МЕТОДИКА ЗООЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

УДК 575.86

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАССЫ БАЙКАЛЬСКИХ ГУБОК (PORIFERA, LUBOMIRSKIIDAE) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОДВОДНОГО ФОТОГРАФИРОВАНИЯ

© 2016 г. Л. С. Кравцова¹, И. В. Ханаев¹, О. О. Майкова¹, Ю. С. Букин^{1, 2}, Т. В. Бутина¹, Н. В. Кулакова¹, С. И. Беликов¹

¹Лимнологический институт СО РАН, Иркутск 664033, Россия ²Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет, кафедра физико-химической биологии, Иркутск 664033, Россия

e-mail: lk@lin.irk.ru e-mail: bukinyura@mail.ru Поступила в редакцию 25.09.2015 г.

Предложен метод определения биомассы байкальских губок на основе подводного фотографирования. Для трех видов *Baikalospongia intermedia* (Dybowski 1880), *B. bacillifera* (Dybowski 1880), *Lubomirskia baicalensis* (Pallas 1771) рассчитаны параметры уравнений линейной регрессии и полинома второй степени, характеризующие зависимость сухой биомассы губок и площади их фотоизображения. Охарактеризована статистическая надежность результатов регрессионного моделирования. Установлено, что средние значения сухой истинной и рассчитанной по уравнениям биомассы губок статистически достоверно не различаются. Для исследованных губок предложены коэффициенты пересчета сухой и сырой биомассы. Определение биомассы губок по уравнениям зависимости их сухой биомассы и площади фотоизображения может найти широкое применение в фаунистических, гидробиологических и экологических исследованиях.

Ключевые слова: губки, биомасса, подводное фотографирование, регрессионный анализ, Байкал **DOI:** 10.7868/S0044513416060131

Губки (Porifera), представители неподвижных бентосных организмов-фильтраторов, играют важную роль в функционировании водных экосистем. Несмотря на их значимость в процессах самоочищения водоемов, местоположение губок в потоках трансформации вещества и энергии, в частности в оз. Байкал, до сих пор не определено. На сегодняшний день данные о скорости формирования и деструкции биомассы байкальских губок отсутствуют. В большинстве работ, касающихся количественного распределения макрозообентоса Байкала (Миклашевская, 1935; Бекман, Деньгина, 1969; Кожов, 1962; Каплина, 1974; Kravtsova et al., 2004 и др.), губки не учитывались, так как сырая биомасса их на каменистом грунте могла достигать 500-700 г/м² и в десятки раз превышать биомассу (28.85 г/м²) моллюсков, амфипод, червей и других беспозвоночных (Кожов и др., 1969).

При количественном учете губок гидробиологическими методами с использованием легководолазной техники, как правило, производят отбор образцов на определенных глубинах и грунтах, с последующим определением их индивидуальной биомассы в лабораторных условиях. При этом отлельной особью считается пространственно обособленный организм (Ересковский, 1994). Такие классические гидробиологические методы отбора проб приводят к разреживанию природных популяций байкальских губок, численность которых восстанавливается в течение длительного времени, так как многие из них относятся к медленно растущим организмам (Гомбрайх, 1988). В настояшее время для исследования спонгиофауны широко применяют дистанционные методы, например подводное фотографирование (Handley et al., 2003; Shortis et al., 2007; Beazley et al., 2013). В данной работе для оценки биомассы байкальских губок мы также предлагаем этот подход, не наносящий ущерб беспозвоночным животным.

В составе спонгиофауны оз. Байкал насчитывается 18 видов, принадлежащих двум семействам Lubomirskiidae (13) и Spongillidae (5). Часто встречаются в озере эндемики семейства Lubomirskiidae: Baikalospongia intermedia (Dybowski 1880), Baikalospongia bacillifera (Dybowski 1880), Lubomirskia baicalensis (Pallas 1771) (Ефремова, 2001; Masuda, 2009; Семитуркина и др., 2009; Букшук, 2014).

