

В.С. Филимонов, Г.М. Садовская

Особенности суточной динамики и вертикального распределения биолюминесценции во время «цветения» водорослей в прибрежных водах Японского моря

Институт вычислительного моделирования СО РАН, г. Красноярск

Поступила в редакцию 22.08.2005 г.

Рассмотрены особенности суточной динамики и вертикального распределения биолюминесценции светящихся видов фитопланктона в прибрежной зоне Японского моря во время «цветения» водорослей. Для оценки интенсивности свечения водорослей использован метод, основанный на измерении интегрального биолюминесцентного сигнала сетных планктонных проб при ультразвуковой стимуляции свечения. Показано, что при использовании данного метода возможно четкое разделение биолюминесцентных сигналов фитопланктона и зоопланктона. Это позволило установить наличие суточного ритма деления светящегося фитопланктона, получить характеристики его вертикального распределения и показать, что в период массового цветения водорослей не наблюдается их суточной вертикальной миграции, а изменение характера их вертикального распределения связано с большим коэффициентом выживания молодых клеток.

Введение

Неоднородность пространственного распределения фитопланктона не является результатом случайных флуктуаций абиотических факторов, а представляет собой неотъемлемую характеристику планктонных сообществ, причины и особенности которой исследованы недостаточно [1, 2]. Существование крупномасштабных неоднородностей распределения планктона (популяционных и субпопуляционных) было показано в целом ряде работ [3, 4]. Однако о закономерностях меньшего масштаба (от десятков километров до минимальных их размеров, вызванных локальной турбулентностью) известно крайне мало. Это объясняется высокой трудоемкостью и сложностью проведения биологического картирования таких масштабов, необходимостью проведения этих исследований высококвалифицированным персоналом, экономикой и методикой исследований с использованием морских экспедиционных судов. Особенно ярко неоднородности распределения фитопланктона проявляются в моменты массового развития водорослей.

В природных условиях встречаются два вида «цветения» воды: сезонные, закономерные вспышки развития фитопланктона, повторяющиеся ежегодно, и эпизодические — «красные приливы». «Красный прилив» — это условное, широко распространенное название сильного «цветения» воды в море. При интенсивном развитии в морской воде микроскопических организмов (бактерий, водорослей, инфузорий) вода изменяет свой цвет и становится желтой, ржаво-красной или розовой. Это обстоятельство и послужило основанием для выбора названия такого явления, известного с древнейших времен. «Красные приливы» по своей форме

могут варьировать от локальных пятен до полос длиной несколько миль, а по продолжительности — от 2 сут до месяцев.

Наиболее часто массовое «цветение» вызывается планктонными водорослями [5]. Сформируется ли обычное сезонное развитие фитопланктона во вспышку «красного прилива» — зависит от целого ряда факторов: обилия необходимых биогенных элементов, благоприятных гидрологических и метеорологических условий. Продолжающееся интенсивное загрязнение внутренних морей и прибрежных вод в глобальном масштабе привело к значительному изменению среды. Это послужило причиной и более частого возникновения локальных зон интенсивного «цветения» водорослей, причем во многих случаях оно сопровождается и массовым развитием токсичных видов.

В последние десятилетия «красные приливы» вышли из разряда редких явлений и приобрели характер стихийных бедствий, приносящих огромный материальный ущерб, включая человеческие жертвы. Массовое развитие токсичных водорослей приводит к заболеваниям и гибели рыбы, токсичности моллюсков, которые могут аккумулировать токсины и некоторое время сохранять их в своем теле без явного для себя ущерба. При употреблении этих продуктов в пищу они вызывают отравление, включая смертельные исходы. Особенно часто это явление наблюдается на Тихоокеанском и Атлантическом побережьях США, в Канаде, Англии, Японии, у побережья Камчатки [5–7]. Непредсказуемость, нарастающая частота этих явлений, тяжелые последствия требуют все большего внимания к их изучению.

