

УДК 576.895.121:597.554.3

ОТРАЖАЕТ ЛИ НИЗКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ РАЗВИТИЯ У КРУПНЫХ УСАЧЕЙ (*BARBUS INTERMEDIUS* COMPLEX SENSU BANISTER) (PISCES, CYPRINIDAE) ИЗ ОЗЕРА ТАНА (ЭФИОПИЯ) ПОВЫШЕННУЮ ВОСПРИИМЧИВОСТЬ К ЗАРАЖЕНИЮ *LIGULA INTESTINALIS*?

© 2019 г. А. В. Кожара¹ *, А. Е. Жохов¹, А. Н. Мироновский^{1,2}

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
Ярославская обл., Некоузский р-н, пос. Борок, 152742 Россия

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

*E-mail: akozhara@mail.ru

Поступила в редакцию 11.09.2018 г.

После доработки 09.02.2019 г.

Принята к публикации 16.06.2019 г.

У взрослых особей комплекса *Barbus intermedius* из оз. Тана, зараженных плероцеркоидами цестоды *Ligula intestinalis*, отмечен более низкий в сравнении с незараженными рыбами уровень стабильности развития, проявляющийся в повышенном уровне флуктуирующей асимметрии (ФА) числа отверстий в каналах сейсмодатчика системы в костях висцерального скелета головы. Это может быть связано как с большей восприимчивостью асимметричных особей к заражению лигулой, так и с непосредственным возмущающим воздействием развивающихся плероцеркоидов на морфогенез зараженных рыб. Кроме того, у зараженных особей средние значения изученных признаков оказались значительно выше, чем у незараженных, что указывает на прямое воздействие плероцеркоидов на чувствительные этапы морфогенеза соответствующих структур хозяев. Это свидетельствует в пользу второй гипотезы, хотя на итоговый уровень ФА могут влиять оба механизма.

DOI: 10.1134/S004445961905004X

Стабильность морфогенеза у животных, оцениваемая показателями флуктуирующей асимметрии (ФА) билатеральных структур, в последние десятилетия привлекает к себе устойчивый интерес, став предметом множества исследований в области эволюционной и популяционной биологии и экологии. ФА определяют как небольшие случайные отклонения от строгой билатеральной симметрии в результате так называемого “онтогенетического шума” – мелких спонтанных возмущений морфогенеза, которые, как считается, отражают уровень генетического и средового стресса (Захаров, 1987; Hoffmann, Woods, 2003; Zakharov, 2003; Dongen, 2006). Кроме того, известно, что уровень ФА коррелирует с особенностями организма, прямо или опосредованно отвечающими за приспособленность и жизнестойкость (Møller, 1999). В частности, обнаружено, что повышенные уровни ФА связаны с низкой устойчивостью рыб к пестицидам (Allenbach et al., 1999) и паразитарным инфекциям (Исюмов, Касьянов, 1981; Møller, 1996, 2006; Reimchen, Nosil, 2001). С другой стороны, паразиты могут напрямую влиять на развитие морфологических структур, генерируя стресс, способный нарушать стабильность морфогенеза (Polak, 1997). В настоящем сообщении мы рассматриваем обе эти конкурирующие возможности на материале

крупных африканских усачей комплекса *Barbus intermedius* sensu Banister из оз. Тана (Эфиопия), зараженных ленточным червем *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda: Pseudophyllidea).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Рыб ловили ставными сетями в Бахардарском заливе оз. Тана с октября по ноябрь 2007 г. Для исследования отобраны особи генерализованной формы комплекса *B. intermedius* sensu Banister (*Labeobarbus auctorum*) (Banister, 1973; Мироновский, 2017) длиной от 138 до 222 мм. Свежепойманных рыб вскрывали и разделяли на две группы по наличию/отсутствию плероцеркоидов *L. intestinalis*.

