
Оценка изменчивости конхиологических признаков *Lymnaea stagnalis* с использованием методов классической и геометрической морфометрии

СНЕГИН Э.А., ЮСУПОВ С.Р.*, ЮСУПОВА А.Ю.

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород,
308015, РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

* Автор-корреспондент: yusupovkrug@mail.ru

РЕЗЮМЕ. Водный брюхоногий моллюск *Lymnaea stagnalis* характеризуется высокой изменчивостью конхиологических признаков. Для оценки степени вариаций размеров и формы раковины в популяциях данного вида, обитающих на юге Среднерусской возвышенности, был проведен сравнительный анализ с использованием методов классической и геометрической морфометрии. Парное сравнение популяций с использованием Post-hoc теста для perMANOVA позволило показать, что при использовании геометрической морфометрии наблюдалось большее количество статистически значимых отличий между сравниваемыми группами улиток, чем при использовании классического конхиометрического анализа. Кроме того, картина распределения популяций по группам в ходе кластеризации, существенно различалась при использовании разных морфометрических методов. Полагаем, что методы геометрической морфометрии, позволяющие давать интегральную характеристику раковины, лучше подходят для понимания закономерностей микроэволюционных процессов в популяциях брюхоногих моллюсков, а также изучения экологических особенностей видов. Тем не менее, для предотвращения потери важных конхиометрических данных, которые могут быть использованы для видовой идентификации и оценки внутри- и межпопуляционной изменчивости, при использовании геометрической морфометрии также важно учитывать абсолютные размерные характеристики объекта исследования.

DOI: [https://doi.org/10.35885/ruthenica.2023.33\(4\).1](https://doi.org/10.35885/ruthenica.2023.33(4).1)

Assessment of the variability of conchological features of *Lymnaea stagnalis* using classical and geometric morphometry methods

СНЕГИН Э.А., ЮСУПОВ С.Р.*, ЮСУПОВА А.Ю.

Belgorod State National Research University, Belgorod,
308015, RUSSIAN FEDERATION

Corresponding author: yusupovkrug@mail.ru

ABSTRACT. The aquatic gastropod *Lymnaea stagnalis* exhibits a high variability of conchological features. To assess the degree of variation in the size and shape of the shell in the populations of this species inhabiting the Central Russian Upland, a comparative analysis was carried out using the methods of classical and geometric morphometry. A pairwise comparison of populations using the Post-hoc test for perMANOVA has shown that when using geometric morphometry, there were more statistically significant differences between the groups of snails compared than when using classical conchiometric analysis. In addition, the pattern of distribution of populations by groups during clusterization differed significantly when using different morphometric methods. We believe that the methods of geometric morphometry, which make it possible to give an integral characteristic of the shell, are better suited for under-

standing the patterns of microevolutionary processes in populations of gastropods, as well as studying the ecological characteristics of species. Nevertheless, in order to prevent the loss of important conchiometric data that can be used for species identification and assessment of intra- and inter-population variability, when using geometric morphometry, it is also important to take into account the absolute dimensional characteristics of the object of study.

Введение

Одним из наиболее существенных аспектов природных популяций является морфологическая изменчивость. Описание и количественная оценка этой изменчивости необходимы для идентификации и классификации организмов, анализа взаимосвязей между структурой и функцией, понимания экологических особенностей, выявления адаптаций к изменчивой среде и построения микроэволюционных моделей. Так, в первых подходах к морфометрическим исследованиям, для анализа различий в размерах и форме, традиционная морфометрия вмещала только линейные измерения элементов раковины,

Таблица 1. Пункты сбора *L. stagnalis*.Table 1. Sampling sites of *L. stagnalis*.

№	Название пункта	Описание пункта	Координаты	Количество исследованных раковин (N)
1	«Пена»	Река Пена, Белгородская область, Днепроvский бассейн	50°93,67'N, 36°03,39' E	39
2	«Ворскла»	Река Ворскла, Белгородская область, Днепроvский бассейн	50°46,41' N, 35°57,79' E	16
3	«Северский Донец»	Река Северский Донец, Белгородская область, Донской бассейн	50°59,41' N, 36°61,18' E	41
4	«Оскол»	Река Оскол, Белгородская область, Донской бассейн	50°60,85' N, 37°77,03' E	20
5	«Нежеголь»	Река Нежеголь, Донской бассейн Белгородская область	50°43,62' N, 37°07,02' E	14
6	«Валуй»	Река Валуй, Белгородская область, Донской бассейн	50°20,48' N, 38°10,11' E	17
7	«Айдар»	Река Айдар, Белгородская область, Донской бассейн	49°91,48' N, 38°88,41' E	21
8	«Чуфичка»	Река Чуфичка, Белгородская область, Донской бассейн	51°19,99' N, 37°83,46' E	22
9	«Дон-1»	Река Дон, Донской бассейн, Воронежская область	49°79,05' N 41°13,52' E	18
10	«Дон-2»	Река Дон, Донской бассейн, Липецкая область	52°31,54' N, 38°53,42' E	17
11	«Везелка»	Река Везелка, Донской бассейн	50°59,45' N, 36°56,59' E	30
12	«Разумная»	Река Разумная, Донской бассейн	50°53,05' N, 36°64,95' E	32
13	«Пруд»	Стоячий водоем, ул. Бассейная, г. Белгород. Донской бассейн	50°64,85' N, 36°55,75' E	33

