

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE
ZOOLOĢIJAS UN DZĪVNIEKU EKOLOĢIJAS KATEDRA

STEPES STRUPASTU GALVAS SMADZEŅU
MORFOMETRISKĀ MAINĪBA GUENTHERI GRUPĀ
(*ARVICOLINAE*, *SUMERIOMYS* APAKŠĢINTS)

Bakalaura darbs

Autors: Ļubova Baraškova

Stud. apl. Nr. lb16070

Darba vadītāji: Dr. biol.hab. asoc. prof. Tatjana Zorenko

Dr. biol., doc. Uģis Kagainis

Recenzents: Dr.biol. Indriķis Krams

RĪGA 2019

Saturs

| | |
|---|----|
| Ievads..... | 5 |
| 1. Literatūras pārskats..... | 6 |
| 1.1 Taksonomija..... | 6 |
| 1.2 Morfometrija..... | 8 |
| 1.3 Ģeometriskā morfometrija..... | 9 |
| 1.3.1 Procrustes ANOVA..... | 11 |
| 1.3.2 Kanonisko variāciju analīze (CVA)..... | 11 |
| 1.3.3 Diskriminējošu funkciju analīze (DFA)..... | 12 |
| 2. Metodes..... | 13 |
| 2.1 Strupastu smadzeņu paraugu sagatavošana..... | 13 |
| 2.2 Fotografēšana..... | 13 |
| 2.3 Fotogrāfiju apstrāde..... | 14 |
| 2.4 Mērīšana..... | 17 |
| 2.5 Datu analīze..... | 18 |
| 3. Rezultāti..... | 20 |
| 3.1 Strupastu galvas smadzeņu ģeometriskā morfometrija..... | 20 |
| 3.1.1 Dzimuma atšķirības..... | 20 |
| 3.1.2 Strupastu taksonu atšķirības..... | 21 |
| 3.2 Lineārā morfometrija..... | 27 |
| 3.2.1 Dzimuma ietekme uz galvas smadzeņu parametriem..... | 27 |
| 3.2.2 Galvas smadzeņu masa un lineārie izmēri..... | 27 |
| 4. Diskusija..... | 30 |
| 6. Patiecības..... | 34 |
| 7. Literatūras saraksts..... | 35 |
| Pielikumi | |

Kopsavilkums

Šī darba mērķis ir galvas smadzeņu diverģences izpēte pēc to lieluma un ģeometriskās formas trim strupastu "*guentheri*" grupas taksoniem ar lineārās un ģeometriskās morfometrijas metožu izmantošanu. Iegūtie dati rāda, ka dzimuma faktors neietekmē izpētīto taksonu smadzeņu lineāros parametrus un formu, kas liecina par dzimuma atlasē vāju iedarbību uz morfoloģisko pielāgojumu veidošanos un smadzeņu uzbūves mainību.

Tiek atrastas būtiskas atšķirības strupastu galvas smadzeņu absolūtā un relatīvā masā (cefalizācijas indekss): vismazākā tā tiek atzīmēta *M. guentheri*, lielāka *M. hartingi*, bet savā starpā *M. h. hartingi* un *M. h. lydius* populācijas ievērojami diverģē. Visi lineārie mērījumi trim taksoniem arī būtiski atšķiras.

M. hartingi pasugas atšķiras ar smadzeņu augstumu, bet suga *M. guentheri* no *M. hartingi* atšķiras gan ar augstumu, gan ar platumu un garumu. Visgarākais pusložu laterālais garums ir konstatēts *M. h. lydius*, tālāk pēc dilstošas secības iet *M. h. hartingi* un *M. guentheri*. Iegūtie dati norāda uz to, ka *M. guentheri* diverģence ir dziļāka (16 parametri), kas acīmredzot saistīts ar šīs sugas senāku izolāciju ar kalnu grēdu "Anatolijas diagonāli". *M. hartingi* populāciju izolācija notika vēlāk ar Bosfora jūras šaurumu, tāpēc atšķirību smadzeņu uzbūvē ir nedaudz mazāk (11 parametri),

Galvas smadzeņu ģeometriskas deformācijas tiek konstatētas visos taksonos. Kanonisko variāciju analīze parādīja, ka visi trīs taksoni būtiski atšķiras cits no cita, gan pēc laterālā skata, gan pēc dorsālā. Salīdzinot taksonu DFA laterālo skatu noteikts, ka *M. h. hartingi* puslodes un smadzenītes ir paplašinātas no augšas, bet *M. h. lydius* ir mazas ožas sīpoli. Pēc dorsālskata DFA *M. h. hartingi* ir nedaudz garākas ožas sīpoli, nekā *M. h. lydius*. *M. guentheri* smadzenīšu puslode un tārps ir platāki nekā *M. hartingi* pasugam.

Atslēgvārdi: ģeometriskā morfometrija, lineārā morfometrija, galvas smadzenes, strupaste, *Microtus guentheri*, *M. hartingi lydius*. *M. h. hartingi*.

Summary

The purpose of this work is to investigate the divergence of the brain by its size and geometric shape of three vole's taxa of "*guentheri*" group with linear and geometric morphometric. The obtained data show that the sex as a factor does not affect the linear parameters and brain's shape of the studied taxa, which indicates a weak effect of the sex on morphological adaptation and variability of the brain structure in the selection process.

Significant differences in the absolute and relative mass of the brain (cephalization indices) are found: the smallest one for *M. guentheri* is noted, greater for *M. hartingi*. The indices of the *M. hartingi* and *M. h. lydius* populations are noticeably diverged. The linear measurements of the investigated taxa also differ significantly. The subspecies *M. hartingi* differ in the brain height as well as *M. guentheri* and *M. hartingi* species differs in height, width and length of the brain. The lateral length of the hemisphere in *M. h. lydius* is longest, followed by *M. h. hartingi* and in the *M. guentheri* the length is smallest.

The obtained data indicate that the divergence of *M. guentheri* is deeper (16 parameters), which is obviously related to the older isolation of this species by the mountain range "Anatolian diagonal". The isolation of the *M. hartingi* population occurred later by the Bosphorus Strait, so the difference in brain structure is slightly less (11 parameters).

Geometric deformities of the brain in all taxa are found. Analysis of canonical variations showed that all three taxa differ significantly, both laterally and dorsally. Comparing the taxa DFA lateral view are found differences in brain form, *M. h. harting* cerebellum hemisphere and brains hemisphere are expanded from above, while *M. h. lydius* have a small olfactory bulbs. By dorsal view DFA *M. h. harting* have a slightly longer olfactory bulbs than *M. h. lydius*. *M. guentheri* cerebellum hemisphere and worm are wider than the *M. hartingi*.

Keywords: geometric morphometry, linear measurements, vole, brain, *M. guentheri*, *M. h. hartingi*, *M. h. lydius*.

Ievads

Zīdītāju galvas smadzenes ir dažādu aktivitātes pazīmju rādītājs. Tās atspoguļo dzīvnieku pielāgošanās spēju vides apstākļiem, barošanās specializāciju, maņu orgānu attīstību un pārvietošanās (lokomocijas) specifiskumu. Galvas smadzenes ir izpētītas daudzām zīdītāju sugām (Беленков, Горева 1969; Стрельников 1970; Курепина 1981; Войно 1994; Зоренко, 2013), taču salīdzinoši maz pētījumu ir veltīts tuvu radniecisko sugu un ģinšu grupai (Коваленко 1982; Зоренко, Дубро, 2000). Galvas smadzeņu ārējās struktūras mērījumus izmanto funkcionālajā morfoloģijā (Яскин, 1989), kā arī sistemātikā (Zorenko, Dubro, 2004; Зоренко, 2013). Morfoloģiskās evolūcijas ātrums bieži aizsteidzas molekulāru, kas var būt saistīts ar pielāgojumu veidošanos kontētiem ekoloģiskajiem apstākļiem un virzošās dabiskās atlases darbību. *M.hartinga* strupastes izplātīšanās vēsture un areāla veidošanās Eiropā liecina par populāciju pastāvēšanu areāla un biotopu fragmentācijas apstākļos (Kryštufek et al., 2018), kas var ietekmēt Eiropas populāciju īpatnības gan morfoloģijā, gan uzvedībā.

Līdz šim galvas smadzeņu ārējās struktūras izpētē izmantoja tikai lineāro morfometriju, bet šī metode ne vienmēr korekti parāda struktūras atšķirības, un tādā veidā notiek svarīgas informācijas zudums. Pēdējos desmit gados ģeometriskās morfometrijas metodi sāka plaši izmantot grauzēju un kukaiņēdāju taksonomijā (Павлинов, 2002; Barčová, 2009; Sánchez et al., 2013; Городилова, Васильева, 2014; Войта и др., 2014). Ģeometriskā morfometrija (GM) ir kvantitatīvo un grafisko metožu kopums, kurš ļauj salīdzināt dažādas bioloģisko objektu formas (galvaskausus, žokļus, spermatozoīdus, kaulus, augu lapas, bezmugurkaulnieku struktūras u.c.), neņemot vērā to lielumu (Barčiová, 2009).

Darba mērķis: izpētīt morfoloģiski *Sumeriomys* apakšģints sugu galvas smadzenes, lai noteiktu “*guentheri*” grupas apstrīdamo sugu taksonomisko statusu un tās filoģenētiskās saites.

Darba uzdevumi:

1. Veikt strupastu smadzeņu lineāro morfometriju.
2. Veikt strupastu galvas smadzeņu ģeometriskās morfometriju.
3. Izpētīt dzīvnieku dzimuma ietekmi galvas smadzeņu parametriem.

Darba hipotēze: ģeometriskās morfometrijas metode var precīzāk noteikt atšķirības starp “*guentheri*” grupas taksoniem salīdzinot ar lineāro morfometriju un palīdzēt atrast filoģenētiskās saites starp taksoniem.

1. Literatūras pārskats

1.1 Taksonomija

Neskatoties uz to, ka strupastes ārēji izskatās līdzīgas pelēm, strupastes pieder pie kāmjū dzimtas (*Cricetidae*) nevis pie peļu (*Muridae*). Arvicolinae apakšdzimtas strupastes ir evolucionāri jauna grauzēju grupa, kura aizņem lielu areālu un iekļauj lielu sugu skaitu. Katru gadu tika veikti jauni DNS pētījumi, tāpēc dažām strupastu sugām bieži mainās taksonomiskais statuss (Kryštufek et al. 2009).

Uz šo brīdi uzskata, ka strupastu ģintī *Microtus* ir divas apakšģintis *Microtus* un *Sumeriomys* (Abramson & Lissovsky 2012). Šīm apakšģintīm ir dažāds dzīvesveids un atšķirīgi biotopi, piemēram *Microtus* apakšģints pārsvarā apdzīvo pļavu biotopus, bet *Sumeriomys* apakšģints pārstāvji galvenokārt lokalizējas stepju biotopos (Зоренко 2013). Pie *Microtus* apakšģintīm pieder *Microtus arvalis*, *M. kirgisorum*, *M. transcasicus* un *M. rossiaemeridionalis*, bet *Sumeriomys* apakšģints ir sadalīta divās sugu grupās “*socialis*” un “*guentheri*” (Ellerman, Morrison-Scott 1951). Zima & Kral (1984) uzskata, ka “*guentheri*” grupa pieder pie *Microtus* nevis pie *Sumeriomys* apakšģints, bet ģenētiski molekulārie mitohondriāla citohroma *b* pētījumi atspēko to (Kryštufek et al. 2009). *M. guentheri*, *M. hartingi*, *M. dogramaci* un *M. gazviensis* sugas pieder “*guentheri*” grupai, bet *M. socialis*, *M. paradoxus*, *M. irani*, *M. schidlovskii* un *M. anatolicus* sugas “*socialis*” grupai.

Izraēlas teritorijā *M. guentheri* dzīvoja kopš vēlā vidēja pleistocēna, t.i., pēdējo 120 tūkst. gadu laikā (Tchernov 1996). Vēl pirms 10 gadiem uzskatīja, ka pie “*guentheri*” grupas pieder viena politipiska suga *M. guentheri* ar kariotipu $2n = 54$ (Golenishchev et al. 2002), kura bija plaši izplatīta ne tikai Anatolijā, bet arī Izraēlā un Libānā, Irānas ziemeļrietumu daļā, Sīrijā un Āfrikā (Громов, Ербаева, 1995; Musser, Carleton 2005; Kryštufek & Vohralik, 2005). Pēc ģenētiski molekulāriem pētījumiem ar *mt-cyt b* mārķera izmantošanu izrādījās, ka Austrumanatolijā dzīvo *M. guentheri*, bet Rietumanatolijā un Eiropā (Trāķijā) - *Microtus hartingi* Barret-Hamilton, 1903 (Jaarola et al., 2004; Kryštufek et al., 2009, 2012; Thanou et al., 2012). Sugas izplatīšanos uz rietumiem aizkavēja augsta kalnu grēda "Anatolijas diagonāle" (1.att).

Microtus hartingi dzīvo centrālajā un Rietumanatolijā un Balkānos. *M. hartingi* sastāv no dažām pasugām: *M. hartingi strandzensis* (Bulgārija, Eiropas Turcija), *M. h. hartingi* (Grieķijā) un *M. h. lydius* (rietumu Turcija) (Громов, Поляков 1978).

