

**Изменчивость формы тела *Vosmina*
(*Eubosmina*) у юго-восточного берега
Ладожского озера**

Е. Рябова, 9Б

Научные руководители:

Н. С. Глаголева

П. А. Волкова

Введение

Объектом наших исследований послужили представители рода *Bosmina* (надкласс Crustacea надотряд Cladocera семейство Bosminidae), подрод *Eubosmina* Seligo, 1990. *Bosmina* (*Eubosmina*) — планктонные организмы, размножающиеся партеногенетически большую часть года.

У босмин сильно выражена фенотипическая пластичность – способность организма формировать разные фенотипы в ответ на различные условия среды (Macagno et al., 2018). Фенотипическая пластичность может проявляться на уровне анатомии, физиологии, поведения. У босмин, в частности, высока изменчивость формы и размеров тела, мукро и антеннул (Kerfoot, McNaught, 2010).

На изменчивость морфологии босмин влияет ряд факторов, таких как наличие беспозвоночных хищников, например, *Leptodora* (Kerfoot, 2006) или рыб (Brooks, Dodson, 1965), трофность и кислотность водоёма (Korosi et al., 2013). У босмин на основании формы карапакса, антеннул и мукро выделяют ряд морфотипов (рис. 1, Faustova et al., 2010). Некоторые авторы считают их отдельными видами, но они не дифференцированы генетически (Faustova et al., 2010), т. е. генотип босмин на морфологию не влияет. Примечательно, что все морфотипы *Eubosmina*, кроме *B. longispina* распространены только в озёрах, образованных после ледникового периода (Faustova et al., 2010).

Однако при определении морфотипа той или иной босмины встаёт проблема объективного разграничения морфотипов между собой, а также ограничения формы от размеров тела исследуемых босмин. Геометрическая морфометрия – относительно новый подход, заключающийся в сравнении объектов по форме с помощью декартовых координат их меток без учёта при этом размеров сравниваемых объектов (Павлинов и др., 2002). Геометрическая морфометрия может быть использована для объективного разграничения форм босмин. Ранее она использовалась для изучения босмин лишь в трёх работах (Faustova et al., 2010; Ковалёва, Смирнова, 2018; Киселёва и др., 2019). В первой работе изучалась изменчивость формы лишь дорзальной части карапакса босмины, и часть, несущая такие важные морфологические признаки, как антеннулы и мукро, не рассматривалась, в то время как в последних двух формы объектов сравнивались по всему контуру сагиттальной плоскости босмины. Две работы (Ковалёва, Смирнова, 2018; Киселёва и др., 2019) доказали действенность геометрической морфометрии, потому что в них удалось с помощью этого метода эффективно разграничить морфотипы между собой (в работе Faustova et al. не все морфотипы разграничены), а также сравнить объекты по форме.

В моей работе отражены результаты третьего сезона исследования формы *Bosmina* (*Eubosmina*) у юго-восточного берега Ладожского озера. В предыдущие два года соотношение морфотипов было разным (в 2018 году (Киселёва и др., 2019) по сравнению с 2017 (Ковалёва, Смирнова, 2018) увеличилась доля морфотипов, характерных для эвтрофных водоёмов), и, чтобы проследить эту изменчивость, требуется третий год.

С помощью геометрической морфометрии мы решили сравнить различные

морфотипы *Eubosmina*, описанные в литературе (Faustova et al., 2010) с экземплярами из наших проб, а также оценить потенциальную взаимосвязь между формой босмин из определённых проб и условиями, в которых они были собраны (дата, расстояние от берега, погодные условия, наличие беспозвоночных хищников), а также между морфологическими особенностями, такими как наличие/отсутствие мукро, длина антеннул.

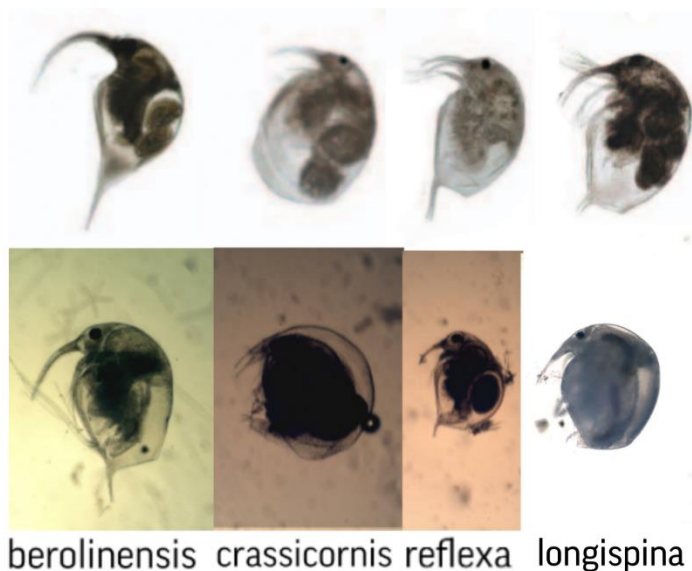


Рис. 1. Морфотипы, описанные в литературе (Faustova et al, 2010) (сверху) и схожие с этими морфотипами босмины из наших проб – 300-02072019-22, 10-27062019-05, 10-27062019-22, 1300-02072019-20 соответственно (снизу). Схожесть с морфотипами определена с помощью геометрической морфометрии (см. рис. 5).

