

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ТРУДЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА

Издаются с 1925 года

Выпуск 51

МОРСКИЕ И ПРЕСНОВОДНЫЕ
БИОСИСТЕМЫ
СЕВЕРА КАРЕЛИИ

Под редакцией д-ра биол. наук *А. И. Раилкина*



ИЗДАТЕЛЬСТВО С.-ПЕТЕРБУРГСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
2004

**ПЕРВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
ДОКАЗАТЕЛЬСТВА СТИМУЛИРОВАНИЯ
ОСЕДАНИЯ И РАЗВИТИЯ ГУБОК
МАКРОВОДОРОСЛЯМИ
(НА ПРИМЕРЕ ГУБКИ *HALISARCA DUJARDINI*
И БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *FUCUS VESICULOSUS*)**

А. И. РАИЛКИН, А. В. ЕРЕСКОВСКИЙ, Е. Л. ГОНОБОБЛЕВА

Оседание и развитие личинок бентосных беспозвоночных животных, как правило, происходит на ограниченном круге субстратов, а многие виды проявляют узкую специализацию в этом отношении (см. обзоры: Scheltema, 1974; Crisp, 1984; Morse 1990; Pawlik, 1992; Раилкин, 1998).

До настоящего времени считалось, что личинки губок — одних из наиболее примитивных многоклеточных животных — вообще не способны дифференцировать субстраты по их свойствам, по крайней мере в условиях экспериментов, и могут одинаково или почти одинаково успешно оседать на макроводоросли, камни и другие природные (и искусственные) субстраты (Bergquist, 1978; Pansini, Pronzato, 1981; Uriz, 1982; Ilan, Loya, 1990). Правда, личинки некоторых видов губок могут все же проявлять избирательность в отношении характера субстрата, лучше оседая на шероховатые поверхности, чем на гладкие (Ilan, Loya, 1990; Maldonado, Uriz, 1998), или на выпуклые субстраты по сравнению с вогнутыми (Riggio, di Pisa, 1981). Возможно, что в этих случаях не селективность самих личинок, а особенности обтекания указанных субстратов приводили к количественному преобладанию губок на одних из них.

Хорошо известна также приуроченность некоторых видов к определенным макрофитам. Так, *Halichondria panicea* в Балтийском море обычно встречается на красных водорослях *Phycodris* sp. и *Phyllophora* sp. (Barthel, 1986). Вместе с тем, подобные факты могут быть следствием дифференциальной смертности губок под влиянием окружающих факторов.

Проведенный анализ литературы показывает, что прямые данные о возможности выбора субстратов (местообитания) губками от-

сутствуют, что вполне объясняется отсутствием органов чувств у представителей этого типа беспозвоночных (Иванова-Казас, 1975; Bergquist, 1978).

По нашим наблюдениям, губки *Halisarca dujardini* в Белом море (губа Чупа, Кандалакшский залив) встречаются преимущественно на талломах бурой водоросли *Fucus vesiculosus*, причем на апикальных участках они вообще не обнаруживаются (Ересковский, 1993). Эти наблюдения послужили предпосылкой настоящего исследования, в котором мы сделали попытку изучить экспериментально влияние *Fucus vesiculosus* на оседание и метаморфоз личинок *H. dujardini*.

Материал и методика

Для получения личинок взрослых губок, собранных водолазами в местах произрастания *F. vesiculosus*, предварительно содержали в темноте и после освещения ярким светом наблюдали массовый выход из них личинок (Bergquist e. a., 1970; Maldonado, Young, 1996). Образцы *F. vesiculosus* собирали в местах обитания губки *H. dujardini*. Из апикальных и средних частей таллома водоросли вырезали фрагменты 1×1 см. С половины фрагментов жесткой кистью счищали поверхностный слой микрообрастания, состоящий по численности более чем на 99% из бактерий и диатомовых водорослей.

Из микрообрастания, смытого с апикальных и отдельно с медиальных участков водорослей, готовили суспензию клеток на стерилизованной морской воде и далее посредством приемов, основанных на способности сообществ микрообрастания к самосборке (Railkin, 1998), на дне стерилизованных чашек Петри (диаметр чашек 3.5 см) получали слой микрообрастания, идентичный по составу и весьма близкий по численности бактерий и диатомовых водорослей к природному.

