

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ

1871



ИНБЮМ

15
—
1983

С. А. ПИОНТКОВСКИЙ, В. Н. ЕГОРОВ, В. Н. ИВАНОВ

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИНКА-65 ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РИТМА ПИТАНИЯ ПЛАНКТОННЫХ РАКООБРАЗНЫХ

В связи с существованием у многих видов копепод суточных ритмов физиологической активности необходимы определения величин скоростей потребления пищи в различное время суток. Для решения этой задачи первоначально использовали визуальный метод счета, при котором скорость потребления пищи за единицу времени оценивали по различиям начальной и конечной концентраций корма [1, 7]. Точность этого метода, удовлетворительная при достаточно больших концентрациях корма, значительно снижается в области малых концентраций из-за трудности визуального счета пищевых частиц и снижения точности такого счета.

Применение электронных счетчиков [5, 6] заметно уменьшило трудоемкость метода и увеличило точность определения скорости потребления пищи. Однако и в этом случае определяется изменение концентрации пищи в среде, а не непосредственное потребление водорослей раками.

Метод радиоактивных индикаторов применяется в основном для исследования элементов энергетического баланса и переноса вещества в морских пищевых цепях [2—4] и др. При определении радиоуглерода, потребленного и усвоенного из пищи, животные могут быть использованы лишь однократно, так как методика измерения C^{14} требует приготовления препарата для единичного измерения указанных величин.

Возможности метода меченых атомов в изучении питания ракообразных могут быть существенно расширены при введении в гидробиологическую практику γ -излучающих радионуклидов, поскольку радиометрия их гораздо проще и возможны прижизненные измерения радиоактивности объектов исследования. Это дает возможность одновременно проводить этологические наблюдения и сопоставлять двигательную активность и ритмику потребления пищи планктонными животными. В настоящей работе приводится пример таких сопоставлений.

Материал и методика. Эксперименты проведены с планктонными *Euchirella bella*, которых кормили водорослью *Peridinium trochoideum*, меченной цинком-65. Основные условия, которым должен удовлетворять корм, таковы: 1) следует избегать заметного изменения радиоактивности клеток в течение эксперимента; 2) количество радиоцинка, потерянного клетками водорослей в период выведения, не должно сказываться на радиоактивности раков, потребляющих цинк-65 из пищи; 3) плотность популяции водорослей в течение опыта должна быть постоянной.

Радиоактивный корм готовили, культивируя водоросли на среде Гольдберга с добавкой радиоцинка. Клетки *P. trochoideum* накапливают цинк-65 с коэффициентом накопления $3-4 \cdot 10^3$ за 20—50 ч. Затем водоросли отделяли от радиоактивной среды и переносили в чистую морскую воду для выведения обменной части радиоцинка¹.

Для выяснения характера суточного ритма питания *E. bella* поставлены две серии опытов. В одной из них изучалась кинетика накопления и выведения цинка-65, потребленного с пищей, а в другой — ритм потребления цинка-65 животными в течение суток. В опытах первой серии *E. bella* были помещены в среду с меченым цинком-65 клетками *P. trochoideum* удельной численностью 940 кл/мл (или

¹ Все операции культивирования клеток, подсчета их численности и отделения от радиоактивной среды на сефадексе выполнены Л. М. Сергеевой, за что авторы ей весьма признательны.

15 мг/л) и через определенные промежутки времени велось прижизненное радиометрирование животных. После 61-часовой экспозиции в опыте с мечеными цинком-65 водорослями животные были пересажены в среду с нерадиоактивными клетками *P. trochoideum* (940 кл/мл) и измерялось изменение концентрации цинка-65 в животных во времени. Схема опыта по измерению суточного ритма питания *E. bella* была следующей. Восемь рачков одинаковой массы (по 2,7 мг) были помещены в бьюксы со 100 мл морской воды с немечеными водорослями *P. trochoideum* (125 кл/мл, или 2 мг/л). Одновременно было заготовлено 8 бьюксов с тем же объемом воды и мечеными по цинку-65 водорослями (125 кл/мл). Бьюксы с водорослями находились в условиях низкой освещенности, и деления клеток не наблюдалось. В течение суток через каждые 3 ч очередной рачок пересаживался в бьюкс с меченой водорослью и после 3-часовой экспозиции измерялась его радиоактивность. Для этого особей извлекали из экспериментального раствора, переносили в чистую морскую воду, вновь отлавливали и помещали в бьюкс с 1—2 мл морской воды и в нем радиометрировали. Измерение радиоактивности проводили на установке «Воря» (кристалл NaI(Th) размером 60×60 мм). Погрешность радиометрирования не превышала 5%.