-	Статистические показатели для уравнений (1)–(3)													
Вид	Ст	гатистиче эффицие	еская значим нта детерми	мость нации	Ста 31 коз к	тистичес начимост эффицие орреляци	жая гь нта ии	E	<i>S</i> , %	у	D			
	R^2	F	df	р	r	с	р							
B. intermedia	0.76	1.32	30	>0.05	0.87	634	< 0.05	1.03	36	2.4	1.8-2.9			
B. bacillifera	0.63	1.58	32	>0.05	0.76	1423	< 0.05	1.04	40	18.4	13.1-23.8			
L. baicalensis	0.95	1.29	29	>0.05	0.96	162	< 0.05	1.03	24	25.3	22.9-27.8			

Таблица 1. Характеристика статистической надежности результатов регрессионного моделирования

Примечание. R^2 – коэффициент детерминации, F – критерий Фишера, df – число степеней свободы, r – коэффициент корреляции Спирмена, c – статистика Спирмена, p – значение вероятности принятия нулевой гипотезы, E – средний коэффициент эластичности, S – средняя ошибка аппроксимации, y – прогнозное значение результата при его увеличении на 15% от его среднего уровня, D – доверительный интервал прогноза для уровня значимости α = 0.05.

Цель работы заключалась в определении биомассы трех широко распространенных в Байкале видов, восстановленной по их изображениям на фотографиях.

В мае-июне 2015 г. в бухте Большие Коты Южного Байкала на трех трансектах, расположенных перпендикулярно береговой линии на глубинах от 1.5 до 30 м, водолазами были собраны 94 экз. губок разной формы: корковой — *B. inter*media (31), глобульной — B. bacillifera (33) и ветвистой – *L. baicalensis* (30). Предварительно, перед сбором образцов, водолазы маркировали губки заранее приготовленными круглыми резиновыми метками черного матового цвета, площадью 314 мм². Затем образцы фотографировали видеокамерой GoPro HERO 3+, оснащенной защитным водонепроницаемым боксом с дополнительным искусственным освещением – подводными фонарями Ikelite PRO-2800. Съемку ветвистых и глобульных форм выполняли под небольшим углом, с учетом максимального отражения их формы на фотографии. Съемку корковых губок осуществляли под прямым углом к объекту на удалении не более 1 м. После этого, прикрепленные к субстрату губки помещали в емкости и доставляли на борт корабля.

Для определения сырой биомассы (M, г) губку полностью освобождали от субстрата скальпелем и взвешивали на весах ВЛТЭ-5000 с точностью до 0.1 г. Затем каждую губку отдельно упаковывали в бумагу и сушили до постоянного веса (не менее 12 ч) в термостате при температуре 75°С. Сухую биомассу (B, г) губки определяли на весах ВЛТЭ-5000 и Кегп 462-41 с точностью до 0.1 г. Для каждого вида отдельно рассчитывали коэффициент K – соотношение сырой и сухой биомассы губок.

Расчетную биомассу (*V*, г) исследуемых видов губок определяли по уравнениям зависимости сухого веса от площади их изображения на фотографиях. Предварительно фотографии (94 шт.) помеченных губок, отснятые под водой, были перемещены с электронного носителя — карты памяти Mini SD в формате JPEG ($3680 \times 2760 \times 24b$) на персональный компьютер. Затем по этим фотографиям в программе ImagePro-6 измеряли площадь (*s*, мм²) поверхности губок.