Кости черепа после вываривания очищали от мягких тканей, промывали и высушивали. Для оценки величины ФА использовались два признака: число отверстий преоперкуло-мандибулярного канала сейсмодатчика системы на зубной кости (CPMd) и число отверстий того же канала на предкрышечной кости (CPMp). Число отверстий в сейсмодатчике широко используется в популяционно-морфологических исследованиях пресноводных рыб, в том числе для оценки гомеостаза развития (Яковлев и др., 1981; Lajus et al.,

Таблица 1. Статистические свойства распределений (R–L) у зараженных и незараженных рыб

Признак/группа	<i>n</i>	d_{K-S}	p_{K-S}	<i>E</i>	<i>Gamma</i>	p_{Gamma}
<i>CPMd inf</i>	33	0.223	<i>ns</i>	–0.133	0.568	<0.001
<i>CPMd non</i>	55	0.267	<0.01	0.338	–0.081	<i>ns</i>
<i>CPMp inf</i>	30	0.198	<i>ns</i>	–0.659	–0.268	<i>ns</i>
<i>CPMp non</i>	54	0.258	<0.01	0.922	–0.028	<i>ns</i>

Примечание. *inf* – зараженные, *non* – незараженные особи. *n* – объем выборки; d_{K-S} – значения критерия нормальности Колмогорова–Смирнова, *Gamma* – коэффициент корреляции Гамма, p_{K-S} , p_{Gamma} – соответствующие уровни значимости; *E* – коэффициент эксцесса.

2003). Отверстия подсчитывались под биноклярным микроскопом одним оператором.

Для каждого признака по совокупности значений справа (R) и слева (L) вычисляли выборочное среднее, стандартную ошибку и дисперсию. Распределение абсолютных значений разницы между правой и левой сторонами (R–L) проверяли на нормальность с помощью теста Колмогорова–Смирнова, а также путем непосредственной оценки величины эксцесса (*E*). Наличие направленной асимметрии тестировали с помощью двустороннего одновыборочного *t*-критерия по отношению к нулевому значению. Зависимость величины ФА от размера признака (Palmer, Strobeck, 2003) проверяли с помощью коэффициента ранговой корреляции Гамма между (R–L) и полусуммой значений признака на двух сторонах тела [(R + L)/2]. Эта статистика предпочтительна, когда данные содержат много повторяющихся значений, как в нашем случае (Agbedeyi, Igweze, 2014).

В качестве меры ФА использовали дисперсию абсолютной (с учетом знака) разности значений признака справа и слева (R–L). Этот показатель равен удвоенному значению стохастического компонента общей фенотипической дисперсии σ_s^2 (Kozhara, 1994; Lajus et al., 2003). Гетерогенность дисперсии при сравнении (R–L) у зараженных и незараженных усачей оценивали с помощью критерия Левена (Palmer, Strobeck, 2003). Дополнительно для оценки ФА использовали частоту асимметричных проявлений признака. По каждому из признаков особи были разделены на две группы (симметричные и асимметричные), и вычислена доля тех и других. Значимость различий между зараженными и незараженными рыбами оценивали по *Z*-критерию для разности долей. Расчеты выполняли в программном пакете Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ни в одном из четырех случаев (два признака в двух группах) не было выявлено направленной асимметрии. При этом тест Колмогорова–Смирнова показывает значимые отклонения от нормальности у незараженных рыб. Однако распределения (R–L) в этой группе были лептокуртическими, что указывает на отсутствие антисимметрии. В противоположность этому, распределения (R–L)

у зараженных рыб при визуальной оценке имели выраженный платикуртический характер, хотя величина эксцесса не достигала критических значений (от –0.97 до –1.02 для $n = 30–35$ при $\alpha = 0.05$; табл. 1). Поэтому билатеральную асимметрию во всех исследованных случаях рассматривали как ФА. Значимой корреляции между (R–L) и размером признака выявлено не было, за исключением *CPMd* в зараженной группе, для которого *Gamma* = 0.568 ($p < 0.001$). Для сохранения однородности данных нормирование (R–L) на индивидуальное значение признака в этом случае не применялось, тем более что в остальных трех случаях корреляции были незначимо отрицательными (табл. 1).

Основные статистические характеристики изученных признаков, включая выборочное среднее, общую фенотипическую дисперсию и ее стохастический компонент (ФА) у зараженных и незараженных усачей, приведены в табл. 2. Как показывают результаты теста Левена, уровень случайной изменчивости развития, или ФА, у зараженных особей достоверно выше, чем у незараженных. То же соотношение наблюдается по значениям *Z*-критерия для разности частот асимметричных особей между двумя группами.

