

Московская школа на Юго-Западе № 1543
Кафедра биологии

**Изменчивость формы и размера тела *Bosmina*
(*Eubosmina*) Selegro 1900 (Bosminidae, Cladocera)
у юго-восточного берега Ладожского озера**

А. Ю. Ковалева (9 Б)
А. В. Смирнова (9 Б)

Научный руководитель:
П. А. Волкова

Москва
2018

Введение

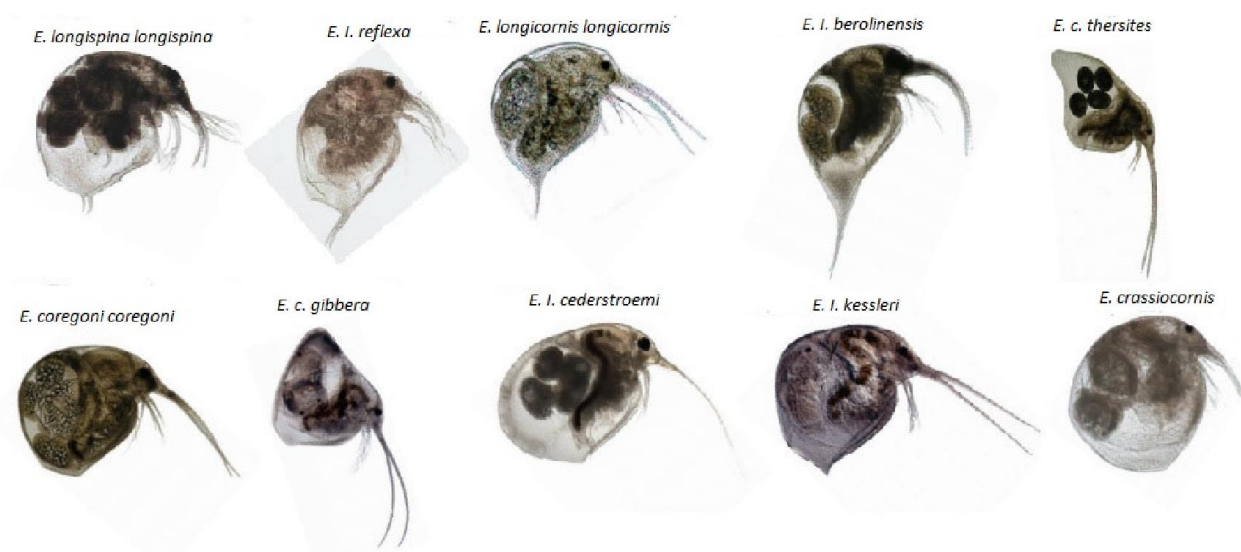
Bosmina (Eubosmina) Selegro, 1900 – подрод планктонных организмов, относящийся к роду *Bosmina* (надкласс Crustacea надотряд Cladocera семейство Bosminidae). От близкого подрода *Bosmina* представители *Eubosmina* отличаются расположением латеральной поры – у подрода *Eubosmina* она расположена значительно ближе к мандибулярному суставу (Котов и др., 2010). В своем исследовании мы изучали только босмин подрода *Eubosmina*.

Босмины обитают в пресных и солоноватых водоёмах и питаются водорослями. Босминами питаются как различные беспозвоночные, такие, как, например, лептодора, так и рыбы (Korosi *et al.*, 2013).

Для босмин характерна значительная фенотипическая пластичность, наиболее сильно проявляющаяся в изменчивости формы и размеров тела, мукро и антеннул (Kerfoot, McNaught, 2010). Это послужило основанием для выделения по форме карапакса ряда морфотипов (от четырех до одиннадцати: рис. 1), которые иногда считают подвидами или даже молодыми видами (Faustova *et al.*, 2010) – все морфотипы, кроме *Bosmina (E.) longispina*, имеют послеледниковое происхождение (Faustova *et al.*, 2011). При этом у босмин форма и размер тела, мукро и антеннул меняется в зависимости от наличия поблизости тех или иных хищников, а также зависит от трофности и кислотности водоема (Kerfoot, 2006; Kerfoot, McNaught, 2010; Korosi *et al.*, 2013). Остатки экзоскелетов босмин хорошо сохраняются в озерных отложениях, поэтому они широко используются для реконструкции трофической структуры экосистем и условий обитания в прошлом (обзор: Korosi *et al.*, 2013).

Подобные исследования затруднены необходимостью объективного разграничения морфотипов. Это затруднение можно преодолеть при помощи геометрической морфометрии – подхода, который позволяет описывать форму как таковую, без учета размеров тела. Нам известна лишь одна публикация, в которой данный подход был применен для описания морфологической изменчивости босмин, причем анализировали лишь дорзальную часть тела небольшого числа образцов (Faustova *et al.*, 2010). Мы решили исследовать морфологическую изменчивость босмин на массовом материале, сопоставляя результаты традиционных промеров тела с результатами анализа формы всего тела методом геометрической морфометрии. Отбор проб проводили у юго-восточного берега Ладожского озера в условиях ненарушенных экосистем на территории Нижне-Свирского заповедника.

Рисунок 1. Морфотипы подрода *Eubosmina* (из: Faustova *et al.*, 2011)



Цель:

Исследовать изменчивость формы и размеров тела босмин (*Eubosmina*) у юго-восточного берега Ладожского озера.

Задачи:

1. Проанализировать эффективность геометрической морфометрии для объективного определения морфотипа босмин.
2. Проанализировать изменчивость длины тела и его выростов (антеннул и мукро) у босмин;
3. Проанализировать изменчивость форм тела босмин и сопоставить её с описанными ранее морфотипами;

Материалы и методы

Мы отбирали пробы в юго-восточной части Ладожского озера близ устья реки Гумбарка (Ленинградская область, Лодейнопольский район, Нижне-Свирский государственный природный заповедник).

Мы брали пробы воды 1—4 июля 2017 года на расстоянии около 30, 100 и 300 метров от берега (расстояние измерено с помощью GPS навигатора) у поверхности воды при различных погодных условиях (табл. 1). Использовали гидробиологический сачок с номером газа №75 и среднюю планктонную сеть Джеди.