От 20 до 50 подвижных личинок помещали в чашки Петри с 5 мл стерильной морской воды, содержавшие в 1-й серии опытов апикальный фрагмент фукуса (АФ); во 2-й серии — АФ с микрообрастанием (АФ + М); в 3-й — медиальный фрагмент фукуса (МФ); в 4-й — МФ + М; в 5-й — М с АФ; в 6-й — М с МФ. В 7-й серии (контроль) личинок выпускали в чашки Петри, содержавшие только морскую воду без фукуса и микрообрастания.

Наблюдения за оседанием и развитием личинок проводили с помощью микроскопа МБС-9 через 12 ч, 1, 3, 6 сут после постановки указанных опытов. Каждый эксперимент был поставлен в 5 повторностях при температуре 12°C на рассеянном свете. В каждой временной точке регистрировали количество свободно плавающих, осевших и метаморфизирующих личинок. Полученные данные переводили в проценты. Статистическая обработка результатов опытов была осуществлена с использованием компьютерных программ и помимо обычных процедур включала двух- и трехфакторный дисперсионный анализ (Sokal, Rohlf, 1981).

Результаты и обсуждение

Как показали микроскопические наблюдения (с использованием Биолом Л211, водно-иммерсионного объектива х40 при общем увеличении х600), субстраты, на которые оседали личинки губки *H. dujardini*, различались по численному составу микроорганизмов как в начале, так и в конце экспериментов, через 6 сут (табл. 1). Указанные в таблице значения обилия микроорганизмов относятся ко дну чашек Петри, на которые оседали и на которых метаморфизировали личинки. Лишь в исключительных случаях наблюдалось их оседание на фрагменты водорослей и прикрепление к ним.

В контроле, куда не вносили ни микрообрастание, ни фрагменты фукуса, естественно, не было диатомовых водорослей, а неспецифические бактерии появлялись в небольшом количестве через 6 сут. (и, вероятно, ранее) из-за отсутствия стерильных условий при проведении опытов. В чашках Петри с фукусами, а также с фукусами и микрообрастанием бактерий было примерно на порядок больше, чем в контроле, с одной стороны, за счет большой заселенности поверхности фукусов микроорганизмами, с другой — по причине затруднительности их полного удаления (в особенности прикрепленных форм) со складчатой поверхности фукусов.

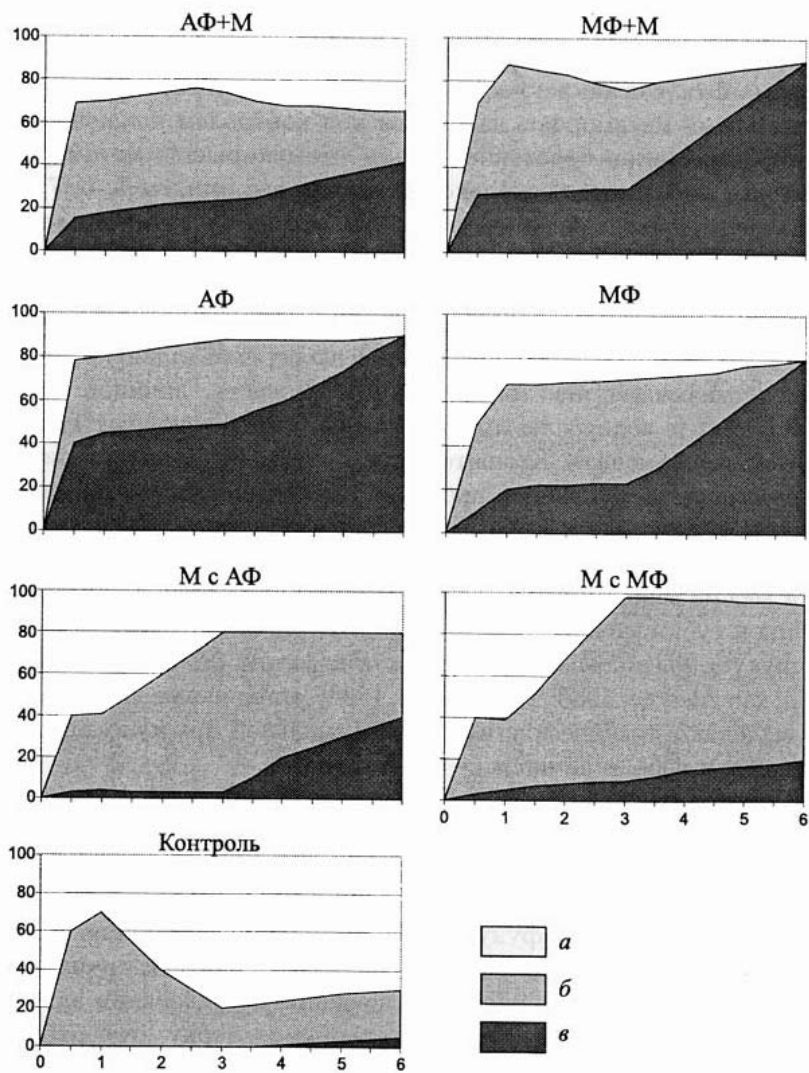
Значительный перевес обилия бактерий над обилием диатомовых водорослей в опытах с фрагментами фукусов по сравнению с опытами, в которых были использованы только смывы микрообрастания, объясняется более высоким расселительным потенциалом бактерий, чем малоподвижных диатомовых.

Таблица 1. Обилие микроорганизмов на дне чашек Петри на 6-е сутки

№ опыта	Серия опытов	Обилие, клеток/мм ²	
		Бактерии	Диатомовые водоросли
1	Контроль	100-500	0
2	Апикальный фрагмент без микрообрастания (АФ)	1000-2000	0
3	Апикальный фрагмент с микрообрастанием (АФ + М)	1500-3000	0-5
4	Медиальный фрагмент без микрообрастания (МФ)	1000-3000	3-5
5	Медиальный фрагмент с микрообрастанием (МФ + М)	2000-4000	5-25
6	Микрообрастание, смывое с апикального фрагмента (М с АФ)	5000-15000	100-250
7	Микрообрастание, смывое с медиального фрагмента (М с МФ)	10000-20000	400-800

Как же происходило заселение разных биологических субстратов личинками губки *H. dujardini*? Влияли ли экспериментальные субстраты на развитие личинок? Эксперименты показали, что в 1-е сутки личинки отчетливо проявляли исследовательское поведение (Crisp, 1984). Они активно оседали на дно, обследуя среду с субстратами. В этот период доля осевших личинок была приблизительно одинакова в экспериментах с биологическими субстратами (фрагментами фукусов и микрообрастанием) и в контроле (без них). Она составляла от 36 % в опытах с медиальными фрагментами фукуса и до 70 % в контроле (рисунок). Однако уже на 3-и сутки основные тенденции развития личинок в среде с биологическими субстратами и без них были принципиально различными. 2/3 из числа осевших в контроле губок вернулись к свободному плаванию в толще воды над дном. Хотя доля осевших губок несколько увеличилась за 3-6-е сутки (с 23 до 31%), не более 3% губок вообще приступили к метаморфозу в контроле.

Совершенно иные тенденции были выявлены в среде с фрагментами фукусов и с микрообрастанием. Эти биологические субстраты существенно стимулировали оседание личинок и фактически делали необратимым их дальнейшее развитие. На оседание поло-



Влияние фрагментов фукуса и микрообрастания на оседание и метаморфоз личинок губки.

По оси абсцисс — время, сутки; по оси ординат — количество личинок в процентах: *a* — плавающих, *b* — осевших, *v* — метаморфизирующих.

жительно и достоверно влияло микрообрастание, но в особенности фукус (табл. 2). Дальнейший статистический анализ фактического материала показал, что состав микрообрастания с разных участков таллома фукусов также достоверно влиял на оседание (табл. 3). В то же время метаморфоз находился под контролем исключительно фукуса. Микрообрастание либо не стимулировало метаморфоз (опыт 5), либо даже несколько тормозило его (опыты 3, 6, 7, см. рисунок). Необходимо также отметить, что на 6-е сутки в чашках Петри с апикальными фрагментами фукуса почти все метаморфизирующие личинки были мертвыми, тогда как в чашках с медиальными фрагментами они продолжали свое развитие.