которые с развитием современных математических инструментов, были дополнены одно- и многомерными статистическими методами анализа [Benítez, Püschel, 2014]. Однако, классическая морфометрия дает представление только о каком-либо элементе формы, а не о форме в целом [Pavlinov, 2001; Pavlinov, Mikeskina, 2002]. Методы геометрической морфометрии устраняют этот недостаток. В их основу положено использование декартовых координат точек (ландмарков), как исходных параметров, располагаемых на сравниваемых элементах, вместо классических линейных промеров [Bookstein, 1991].

Организмы с твердым экзоскелетом, такие как водные брюхоногие моллюски, являются хорошими объектами для проведения морфометрических исследований, поскольку они характеризуются высоким уровнем изменчивости размеров и формы раковины [Zhadin, 1923, 1928, 1952; Zakhvatkin, 1927; Terentiev, 1928, 1961, 1970; Zatravkin, 1979; Fedorov, 2009; Vinarski, 2010, 2014, 2015; Piaget, 1929; Mozley, 1937; Hubendick, 1951; Jackiewicz, 1998; Glöer, 2002].

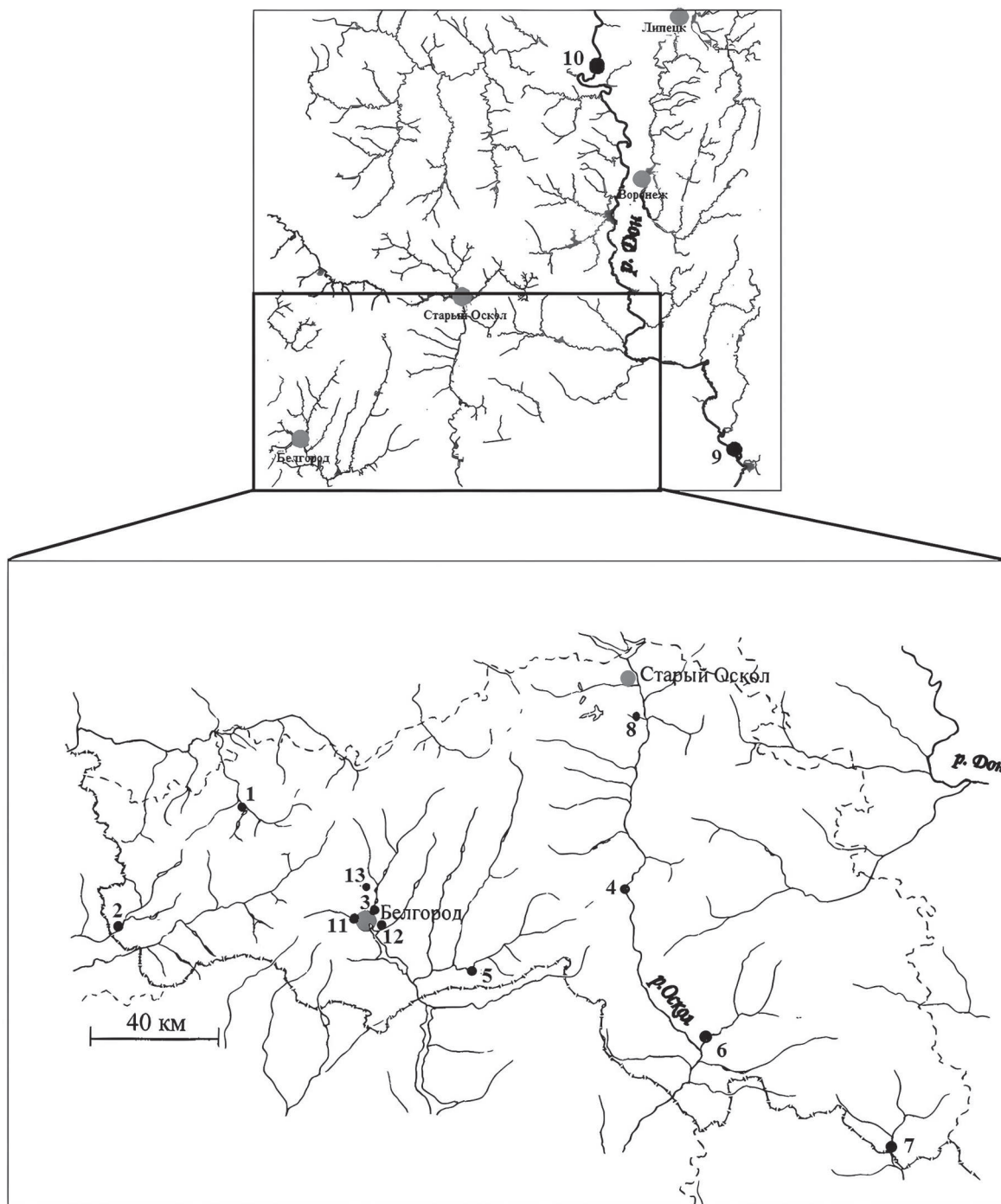
На территории юга Среднерусской возвышенности перспективным объектом подобных исследований является вид *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) (прудовик большой, или обыкновенный).

Его нативный ареал охватывает всю Северную Америку, Европу, а также некоторые части Азии. Кроме того, особи данного вида были отмечены в Австралии, Северной и Центральной Африке [Atli, Grosell, 2016]. Улитки этого вида обитают в стоячих водоемах и водотоках с замедленным течением, на мелководьях, богатых растительностью, и в основном являются фитофагами, предпочитающими высшие водные растения, диатомеи, зеленые водоросли. Кроме того в их пищевом рационе не последнее место занимают бактерии, грибы, кладки моллюсков и икра земноводных [Tsikhon-Lukanina, 1987; Lance *et al.*, 2006]. Это один из самых массовых видов водных брюхоногих моллюсков на юге Среднерусской возвышенности.

Целью работы была оценка внутривидовой изменчивости конхиологических признаков *L. stagnalis* на юге Среднерусской возвышенности с использованием методов геометрической и классической морфометрии.

Материал и методы

Выборки особей из популяций *L. stagnalis* были взяты в 13 водных местообитаний, расположенных на юге Среднерусской возвышенности

РИС. 1. Пункты сбора *L. stagnalis*.FIG. 1. Sampling sites of *L. stagnalis*.

(Табл. 1, Рис. 1). Моллюсков собирали вручную и при помощи гидробиологического сачка в период с мая по октябрь 2020–2022 гг. Для определения видовой принадлежности отобранных животных использовали диагностические признаки раковины [Kruglov, 2005].

В анализе использовали только раковины с более чем шестью оборотами. Подсчет числа оборотов и промеры раковин *L. stagnalis* проводили по стандартной методике, описанной в

работе И.М. Хохуткина с соавторами [Khokhutkin *et al.*, 2009]. Измерения осуществляли штангенциркулем с точностью до 0,1 мм по следующим параметрам: (ВР) высота раковины, (ШР) ширина раковины, (ВЗ) высота завитка, (ВПО) высота последнего оборота, (ВУ) высота устья, (ШУ) ширина устья. Также для каждой раковины было подсчитано количество оборотов (ЧО) (Рис. 2А). На основе линейных промеров были рассчитаны отношения высоты раковины к ширине (ВР/ШР),

