

УДК 591.148:574.52(262.5)

Ю. Н. Токарев, Е. Б. Мельникова

**К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ ГИДРОФИЗИЧЕСКИХ  
ПАРАМЕТРОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПОЛЯ  
БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЧЕРНОГО МОРЯ**

Исследована связь амплитудных параметров поля биолюминесценции с гидрофизическими характеристиками пелагиали. Предложена математическая модель, позволяющая прогнозировать интенсивность поля биолюминесценции в зависимости от гидрофизических параметров среды.

*Ключевые слова:* температура, солёность, мутность, давление, биолюминесценция.

Свечение организмов, которое связано с процессами их жизнедеятельности, называется биолюминесценцией. Биолюминесценция возникает в результате окисления сложных органических соединений (люциферин) при участии ферментов (люцифераз). Энергия, выделяющаяся в результате этих реакций, не рассеивается в виде тепла, а превращается в энергию электронного возбуждения молекул, способных выделять ее в виде фотонов [4, 9—11].

Среди факторов среды, определяющих условия развития морских биолюминесцентных организмов и влияющих на формирование в толще воды поля биолюминесценции (ПБ), важность гидрофизических характеристик трудно переоценить. Каждая из них — температура, солёность, мутность, давление (глубина обитания светящихся организмов) — влияет на вертикальное распределение светящихся организмов (биолюминесцентных), пространственную структурированность их популяций, расположение по глубине максимумов и минимумов интенсивности ПБ [1, 8, 11].

В частности, температура оказывает заметное влияние на обмен веществ, скорость химических реакций, лежащих в основе биохемилюминесценции, интенсивность питания, расход энергии при фотосинтезе, размножение, скорость развития, двигательную активность и т. д. [3, 4, 5]. Солёность воды влияет на интенсивность энергетического обмена у светящихся организмов, на их рост и выживаемость. Отклонение от нормы приводит к нарушению осмотического равновесия с внешней средой, угнетению дыхания и, при повышении (или понижении) некоторого уровня — к смертности [4, 8]. От прозрачности воды и ее обратной величины — мутности — зависит

© Токарев Ю. Н., Мельникова Е. Б., 2012

сигнальная (экологическая) нагрузка биолюминесцентом и интенсивность процессов фотосинтеза, определяющих уровень светоизлучения фитопланктонных биолюминесцентом [12].

К сожалению, единого взгляда на модификацию состояния гидробионтов и формируемых ими полей биолюминесценции под влиянием характеристик среды не существует [4, 8]. Это связано с тем, что влияние среды на организмы обычно оценивают по воздействию отдельных факторов, без учета их совместного (интегрального) влияния [5, 7]. Поэтому, целью данной работы была оценка как отдельного, так и интегрального воздействия на планктонных биолюминесцентом гидрофизических параметров среды. При этом важным представлялось выявить аналитические выражения данных зависимостей и продемонстрировать их статистическую значимость, что могло бы использоваться для прогнозирования интенсивности ПБ по материалам измерения гидрофизических характеристик среды.