Таблица 1. Условия взятия проб и число в них половозрелых и неполовозрелых босмин с мукро и без мукро

номер пробы	расстояние от берега в м	дата взятия (2017 год, июль)	t воды в °С	погодные условия	число босмин с мукро			число босмин без мукро		
					половозрелые	неполовозрелые	доля от всех босмин (%)	половозрелые	неполовозрелые	доля от всех босмин (%)
1	20	01	17	безветренно	-	-	-	-	-	-
2	20 – 30	02	16	ветер по направлению к центру озера	33	17	100	0	0	0
3	30	03	17	волнение, ветер по направлению к берегу	101	135	99	1	1	1
4	30	04	17	ветер по направлению к берегу	14	39	98	0	1	2
5	350 – 400	02	16	ветер по направлению к центру озера	12	12	16	85	43	84
6	130 – 150	03	17	волнение, ветер по направлению к берегу	48	22	63	31	11	38
7	250 – 300	03	16	ветер по направлению к берегу	34	26	58	42	1	42
8	300 – 500	04	17	ветер по направлению к берегу	16	15	31	56	14	69

Собранные материалы мы хранили в прохладном месте, не смешивая их друг с другом.

Мы помещали пробы под микроскоп при восьмикратном увеличении объектива в качестве временного препарата. Затем с помощью фотонасадки делали фотографии босмин, лежащих на боку так, что одна створка раковины босмины не перекрывала другую. Мы делали фотографии только половозрелых самок босмин (у которых были яйца). При этом мы фиксировали наличие или отсутствие мукро у данной особи. В итоге мы сделали 478 фотографий босмин, из них 231 фотографий босмин с мукро и 247 – без мукро.

Для изучения изменчивости формы тел босмин как таковой без учета ее размеров мы использовали метод геометрической морфометрии (Faustova et al., 2010). Считается, что для объективной характеристики морфологической изменчивости босмин достаточно проанализировать 35 особей из пробы (Korosi et al., 2013). Мы в программе PhotoShop обвели по фотографиям контуры тел 196 босмин (использовали фотографии только наилучшего качества). Кроме того, мы добавили в нашу выборку опубликованные ранее контуры босмин, соответствующие разным морфотипам (Faustova et al., 2011). На полученных изображениях, начиная от вершины антеннулы, мы расставили по 100 точек, размещенных на равном расстоянии друг от друга, с помощью экранного дигитайзера tpsDig (Rohlf, 2001b) (рис. 2, 3). При помощи программы tpsRelw (Rohlf, 2001b) мы вычислили координаты точек "эталонной босмины", которая представляет собой усредненную форму всех образцов. Используя эту же программу, мы вычислили значения деформаций каждого образца относительно эталона, которые характеризуют различия босмин по форме. Конвертирование и редактирование файлов мы совершали с помощью программы tpsUtil (Rohlf, 2000).

Рисунок 2. Фотография босмины

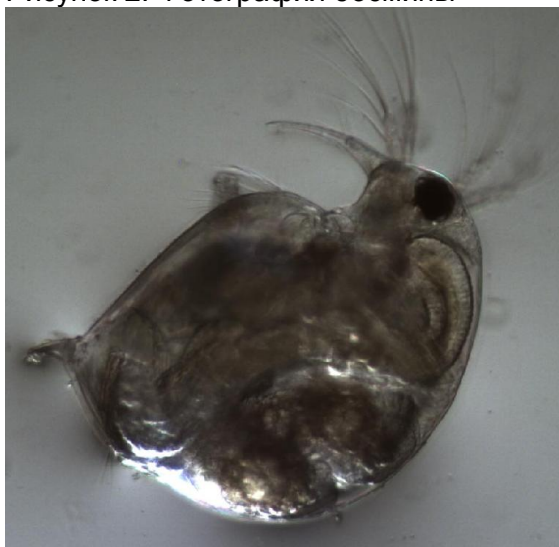
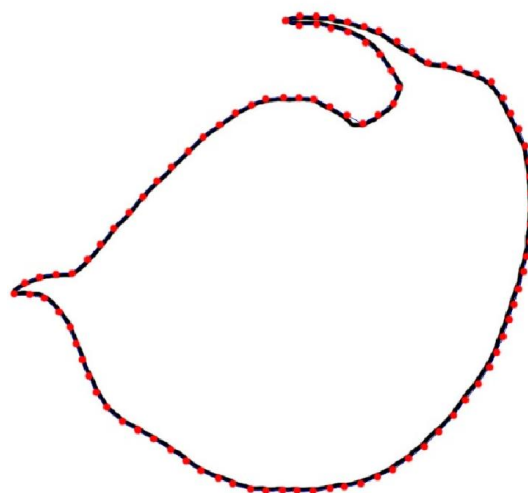
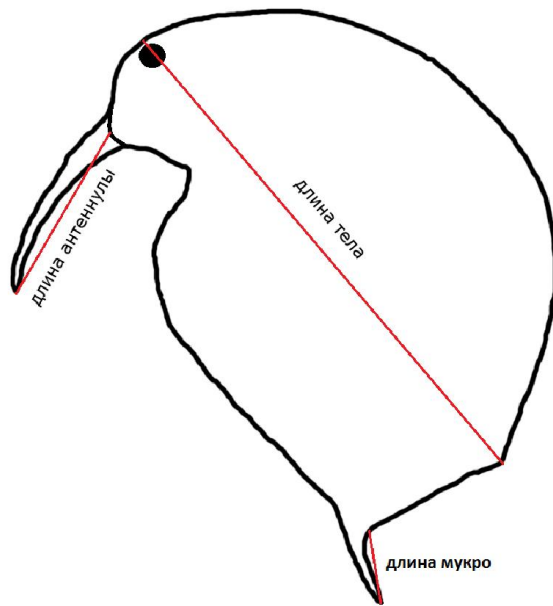


Рисунок 3. Контур босмины после обработки



Для каждой проанализированной босмины мы в программе tpsDig (Rohlf, 2001b) по фотографии измерили длину антеннулы, тела и мукро при его наличии (рис. 4). Мы не отмечали, из какой именно пробы взята каждая измеренная босмина. Данные промеров мы обрабатывали в программе R (R Core Team, 2016).

Рисунок 4. Промеры босмин



Результаты

У берега в пробы попадали только босмины с мукро, тогда как при удалении от берега появлялись и босмины без мукро (табл. 1).