Vēlajā pliocēnā pirms 2 mlj gadiem izveidojušies divi jūras šaurumi: Dardaneļu un Bosfora (Çağatay et al. 2000; Yaltrak et al. 2000), populācijas no Trāķijas un Rietumanatolijas bija ilgus gadus izolētas. Daži autori uzskata, ka šaurumu izveidošanās dēļ, bija pārtraukta gēnu plūsma starp Āziju un Eiropu, un šī izolācija veicināja jaunu sugu veidošanos (Yiğit et Çolak 2002; Yiğit et al. 2012).



1. attēls. *Guentheri* grupas taksonu atrašanas vietas. Ar kvadrātiem atzīmētas populācijas: dzeltens – Rodopes (*M. h. hartingi*), sarkans – Trāķija (*M. h. strandzensis*), zaļš – Rietumanatolija (*M. h. lydius*), zils - Dienvidaustrumu Anatolija (*M. guentheri*). Ar līnijām ir uzziņētas izolācijas cēloņi: melna – Anatolija diagonāle, oranža – Bosfora šaurums, violeta – Marīcas upe.

Figure 1. *Guentheri* group taxon locations. With squares are marked populations: yellow - Rodopes (*M. h. hartingi*), red - Thrace (*M. h. strandzensis*), green - Western Anatolia (*M. h. lydius*), blue - Southeast Anatolia (*M. guentheri*). With lines are marked the causes of isolation: black - Anatolian diagonal, orange – Bosphorus narrow, purple – Maritsa river.

Balstoties uz dažām ārējām pazīmēm, kā, piemēram, muguras krāsas atšķirība un bakuluma forma, vairāki autori ierosināja, dienvidaustrumu populācijas uzskatīt par Rietumanatolijas endēmisko sugu *M. lydius*, kas atšķiras no dienvidaustrumu Trāķijas *M. hartingi* (Bulgārija un Eiropas Turcija) (Yiğit et Çolak 2002; Yiğit et al. 2010; Yiğit et al. 2012; Markov et al. 2014). Arī Rietumanatolijas un Trāķijas tēviņiem bija atklātas atšķirības spermatozoīdu lineāriem mērījumiem (Zorenko & Golenishchev 2015), un starp populācijām bija noteiktas citoģenētiskas atšķirības (Zima et al. 2013). Hibrīdu īpatņiem no Anatolijas un Trāķijas ir augsts sterilitātes līmenis. Hibrīdi no F1 paaudzes ir diezgan dzīvotspējīgi un var vairoties, bet viņu pēcnācēji bieži

nav dzīvotspējīgi, subletālie, pussterilie vai sterilie. Hibrīdu pēcnācējiem notiek auglības samazināšanās un hibrīdu izmiršana (hybrid breakdown) (Zorenko et al. 2016). Šādu parādību var izskaidrot ar neveiksmīgu rekombināciju hibrīdizācijas laikā starp diviem taksoniem.

Arī pēc molekulāriem pētījumiem bija atrastas atšķirības starp Anatolijas un Trāķijas strupastu populācijām. Noteikts, ka nukleotīdu daudzveidība trijos gēnos (*mt-co1*, *mt-cyb*, *12S rRNA*) *M. hartingi* no Trāķijas ir ļoti zema, bet *M. guentheri* no Rietumanatolijas ir augsti rādītāji. Strupastēm no Eiropas ir vairāk klusējošu mutāciju un šo parādību izskaidro ar to, ka Eiropā mīt perifēriskas populācijas (Cetintürk, 2018).

1.2. Morfometrija

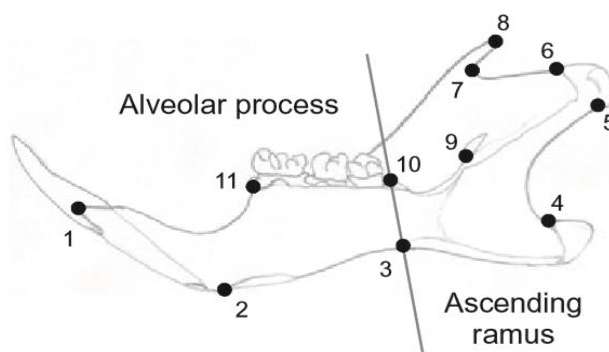
Morfometrija ir kvantitatīvais pētījums, saistīts ar bioloģisko mainību, formas mainību un formas kovariācijas kopā ar citiem biotiskiem un abiotiskiem faktoriem. Morfometrijas izmantošana ir izdevīga gadījumā, ja pētījums ir saistīts ar salīdzinošo morfoloģiju t.i sistemātiku, evolūciju un attīstības bioloģiju (Webster, Sheets, 2010). Metode kalpo kā metodoloģiskais pamatelements, kura rezultāta tiek iegūsta informācija par telpiskām saitēm starp anatomiskiem orientieriem (Barčiová 2009).

Biežāk nodala trīs morfometrijas pamatveidus, kuri atšķiras ar analizējamo datu veidu. Klasiskā (vai tradicionālā) morfometrija var iekļaut sevi garuma un platumā mērīšanu, leņķu mērīšanu un to korelācijas analīzi: viendimensionālo analīzi (starp viena veida mērījumiem) vai daudzdimensionālo analīzi (starp diviem un vairākiem veida mērījumiem) (Webster, Sheets, 2010). Arī varbūt izmērīti tilpums un masa. Vienīga tradicionālās morfometrijas problēma ir tā, ka precīzi izmērīt tilpumu vai aprēķināt organu laukumu ir grūti, jo piemēram, vairogdziedzerim, hipofīzei un liesai ir skaidrs konturs, bet lai izmērītu sirds, plaušu vai aknu parametrus ir jāpieturās stingram reglamentam. Taču lineārie dati labi attēlo organu palielināšanos vai lieluma mainību, kas varbūt saistīts ar patoloģijām, un dažkārt tie dati ir vairāk informatīvi (Автандилов, 1990). Pārējās divas morfometrijas metodes ir saistītas ar ģeometriju: ģeometriskā morfometrija, kura pamatā ir orientieri (*angl.* landmarks) un ģeometriskā morfometrija, kura pamatā ir konturs.

1.3. Ģeometriskā morfometrija

Galvenais ģeometriskās morfometrijas uzdevums ir kvantitatīvais raksturojums un atšķirību analīze starp morfoloģisko objektu formām, neņemot vērā to izmēru. Ģeometriskās morfometrijas metode iekļauj sevī dažādu formu parametru fiksēšanas matricas, saglabā izmērus vektoru formā un ļauj vizualizēt formas izmaiņas. Izmantojot šo metodi, ir iespējams atrast atbildes uz vispārējiem ekoloģijas un evolūcijas jautājumiem par pētījuma objekta formu. Dažādu dzīvnieku grupu salīdzināšanu var veikt tikai tad, ja aprēķināšanas laikā visi atkarīgie īpatņi no šīs grupas ir iekļauti vienā izvēlnē (Barčiová 2009). Piemēram, reģistrējot korelāciju starp galvaskausa formu izmaiņām divām peļu sugām: *Mus musculus* un *M. Domesticus*, izdevās efektīvi atšķirt sugas (Auffray et al. 1996) un pat *M. domesticus* hromosomu rases (Corti, Rohlf 2001).

Ģeometriskā morfometrija, kurā pamatā ir orientieri, summē formas no orientieru konfigurācijas skatpunkta (anatomisko punktu diskrētas atrašanās vietas, kas ir attēlotas uz divdimensionālas vai trīsdimensionālas Dekarta koordinātu asīm). Biežāk izmanto 2D, jo šādi ir vieglāk attēlot rezultātus grafikos. Lai uzlikt divdimensionālus orientierus uz digitālo attēlu, kā ir parādīts 2. att, var izmantot bezmaksas palīgprogrammas, tādas kā: tpsDig, ImageJ vai ScionImage.



2. attēls. Vienpadsmit orientieri uz klaidoņpeles *Apodemus* apakšžokļa un divi galvenie apakšžokļa reģioni; alveolārais izaugums (alveolar process), augošais zars (ascending ramus) (Barčiová 2009).

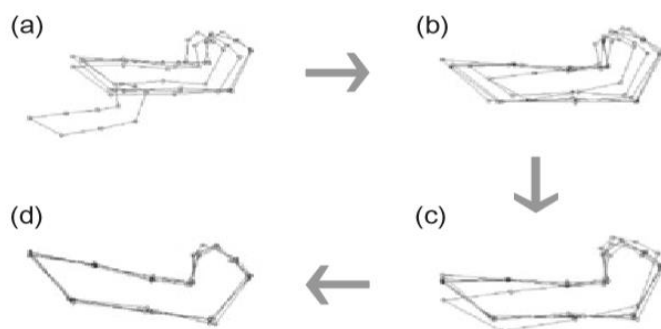
Figure 2. Location of 11 landmarks on the lingual side of an *Apodemus* mandible and two main mandibular regions (Barčiová 2009).

Liekot orientierus, ir jāievēro ne tikai to daudzums un veids, bet jāņem vērā arī daži faktori. Pirmkārt, katram orientierim ir jābūt uzliktam anatomiski homoloģiskā vietā un tā, lai katrā parauga attēlā tā būtu skaidri redzama (Webster, Sheets, 2010). Gadījumos, kad orientieri ir jāuzliek, bet nav skaidri redzamo anatomisko īpašību, var likt tā saucamus starppunktus vai

starporientierus (*angl.* semilandmarks). Tos liek starp īstiem orientieriem ar skaidrām īpašībām (Павлинов, Микешина, 2002). Otrkārt, ir vēlams maksimāli pārklāt parauga struktūru, ņemot vērā paraugkopas un paraugu lielumus. Treškārt, attēliem un orientieriem ir jābūt kvalitatīvi digitalizētiem (paplašinājums ar augstu kvalitāti). Četrkārt, priekš 2D datiem orientieriem ir jābūt komplanāriem un ir jāatrodas vienā plaknē (Webster, Sheets, 2010).

Pēc orientieru uzlikšanas ir jānodala objekta izmēra dati no objekta formas datiem un ir jānodzēš izmaiņas, jo datu vākšanas laikā var atšķirties paraugu punktu atrašanās vietas (Barčiová 2009). Lai to panākt bieži izmanto minimālo kvadrātu metodi (Prokrustes). Objektu tiek koncentrēti orientieru gravitācijas centrā (masas centrā), optimāli pagriezti un mērogoti, lai samazinātu kvadrāta attālumu summu starp attiecīgajiem orientieriem (3. att.).

Tiek veikta rotācija (3. att.) salīdzinājumā pret etalona objektu (Barčiová 2009). Visa iepriekšēja darba rezultātā tiek iegūtas objekta koordinātas, ko tālāk apstrādā ar dažādām statistiskām metodēm, piemēram, kanonisko variāciju analīzi (*angl.* CVA - canonical variates analysis) (Городилова, 2014). Ģeometriskās morfometrijas metode, kurā pamatā ir kontūras, summē atklātas vai slēgtas līknes, kas būtībā ir perimetrs un parasti tam līknēm nav fiksēto orientieru (Webster, Sheets, 2010). Izņemot pirmo un pēdējo orientierus, kurus ir jāfiksē noteiktā vietā un tie, pēc būtības, būs īstie orientieri. Tāpat ir jāievēro uzlikto punktu skaitu, jo tām ir jābūt vienādam. Paraugi tiek salīdzināti nevis pēc atsevišķiem orientieriem, bet pēc orientieru secības, kas veido kontūru (Павлинов, Микешина, 2002).



3. attēls. Prokrustes pārklāšanās soļi, kas ilustrēti uz *Apodemus sylvaticus* un *A. flavicollis* pieciem apakšžokļiem: a) neapstrādāti dati; b) dati pēc pārvietošanas; (c) mērogošana; (d) rotācija (Barčiová 2009).

Figure 3. The steps of Procrustes superimposition illustrated on the example of five mandibles of *Apodemus sylvaticus* and *A. flavicollis*: (a) raw data; (b) data after translation; (c) scaling (d) rotation (Barčiová 2009).

Visām trim morfometrijas metodēm, gan tradicionālai, gan divām ģeometriskām ir daudz kopīga un orientierus var izmantot kā sākotnējus datus visām metodēm. Ģeometriskā morfometrija ir ērta un populāra metode, jo datus ir informācija par telpiskām sakarībām starp orientieriem organismā. Tas dod iespēju zīmēt morfoloģiskas transformācijas grafikus un diagrammas, kā arī vizualizēt telpiskās formas mainību. Šādu grafisko attēlojumu ir vieglāk saprast, nekā tabulu ar skaitļiem (Webster, Sheets, 2010).

1.3.1 Procrustes ANOVA

Procrustes ANOVA (*angl.* ANalysis Of VAriance) ir dispersijas metode, kas kvantitatīvi raksturo variāciju daudzumu dažādos līmeņos un novērtē izlecošās vērtības paraugkopas variācijā (Klingenberg 2015). Metode ir līdzīga t-testam, taču ļauj salīdzināt trīs vai vairāku grupu vidējās vērtības.