Синхронно с измерениями скорости потребления клеток у тех же особей определяли частоту и продолжительность актов локомоторной активности — скачков и скольжений. На основе этих характеристик рассчитывали общую продолжительность данного вида движения за период наблюдений. Продолжительность непрерывных наблюдений равна 1 мин при их 5—10-кратном повторении. Одновременно с экспериментами по питанию ставили контрольные опыты, в которых изучали локомоторную активность особей, содержащихся в фильтрованной через мембранный фильтр № 5 воде без корма. Сумма продолжительностей двух указанных видов движения характеризовала продолжительность активной фазы локомоторной активности.

Результаты и их обсуждение. Изменение относительной концентрации цинка-65 в неделящихся клетках водорослей в нерадиоактивной среде освещенностью менее 500 лк после 46-часовой их экспозиции в растворе с цинком-65 показано на рис. 1, откуда видно, что в течение 10—20 ч водоросли выводят до 60—70% накопленной радиоактивности, затем концентрация цинка-65 в них практически не изменяется. В дальнейшем в экспериментах использовали водоросли, которые после накопления цинка-65 пробыли в нерадиоактивной среде не менее 20 ч. После такой экспозиции выведения поступление цинка-65 из водорослей в аквариум с животными было незначительным и накопление особями радиоактивного цинка непосредственно из среды было пренебрежимо мало относительно его поступления с пищей.

В исследованиях интенсивности питания морских животных при использовании радионуклидов допускается равенство скоростей поступления в них пищи и радиоактивности. Это позволяет по известной удельной радиоактивности пищи и приобретенной за период экспозиции радиоактивности особей определить их рацион. Если бы пища только потреблялась, то накопление ими радиоактивности было бы пропорционально количеству потребленной пищи. Как показывают наблюдения над *E. bella*, потребляющими меченую цинком-65 пищу, интенсивность накопления радиоактивного цинка особями с течением времени уменьшается и уровень накопления приближается к стационарному (рис. 2, а). Очевидно, это объясняется тем, что пища, а следовательно, и связанный с нею радионуклид участвуют в процессах метаболизма и выводятся из животных. Поэтому на стационарном уровне накопления количество цинка-65, поступавшего в единицу времени с пищей, сравнивается с его выведением из животных. То, что цинк-65 действительно выводится, доказывают результаты опытов с *E. bella*, помещенными в аквариум с нерадиоактивной пищей (рис. 2,

б), после 61 ч пребывания в среде с меченым цинком-65 водорослями.

Потребляемый с пищей радиоактивный цинк обменивается животными (см. рис. 2). Однако кинетика обмена этого радионуклида, по-видимому, не отражает закономерности обмена пищи в целом. Последнее утверждение легко доказуемо от обратного. Если бы кинетика накопления (или выведения) цинка-65, а следовательно, и любого другого радионуклида, отражала интенсивность пищевого обмена животных, то содержание всех хими-

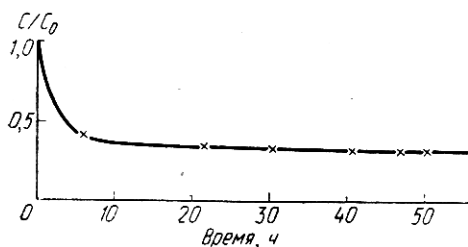


Рис. 1. Изменение относительной концентрации цинка-65 в одноклеточных водорослях *P. trochoideum* во времени в нерадиоактивной среде после 46-часовой предварительной экспозиции в аквариуме с радиоактивным цинком.

C_0 и C — концентрация цинка-65 (имп/мин·кл) в начальный и текущий моменты времени.