Причиной преобладающей части токсичных «приливов» являются динофитовые водоросли

(перидиней, динофлагелляты). Одной из особенностей этих водорослей, в том числе и видов, продуцирующих токсины, является их способность к биолюминесценции. Клетки отвечают световым сигналом на внешние механическое, электрическое или химическое воздействия. Это обстоятельство позволило создать приборы и методики измерения вертикального и пространственного распределения свечения в море и использовать эти данные для оценки распределения фитопланктона [2].

В настоящей статье рассмотрены особенности суточной динамики и вертикального распределения биолюминесценции светящихся видов фитопланктона в прибрежной зоне во время «цветения» водорослей. Данные получены в ходе многолетнего изучения динамики биолюминесценции фитопланктона в прибрежных водах Японского моря. При этом наблюдались и ситуации развития массового, мощного сезонного «цветения», близкого к «красному приливу». Для оценки интенсивности свечения водорослей использовался метод, основанный на измерении интегрального биолюминесцентного сигнала сетных планктонных проб при ультразвуковой стимуляции свечения. Планктонные пробы отбирались малой сетью Джеди (ячейка 40 мкм). Концентрация клеток водорослей в сетной пробе увеличивается в 150 раз. Для стимуляции свечения использовался ультразвук частотой 880 кГц. Интенсивность излучения при стимуляции свечения в пробе составляла 2 Вт/см^2 , что обеспечивало сохранность клеток после стимуляции и способность планктона к многократному высвечиванию. Калибровались как продолжительность, так и интенсивность стимуляции. Калибровка фотометра осуществлялась с помощью светового эталона, содержащего C^{14} . Время измерения каждой пробы составляло 5–10 мин. При анализе одновременно зафиксированных образцов проб отслеживались изменения видового состава планктонного сообщества.

При регистрации биолюминесценции планктона непосредственно в море с помощью приборов, позволяющих вести наблюдения световых сигналов планктонных организмов в режиме непрерывного зондирования от избранной глубины до поверхности при механической стимуляции свечения, фиксируются искаженные образы вспышек. Искажение зависит как от характера самих световых сигналов, так и целого ряда приборных характеристик. Это же относится и к приборам с активной прокачкой проб воды. При этом для разделения сигналов фитопланктона используются специальные расчетные методы, которые позволяют лишь условно, исходя из заранее принятой формы сигналов, получить приблизительные характеристики их вертикального распределения [2].

Метод изучения свечения планктонных проб при ультразвуковой стимуляции обладает существенными преимуществами перед методами, использующими механическую стимуляцию свечения. Он позволяет получать сигналы, не искаженные прибором, разделять биолюминесцентные сигналы фитопланктона и, используя свойство планкто-

на восстанавливаться после стимуляции, многократно исследовать одну и ту же пробу. На рис. 1 приведены биолюминесцентные сигналы проб, содержащих только фитопланктон, только зоопланктон и фито- и зоопланктон.

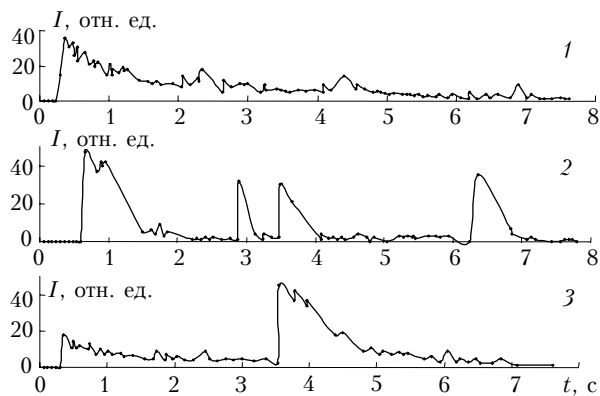


Рис. 1. Записи интегральных сигналов планктонных проб, содержащих: 1 — только фитопланктон; 2 — только зоопланктон; 3 — фито- и зоопланктон

Поскольку задержка возникновения светового импульса от начала раздражающего воздействия для зоопланктона всегда больше, чем для фитопланктона, то при регистрации сигнала всегда четко выделяется начальный участок вспышки фитопланктона. Учитывая экспоненциальный характер вспышки фитопланктона, несмотря на дальнейшее наложение на нее свечения зоопланктона, можно достаточно точно восстановить ее форму.