Обработку данных и регрессионный анализ проводили с использованием статистической среды программирования R. Выборки тестировали на соответствие закону нормального распределения по критерию Шапиро-Уилка (Shapiro, Wilk, 1965). Параметры уравнений регрессии рассчитывали методом наименьших квадратов с использованием функции nls пакета stats R (Bates et al., 1988). Тесноту связи между переменными s и В оценивали с помощью коэффициента детерминации R^2 и непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r), так как распределение параметра *s* не подчинено нормальному закону. Достоверность R^2 определяли по критерию Фишера (Лакин, 1990), а r – статистикой Спирмена (Best, Roberts, 1975). Для характеристики качества полученных уравнений рассчитывали коэффициент эластичности регрессионной модели меру чувствительности одной переменной к изменению другой (http://univer-nn.ru/ekonometrika/koefficient-elastichnosti), а также среднюю ошибку аппроксимации. Достоверность различий средних значений сухой и рассчитанной по уравнениям биомассы губок оценивали по t-критерию Стьюдента, используя выборки с логарифмированными (ln) исходными данными (Лакин, 1990).

Для всех статистических тестов принятие нулевой гипотезы или альтернативной проводили при уровне значимости $\alpha = 0.05$.

Зависимость сухой биомассы губки *B. intermedia* и площади ее изображения ($s_{\min} = 560, s_{\max} =$ Таблица 2. Статистическая значимость средних показателей биомассы байкальских губок, собранных в бухте Большие Коты оз. Байкал (май-июнь,

z		31	33	30	нной	
$K\pm m$		10.0 ± 0.3	6.0 ± 0.2	10.3 ± 0.5	ние рассчита	
рность чий них гелей й и тной сссы	d	>0.05	>0.05	>0.05	е значен	
Достове) разли средн показа сухој расчет биома	t	0.40	0.34	0.62	∕- средне	
ость ателей I, нениям	d	>0.05	>0.05	>0.05	 /бки (г), Г модента д	
рмально ия показ иомассы по урав	MS	0.94	0.98	0.98	OMACCEI L	
Тест на нс распределени сухой б рассчитанной	$\frac{(V \pm m)}{V_{\min} - V_{\max}}$	$\frac{2.1\pm0.3}{0.2-5.5}$	$\frac{16.0 \pm 2.0}{2.9 - 46.4}$	$\frac{22.8 \pm 4.8}{2.3 - 135.5}$	ачение сухой би	
ость ателей ы	d	>0.05	>0.05	>0.05	 реднее зна Шапиро—?	
рмальн ил показ иомасси	MS	0.95	0.98	0.98	$(\Gamma), B-c]$	
Тест на но распределени сухой б	$\frac{(B\pm m)}{B_{\rm min}-B_{\rm max}}$	$\frac{2.1\pm0.3}{0.2-6.2}$	$\frac{16.0\pm2.5}{2.8-61.0}$	$\frac{22.0\pm 5.0}{1.6-133.5}$	иомассы губки	
сть телей	d	<0.05	<0.05	<0.05	е сырой б	
мальноо я показа аомассы	МS	0.83	0.83	0.69	е значени	
Тест на но распределени сырой бі	$\frac{(M \pm m)}{M_{\min} - M_{\max}}$	$\frac{19.5\pm3.3}{2.0-75.8}$	$\frac{92.7 \pm 12.9}{16.0 - 310.0}$	$\frac{211.7 \pm 47.0}{16.0 - 1228.0}$	1 (см), M – средне	
$h_{ m min}-h_{ m max}$	0.1-1.3	1.7-10.5	10.0-58.0	– высота губки		
Вид	B. intermedia	B. bacillifera	L. baicalensis	Примечание. <i>h</i> -		

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАССЫ БАЙКАЛЬСКИХ ГУБОК

741



Зависимость сухой биомассы губок от площади их изображения на фотографиях: a - Baikalospongia intermedia, 6 - B. bacillifera и <math>b - Lubomirskia baicalensis. По осям абсцисс – площадь поверхности губок (s, мм²), по осям ординат – сухая биомасса губок (B, Γ).

