

УДК 591.524.11(289):(265.54:571.6)

А. Ю. Комендантов, Е. Е. Ежова

Зоологический институт АН СССР, Ленинград

**ВЛИЯНИЕ СОЛЕННОСТИ СРЕДЫ
НА РАЗМНОЖЕНИЕ И РАЗВИТИЕ
LYCASTOPSIS AUCENERI OKUDA
(POLYCHAETA, NEREIDIDAE)**

Исследовалась соленостная устойчивость половых клеток и эмбрионального развития массовой литоральной нереиды *L. augeneri*. Характер солености резистентности сперматозоидов типичен для широкоэвригалинных животных морского происхождения: резкий спад активности в соленостях ниже 7—9‰ и длительная активность в более высоких соленостях вплоть до 30‰. Яйцеклетки оплодотворяются в воде соленостью от 5—7‰ до 28—30‰. Нижней границей нормального развития эмбрионов является соленость 7—9‰. Температура 20—22°C находится в зоне температурного оптимума развития, температуры 25—27°C — верхняя ее граница. Обсуждаются репродуктивные адаптации *L. augeneri* к обитанию в изменчивых условиях литоральных выбросов зоны муссонного климата.

Разнообразие репродуктивных процессов — характерная черта биологии полихет семейства Nereididae. Наряду с хорошо изученными в этом отношении группами, есть роды и даже подсемейства, у которых процессы размножения и развития не известны, либо данных явно недостаточно. В частности, таковым является подсемейство Namanereidinae. Лишь по нескольким видам — *Namanereis indica* (Aiyar, 1935), *N. raneuensis* (Feuerborn, 1931), *Lycastopsis quadraticeps* (Johnson, 1908) — есть краткие сведения о размножении. Изучить разные аспекты репродуктивной биологии наманереидин было бы тем более интересно, что подсемейство объединяет полихет аберрантных, возможно, самых примитивных среди нереид и, кроме того, занимающих обычно не характерные для полихет места обитания. Большинство видов в подсемействе является обитателями биотопов, характеризующихся значительным распреснением или резкими и значительными сдвигами солености: *L. augeneri* и *L. pontica* (Ушаков, 1955; Виноградов, 1960;

Okuda, 1937) населяют штормовые выбросы литорали, *Namalycastis abiuma* — солоноватоводные лагуны и эстуарии (Rasmussen, 1986), *L. hummelincki*, *L. catarractum*, *Namanereis beroni* внутренние солоноватые и даже пресные водоемы (Kirkegaard, 1980; Berkeley et Berkeley, 1964; Hartman-Schroder et Marinov, 1977).

Объектом исследования был избран *Lycastopsis augeneri* — маленькая nereida, широко распространенная в верхней литорали различных морей Тихого океана. В советских водах *L. augeneri* найден в Южном Приморье и на о. Итуруп. Биотоп, занимаемый *L. augeneri* — полоса береговых выбросов, важнейшим абиотическим фактором в котором можно считать резкие и значительные перепады температуры и солености как в течение суток, так и по сезонам. Показано (Комендантов и др., 1989), что взрослые особи *L. augeneri* легко переносят значительные перепады температуры и солености. Очевидно, что должен существовать комплекс адаптаций, обеспечивающих выживание гамет и ранних стадий развития в явно неблагоприятных соленостных условиях.

Целью настоящей работы явилось выяснение влияния солености на ранние стадии онтогенеза *L. augeneri*. Нами изучалась солеустойчивость гамет, соленостная зависимость оплодотворения и развития вплоть до вылупления.

Работы проводились на полевом стационаре лаборатории культивирования промысловых беспозвоночных ТИНРО, в пос. Посыет Приморского края, в мае — августе 1987 г. и в мае — июне 1988 г. Определение активности спермы проводили по методике, использованной ранее для спермы полихет и моллюсков (Хлебович, Луканин, 1967; 1970). Экспериментальные среды готовили, разводя естественную морскую воду из открытых частей залива Посыета дистиллированной. Соленость исходной морской воды была в пределах 28—30‰. Экспериментальные среды имели последовательно уменьшающуюся соленость: 28—30‰ (M10); 25—27‰ (9 частей морской воды: 1 часть дистиллированной, далее в тексте M9); 22—24‰ (M8); 19—21 (M7); 16—18‰, (M5); 13—15%, (M5); 10—12‰ (M4); 7—9‰, (M3); 4—6‰, (M2); 1—3‰, (M1). Зависимость процессов оплодотворения и развития от солености изучали, производя искусственное осеменение яйцеклеток, взятых от 1 самки, спермой от 2—3 самцов, предварительно смешанной. Стадии развития контролировали под микроскопом. Опыты проводили в 4—7 повторностях. Результаты обрабатывали общепринятыми статистическими методами (Урбах, 1975). Опыты по изучению развития были проделаны в экспедиционных условиях, в нетермостатированных помещениях. Оказалось, что экспериментальные повторности можно разбить на две группы: опыты при температуре 20—22°C и 25—27°C, что позволило сделать дополнительные выводы о влиянии температуры на развитие *L. augeneri*.

