



УДК [547.979.7:582.263:593.4:282.256.341]:543.544.42

Жизненная стратегия байкальской губки *Lubomirskia baicalensis*

О. Ю. Глызина, А. В. Глызин, Т. А. Шишлянникова

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск
E-mail: glyzina@lin.irk.ru

Аннотация. Рассматриваются жизненная стратегия байкальской губки *Lubomirskia baicalensis* и результаты экспериментов по её культивированию в искусственных условиях пресноводного аквариумного комплекса Лимнологического института СО РАН. Анализируются данные автотрофной активности симбиотического сообщества губки и её редуционных телец, впервые полученных в ходе экспериментов. Как показали биохимические исследования, редуционные тельца имеют высокое содержание хлорофиллов *a* и *b*, что свидетельствует не только о полностью автотрофном питании, но и позволяет отнести симбиотические водоросли телец к типу зелёных. Культивирование колоний губок и их редуционных телец *in vivo* с применением экспериментальной аквариумной установки позволило создать управляемую живую модель в контролируемых условиях.

Ключевые слова: байкальские губки, жизненная стратегия, культивирование, редуционные тельца.

Введение

Древнейшие представители фауны оз. Байкал эндемичные пресноводные байкальские губки (*Lubomirskiidae*) доминируют по биомассе среди бентосных организмов литорали и служат ядром сложного симбиотического сообщества, включающего экзо- и эндосимбионтов [1–4].

В настоящее время их преобладание по биомассе наблюдается на глубинах от 7 до 15 м – в зоне, особо подверженной антропогенному прессу. А в связи с «предсказыванием» глобального потепления актуальность приобретает и вопрос об их стратегии выживания в изменяющихся условиях.

Температура воды – один из главных факторов окружающей среды, который контролирует рост и развитие основной группы эндосимбионтов губки – одноклеточных водорослей. Как морские кораллы и губки, так и пресноводные губки не обладают высокой экологической пластичностью, их жизненная стратегия скорее «пациентная» – в условиях постоянства среды они способны довольствоваться незначительным количеством ресурсов, устойчивы к суровым условиям, и будучи доминантами в части бентосных сообществ, тем не менее не проявляют выраженных эдификаторных свойств [4–8].

В данной работе обсуждаются результаты экспериментов, в которых были смоделированы возможные изменения такого важного кли-

матического параметра гидросферы, как температура воды и реакция на это байкальской губки *Lubomirskia baicalensis* (Pallas).

При организации исследований были учтены два важных фактора: во-первых, губки не переносят резких изменений условий среды; во-вторых, они требовательны к чистоте воды и не выживают даже при высоких концентрациях собственных метаболитов.

Обитание в бедных питательными веществами, холодных, но прозрачных водах оз. Байкал стало одной из предпосылок возникновения симбиоза с одноклеточными водорослями, которые обеспечивают губки не только углеродом, но и жирными кислотами. В результате наших предыдущих исследований с использованием маркерных демоспонгиевых кислот были выяснены как основные трофические взаимодействия между внутриклеточными симбионтами *Lubomirskia baicalensis*, так и основные доминирующие пигменты внутриклеточных альгосимбионтов губок [1–3].

Соотношение между концентрацией хлорофилла *a* и продуктами его превращений, а также другими пигментами (хлорофилл *b*; хлорофилл $c_1 + c_2$; каротиноиды) характеризуют физиологическое состояние водорослей. Их изменения на биохимическом уровне проявляются раньше, чем на внешнем [2]. Поэтому в ходе экспериментов особое внимание было уделено исследованию содержания хлорофиллов *a* и *b*.

Материалы и методы

Объектом исследования в проводимых экспериментах являлась крупная ветвистая губка *Lubomirskia baicalensis* (Pallas). Этот вид достаточно изучен по биологическим, экологическим и биохимическим показателям, что позволяет провести сравнительный анализ их изменений в максимально приближенных к природным условиям содержания в эксперименте [1–4].

В качестве исходного образца служили губки, собранные с глубины 10 м в южной котловине оз. Байкал. В течение 14 суток они были адаптированы к содержанию в аквариумах при температуре 8–12 °С в условиях проточности и 12-часовом световом режиме. Взрослые губки содержались в проточных аквариумных установках объёмом 30 л с охлаждением. Для содержания молодых губок использовали холодильники с ёмкостями объёмом 1 л и проточной системой.

Наблюдения за ростом и развитием губок при точном контроле потока воды, освещения и температуры проводились в течение двух лет. В результате экспериментов была предложена методика длительного содержания симбиотических организмов в аквариумах, которая позволила продолжить изучение взаимоотношений эндо- и экзосимбионтов губки [3].

Эксперименты проводились в аквариумных установках, наполненных проточной бутылированной байкальской и водой из сети городского водоснабжения (состав, мг/л : HCO_3^- – 57,9; Cl^- – 1,3; SO_4^{2-} – 4,3; K^+ – 1,0; Na^+ – 3,48; Ca^{2+} – 15,6; Mg^{2+} – 2,9; Fe^{2+} – 0,1; CO_2 – 0,3–0,8). Состав воды регулярно контролировали, рН поддерживали в интервале 7,5–7,8 в соответствии с ранее разработанными методиками содержания губок [4].

Выделение фракции альгосимбионтов клеток губки проводили в градиенте плотности искусственного полисахарида «Ficol-400M», растворённого в концентрациях 10, 5, 3 и 1 %. Суспензия клеток губки была отфильтрована от остатков спикул, спонгина и неразрушенных клеток губки сразу после гомогенизации, пятикратно разбавлена водой и отцентрифугирована (LMC-4200R (Biosan, Латвия), 50 g/min при 10 °С).

Контроль над чистотой фракций проводили с помощью светового микроскопа при увеличении в 600–1500 раз. Чистота выделения фракций «водорослей» составила 93–95 %, а «бактерий» – 90 %. Каждую из фракций отмы-

вали от полисахарида и помещали в приготовленный заранее раствор для экстракции липидных компонентов [4]. Количественный и качественный анализ хлорофиллов *a* и *b* фракции альгосимбионтов проводили методом ВЭЖХ на хроматографе «Милихром А-02» (ЭкоНова, Новосибирск). Условия хроматографического определения: колонка Ø 2×75, упакованная обращённо-фазным сорбентом ProntoSIL 120-5C18 AQ (Bischoff Anal. GmbH, Германия); подвижные фазы: А – вода:метанол (5:95), Б – метанол; линейный градиент 25 мин от 0 до 100 % Б; скорость потока – 100 мкл/мин; температура колонки 35 °С; длины волн УФ-детектора 330 и 360 нм. Для идентификации пигментов и их количественного определения использовали серии растворов хлорофилла *a* и *b* (Sigma, США) в метаноле с концентрацией от 2 до 20 нг/мл. Определение хлорофиллов *a* и *b* проводили на хроматографе Милихром А-02.

Результаты и обсуждение

Среди эндосимбионтов в байкальской губке *Lubomirskia baicalensis* (Pallas) доминируют по биомассе одноклеточные водоросли. Все они тесно включены в физиологические процессы губки и определяют гетеро- или автотрофный способ её питания. Исследования показали, что в сообществе байкальских губок существуют следующие трофические взаимодействия: водоросли → бактерии, губка → водоросли, губка → бактерии, бактерии → губка, водоросли → губка, которые хорошо прослеживаются с помощью маркерных жирных кислот [3]. Выявлено также, что у внешне здоровой байкальской губки (рис. 1, А), которую содержали в течение одного месяца в аквариуме, происходят серьёзные изменения состава липидов, в том числе жирных кислот [2]. В липидном экстракте губок значительная доля приходится на хлорофилл. Известно также, что индикатором повреждения, вызванного действием среды обитания, является снижение содержания хлорофилла. При этом у устойчивых к повышению температуры среды видов происходит увеличение соотношения содержания хлорофилла *a* и *b*, а у неустойчивых – снижение. У исследованных нами образцов *Lubomirskia baicalensis* не выявлено зависимости между концентрацией хлорофилла *a* и *b* (как абсолютные значения, так и их соотношение) и устойчивостью к повышению температуры, либо незначительному изменению состава воды (табл. 1).