= 10459) на фотографии аппроксимируется линейным уравнением следующего вида:

$$B = 5.329 \times 10^{-4} s - 0.0752, \tag{1}$$

а для *B. bacillifera* ($s_{\min} = 644, s_{\max} = 8709$):

$$B = 5.392 \times 10^{-3} s - 0.569. \tag{2}$$

Зависимость сухой биомассы губки *L. baicalensis* и площади ее изображения ($s_{min} = 1655$, $s_{max} = 80854$) на фотографии аппроксимируется полиномиальным уравнением второй степени:

$$B = 3.547 \times 10^{-9} s^2 + 0.001389s.$$
(3)

Статистическую надежность результатов регрессионного моделирования (рисунок) характеризуют показатели, представленные в табл. 1.

Судя по статистически значимому (p > 0.05) коэффициенту детерминации, точность подбора уравнений регрессии (1) и (2) средняя (57%) и ниже среднего (40%), а для (3) — высокая (90%), при этом между рассматриваемыми переменными (сухой биомассой губок и площадью их изображения на фотографиях) существует сильная и прямая связь. Коэффициент корреляции Спирмена высок и статистически значим (p < 0.05) (табл. 1). О том, что изменение площади изображения губки приводит к изменению сухой биомассы, подтверждает коэффициент эластичности, средние значения которого (более 1) доказывают наличие связи между фактором (s) и результатом (В). Качество уравнений (1)-(3) характеризует средняя ошибка аппроксимации, которая не превышает 40% (табл. 1). Хотя она относительно высока, тем не менее, параметры уравнений экспоненциальной, полулогарифмической регрессии, полинома третьей степени дают худший результат (средняя ошибка аппроксимации составляет более 50%).

Прогнозное значение результата при его увеличении на 15% от его среднего уровня укладывается в доверительный интервал, в который попадают и средние значения сухой биомассы губок, рассчитанные по приведенным выше уравнениям. Таким образом, мы считаем наиболее приемлемой аппроксимацию зависимости исследуемых переменных *s* и *B* в виде уравнений линейной регрессии (1)-(2) и полинома второй степени (3) соответственно.

Несмотря на то, что абсолютные средние значения сухой и расчетной биомассы губок существенно не различаются, как и размах их минимальных и максимальных показателей (табл. 2), мы сочли целесообразным оценить достоверность различий средних. Поскольку по критерию Шапиро-Уилка абсолютные значения сухой и расчетной биомассы губок не подчиняются закону нормального распределения, то мы использовали логнормальное. Очевидно, что статистически достоверные (*p* > 0.05) различия между средними значениями сухой и расчетной биомассы исследованных видов губок отсутствуют. Значения фактического *t*-критерия Стюдента (табл. 2) меньше критического 2.04 и 2.05 в зависимости от степеней свободы. Это свидетельствует о пригодности метода подводного фотографирования губок на дне Байкала для расчетов их сухой биомассы по уравнениям (1)-(3).

Рассмотрим, насколько рассчитанная по уравнениям биомасса губок отличается от сырой, полученной при прямом взвешивании живых экземпляров. Установлено, что в среднем, истинная сухая биомасса (*B*) губок *B. intermedia* и *L. baicalensis* меньше сырой (*M*) в 10 раз, а *B. bacillifera* – в 6 раз (табл. 2). Поэтому сырая биомасса исследованных губок, при использовании коэффициента *K* и значений расчетной сухой биомассы, должна составлять соответственно: 21 ± 3 , 228 ± 48 и 96 ± 12 г. Эти расчетные показатели сырой биомассы губок лишь немного превышают (на 1.5, 16 и 3 г соответственно) средние значения, полученные при взвешивании живых губок. Причем ошибка определения расчетной сухой биомассы байкальских губок у исследованных видов колеблется от 1 до 14% и меньше таковой (14–22%) при прямом определении их сырой биомассы (табл. 2). Для сравнения приведем абсолютные значения сырой биомассы губок в литорали Мурманского побережья Баренцева моря, ошибка определения которой выше и варьирует у разных видов в пределах от 26 до 49%, иногда достигает 60%: 214.84 ± ± 55.04, 229.49 ± 113.12, 44.64 ± 26.62 г/м² (Ересковский, 1994).