1.3.2 Kanonisko variāciju analīze (CVA)

Kanonisko variāciju analīze nosaka vai ir iespēja statistiski atšķirt iepriekš definētas grupas, pamatojoties uz daudzfaktoru datiem (Webster, Sheets, 2010), kā arī ļauj statistiski pārbaudīt vai grupas tiešām ir diferencētas (Selçuk et al., 2018). Tā dod iespēju kopējā morfoloģiskajā telpā (vienā attēlā) vizualizēt katru izpētītā taksona paraugus un pierādīt morfoloģiskās struktūras atšķirību stabilitāti un būtiskumu (Barçiová 2009). CVA ir daudzdimensionālā metode, kas meklē datu lineārās deformācijas, kuras palielina starpgrupu novirzi attiecīgi pret iekšgrupas dispersiju (Klingenberg 2011; Rohlf 2016). Kanoniski mainīgie nav korelēti un vektori nav ortogonāli kā galveno komponentu analīzē (PCA), kurā tiek izmantoti ortogonāli vektori un īpatņi tiek sagrupēti pamatojoties uz variāciju visos paraugos (Webster, Sheets, 2010).

CVA rezultāti tiek attēloti kā ordinācija, kas rada īpatņu grupas variāciju. Dati ordinācijās attēlā ir izkārtoti pēc to objektu izkliedes summas paraugkopas telpā. Vieglākai informācijas uztveršanai ordinācijā tiek pielietoti ticamības elipses. Elipse iezīme nejauši izvēltus datus no paraugkopas, kuras ir izvietotas pa ordināciju ar noteiktu varbūtību. Citiem vārdiem sakot - tā ir elipse, kas ietver daļu no datu punktiem, kas atbilst uzstādītai varbūtībai. Piemēram, ja uzstādītais varbūtības koeficients ir 0,9, tad elipse satur 90% no visām koordinātēm un katram punktam ir varbūtība 0,9 iekļūst elipsē (Klingenberg 2011; Rohlf 2016). Analīzes statistiskiem pamatojumiem tika izmantoti daži matemātiskie attālumi, tādi kā Prokrusta attālums un Mahalanobisa attālums. Prokrusta attālums nosaka metriku Kendalla formas telpai, bet Mahalanobisa attālums ņem vērā mainīgo lielumu dispersiju un korelāciju, mērot attālumus starp punktiem, jeb meklē vektoru

virzienu atšķirības. Lai parādīt attālumu būtību, analīzē ir iekļauts permutācijas tests, kas aprēķina to p-vertību.

1.3.3 Diskriminējošu funkciju analīze (DFA)

Diskriminējošu funkciju analīze (*angl.* Discriminant function analysis) pēta atšķirības starp grupām: kā tie atdalās viena no otras. Grupām ir jābūt zināmām a priori. Atšķirībā no CVA, šī analīze var salīdzināt tikai divas grupas (Klingenberg 2011; Rohlf 2016). DFA skaitās kā klasiskā daudzdimensionāla statistikas metode un tiek izmantota dažādos pētījumos. Izmantojot DFA ir jāievero orientieru skaitu, jo, gadījumā ja paraugkopa ir salīdzinoši maza, bet orientieru ir daudz, analīzei tiek novērota tendence pārvērtēt pētītas grupas atšķirības. Tāpēc, ir jāparbauda statistisko datu p-vērtības. DFA automātiski iekļauj sevī divas statistiskās vērtības: Prokrusta attālums un T-kvadrāts (līdzīgs Mahalanobisa attālumam). Analīze attēlo rezultātus kā konfigurāciju, uz kuras ir uzzīmētas divas deformētas kontūras, kas vizualizē formu atšķirības starp grupu vidējām vērtībām. Starpība starp formām ir attēlota kā pāreja no pirmās uz otru (Klingenberg 2011; Rohlf 2016).

2. Metodes

2.1. Strupastu smadzeņu paraugu sagatavošana

M. guentheri pirmās paaudzes īpatņi tika notverti Turcijā, Türkoğlu/Kahramanmaraş (6 dibinātāji), *M. h. lydius* - Kirsehir apkārtnē (Turcija, 10 dibinātāji), bet *M. h. hartingi* – Bulgārijā, Rodopu kalnos (10 dibinātāji). Galvas smadzenes tika ņemtas no reproduktīviem tēviņiem un mātītēm, mērīšana tika veikta laika periodā no 2017. gada decembra līdz 2019. gada februārim.

Kopumā tika sagatavoti 60 smadzeņu paraugi (1. tabula). Galvaskauss ar smadzenēm tika likts neitrālā 10% formalīnā (uz 15 dienām). Pēc tam smadzenes tika izņemtas no galvaskausa un fiksējas formalīnā.

1. tabula.

Strupastu sugas un dzīvnieku skaits, kuriem tika pētītas galvas smadzenes.

Table 1

Number and taksons of voles, which brain was obtained.

| Taksona nosaukums | Mātīšu skaits | Tēviņu skaits |
|-----------------------|---------------|---------------|
| <i>M. h. lydius</i> | 12 | 12 |
| <i>M. h. hartingi</i> | 12 | 12 |
| <i>M. guentheri</i> | 4 | 8 |

2.2 Fotografēšana

Fotografēšanai tika izmantots stereo mikroskops Leica MSV266, attiecīgā programma datorā *LAS v 4.1.0* kombinācijā ar šķiedru optikas gaismas avotu EUROMEX. Pirms fotografēšanas, galvas smadzenes tika atlasītas: tika atstātas tikai nebojāti preparāti, bez būtiskiem redzamiem defektiem. Tika nofotografēts 31 smadzeņu paraugs (2. tabula). Izņemtas no formalīna smadzenes 5 minūšu laikā istabas temperatūrā tika nosusinātas uz filtpapīrā, lai fotogrāfijā nebūtu redzama no slapja parauga atstarotā gaisma. Paraugs tika novietots uz putuplasta plāksnes ar padziļinājumu, lai novērstu parauga ripošanu, un nofotografēts 0,65 palielinājumā, nepieciešamais fokusa asums tika attiecīgi regulēts ar mikroskrūvi. Smadzenes tika fotografētas divās projekcijās: dorsāli un laterāli. Fotografēšanas laikā tika veikta izmēru kalibrēšana, izmantojot mikrometra kalibrācijas stiklu (©: Leica Microsystems) un visām fotogrāfijām tika veikta mēroga nogriežņa pievienošana, balstoties uz kalibrēšanas rezultātiem. Fotogrāfijas tika saglabātas .tif formātā un, lai atvieglotu paraugkopu atlasīšanu pēc bilžu nosaukumiem turpmākas darbības ar dažādam

programmām, failiem tika piešķirti nosaukumi ar vienādu zīmju skaitu un iekodētu nozīmi, piemēram, 01_lydi_late_male_667, kur “01” ir attēla kārtas numurs, “lydi” ir pasugas *M. h. lydius* saīsinājums, “late” ir laterālās projekcijas saīsinājums, “male” ir dzimuma apzīmētājs (no angļu valodas – “tēviņš”) un “667” ir strupastes īpatņa kārtas numurs.

2. tabula.

Strupastu sugas, pasugas un dzīvnieku skaits, kuriem tika pētītas galvas smadzenes ar ģeometriskās morfometrijas metodi. Iekavās - īpatņu, kas tika izslēgtas no turpmākas analīzēs lielās izkliedes dēļ, skaits (visi īpatņi no laterālā skat paraugkopās).

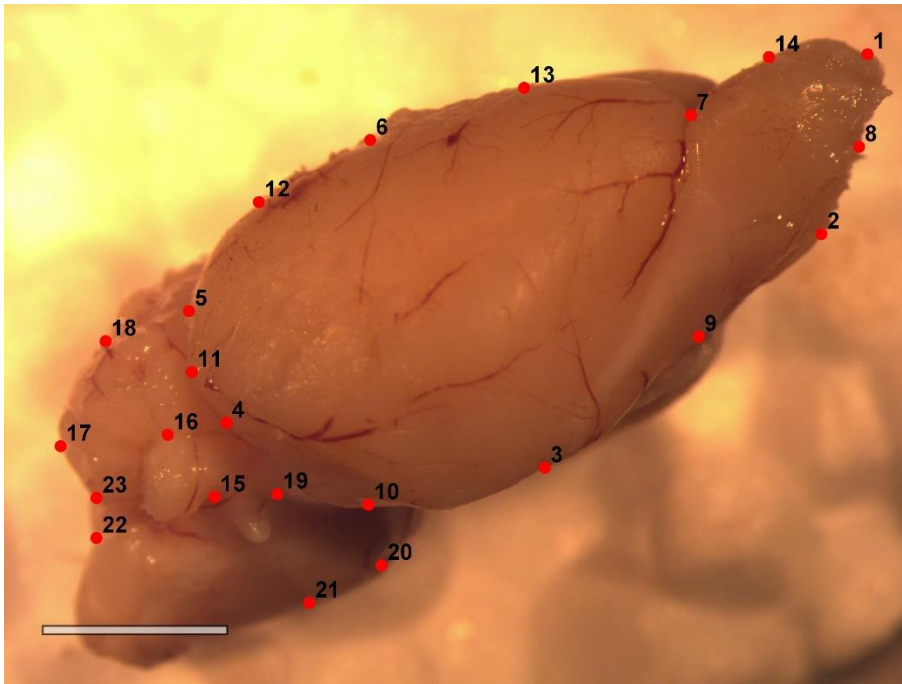
Table 2

Number and taksons of voles, which brain was obtained with geometric morphometry method. In brackets, the number of specimens, which was excluded from further analysis due to the large dispersion (all specimens from sample with lateral view).

| Taksona nosaukums | Mātišu skaits | Tēviņu skaits |
|-----------------------|---------------|---------------|
| <i>M. h. lydius</i> | 6 | 6 (1) |
| <i>M. h. hartingi</i> | 6 (2) | 7 (2) |
| <i>M. guenteri</i> | 3 (1) | 3 |

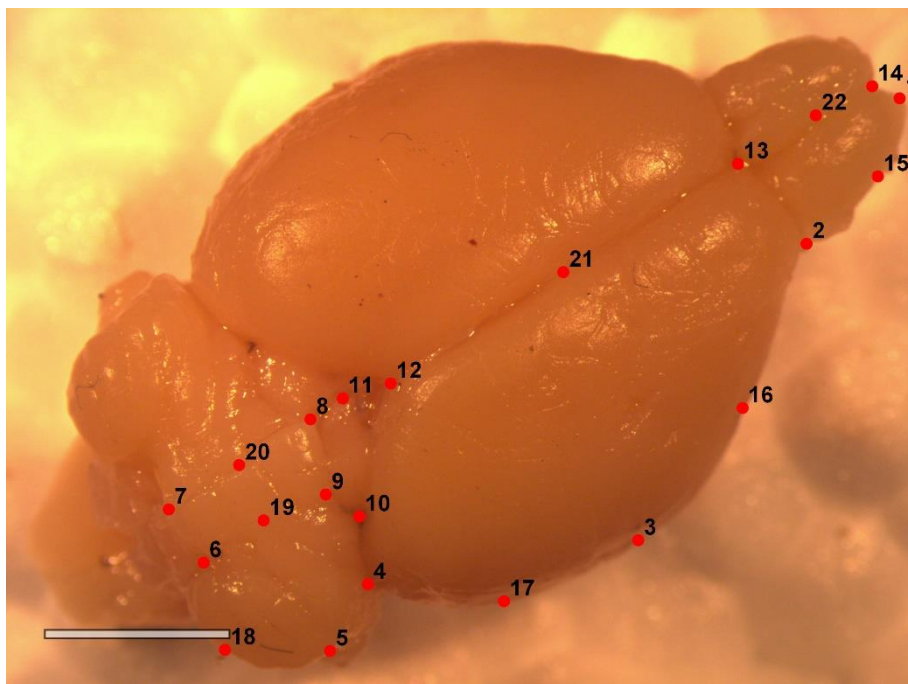
2.3 Fotogrāfiju apstrāde

Iegūtas bildes tika digitāli apstrādāti, izmaiņot kontrastu un gaišumu, lai būtu labi redzama visa galvas smadzeņu virsma un tās nodalījumi. Lai būtu iespēja izveidotus attēlus lietot ģeometriskās morfometrijas datu apstrādes programmās, attēliem arī tika izmainīts paplašinājuma formāts. Lai pārveidot .tif formātu uz .tps un izveidot paraugu sarakstu noteiktā kartībā, tika izmantota programma tpsUtil32 (Rohlf 2016). Tālāk .tps faili tika ievietoti ielādētā programmā tpsDig32, kur uz katras bildes tika atzīmēti punkti, jeb orientieri un starporientieri (*landmarks and semilandmarks*). Atzīmējot katru orientieri un starporientieri, bija stingri jāpieturas pie protokola (3. tabula), lai katrs punkts būtu atzīmēts anatomiski pareizā vietā. Bildēs ar laterālu skatu no labas pusēs, kopumā tika uzliktas 23 orientieri (4. att.), bet bildēs ar dorsālu skatu - 22 orientieri (5. att.). Dorsālskatā tika izmantota tikai viena smadzeņu puse – laba (Klingenberg 2011).



4. attēls. Orientieru uzlikšanas vietas (laterāli) (attiecīgo numuru atrašanās vietas raksturojumu skat. 3. tabulā) Mēroga nogrieznis 5mm.

Picture 4. Landmarks and semilandmarks location (dorsal) (see Table 3. for the location of the relevant numbers). Scale cutter 5mm.



5. attēls. Orientieru un starporientieru uzlikšanas vietas (dorsāli) (attiecīgo numuru atrašanās vietas raksturojumu skat. 3. tabulā). Mēroga nogrieznis 5mm.