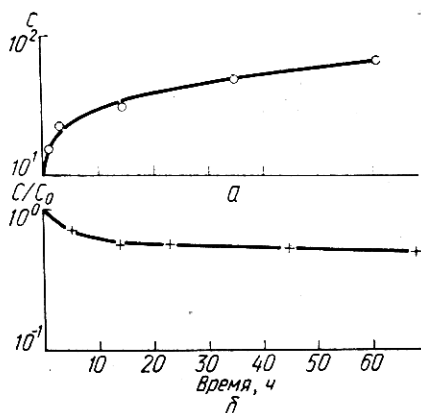


Рис. 2. Накопление (а) цинка-65 *Eucheirella bella* с пищей и выведение (б) в нерадиоактивную среду после 61 ч экспозиции накопления.

C — концентрация цинка-65 (имп/мин·мг) в животных в текущий момент времени; C_0 — концентрация цинка-65 (имп/мин·мг) в начальный момент опыта в нерадиоактивной среде.

ческих элементов в них определялось бы только содержанием элементов в пище, что не соответствует наблюдениям.

Таким образом, из рис. 2, а следует, что с увеличением времени пребывания *E. bella* в среде с меченым цинком-65 пищей точность отражения интенсивности потребления пищи, по данным измерения радиоактивности животных, уменьшается. Поэтому при изучении суточного ритма питания время экспозиции должно быть как можно меньшим. С другой стороны, с уменьшением экспозиции снижается точность определения рациона за счет неравномерности потребления пищи, вариабельности концентрации метки в клетках водоросли и общим относительно низким уровнем радиоактивности, приобретаемой особями. Из рис. 2, а видно, что в течение трех часов опыта функция накопления цинка-65 животными близка к прямой. Поэтому при изучении ритма питания нами выбрано время экспозиции 3 ч, определяющее, на наш взгляд, наименьшую потерю точности. Потребленная радиоактивность, определяемая нами, будет пропорциональна скорости потребления пищи, и поэтому мы в дальнейшем будем оперировать понятием «скорость потребления пищи», принимая во внимание, что определяемая нами величина всегда меньше действительной скорости потребления, но ей пропорциональна.

Изменения интенсивности питания *E. bella* одноклеточными водорослями *P. trochoideum* в течение суток, определенные по потреблению радиоактивности животными с пищей, приведены на рис. 3. Темп питания животных зависит от времени суток. В ночные часы интенсивность питания возрастает вдвое относительно дневной.

Одновременно с определением скорости потребления регистрировали характеристики локомоторной активности особей. У самок *E. bella* доля активной фазы (т. е. суммы всех видов движений) составляла 33% продолжительности периода наблюдений при содержании особей на пище и 5% — без пищи. В самой локомоторной активности продол-

жительность скользящего движения значительно больше таковой скачкообразного движения. Качественные наблюдения за питанием *E. bella* показали, что клетки водорослей самки отфильтровывают при скользящем движении, поэтому в связи с питанием мы будем рассматривать именно его характеристики.

Продолжительность скользящего движения (за данное время) есть произведение частоты единичных актов скольжения на их продолжительность. Кроме указанных характеристик рассчитывали скорость единичных актов скольжения. На рис. 4, 5 показаны изменения характеристик единичных актов скольжения в течение суток. Выравнивание кривых выполнено способом скользящей средней. Выше указывалось, что скорость потребления клеток максимальна в ночное и вечернее время и минимальна днем. Аналогичные тенденции изменения характерны для скольжения — его продолжительности и скорости.

Рис. 3. Суточный ритм питания *Euchirella bella* фитопланктонными клетками *P. trochoideum*:

η — скорость потребления животными пищи (кл/ч).

Таким образом, у самок *E. bella* наблюдаются однотипные суточные изменения скорости потребления клеток и продолжительности скользящего движения. При увеличении продолжительности и скорости единичных актов скольжения скорость потребления клеток самкой *E. bella* возрастает.