Результаты и обсуждение

Опыты, проведенные со спермой *L. augeneri*, свидетельствуют о существовании четкой зависимости времени активного поступательного движения сперматозоидов от солёности среды. Максимальное время движения 8.75 ± 0.8 ч наблюдается в среде М9. В более концентрированных средах — естественная морская вода — это время уменьшается (рис. 1) и составляет 6.5 ± 4.5 ч. В интервале солёностей от М9 до М3 время активности сперматозоидов постепенно, но незначительно уменьшается, в водах с меньшей солёностью резко падает. Способность к оплодотворению в среде М2 сохраняется менее 5 мин.

Яйцеклетки изучаемого вида обладают достаточно высокой солёностной резистентностью. Измерение 10—15 клеток в каждой экспериментальной среде в начале опыта и по прошествии нескольких часов показывает, что вода от 28—30‰ до 10—12‰ не вызывает заметного изменения размеров клеток. Сразу после попадания яйцеклеток из целома в воду происходит отхождение оболочки от цитоплазмы на 10 мкм, а затем ни размер клеток, ни состояние цитоплазмы и оболочки, насколько это можно видеть в световой микроскоп, не изменяются. Яйцеклетки могут оставаться жизнеспособными в течение нескольких суток. В средах М1, М2 и М3 происходит набухание яйцеклеток. Уже через час большая часть клеток гибнет. Цитоплазма становится очень светлой, вакуолизированной, гетерогенной. Клетки значительно увеличиваются в размерах, приобретают эллипсоидную форму, затем оболочка их ослизняется, а цитоплазма дегенерирует. Часть клеток в двух нижних солёностях не погибает. Размеры их через час экспозиции заметно увеличиваются (таблица), при этом видимого отхождения яйцевой оболочки от цитоплазмы не наблюдается. Через 7 ч после начала опыта в солёности 3—5‰ клетка еще продолжает гидратироваться, но в дальнейшем объем ее стабилизируется и к концу первых суток существенно уменьшается. В редких случаях такие единичные яйцеклетки, вероятно, могли бы оплодотвориться после восстановления нормального состояния цитоплазмы и оболочки, однако нами этого не наблюдалось, так как активность сперматозоидов в водах М1 и М2 сохраняется лишь несколько минут. В среде же М3 оплодотворение немногих сохранивших жизнеспособность клеток происходит. В таблице не приводятся результаты измерений яйцеклеток в средах М3 — М10 спустя 7 ч после начала опыта, поскольку примерно через 4 ч они начинали дробиться без оплодотворения, вероятно, от механического воздействия. Нами, однако, не наблюдалось ни одного нормально развивающегося эмбриона, развитие прекращалось на ранних стадиях дробления.

Технические возможности не позволили нам измерить осмотическую концентрацию содержимого яйцеклеток, но из материалов таблицы ясно, что клеточное содержимое изотонично морской воде солёностью около 15‰.

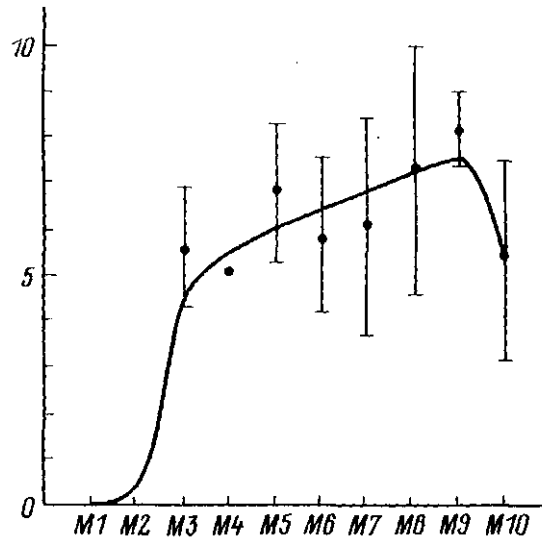


Рис. 1. Соленостная резистентность сперматозоидов *L. augeneri*
 По оси абсцисс — соленость, усл. ед.; по оси ординат — время, ч