Таким образом, полученные нами экспериментальные результаты доказывают не только избирательность личинок губки *H. dujardini* к водорослевым субстратам, но и позволяют гипотетически ее объяснить. Компетентные, готовые к развитию, личинки реализуют врожденную программу исследовательского поведения и могут оседать на любые доступные субстраты. Вместе с тем, их дальнейшее прикрепление и развитие оказываются возможными и весьма вероятными на водорослевых субстратах. Метаморфоз личинок губки может происходить на различных участках таллома фукуса *F. vesiculosus*. Однако, как известно (Sieburth, Conover, 1965; van Alstyne, 1988; Targett e. a., 1995), апикальные части таллома выделяют токсические вещества фенольной природы, которые приводят к гибели личинок.

Таким образом, избирательное поселение губки *H. dujardini* на срединных участках талломов фукусов *F. vesiculosus* есть следствие четырех однонаправленных составляющих, детерминирующих весь процесс развития: врожденного исследовательского поведения, стимулирующего влияния фукуса, пленки микрообрастания на его поверхности и, наконец, дифференциальной смертности личинок на апикальных участках фукуса. Дальнейшие исследования авторов будут направлены на экспериментальную проверку этой рабочей гипотезы.

Проведенное исследование впервые экспериментально доказывает возможность положительного влияния биологических субстратов на развитие личинок губок.

Таблица 2. Результаты дисперсионного анализа влияния фукуса, микрообрастания и времени на оседание и метаморфоз личинок губки

Источник вариации	Оседание						Метаморфоз			
	Число степеней свободы	Средний квадрат	F	Сила влияния, %	p	Средний квадрат	F	Сила влияния, %	p	
Фукус	3	1,909	86,77	13,09	< 0,001	2,970	63,19	41,70	< 0,001	
Микрообрастание	1	1,260	57,27	2,88	< 0,05	0,023	0,49	0,11	Не достоверно	
Фукус x микро- обрастание	3	0,533	24,23	3,66	Не достоверно	0,473	10,06	6,64	< 0,05	
Время	3	4,464	202,91	30,62	< 0,001	1,387	29,51	19,48	< 0,001	
Фукус x время	9	1,486	67,55	30,57	< 0,001	0,051	1,09	2,15	Не достоверно	
Микрообраста- ние x время	3	0,795	36,14	5,46	Не достоверно	0,061	1,30	0,86	*	
Фукус x микро- обрастание x время	9	0,359	16,32	7,39	< 0,001	0,021	0,45	0,88	*	
Остаточная	128	0,022	—	—	—	0,047	—	—	—	
Общая	159	0,275	—	—	—	0,134	—	—	—	

Таблица 3. Результаты дисперсионного анализа влияния микрообрастания с разных участков таллома и времени на оседание личинок губки

Источник вариации	Число степеней свободы	Средний квадрат	F	Сила влияния, %	p
Участок таллома	1	4,132	49,19	13,70	<0,001
Время	3	5,160	61,43	51,33	<0,001
Участок таллома × время	3	2,615	31,13	26,01	<0,05
Остаточная	32	0,084	—	—	—
Общая	39	0,733	—	—	—