При содержании особей без пищи (контрольные опыты) продолжительность скольжения довольно постоянна (от 2 до 10 ч), затем

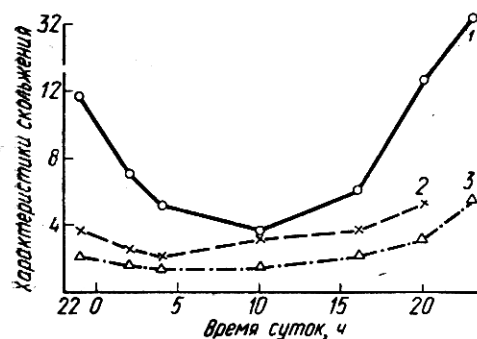


Рис. 4. Характеристики скольжения *Euchirella bella* при содержании особей на пище:

1 — продолжительность скользящего движения, с; 2 — частота единичных актов скольжения в мин; 3 — продолжительность единичного акта скольжения, с. Выравнивание кривых проведено способом скользящей средней.

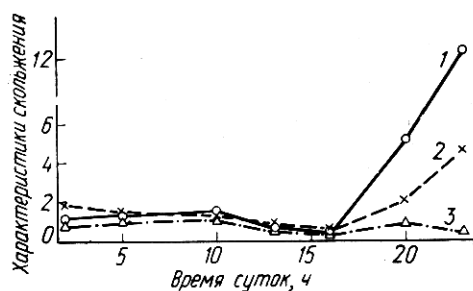


Рис. 5. Характеристики скольжения *Euchirella bella* при содержании особей без пищи.

Обозначения те же, что на рис. 4.

она уменьшается, принимая минимальные значения в 16 ч, и резко увеличивается к 23 ч (см. рис. 4 и 5).

Область минимальной продолжительности скольжения смещается во времени в зависимости от наличия пищи и ее потребления или отсутствия. Среднесуточная продолжительность скольжения уменьшается. То же происходит со скоростью скольжения. Она составляет 1,3 см/с при содержании на пище и 0,2 см/с — при ее отсутствии. Частоты скачков при обоих режимах (средние величины соответственно равны 0,5 и 0,6 см/с) в течение суток существенно не изменяются. На основании этого делается предположение о различных путях регуляции актов локомоторной активности биотическими факторами.

В результате проделанной работы можно сделать следующие выводы.

1. Скорость питания самок *E. bella* одноклеточными водорослями *P. trochoideum* в ночные часы вдвое выше, чем в дневные.

2. Наибольшей скорости потребления клеток самкой *E. bella* соответствуют наибольшие продолжительность и скорость скольжения.

1. Петина Т. С. Питание *Acartia clausi* и *Acartia latisetosa* в Черном море. — Тр. Севастоп. биол. ст., 1959, 12, с. 130—153.
2. Печень-Финенко Г. А., Павловская Т. В. О механизме регуляции эффективности усвоения пищи у морского веслоногого рачка *Acartia clausi*. — Биология моря, Киев, 1976, вып. 39, с. 19—25.
3. Сорокин Ю. И. Применение радиоуглеродного метода для изучения питания и пищевых связей водных беспозвоночных. — Тр. Ин-та биологии внутр. вод, 1966, вып. 12, с. 75—119.
4. Сорокин Ю. И., Петина Т. С., Павлова Е. В. Изучение питания массовых форм планктона тропической области Тихого океана радиоуглеродным методом. — Океанология, 1970, 10, вып. 2, с. 123—141.
5. Coulter W. H. High speed automatic cell counter and cell size analyzer. — Proc. Nat. Electron. Conf., 1957, 12, p. 1034—1042.
6. Frost B. W. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behaviour of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. — Limnol. and Oceanogr., 1972, 17, N 6, p. 805—815.
7. Marshall S. M., Orr A. P. The biology of a marine copepod. — Berlin etc.: Springer, 1972. — 195 p.

Ин-т биологии южных морей
им. А. С. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено
27.12.79

S. A. PIONTKOVSKY, V. N. EGOROV, V. N. IVANOV
**AN EXPERIENCE OF ZN-65 UTILIZATION FOR STUDYING
NUTRITION RHYTHM IN PLANKTONIC CRUSTACEA**

Summary

The diurnal nutrition rhythm was studied in *Euchirella bella* on the *Peridinium trochoideum* algae ^{65}Zn -labelled culture. The characteristics of locomotor activity of the individuals were simultaneously registered. It is shown that the algae consumption rate at night is twice as high as in the daytime. The highest cell consumption rate corresponds to the longest period and highest rate of all the behaviour acts which are used and dominate in feeding.