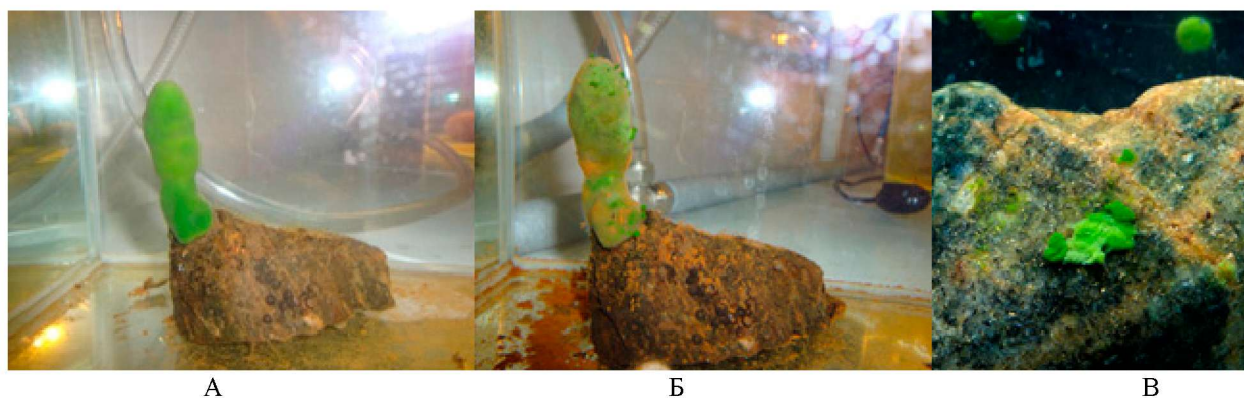


Рис. 1. Байкальская губка *Lubomirskia baicalensis*, живущая в проточной водопроводной воде (А). Образование на ней редуционных телец (Б). Рост редуционного тела на субстрате (В). Фото О. Ю. Глызиной, С. И. Дидоренко

Таблица 1

Концентрация хлорофиллов *a* и *b* в культивируемых в условиях аквариума губках *Lubomirskia baicalensis*

Характеристики среды обитания	Концентрация хлорофиллов, мкг/г сырой массы водорослей			Масса водорослей (мг) из 1 г губки
	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Хл <i>a</i> /Хл <i>b</i>	
3,6–4,5 °С, природная байкальская вода	0,43±0,5	0,15±0,3	2,86	0,11±0,02
3,6–4,5 °С, бутылкированная байкальская вода	0,31±0,4	0,20±0,1	1,55	0,09±0,01
3,6–4,5 °С, водопроводная вода	0,16±0,5	0,09±0,4	1,77	0,10±0,02
9,5–10,5 °С, водопроводная вода	0,18±0,3	0,12±0,3	1,50	0,11±0,01

В эксперименте отмечено, что визуальные признаки разрушения колоний губки (втянутые оскулюмы, появление небольших областей мёртвых клеток, снижение численности экзосимбионтов – амфипод и малощетинковых червей), живущих при температуре 10 °С (выше, чем в естественных условиях), появились уже на 45-е сутки культивирования (см. рис. 1, Б). Искусственно изменённые условия вызвали активизацию полового размножения – ранний выход личинок губок.

Впервые в эксперименте у байкальских губок было обнаружено образование редуционных телец – «клеточных скоплений, состоящих из группы амёбоцитов, одетой снаружи клетками кроющего эпителия» [2], что можно считать признаком адаптации сообщества к неблагоприятным условиям (см. рис. 1, Б). Редуционные тельца имеют ярко-зелёный цвет и размеры от 1 до 10 мм, держатся на губке около двух недель, а затем падают на грунт и начинают самостоятельное развитие (см. рис. 1, В). С наступлением благоприятных условий из этих редуционных телец развиваются новые губки. Всего с 2010 по 2013 г. в эксперименте в

условиях значительной проточности воды и постоянного светового режима получено 8 партий редуционных телец. Как показали биохимические исследования, редуционные тельца имеют высокое содержание хлорофиллов *a* и *b* (табл. 2), что свидетельствует не только о полнотой автотрофном питании, но и позволяет отнести симбиотические водоросли телец к типу зелёных.

Заключение

Результаты эксперимента показывают, что при повышении температуры окружающей воды выше экологического оптимума губка *Lubomirskia baicalensis* не остаётся в рамках своей обычной «пациентной» жизненной стратегии, а проявляет черты «эксперимента», т. е. способность за счёт усиленного размножения резко повышать вероятность нахождения оптимального местообитания. При этом наблюдается не только половое, но и бесполое размножение – с помощью образования редуционных телец. В естественных условиях в оз. Байкал образование последних до настоящего времени не отмечено.

Таблица 2

Концентрация хлорофиллов *a* и *b* в редуционных тельцах культивируемых в условиях аквариума губок *Lubomirskia baicalensis*

Характеристики среды обитания	Концентрация хлорофиллов, мкг/г сырой массы водорослей			Масса водорослей (мг) из 1 г тельца
	Хл а	Хл b	Хл а/Хл b	
3,6–4,5 °С, природная байкальская вода	0,18±0,05	0,08±0,02	2,25	0,1±0,02
3,6–4,5 °С, бутылированная байкальская вода	0,15±0,3	0,09±0,1	1,66	0,1±0,02
3,6–4,5 °С, водопроводная вода	0,12±0,5	0,11±0,3	1,09	0,1±0,02
9,5–10,5 °С, водопроводная вода	0,12±0,3	0,10±0,3	1,20	0,1±0,02

Культивирование колоний губок и их редуционных телец *in vivo* с применением ПАК позволило создать управляемую живую модель в экспериментально контролируемых условиях. А сочетание натуральных наблюдений и комплекса современных методов биохимического анализа ещё раз доказало их эффективность при обнаружении адаптационных изменений в организмах и их сообществах.