При обработке данных промеров мы не учитываем несколько anomalно крупных босмин, у которых длина тела превышает 700 мкм и/или длина антеннулы превышает 400 мкм (рис. 5, 6).

Рисунок 5. Изменчивость длины тела босмин с учетом anomalно крупных экземпляров

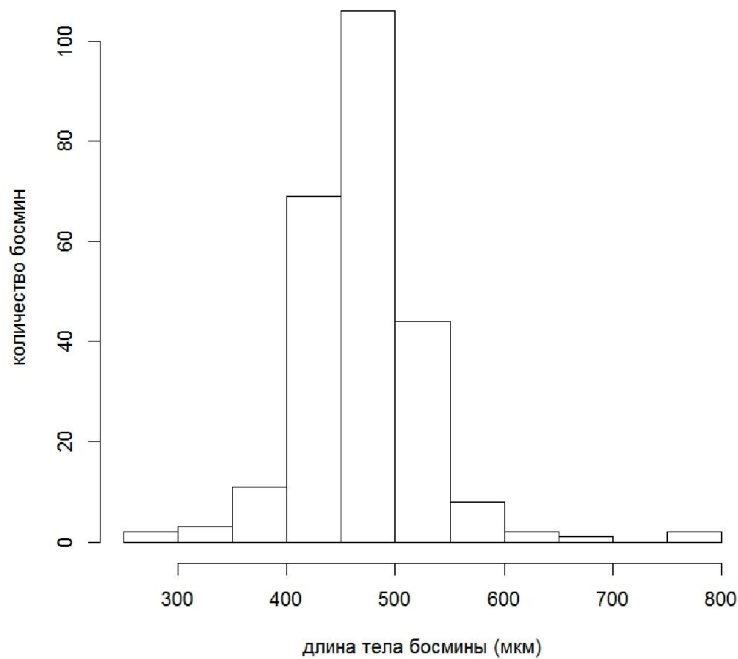
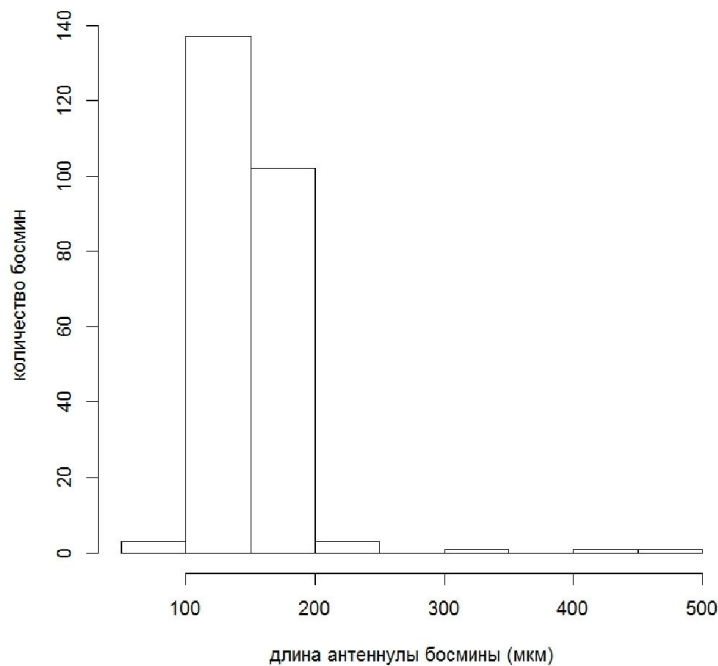


Рисунок 6. Изменчивость длины антеннулы босмин с учетом аномально крупных экземпляров



Если рассматривать босмин с мукро, то статистически значимая связь между длиной тела и длиной мукро отсутствует (рис. 7; тест Пирсона: $r = 0.14$, $p = 0.1$).

Рисунок 7. Связь между длиной тела босмины и длиной мукро (проанализированы только босмины с мукро)