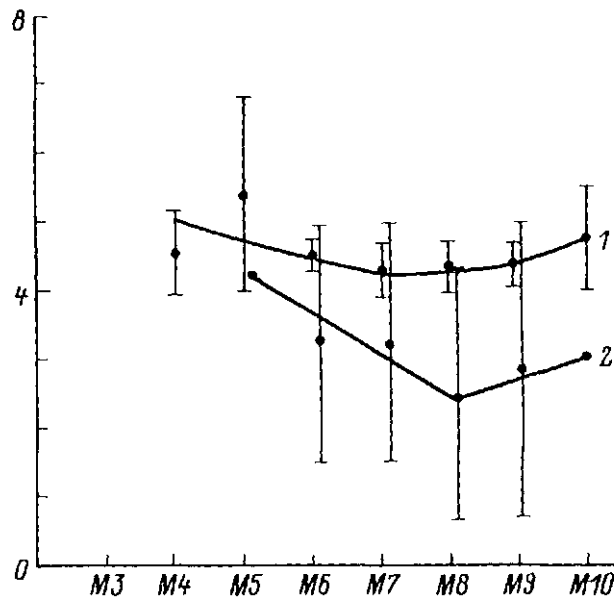


Рис. 2. Наступление первого деления зиготы в инкубационных средах различной солености
 По оси абсцисс — соленость, усл. ед.; по оси ординат — время, ч; 1 — при температуре 20–23°C, 2 — при температуре 25–27°C

**Изменение размеров яйцеклеток *L. augegeri* при инкубации
в средах разной солености**

Среда инкубации	Время, ч								
	интактные		I		7		24		
	<i>X</i>	<i>mt</i>	<i>X</i>	<i>mt</i>	<i>X</i>	<i>mt</i>	<i>X</i>	<i>mt</i>	
M1	<i>D</i>	545.9	5.9	597.7	11.4	619.8	15.5	585.5	6.9
	<i>d</i>	260.5	6.3	318.2	13.9	339.3	15.5	318.2	18.8
M3	<i>D</i>	545.9	5.9	562.0	6.7				
	<i>d</i>	260.5	6.3	263.2	4.7				
M5	<i>D</i>	545.9	5.9	545.1	6.7				
	<i>d</i>	260.5	6.3	250.9	8.6				
M7	<i>D</i>	545.9	5.9	538.6	8.4				
	<i>d</i>	260.5	6.3	275.4	9.2				
M8	<i>D</i>	545.9	5.9	549.8	9.0				
	<i>d</i>	260.5	6.3	241.9	5.5				

Нет данных, пояснения
в тексте

Примечание. *D* — большой диаметр, мкм; *d* — меньший диаметр, мкм.

Таким образом, оплодотворение и развитие зародышей оказалось возможным в экспериментальных средах от морской воды до разведения М3, однако доля зародышей, успешно завершивших развитие, и его скорость заметно отличались в разных соленостях. Скорость развития существенно зависит и от температуры. Первые два деления зиготы происходят медленно. При температуре воды 20—23°C завершение первого деления происходит во всех соленостях примерно в одно время: через 4—4.5 ч после оплодотворения. Несколько больший промежуток времени этот процесс занимает в морской воде, а также в соленостях, меньших 9—12‰ — около 5 ч (рис. 2, а). При температуре экспериментальных сред 25—27°C первое деление ускоряется примерно вдвое, причем в разведении М8 происходит максимально быстро (рис. 2, б). При дальнейшем дроблении интервал солености, в котором скорость клеточных делений наибольшая, выделяется более четко — от М6 до М8 для обоих температурных режимов. Минимальное время между делениями клеток наблюдается в среде М7. Высокие температуры (25—27°C) существенно увеличивают скорость эмбриогенеза. Если на стадии двух бластомеров интервал между кривыми для двух температур в точке М7 составляет в среднем 2 ч, то на стадии 4 — 2.5 ч (рис. 3), а 8 и 16 — 4 ч. Процесс гастрюляции при температуре 25—27°C начинается на 7 ч раньше — среда М7 (рис. 4). В дальнейшем разрыв постепенно увеличивается и составляет 13 ч на стадии ранней гастрюлы, 21.5 ч — средней гастрюлы. Зародыши, развивавшиеся при температуре 25—27°C, выходят из яйцевых капсул и начинают вести активный образ жизни на 1—1.5 суток раньше. Развитие от зиготы до ювенильного червя занимает 6.25—7.9 суток.

