

молекулярным машинам. *Известия РАН. Серия физическая*, 2015, т. 79, вып 3, с. 1728-1733. [Tverdislov V.A., Malyshko E.V., Ichenko S.A. From Autowave Mechanisms of Self-Assembly to Molecular Machines. *Izvestiya RAN. Seriya fizicheskaya*, 2015, vol. 79, no. 3, pp. 1728-1732. (In Russ.)]

10. Пер Бак *Как работает природа: теория самоорганизованной критичности*. Пер. с англ. Москва: УРСС: Либроком, 2013, 269 с. [Per Buck *How nature works: the theory of self-organized criticality*. Moscow: URSS: Librocom, 2013, 269 p. (In Russ.)]

11. Блюменфельд Л.А. *Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики*. М.: Едиториал УРСС, 2002, 160 с. [Blyumenfeld L.A. *Solvable and unsolvable problems of biological physics*. Editorial URSS, 2002, 160 p. (In Russ.)]

12. Чернавский Д.С., Чернавская Н.М. *Белок-машина: Биологические макромолекулярные конструкции*. МГУ им. М.В. Ломоносова, науч.-исслед. ВЦ, М.: Изд-во МГУ, 1999, 248 с. [Chernavskii D.S. *Belok-mashina*. MSU-Press, 1999, 248 p. (In Russ.)]

ИЗМЕРЕНИЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА *IN SITU*

Лямина Н.В., Лямин А.Г.

Севастопольский государственный университет
ул. Курчатова, 7, г. Севастополь, 299033, РФ
e-mail: burmistrovan@mail.ru, leleke@mail.ru

Аннотация. Проведен анализ погружных устройств приборного парка для исследования биологического потенциала *in situ*. Выявлены различия в конструктивных особенностях, типах светочувствительного датчика, методике измерений и калибровке. Установлено, что при проектировании конструкции батифотометра нужно произвести гидростатический и гидродинамический расчет характеристик батифотометра; дать оценку биологического потенциала, как функции объемного расхода; произвести биологическую калибровку батифотометра, используя конкретные виды и концентрацию биологических организмов; определить значение критического объемного расхода, которое будет использоваться при эксплуатации батифотометра, с учетом требований к минимизации габаритных размеров батифотометра и условиям эксплуатации.

Ключевые слова: биологический потенциал, батифотометр, биологическая калибровка, гидроэкология.

MEASUREMENT OF THE BIOLUMINESCENT POTENTIAL *IN SITU*

Lyamina N.V., Lyamin A.G.

Sevastopol State University
Kurchatova St., 7, Sevastopol, 299033, Russia
e-mail: burmistrovan@mail.ru, leleke@mail.ru

Abstract. The analysis of submersibles of the instrumentation pool for a research of bioluminescent potential was carried out *in situ*. Differences in features, types of the photosensitive transducer, measurement technique and calibration were revealed. It was established that while designing the structure of a bathyphotometer it is necessary to make hydrostatic and hydrodynamic calculation of characteristics of a bathyphotometer; to appraise bioluminescent potential as a function of a volume flow rate; to make biological calibration of a bathyphotometer, using specific types and concentration of bioluminescent organisms; to determine value of a critical volume rate which will be used in case of operation of bathyphotometer, considering the requirements as to minimization of over-all size of a bathyphotometer and service conditions.

Key words: bioluminescent potential, bathyphotometer, biological calibration, hydroecology.

