

**КРИПТИЧНИЙ ХАРАКТЕР
МОРФОМЕТРИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ
У ДИПЛОЇДНО-ПОЛІПЛОЇДНОМУ УГРУПОВАННІ ЩИПІВОК
(CYPRINIFORMES, COBITIDAE, COBITIS)
НИЖНЬОГО ДУНАЮ**

У статті наводяться результати досліджень морфометричної мінливості тіла в'юнових риб роду звичайних щипівок *Cobitis* за допомогою одновимірної та багатовимірної статистики. Матеріалом слугувала вибірка з Нижнього Дунаю, що являє собою угруповання, яке складається з двох батьківських видів та трьох гібридних біотипів. Метою роботи було перевірити значимість фактора географічної мінливості при визначенні належності щипівок до різних видів і біотипів за допомогою промірів та індексів тіла. Результати, по-перше, підтверджують ту обставину, що за формою і розмірами тіла різні види і гібридні біотипи не діагностуються і, по-друге, було встановлено, що географічно мінливість не є фактором, що реально маскує відмінності видів і біотипів в узагальнених вибірках, що складаються зі зборів з різних частин ареалу.

Ключові слова: морфометрія, багатовимірні статистика, види-двійники, щипівки, *Cobitis*

Постановка проблеми. Аналіз останніх публікацій. В останні десятиліття особливий інтерес зоологів, систематиків і еволюціоністів викликають гібридні комплекси, складовими частинами яких є диплоїдні батьківські види і різноплоїдні гібриди, зазвичай, що розмножуються клоново однією з форм партеногенезу [1]. Причина такої уваги пов'язана з надзвичайно високою швидкістю еволюційно-генетичних процесів у гібридів, кінцевим результатом яких стає «миттєве видоутворення». Однією з таких груп хребетних тварин є рід невеличких в'юнових риб звичайні щипівки *Cobitis* Linnaeus, 1758 [2]. Згідно з останніми даними [3] у водних системах України мешкає три диплоїдних види: щипівка звичайна *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758, щипівка донська *C. tanaitica* Vacescu, Mayer, 1969 і щипівка дунайська *C. elongatoides* Vacescu, Mayer, 1969, які утворюють різноманітні гібриди [4], серед яких група ди-, три- та тетраплоїдних біотипів *C. elongatoides* – *taenia* – *tanaitica*. Їх хромосомний набір формується за рахунок обов'язкової присутності генома *C. elongatoides* у поєднанні з геномами *C. taenia* і *C. tanaitica* окремо або в комбінації один з одним. Поліплоїдні гібриди – це майже виключно самки, які відтворюються тільки гіногенезом, при цьому донором сперматозоїдів виступають самці батьківських видів [2]. Ще однією особливістю цього комплексу є прихований, криптичний характер морфологічної мінливості. Вважається, що за екстер'єрним ознаками, формою тіла і особливостями забарвлення неможливо відрізнити не тільки гібридних особин різних біотипів, а й провести однозначну межу між батьківськими видами. Дані, наявні по популяціям щипівок Польщі, вказують [5-6], що використання морфометричних показників і прийомів багатовимірної статистики також не дозволяє досягти надійної діагностики особин різних гібридних біотипів і батьківських видів один від одного. Причиною негативного результату в цьому випадку міг бути фактор географічної мінливості, оскільки для збільшення обсягу використовувалася вибірка, взяті з різних місць. З метою перевірки значимості фактора географічної мінливості при визначенні належності щипівок до різних видів і біотипів нами була взята безпрецедентно

значна за об'ємом вибірка риб з Нижнього Дунаю, що до того характеризується, як показав спеціально проведений алозимний аналіз [7], унікально високою біотипічною різноманітністю.

Матеріал і методи

Фактичною основою для дослідження послужили 343 особини щипівок, зібраних протягом одного сезону в нижній течії Дунаю в околицях с. Вилкове (Кілійський р-н, Одеська обл.). За допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі було ідентифіковано [7] два батьківських виду: дунайську щипівку *C. elongatoides* (для морфометричного аналізу використано 15 самок), донську щипівку *C. tanaitica* (взято 8 самок) і три гібридних біотиби: триплоїдно-тетраплоїдна група *C. 2 (3) elongatoides – tanaitica* (258 особин), триплоїдно-тетраплоїдна група *C. elongatoides – 2 (3) tanaitica* (61 особина) і диплоїдні гібриди першого покоління *C. elongatoides – tanaitica* (13 особин).