Figure 5. Landmarks and semilandmarks location (dorsal) (see Table 3. for the location of the relevant numbers). Scale cutter 5mm.

3. tabula.

Orientieru atrašanās vietas raksturojums (* - starporientieri)

Table 3.

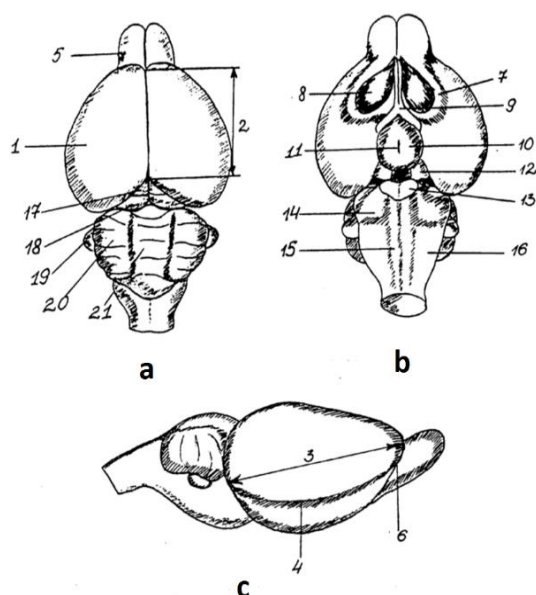
Landmark location characteristics (* - semilandmarks)

| Orientiera Nr. | Laterāls skats | Dorsāls skats |
|----------------|---|--|
| 1 | ožas sīpolu gals | ožas sīpolu gals |
| 2 | ožas sīpola krustojšanās punkts ar ožas ceļu | ožas sīpola krustojšanās punkts ar puslodi |
| 3 | pusložu viduspunkts no apakšas | pusložu viduspunkts no apakšas |
| 4 | pretējais punkts pirmajam punktam uz centralasi | smadzenīšu krustojšanās punkts ar puslodi |
| 5 | smadzenīšu augšējais krustojšanās punkts ar puslodi | smadzenīšu mala no apakšpusēs |
| 6 | pusložu viduspunkts no augšas | tārpa krustojšanās punkts ar kreiso smadzenīšu puslodi |
| 7 | ožas sīpola krustojšanās punkts ar puslodi | tārpa krustojšanās punkts ar labo smadzenīšu puslodi |
| 8 | viduspunkts starp 1. un 2. punktu* | tārpa augšējais krustojšanās punkts ar četrkalnes aizmugurējiem uzkalniem |
| 9 | viduspunkts starp 2. un 3. punktu* | tārpa apakšējais krustojšanās punkts ar četrkalnes aizmugurējiem uzkalniem |
| 10 | viduspunkts starp 3. un 4. punktu* | smadzenīšu krustojšanās punkts ar četrkalnes aizmugurējiem uzkalniem |
| 11 | viduspunkts starp 4. un 5. punktu* | četrkalnes aizmugurējo uzkalnu augšpunkts |
| 12 | viduspunkts starp 5. un 6. punktu* | pusložu krustojšanās punkts |
| 13 | punkts starp 6. un 7. punktu* | abu pusložu un ožas sīpolu krustojšanās punkts |
| 14 | viduspunkts starp 7. un 1. punktu* | ožas sīpolu krustojšanās punkts |
| 15 | paraflokulusa apakšēja piestiprināšanās vieta pie smadzenītēm | punkts starp 1. un 2. punktu* |

| | | |
|----|--|---------------------------------|
| 16 | paraflokulusa augšēja piestiprināšanās vieta pie smadzenītēm | punkts starp 2. un 3. punktu* |
| 17 | smadzenīšu mala no kreisas pusēs | punkts starp 3. un 4. punktu* |
| 18 | smadzenīšu mala no augšpusēs | punkts starp 5. un 6. punktu* |
| 19 | smadzenīšu krustošanās punkts ar iegarenām smadzenēm | punkts starp 6. un 9. punktu* |
| 20 | trapeceveida ķermeņa sākumpunkts | punkts starp 7. un 8. punktu* |
| 21 | trapeceveida ķermeņa galapunkts | pusložu viduspunkts no augšas |
| 22 | smadzenīšu tārpa redzamas daļas apakšpunkts | punkts starp 13. un 14. punktu* |
| 23 | smadzenīšu tārpa redzamas daļas augšpunkts | |

2.4. Mērīšana

Smadzenes pēc izņemšanas no formalīna un nosusināšanas 5 minūšu laikā tika nosvērtas uz elektroniskiem svāriem ($\pm 0,01$ mg). Ar elektronisko bīdmēru ($\pm 0,1$ mm) tika mērīts smadzeņu un to nodalījumu garums, platums un augstums. Tika mērītas smadzenīšu puslodes un tārps, ožas sīpoli, lielo pusložu mediālais un laterālais garums, trapeceveida ķermenis, tilts jeb Varolija tilts (6.att.). Tika mērīts paraflokulusa rādiuss, kā arī pusložu garums bez paraflokulusiem un ar tiem. Lai izmērītu garumu un platumu gan priekšējiem, gan aizmugurējiem četrkalniem, smadzeņu puslodes tika atdalītas ar skalpeli un nosvērtas ar torsijas svāriem (BT – 500, d=1 mg, 1989), tas pats tika darīts ar nākamām smadzeņu daļām. Pēc tam, tika atdalītas un nosvērtas ožas sīpoli, smadzenītes un izņemtais no abām puslodēm hipokamps *hippocampus* (Зоренко, 2013).



6. attēls. Strupastu smadzeņu uzbūves shēma un galvenie nodalījumi: a – skats dorsāli, b - skats ventrāli, c - skats no laterālas puses; 1 - smadzeņu puslodes, 2 – puslodes mediālais garums, 3 – puslodes laterālais garums, 4 – rināla rievā, 5 - ožas sīpoli, 6 - ožas vāga 7 - ārējais ožas ceļš, 8 - ožas paugurs, 9 – redzes ceļa krustojums, 10 – pelēkais paugurs, 11 – hipotalāma piltuve, 12 - smadzeņu stumbrs, 13 – Varolija tilts, 14 - trapecveida ķermenis, 15 – piramīdas, 16 - iegarenās smadzenes, 17 – četrkalnes priekšējie uzkalni, 18 – aizmugurējie uzkalni 19 – paraflokulusi, 20 - smadzenīšu puslodes, 21 - smadzenīšu tārps.

Figure 6. A brain structure and its parameters in voles: a - dorsal view, b- ventral view, c - lateral view; 1 - cerebral hemisphere, 2 - hemispheres medial length, 3 - hemispheres lateral length, 4 - rhinal gyrus, 5 - olfactory bulbs, 6 - external olfactory tracts, 7- olfactory gyrus, 8 - olfactory tubercles, 9 - optic chiasm, 10 - tuber cinereous, 11 - hypothalamus, 12 - cerebral peduncles, 13 - pons varolii, 14 - trapezoid body, 15 - striate parapyramidales, 16 - medulla oblongata, 17 - optical tubercles, 18 - acoustical tubercles of corpora quadrigemina, 19 - flocculonodular lobes, 20 - cerebellum hemisphere, 21 – vermis.

2.5 Datu analīze

Lineāras morfometrijas aprēķinu un grafiku veidošanai bija izmantota programma MS Excel 2016. Datu analīzei tika ņemti strupastu galvas smadzeņu parametri, kuriem ir redzamas dzimuma un sugas atšķirības. Tabulā (2. pielikums) ir datu vidējais aritmētiskais ar aprēķinātu vidēju kvadrātisko kļūdu. Lai parbaudīt vidējo vērtību būtiskumu, arī tika aprēķināts T-studenta koeficients.

Datu analīzei tika izmantota ģeometriskās morfometrijas datu apstrādes programma MorphoJ (Klingenberg 2011; Rohlf 2016), kurā tika ielādētas .tps faili un tika izveidotas divas paraugkopas: viena ar laterāliem paraugiem, otrā ar dorsāliem. Pēc tam tika veikta analīze (*find outliers*), ar kuru palīdzību tika atrastas izlecošās vērtības (konkrēti orientieri vai strupastu īpatņi). Lielās izkliedes dēļ, no paraugkopas ar laterālu skatu tika anulēti 6 īpatņi, 3 no tiem tēviņi un 3 mātītes. No dorsālas paraugkopas analizējot izkliedi, tika pieņemts lēmums nodzēst 1. un 14. orientieru punktus nevis īpatņus, jo tiem punktiem bija būtiskā izkliede visā paraugkopā (Klingenberg 2011; Rohlf 2016).

Pirmā no veiktām analīzēm smadzeņu formas atšķirību noteikšanai bija Procrustes ANOVA, kas radīja vai atšķirības starp dzimumiem un taksoniem ir būtiskas, vai ir vērts turpināt pētījumu un izmantot citas analīzes (Klingenberg 2015).

Pēc tam tika veiktas CVA un DFA. Katrai paraugkopai analīzes bija veiktas divas reizes - pirmā lai atrast formu atšķirības (jeb deformācijas) starp dzimumiem, un otra lai atrast atšķirības starp dažādām pasugām. CVA iegūtie rezultāti ir attēloti divos veidos: punktveida diagrammā ar ticamības elipsēm, kurā dati tiek izkārtoti divās kanoniskajās asīs, un tabulā ar statistiskiem datiem. DFA iegūtie rezultāti arī ir attēloti divos veidos: deformēta kontūra zīmējumā (*angl.* warped outline drawing) un tabulā ar statistiskiem datiem. Deformēto kontūra zīmējuma vizualizēšanai, gan laterālā paraugkopā, gan dorsālā, tika atrasti vispiemērotākie īpatņi, kuras novietojums diagrammā ar elipsēm bija tuvs tā centram. To īpatņu .tps failā tika uzzīmētas kontūras tpsDig32 programmā (*angl.* curve) (Klingenberg 2011; Rohlf 2016). Lai pārbaudīt CVA un DFA deformācijas statistisko būtību, tika izmantoti sekojošie indeksi: Mahalanobisa attālums, Prokrusta attālums un to attālumu permutācijas tests (p-vērtība).

3. Rezultāti

3.1 Strupastu galvas smadzeņu ģeometriskā morfometrija

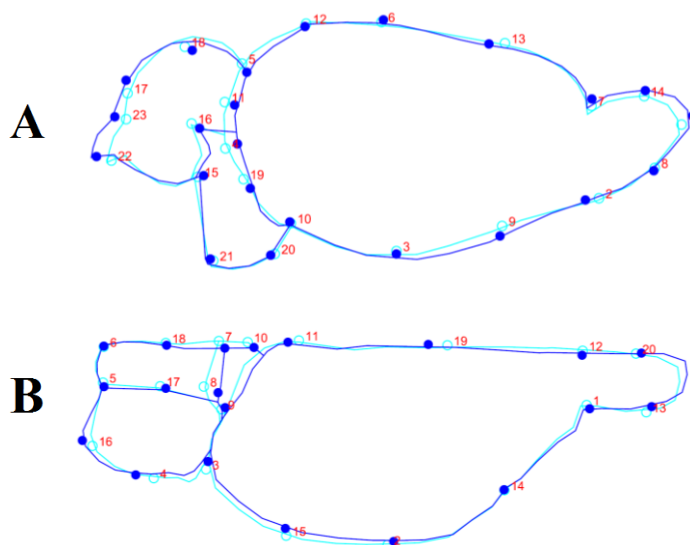
3.1.1 Dzimuma atšķirības

Procrustes ANOVA analīze parādīja, ka laterālskatas formas atšķirības starp dzimumiem nav būtiskas ($p=0,7891$), bet dorsālskata ir būtiskas ($p=0,0228$).

Pēc CVA statistiskiem datiem dzimuma atšķirības ir būtiskas tikai pēc Mahalanobisa attāluma (laterāla $p=0,0001$, dorsāla $p=0,0001$), bet Prokrusta attāluma p -vērtības ir pārāk lielas (laterāla $p=0,5825$, dorsāla $p=0,2971$) (4. tabula.).

Pēc DFA statistiskiem datiem dzimuma atšķirības nav būtiskas, uz to norāda gan Mahalanobisa attāluma p -vērtība (laterāla $p=0,5690$, dorsāla $p=0,4360$), gan Prokrusta attāluma p -vērtības (laterāla $p=0,5550$, dorsāla $p=0,3010$) (4. tabula). Skatoties uz DFA konfigurāciju (7. att.), arī ir redzams, ka atšķirības nav izteiktas.

Apkopojot visus rezultātus, var teikt, ka atšķirības starp strupastu dzimumiem pēc smadzeņu formas nav izteiktas un būtiskas.



7. attēls. Strupastu dzimuma atšķirības pēc smadzeņu formas, kas balstītas uz smadzeņu laterālskatā (A) un dorsālskatā (B) DFA (gaiši zila kontūra – mātītes, zila - tēviņi). Deformācijas pakāpe - 2.

Figure 7. Voles' sex differences in brain form, which are based on DFA of brain lateral (A) and dorsal (B) view (light blue – female, blue - male). Scale factor - 2.

4. tabula. Dzimuma CVA un DFA rezultāti smadzeņu laterālajam un dorsālajam skatam salīdzinot visu taksonu datus.