При обоих температурных режимах процент вышедших из капсул ювенильных особей зависит от солености экспериментальной

среды. Наименьшее количество зародышей, успешно завершивших развитие, наблюдается в крайних соленостях — М3 и М10. При температуре 25—27°C в морской воде развитие большей части эмбрионов прекращалось на 3—5 сутки после оплодотворения. Лишь единичные зародыши завершали развитие. В остальных экспериментальных средах развитие протекало нормально, вылупление было массовым. Во всех повторностях опыта раньше всего (к концу шестых суток) вылупление происходило в среде М7 при температуре 20—23°C и в средах М7 и М6 при температуре 25—27°C.

При наблюдении за развитием зародышей было замечено, что после исчезновения ресничных структур и приобретения зародышем компактной округлой формы, непосредственно вокруг эмбриона, под оболочкой яйца, образуется вторая, прозрачная, оболочка, заполненная жидкостью. Объем жидкости быстро увеличивается, вероятно, растягивая эту оболочку, которая вскоре сливается с яйцевой. В дальнейшем в размерах увеличивается не только зародыш, но и вся капсула, следовательно, количество жидкости, в которой находится эмбрион, также постепенно возрастает. Можно предположить, что описанная внутренняя капсула имеет отношение к процессам осморегуляции.

Данные опыта по соленостной резистентности сперматозоидов *L. augeneri* хорошо согласуются с концепцией «критической солености» (Хлебович, 1974). В данном случае в средах с концентрацией солей ниже 7—9‰ резко уменьшается время активности сперматозоидов. Подобная зависимость характерна для большинства видов, преодолевающих в ходе онтогенеза критическую соленость, причем характер кривых близок у представителей различных типов (Хлебович, Луканин, 1967).

Зона оптимума для *L. augeneri* достаточно широка, чтобы обеспечить оплодотворение в условиях меняющейся солености. Поскольку максимальное время активности сперматозоидов приходится на 25—27‰, что не совпадает с преобладающей в течение года соленостью открытых бухт, обычное для мелководных бухт залива Посьет летне-осеннее распреснение (Скарлато и др., 1967; Комендантов, 1986) благоприятно для процесса размножения *L. augeneri*.

Данные о соленостных границах нормального развития для изучаемого вида хорошо совпадают с аналогичными сведениями для *Nereis diversicolor* (Smith, 1967). У *N. diversicolor* из кристиненбергской популяции (обычная здесь соленость — 20‰) оплодотворение происходит в интервале солености от 30 до 6‰, а нормальный эмбриогенез возможен только при солености 8—27‰. Оптимальные для развития солености также близки у этих видов, хотя и не совпадают столь полно: 16—18‰ для *N. diversicolor* и 19—21 (20—22°C) и 16—21 (26—27°C) для *L. augeneri*. В оптимальных соленостях развитие происходит без аномалий, скорость клеточных делений заметно выше, чем во всех остальных

средах, процент выхода ювенилов из яйцевых капсул близок к 100%.

Сравнение данных по скорости развития *L. augeneri* при разных температурах приводит к выводу о значительном ускорении развития в оптимальных соленостях при 25–27°C, однако угнетение или даже прекращение развития в соленостях 28–30‰ позволяет считать 27°C верхней границей температурного оптимума.

Интересно, что *N. japonica*, имеющий сходное с изучаемым видом географическое распространение, имеет значительно более низкую величину оптимума развития — 15°C (Izuka, 1908). Вероятно, факт наличия довольно высокого температурного оптимума развития *L. augeneri* подтверждает его субтропическое происхождение.