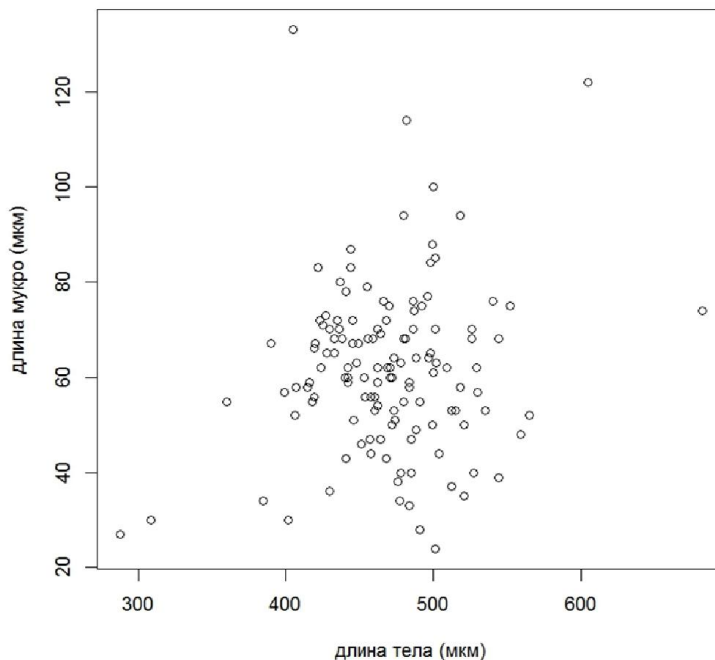
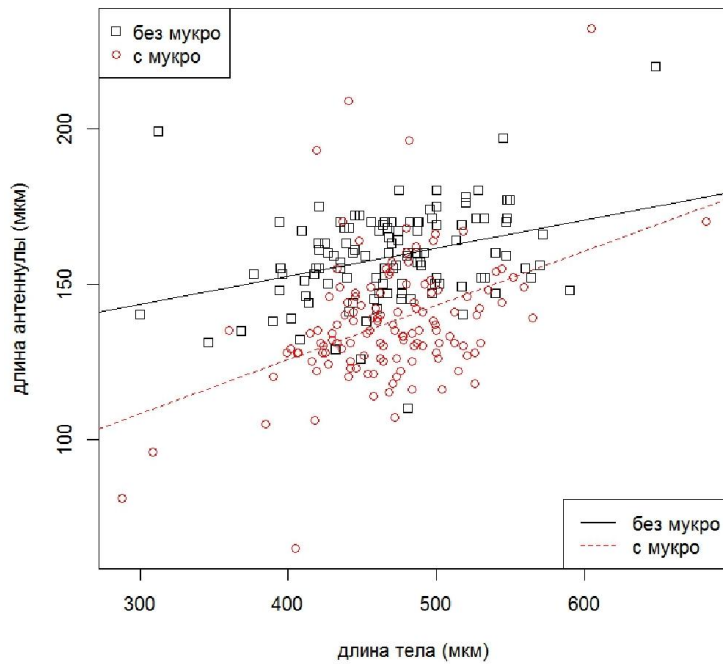
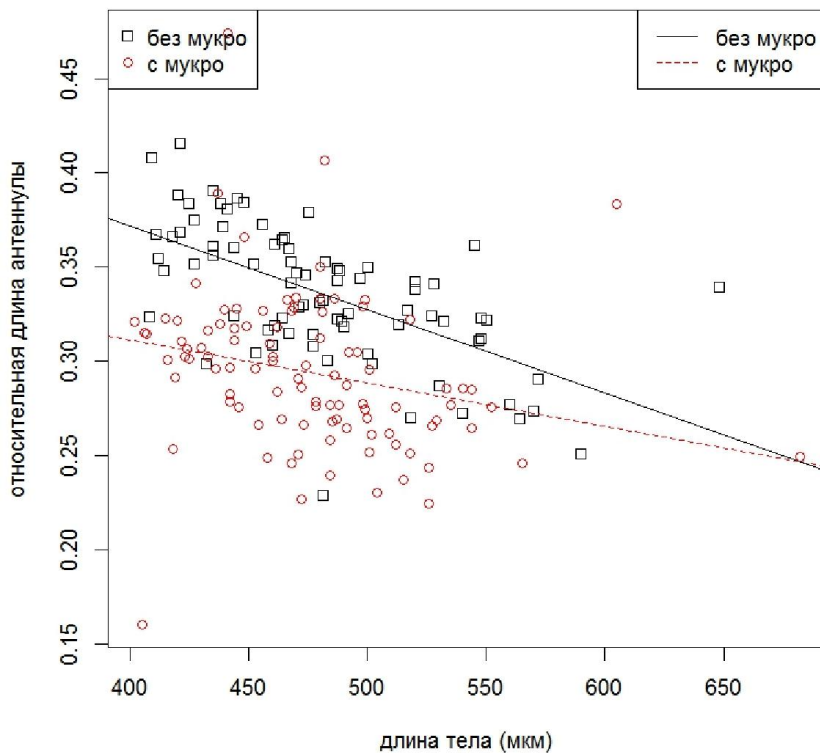


Рисунок 8. Связь между длиной тела и длиной антеннулы у босмин с мукро и без мукро



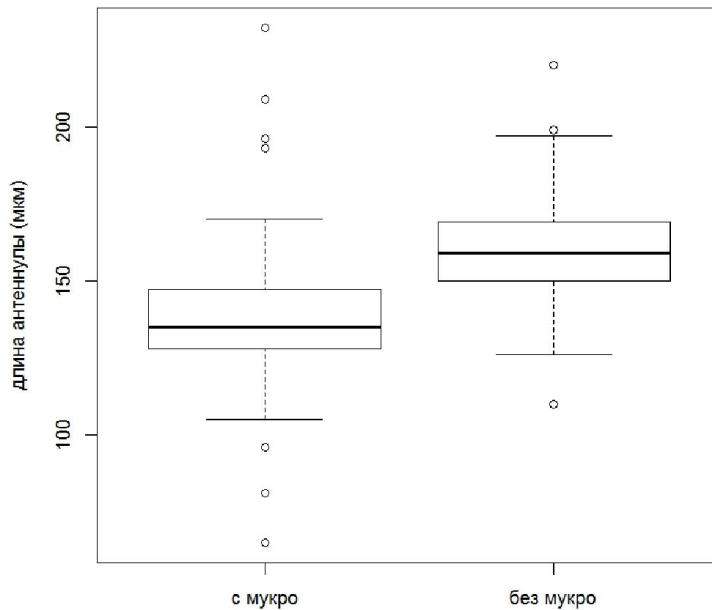
Существует отрицательная статистически значимая связь между относительной длиной антеннулы (отнесенной к длине тела) и самой длиной тела как у босмин с мукро, так и у босмин без мукро. У босмин без мукро эта связь выражена сильнее (рис 9; тест Пирсона: $p = 0.03$, $r = -0.21$; $p = 0.0003$, $r = -0.37$ соответственно).

Рисунок 9. Связь между относительной длиной антеннулы и длиной тела у босмин с и без мукро



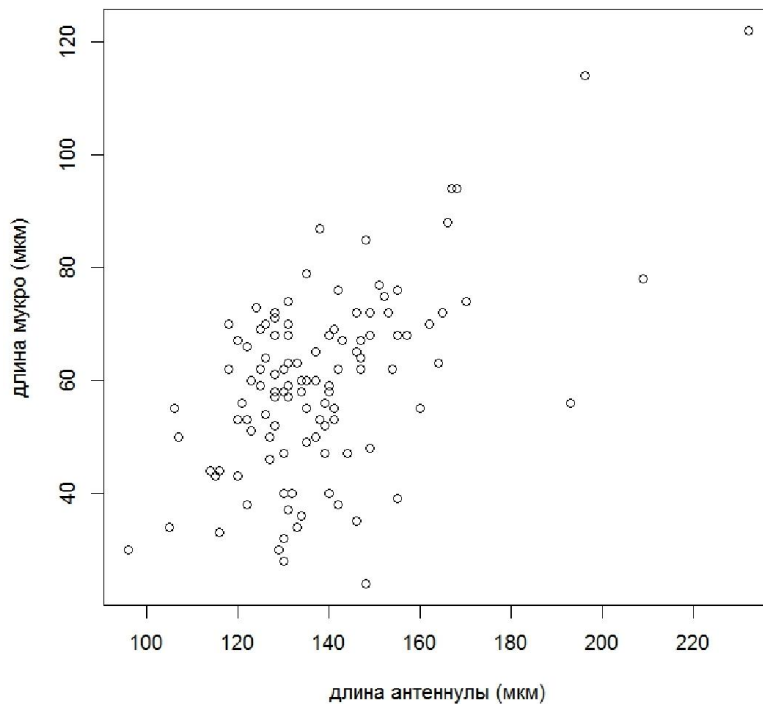
У босмин без мукро длина антеннулы больше, чем у босмин с мукро (рис. 10), эти различия статистически значимы (тест Стьюдента: $p < 2.2 \times 10^{-16}$).

Рисунок 10. Изменчивость длины антеннулы у босмин с и без мукро



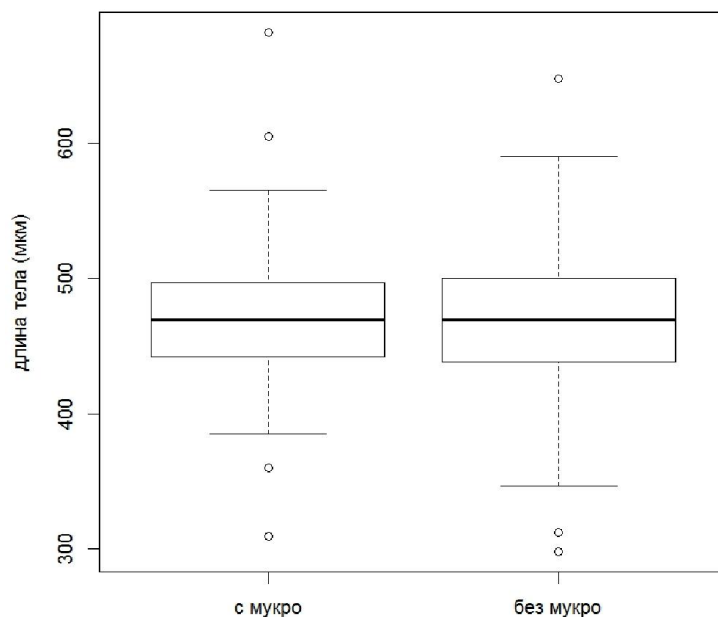
Присутствует статистически значимая положительная связь между длиной антеннулы и длиной мукро (рис. 11; тест Пирсона: $r = 0.39$, $p = 2.7 \times 10^{-6}$).

Рисунок 11. Связь между длиной антеннулы босмины и длиной ее мукро (рассмотрены только босмины с мукро)



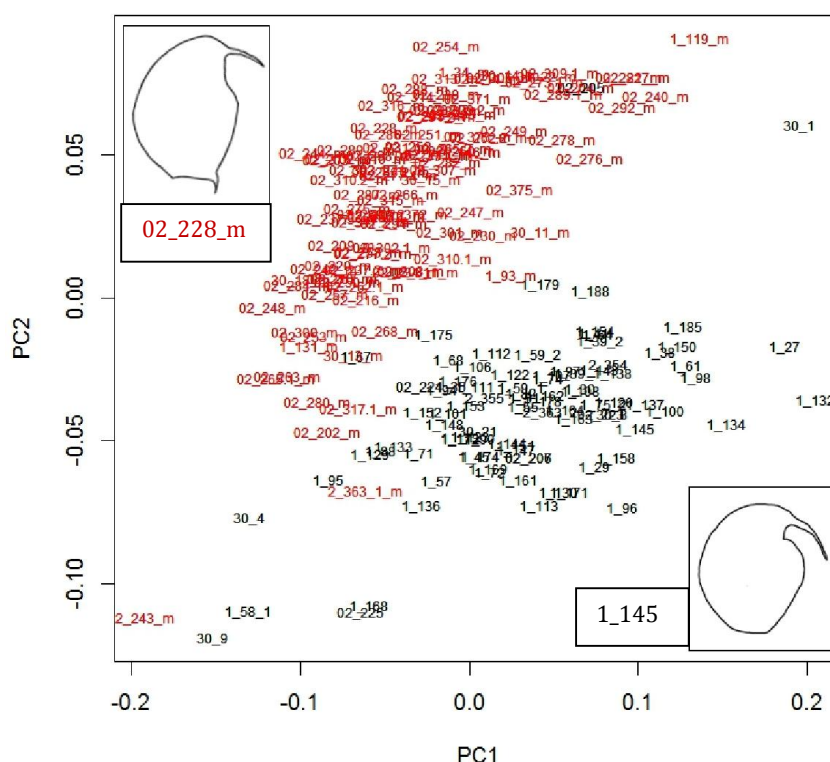
Длина тела босмин с мукро и без него примерно совпадает, статистически значимы различий нет (рис. 12; тест Стьюдента: $p = 0.93$).

Рисунок 12. Изменчивость длины тела у босмин с и без мукро



По форме тела босмины разделяются на две слабообособленные группы; у босмин одной группы есть мукро, карапакс более вытянутый, у другой – мукро отсутствует, карапакс округлый (рис. 13). По первой главной компоненте (рис. 13: PC1) особи в основном разделяются по относительной длине антеннулы (табл. 2). В значения второй компоненты (рис. 13: PC2) наибольший вклад вносит длина мукро (табл. 2).

Рисунок 13. Распределение исследованных босмин в пространстве первых двух компонент матрицы относительных деформаций



Каждая босмина обозначена условным номером; красным цветом отмечены босмины с мурко. В углах диаграммы приведены контуры тела босмин (и их условные номера), характеризующие соответствующие крайние варианты наблюдаемого морфологического континуума.

Таблица 2. Связь первых двух главных компонент матрицы относительных деформаций (результаты геометрической морфометрии) с исследованными морфологическими признаками босмин (корреляционный тест Пирсона)

Морфологический признак	первая главная компонента	вторая главная компонента
длина мурко	$p = 1 \times 10^{-7}$ $r = -0.37$	$p < 2.2 \times 10^{-16}$ $r = \mathbf{0.73}$
длина антеннулы	$p = 4 \times 10^{-7}$ $r = 0.37$	$p = 0.08$ $r = -0.12$
длина тела	$p = 1 \times 10^{-6}$ $r = -0.34$	$p = 0.8$ $r = -0.018$
отношение длины мурко к телу	$p = 2.3 \times 10^{-7}$ $r = -0.36$	$p < 2.2 \times 10^{-16}$ $r = \mathbf{0.75}$
отношение длины антеннулы к телу	$p < 2.2 \times 10^{-16}$ $r = \mathbf{0.62}$	$p = 0.07$ $r = -0.13$
отношение длины мурко к антеннуле	$p = 7 \times 10^{-8}$ $r = -0.37$	$p < 2.2 \times 10^{-16}$ $r = \mathbf{0.68}$

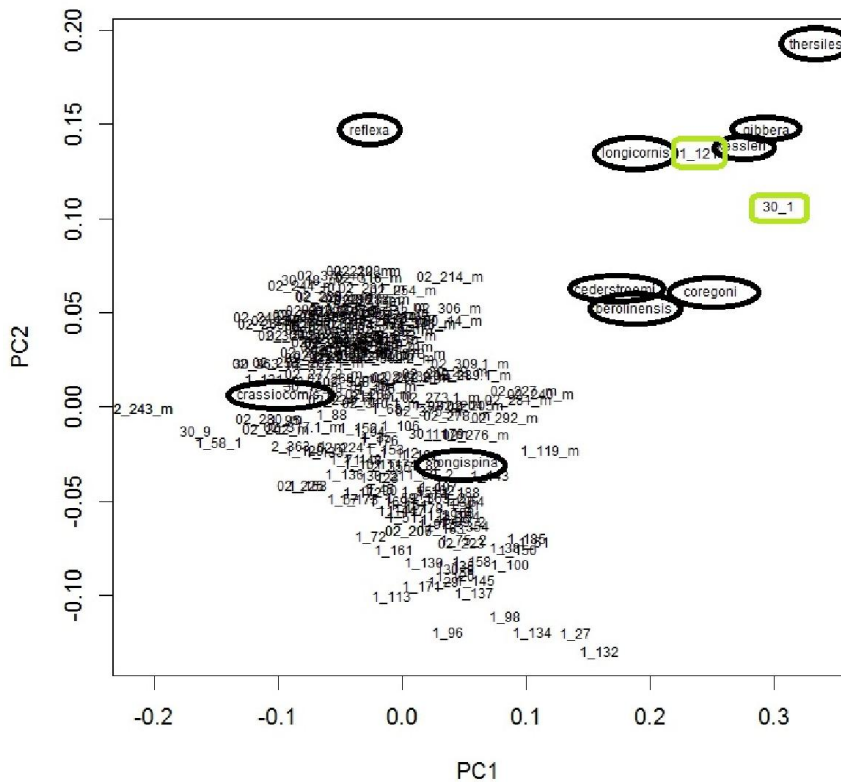
Жирным шрифтом выделены статистически значимые ($p < 0.05$) коэффициенты корреляции $r > 0.5$.

Если в распределение первых двух компонент матрицы относительных деформаций в пространстве множества изучаемых нами босмин добавить ранее опубликованные морфотипы (Faustova et al., 2011), то видно, что изменчивость исследованных нами босмин по форме с трудом может быть соотнесена с ранее описанными морфотипами (рис. 14). Босмины без мукро ближе к *B. (E.) crassicornis*, а с мукро – к *B. (E.) longispina*, хотя наблюдаемая изменчивость значительно превышает различия между этими двумя морфотипами. Еще две особи сильно отличаются по форме от всех прочих.

Если рассматривать распределение в пространстве первых двух компонент матрицы относительных деформаций только опубликованных морфотипов (рис. 15), то мы можем наблюдать, что эти морфотипы образуют в данном пространстве "треугольник", вершинами которого являются наиболее значимо различающиеся морфотипы (их относительное положение заметно отличается от наблюдаемого на рис. 14).

Если рассматривать распределение в пространстве первых двух компонент матрицы относительных деформаций не только опубликованных морфотипов, но и 10 исследованных нами босмин, представляющих все отмеченное нами разнообразие форм (согласно рис. 13), то взаимное расположение опубликованных морфотипов (рис. 16) остается таким же как в случае их отдельной классификации (рис. 15). Видно, что большинство наших босмин соответствует морфотипам *B. (E.) crassicornis*, *B. (E.) reflexa*, *B. (E.) longispina* и переходным формам между ними. Одна особь может быть отнесена к морфотипу *B. (E.) gibbera*.

Рисунок 14. Распределение исследованных босмин и опубликованных морфотипов *B. Eubosmina* (из: Faustova et al., 2011, заключены в черные овалы) в пространстве первых двух компонент матрицы относительных деформаций



В зеленые прямоугольники заключены два образца с нетипичной формой тела.

Рисунок 15. Распределение опубликованных морфотипов *B. Eubosmina* (из: Faustova et al., 2011) в пространстве первых двух компонент матрицы относительных деформаций

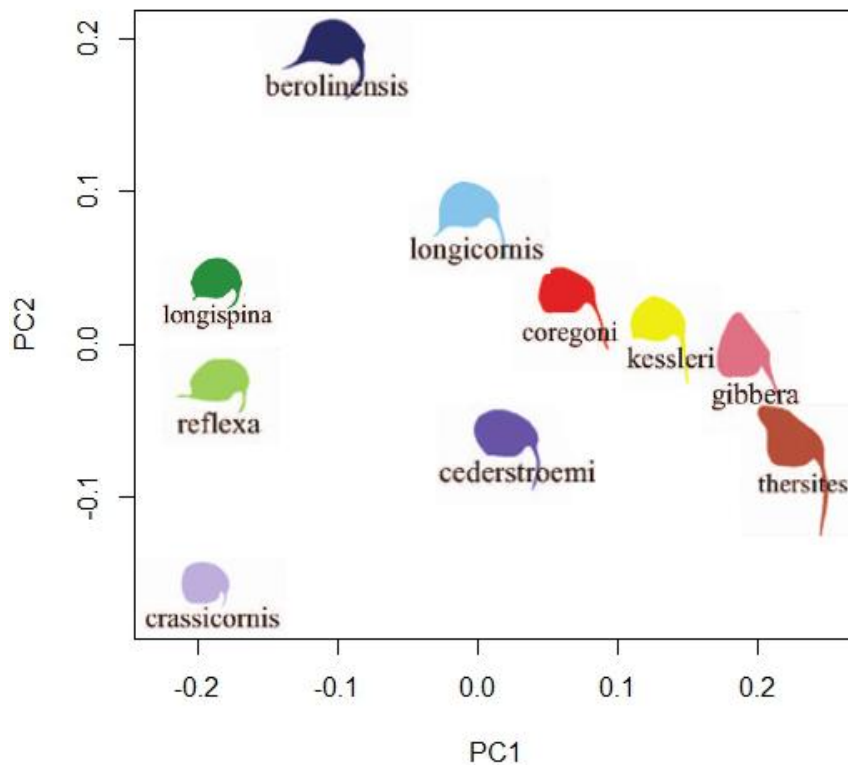
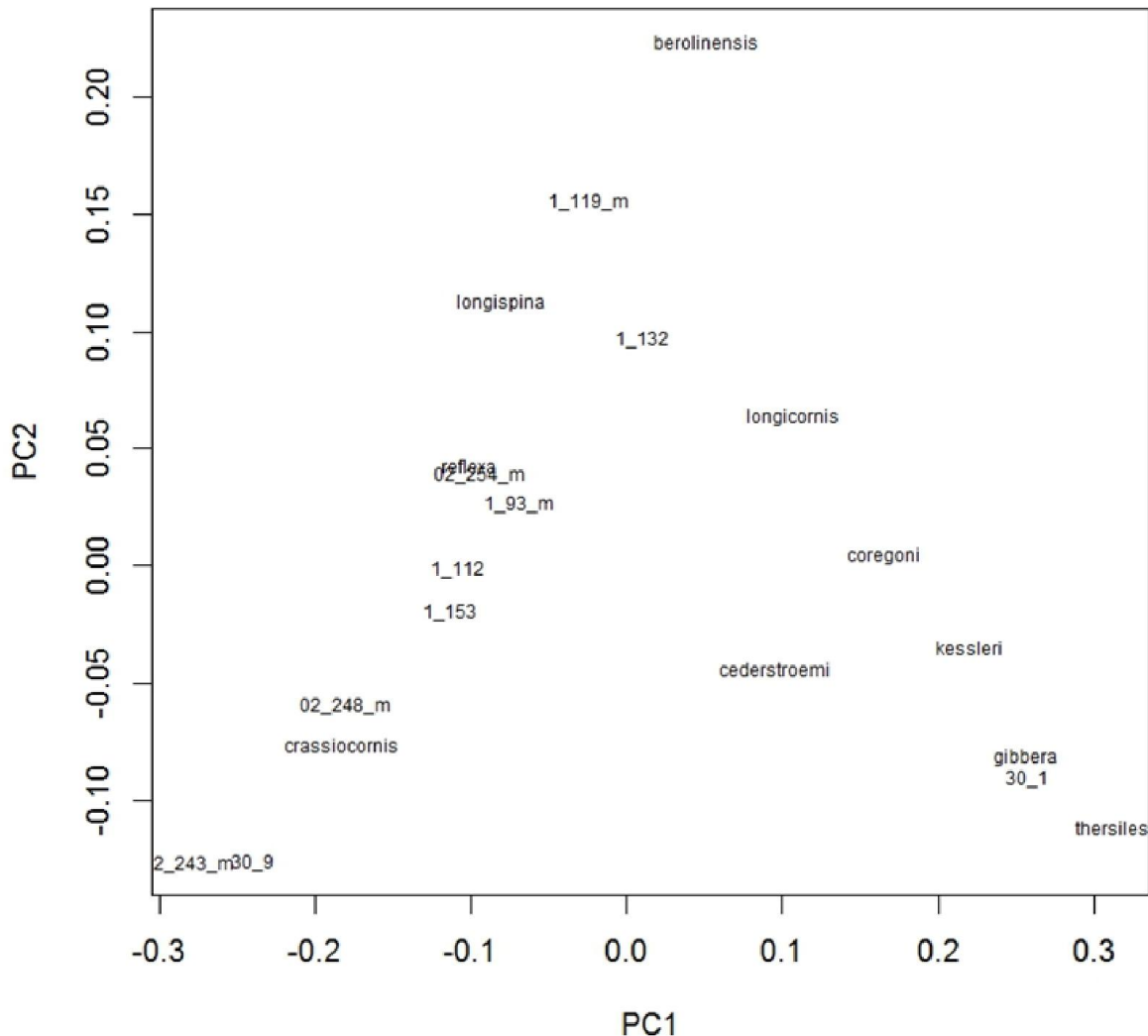


Рисунок 16. Распределение опубликованных морфотипов *B. (Eubosmina)* (из: Faustova et al., 2011) и 10 разнообразных по форме исследованных босмин в пространстве первых двух компонент матрицы относительных деформаций



Обсуждение

Изменчивость размеров тела и его выростов

У босмин с мукро длина антеннулы связана с длиной мукро и тела, но длина тела не коррелирует с длиной мукро. Такая странность видимо объясняется тем, что связь между длиной тела и длиной мукро – артефакт, объясняемый наличием нескольких anomalно крупных босмин. Это подтверждается одинаковым в среднем размером тела у босмин с мукро и без мукро.

Отрицательная связь между относительной длиной антеннулы и длиной тела повторяет результаты, полученные ранее (Lagergren et al., 2002), и также может объясняться тем, что босминам с меньшей длиной тела нужно лучше защищаться от хищников, чем крупным босминам, и поэтому они "вынуждены отращивать" более длинные антеннулы.

Выросты тела (мукро и антеннулы), но не сами размеры тела увеличиваются у босмин в присутствии беспозвоночных хищников (Kerfoot, McNaught, 2010). Показано, что в основном это актуально вдалеке от берега, где мало рыб, выедающих хищных копепод (Kerfoot, 1975). К сожалению, мы не отмечали, где были пойманы измеренные босмины

(вдали или вблизи от берега), и не определяли плотность беспозвоночных хищников в пробах. Однако наличие босмин без мукро лишь в удалении от берега позволяет предположить, что в период исследований в Ладожском озере наибольшая плотность беспозвоночных хищников наблюдалась как раз у берега.

Показано, что босмины с длинными выростами менее подвижны, и им труднее перемещаться в толще воды (особенно холодной, более вязкой), избегая хищников (Kerfoot, 1977; цит. по Lagergren *et al.*, 2002). По нашим данным, босмины с мукро имеют в среднем более короткие антеннулы. Возможно, это позволяет им уменьшить суммарную длину выростов тела, чтобы скорость передвижения не снижалась слишком сильно.

Изменчивость формы тела

Сравнение форм опубликованных морфотипов методом геометрической морфометрии (рис. 14) показывает, что сходные морфотипы действительно располагаются рядом в пространстве форм. Казалось бы, это доказывает, что с помощью метода геометрической морфометрии можно объективно определять, к какому морфотипу относится изучаемая босмина. Однако при включении опубликованных морфотипов в классификацию по форме всех наших образцов их относительное расположение меняется и не отражает их сходства по форме (рис. 13). Скорее всего, такой результат связан с тем, что мы сравниваем с 10 морфотипами намного большее число (196) исследованных нами образцов, которые в совокупности сильно изменяют вид "эталонного" (усредненного) образца, с которым происходит сравнение каждого контура при их анализе методом геометрической морфометрии, делая такое сравнение форм малоинформативным.

На рис. 15 мы сравниваем опубликованные морфотипы всего лишь с 10 исследованными нами босминами, и поэтому «эталонный» образец не должен был сильно видоизмениться. Действительно, взаимное расположение опубликованных морфотипов по-прежнему отражает сходство их форм. Те босмины, которые расположены в пространстве рядом с определенными морфотипами, похожи на эти морфотипы. Из этого следует, что с опубликованными морфотипами нужно сравнивать не все множество проанализированных объектов (особенно если они многочисленны), а крайние формы наблюдаемого морфологического континуума.

Известно, что все морфотипы, кроме *B. (E.) longispina*, образовались после отступления ледника (Faustova *et al.*, 2010). Наличие этого древнего морфотипа в Ладожском озере согласуется с его относительно большим возрастом. Почти полное отсутствие босмин с морфотипами, близкими к *B. (E.) berlinensis*, *B. (E.) gibbera* и *B. (E.) thersites* (характерных для эвтрофных водоемов: Faustova *et al.*, 2010) свидетельствует о низкой трофности исследованной части Ладожского озера (что, по-видимому, связано с удаленностью от крупных населенных пунктов).

При анализе массового материала (в противоположность принятому в палеоолиминологических исследованиях просмотру 35 босмин из пробы: Kogosi *et al.*, 2013) выявляется значительная морфологическая изменчивость, которая демонстрирует условность выделения отдельных морфотипов. Из-за наблюдаемого морфологического континуума, объединяющего разные морфотипы босмин, наряду с отсутствием их генетической дифференциации (Faustova *et al.*, 2010) придание им какого-либо таксономического статуса вызывает сомнения.

Выводы

1. У юго-восточного берега Ладожского озера обнаружена положительная связь между длиной мукро и антеннул у *Bosmina (Eubosmina)*; у босмин без мукро, обнаруженных лишь в удалении от берега, антеннулы в среднем длинее, чем у босмин с мукро.

2. У юго-восточного берега Ладожского озера по форме тела босмины соответствует морфотипам *B. (Eubosmina) crassicornis*, *B. (Eubosmina) reflexa*, *B. (Eubosmina) longispina*, причем отмечены все переходные формы между ними; одна особь может быть отнесена к морфотипу *B. (Eubosmina) gibbera*.

3. С помощью геометрической морфометрии можно объективно определить, к какому морфотипу относится изучаемая босмина, однако из-за особенностей метода число анализируемых босмин должно быть сопоставимо с числом морфотипов, с которыми идет сравнение.

Благодарности

Мы благодарим администрацию Нижне-Свирского государственного природного заповедника и лично заместителя директора В.А. Ковалева за содействие в проведении практики на территории заповедника; С.М. Глаголева, Л.А. Абрамову и участников практики за помощь в отборе проб; С.М. Глаголева и Е.В. Елисееву за организацию практики; С.М. Глаголева и Н.С. Глаголеву за идею работы и помощь при ее выполнении; Г.В. Липуну за помощь в оформлении работы и обработке данных.

Литература

Котов А.А., Синев А.Ю., Глаголев С.М., Смирнов Н.Н., 2010. Ветвистоусые ракообразные (Cladocera) // Алексеев В.Р., Цалолихин С.Я. (ред.), Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Том 1. Зоопланктон. М: Товарищество научных изданий КМК. С. 151-276.

Faustova M. (2010) Phylogeography, taxonomy, and systematics of selected members of the family Bosminidae. PhD thesis, Charles University in Prague Faculty of Science Department of Ecology, Czechia

Faustová M, Sacherová V, Sheets HD, Svensson J-E, Taylor DJ (2010) Coexisting Cyclic Parthenogens Comprise a Holocene Species Flock in *Eubosmina*. PLoS ONE 5(7): e11623.

Faustova M., Sacherova V., Sheets H. D., Svensson J., Derec J. T. (2011) Radiation of European *Eubosmina* (Cladocera) from *Bosmina (E.) longispina* — concordance of multipopulation molecular data with paleolimnology. Limnology and Oceanography, 56, 440-450.

Kerfoot W. C. (1975) The divergence of adjacent populations. Ecology, 56, 1298-1313.

Kerfoot W. C. (2006) Baltic *Eubosmina* morphological radiation: sensitivity to invertebrate predators (induction) and observations on genetic differences. Arch. Hydrobiol., 167, 147-168.

Kerfoot W. C., McNaught A. S. (2010) Two-step dialogue between the cladoceran *Bosmina* and invertebrate predators: Induction and natural selection. Limnology and Oceanography, 55 (1), 403-419.

Korosi J. B., Kurek J., Smol J. P. (2013) A review on utilizing *Bosmina* size structure archived in lake sediments to infer historic shifts in predation regimes. Journal of Plankton Research, 35, 444- 460.

Lagergren R., Svensson J.-E., Lundqvist N. (2002) Clutch size variation and morphology in a cyclomorphic *Bosmina* population // Journal of plankton research, 24, 653-659.

R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>

Rohlf F.J. (2000) tpsUtil: TPS utility program. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. [Electronic resource]. Mode of access: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.

Rohlf F.J. (2001a) tpsRelw: relative warps. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. Version 1.23. [Electronic resource]. Mode of access: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.

Rohlf F.J. (2001b) tpsDig. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. Version 1.23. [Electronic resource].