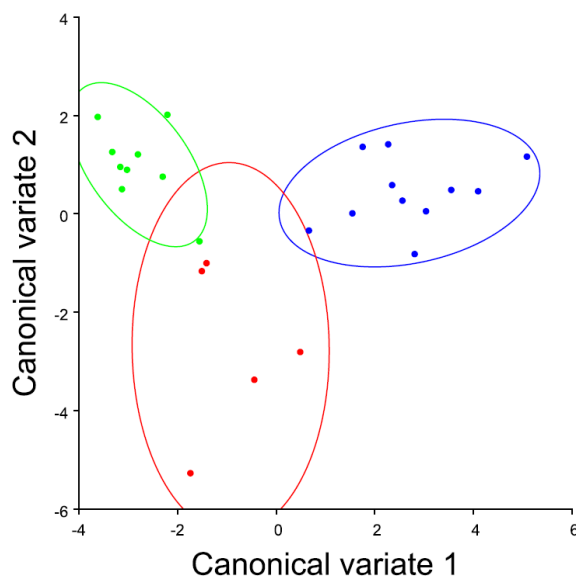
Table 4. Sex CVA and DFA results for lateral and dorsal view of the brain, comparing the data of all taxa.

| Statistiskas vērtības | CVA | | DFA | |
|----------------------------------|---------------|---------------|--------------|-------------|
| | Laterālskats | Dorsālskats | Laterālskats | Dorsālskats |
| Mahalanobisa attālums | 2,5656 | 2,8448 | 2,5656 | 2,8448 |
| P-vertība Mahalanobisa attālumam | 0,0001 | 0,0001 | 0,5690 | 0,4360 |
| Prokrusta attālums | 0,0244 | 0,0239 | 0,0244 | 0,0239 |
| P-vertība Prokrusta attālumam | 0,5825 | 0,2971 | 0,5550 | 0,3010 |

3.1.2 Strupastu taksonu atšķirības

Procrustes ANOVA analīze parādīja, ka laterālskatas formas atšķirības starp taksoniem ir būtiskas ($p < 0,0001$).

CVA, kura bija veikta smadzeņu laterālam skatam redzams, ka visas trīs grupas ir labi nodalītas. Īpaši labi ir redzamas atšķirības starp *M. h. lydius*, *M. h. hartingi* no *M. guentheri* (8. att.).



8.attēls. CVA ordinācijā laterālskātām: zaļš - *M. h. hartingi*, zils – *M. h. lydius*, sarkans – *M. guentheri*; elipsoīdu ticamības intervāls - 0,9.

Fig. 8. CVA ordination for lateral view: green - *M. h. hartingi*, blue - *M. h. lydius*, red - *M. guentheri*; probability level – 0,9.

CVA Mahalanobisa attāluma un Prokrusta attāluma permutācijas tests rada, ka atšķirības starp *M. h. hartingi* un *M. guentheri* ($p=0,0013$ un $p=0,0537$), un starp *M. h. lydius* un *M. h.*

hartingi ir statistiski būtiskas ($p < 0,0001$ un $p = 0,0002$) (5. tabula). Pirmā kanoniska ass (Canonical variate 1) izskaidro 76,3% atšķirību, bet otra ass (Canonical variate 2) izskaidro 23,7% (8. att.).

5. tabula. Sugu CVA rezultāti smadzenes laterāliskatam.

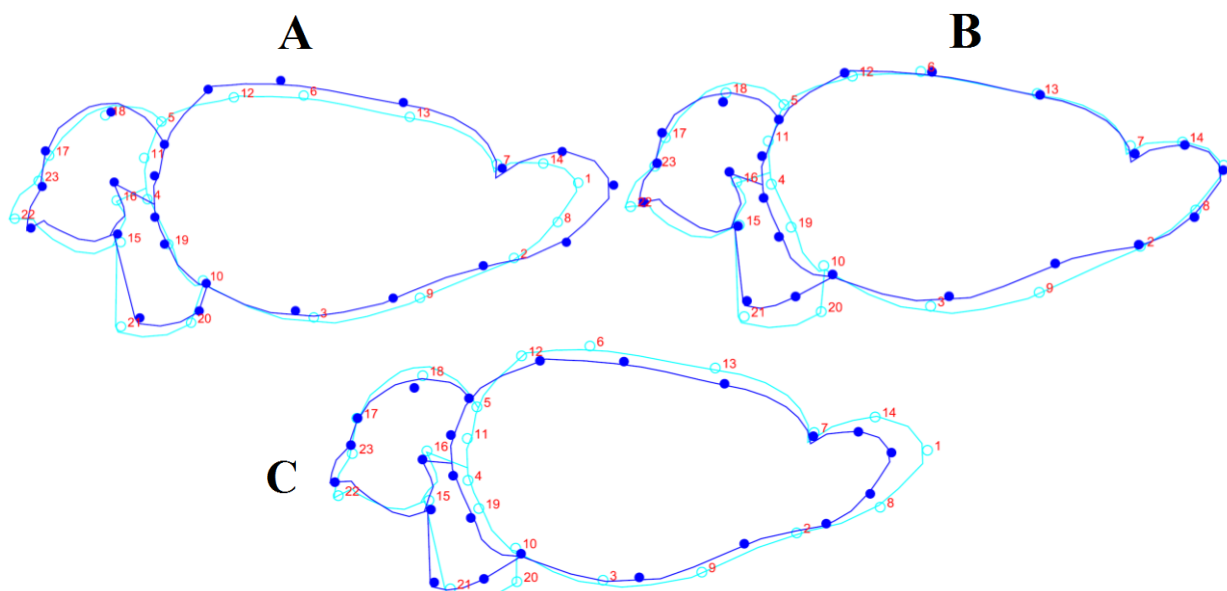
Table 5. Species CVA results for brains lateral view.

| Taksona nosaukums | Statistiskās vērtības | <i>M. h. hartingi</i> | <i>M. h. lydius</i> |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------|
| <i>M. guentheri</i> | Mahalanobisa attālums | 4,1625 | 4,7956 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | 0,0013 | 0,0003 |
| | Prokrusta attālums | 0,0516 | 0,036 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | 0,0537 | 0,1274 |
| <i>M. h. hartingi</i> | Mahalanobisa attālums | | 5,5188 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | | <0,0001 |
| | Prokrusta attālums | | 0,0592 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | | 0,0002 |

6. tabula. Sugu DFA rezultāti smadzenes laterālam skatam.

Table 6. Species DFA results for brains lateral view.

| Taksona nosaukums | Statistiskās vērtības | <i>M. h. hartingi</i> | <i>M. h. lydius</i> |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------|
| <i>M. guentheri</i> | Mahalanobisa attālums | 3,5977 | 3,1416 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | 0,0290 | 0,0330 |
| | Prokrusta attālums | 0,0521 | 0,0360 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | 0,0630 | 0,1070 |
| <i>M. h. hartingi</i> | Mahalanobisa attālums | | 4,6827 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | | 0,0020 |
| | Prokrusta attālums | | 0,0592 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | | <0,0001 |



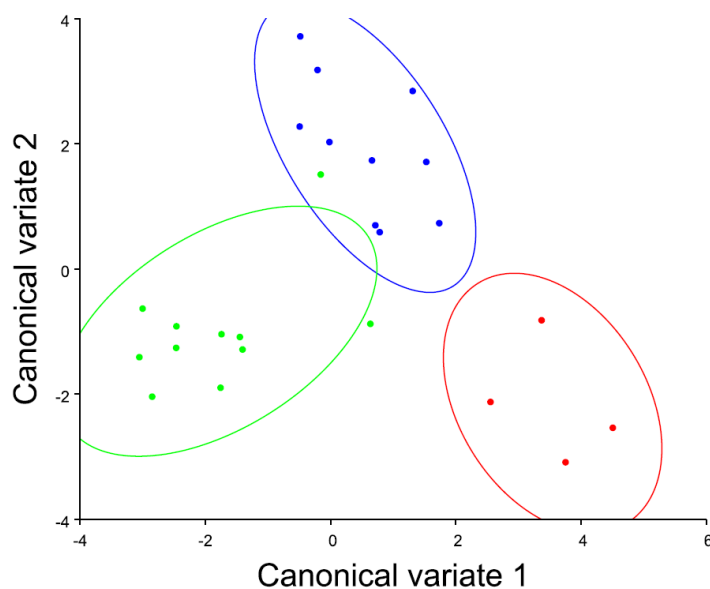
9. attēls. Strupastu taksonu atšķirības pēc smadzeņu formas, kas balstītas uz smadzeņu laterālskatā DFA (A) *M. guentheri* (gaiši zils) un *M. h. hartingi* (zils), (B) *M. guentheri* (gaiši zils) un *M. h. lydius* (zils), (C) *M. h. hartingi* (gaiši zils) un *M. h. lydius* (zils). Deformācijas pakāpe - 2.

Figure 9. Voles' taxa differences in brain form, which are based on DFA of brain lateral view (A) *M. guentheri* (light blue) and *M. h. hartingi* (blue), (B) *M. guentheri* (light blue) and *M. h. lydius* (blue), (C) *M. h. hartingi* (light blue) and *M. h. lydius* (blue). Scale factor - 2.

DFA laterālskata deformācijas zīmējumā (9. att.), mēs varām apskatīt galvas smadzenes pēc tā augstuma un garuma deformācijas paraugkopā un salīdzināt cik ir atšķirīgas smadzeņu forma dažiem taksoniem.

M. guentheri smadzenes puslodes ir vairāk saplacinātas (12, 6, 13 orientieri) nekā *M. h. hartingi* (9A.att.), bet salīdzinot ar *M. h. lydius* (9B. att.), deformācija šajā vietā ir maz izteikta. Labi ir izteikta ārēja ožas ceļa forma (2., 9., 3. orientieri) *M. guentheri* tas ir vairāk iztaisnots. Salīdzinot *M. guentheri* ar abām pasugām, (9A. att., 9B. att.) redzams, ka Varolija tilts, trapecveida ķermenis (20., 21. orientieri) un smadzenītes (15., 22. orientieri) ir paplašinātas no apakšās (15., 22. orientieri). *M. guentheri* tārps ir pacelts uz augšu salīdzinājumā ar abām pasugām, bet ožas sīpoli ir mazāki, tikai salīdzinājumā ar *M. h. hartingi* (9A. att.). Atšķirību būtiskumu gan starp *M. guentheri* un *M. h. hartingi*, gan starp *M. guentheri* un *M. h. lydius* apstiprina arī DFA Mahalanobisa p-vērtība (6. tabula).

Pēc DFA statistiskiem datiem (6. tabula.) *M. hartingi* pasugas arī atšķiras savā starpā un atšķirības ir būtiskas. *M. h. hartingi* puslodes (12., 6., 13. orientieri) un smadzenītes (5., 18., 17. orientieri) ir paplašinātas no augšas, bet Varoliņa tilts un trapecveida ķermenis (20., 21. orientieri) no apakšas (9C. att). *M. h. lydius* ožas sīpoli (8., 1., 14. orientieri) ir salīdzinoši mazākas nekā *M. h. hartingi* (9C. att.).



10. attēls. CVA ordinācijā dorsālskatām: zaļš – *M. h. hartingi*, zils – *M. h. lydius*, sarkans – *M. guentheri*; elipsoīdu ticamības intervāls – 0,9.

Figure 10. CVA ordination for dorsal view: green - *M. h. hartingi*, blue - *M. h. lydius*, red - *M. guentheri*; probability level – 0,9.

Procrustes ANOVA analīze parādīja, ka dorsālskatas formas atšķirības starp taksoniem ir būtiskas ($p < 0,0001$).

CVA, kura bija veikta smadzeņu dorsālajam skatam ir redzams, ka visas trīs grupas skaidri atdalītas (10. att.), Mahalanobisa attāluma p -vērtības nepārsniedza 0,0001 visos trijos salīdzinājumā gadījumos, bet Prokrusta attāluma p -vērtības ir būtiskas tikai, salīdzinot sugas (7. tabula). Pēc pirmā kanoniska ass vairāk atšķiras *M. h. hartingi* no *M. guentheri*, bet pēc otra *M. h. lydius* no *M. guentheri*. Pirmā kanoniskā ass (Canonical variate 1) izskaidro 56,9% atšķirību, otrā ass (Canonical variate 2) izskaidro 43,1% (10. att.).

7. tabula. Sugu CVA rezultāti smadzeņu dorsālam skatam.