Знание оптимальных для процесса развития условий позволило определить сроки размножения *L. augeneri* в естественных условиях. Наиболее благоприятным для размножения полихет является период, когда поверхностные воды прогреты до 20°C и выше и распреснены до 18–20‰. Такие условия в заливе Посьета складываются обычно в июле — августе, во время муссонных ливней, когда соленость поверхностных вод падает до 12–18‰ (Вышкварцев, 1984), а в редких случаях и еще ниже (Комендантов, 1986), а водные массы уже значительно прогреты. По нашим наблюдениям температура интерстициальных вод быстро достигает 25–27°C. Полевые наблюдения показали, что молодь в возрасте 1–2 дней появляется обычно в середине июля.

Успех размножения обеспечивается не только тем, что нерест происходит в наиболее благоприятной экологической обстановке, но и рядом других репродуктивных адаптаций. К ним можно отнести, во-первых, очень высокую скорость развития: только 6 суток требуется, чтобы из оплодотворенного яйца вылупился ювенильный червь, лишь размерами отличающийся от взрослого животного, что особенно важно при неустойчивой погоде муссонного периода. Во-вторых, толстая яйцевая оболочка, вероятно является хорошим осмотическим барьером, сохраняющим яйцеклетки жизнеспособными в широком интервале солености. На стадии поздней гаструлы эмбрион окружается очень толстой слизистой оболочкой, которая, приклеиваясь к субстрату, обеспечивает не только дополнительную осмотическую, но и механическую защиту. Внутренняя оболочка, заполненная жидкостью, возможно способствует созданию благоприятной осмотической среды вокруг зародыша.

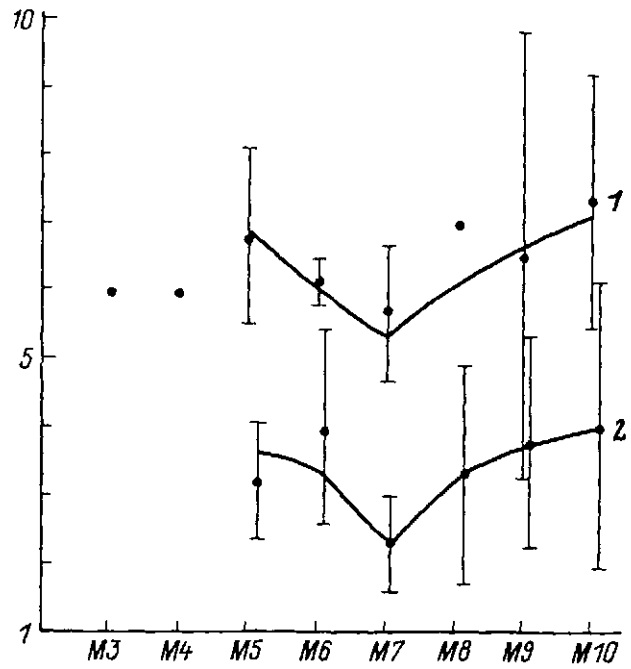


Рис. 3. Наступление второго деления дробления в инкубационных средах различной солености
Обозначения как на рис. 2

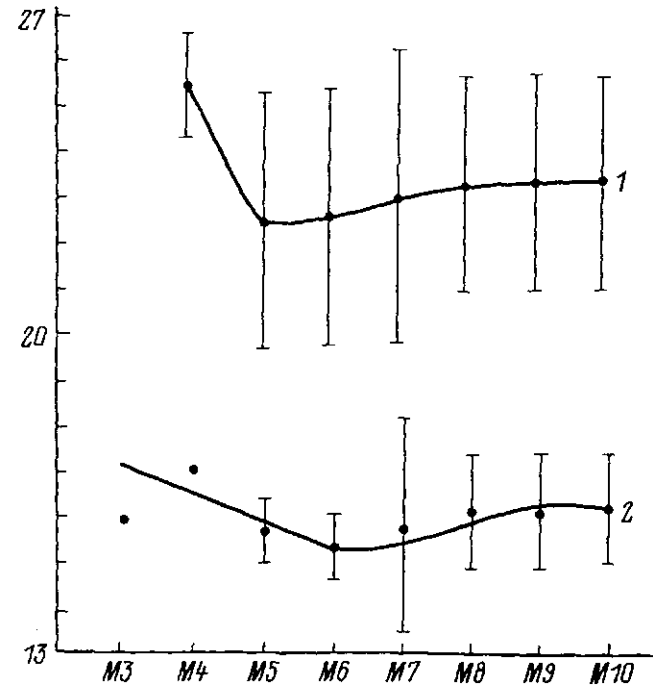


Рис. 4. Начало гастрюляции в инкубационных средах различной солености
Обозначения как на рис. 2, 3

ЛИТЕРАТУРА

- Виноградов К. А. О распространении в Черном и Азовском морях многощетинковых червей *Lycastopsis pontica* (Polychaeta, Nereidae) // Научный ежегодник Одесского университета, 1960.— № 2.— С. 143—144.
- Вышкварцев Д. И. Физико-географическая и гидрохимическая характеристика мелководных бухт залива Посыета // Гидробиологические исследования заливов и бухт Приморья.— Владивосток. 1984.— С. 4—11.
- Комендантов А. Ю. Макрозообентос эстуария реки Гладкой (залив Посыета Японского моря) // Тр. Зоол. ин-та АН СССР, 1986.—Т. 141.—С. 114—126.
- Комендантов А. Ю., Аладин Н. В., Ежова Е. Е. Зависимость осморегуляторных способностей *Lycastopsis augeneri* (Polychaeta, Nereidae) от факторов среды // Зоол. журн., 1989.— Т. 68.—С. 137—140.
- Скарлато О. А., Голиков А. Н., Грузов Е. Н. и др. Состав, структура и распределение донных биоценозов в прибрежных водах залива Посыета Японского моря // Исслед. фауны морей, 1967.— № 5 (13).— С. 5—61.
- Хлебович В. В. Критическая соленость биологических процессов.— Л.: Наука, 1974.— 236 с.
- Хлебович В. В., Луканин В. В. Продолжительность жизни сперматозоидов некоторых беломорских беспозвоночных в воде различной солености и температуры // Докл. АН СССР, 1967.—Т. 176, № 2,—С. 460—462.
- Хлебович В. В., Луканин В. В. Выживаемость сперматозоидов некоторых моллюсков в морской воде разной солености // Докл. АН СССР, 1970.— Т. 192, № 1,— С. 203—204.
- Урбах В. Ю. Биологическая статистика для биологов и медиков.— М.: Наука, 1964.— 323 с.
- Ушаков П. В. Класс многощетинковые черви — Polychaeta // Атлас беспозвоночных дальневосточных морей СССР.—М.—Л.; Наука, 1955.—С. 81—95
- Aiyar R. G. Hermaphroditism in *Lycastis indica* (Southern) // Current Sci., Bangalore, 1935 — Vol. 3.— P. 367—368.
- Feuerborn H. J. Eine Rhizocephale und Zwei Polychaeten aus dem Susswasser von Java und Sumatra // Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie, 1931.—Bd. 5, T. 2.—S. 618—66C
- Hartmann-Schroder G., Marinov T. Zoological Results of the British Spelaeologica Expedition to Papua New Guinea 1975. *Namanereis beroni* — new specie (Nereidae, Polychaeta) // Mitt. Hamburg. Zool. Mus. Inst., 1977.— Bd. 74.— S. 49—51.
- Horst R. On freshwater nereids from botanical garden at Burtenzong belonging *Lycastis hawaiiensis* Johnson // Bull. Dept. Agr. Indes neerlandaises 1909 - Vol. 25.— P. 1 — 13.
- Izuka A. On the breeding habit and development of *Nereis japonica* n. sp. // Anno Zool. jap., 1908.— Vol. 6.— P. 295—305.
- Johnson H. P. *Lycastis quadraticeps*, an hermaphroditic nereid with gigantic ova / Biol. Bull. Woods Hole., 1908.— Vol. 14.— P. 371—386.
- Kirkegaard I. B. Fresh and brackish-water polychaetes from Barbados W. I. / „Steenstrupia“, 1980.—Vol. 6, N 3.—P. 9—13.
- Okuda S. Occurrence in North Japan of a new species of an aberrant Polychaete gen. *Lycastopsis* // Annot. Zool. jap., 1937.— Vol. 16, N 4.— P. 306—309.
- Rasmussen E. Systematic and biology of *Namalycastis abjuma*, a circummandar Nereid from fresh and brackish water // Second Polychaete Sympos.— Copei hagen, 1986.— P. 26.
- Smith R. I. A note on the tolerance of low salinities by nereid polychaetes and i relation to temperature and reproductive habit // Annee biol., 1957.— Ser. T. 33, Fasc. 1/2.— P. 93—96.