Как видно из приведенных графиков, даже в случае смешанной пробы, содержащей фито- и зоопланктон, возможно выделение световых сигналов как того, так и другого. Поскольку энергия свечения фитопланктона при постоянном видовом составе пропорциональна его численности, то численность светящегося фитопланктона может быть оценена по результатам измерения его биолюминесценции, как это было показано ранее в нашей работе [8].

Известно, что существует эндогенный и экзогенный суточные ритмы свечения планктона. При оценке численности светящихся видов фитопланктона непосредственно в море необходимо учитывать возможное присутствие ритмов свечения, определяющихся внутриклеточными процессами. Причиной изменения характера вертикального распределения численности фитопланктона может являться и его вертикальная миграция [9]. Чтобы оценить влияние суточных ритмов свечения и миграции планктона на изменение интенсивности биолюминесценции, был проведен модельный эксперимент. В прибойной зоне была погружена емкость из полиэтилена $3 \times 3 \times 3 \text{ м}$ с окнами $1 \times 1 \text{ м}$ из плетеного материала с ячейкой 40 мкм, вшитыми во все стенки и дно «аквариума», который заполнялся через верх в дневное время суток, когда численность светящихся видов планктона минимальна. Начальная численность биолюминесцентных в «аквариуме» оценивалась в пределах 20–40 кл./л. Результаты наблюдений представлены на рис. 2.

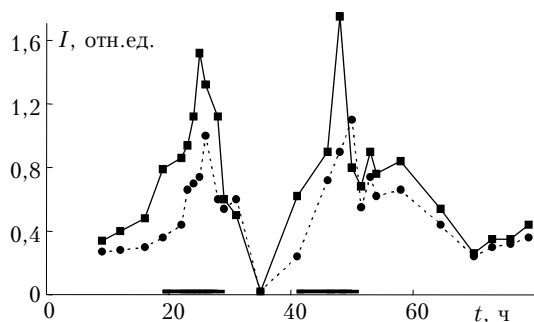


Рис. 2. Интенсивность биолюминесценции фитопланктона в прибрежной зоне (сплошная линия); в экспериментальном «аквариуме», погруженном в этой же зоне (штриховая)

Ожидалось, что численность биолюминесцентных будет монотонно прирастать в течение нескольких суток. Однако полученная картина динамики биолюминесценции в «аквариуме» и параллельно в контроле, вне «аквариума», оказалась качественно одинаковой, с незначительным отставанием по численности светящегося фитопланктона в «аквариуме». Интенсивность биолюминесценции и, соответственно, численность светящихся клеток с началом темного времени суток начинает резко возрастать, к 23 ч достигает максимального значения и после этого резко падает вплоть до минимального значения в полуденное время, когда количество светящихся особей опускается до единичных клеток в 1 л.

В лабораторных экспериментах с пробами было показано, что у массово развивающихся в период осеннего цветения светящихся видов фитопланктона не наблюдается эндогенного ритма свечения и четко прослеживается эффект угнетения биолюминесценции дневным светом. Поэтому для измерения интенсивности свечения в дневное время суток эффект угнетения свечения дневным светом снимался десятиминутной выдержкой исследуемой пробы в темноте. Нет оснований считать, что в ночное время суток, указанное на рис. 2 темными линиями вдоль оси абсцисс, биолюминесценция клеток в «аквариуме» угнеталась светом (ночное освещение в зоне эксперимента отсутствовало) и клетки светящегося фитопланктона выедались зоопланктоном или моллюсками. Численность зоопланктона в «аквариуме» была минимальной, а моллюски отсутствовали. В утреннее и дневное время суток не наблюдалось скопления клеток динофлагеллят на дне «аквариума», которое можно было бы связать с вертикальной миграцией клеток и этим объяснить утренний спад интенсивности свечения.