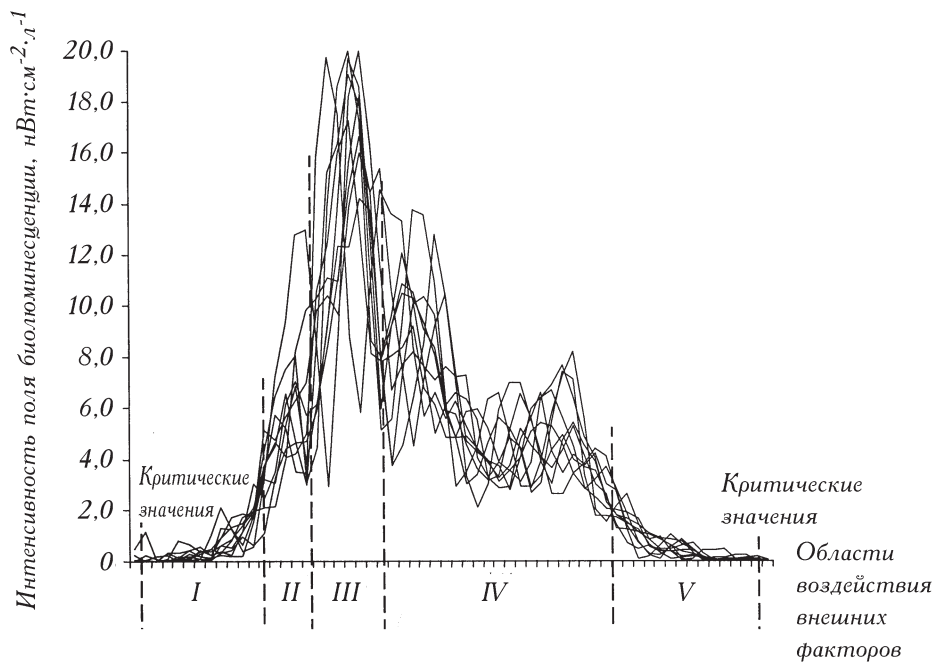
**Материал и методика исследований.** За основу работы были взяты данные отдела биофизической экологии Института биологии южных морей НАН Украины, полученные в июле 2010 г. Съёмки проводили в ночное время на траверсе бухты Круглой, которая находится в двухмильной зоне от Севастопольской бухты. Глубина моря в районе исследования около 60 м. Пространственную структуру ПБ, а также фоновых характеристик пелагиали исследовали методом многократного батифотометрического зондирования фотического слоя, используя гидробиофизический комплекс Сальпа-М [1]. Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований проводили с помощью дискриминантного анализа [2, 6]. Была применена процедура пошагового линейного дискриминантного анализа с последовательным включением гидрофизических показателей среды, реализованная в программном статистическом пакете Statistica 6.0.

### *Результаты исследований и их обсуждение*

Анализ экспериментальных данных показал, что в районе исследования интенсивность поля биолюминесценции изменялась в пределах от 0 до 20,0 нВт·см<sup>-2</sup>·л<sup>-1</sup>. При этом температура воды варьировала от 7,8 до 24°C, соленость — от 17,09 до 18,45‰, а мутность — от 0,29 до 1,18 ЕМФ (единиц мутности по формазану).

Известно, что в формировании ПБ Чёрного моря могут участвовать около 50 видов гидробионтов [8—10]. В комплексном воздействии на них нескольких гидрофизических факторов можно выделить некоторые закономерности, которые являются общими по отношению ко всем светящимся видам. На основании этого, с учетом значений всех измеряемых и воздействующих на биолюминесцентом факторов среды были выделены три области:

— область оптимальных значений (ОЗ), которая соответствует диапазону значений параметров среды, наиболее благоприятных для развития светящихся организмов и протекания у них биохемилюминесцентных реакций;



1. Схема воздействия факторов среды на поле биоломинесценции. Области значений параметров среды: I, V — область угнетающих значений; II—IV — область толерантных значений (II, IV — области лимитирующих значений, III — область оптимальных значений).

— область лимитирующих значений (ЛЗ), приуроченную к значениям параметров, ограничивающим скорость протекания биоломинесцентных реакций и условия существования популяций светящихся организмов;

— область угнетающих значений (УЗ), соответствующая значениям параметров, при которых угнетаются процессы жизнедеятельности биоломинесцентных.

При этом первую и вторую области можно объединить в область толерантных значений характеристик морской среды. На рисунке 1 изображена зависимость интенсивности ПБ от уровня воздействия внешних факторов в каждой из обозначенных областей.

К области оптимальных значений параметров обычно приурочена максимальная плотность популяции, для нее характерна высокая интенсивность ПБ. В области лимитирующих значений фактор, интенсивность воздействия которого недостаточна или, напротив, избыточна, но не достигает критических величин, отрицательно влияет на организмы и ограничивает возможности проявления воздействия других факторов, в том числе находящихся в пределах оптимальных значений параметров. Наконец, в области угнетающих значений параметры среды приближаются к критическим ве-