Фотосъемка активно применяется в исследованиях байкальских губок, их видового разнообразия, пространственного распределения, частоты встречаемости видов, проективного покрытия (Timoshkin et al., 2003; Семитуркина и др., 2009; Букшук, 2014). Причем для характеристики проективного покрытия губками отдельных камней авторы использовали оригинальную программу "SpongeArea", разработанную Букшук (2014). Тем не менее, в данной работе мы сочли вполне приемлемым использование пакета программ ImagePro-6 для оценки площади фотоизображения губок.

Из количественных характеристик спонгиофауны Байкала в настоящее время известны относительное обилие видов, рассчитанное по отношению количества экземпляров определенного вида к общему количеству экземпляров, выраженному в процентах (Букшук, 2014). Имеются литературные данные для 11 видов губок Байкала, характеризующие их объем (Masuda, 2009). Приведенные в данной работе уравнения (1)–(3) дают возможность измерить еще один важный показатель для количественного учета макрозообентоса – биомассу губок, которую с помощью коэффициента К можно легко переводить из сухой в сырую и наоборот. Предложенный подход определения биомассы губок позволит в перспективе количественно оценить не только их роль в донных биоценозах литорали Байкала, но и вклад в общий круговорот вещества и энергии экосистемы озера.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы глубоко признательны сотрудникам ЛИН СО РАН водолазам И. Небесных, Ю. Ющуку, а также М. Коваленковой, Т. Перетолчиной, команде НИС "Титов", которые принимали участие в сборе материала, а также выражают благодарность Н. Букшук за консультации по идентификации видов.

Работа выполнена в рамках темы ФАНО (0345-2014-0002).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бекман М.Ю., Деньгина Р.С., 1969. Население бентали и кормовые ресурсы рыб Байкала // Биологическая

ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ том 95 № 6 2016

продуктивность водоемов Сибири. М.: Наука. С. 42-47.

- Букшук Н.А., 2014. Экологические особенности эндемичных губок озера Байкал: распределение и жизненные циклы. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск: Иркутский государственный университет. 21 с.
- Гомбрайх В.А., 1988. Новые данные о Lubomirskia baicalensis Dyb. из озера Байкал // Новое в изучении фауны и флоры Байкала и его бассейна. Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та. С. 70–76.
- *Ересковский А.В.*, 1994. Некоторые закономерности обитания и распределения губок на литорали Восточного Мурмана // Зоологический журнал. Т. 73. Вып. 4. С. 5–17.
- *Ефремова С.М.*, 2001. Губки // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Отв. ред. Тимошкин О.А. Новосибирск: Наука. Т. 1. Кн. 1. С. 177–190.
- Каплина Г.С., 1974. Макрозообентос каменистых грунтов литорали оз. Байкал и его сезонная динамика (данные 1963–1968 гг., район Больших Котов) // Продуктивность Байкала и антропогенные изменения его природы. Отв. ред. Кожова О.М. Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та. С. 126–137.
- *Кожов М.М.*, 1962. Биология озера Байкал. М.: Изд-во АН СССР. 315 с.
- Кожов М.М., Ижболдина Л.А., Каплина Г.С., Окунева Г.Л., 1969. Бентос юго-восточного побережья озера Байкал // Биологическая продуктивность водоемов Сибири. М.: Наука. С. 29–37.
- *Лакин Г.Ф.*, 1990. Биометрия. М.: Высшая школа. 352 с.
- Миклашевская Л.Г., 1935. Материалы к познанию продуктивности дна Байкала // Труды Байкальской лимнологической станции. Т. 6. С. 99–198.
- Семитуркина Н.А., Ефремова С.М., Тимошкин О.А., 2009. Степень изученности биоразнообразия и экологии спонгиофауны озера Байкал с акцентом на разнообразие, особенности экологии и вертикальное распределение губок на полигоне у мыса Березовый // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Отв. ред. Тимошкин О.А. Новосибирск: Наука. Т. 2. С. 891–901.
- *Bates D.M.W., Bates D.G.D.M., Watts D.G.*, 1988. Nonlinear regression analysis and lts applications. New York– Toronto: Wiley. 392 p.
- Beazley L.I., Kenchington E.L., Murillo F.J., Sacau M.M., 2013. Deep-sea sponge grounds enhance diversity and abundance of epibenthic megafauna in the Northwest Atlantic // ICES Journal of Marine Science Advance Access. doi 10.1093/icesjms/fst12410.1093/icesjms/fst124
- Best D.J., Roberts D.E., 1975. Algorithm AS 89: The Upper Tail Probabilities of Spearman's *rho* // Applied Statistics. V. 24. P. 377–379.
- Handley S., Kelly S., Kelly M., 2003. Non-destructive video image analysis method for measuring growth in sponge farming: Preliminary results from the New Zealand bath-sponge Spongia (Heterofibria) manipulates // New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. V. 37. P. 613–621.