Цель работы

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

Задачи

- 1) Изучить, какие морфотипы босмин встретились у юго-восточного побережья Ладожского озера период от 12 июня до 2 июля 2019 года.
- 2) Проанализировать возможную связь между формой босмин из определённых проб и условиями, в которых они были собраны (дата, расстояние от берега, погодные условия, наличие хищников).

Материалы и методы

Мы собрали четыре пробы – 12, 20, 26 июня и 2 июля 2019 года. В каждый день мы собирали пробы в трёх различных точках – 10, 300 и 1300 метров от берега. Исключение составляет проба (2 июля), которую на десяти метрах не собирали, так как было очень много песка, и нам не удалось разглядеть босмин. Все пробы мы собирали планктонным сачком №48 (номер мельничного газа определяется по количеству нитей на 10 мм ткани), погрузив обруч в воду полностью и проходя 50 метров вдоль берега.

Далее мы фильтровали пробы с помощью мельничного газа и двух банок. Мельничный газ представляет из себя короткую трубку с натянутой внутри сеткой. Мы переливали пробы из одной банки в другую через этот мельничный газ, босмины оставались на сетке. Отфильтрованные пробы помещали в

пробирки с 30 мл 96% этилового спирта.

Далее штемпель-пипеткой отмеряли 3.5 мл из пробы. Если босмин в данной пипетке было мало (меньше 40), брали вторую пипетку, в итоге объём увеличивался вдвое. Так мы делали с двумя пробами – 27 июня на 10 метрах и 20 июня на 300 метрах.

Содержимое штемпель-пипетки мы помещали в камеру Богорова и разбавляли дистиллированной водой. Далее мы подсчитывали босмин под биноклем Микромед МС-2, разделяя их на четыре группы – половозрелые с мукро, половозрелые без мукро, неполовозрелые с мукро, неполовозрелые без мукро. Половозрелость/неполовозрелость определяли по наличию/отсутствию яиц в выводковой камере босмины. Также подсчитывали беспозвоночных хищников – *Leptodora*, *Asplanchna*, *Polyphemus*. Плотность организмов на кубический метр рассчитывали по формуле: $(N_{\text{организмов в пробе}} * V_{\text{спирт. р-ра}}) / (V_{\text{субпробы}} * S_{\text{пов-ти орудия лова}} * L_{\text{пути}})$ (табл. 1). Всего посчитано 11 969 босмин (табл. 1).

Дата	Время	Расстояние от берега (м)	Погодные условия	число пипеток	половозрелые		неполовозрелые		все босмин	<i>Leptodora</i>	<i>Asplanchna</i>	<i>Polyphemus</i>
					с мукро	без мукро	с мукро	без мукро				
12.06.	18:00-19:00	10	Лёгкое волнение, ветер от берега	1	79 (41)	19 (10)	54 (28)	41 (21)	193	3	541	0
12.06.		300		1	38 (14)	82 (31)	10 (4)	134 (51)	263	1	703	8
20.06.	21:30-22:30	10	Штиль	1	152 (21)	131 (18)	233 (33)	196 (28)	711	0	0	0
20.06.		300		2	35 (18)	65 (33)	31 (16)	67 (33)	198	2	4	0
20.06.		1300		1	60 (1)	257 (5)	8 (0,1)	4694 (93,9)	5019	2	5	16
27.06.	10:30-12:00	10	Штиль	2	6 (18)	18 (53)	4 (11)	6 (18)	34	0	0	0
27.06.		300		1	16 (3)	158 (32)	26 (5)	287 (60)	487	0	0	2
27.06.		1300		1	23 (0,5)	463 (12)	7 (0,5)	3420 (87)	3913	3	4	0
02.07.	18:30-	300	Лёгкое волнение, ветер к берегу	2	130 (60)	31 (14)	45 (21)	12 (5)	218	45	0	0
02.07.	20:00	1300		1	6 (1)	109 (12)	3 (0,5)	814 (86,5)	932	21	0	0

Табл. 1. Условия взятия проб, число половозрелых и неполовозрелых босмин с мукро и без мукро, число хищников (числа в скобках указывают на долю (%) от общего числа босмин в пробе).