Все вышесказанное дает основание объяснить полученный в эксперименте результат синхронным делением клеток в ночное время с утратой способности к биолюминесценции ювенильными клетками, которые из-за их малого размера могут свободно проникать внутрь «аквариума» через сетчатые фильтры в его стенках и дне. Это объясняет и идентичность хода суточной ритмики свечения в море и внутри «аквариума». Данный вывод подтверждается исследованиями, выполненными в Черном море сотрудниками Института океанологии РАН, пока-

завшими наличие синхронного деления у динофлагеллят в естественных условиях [10].

Для оценки возможности вертикальной миграции светящихся видов фитопланктона непосредственно в море были проведены измерения характеристик вертикального распределения свечения в различных бухтах залива Посъет Японского моря в течение ночного времени суток как в начальный период развития свечения, так и при уменьшении его интенсивности. Типичные характеристики вертикального распределения интенсивности биолюминесценции в различных бухтах приведены на рис. 3.

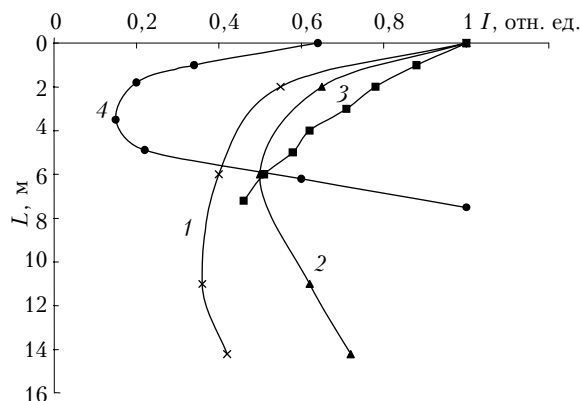


Рис. 3. Вертикальное распределение интенсивности биолюминесценции в бухтах залива Петра Великого, приведенное к 1: в центре бухты — 1; в зоне 20-м глубины — 2; в прибойной зоне — 3; аномальное распределение в прибойной зоне — 4

Для того чтобы снять эффект значительного изменения интенсивности свечения в течение ночи, как это было показано ранее, на графике максимальные значения интенсивности свечения приведены к единице. Максимальная интенсивность свечения, а следовательно, и максимальная численность светящегося фитопланктона сосредоточены на поверхности (рис. 3, кривые 1–3). С увеличением глубины интенсивность свечения падает. Иногда наблюдается незначительное увеличение интенсивности свечения в придонных слоях.

Таким образом, проведенные эксперименты не показали наличия суточной вертикальной миграции светящегося фитопланктона в море в обычных условиях. В то же время были зарегистрированы аномальные вертикальные распределения светящегося фитопланктона (рис. 3, кривая 4). Такой характер вертикального распределения интенсивности свечения сохранялся в течение 2 сут в месте сброса рыбных отходов на дно бухты. При этом значительная интенсивность свечения регистрировалась и в поверхностном слое воды.

В связи со сравнительно коротким временем существования взрослых особей светящегося фитопланктона от начала темного времени суток — от 21 до 23 ч, после которого начинается период интенсивного деления клеток, взрослые клетки просто не успевают мигрировать в области с более благоприятными условиями существования. Это подтверждается результатами изучения характера вертикальных

распределений биолюминесценции непосредственно в море и экспериментальном «аквариуме». Поэтому зарегистрированный аномальный характер вертикального распределения интенсивности свечения фитопланктона может являться следствием большей вероятности выживания молодых клеток в благоприятных условиях при изменении характера вертикального распределения их пищевых ресурсов.