http://univer-nn.ru/ekonometrika/koefficient-elastichnosti/

- Kravtsova L.S., Kamaltynov R.M., Karabanov E.B., Mekhanikova I.V., Sitnikova T.Ya., et al., 2004. Macrozoobenthic communities of underwaterlandscapes in the shallow-water zone of southern Lake Baikal // Hydrobiologia. V. 522. P. 193–205.
- Masuda Y., 2009. Studies on the taxonomy and distribution of freshwater sponges in Lake Baikal // Biosilica in Evolution, Morphogenesis, and Nanobiotechnology. Eds. Müller W.E.G., Grachev M.A. Progress in Molecular and Subcellular Biology, Marine Molecular Biotechnology. P. 81–110.
- *Shapiro S.S., Wilk M.B.*, 1965. An analysis of variance test for normality // Biometrika. V. 52. № 3. P. 591–611.
- Shortis M., Harvey E., Seager J., 2007. A Review of the Status and Trends in Underwater Videometric Measurement // SPIE Videometrics IX. P. 2–26.
- Timoshkin O.A., Suturin A.N., Maximova N.V., Semiturkina N.A., Galkin A.N., et al., 2003. Rock preferences and microdistribution peculiarities of Porifera and Gastropoda in the shallow littoral zone of lake Baikal (East Siberia) as evidenced by underwater 114 macrophotograph analysis // Berliner Paläobiol. Abh. V. 1. P. 193–200.

DETERMINATION OF BAIKAL SPONGE (PORIFERA, LUBOMIRSKIIDAE) BIOMASS USING UNDERWATER PHOTOGRAPHY

L. S. Kravtsova¹, I. V. Khanaev¹, O. O. Maykova¹, Yu. S. Bukin^{1, 2}, T. V. Butina¹, N. V. Kulakova¹, and S. I. Belikov¹

¹Limnological Institute, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk 664033, Russia e-mail: lk@lin.irk.ru ²National Research Irkutsk State Technical University, Irkutsk 664033, Russia

e-mail: bukinvura@mail.ru

A method for determining the biomass of Baikal sponges based on underwater photography is proposed. For three species (*Baikalospongia intermedia* (Dybowski 1880), *B. bacillifera* (Dybowski 1880), and *Lubomirskia baicalensis* (Pallas 1771)), parameters of linear regression and second-degree polynomial equations that characterize the correlation between the dry biomass of sponge and the area of its image were calculated. The statistical reliability of the results of the regression modeling is characterized. No statistically significant differences were found between the average values of the analyzed and calculated dry sponge biomasses. For the studied sponges, conversion rates for the calculation of wet and dry biomasses are proposed. The determination of the sponge biomass using equations of relations between the dry biomass of sponges and the area of the images can be widely used in faunistic, hydrobiological, and ecological investigations.

Keywords: sponges, biomass, underwater photography, regression analysis, Lake Baikal