Параллельно с подсчётами вели фотографирование особей через камеру Webbers MyScore 300 M (всего сделано 195 фотографий). Для фотографирования отбирали только половозрелых босмин, так как у них уже сформирована форма карапакса, она не будет меняться с ростом. Босмины из проб 20 июня не были сфотографированы. Перед фотографированием босмин помещали в чашки Петри с чистой водой, предварительно очищая от грязи. Далее уже из чашек Петри поштучно особей помещали на предметные стёкла и, поставив камеру вместо окуляра микроскопа «Биолам», делали фотографии с помощью программы Score Photo.

Далее мы обводили фотографии в программе Smooth draw и, используя программу tpsDig (Rohlf, 2001b), автоматически расставляли через равные промежутки вдоль всего контура 100 точек, начиная с вершины антеннулы против часовой стрелки (рис. 2). Используя координаты этих точек, мы с помощью геометрической морфометрии сравнивали босмин между собой и с морфотипами, описанными в литературе.

Имея координаты контуров босмин, мы проводили с ними дальнейшие манипуляции (см. Результаты) с помощью программ tpsRelw (Rohlf, 2001a) и tpsUtil (Rohlf, 2000).

Дальнейшую обработку файла мы производили в программе R, где и создали окончательные версии распределений (рис. 3, рис. 4, рис. 5, рис. 7), предварительно конвертировав файл в формат csv с помощью программы tpsUtil.

Мы анализировали данные в программе R (R Core Team, 2016).

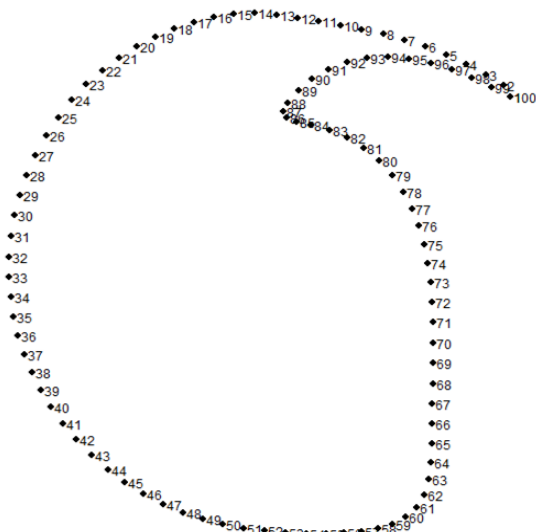


Рис. 2. Расположение точек геометрической морфометрии вдоль контура босмины

Построив график относительных деформаций с помощью программы tpsRelw, мы выявили усреднённую конфигурацию (consensus) босмины, которая показана на рис. 2 – так называемый «эталонный объект» (Павлинов и др., 2002). Координата каждой точки этого объекта представляет собой определённое значение в пространстве форм, полученное из координат всех образцов. На графике этот объект должен располагаться в начале координат, и чем ближе

реальная босмина к началу координат, тем меньше надо её деформировать, чтобы получить эталонный объект. В программе tpsRelw представлено пространство форм, в каждой точке которого располагается деформированный определённым образом относительно эталонного объект, так что, по сути, пространство форм содержит бесконечное число возможных форм босмин. Реальные босмины располагаются в точках, соответствующих им по координатам. В программе это выглядит как распределения, изображённые на рис. 3 и 4, но объекты обозначены порядковыми номерами их координат в текстовом файле, что для последующего анализа не подходит (нужны «кодовые» названия каждого объекта (см. пояснение к рис. 3)). Дальнейшая обработка (конвертация файла в формат csv и дальнейшее редактирование в программе R) направлена на то, чтобы получить окончательные версии распределений.

Результаты

Классификация босмин по форме и сравнение их с морфотипами, описанными в литературе

Сначала мы классифицировали всех босмин по форме с помощью геометрической морфометрии (рис. 3).