Такие условия сохраняются в поверхностных слоях воды и возникли в придонных слоях за счет диффузии биогенных элементов от сброшенных отходов. При делении взрослой клетки на две, четыре или восемь, а в благоприятных условиях и более молодых клеток, которые разносятся течением и турбулентностью в поверхностных водах, интенсивно развиваясь в благоприятных условиях, клетки водорослей быстро занимают вновь возникшую подходящую нишу.

При исследовании пространственного распределения водорослей, особенно в районах их массового развития, встает вопрос об определении места и момента смены видового состава фитопланктона. Такие наблюдения особенно важны в присутствии токсичных видов. В ходе работ нами был опробован метод, основанный на изучении характеристик затухания свечения планктонной пробы при многократном ее возбуждении. Этот метод дает возможность оценить количество световой энергии, которое может выделить аликвота с данным планктонным сообществом в ответ на внешнее импульсное возбуждение. Эксперименты были проведены при различном видовом составе светящегося фитопланктона. Показано, что полученные характеристики отличны для сетных проб с различным видовым составом светящихся клеток. Характеристики затухания энергии свечения ($E = \int I(t)dt$) проб летнего и осеннего сезонов при многократном возбуждении свечения приведены на рис. 4.

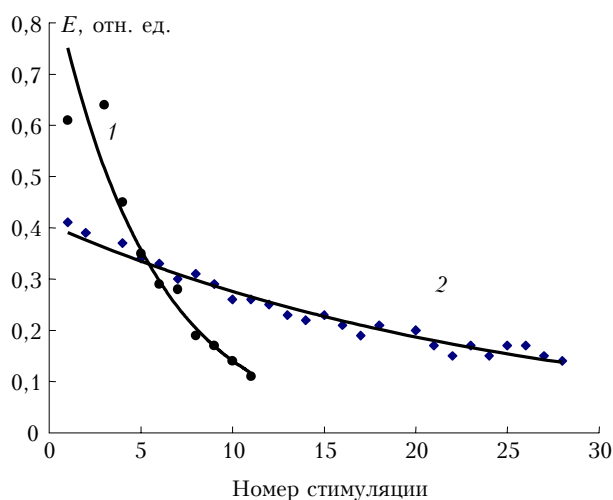


Рис. 4. Характеристики затухания энергии биолюминесцентных импульсов при многократном возбуждении свечения планктонной пробы: 1 — для летнего, 2 — для осеннего сезонов

Полученные характеристики хорошо аппроксимируются экспоненциальными функциями. Квадрат коэффициента корреляции для обеих кривых — 0,96. Для летнего сезона показатель затухания свечения равен 0,186, для осеннего 0,0387. Быстрота и точность измерения этого параметра позволяют использовать его для экспрессного тестирования изменений видового состава светящегося фитопланктона.

Таким образом, проведенные эксперименты по изучению биолюминесценции в период осеннего массового развития фитопланктона показали, что интенсивность биолюминесценции и, соответственно, численность взрослых особей светящихся, потенциально токсичных видов планктона имеют четко выраженный суточный ритм и резко изменяются в начальные ночные часы, т.е. наблюдается четко выраженный суточный ритм деления водорослей. Это обстоятельство существенно затрудняет оценку их численности при использовании стандартных биологических методов, при которых отбор планктонных проб производится с четырехчасовыми интервалами. Оценка численности ювенильных клеток в дневное время суток также не позволяет определить будущее количество взрослых особей из-за неизвестного коэффициента выживания молодых клеток. Для уточненной оценки численности динофлагеллят необходим отбор проб в ранние ночные часы с интервалом порядка десятков минут.