ЛИТЕРАТУРА

- Ересковский А. В. Дополнения к фауне губок Белого моря // Вестник СПб-ГУ. Сер. 3. Биология. 1993. Вып. 2. С. 3–12.
- Иванова-Казас О. М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Простейшие и низшие многоклеточные. Новосибирск: Наука, 1975. 372 с.
- Раилкин А. И. Процессы колонизации и защита от биообрастания. СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 1998. 272 с.
- Barthel D. On the ecophysiology of the sponge *Halichondria panicea* in Kiel Bight. I. Substrate specificity, growth and reproduction // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1986. Vol. 32. P. 291–298.
- Bergquist P. R. Sponges. Berkley: Univ. California Press, 1978.
- Bergquist P. R., Sinclair M., Hogg J. J. Adaptations to intertidal existence: reproduction cycles and larval behaviour in Demospongiae. // The biology of the Porifera / Ed. W. G. Fry. Symp. Zool. Soc. London. 1970. Vol. 25. P. 246–271.
- Crisp D. J. Overview of research on marine invertebrate larvae, 1940–1980 // Marine biodeterioration: An interdisciplinary study. Annapolis, Maryland: Naval Inst. Press, 1984. P. 103–126.
- Ilan M., Loya Y. Sexual reproduction and settlement of the corall reef sponge *Chalinula sp.* from Red Sea // Mar. Biol. 1990. Vol. 105. P. 25–31.
- Maldonado M., Uriz M. J. Microrefuge exploitation by subtidal encrusting sponges: patterns of settlement and post-settlement survival // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1998. Vol. 174. P. 141–150.
- Maldonado M., Young C. M. Effects of physical factors on larval behavior, settlement and recruitment of four tropical demosponges // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1996. Vol. 138. P. 169–180.
- Morse D. E. Recent progress in larval settlement and metamorphosis: closing the gaps between molecular biology and ecology // Bull. Mar. Sci. 1990. Vol. 46. P. 465–483.
- Pansini M., Pronzato R. Etude des Spongiaires de substrats artificiels immerges durant quatre ans // Vie et milieu. 1981. Vol. 31. P. 77–82.
- Pawlik J. R. Chemical ecology of the settlement of benthic marine invertebrates // Oceanogr. Mar. Biol. A Rev. 1992. Vol. 30. P. 273–335.

- Railkin A. I.* The pattern of recovery of distributed microbial communities inhabiting hard substrates // *Hydrobiologia*. 1998. Vol. 385. P. 47-57.
- Riggio S., di Pisa G.* The patterns of settlement of benthic harbour communities in relation to substratum geometry // *Rapp. et proc.-verb. reum. Commis. int. explor. sci. Mer. mediterr. Monaco*, 1981. Vol. 27. P. 177-178.
- Scheltema R. S.* Biological interactions determining larval settlement of marine invertebrates. *Thalassia Jugosl.* 1974. Vol. 10. P. 263-296.
- Sieburth J. Mc. N., Conover J. T.* *Sargassum* tannin, an antibiotic which retards fouling. *Nature*. 1965. Vol. 208. P. 52-53.
- Sokal R. R., Rohlf F. J.* *Biometry*. San Francisco: Freeman W. H. 1981.
- Targett N. M., Boettcher A. A., Targett T. E., Vrolijk N. H.* Tropical marine herbivore assimilation of phenolic-rich plants // *Oecologia*. 1995. Vol. 103. P. 170-179.
- Uriz M. J.* Reproduccion en Hymeniacion sanguinea (Grant, 1926): Biologia de la larva y primeros estadios postlarvarios // *Inv. Pesq.* 1982. Vol. 46. P. 29-39.
- van Alstyne K. L.* Herbivory grazing increases polyphenolic defenses in the intertidal brown alga *Fucus distichus* // *Ecology*. 1988. Vol. 69. P. 655-663.

The first experimental evidences of stimulating effects of macroalgae to settlement and development of sponges (examples of the sponge *Halisarca dujardini* and the brown alga *Fucus vesiculosus*) / A. I. Raikin, A. V. Ereskovsky, E. L. Gonobobleva.

The aim of this study was to examine the possible influence of the brown alga *Fucus vesiculosus* and microfouling isolated from them on the settlement and metamorphosis of larvae of the demosponge *Halisarca dujardini* which is often met on this alga in the field. In experiments 10-30 swimming larvae are placed in the Petri dishes containing the apical or medial fragment of the alga with or without microfouling or only microfouling. In control sea water was only. During 1-3 d about 50-80% larvae settled, in the control the maximum settlement was observed within the first day and reached almost 70% decreasing up to 20% to the 3rd d. In the further, the obvious changes in numbers of larvae settled was not in all experiments and the control. After the settlement sponges attached and metamorphosed. The microfouling films as well as algal fragments influenced on the settlement rate though in the diverse degree. Mainly, the metamorphosis was induced by algal fragments, probably, their nonidentified water soluble metabolites. In 6 d the average percentages of the larvae metamorphosed were equal: 80-90% in a case of the medial fragments, 40-90% — in the case of the apical ones, and only 3% in the control. The majority of larvae were alive whereas in experiments with apical fragments they dead after metamorphosis. Mechanisms of the distribution of *H. dujardini* on natural substrates are discussed.