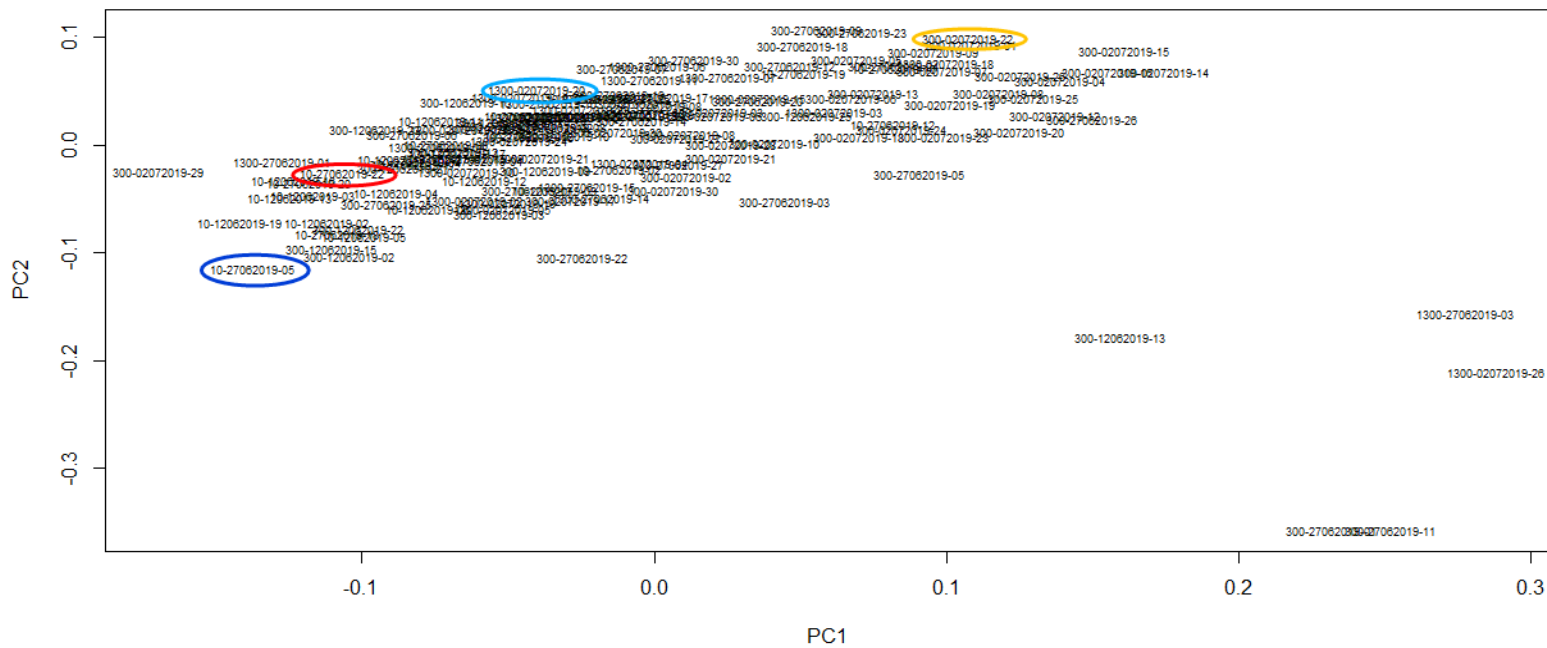


Рис. 3. Распределение объектов в пространстве первых двух компонент матрицы относительных деформаций (в дальнейшем – пространстве форм (Павлинов и др., 2002)). Каждая босмина обозначена «кодом», где через дефис перечисляются расстояние от берега, дата и порядковый номер фотографии. В овалы обведены номера босмин, наиболее соответствующих описанным морфотипам (см. текст). Синий – *B. crassicornis*, красный – *B. reflexa*, оранжевый – *B. berolinensis*, голубой – *B. longispina*.

Затем сравнили их с морфотипами, описанными в литературе – на рис. 1 показаны максимально приближенные к этим морфотипам наши босмины. Чтобы это сделать, мы

взяли координаты десяти образцов из разных областей пространства форм, представляющего всё морфологическое разнообразие, и объединили их с имеющимися координатами уже описанных морфотипов (рис. 4). Но, как можно здесь видеть, ни одна босмина не сближена в явном виде ни с одним опубликованным морфотипом, поэтому сделали второе распределение (рис. 5).

Важно, что мы не брали сразу двадцать образцов, добавив ещё десять дополнительно к имеющимся координатам, по которым строилось первое распределение (рис. 4), потому что двадцать образцов (описанных в литературе всего десять) могли изменить пространство форм, так как их количество в два раза больше, и тогда эталонный объект бы сильно изменился; сравнение с описанными босминами не было бы так эффективно. Нам пришлось создать дополнительное распределение, по которому уже определялась схожесть с морфотипами (рис. 5).

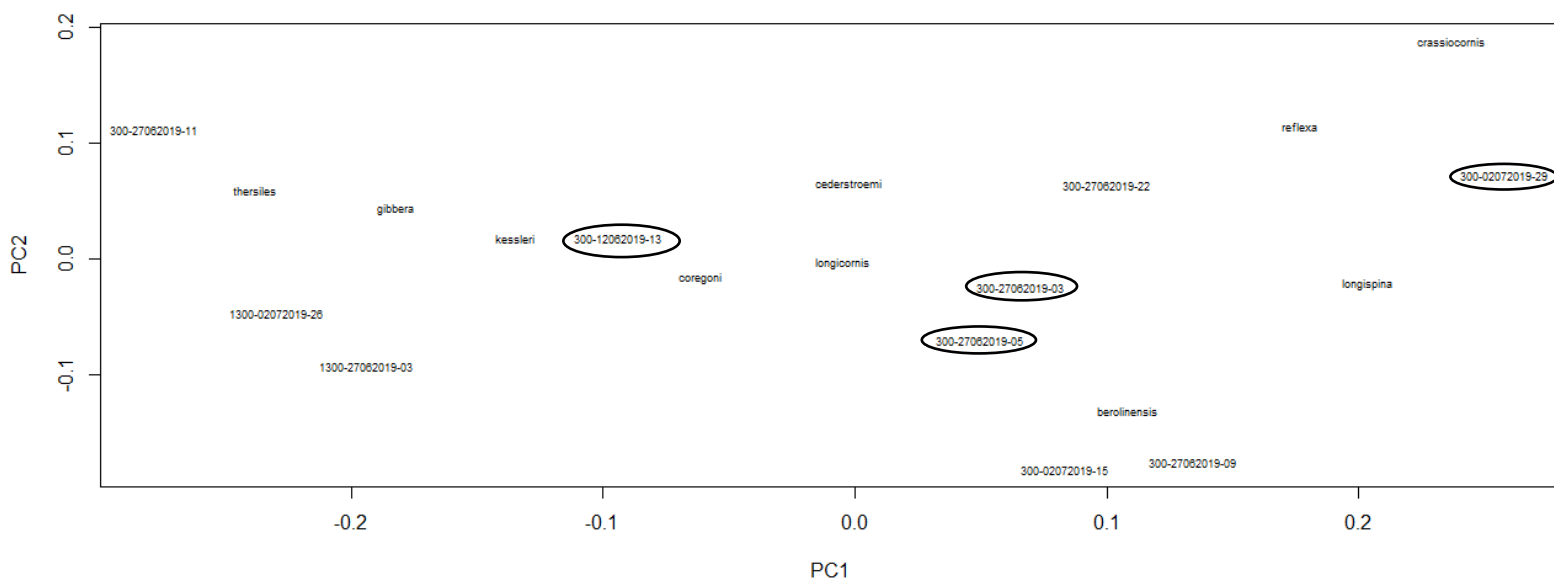


Рис. 4. Распределение выбранных исследуемых объектов и описанных в литературе босмин в пространстве форм. В чёрных овалах образцы, фотографии которых показаны на рис. 6.

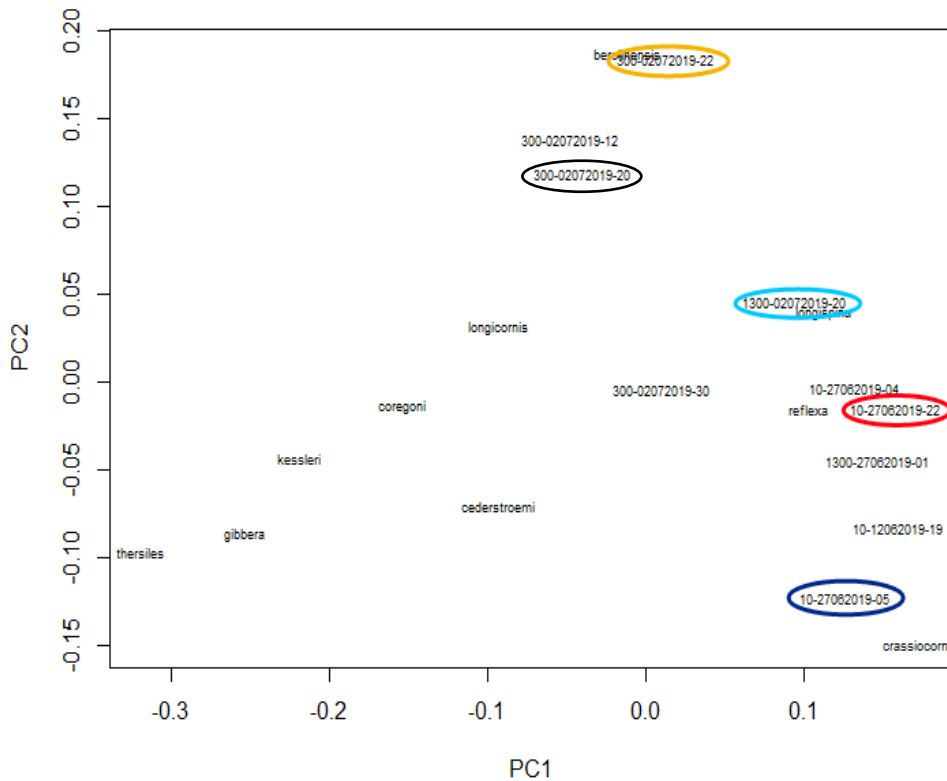


Рис. 5. Распределение других выбранных исследуемых объектов и описанных в литературе босмин в пространстве форм. Те же объекты, что на рис. 3, отмечены теми же цветами.