Неожиданно большие, высоко значимые различия средневыборочных оценок обоих исследованных признаков, в особенности *CPMp*, обнаружены между незараженными и зараженными рыбами. У последних число отверстий оказалось достоверно выше ($p = 0.006$ для *t*-критерия по каждому из признаков), чем у незараженных.

Принимая во внимание жизненный цикл *L. intestinalis*, трудно однозначно соотнести повышенный уровень ФА у зараженных усачей с одной из возможных причин: с меньшей сопротивляемостью асимметричных особей к заражению паразитами или же с прямым воздействием последних на стабильность морфогенеза. *L. intestinalis* – гетероксанный паразит с жизненным циклом, включающим трех хозяев, причем в качестве первого промежуточного хозяина выступают планктонные веслоногие ракообразные. Корацидии цестод проникают через стенку кишечника копепод и развиваются в их организме в процеркоиды. Далее зараженные рачки заглатываются планктоноядными карповыми рыбами, и процеркоиды развиваются в плероцеркоиды, перемещаясь затем из кишечника в брюшную полость (Дубинина, 1966).

Таблица 2. Выборочные средние исходных распределений признаков (M), значения общей фенотипической дисперсии (σ^2) и ее стохастического компонента (σ_s^2)

Признак/группа	n	M	SE	σ^2	σ_s^2 (FA)*	$p(\text{Lev})$	$p(Z)$
<i>CPMd inf</i>	66	6.242	0.128	1.078	0.623	< 0.005	< 0.01
<i>CPMd non</i>	110	5.855	0.076	0.639	0.276		
<i>CPMp inf</i>	62	13.210	0.248	3.808	1.472	< 0.05	< 0.01
<i>CPMp non</i>	108	12.398	0.168	3.064	1.020		

Примечание. n – число наблюдений (проявлений билатерального признака). SE – стандартная ошибка среднего; $p(\text{Lev})$, $p(Z)$ – уровни значимости для критерия Левена и Z -критерия. Остальные обозначения как в табл. 1. * При расчете ФА используется объем выборки (n в табл. 1).

Малые размеры планктонных ракообразных делают возможным их потребление молодью костистых рыб уже в личиночном периоде, обуславливая соответствующие риски заражения. Так, личинки карпа начинают питаться копеподами при длине тела 8.8–10.6 мм (Брагинская, 1960). У одного из видов усачей из оз. Тана (*B. humilis*) минимальный размер особей, при котором происходит заражение лигулой, составляет 14 мм (А.Е. Жохов, неопубл. данные). Сходные значения можно ожидать также для *B. intermedius* и других близкородственных видов. Все это оставляет место предположению, что повышенный уровень ФА у зараженных усачей может быть следствием прямого воздействия развивающихся плероцеркоидов на хозяев. Известно, что *L. intestinalis* вызывает губительные изменения в организме второго промежуточного хозяина – рыбы, сильнее всего воздействуя на ее физиологическое состояние, онтогенез и поведение (Bean, Winfield, 1989; Brown et al., 2002; Cowx et al., 2008; Geraudie et al., 2010; Гопко, Михеев, 2017). Плероцеркоиды, занимающие брюшную полость рыб, могут рассматриваться как мощный источник интракорпорального среднего стресса, способного существенно дестабилизировать индивидуальное развитие и приводить к повышению ФА на стадии дефинитивного фенотипа. Выявленные различия средних значений рассматриваемых признаков у зараженных и незараженных рыб говорят в пользу этого предположения, поскольку такие различия можно объяснить только прямым паразитарным влиянием.

По имеющимся данным, морфогенез черепных сейсмодатчиков у костистых рыб может продолжаться в течение всего первого года жизни (Ванюшина, 1991; Vega, Viozzi, 2016). Поэтому дефинитивные паттерны числа пор и соответствующих им отверстий в костных каналах у зараженных и интактных особей могут различаться. Ю.Г. Изюмов и А.Н. Касьянов (1981) обнаружили пониженную стабильность развития у лещей *Abramis brama* (L.), зараженных лигулидами *L. intestinalis* и *Digramma interrupta* (Rudolphi); полученные результаты были интерпретированы в терминах более низкой устойчивости асимметричных рыб к заражению паразитами. Вместе с тем и сегодня нет четкого представления об эффективности иммунного ответа зараженных личинок и мальков и их

способности подавлять развитие плероцеркоидов. Вопрос остается открытым: отражает ли экстенсивность лигулезной инвазии в основном уровень иммунодефицита в популяции рыб и у отдельных ее особей, или же это просто функция числа зараженных копепод и вероятности их потребления рыбами. Представленные данные говорят скорее в пользу прямого воздействия плероцеркоидов на стабильность развития, отодвигая на второй план гипотезу повышенной чувствительности асимметричных особей к заражению, хотя в окончательную картину могут вносить вклад оба механизма.

Чтобы прояснить этот вопрос, необходимо тщательное исследование динамики взаимодействия “паразит–хозяин” и экстенсивности заражения в системе “*B. intermedius*–копеподы–*L. intestinalis*” в оз. Тана, а также параметров иммунного ответа молоди рыб на развитие плероцеркоидов.

Выражаем признательность всем участникам Совместной Российско-Эфиопской Биологической Экспедиции (JERBE) за их помощь и поддержку в Эфиопии, в особенности Ф.Н. Шкилю (Институт биологии развития РАН), А.А. Даркову и Ю.Ю. Дгебуадзе (Институт проблем экологии и эволюции РАН).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 08-04-00061а и № 14-04-00022). А.Н. Мироновским работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИПЭЭ РАН № 0109-2018-0076 и темы Государственного задания ИБВВ РАН № АААА-А18-118012690222-4, А.В. Кожарой и А.Е. Жоховым – в рамках тем Государственного задания ИБВВ РАН № АААА-А18-118012690222-4 и № АААА-А18-118012690101-2 соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Брагинская Р.Я., 1960. Этапы развития культурного карпа // Тр. Ин-та морфологии животных им. А.Н. Северцова. Вып. 28. С. 129–148.
- Ванюшина О.Г., 1991. Развитие черепных каналов сейсмодатчиков у молоди леща *Abramis brama* // Вопр. ихтиологии. Т. 31. № 1. С. 40–45.
- Гопко М.В., Михеев В.Н., 2017. Паразитические манипуляции фенотипом хозяина: эффекты во внутренней и внешней среде // Журн. общ. биологии. Т. 78. № 6. С. 16–48.

- Дубинина М.Н., 1966. Ремнецы (Cestoda: Ligulidae) фауны СССР. М.; Л.: Наука. 261 с.
- Захаров В.М., 1987. Асимметрия животных. М.: Наука. 216 с.
- Изымов Ю.Г., Касьянов А.Н., 1981. Стабильность морфогенеза и устойчивость леща к лигулидозам // Паразитология. Т. 15. № 2. С. 174–177.
- Мироновский А.Н., 2017. Место генерализованной формы в структуре фенетического разнообразия крупных африканских усачей комплекса *Barbus intermedius*. Метод корреляционных плеяд // Вопр. ихтиологии. Т. 57. № 4. С. 393–404.
- Яковлев В.Н., Изымов Ю.Г., Касьянов А.Н., 1981. Фенетический метод исследования популяций карповых рыб // Биол. науки. № 2. С. 98–101.
- Agbedeyi O.D., Igweze A.H., 2014. Robust method for testing the significance of bivariate correlation of ordinal data // Math. Theory Model. V. 4. № 11. P. 68–74.
- Allenbach D.M., Sullivan K.B., Lydy M.J., 1999. Higher fluctuating asymmetry as a measure of susceptibility to pesticides in fishes // Environ. Toxicol. Chem. V. 18. № 5. P. 899–905.
- Banister K.E., 1973. A revision of the large *Barbus* (Pisces, Cyprinidae) of east and central Africa. Pt. II // Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. Zool. V. 26. P. 1–148.
- Bean C.W., Winfield I.J., 1989. Biological and ecological effects of *A. Ligula intestinalis* (L.) infestation of the gudgeon, *Gobio gobio* (L.), in Lough Neagh, Northern Ireland // J. Fish. Biol. V. 34. № 1. P. 135–147.
- Brown S.P., Loot G., Teriokhin A., Brunel A., Brunel C., Guégan J.-F., 2002. Host manipulation by *Ligula intestinalis*: A cause or consequence of parasite aggregation? // Int. J. Parasitol. V. 32. P. 817–824.
- Cowx I.G., Rollins D., Tumwebaze R., 2008. Effect of *Ligula intestinalis* on the reproductive capacity of *Rastrineobola argentea* in Lake Victoria // J. Fish Biol. V. 73. № 9. P. 2249–2260.
- Dongen S.V., 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: Past, present and future // J. Evol. Biol. V. 19. № 6. P. 1727–1743.
- Geraudie P., Boulange-Lecomte C., Gerbron M., Hinfray N., Brion F., Minier C., 2010. Endocrine effects of the tapeworm *Ligula intestinalis* in its teleost host, the roach (*Rutilus rutilus*) // Parasitology. V. 137. № 4. P. 697–704.
- Hoffmann A.A., Woods R.E., 2003. Associating environmental stress with developmental stability: Problems and patterns // Developmental Instability. Causes and Consequences / Ed. Polak M. N.Y.: Oxford Univ. Press. P. 387–401.
- Kozhara A.V., 1994. Phenotypic variance of bilateral characters as an indicator of genetic and environmental conditions in bream *Abramis brama* (L.) (Pisces, Cyprinidae) populations // J. Appl. Ichthyol. V. 10. № 2–3. P. 167–181.
- Lajus D.L., Graham J., Kozhara A.V., 2003. Developmental instability and the stochastic component of total phenotypic variance // Developmental Instability. Causes and Consequences / Ed. Polak M. N.Y.: Oxford Univ. Press. P. 343–363.
- Møller A.P., 1996. Parasitism and developmental instability of hosts: A review // Oikos. V. 77. № 2. P. 189–196.
- Møller A.P., 1999. Developmental stability is related to fitness // Am. Nat. V. 153. № 5. P. 556–560.
- Møller A.P., 2006. A review of developmental instability, parasitism and disease // Infect. Genet. Evol. V. 6. № 2. P. 133–140.
- Palmer A.R., Strobeck C., 2003. Fluctuating asymmetry analysis revisited // Developmental Instability. Causes and Consequences / Ed. Polak M. N.Y.: Oxford Univ. Press. P. 279–319.
- Polak M., 1997. Parasites, fluctuating asymmetry and sexual selection // Parasites and Pathogens. Effects on Host Hormones and Behavior / Ed. Beckage N.E. N.Y.: Chapman & Hall. P. 246–276.
- Reimchen T.E., Nosil P., 2001. Lateral plate asymmetry, diet and parasitism in threespine stickleback // J. Evolution. Biol. V. 14. № 4. P. 632–645.
- Vega R.M., Viozzi G.P., 2016. The cephalic lateral line system of temperate perches (Perciformes: Percichthyidae) from Argentinean Patagonia // Zoologia. V. 33. № 6. P. e20160025.
- Zakharov V.M., 2003. Linking developmental stability and environmental stress: A whole organism approach // Developmental Instability. Causes and Consequences / Ed. Polak M. N. Y.: Oxford Univ. Press. P. 402–414.

Does decreased developmental stability in the Ethiopian Lake Tana large barbs (*Barbus intermedius* complex sensu Banister) (Pisces, Cyprinidae) imply higher susceptibility to the *Ligula intestinalis* invasion?

A. V. Kozhara^{a, *}, A. E. Zhokhov^a, A. N. Mironovsky^{a, b}

^aPapanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS
Yaroslavl Region, Nekouz District, Borok, 152742 Russia

^bSevertsov Institute of Ecology and Evolution, RAS
Leninsky prosp., 33, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: akozhara@mail.ru

Adult individuals of *Barbus intermedius* complex from Lake Tana infested by a pseudophyllidean cestode *Ligula intestinalis* display lower developmental stability as expressed by elevated levels of fluctuating asymmetry of the number of openings in cephalic sensory system canals. This can be due either to increased susceptibility of asymmetrical fishes to parasite infections or to parasite-induced stress at early juvenile stages when characters are still sensitive to developmental disturbances. Moreover, parasitized fish averaged noticeably higher in the character size suggesting direct impact of the helminth plerocercoids upon development of the traits involved. This argues in favour of the second hypothesis although both mechanisms can contribute to the definitive pattern.