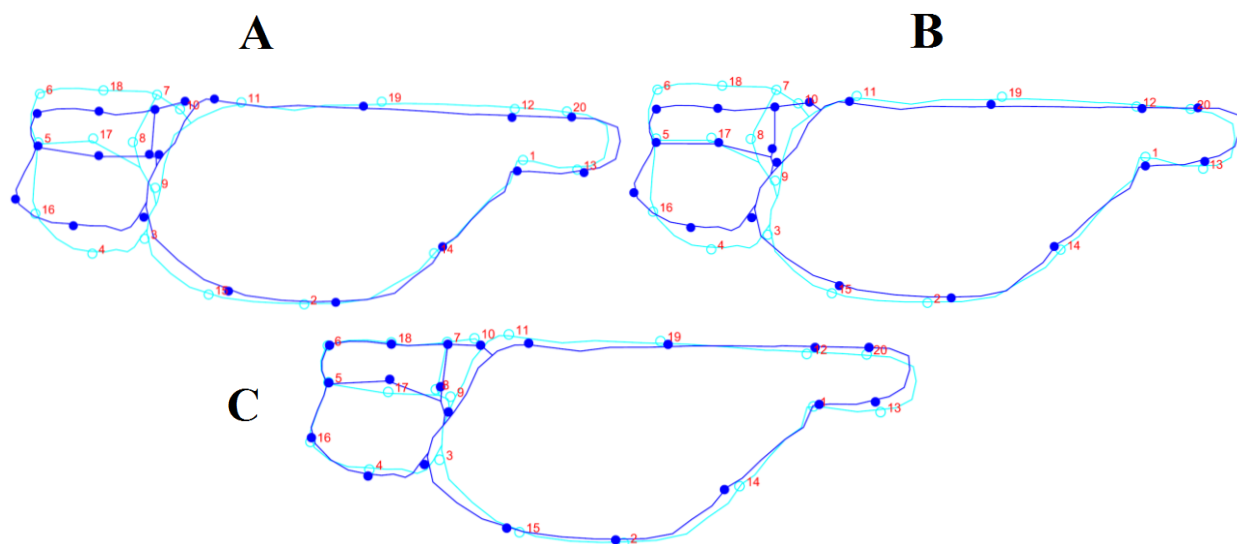
Table 7. Species CVA results for brains dorsal view.

| Taksona nosaukums | Statistiskās vērtības | <i>M. h. hartingi</i> | <i>M. h. lydius</i> |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------|
| <i>M. guentheri</i> | Mahalanobisa attālums | 5,4616 | 5,0696 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | <0,0001 | 0,0001 |
| | Prokrusta attālums | 0,0521 | 0,0431 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | 0,002 | 0,0311 |
| <i>M. h. hartingi</i> | Mahalanobisa attālums | | 3,7639 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | | 0,0001 |
| | Prokrusta attālums | | 0,0267 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | | 0,2486 |

8. tabula. Taksonu DFA rezultāti smadzeņu dorsālam skatam

Table 8. Taxa DFA results for brains dorsal view

| Taksona nosaukums | Statistiskās vērtības | <i>M. h. hartingi</i> | <i>M. h. lydius</i> |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------|
| <i>M. guentheri</i> | Mahalanobisa attālums | 4,1450 | 3,1786 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | 0,0020 | 0,0370 |
| | Prokrusta attālums | 0,0521 | 0,0431 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | 0,0030 | 0,0230 |
| <i>M. h. hartingi</i> | Mahalanobisa attālums | | 3,0896 |
| | P-vertība Mahalanobisa attālumam | | 0,1140 |
| | Prokrusta attālums | | 0,0267 |
| | P-vertība Prokrusta attālumam | | 0,2460 |



11. attēls. Strupastu taksonu atšķirības pēc smadzeņu formas, kas balstītas uz smadzeņu dorsālskātā DFA (A) *M. guentheri* (gaiši zils) un *M. h. hartingi* (zils), (B) *M. guentheri* (gaiši zils) un *M. h. lydius* (zils), (C) *M. h. hartingi* (gaiši zils) un *M. h. lydius* (zils). Deformācijas pakāpe - 2.

Figure 11. Voles' taxa differences in brain form, which are based on DFA of brain dorsal view (A) *M. guentheri* (light blue) and *M. h. hartingi* (blue), (B) *M. guentheri* (light blue) and *M. h. lydius* (blue), (C) *M. h. hartingi* (light blue) and *M. h. lydius* (blue). Scale factor - 2.

DFA dorsālskats deformācijas zīmējumā (11. att.), mēs varām apskatīt galvas smadzenes pēc tā platuma un garuma deformācijas paraugkopā un noteikt kā atšķiras smadzeņu forma starp taksoniem.

DFA statistiskie dati norāda uz to, ka sugas *M. guentheri* un *M. hartingi* atšķiras, bet *M. hartingi* pasugam atšķirības ir maz izteiktas un tikai Mahalanobisa p-vērtība norāda uz atšķirības būtiskumu (8. tabula). *M. h. hartingi* ir nedaudz garākas ožas sīpoli (20., 13. orientieri), nekā *M. h. lydius* un ir izmaiņas pusložu piestiprināšanas vietās pie smadzenītēm (9., 10., 11. un 3. orientieri). Tā kā pasugu galvas smadzeņu formas praktiski neatšķiras, rezultāta DFA deformācijas zīmējumos salīdzinot *M. guentheri* ar *M. h. hartingi* (11A. att.) un ar *M. h. lydius* (11B. att.) var redzēt, ka atšķirības ir līdzīgās. *M. guentheri* smadzenīšu puslode (3., 4., 16. orientieri) un tārpis (6., 18., 7. orientieri) ir platāki, bet ožas sīpoliem (20., 13. orientieri) un puslodēm (3., 15. orientieri) atšķirības nav tik izteiktas (11A. att., 11B. att.).

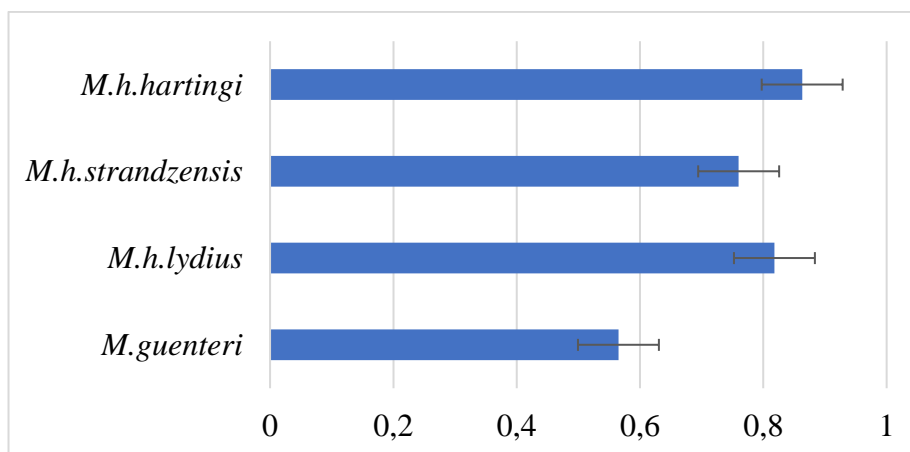
3.2 Lineārā morfometrija

3.2.1 Dzimuma ietekme uz galvas smadzeņu parametriem

Dzimuma ietekme uz smadzeņu garumu ir maz izteikta un nav būtiski izpētīta strupastu taksoniem pēc visiem lineāriem parametriem. Iegūtie rezultāti ļauj apvienot mātītes un tēviņus vienā paraugkopā, raksturojot taksona galvas smadzeņu izmērus.

3.2.2 Galvas smadzeņu masa un lineārie izmēri

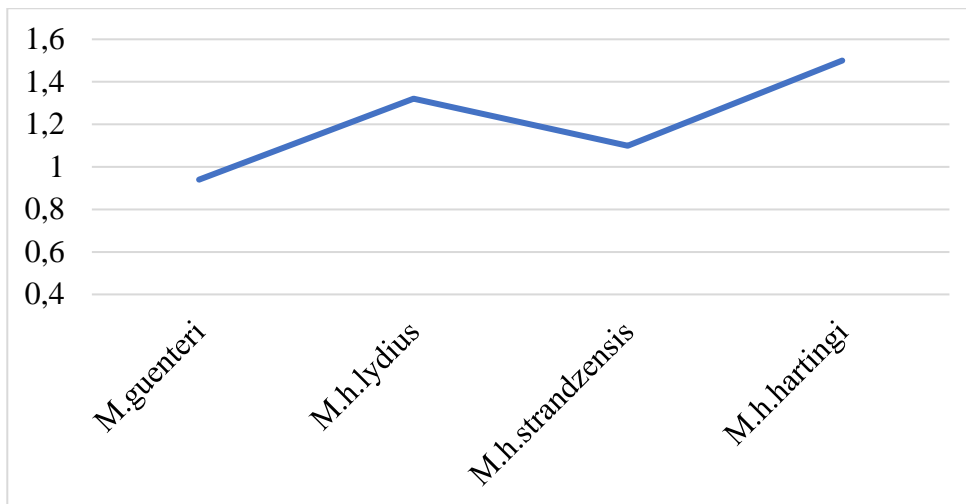
Trīs strupastu taksoni atšķiras pēc absolūtās galvas smadzeņu masas (12. att.), mazāka masa tiek atzīmēta *M. guentheri* – vidēji 0,298 g mazāka, nekā divām *M. hartingi* pasugām ($p < 0,001$). Būtiski atšķiras arī divu pasugu masa ($p < 0,001$).



12. attēls. Strupastu smadzeņu masa, g.

Figure 12. Vole's brain mass, g.

Cefalizācijas indekss svārstās no 0,013 līdz 0,0196 *M. hartingi* un no 0,007 līdz 0,011 *M. guentheri* (13. att.). *M. guentheri* un abas *M. hartingi* pasugas būtiski atšķiras pie $p < 0,001$ (13. att.).

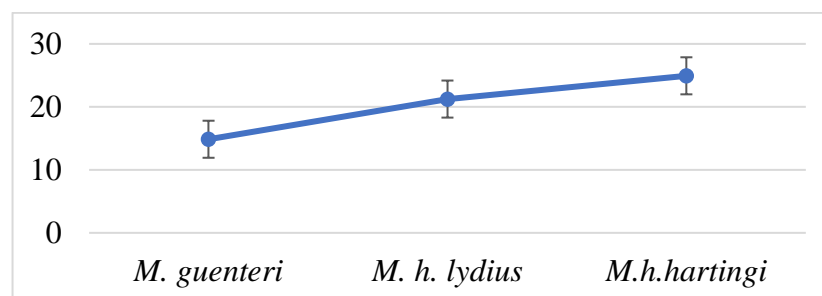


13. attēls. Strupastu cefalizācijas indekss (galvas smadzeņu svara kvadrāts attiecība pret ķermeņa svaru) četrām strupastu taksoniem.

Figure 13. Vole's cephalization quotient (brain square mass relation to body mass) for four vole's taxa.

M. guentheri īpatņi atšķiras pēc smadzeņu garuma, platuma un augstuma no *M. hartingi* smadzeņu parametriem ($p < 0,001$). Taksoniem *M. h. lydius* un *M. h. hartingi* garums un platums ir līdzīgs, bet augstums pirmajai pasugai būtiski zemāk nekā *M. h. hartingi* ($p < 0,05$).

Vislielākās ožas sīpoli tiek atzīmēti *M. h. hartingi*, mazākas *M. h. lydius* un vismazākās – *M. guentheri*, gan pēc masas, gan garuma un platuma ($p < 0,05-0,001$) (14. att.).

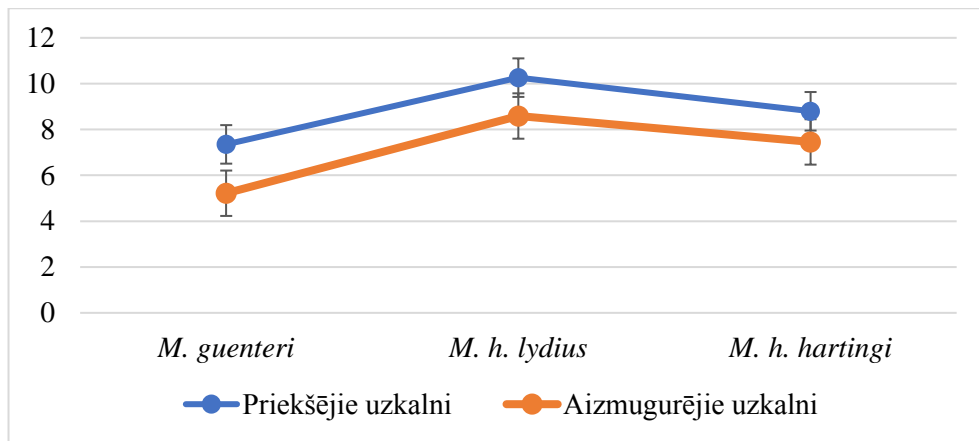


14. attēls. Ožu sīpolu masa trim strupastu taksoniem.

Figure 14. Mass of olfactory bulbs for three vole's taxa.

Būtiskās atšķirības tiek konstatētas visiem trim taksoniem pēc lielo pusložu laterālā un mediālā garuma ($p < 0,001$). Pie tam laterālais garums ir lielāks *M. h. lydius* salīdzinājumā ar *M. h. hartingi*. Pēc visiem parametriem vismazākās smadzenītes tika fiksētas *M. guentheri* ($p < 0,001$). Starp *M. h. lydius* un *M. h. hartingi* atšķirību nav.

Trīs taksonu četrkalne atšķiras pēc priekšējo un aizmugurējo uzkalnu garuma, platuma un laukumu ($p < 0,001$). *M. h. lydius* lielākā priekšējo uzkalnu laukums, nekā aizmugurējo (16,3%), tad *M. h. hartingi* – mazāks (15%) (15. att.).



15. attēls. Četrkalnes laukums trim strupastu taksoniem.