Несоответствие босмин определённым морфотипам

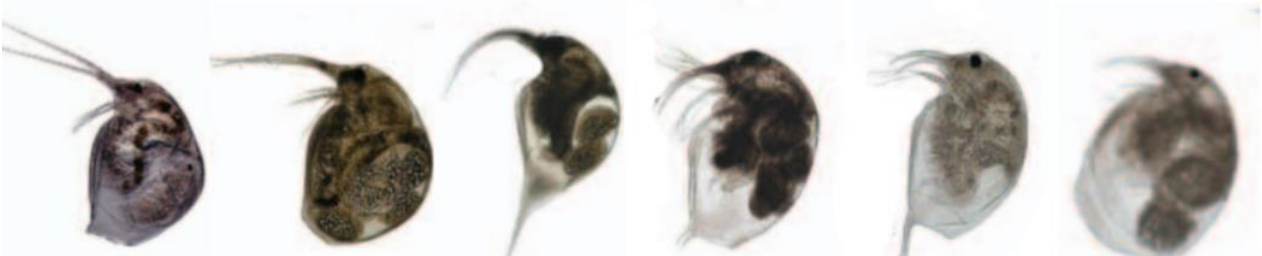
На этих распределениях мы видим, что босмины в цветных овалах находятся рядом с описанными морфотипами, и на рис. 1 мы сравнили их фотографии – они похожи. Однако для некоторых образцов, как уже было сказано ранее, морфотип определить нельзя. На рис. 6 предоставлено сравнение фотографий этих образцов с фотографиями описанных босмин.



300-12062019-13

300-02072019-20

300-02072019-29



kessleri

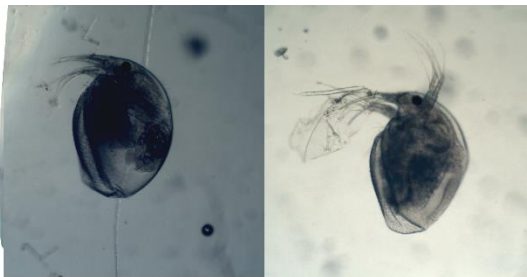
coregoni

berolinensis

longispina

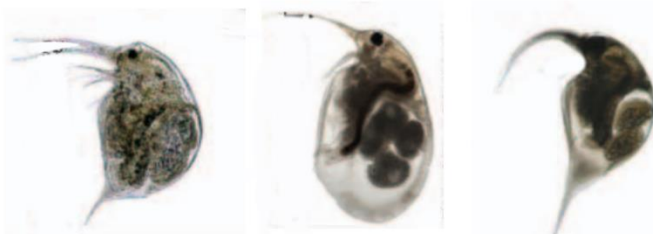
reflexa

crassicornis



300-27062019-03

300-27062019-05



longicornis

cederstroemi

berolinensis

Рис. 6. Босмины из наших проб с неопределёнными морфотипами (сверху) и максимально приближенные к ним морфотипы (снизу). В верхнем ряду приближенные морфотипы располагаются строго под фотографиями наших босмин (2 морфотипа под одним образцом), босмины в нижнем ряду похожи между собой, поэтому расположенные под ними морфотипы приближены к ним почти одинаково.

Зависимость формы босмин от расстояния от берега

Смотря на распределение на рис. 7, можно увидеть, что форма босмины также может зависеть от расстояния от берега. Зелёные (10 м от берега) образцы в большинстве своём приближены к морфотипам *crassicornis* и *reflexa*, что противоречит результатам прошлого года (в прошлом году к этим морфотипам были приближены образцы, взятые на 300 м от берега) синие (1300 м) – к морфотипу *longispina*, а красные (300 м) – к морфотипам *longispina* и *berolinensis*.

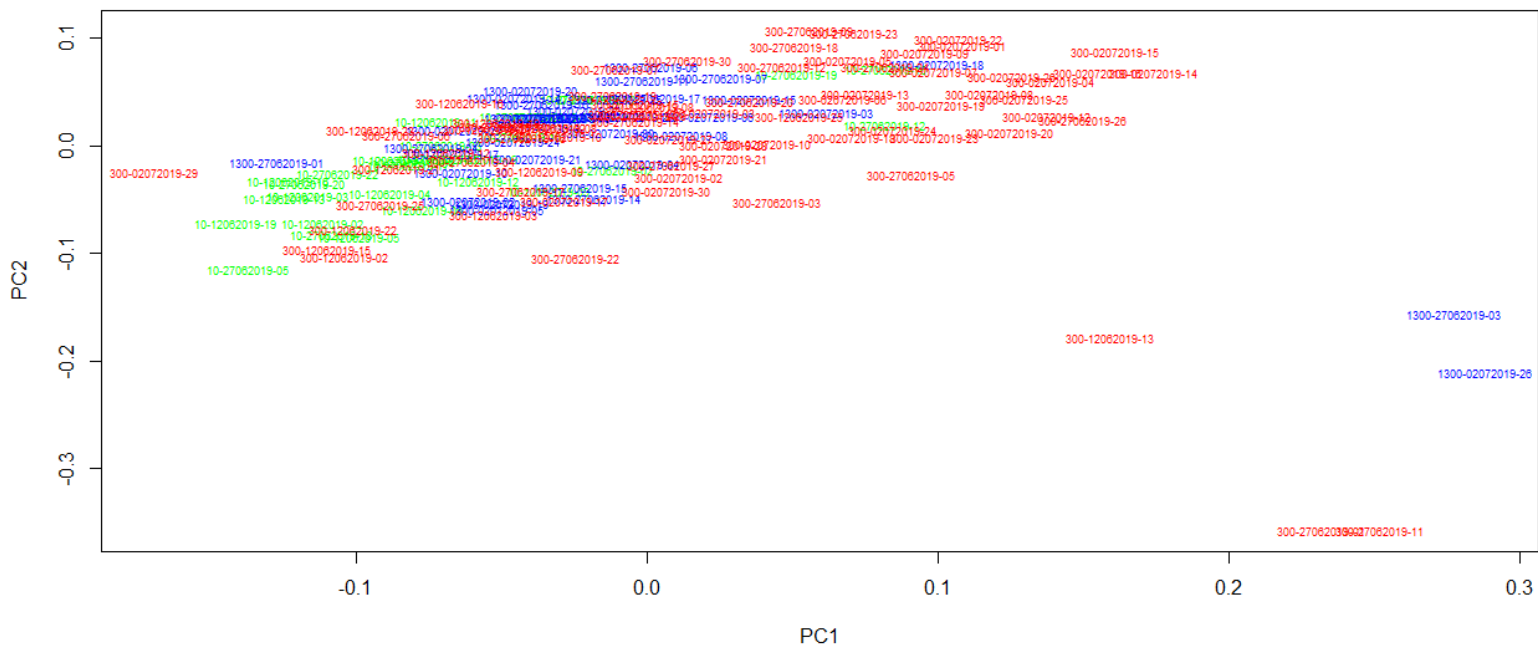


Рис. 7. Распределение объектов в пространстве форм. Каждая босмина обозначена своим цветом в зависимости от расстояния от берега. Зелёный – 10 м, красный – 300 м, синий – 1300 м.

Обсуждение

Изменчивость формы тела

При определении морфотипов исследуемых нами босмин возникла проблема, связанная с тем, что многие наши образцы не сблизилась в явном виде по форме ни с одним из опубликованных морфотипов (примеры на рис. 5). Большинство расположены на распределениях в пространстве между существующими морфотипами, и, как видно на рис. 6, их форма действительно промежуточная. Это доказывает условность деления на морфотипы.

На распределении (рис. 3) мы видим, что бóльшая часть босмин сгруппирована в одном месте – это значит, что морфотипы, близкие к *longispina*, *crassicornis* и *reflexa*, встречаются у юго-восточного берега Ладожского озера гораздо чаще, чем другие, а некоторые и вовсе не встречаются. Можно сделать вывод, что эти три морфотипа наиболее распространены у юго-восточного берега Ладожского озера в период с 12 июня до 2 июля 2019 года.

Как видно на рис. 7, определённые морфотипы чаще встречаются на одном расстоянии от берега, чем на другом.

Анализ связи между числом босмин и наличием у них мукро, между числом босмин, беспозвоночных хищников и расстоянием от берега.

Опираясь на таблицу (табл. 1), мы можем сказать, что в целом босмин без мукро (учитывались только половозрелые босмины, так как у неполовозрелых мукро ещё может вырасти) оказалось больше, чем босмин с мукро – предположительно, это связано с малым количеством беспозвоночных хищников

в наших пробах. Только 12 июня (10 м от берега) и 2 июля (300 м от берега) количество босмин с мукро сильно превышало количество босмин без мукро, и в оба этих дня наблюдалось относительно много беспозвоночных хищников, что свидетельствует о приспособлении босмин к условиям окружающей среды.

Почти во все дни, кроме 20 июня, общее количество босмин увеличивалось с увеличением расстояния от берега (все 3 пробы с самым большим количеством босмин собраны на 1300 м от берега). 20 июня на 10 м было больше босмин, чем на 300 м, но на 1300 м число босмин было максимальным среди всех проб. Учитывая, что мы брали пробы близко к поверхности, а с удалением от берега глубина увеличивается, это может означать, что с увеличением глубины босмины больше скапливаются у поверхности. Смотря на рис. 7, мы видим, что на 1300 м от берега наиболее распространена форма, приближенная к морфотипу *longispina*. Можно предположить, что больше всего в наших пробах распространены формы, приближенные к морфотипу *longispina*, но это лишь гипотеза.

Выводы

- 1) Деление *Eubosmina* на морфотипы, принятые в литературе, условно – нельзя с точностью отнести большинство босмин к определённому морфотипу.
- 2) У юго-восточного берега Ладожского озера в июне-июле 2019 года наиболее распространены босмины с формой, близкой к морфотипам *longispina*, *crassicornis* и *reflexa*. Морфотипы *crassicornis* и *reflexa* больше распространены среди босмин, пойманных на 10 м от берега, *longispina* и *berolinensis* – 300 м, *longispina* – 1300 м от берега.

Благодарности

Мы благодарим Н. С. Глаголеву, Л. А. Абрамову и М. Чуркину за помощь на полевом этапе работы; С.М. Глаголева и Е.В. Елисееву за организацию практики; администрацию Нижне-Свирского государственного природного заповедника за содействие в проведении практики на территории заповедника; П. А. Волкову за научное руководство.

Литература

- 1) Ковалева А. Ю. Изменчивость формы и размера тела *Bosmina* (*Eubosmina*) Selegro 1900 (Bosminidae, Cladocera) у юго-восточного берега Ладожского озера / Ковалева А. Ю., Смирнова А. В. // 2018. – URL: <http://www.bioclass.ru/files/konf18/bosmina.pdf> (дата обращения: 13.02.2020);
- 2) Изменчивость формы и размера тела *Bosmina* (*Eubosmina*) у юго-восточного берега Ладожского озера / Киселёва А. И., Кычков У. Г., Фейгин С. Е. [и др.] // 2019. – URL: <http://www.bioclass.ru/files/konf19/bosmina.pdf> (дата обращения: 13.02.2020);
- 3) Павлинов И. Я. Принципы и методы геометрической морфометрии / Павлинов И. Я., Микешина Н. Г. // Журнал общей биологии. – 2002. – Т. 63, №6. – С. 473–493;
- 4) Brooks J. L. Predation, body size, and composition of plankton / Brooks J. L.,

- Dodson S. I. // Science. – 1965. – T. 150, №3692. – P. 28–35;
- 5) Faustová M. Coexisting Cyclic Parthenogens Comprise a Holocene Species Flock in *Eubosmina* / Faustová M., Sacherová V., Sheets H. D. [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – T. 5, №7. – e11623;
 - 6) Kerfoot W. C. Baltic *Eubosmina* morphological radiation: sensitivity to invertebrate predators (induction) and observations on genetic differences / Kerfoot W. C. // Archiv für Hydrobiologie. – 2006. – T. 167, №1-4. – P. 147–168;
 - 7) Kerfoot W. C. Two-step dialogue between the cladoceran *Bosmina* and invertebrate predators: Induction and natural selection / Kerfoot W. C., McNaught A. S. // Limnology and Oceanography. – 2010. – T. 55, №1. – P. 403–419;
 - 8) Korosi J. B. A review on utilizing *Bosmina* size structure archived in lake sediments to infer historic shifts in predation regimes / Korosi J. B., Kurek J., Smol J. P. // Journal of Plankton Research. – 2013. – №35. – P. 444–460;
 - 9) Macagno A. L. M. Adaptive maternal behavioral plasticity and developmental programming mitigate the transgenerational effects of temperature in dung beetles / Macagno A. L. M., Zattara E. E., Ezeakudo O. [et al.] // Oikos. – 2018 – T. 127, №9. – P. 1319–1329;
 - 10) 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>;
 - 11) Rohlf F.J. (2000) tpsUtil: TPS utility program. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. URL: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>;
 - 12) Rohlf F.J. (2001a) tpsRelw: relative warps. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. Version 1.23. URL: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>;
 - 13) Rohlf F.J. (2001b) tpsDig. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. Version 1.23. URL: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.