Метод регистрации биолюминесценции фитопланктона с использованием ультразвуковой стимуляции свечения позволяет быстро оценивать характер изменения свечения, устанавливать момент максимального его развития, т.е. максимальной численности динофлагеллят, и существенно упрощает решение этой задачи. Возможность четкого разделения световых сигналов фито- и зоопланктона использована для получения характеристик вертикального распределения свечения фитопланктона. Показано, что в естественных условиях не наблюдается вертикальной миграции светящегося фитопланктона в обследованных прибрежных водах.

Проведенные эксперименты позволяют заключить, что изменение характера вертикального распределения численности светящихся видов фитопланктона может определяться изменением степени выживания ювенильных клеток в зависимости от характеристик среды, в частности от условий питания на различных глубинах, а не являться обязательным следствием миграции фитопланктона. Установлено, что при различном видовом составе показатели затухания свечения планктонной пробы при ее многократной стимуляции значительно изменяются. Используя этот параметр, можно отслеживать моменты смены видового состава в сообществе светящихся видов при изучении пространственного распределения водорослей или его временной изменчивости.

1. Рогозин Г.А., Гаврилкина С.В., Перескоков А.В., Снитко Л.В. Картирование акваторий водоемов как

- метод экологического мониторинга // Изв. Челяб. Науч. центра 2003. Вып. 2 (19). С. 100–104.
2. Гительзон И.И., Левин Л.А., Утюшев Р.Н., Черепанов О.А., Чугунов Ю.В. Биoluminesценция в океане. СПб.: Гидрометеиздат, 1992. 283 с.
 3. Bainbridge R. The size, shape and density of marine phytoplankton concentration // Biol. Rev. 1957. V. 32. N 1. P. 91–115.
 4. Беклемишев К.В. Экология и биогеография пелагиали. М.: Наука, 1969. 291 с.
 5. Коновалова Г.В. «Красные приливы» и «цветение» воды в дальневосточных морях России и прилегающих акваториях Тихого океана // Биология моря. 1999. Т. 25. № 4. С. 263–273.
 6. Горюнова С.В., Демина Н.С. Водоросли – продуценты токсических веществ. М.: Наука, 1974. 256 с.
 7. Kirkpatrick B., Fleming L.E., Squicciarini D., Baker L.C., Clark R., Abraham W., Benson J., Cheng G.S., Jonson D., Pierser R., Zaias J., Bassart G.D., Baden D.G. Literature review of Florida red tide: Implication for human health effects. <http://www.ccmp.berkeley.edu/protista/dinoflagellata.html>
 8. Филимонов В.С., Садовская Г.М. Биoluminesценция гетерогенных популяций фитопланктона при ультразвуковой стимуляции // Биология моря. 1982. № 2. С. 51–57.
 9. Садовская Г.М., Филимонов В.С. Факторы, определяющие суточную динамику биoluminesценции фитопланктона // Океанология. 1985. Т. 25. № 5. С. 825–831.
 10. Столбова Н.Г., Ведерников В.И., Микаэлян А.С. Суточный ритм деления динофлагеллят в Черном море // Океанология. 1982. Т. 22. № 3. С. 492–496.

V.S. Filimonov, G.M. Sadovskaya. Singularities of daily dynamics and vertical bioluminescence distribution in time of «flowering» of seaweed in coastal waters of the Sea of Japan.

Singularities of daily dynamics and vertical bioluminescence distribution of luminous phytoplankton in coastal zone of the Sea of Japan in time of «flowering» of seaweed are considered. For evaluation of intensity of a luminescence of seaweed the method based on measurement of integrated bioluminescent signal of plankton net tests at ultrasonic stimulation of a luminescence was used. It was shown, that at use of the method the efficient separation of bioluminescent signals of phyto- and zooplankton is possible. This allowed to find a presence of a daily rhythm in division of flashing phytoplankton, to receive performances of its vertical distribution, and to show that in the phase of mass «flowering» of seaweed of their daily vertical migration is not observed, and the modification of a character of their vertical distribution is connected to a large survival factor of young cells.