Работа выполнена при поддержке программы СО РАН «Виварии, коллекции клеточных культур, уникальных штаммов бактерий, микроорганизмов, коллекции растений» и проектов РФФИ № 14-44-04152 'р_сибирь_а и № 14-04-00838 'А, публикация статьи осуществлена при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 13-04-06068-з.

Литература

1. Глызина О. Ю. Исследование фотосинтетических пигментов симбиотических водорослей байкальских губок методом ВЭЖХ / О. Ю. Глызина, Г. И. Барам // Химия в интересах устойчивого развития. – 2002. – № 10. – С. 301–305.
2. Индикаторы жизненного состояния байкальской губки при содержании в аквариумах с исполь-

зованием масс-спектрометрии и жидкостной хроматографии / О. Ю. Глызина [и др.] // Химия в интересах устойчивого развития. – 2007. – № 15 (6). – С. 659–662.

3. Глызин А. В. Изучение симбиотического сообщества байкальской губки с помощью экспериментальных аквариумных установок / А. В. Глызин, О. Ю. Глызина, С. А. Любочко // Вода: химия и экология. – 2011. – № 2 (32). – С. 35–40.

4. Effect of habitat on particiton of simbionts in formation of the fatty acid poll of frech-water sponges of lake Baikal / Latyshev N. A. [et al.] // Comp. Biochem. Physiol. – 1992. – Vol. 102B. – P. 961–965.

5. Imbs A. B. Distribution of lipids and fatty acids in the zooxanthellae and host of the soft coral *Simularia* sp. / A. B. Imbs, I. M. Yakovleva, L. Q. Pham // Fish. Sci. – 2010. – Vol. 76, N 2. – P. 375–380.

6. Distribution of lipids and fatty acids in corals by their taxonomic position and presence of zooxanthellae / A. B. Imbs [et al.] // Mar. Ecol. Progr. Ser. – 2010. – Vol. 409. – P. 65–75.

7. Imbs A. B. Fatty acid composition as an indicator of possible sources of nutrition for soft corals of the genus *Simularia* (Alcyoniidae) / A. B. Imbs, N. A. Latyshev // J. Mar. Biol. Ass. UK. Published online: 06 October 2011, DOI:10.1017.

Life strategies of baikalian sponges *Lubomirskia baicalensis*

O. Yu. Glyzina, A. V. Glyzin, T. A. Shishlyannikova

Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

Abstract. Life strategy of Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis* and the results on its cultivation under artificial conditions in the freshwater aquarium system at the Limnological Institute of RAS SB are considered. Data on autotrophic activity of a sponges symbiotic community ant its directing bodies obtained for the first time during the experiments are analyzed. Directing bodies have a high content of chlorophylls *a* and *b*, which shows not only fully autotrophic nutrition, but also allows to be referred symbiotic algae to green algae. Cultivation of sponges and their directing bodies *in vivo* helped create a managed model under controlled conditions.

Keywords: Baikalian sponge, life strategy, cultivation, reduction bodies.

Глызина Ольга Юрьевна
кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник
Лимнологический институт СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
тел. (3952)42-82-18
E-mail: glyzina@lin.irk.ru

Глызин Александр Витальевич
кандидат биологических наук,
научный консультант
Лимнологический институт СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
тел. (3952)42-82-18
E-mail: glizin@mail.ru

Шишлянникова Татьяна Александровна
инженер
Лимнологический институт СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
тел. (3952)42-47-70
E-mail: tatiano@mail.ru

Glyzina Ol'ga Yurievna
Ph. D. in Biology, Senior Research Scientist
Limnological Institute SB RAS
3 Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42-82-18
E-mail: glyzina@lin.irk.ru

Glyzin Alexander Vitalyevich
Ph. D. in Biology, Scientific Adviser
Limnological Institute SB RAS
3 Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42-82-18
E-mail: glizin@mail.ru

Shishlyannikova Tatyana Aleksandrovna
Engineer
Limnological Institute SB RAS
3 Ulan-Batorskaya st., Irkutsk, 664033
tel.: (3952) 42-47-70
E-mail: tatiano@mail.ru