Figure 15. Area of the tubercles for three voles' taxa (blue line - optical tubercles; red line - acoustical tubercles)

4. Diskusija

Vēl nesēn Gintera strupasti, kurai ir liels areāls, uzskatīja par vienu sugu (Musser, Carleton 1993; Kryštufek, Vohralik, 2005). Taču molekulārie (Kryštufek et al., 2009, 2012) un morfoloģiskie (Yiğit, Çolak 2002; Yiğit et al. 2010, 2012; Markov et al. 2014; Zorenko, Golenishchev 2015) pētījumi parādīja būtiskās atšķirības starp izpētītām populācijām, ko veicināja to izolācija strupastu izplatīšanās periodā no izcelsmes centra un turpmāko areāla veidošanās. Molekulārie pētījumi norāda uz to, ka dienvietrietumu Āzija bija stepes strupastu apakšģints *Sumeriomys* šūpulis (Kryštufek et al. 2009), tieši šajā zonā šī grupa bija īpaši liela un šeit tika atrastas fosilijas no agrīna pleistocēna (Goren-Inbar et al. 2000) un vēlākajiem laikiem (Marder et al. 2011). Šajā reģionā notika strupastu *guentheri* grupas veidošanās (Yiğit et al. 2017). Senās populācijas (līdzīgas mūsdienu *M. h. lydius*) pārstāvji izplatījās uz austrumiem un tika izolēti ar Anadolijas Diagonāli. Šīs populācijas ilgstoša izolācija nodrošināja gan molekulāro, gan morfoloģisko atšķirību uzkrāšanu.

M. guentheri ievērojami atšķiras pēc galvas smadzeņu lineārajiem parametriem un formas no *M. hartingi*. Tā, *M. guentheri* būtiski atšķiras pēc smadzeņu un to daļu (ožas sīpoli, smadzenītes, lielās puslodes) masas no *M. hartingi*, kā arī pēc vairuma lineāro pazīmju. *M. guentheri* lineāru un masas parametru atšķirības ir skaidrojamas ar mazāku smadzeņu izmēru, pie tam ķermeņa izmērs neietekmē galvas smadzenes masu (korelācijas koeficients ir tikai 0,09). Korelācija starp ķermeņa un smadzeņu garumu - 0,48. Salīdzinot galvas smadzeņu parametrus trim *M. hartingi* pasugām (*M. h. lydius*, *M. h. hartingi*) un *M. h. strandzensis* (Zorenko, 2013), tika parādītas atšķirības pēc 16 rādītājiem (100%) (1. pielikums).

Ģeometriskās morfometrijas laterāla skata CVA diagramma parāda, ka visi trīs taksoni ir labi atdalīti un īpaši labi ir redzamas atšķirības starp sugām. Starp *M. guentheri* un *M. hartingi* tiek atzīmēts izteikts hiātus pēc galvas smadzeņu morfometrijas, *M. guentheri* ārējais ožas ceļš ir vairāk iztaisnots un tārs ir pacelts augšā. Iegūtie rezultāti ir saskaņā ar molekulāriem (Kryštufek et al. 2009) un filoģeogrāfiskiem datiem (Yiğit et al. 2017). Taksons *M. guentheri* ir ģeogrāfiski izolēts ar kalnu sistēmu – Anadolijas diagonāli, kura kļuvusi par svarīgu robežu un veicināja sugu veidošanos. Arī starp *M. hartingi* pasugām ir konstatētas diezgan izteiktas atšķirības galvas smadzeņu formā, īpaši smadzenīšu un ožas sīpolu nodalījumos.

Dorsāla skata CVA diagramma demonstrē, ka visi trīs taksoni ir labi atdalīti un pēc pirmās kanoniskās ass visvairāk atšķiras *M. h. hartingi* no *M. guentheri*, bet pēc otras kanoniskās ass vairāk atšķiras *M. h. lydius* no *M. guentheri*. *M. h. hartingi* un *M. h. lydius* elipsēm ir neliela sakrišanas vieta, bet statistiski pasugas būtiski atšķiras. *M. h. hartingi* pasugu atšķirības ir mazākās un galvas smadzeņu lineāru parametru atšķirības var skaidrot ar ģeometriskajām likumsakarībām.

Tādu hipotēzi piedāvā Jaskins un Leņeca (Яскин, Ленец 1996), apskatot dažādas smadzeņu garozas tipu savstarpējās attiecībās.

Vēl pasuga *M. h. hartingi* atšķiras no *M. h. lydius* ar lineāriem parametriem. Pirmai pasugai ir konstatētas vislielākās galvas smadzenes un ožas sīpoli. Smadzeņu garums un platums būtiski neatšķiras, taču augstums ir daudz zemāks. Arī ģeometriskā morfometrija parādīja, ka *M. h. hartingi* ir nedaudz garākas ožas sīpoli, nekā *M. h. lydius*. Iegūtie Procrustes ANOVA, CVA un DFA dati gan no laterālskata, gan no dorsālskata ļauj atspēkot nesen izvirzītu hipotēzi, ka Eiropā mīt tikai viena pasuga *M. h. hartingi* (Yiğit et al. 2017). Ir iespējams pieminēt vēl vienu pasugu *M. h. strandzensis*, kas ievērojami atšķiras no *M. h. hartingi*, bet nedaudz mazāk no *M. h. lydius*.

Abām pasugām mainās lielu pusložu parametru savstarpējās attiecības. Tā, *M. h. hartingi* tiek atzīmēts lielāks mediālais garums un mazāks laterālais garums. Kopumā 11 (68,8%) parametri no 16 atšķir divas pasugas (1. pieliekums).

Balkānu dienvidaustrumos mīt vēl viena pasuga *M. h. strandzensis*, kuras galvas smadzeņu izmēri ievērojami atšķiras savā starpā (Зоренко, 2013). Pie tam *M. h. strandzensis* atšķiras no *M. h. lydius* pēc 9 lineāriem parametriem (56,2%), bet no *M. h. hartingi* – pēc 12 (75%). Parādīts, ka *M. h. strandzensis* ožas sīpoli ir gari un salīdzinoši šauri, bet divām citām pasugām - gandrīz vienādi pēc garuma un platuma. Smadzeņu masa ir vismazākā (92,8 mg, t.i. par 12,5 mg mazāka) salīdzinājumā ar *M. h. lydius* un *M. h. hartingi*. Šī taksona priekšējie un aizmugurējie uzkalni ir vienādi pēc laukuma; *M. h. lydius* priekšējo uzkalnu laukums ir lielāks, nekā aizmugurējo, bet *M. h. hartingi* aizmugurējo uzkalnu laukums ir lielāks. Zināms, ka zīdītāju sugām ar labāk attīstītu dzirdi dominē aizmugurējie uzkalni, bet ar labāk attīstītu redzi – priekšējie uzkalni (Хрусталева и др., 1994). Uzkalnu laukuma atšķirības - var būt galvas smadzeņu konfigurācijas izmaiņas rezultāts. Vienlaikus, atšķirības var skaidrot ar redzes lomas palielināšanu un morfofunkcionālām īpatnībām. Ir dati, ka dažām strupastu sugām ir paplašināta pusložu pakauša zona, kas atbild par redzes informāciju, tāpēc var domāt, ka redzes analizatora attīstības pakāpe atšķiras dažādām sugām (Зоренко, 2013).

Skaidrot iegūtos rezultātus var ar to, ka areāla veidošanās notika pakāpeniski ilgstošā periodā un izolācijas ilgums atšķiras starp trim pasugām (*lydius*, *strandzensis* un *hartingi*). Domā, ka Hartinga strupaste iemitinājās Grieķijā periodā no vēlā pleistocēna līdz agrīnajam neolītam (Wilczyński et al. 2016). Strupastes no Rodopiem ir saistītas ar grieķu populācijām, veidojot vienu no lielākiem fragmentiem mūsdienu sugas areālā (Kryštufek et al. 2018). Var domāt, ka šajā reģionā ir sastopamas visnenākās *M. hartingi* populācijas Eiropā, tāpēc šī pasuga atšķiras ar visdziļāko diverģenci galvas smadzeņu uzbūve gan salīdzinājumā ar *M. h. strandzensis*, gan *M. h. lydius*. Turpretī Balkānu dienvidaustrumos bija iespējamas atkārtotas kolonizācijas (Thanou et al.

2012; Kryštufek et al. 2018) gadījumi no Āzijas, kas nosaka mazāk izteiktas morfoloģiskās atšķirības starp *M. h. strandzensis* un *M. h. lydius*.

Visi morfoloģiskie pētījumi norāda uz to, ka *guentheri* grupas ietvaros (īpaši Eiropā) notiek aktīva morfoloģiskā evolūcija (Yiğit et Çolak 2002; Yiğit et al. 2010; Yiğit et al. 2012; Zima et al. 2013; Markov et al. 2014; Zorenko & Golenishchev 2015), arī darbā iegūtie rezultāti demonstrē paātrinātu pārkārtošanos galvas smadzeņu izmērā un formā, kaut gan molekulārie pētījumi nerāda kādas pārmaiņas *M. hartingi* Eiropā. Tas liecina, ka molekulārajā un morfoloģiskajā līmenī rezultāti var nesakrist.

Lai izmantotu ģeometriskās morfometrijas metodi, ir svarīgi izslēgt iespējamo vecuma un dzimuma ietekmi uz noteiktām struktūrām (Barčiovà, 2009). Lineārās morfometrijas iegūtie rezultāti parāda, ka strupastēm dzimuma dimorfisms ir maz izteikts. Vecuma faktors bija izslēgts jau sākumā un izanalizēti pieaugušie 6 - 9 mēnešu veci dzīvnieki. Ģeometriskas morfometrijas iegūtie rezultāti parāda, ka strupastēm dzimuma atšķirības ir maz izteiktas un nav būtiskas. Tas var liecināt par dzimuma atlases vāju ietekmi uz morfoloģisko pielāgojumu veidošanos un smadzeņu uzbūves mainību (Fraguedakis-Tsolis et al., 2009).

Lineārā un ģeometriskā morfometrija parāda būtiskas atšķirības starp trim strupastu grupas taksoniem smadzeņu uzbūvē. Morfoloģiskā taksonu diferenciacija ir ģeogrāfiskas izolācijas rezultāts: starp *M. guentheri* un *M. hartingi* - nepārvarams šķērslis ir kalnu grēdas - Anadolijas diagonāle; starp *M. hartingi* pasugām - Bosfora šaurums. Morfoloģisko atšķirību līmenis starp *M. hartingi* pasugām atspoguļo diverģences pakāpi un areāla veidošanās vēsturi. Iegūtie dati atbalsta hipotēzi, ka Eiropā mītošā *M. hartingi* sasniedza sugas līmeni (Yiğit, Çolak 2002). Pasugu smadzeņu diverģence izmērā un formā apstiprina morfoloģiskas evolūcijas aktīvus procesus *guentheri* grupā.

5. Secinājumi

1. Dzimums neietekmē strupastu *guentheri* grupas galvas smadzeņu lineāros izmērus un to formu.
2. Starp *M. guentheri* un *M. hartingi* tiek atzīmēts izteikts hiātus pēc galvas smadzeņu morfometrijas. *M. guentheri* ievērojami atšķiras pēc galvas smadzeņu lineāriem parametriem no *M. hartingi*. Tā, *M. guentheri* būtiski atšķiras pēc smadzeņu un to daļu masas no *M. hartingi*, kā arī pēc vairuma pazīmju. *M. guentheri* lineāro un masas parametru atšķirības skaidrojamas ar mazāku smadzeņu izmēru.
3. Ģeometriskās morfometrijas laterālskata CVA diagramma parāda, ka visi trīs taksoni ir labi atdalīti, divas *M. hartingi* pasugas atšķiras no *M. guentheri* sugas un starp *M. hartingi* pasugām arī ir atšķirības. Pēc DFA *M. h. hartingi* puslodes un smadzenītes ir paplašinātas no augšas, bet *M. h. lydius* ir mazas ožas sīpoli.
4. Ģeometriskās morfometrijas dorsālskata CVA diagramma parāda, ka visi trīs taksoni ir labi atdalīti. Pēc DFA *M. h. hartingi* ir nedaudz garākas ožas sīpoli, nekā *M. h. lydius*. *M. guentheri* smadzenīšu puslode un tārpis ir platāki nekā *M. hartingi* pasugām.
5. Lineārā un ģeometriskā morfometrija papildina viena otru un dod skaidrāku taksona raksturojumu.

6. Patiecības

Vēlos pateikties paldies:

- Darba vadītājai Dr. biol.hab. asoc. prof. Tatjanai Zorenko un darba vadītājam Dr. biol., doc. Uģim Kagainim par metožu iemācīšanu, palīdzību bakalaura darba izstrādē, atbalstu un vērtīgu padomu sniegšanu;
- Zooloģijas un dzīvnieku ekoloģijas katedrai par iespēju izstrādāt bakalaura darbu;
- Recenzentam Dr. biol. Indriķim Kramam par ieteikumiem un darba vērtēšanu.