**1. Изменения интенсивности поля биолюминесценции (ИПБ, нВт/см<sup>2</sup>·л), температуры (Т, °С), солености (S, ‰) и мутности (М, ЕМФ) в разных областях среды обитания**

| Значения исследуемых показателей | Область угнетающих значений параметров среды |      |      |      | Область лимитирующих значений параметров среды |      |      |      | Область оптимальных значений параметров среды |      |      |      |
|----------------------------------|----------------------------------------------|------|------|------|------------------------------------------------|------|------|------|-----------------------------------------------|------|------|------|
|                                  | ИПБ                                          | Т    | S    | М    | ИПБ                                            | Т    | S    | М    | ИПБ                                           | Т    | S    | М    |
| Минимальные                      | 0                                            | 7,8  | 17,5 | 0,29 | 2,0                                            | 8,7  | 17,1 | 0,32 | 11,0                                          | 10,6 | 17,1 | 0,43 |
| Максимальные                     | 2,0                                          | 24,0 | 18,4 | 1,18 | 11,0                                           | 23,8 | 18,3 | 1,16 | 20,0                                          | 18,7 | 18,2 | 1,05 |
| Средние                          | 0,45                                         | 15,1 | 18,1 | 0,46 | 5,5                                            | 11,8 | 17,9 | 0,51 | 15,0                                          | 12,8 | 17,8 | 0,58 |

личинам, приводящим к гибели организма. В этой области наблюдается незначительная интенсивность ПБ.

В таблице 1 приведены граничные (минимальные и максимальные) и средние значения интенсивности ПБ, а также параметры среды в трех выделенных областях. Для определения степени раздельного и совместного воздействия внешних факторов на интенсивность ПБ применяли дискриминантный анализ. На первом этапе проведения дискриминантного анализа были поставлены вопросы:

1. Возможно ли, используя такие параметры морской среды, как температура, соленость, мутность и глубина, разделить светящиеся популяции гидробионтов на области высокой, средней и незначительной интенсивности.

2. Какие из используемых параметров среды наиболее информативны для этих целей.

На относительный вклад отдельных параметров среды обитания в значение каждой канонической дискриминантной функции указывают стандартизованные коэффициенты. Коэффициенты первой канонической функции выбираются таким образом, чтобы средние значения параметров областей как можно больше отличались друг от друга. Чем больше величина коэффициента, тем значительней вклад переменной. Коэффициенты второй канонической функции выбираются так же, но при этом налагается дополнительное условие, чтобы значения второй функции не коррелировали со значениями первой.

По величине приведенных в таблице 2 стандартизованных коэффициентов можно сделать вывод о том, что температура и глубина являются наиболее информативными для разделения областей в первой канонической функции, а температура, соленость и глубина — во второй.

Анализ показал, что все использованные в наших экспериментах фоновые характеристики среды являются значимыми переменными, позволяю-

**2. Стандартизованные коэффициенты для канонических дискриминантных функций**

| Параметры дискриминантных функций | Канонические функции |        |
|-----------------------------------|----------------------|--------|
|                                   | 1                    | 2      |
| Температура                       | 5,198                | 0,904  |
| Соленость                         | 1,317                | -0,483 |
| Мутность                          | 0,171                | 0,211  |
| Глубина                           | 4,221                | 0,455  |
| Собственное значение              | 9,344                | 0,024  |

щими с достаточно высокой степенью надежности разделить гидробионтов по интенсивности свечения в трех выделенных областях.

Степень разделения групп зависит от величины собственных значений (отношения суммы квадратов средних значений между группами к сумме квадратов значений дискриминантных переменных внутри групп): чем больше собственное число, тем сильнее разделение. Наибольшей разделительной способностью обладает первая каноническая дискриминантная функция, соответствующая наибольшему собственному числу (9,344), тогда как вторая функция обеспечивает существенно меньшее различие, чем первая (0,024) (см. табл. 2).

Результаты проведенного анализа показали, что по гидрофизическим параметрам среды можно определить, к какой области свечения отнести популяции биолюминесцентофитов. Следовательно, гидрофизические характеристики среды обитания могут быть использованы для составления классифицирующих функций и прогнозирования интенсивности ПБ. Получены следующие классифицирующие функции для каждой из областей.

Область оптимальных значений параметров среды обитания:

$$D_{O3} = 108,7 \times T + 1113,9 \times S + 241,2 \times M + 23,9 \times h - 10919,1. \quad (1)$$

Область лимитирующих значений параметров среды обитания:

$$D_{Л3} = 111,4 \times T + 1127,7 \times S + 243,0 \times M + 24,7 \times h - 11219,4. \quad (2)$$

Область угнетающих значений параметров среды обитания:

$$D_{У3} = 116,6 \times T + 1152,2 \times S + 247,6 \times M + 26,3 \times h - 1783,0. \quad (3)$$

Классифицирующие функции содержат набор коэффициентов, на которые умножаются значения соответствующих гидрофизических параметров. Произведения суммируются и найденные значения классифицирующих

### 3. Результаты сравнительной классификации по областям свечения

| Исходная классификация | Совпадение результатов, % | Предсказанная классификация |    |    | Всего |
|------------------------|---------------------------|-----------------------------|----|----|-------|
|                        |                           | ОЗ                          | ЛЗ | УЗ |       |
| ОЗ                     | 93,9                      | 46                          | 3  | 0  | 49    |
| ЛЗ                     | 78,3                      | 10                          | 40 | 1  | 51    |
| УЗ                     | 100                       | 0                           | 0  | 48 | 48    |
| Итого                  | 90,5                      | 56                          | 43 | 49 | 153   |

функций сравниваются между собой. Интенсивность свечения гидробактерий должна быть отнесена к той области, для которой значение классифицирующей функции больше.

По соотношениям (1)—(3) были рассчитаны интенсивности свечения в исходных точках, положенных в основу разработки метода, и проведено сравнение с экспериментальными данными. Полученные результаты приведены в таблице 3. Видно, что доля совпадения расчетных результатов и экспериментальных данных составляет 90,5% .

Ещё одной расчетной величиной дискриминантного анализа, позволяющей прогнозировать уровень биолюминесценции, является расстояние Махаланобиса [6]. Действительно, комплекс гидрофизических параметров среды можно представить точками в многомерном пространстве, где каждое наблюдение изображается отдельной точкой. Если измеряемых точек много, то они группируются в области, характерные для высокого, среднего и незначительного уровня биолюминесценции. В каждой из областей можно найти точку группового центра — центроида, или «центра тяжести». Расстояние Махаланобиса определяется как расстояние от наблюдаемой точки до центра тяжести области в многомерном пространстве. Они рассчитываются по формуле [2, 6]:

$$D^2 \left( \frac{x}{G_i} \right) = (n - g) \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^m (w^{-1})_{ji} (x_{ji} - \bar{x}_{ji})(x_{ki} - \bar{x}_{ki}), \quad (4)$$

где  $G_i$  — параметры, характеризующие расположение центроида  $i$ -й области;  $m$  — количество параметров;  $x_{ji}$  — значение  $j$ -го параметра среды в исследуемой точке;  $\bar{x}_{ji}$  — среднее значение  $j$ -го параметра  $i$ -й области;  $x_{ki}$  — значение  $k$ -го параметра среды в исследуемой точке;  $\bar{x}_{ki}$  — среднее значение  $k$ -го параметра  $i$ -й области.

Минимальное расстояние от полученной точки до каждого из групповых центроидов, рассчитанное по формуле (4), свидетельствует о принадлежности комплекса гидрофизических параметров, ответственных за свечение популяций, к определенной области, что дает возможность прогнозировать уровень биолюминесценции в точке с известными параметрами среды.

Было проведено сравнение интенсивности свечения билюминисцентом, предсказанной по минимальному расстоянию Махаланобиса, и экспериментальных данных. Как и при прогнозировании по классифицирующим функциям, совпадение с результатами эксперимента составило 90,5%. Это свидетельствует о возможности использования обеих методик для прогнозирования уровня интенсивности билюминисценции по значениям гидрофизических параметров среды.

### Заключение

По уровню влияния на распределение популяций билюминесцентом и интенсивность их светоизлучения комплекс гидрофизических характеристик среды разделяется на три области:

- область оптимальных значений гидрофизических параметров, способствующих высокой интенсивности ПБ;
- область значений гидрофизических параметров, лимитирующих интенсивность ПБ;
- область угнетающих значений гидрофизических параметров, способствующих незначительной интенсивности ПБ.

Получены классификационные уравнения для каждой из выделенных областей, позволяющие оценить интегральное воздействие исследованных гидрофизических параметров среды и прогнозировать по их величинам уровень интенсивности ПБ.

\*\*

*Досліджено зв'язок амплітудних параметрів поля біолюмінесценції (ПБ) з гідрофізичними характеристиками пелагіалі. Виявлено залежності інтенсивності ПБ від низки гідрофізичних параметрів середовища. Запропоновано математичну модель, яка дозволяє припустити залежність інтенсивності ПБ від градієнтів гідрофізичних параметрів та їхньої інтегральної дії.*

\*\*

*Connection between bioluminescence field (BF) amplitude parameters and pelagial hydrophysical characteristics has been investigated. BF intensity dependence on the number of environment hydrophysical parameters was revealed. Mathematical modes, which allows assuming the BF intensity, in dependence of hydrophysical parameters gradients and their integral affect is proposed.*

\*\*

1. Бурмистрова Н.В., Токарев Ю.Н., Василенко В.И., Жук В.Ф. Организация и проведение биофизического мониторинга планктонного сообщества прибрежной акватории Севастополя: первые результаты. Современные проблемы морской инженерной экологии (изыскания, ОВОС, социально-экономические аспекты) // Междунар. науч. конф.: Тез. докл., Ростов н/Д, 9—11 июня 2008 г. — Ростов н/Д: ЮНЦ РАН, 2008. — С. 59—62.

2. Бююль А., Цефель П. SPSS: искусство обработки информации: Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей / Пер. с нем. под ред. В.Е. Момота. — СПб.: ООО Диа СофтЮП, 2002. — 608 с.
3. Гептнер М.В. Опыт построения типологии вертикального распределения океанического зоопланктона // Журн. общ. биологии. — 1996. — Т. 57, № 1. — С. 44—66.
4. Гительзон И.И., Левин Л.А., Утюшев Р.Н. и др. Биолуминесценция в океане. — СПб.: Гидрометеиздат, 1992. — 283 с.
5. Жунько Л.М., Иванов В.А., Ильин Ю.П. и др. Система экологического мониторинга морской среды Севастопольского региона: обоснование и организационная концепция // Глобальная система наблюдений Черного моря: фундаментальные и прикладные аспекты: Сб. науч. тр. МГИ НАН Украины. — Севастополь, 2000. — С. 109—118.
6. Клекка У.Р. Дискриминантный анализ // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ: Пер. с англ. — М.: Финансы и статистика, 1989. — С. 78—138.
7. Овсяный Е.И., Романов А.С., Миньковская Р.Я. и др. Основные источники загрязнения морской среды Севастопольского региона // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. науч. тр. МГИ НАН Украины. — Севастополь, 2001. — Вып. 2 — С. 138—152
8. Токарев Ю.Н. Основы биофизической экологии гидробионтов — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. — 342 с.
9. Токарев Ю.Н., Битюков Э.П., Василенко В.И. и др. Видовое разнообразие планктонных биолуминесцентных в Черном море и характеристики формируемого ими поля биолуминесценции в неритической зоне Крыма // Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма (черноморский сектор) / Под ред. В. Н. Еремеева. — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. — С. 121—151.
10. Токарев Ю.Н., Битюков Э.П., Василенко В.И., Соколов Б.Г. Поле биолуминесценции — характерный показатель структуры планктонного сообщества Черного моря // Экология моря. — 2000. — № 53. — С. 20—25.
11. Черепанов О. А., Левин Л. А., Утюшев Р. Н. Связь биолуминесценции с биомассой и численностью светящегося и всего планктона. Баренцево и Норвежское море // Мор. экол. журн. — 2007. — Т. 6, вып. 1. — С. 55—65.
12. Soli G. Bioluminescent cycle of photosynthetic dinoflagellate // Limnol. Oceanogr. — 1966. — Vol. 11, N 3. — P. 355—363.