Морфометричний аналіз проведено за стандартною схемою, адаптованою до риб родини в'юнових [8]. Використано 23 проміри тіла: *L* – максимальна довжина тіла, *SL* – довжина тулуба і голови, *CL* – довжина тулуба, *ao* – довжина рила, *o* – діаметр ока, *c* – довжина голови, *po* – довжина відділу голови за очною ямкою, *hc* – висота голови, *H* – максимальна висота тіла, *h* – мінімальна висота тіла, *aD* – антідорсальна відстань, *pD* – постдорсальна відстань, *aV* – антівентральна відстань, *aA* – антіанальна відстань, *ID* – довжина спинного плавця, *hD* – висота спинного плавця, *IA* – довжина анального плавця, *hA* – висота анального плавця, *IP* – довжина грудного плавця, *IV* – довжина черевного плавця, *PV* – відстань між грудним і черевним плавцями, *VA* – відстань між спинним і анальним плавцями, *Icaud* – довжина хвостового стебла. Виміри виконані «однією рукою» на особинах, фіксованих у 4% формальдегіді. При аналізі мінливості використовувалися як абсолютні ознаки, так і індекси, для чого кожен з промірів був віднесений до довжини тулуба. Додатково використані ще п'ять індексів (*ao/c*, *o/c*, *io/c*, *Icaud/aD*, *Icaud/hc*). Всього було задіяно 26 індексів. У розрахунки взяті виключно самки.

Для аналізу мінливості тіла застосовано метод головних компонент на кореляційній матриці. Для визначення змінних, за якими відрізняються біотиби щипівок, використано міжгруповий метод головних компонент (between-group PCA), який найкраще підходить для адекватного відображення відмінностей між групами при великій кількості змінних [9].

Аналіз виконано в R (version 3.4.2) [10]; за допомогою базової функції *prcomp* та функції *group PCA* з пакету *Morpho* (version 2.5.1) [11]. Аналіз проведено окремо для промірів та індексів.

Результати та їх обговорення

Використання методу головних компонент дозволило розкласти мінливість 23 промірів тіла на дві основні складові. Перша компонента пояснює майже 66% дисперсії та однаково сильно навантажена всіма змінними, які орієнтовані уздовж першої компоненти (рис. 1). Її можна інтерпретувати як комплексну змінну, що відображає мінливість у розмірах тварин. Друга компонента пояснює лише 5% загальної мінливості. На інші компоненти припадає дуже незначні частки загальної мінливості, які можна не враховувати. В остаточному рахунку такий характер розподілу за компонентами означає високий ступінь скорельованості промірів із загальними розмірами риб.

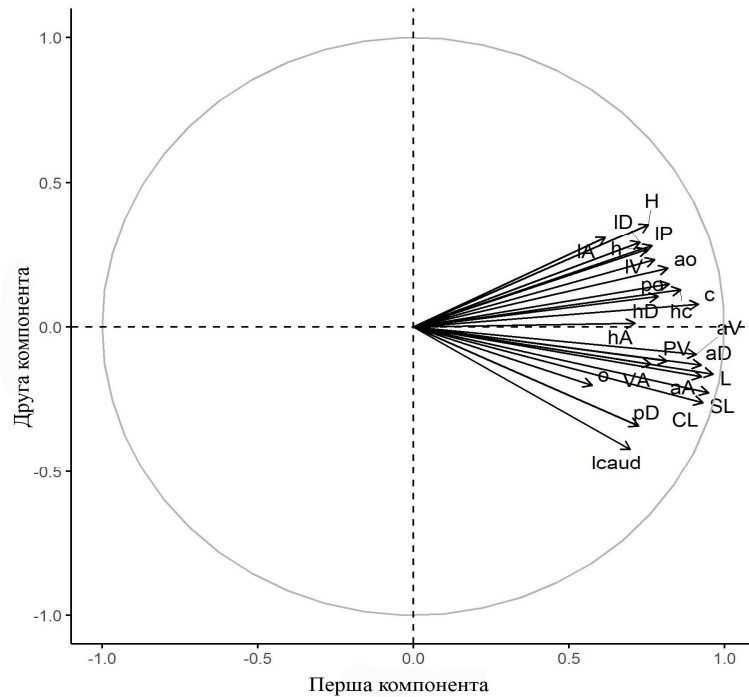


Рис. 1. Навантаження промірів на перші дві компоненти

Аналіз відмінностей між видами та біотипами було проведено за допомогою міжгрупового аналізу головних компонент (between group PCA). Він показує, що види і біотиби щипівок погано розрізняються за абсолютними промірами (55% правильно розпізнаних особин). Причому хмари розсіювання значно перекриваються (рис. 2), а центроїди розташовуються на невеликих відстанях. Слід зазначити, що міжгрупові відмінності максимально концентруються в першій головній компоненті, яка пояснює 96% загальної дисперсії міжгрупової мінливості. Вона в найбільшій мірі пов'язана з промірами ока, довжиною роструму, висотою тіла та довжиною плавців.

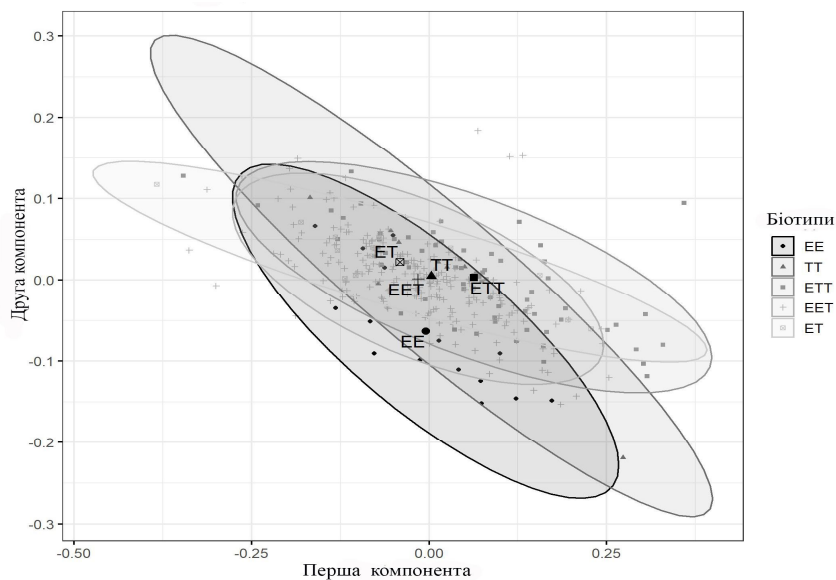


Рис 2. Розташування особин в міжгрупових головних компонентах отриманих на підставі мінливості промірів тіла. Еліпс – 95% довірчий інтервал. Підписані великі значки – центроїди груп. Біотиби: EE – *C. elongatoides*, TT – *C. tanaitica*, ETT – *C. 2 elongatoides – tanaitica*, EET – *C. elongatoides – 2 tanaitica*, ET – *C. elongatoides – tanaitica*.

Аналіз мінливості форми тіла щипівок, здійснений за 26 індексами, показує високу однорідність вибірки, що може бути пояснено низьким ступенем скорельованості індексів. Лише 36% мінливості скупчено в перших двох компонентах (PC1 = 26%, PC2 = 10,4%), що відображає здебільшого зміни в довжині хвостового стебла (рис. 3).

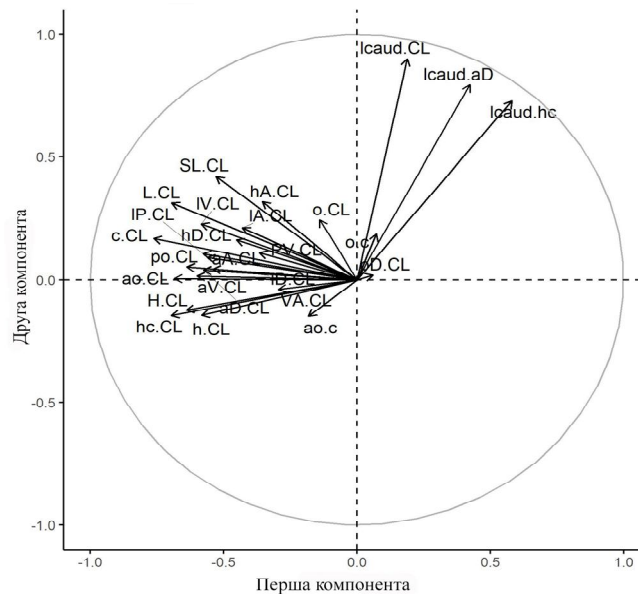


Рис. 3. Навантаження індексів на перші дві компоненти

Відмінності між біотипами за індексами так само концентруються в першій міжгруповій головній компоненті, що складає 80% від загальної мінливості та пов'язані здебільшого з відносно вищим хвостовим стеблом порівняно з висотою голови (lcaud/hc). Причому у цьому випадку хмари розсіювання значно більше накладаються одна на одну (рис. 4), ніж у випадку з абсолютними промірами, результатом чого є дуже низька роздільна здатність застосування індексів. Виявилось, що лише 28% особин можуть бути ідентифіковані за допомогою комплексу індексів.

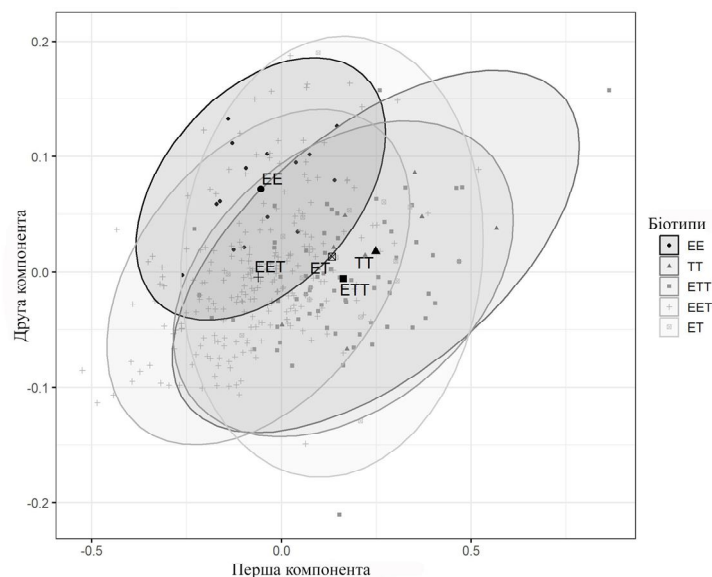


Рис. 4. Розташування особин в міжгрупових головних компонентах отриманих на підставі мінливості індексів тіла. Еліпс – 95% довірчий інтервал. Підписані великі значки – центроїди груп. Позначення біотипів, що й на рис. 2.

Неможливість чіткого розмежування видів та біотипів доводить і аналіз за окремими ознаками. Так, незважаючи на те, що дисперсійний аналіз (One-way ANOVA) показує, що на мінливість всіх промірів тіла і 23 з 26 індексів факт біотипової належності має вірогідний вплив, причому для всіх абсолютних ознак і 11 індексів тіла вплив є на вищому рівні вірогідності ($p < 0,001$), проте внутрішньогрупова мінливість виявляється настільки значною, що за всіма ознаками, включаючи і найбільш мінливі, спостерігається широка міжгрупова трансгресія (табл. 1). Це означає, що жодна із цих ознак не може бути використана для розмежування і діагностики видів і гібридних форм.

Таблиця 1

Межі мінливості ознак, що за даними аналізу One-Way ANOVA, найбільше відрізняються при міжгрупових порівняннях

Ознака	Г N = 8		Е N = 15		ЕТТ N = 69		ЕЕТ N = 238		ЕТ N = 13	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
SL, mm	66	83	71	90	50	89	64	98	68	88
SL/CL	1,186	1,259	1,202	1,377	1,029	1,254	1,044	1,295	1,175	1,246
ao/CL	0,073	0,095	0,078	0,119	0,063	0,103	0,065	0,109	0,079	0,102
o/CL	0,017	0,029	0,015	0,031	0,010	0,033	0,010	0,038	0,017	0,035
c/CL	0,194	0,232	0,200	0,246	0,172	0,246	0,177	0,243	0,175	0,246
H/CL	0,143	0,177	0,171	0,214	0,127	0,202	0,133	0,217	0,145	0,179
aV/CL	0,581	0,648	0,594	0,669	0,483	0,714	0,538	0,759	0,571	0,661
aA/CL	0,919	0,963	0,892	0,993	0,783	1,000	0,781	1,055	0,857	1,000
ID/CL	0,086	0,111	0,094	0,127	0,074	0,118	0,063	0,130	0,086	0,107
hD/CL	0,171	0,214	0,144	0,217	0,150	0,226	0,132	0,232	0,175	0,203
IP/CL	0,129	0,152	0,137	0,172	0,090	0,167	0,116	0,174	0,121	0,153
PV/CL	0,370	0,397	0,354	0,448	0,297	0,433	0,294	0,467	0,333	0,415

Розшифровка позначень біотипів наведена в підписі до рис. 2.

Таким чином, отримані результати дають підставу вважати, що використання одиничних промірів або індексів тіла, або їх комплексу не дають можливості розмежувати види і біотики, причому навіть у випадках окремих попарних порівнянь. Іншими словами, навіть у вибірці щипівок, взятої в одному місці і в один час, міжгрупова морфометрична мінливість, яка відображає особливості пропорцій і розміри тіла, носить прихований характер. Це означає, що географічний фактор, якщо і нівелює морфологічні відмінності видів, однак його ефект в цьому разі незначний і їм можна знехтувати.

У результаті проведеного дослідження також можна стверджувати, що дійсно щипівки роду *Cobitis* – це та група організмів, до якої реально може бути застосоване поняття «види-двійники». Традиційно вважається [12], що така трактовка до близьких видів багато в чому є умовною, оскільки видів, які в принципі неможливо відрізнити за морфологічними ознаками не існує, і відповідно термін вид-двійник швидше відображає не об'єктивні реалії, а вивченість об'єктів. Однак у випадку зі щипівками можна вважати, що це той рідкісний випадок, коли поняття вид-двійник, все ж таки, відображає реальну ситуацію.

Висновки

1. Міжгрупова мінливість ознак, що відображають розміри і форму тіла щипівок різних видів та біотипів, навіть в межах однієї вибірки, має криптичний характер
2. Географічний мінливість не є фактором, що реально маскує відмінності видів і біотипів в узагальнених вибірках, що зібрані з різних частин ареалів.

Література

1. Межжерин С.В., Гарбар А.В., Власенко Р.П., Онищук И.П., Коцюба И.Ю., Жалай Е.И. Эволюционный парадокс партеногенетических дождевых червей. Киев: Наукова Думка, 2018. 232 с.
2. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. Москва: Наука. 1985. 299 с.
3. Межжерин С. В., Павленко Л. И. Щиповки (Cypriniformes: Cobitidae: Cobitis) водоемов Украины: генетические границы видов и естественная гибридизация. Науковий вісник Ужгородського універ. Сер. біол. 2009. Вип. 25. С. 146-154
4. Межжерин С.В., Павленко Л.И. Генетическое разнообразие, происхождение и закономерности распространения полиплоидных щиповок (Cypriniformes, Cobitidae, Cobitis) в пределах Украины. Цитология и генетика. 2010. Т. 44. № 5. Р. 65-77
5. Kotusz J. Intra- and interpopulation morphological variability in diploid and varied-ploidy Cobitis from Poland. //Folia Zoologica. 2000. 49 (Suppl. 1): 219–226
6. Kotusz J. Morphological relationships between polyploidy hybrid spined loaches of the genus Cobitis (Teleostei: Cobitidae and their parental species. Ann. Zool. 2008. V.58. N4. P. 891-905.
7. Межжерин С.В., Павленко Л.И. Генетическая структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок Cobitis (Cypriniformes, Cobitidae) Низовий Дуная. Цитология и генетика. 2007. Т.41, №1. С.56-65.
8. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). 4-е изд. Москва: Пищевая промышленность, 1966. 374 с.
9. Mitteroecker P., Bookstein F. Linear discrimination, ordination, and the visualization of selection gradients in modern morphometrics. Evol. Biol. 2011. V.38. P. 100-114.
10. Team R. C. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL 2017. <https://www.R-project.org/>.
11. Schlager S. Morpho and Rvcg – Shape Analysis in R. In Zheng G., Li S. and Szekely G. (eds.), Statistical Shape and Deformation Analysis, 2017. pp. 217-256. Academic Press)
12. Майр Э. Зоологический вид и эволюция. Москва: Мир. 1968. 456 с.

References

1. Mezhzherin S.V., Garbar A.V., Vlasenko R.P., Onishchuk S.P., Kotsyuba I.Yu., Zhalay E.I. (2018) Evolutionary paradox of parthenogenetic earthworms. Kiev: Naukova dumka, 232. (in Rus.).
2. Vasilyev V.P. (1985). Evolutionary caryology of fish. Moscow: Nauka. 299. (in Rus.).
3. Mezhzherin S.V., Pavlenko L.I. (2009). The spined loaches (Cypriniformes: Cobitidae: Cobitis) of Ukraine basins: genetical borders of species and natural hybridization. *Naukoviy visnyk Uzhgorod [Univ Scientific herald of Uzhgorod University.]*, Ser. biol. 25. 146-154 (in Rus.).
4. Mezhzherin S.V., Pavlenko L.I. (2010) Genetic diversity, origin and distribution tendencies of polyploidy spined loaches (Cypriniformes, Cobitidae, Cobitis) within Ukraine. *Tsitologia i genetika*. 44 (5), 65-77 (in Rus.).
5. Kotusz J. (2000). Intra- and interpopulation morphological variability in diploid and varied-ploidy Cobitis from Poland. *Folia Zoologica*, 49 (1), 219–226.
6. Kotusz J. (2008) Morphological relationships between polyploidy hybrid spined loaches of the genus Cobitis (Teleostei: Cobitidae and their parental species. *Ann. Zool.* 58 (4). 891-905.
7. Mezhzherin S.V., Pavlenko L.I. (2007) *Genetic structure of diploid-polyploid spined loaches complex Cobitis* (Cypriniformes, Cobitidae) of the Lower Danube. *Tsitologia i genetic [Cytology and Genetics]*. 41 (1). 56-65. (in Rus.).
8. Pravdin I.F. (1966) Guide to the study of fish (mostly freshwater). Forth ed. Moscow: Pishchevaya promyshlennost, 374 p. (in Rus.).
9. Mitteroecker P., Bookstein F. (2011) Linear discrimination, ordination, and the visualization of selection gradients in modern morphometrics. *Evol. Biol.* 38. 100-114.
10. Team R. C. (2017) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
11. Schlager S. (2017) Morpho and Rvcg – Shape Analysis in R. In Zheng G., Li S. and Szekely G. (eds.), Statistical Shape and Deformation Analysis, pp. 217-256. (Academic Press)
12. Mayr E. Animal species and evolution. Belknap Press Harvard Univ. Cambridge, Massachusetts. 1966. 456 p.

Summary. Mezhzherin S. V., Ghazali M. A., Pavlenko L. I., Saliy T. V., Tsyba A. O. *Cryptical nature of morphometric variation in diploid-polyploid spined loach network (Cypriniformes, Cobitidae, Cobitis) of the Lower Danube*

Introduction. The paper devoted to morphometric variation investigation of spined loaches network from Lower Danube consisting of two parental species (*C. elongatoides*, *C. tanaitica*) and

three hybrid biotypes (C. 2 elongatoides -- C. tanaitica, C. elongatoides -- 2 tanaitica, C. elongatoides -- tanaitica) which identified by the allozymes

Purpose. *The purpose of the work was to verify the significance of the factor of geographic variability in determining the affiliation to different species and biotypes by means of morphometric indices.*

Methods. *It was used standard morphometry of the body form and size by means by 23 measurements and 26 indexes, multidimensional statistics (method of the main components) and unidimensional statistics.*

Results. *The obtained results prove that only 55% of females can correctly identify by means of the body measurements, while only 28% by the indexes. Despite the significant difference between most single characters, nonetheless, their application to distinguish between species and biotypes causes considerable difficulties, since in all cases of pairwise comparisons there are significant transgressions.*

Conclusion. *The use of individual measurements or body indices, or their complex, does not make it possible to distinguish between species and biotypes even within the same group. This means that the geographic factor, if it alters the morphological differences of species, but its effect in this case is very small and can be neglected.*

Keywords: *morphometry, multidimensional statistics, sibling-species, spined loaches, Cobitis*

Інститут зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України

Одержано редакцією 21.09.2018

Прийнято до публікації 25.10.2018