Биологическая люминесценция - проявление жизнедеятельности организма в виде электромагнитного излучения в видимой области спектра, кинетические закономерности которого тесно связаны с кинетикой и механизмом порождающих его химических реакций и процессов метаболизма [1]. Биологическая люминесценция обнаружена у более 700 видов морских и наземных организмов всех уровней филогенеза, от бактерий до рыб. Около 80 % известных биологических люминесцентных организмов обитают в Океане, среди них много глубоководных [2]. Биологическая люминесценция у морских организмов наблюдается среди: **Proteobacteria** (Gammaproteobacteria), **Radiozoa** (Polycystina), **Myxozoa** (Dinophyceae), **Stenophora** (Tentaculata и Nuda), **Cnidaria** (Anthozoa, Hydrozoa и Scyphozoa), **Nemertea** (Enopla), **Annelida** (Polychaeta), **Mollusca** (Bivalvia, Cephalopoda и Gastropoda), **Chaetognatha** (Sagittoidea), **Arthropoda** (Branchiopoda, Copepoda, Malacostraca, Ostracoda и Pycnogonida), **Echinodermata** (Asterozoa, Crinozoa, Holothurozoa и Ophiurozoa), **Hemichordata** (Enteropneusta) и **Chordata** (Actinopteri, Appendicularia, Ascidiacea, Elasmobranchii и Thaliacea). Биологическая люминесценция у морских организмов наблюдается среди представителей 617 родов [3-6]. Биологическая люминесцентная излучение морских организмов приходится на спектральный диапазон от 410 до 710 нм. Большинство морских организмов эмитируют излучение с длиной волны между 450 и 490 нм, что соответствующим образом синему свету, обладающему оптимальной светопередачей в морской воде [5]. Изучение пространственной структурированности морских экосистем, взаимодействие их различных компонентов и

исследование механизмов формирования их гетерогенности относятся к числу наиболее важных проблем гидроэкологии. Исследования показали, что интенсивность поля биолюминесценции (ПБ) - суммарного светового эффекта, создаваемого в толще воды совокупностью морских биолюминесцентных организмов [7,8], может оцениваться как чувствительный индикатор для определения функционального состояния пелагического сообщества с учетом физических процессов, происходящих в морской среде, и загрязненности морских экосистем. ПБ существует повсеместно в любое время суток при существенных региональных и сезонных различиях. Для получения представлений о структуре биолюминесцентных гидробионтов требуется изучение суточной, сезонной и межгодовой динамики параметров ПБ, поиск корреляционных зависимостей и регрессионных соотношений между интенсивностью ПБ и факторами среды [8]. Параметры ПБ принимаются во внимание при планировании военно-морских операций – будь то десантирование, действие сил специального назначения, действие сил противолодочной обороны, боевое дежурство субмарин, минные постановки и противоминная борьба, действия стратегических оборонительных сил [9].

До середины XX века представления о биолюминесценции ограничивались описаниями отдельных случаев свечения биолюминесцентных организмов. Первый список из 300 биолюминесцентных организмов был составлен в 1952 году [1]. Количественная оценка ПБ *in situ* произошла случайно, при попытке измерить затухание солнечного излучения в морской воде с увеличением глубины при помощи фотометра [10]. Перед исследователями встала сложная задача по разработке специальных измерительных приборов, для регистрации сверхслабых световых сигналов, и методологии измерений, что позволило бы ответить на вопросы: является биолюминесценция океаническим явлением; как она связана с пространственно-временной структурой и составом морских сообществ; существует ли явление биолюминесценции на предельных глубинах Мирового океана; каковы характеристики светоизлучения отдельных видов планктона. Дальнейшие исследования показали, что общей чертой всех биолюминесцентных организмов, за исключением бактерий, является то, что гидромеханическая стимуляция организмов приводит к эмиссии излучения. Были разработаны погружаемые измерительные устройства, проточного типа, в которых осуществлялась прокачка морской воды, содержащей биолюминесцентные организмы, через измерительную камеру обнаружения, на входе которой осуществлялась стимуляция организмов [2,11,12]. Этот проект явился базисным для целой линейки измерительных устройств, которые получили название батифотометр. С помощью батифотометров стало возможным регистрировать *in situ* биолюминесценцию фитопланктона и мелкого мезозoopланктона. Все прочие биолюминесцентные организмы, в силу конструктивных особенностей батифотометров, избегают попадания в светонепроницаемую измерительную камеру, вклад макропланктона и нектона в интенсивность ПБ остается недостаточно изученным. Регистрация оптического излучения в батифотометрах осуществляется с помощью светочувствительного датчика (фотодиоды или ФЭУ), который находится в измерительной светонепроницаемой камере обнаружения. Работу батифотометра контролирует поверхностный управляющий системный блок, отвечающий за получение и накопление данных. Как правило, батифотометры входят, в качестве датчиков, в состав морских гидробиофизических измерительных комплексов. Кроме батифотометров, такие комплексы могут оснащаться: касетами батометров, STD зондами, оптическими, акустическими и др. датчиками. Батифотометры могут быть интегрированы в состав автономных подводных аппаратов [13]. Батифотометры обеспечивают качественное понимание распределения интенсивности *in situ* биолюминесцентного потенциала (БП) – потока излучения, усредненного по времени измерения и отнесенного к единице объема, которое будет произведено гидромеханически стимулируемыми биолюминесцентными организмами, находящимися в объеме измерительной камеры батифотометра. Это определение биолюминесцентного потенциала измеряемого батифотометром (БПБ) (фотоны л⁻¹), иногда называют емкостью биолюминесценции. В контексте лабораторных измерений, в ходе биологической калибровки батифотометров, когда используется известное количество и известные разновидности биолюминесцентных организмов, под биолюминесцентным потенциалом понимается общее количество механически стимулированного излучения (фотоны клетка⁻¹). Иногда под термином БПБ понимается средняя интенсивность стимулированной биолюминесценции (фотоны с⁻¹) [14].

Seliger Н.Н. [2] предложил математическую модель, используемую в дальнейшем при проектировании множества батифотометров. Модель связывала БПБ, характеристику вспышки биолюминесцентных организмов и резидентное время вспышки в пределах измерительной камеры обнаружения батифотометра. Модель применима к случаю, когда биолюминесцентные вспышки начаты на входе камеры обнаружения батифотометра, движение биолюминесцентных организмов осуществляется с постоянной скоростью v по всей длине камеры обнаружения L . Каждый организм производит единственную вспышку - $I_0 e^{-t/\tau}$, где I_0 (фотоны с⁻¹) – максимальная интенсивность вспышки; τ (с) – временная константа экспоненциального затухания вспышки, зависящая от таксономического состава биолюминесцентных организмов. Поток жидкости в этой модели только транспортирует клетки через неподвижное местоположение, где они стимулируются, и не является самостоятельно стимулирующим. Эмиссия излучения всех биолюминесцентных организмов в пределах камеры обнаружения батифотометра:

$$I = K e^{-t/\tau} dt = K n V I_0 \tau (1 - e^{-T/\tau}), \quad (1)$$

где K – инструментальная калибровочная константа; n – количество биолюминесцентных организмов на единицу объема; V – объем измерительной камеры; $T = L/v = V/Q$ – резидентное время вспышек в пределах камеры обнаружения батифотометра и Q – объемный расход.

Средняя интенсивность биолюминесценции:

$$(I) = I/T = K n Q I_0 \tau (1 - e^{-T/\tau}). \quad (2)$$

Измерение БПБ зависит от двух первичных факторов: резидентного времени вспышки в пределах камеры обнаружения батифотометра и времени затухания вспышки. Идеальное условие, когда $T > \tau$ и вся вспышка происходит в измерительной камере батифотометра.

$$\text{Если } T \gg \tau: (I) = K n Q I_0. \quad (3)$$

$$\text{Если } \tau \gg T: (I) = K n I_0 V. \quad (4)$$

Однако, экспериментальным путем было установлено, что стимуляция биолюминесцентных организмов происходит как при ламинарном, так и при турбулентном потоке жидкости, (I) резко возрастает, когда число Рейнольдса превышает определенный уровень, различие в видовом разнообразии биолюминесцентных организмов (т.е. в размерах), влияет на эффект порога стимуляции. Организмы могут вспыхнуть в камере обнаружения не раз, а несколько, количество биолюминесцентных организмов может увеличиться с увеличивающейся скоростью потока. Исследования показывают, что существует значение критического объемного расхода $Q_{кр}$, зависящее от разновидностей биолюминесцентных организмов и способа их возбуждения, при превышении этого значения (I) остается почти постоянной. Общая зависимость (I) от Q совместима с моделью Seliger Н.Н., но основные предположения этой модели не могут быть применены к батифотометрам. Для $Q > Q_{кр}$, батифотометры являются превосходными индикатором концентрации биолюминесцентных организмов, но не дают представления о биолюминесцентном потенциале [15].

Конструктивные элементы некоторых типов батифотометров изображены на рисунке 1. Основные характеристики некоторых существующих батифотометров приведены в таблице 1.

При проектировании батифотометра надо учитывать, что измеряемый батифотометром БПБ зависит от объемного расхода жидкости, длительности обнаружения излучения биолюминесцентных организмов в пределах светонепроницаемой камеры обнаружения батифотометра, эффективности системы гидромеханического возбуждения, минимизации предварительного возбуждения, конструктивных особенностей светонепроницаемой камеры и чувствительности датчика излучения. При проектировании конструкции батифотометра нужно произвести гидростатический и гидродинамический расчет характеристик батифотометра; дать оценку БПБ, как функции объемного расхода; произвести биологическую калибровку батифотометра, используя конкретные виды и концентрацию биолюминесцентных организмов; определить значение критического объемного расхода, которое будет использоваться при эксплуатации батифотометра, с учетом требований к минимизации габаритных размеров батифотометра и условиям эксплуатации.

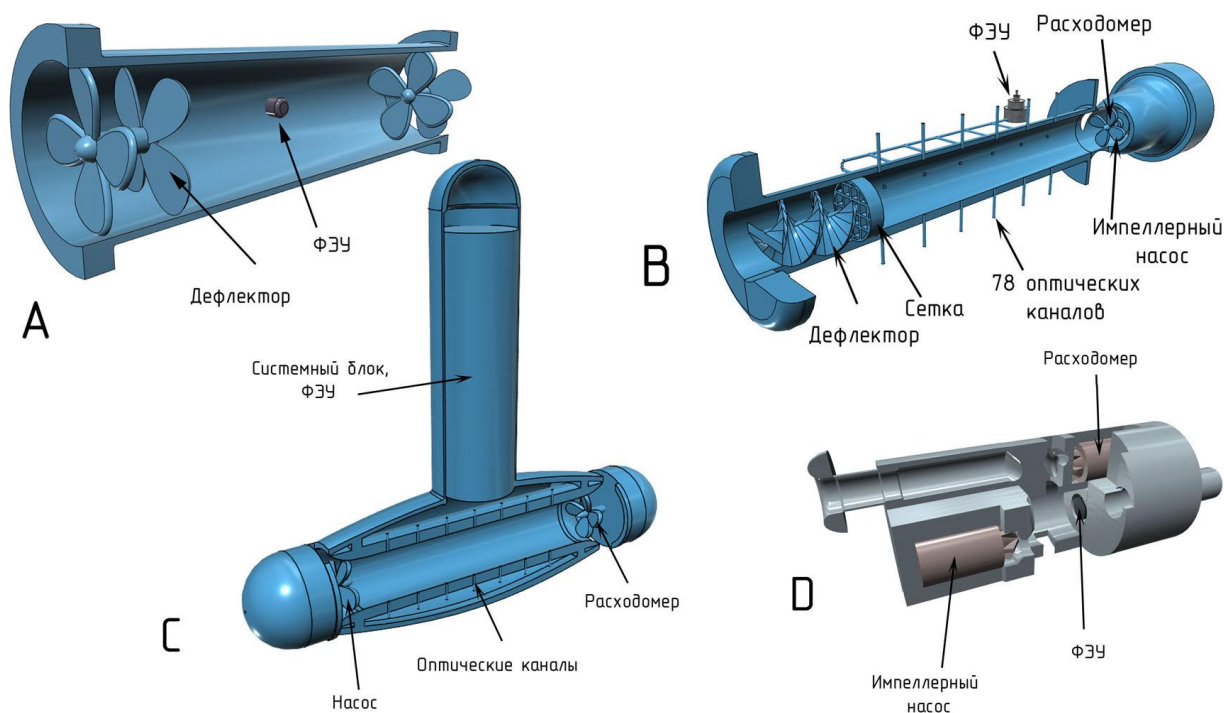


Рисунок 1 – Конструктивные особенности батифотометров. (А) Модифицированный батифотометр Гительсона И.И. [16]. (В) HIDEX батифотометр [14]. (С) MOORDEX батифотометр [17]. (D) MBBP [18]

Таблица 1

Название батифотометра	Устройство для стимуляции	V(л)	Q (л с ⁻¹)	T (с)	Ссылка
-	Импеллерный насос	0,06	0,37	0,16	[11]
-	Импеллерный насос	0,045	0,11	0,41	[2]
-	Импеллерный насос	0,038	1,5	0,025	[19]
-	Конструктивные элементы	0,026	1,1	0,023	[20]
-	Импеллерный насос	-	0,25	1	[21]
HIDEX-type	Сетка	4,7	6,3	0,746	[22]
HIDEX	Сетка	11,3	16-44	0,513	[14]
MOORDEX	Насос	5	1-12	-	[23]
ML 91	Конструктивные элементы	0,018	0,06	0,3	[24]
EcoleNavale	Сетка	0,19	0,5	0,38	[25]
MBBP	Импеллерный насос	0,5	0,45	1,1	[18]
GLOWtracka	Сетка	0,012	0,1	0,123	[26]
U-BAT	Импеллерный насос	0,44	0,3	1,467	[27]

Существующие проекты батифотометров существенно различаются по показателям объемного расхода, резидентного времени вспышки, эффективности системы возбуждения биолуминесцентных организмов. Существуют различия в конструктивных особенностях, типах светочувствительного датчика, методике измерений и калибровки. Любое прямое сравнение БПБ различных батифотометров не возможно, если не была произведена взаимная калибровка этих батифотометров в лабораторных условиях. Кроме того, множество существующих батифотометров представлены в единичных экземплярах. Появление на рынке таких коммерчески доступных батифотометров как Underwater Bioluminescence Assessment Tool (U-BAT) от компании WET Labs (<http://www.wetlabs.com>), GLOWtracka от компании Chelsea Technologies Group (www.chelsea.co.uk) или Сальпа-М2 от НПП Аквастандарт (<http://ecodevice.com.ua>) возможно приведет к увеличению количества взаимно сравнимых результатов исследований по измерению морского биолуминесцентного потенциала.

Список литературы / References:

1. Harvey E.N. *Bioluminescence*. New York: Academic Press, 1952.
2. Seliger H.H., Fastie W.G., McElroy W.D. Towable photometer for rapid area mapping of concentrations of bioluminescent marine dinoflagellates. *Limnol Oceanogr*, 1969, vol. 14, pp. 806-813.
3. Herring P.J. Systematic distribution of bioluminescence in living organisms. *J. Biolumin. Chemilumin.*, 1987, vol. 1, no. 3, pp. 147-163.
4. Shimomura O. *Bioluminescence: Chemical Principles and Methods*. World Scientific Publishing, Singapore, 2006.
5. Haddock S.H.D., Moline M.A., Case J.F. Bioluminescence in the sea. *Annual Review of Marine Science*, 2010, vol. 2, pp. 443-493.
6. Dunlap P.V., Urbanczyk H. Luminous bacteria. In: Rosenberg E (ed) *The prokaryotes: prokaryotic physiology and biochemistry*. Springer, Berlin, 2013, pp. 495-528.
7. Токарев Ю.Н. *Основы биофизической экологии гидробионтов*. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006, 342 с. [Tokarev Yu.N. *Fundamentals of biophysical ecology of aquatic organisms*. Sevastopol: ECOS-Hydrophysics, 2006, 342 p. (In Russ.)]
8. Лямина Н.В. *Динамика параметров поля биолуминесценции в Чёрном море и их сопряжённость с факторами среды*: дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.02.10 «гидробиология», Севастополь, 2014, 133 с. [Lyamina N.V. *Dynamics of the bioluminescence field parameters in the Black Sea and their correlation with environment factors*: Ph.D. thesis in Biological Science: spec. 03.02.10 "Hydrobiology", Sevastopol, 2014, 133 p. (In Russ.)]
9. Nowell A., Holman R., Mitchell B.G., Oltman-Shay J., Briscoe M.G., Whitman E.C., Walker D., Nelson S.A., Swerda J. *Oceanography and Naval Special Warfare: Opportunities and Challenges*. National Research Council. National Academy Press, 1997.
10. Kampa E.M., Boden B.P. Light generation in a sonic-scattering layer. *Deep-Sea Res*, 1953, vol. 4, pp. 73-92.
11. Clarke G.L., Kelly M.G. Measurements of diurnal changes in bioluminescence from the sea surface to 2,000 meters using a new photometric device. *Limnol Oceanogr*, 1965, vol. 10 (Redfield Suppl.), pp. 54-66.
12. Гительзон И.И., Дегтярев В.И., Левин Л.А., Утюшев Р.Н., Филимонов В.С., Чумакова Р.И., Шевырнов А.П. *Биолуминесценция моря*. М.: Наука, 1969, 183 с. [Gitelzon I.I., Degtiarev V.I., Levin L.A., Utiushev R.N., Filimonov V.S., Chumakova R.I., Shevyrnogov A.P. *Bioluminescence of the Sea*. M.: Science, 1969, 183 p. (In Russ.)]
13. Wynn R.B., Bett B.J., Evans A.J., Griffiths G., Huvenne V.A.I., Jones A.R., Palmer M.R., Dove D., Howe J.A., Boyd T.J. and MAREMAP partners. *Investigating the feasibility of utilizing AUV and Glider technology for mapping and monitoring of the UK MPA network*. Final report for Defra project MB0118. National Oceanography Centre, Southampton, 2012, 244 p.

14. Widder E.A., Case J.F., Bernstein S.A., MacIntyre S., Lowenstine M.R., Bowlby M.R., Cook D.P. A new large volume bioluminescence bathyphotometer with defined turbulence excitation. *Deep-Sea Res. Part I*, 1993, vol. 40, no. 3, pp. 607-627.
15. Latz M.I., Juhl A.R., Ahmed A.M., Elghobashi S.E., Rohr J. Hydrodynamic stimulation of dinoflagellate bioluminescence: a computational and experimental study. *Journal of Experimental Biology*, 2004, vol. 207, pp. 1941-1951.
16. Gitelson I.I., Levin L.A. Bioluminescence in Oceanology. *J. Bioluminescence and Chemiluminescence*, 1989, vol. 4, pp. 555-562.
17. Case J.F., Widder E.A., Bernstein S., Ferrer K., Young D., Latz M.I., Geiger M., Lapota D. Assessment of marine bioluminescence. *Naval Research Reviews*, 1993, vol. XLV, no. 2, pp. 31-41.
18. Herren C.M., Haddock S.H.D., Johnson C., Orrico C.M., Moline M.A., Case J.F. A multi-platform bathyphotometer for fine-scale, coastal bioluminescence research. *Limnol Oceanogr Methods*, 2005, vol. 3, pp. 247-262.
19. Aiken J., Kelly J. A solid state sensor for mapping and profiling stimulated bioluminescence in the marine environment. *Cont. Shelf Res*, 1984, vol. 3, no. 4, pp. 455-464.
20. Losee J.D., Lapota D., Lieberman S.H. Bioluminescence: A new tool for oceanography. in Zirion A. *Mapping Strategies in Chemical Oceanography*. AdvChemSer, 209, Washington D.C., American Chemical Society, 1985.
21. Swift E., Lessard E.J., Biggley W.H. Organisms associated with stimulated epipelagic bioluminescence in the Sargasso Sea and the Gulf Stream. *J Plank Res*, 1985, vol. 7, pp. 831-848.
22. Buskey E.J. Epipelagic planktonic bioluminescence in the marginal ice zone of the Greenland Sea. *Mar Biol*, 1992, vol. 113, pp. 689-698.
23. Neilson D.J., Latz M.I., Case J.F. Temporal variability in the vertical structure of bioluminescence in the North Atlantic Ocean. *J. Geophys. Res. C: Oceans Atmos*, 1995, vol. 100, no. C4, pp. 6591-6603.
24. Swift E., Sullivan J.M., Batchelder H.P., van Keuren J., Vaillancourt R.D., Bidgare R.R. Bioluminescent organisms and bioluminescence measurements in the North Atlantic Ocean near latitude 59.5 ° N, longitude 21 W. *J. Geophys Res*, 1995, vol. 100, pp. 6527-6547.
25. Geistdoerfer P., Vincendeau A.-M. A new bathyphotometer for bioluminescence measurements in the Armorican continental shelf (Northeastern Atlantic). *Oceanologica Acta*, 1999, vol. 22, pp. 137-151.
26. Kim G., Lee Y.-W., Joung D.-J., Kim K.-R., Kim K. Real-time monitoring of nutrient concentrations and red-tide outbreaks in the southern sea of Korea. *Geophys Res Lett*, 2006, vol. 33.
27. Orrico C.M., Moline M.A., Robbins I., Zelenke B., Barnard A.H., Strubhar W., Koegler J., Moore C. *A new tool for monitoring ecosystem dynamics incoastal environments: Long-term use and servicing requirements of the commercial Underwater Bioluminescence Assessment Tool (U-BAT)*. Oceans 2009. MTS/ IEEE , 1-7, 2010.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЦИТОХРОМНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ МОРСКИХ РЫБ НА ПРОТЯЖЕНИИ ГОДОВОГО ЦИКЛА

Солдатов А.А.^{1,2}, Парфенова И.А.²

¹ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН»

просп. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ

e-mail: alekssoldatov@yandex.ru

²ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»

ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ

Аннотация. Исследовали характер организации цитохромной цепи митохондрий скелетных мышц у трех видов черноморских рыб: кефали-сингиля (*Liza aurata* Risso, 1810), камбалы-глоссы (*Platichthys flesus luscus* Linnaeus, 1758) и бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814) на протяжении годового цикла. У кефали и камбалы отмечен рост суммарного содержания цитохромов в мышцах в зимний период времени. Наибольшие изменения отмечали среди цитохромов группы aa_3 . Стехиометрия дыхательной цепи митохондрий приближалась к нескомпенсированному типу. Наиболее лабильным оказалось отношение b/aa_3 . В белых мышцах оно становилось меньше единицы, а в красных мышцах претерпевало выраженное снижение. У кефалей подобную организацию дыхательной цепи отмечали и в летний период времени. Полученные результаты отражают возникновение дефицита кислорода в скелетных мышцах обоих видов рыб. У кругляка дыхательная цепь митохондрий изначально имела нескомпенсированный тип организации. Индекс b/aa_3 был ниже единицы в обоих мышечных группах. Каких-либо изменений в организации цитохромной цепи в скелетных мышцах данного вида на протяжении годового цикла не наблюдали.

Ключевые слова: цитохромы, стехиометрия цитохромной цепи, скелетные мышцы, годовой цикл, морские рыбы.