7. Literatūras saraksts

1. Ahmet Yesari Selçuk, Alaettin Kaya & Haluk Kefelioğlu. 2017. Geomorphometric differences among four species of *Microtus* in Turkey (Mammalia: Rodentia). - *Zoology in the Middle East*, 64(1): 27-37.
2. Auffray, J.C., Alibert, P., Latiéule, C. & Dod, B. 1996. Relative warp analysis of skull shape across the hybrid zone of the house mouse (*Mus musculus*) in Denmark. - *Journal of Zoology*, 240: 441–455.
3. Barčiovà L. 2009. Advances in insectivore and rodent systematics due to geometric morphometrics. Czech Republic: *Mammal Review*, 39 pp.
4. Çağatay M.N, Görür N, Algan O, Eastoe C, Tchapylyga A, Ongan D, Kuhn T, Kuşçu I. 2000. Late Glasial-Holocene palaeoceanography of the Sea of Marmara: Timing of connections with the Mediterranean and the Black Seas. *Marine Geology*, Elsevier 167:191–206. DOI: 10.1016/S0025-3227(00)00031-1.
5. Çetintürk D. 2018. Mitochondrial DNA variations in Turkish *Microtus hartingi* (Barret-hamilton 1903) and *Microtus lydius* (Blackler 1916). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2018; 6(2): 76-78. E-ISSN: 2320-7078 P-ISSN: 2349-6800.
6. Corti, M. & Rohlf, F.J. 2001. Chromosomal speciation and phenotypic evolution in the house mouse. - *Biological Journal of the Linnean Society*, 73: 99–112 pp.
7. Ellerman J. R., Morrison-Scott T.C.S. 1951. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals 1756-1946. *Brit.Mus.Nat.Hist.* London: 810 p.
8. Fraguedakis-Tsolis S.E., Chondropoulos B.P., Stamatopoulos C.V. and Giokas S. 2009. Morphological variation of the five vole species of the genus *Microtus* (Mammalia,
9. Goren-Inbar, N., C.S. Feibel, K.L. Verosub, Y. Melamed, M.E. Kislev, E. Tchernov E. and I. Saragusti. 2000. Pleistocene Milestones on the Out-of-Africa Corridor at Gesher Benot Ya'aqov, Israel. *Science* 289: 944–947.
10. Jaarola, M., Martínková, N., Gündüz, İ., Brunhoff, C., Zima, J., Nadachowski, A., Amori, G., Bulatova, N.S., Chondropoulos, B., Fraguedakis-Tsolis, S., González-Esteban, J., López-Fuster, M.J., Kandaurov, A.S., Kefelioğlu, H., Mathias, M.L., Villatem I., Searle, J.B., 2004. Molecular phylogeny of the specious vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phyl. Evol.* 33. P. 647-663.
11. Klingenberg C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*. 11: 353-357.
12. Klingenberg, C. P. 2015. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry*, 7:843–934.

13. Kryštufek B., Vohralík V., 2005. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia I: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. Koper: Založba Annales, 292 p.
14. Kryštufek B., Vohrálik V., Zareie R. & Özkan B. 2009. Mitochondrial cytochrom b sequences into the speciation of social voles in southwest Asia // *Biological Journal of Linnaean Society*. Vol. 98. Iss. 1. P. 121–128.
15. Kryštufek B., Zorenko T., Buzan E. 2012. New insights into taxonomy and phylogeny of social voles inferred from mitochondrial cytochrome b sequences. *Mammalian Biology*, 77: 178–182.
16. Kryštufek B., Zorenko T., Bontzorlos V., Mahmoudi A., Atanasov N. & Ivajnsič D. 2018. Concise title: Incipient road to extinction of a keystone herbivore in south-eastern Europe: Harting's vole (*Microtus hartingi*) under climate change. *Climatic Change* <https://doi.org/10.1007/s10584-018-2259-2>
17. Marder, O., A. Malinsky-Buller, R. Shahack-Gross, O. Ackermann, A. Ayalon, M. Bar-Matthews, Y. Goldsmith, M. Inbar, R. Rabinovich and E. Hovers. 2011. Archaeological horizons and fluvial processes at the Lower Paleolithic open-air site at Revadim (Israel). *J. Hum. Evol.* 60: 508–522.
18. Mark Webster M., Sheets D. 2010. A practical introduction to landmark-based geometric morphometrics. - *The Paleontological Society Papers*, 16: 163-188.
19. Markov G., Yiğit N., Çolak E., Kocheva I. M. & Gospodinova M. 2014. Epigenetic Diversity and Similarity of the Voles of “Guentheri” Group (Mammalia: Rodentia) in Anatolian Peninsula and Southeastern Part of the Balkan Peninsula. *Acta zool. Bulg.*, 66 (2), 2014: 159-164.
20. Musser G.G., Carleton M.D. 2005. Superfamily Muroidea. In: Wilson D.E., Reeder A.M. (Eds.). *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*, 3rd ed., 2. Baltimore. P. 894-1531.
Rodentia, Arvicolinae) occurring in Greece. *Acta Zool.* 90, 254–264.
21. Rohlf F.J. 2016. *Morphometrics at Stony Brook*. <https://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>
22. Thanou E., Tryfonopoulos G., Chondropoulos, Fragedakis-Tsolis Et.S. 2012. Comparative phylogeography of the live Greek vole species infers the existence of multiple South Balkan subrefugia. *Ital. J.Zool.*, First. P. 1-14.
23. Wilczyński, J., T. Tomek, A. Nadachowski, B. Miękina, B. Rzebik-Kowalska, A. Pereswiet-Soltan, E. Stworzewicz, Z. Szyndlar, A. Marciszak and L. Lõugas. 2016. Faunal record and environmental changes during Holocene and Pleistocene. In: (M. Kaczanowska, J. Kozłowski and A. Sampson, eds.). *The Sarkenos Cave at Akraephnion, Boeotia, Greece*. Vol. II. The Early

- Neolithic, the Mesolithic and the final Palaeolithic. Polish Acad. Arts Sci., Krakow. P. 63–150.
24. Yaltrak C, Sakinç M, Oktay FY. 2000. Westward propagation of North Anatolian fault into the northern Aegean: Timing and kinematics. Comment and Reply. *Geology* 28:187–188.
 25. Yiğit N. & Çolak E. 2002. On the distribution and taxonomic status of *Mirotus guentheri* Danford and Alston, 1880 and *Microtus lydius* Blackler, 1916 (Mammalia: Rodentia) in Turkey // *Turkish Journal of Zoology*. Vol.26. P. 197–204.
 26. Yiğit N., Çetintürk D., Çolak E. 2017. Phylogenetic assessment of voles of the Guentheri Group (Mammalia: Microtus) in Turkish Thrace and Western Anatolia. *The European Zoological Journal*, Vol. 84, No. 1. P. 252–260.
 27. Yiğit N., Markov G., Çolak E., Kocheva M., Saygılı F., Yüce D. & Çam P. 2012. Phenotypic Features of the ‘guentheri’ Group Vole (Mammalia: Rodentia) in Turkey and Southeast Bulgaria: Evidence for Its Taxonomic Detachment. *Acta Zoologica Bulgarica*. Vol. 64. No 1. P. 23-32.
 28. Zima J., Arslan A., Benda P., Macholán M., Kryštufek B. 2013. Chromosomal variation in social voles: a Robertsonian fusion in Günter’s vole. *Acta teriologica*, 58. P. 255-265.
 29. Zorenko T. & Golenishchev G. 2015. The spermatozoa structure peculiarities of the subgenus *Sumeriomys* (Rodentia, Arvicolinae, *Microtus*). *Russian J. Theriol.* 14(1): 105–111.
 30. Zorenko Z., Atanasov N. & Golenishchev F. 2016. Behavior and partial reproductive isolation between the European and Asian forms of Harting’ vole *Microtus hartingi* (Rodentia, Arvicolinae). *Russian J. Theriol.* 15(2): 133–150.
 31. Автандилов Г. Г. 1990. Медицинская морфометрия. Москва: Медицина, 384 с.
 32. Войно М.С. 1994. Головной мозг. Обыкновенная полевка: виды-двойники. М., Наука. С. 52-71.
 33. Городилова Ю. В. 2011. Эколого-морфологический анализ изменчивости малой лесной мыши и симпатрических видов грызунов на Урале. Екатеринбург: Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН. 24 с.
 34. Громов И.М., Ербаева М.А. 1995. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. Спб. Наука. 520 с.
 35. Зоренко Т.А. Общественные полевки подрода *Sumeriomys* (систематика, биология и поведение). 2013. LAP Lambert Academic Publishing. 541 с.
 36. Павлинов И. Я., Микешина Н. Г. 2002. Принципы и методы геометрической морфометрии. - *Журнал общей биологии*, 63 (6): 473-493.
 37. Хрусталева И.В., Михайлов Н.В., Шнейберг Я.И., Жеребцов Н.А., Слесаренко Н.А., Криштофорова Б.В. 1994. Анатомия домашних животных. М., Колос. 703 с..

38. Яскин В.А., Ленец Л.И. 1996. Специфические черты строения головного мозга видов-двойников обыкновенной полевки. Зоол.журн. 75(11). С. 1715-1720.

Pielikumi

T-studenta koeficienti strupastu taksoniem (Str - *M. h. strandzensis*, Hart – *M. h. hartingi*, Lyd – *M. h. lydius*, Gue – *M. guentheri*.).

| | Str /Hart | Str/Lyd | Hart/Lyd | Str/Guen | Hart/Guen | Lyd/Guen |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Galvas smadzeņu masa | 7,37 | 4,1 | 3,2 | 14 | 21 | 18 |
| Cefalizācijas koeficients | 3,64 | - | 2,81 | 6 | 5,09 | 3,02 |
| Smadzeņu garums | - | | - | - | 5,7 | 8,9 |
| Smadzeņu platums | 2,28 | 2,82 | - | - | 8,24 | 7,1 |
| Smadzeņu augstums | 4,64 | 5,8 | 2,43 | 11,4 | 6,06 | 3,86 |
| Ožas sīpolu masa | 3,67 | - | 2,37 | 2,2 | 7,01 | 4,69 |
| Ožas sīpolu garums | 9,4 | 9,4 | 2,42 | 10,9 | 6,7 | 4,3 |
| Ožas sīpolu platums | 3,13 | - | 2,9 | - | 4,34 | 2,02 |
| Smadzenīšu masa | 3,82 | 3,82 | - | 5,75 | 8,36 | 8,36 |
| Smadzenīšu platums ar paraflokulosiem | 12,9 | - | - | 2,32 | 4,4 | 4,4 |
| Pusložu laterālais garums | - | - | 2,68 | - | 9,6 | 14,9 |
| Pusložu mediālais garums | - | - | 2,76 | 9,3 | 11 | 8,92 |
| Aizmmugurējo četrzkalnu laukums | 1,91 | 4,38 | 4,37 | 3,1 | 8,1 | 12 |
| Priekšējo četrzkalnu laukums | 4,14 | 11,2 | 4,26 | 4,83 | 4,94 | 9,71 |
| Trapeceveida ķermeņa laukums | 3,23 | 5 | - | 2,16 | 4,74 | 8,1 |
| Varolija tilta laukums | - | 2,6 | 2,69 | 4,2 | 4,87 | 5 |
| Kopā: 16 | 12 | 9 | 11 | 12 | 16 | 16 |

Strupastes smadzeņu un ķermeņa galvenie vidējie lineārie un masas parametri.

| | <i>M. h. lydius</i> | <i>M. h. hartingi</i> | <i>M. guentheri</i> |
|---|---------------------|-----------------------|---------------------|
| Ķermeņa masa, g | 51,1±1,15 | 51,±1,69 | 35,1±2,33 |
| Cefalizācijas koeficients | 1,6±0,3 | 1,7±0,8 | 1,7±0,1 |
| Smadzeņu masa, g | 0,82±0,01 | 0,87±0,01 | 0,57±0,014 |
| Smadzeņu augstums, mm | 7,1±0,10 | 7,5±0,11 | 6,5±0,11 |
| Smadzeņu garums, mm | 21,4±0,12 | 21,3±0,21 | 19,1±0,33 |
| Smadzeņu platums, mm | 11,6±0,09 | 11,6±0,11 | 9,9±0,17 |
| Pusložu masa, g | 0,38±0,86 | 0,38±0,64 | 0,23±0,54 |
| Ožas sīpolu garums, mm | 3,1±0,8 | 3,4±0,07 | 2,7±0,14 |
| Ožas sīpolu platums, mm | 3,3±0,09 | 3,7±0,09 | 3,0±0,12 |
| Ožas sīpolu masa, mg | 22,1±1,18 | 24,9±0,97 | 14,9±0,67 |
| Smadzeņīšu platums ar paraflokulosiem, mm | 9,2±0,08 | 9,2±0,10 | 8,1±0,23 |
| Smadzeņīšu masa, g | 0,11±0,23 | 0,11±0,25 | 0,71±0,31 |
| Trapeceveida ķermeņa laukums, mm ² | 8,2±0,15 | 7,9±0,22 | 6,1±0,36 |
| Varolija tilta laukums, mm ² | 5,9±0,13 | 6,6±0,23 | 4,7±0,20 |
| Pusložu laterālis garums, mm | 11,4±0,07 | 11,0±0,10 | 9,6±0,10 |
| Pusložu mediālais garums, mm | 8,4±0,08 | 8,7±0,08 | 7,3±0,10 |

Bakalaura darbs “Stepes strupastu galvas smadzeņu morfometriskā mainība guentheri grupā (*Arvicolinae, Sumeriomys* apakšģints)” izstrādāts LU Bioloģijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: Ļubova Baraškova _____

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītāja: Dr. biol.hab. asoc. prof. Tatjana Zorenko _____

Vadītājs: Dr. biol., doc. Uģis Kagainis _____

Recenzents: _____ Dr.biol. Indriķis Krams

Darbs iesniegts LU Bioloģijas fakultātē

Lietvede:

Darbs aizstāvēts bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē 27.05.2019

Vērtējums: _____

Komisijas sekretāre: