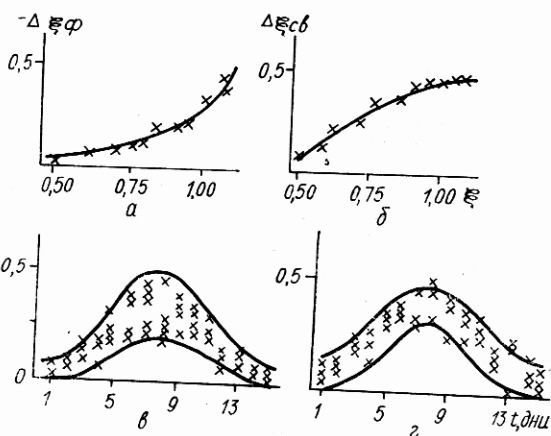


Рис. 5. Зависимость $\Delta\xi_{\text{ф}}$ (а) и $\Delta\xi_{\text{св}}$ (б) от ξ и зависимость $\Delta\xi_{\text{ф}}$, (в) и $\Delta\xi_{\text{св}}$ (г) от дня измерения.

Полученные результаты свидетельствуют о применимости методов люминесцентного спектрального анализа для оценки состояния водорос-

лей, а также об их большой информативности. Используя экспериментальные данные о значениях ξ , можно выделить различные компоненты ξ .

Разобьем ξ на пространственную и временную составляющие

$$\xi = \xi_x + \xi_t \cos \left\{ \frac{2\pi}{T} (t + t_0) \right\}, \quad (3)$$

где ξ — текущее значение параметра; ξ_x — пространственная составляющая; ξ_t — амплитуда временной составляющей; T — период изменения параметра (14 дней); t — время от начала эксперимента; t_0 — начальная фаза эксперимента (в случае совпадения начала эксперимента со спороношением $t_0 = 7$ дней).

Математические методы позволяют выделить каждую составляющую с достаточной для использования точностью [6]. Значения временной составляющей можно использовать для диагностики состояния ульвы и определения времени выхода спор. Пространственная компонента, по-видимому, может быть полезна при оценке состояния ульвы в данном районе и пригодности ее для дальнейшего культивирования.

Из рис. 5, б и г можно сделать вывод о разных последствиях загрязнения ульвовых зарослей токсикантами в зависимости от величины ξ в момент загрязнения. Можно предположить, что биологическое самоочищение акваторий, загрязняемых стоками, можно усилить синхронизацией времени сброса биологическим циклом водорослей. По-видимому, следует выбирать дни, когда воздействие токсикантов на водоросли минимально, ослабляя тем самым влияние сбросов на морскую растительность.

Выводы. Параметр состояния энергетического аппарата водорослей ξ достоверно определяется на многоклеточном уровне. Значения параметра включают в себя временную и пространственную составляющие. Значения параметра в норме подвержены циклическим изменениям. Параметр эффективен при оценке внешних воздействий.

1. Карнаузов В. Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. — Киев: Наук. думка, 1978. — 207 с.
2. Карнаузов В. Н., Ерохин В. Е. Состояние энергетического аппарата макрофитов в норме и при фенольной интоксикации. — Экология моря, 1979, № 1, с. 51—59.
3. Калугина-Гутник А. А. Фитобентос Черного моря. — Киев: Наук. думка, 1975. — 248 с.
4. Карнаузов В. Н. Спектральный анализ в изучении внутриклеточной регуляции обмена веществ и энергии. — Цитология, 1976, 4, № 18, с. 41—44.
5. Subbaramajah K. Growth and reproduction of *Ulva fasciata* Delile in nature and in culture. — Bot. Mar., 1970, 13, p. 54—58.
6. Cassie R. M. Microdistribution of plankton. — Oceanogr. Mar. Ann. Rev., 1963, 1, p. 325—351.

Ин-т биологии юж. морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 12.05.83

V. B. VLADIMIROV, O. I. OSKOLSKAYA,
Yu. S. CHURILOV

TIME CHARACTERISTICS OF THE STATE OF ENERGY APPARATUS IN THE BLACK SEA *ULVA RIGIDA* (A G.)

Summary

The results obtained evidence for both the applicability of the luminescent spectral analysis methods for estimating the state of algae and for their high informativity. An attempt is made to observe changes in the state of energy apparatus of *Ulva rigida* (Ag.) at its different developmental stages and under the effect of various environmental factors with the aim to develop a proximate method for determining the algal state.