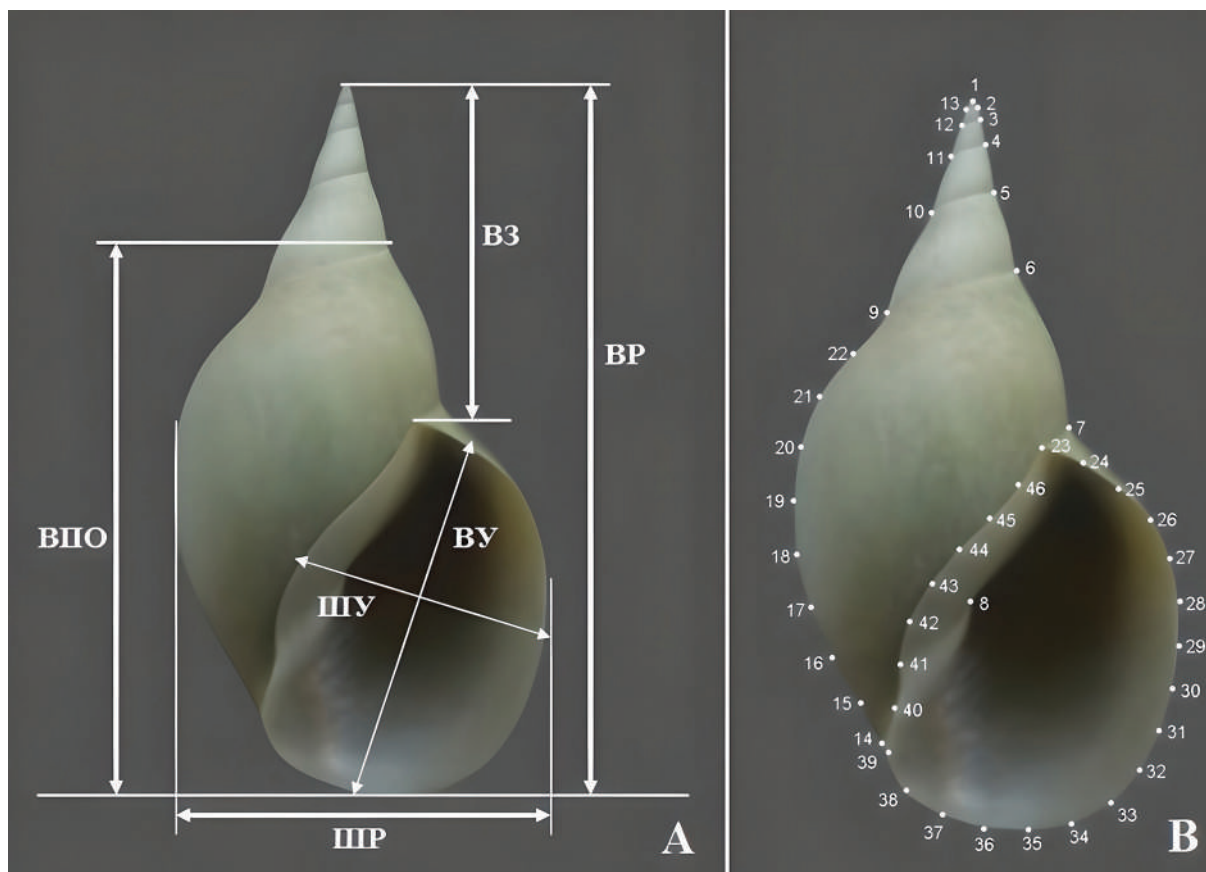


РИС. 2. А – Схема промеров раковин *L. stagnalis* (объяснение в тексте). В – Схема расположения лан্দмарок (1–46) на раковине *L. stagnalis*.

FIG. 2. А – Scheme of measurements of *L. stagnalis* shells (see text for explanation). В – The location of the landmarks (1-46) on a shell of *L. stagnalis*.

высоты раковины к высоте завитка (ВР/ВЗ), высоты раковины к высоте последнего оборота (ВР/ВПО), высоты раковины к высоте устья (ВР/ВУ) и высоты устья к ширине устья (ВУ/ШУ). Соответствие распределения промеров раковины нормальному распределению оценивали с помощью критерия χ^2 в программе AtteStat 12.0.5. Для всех стандартных промеров были рассчитаны средние величины и их ошибки. Изменчивость формы раковин *L. stagnalis* оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

В основе подхода, известного как геометрическая морфометрия, лежит использование декартовых координат точек (лан্দмарок), как исходных параметров, располагаемых на сравниваемых элементах, вместо классических линейных промеров [Bookstein, 1991]. В данном случае, отличия в форме оценивали по отклонению координат лан্দмарок, располагаемых по контуру двумерного изображения раковины *Lymnaea stagnalis*, относительно усредненной (консенсусной) конфигурации раковины. Фотографии раковин были получены с помощью фотоаппарата Nikon Coolpix L830. Раковину всегда ориентировали в

стандартном положении, то есть устьем вверх, параллельно горизонтальной плоскости и следуя рекомендациям Zelditch *et al.* [2004]. Изменение формы контура регистрировалось с помощью комбинации двумерных декартовых координат 15 лан্দмарок и 31 полулан্দмарок (Рис. 2В). Расстановку меток на образцах проводили с использованием программ tpsUtil и tpsDig2 [Rohlf, 2006]. Метка 1 обозначала вершину раковины, метки 2–14 – швы последующих оборотов, метка 8 – колюмеллярный край устья, метка 23 – вершину устья. Для описания формы устья и последнего оборота, по их периметру проводились ломанные кривые, на которых с помощью функции «by length» на одинаковом расстоянии выставляли точки. С помощью опции «Appends TPS Curve to Landmarks» в программе tpsUtil точки были преобразованы в полулан্দмарки (метки 15–22, 24–46). Для оценки технической изменчивости измерений дополнительно оценивали статистическую значимость между повторными съемками одних и тех же раковин, а также повторными расстановками лан্দмарок. Расчеты были проведены с помощью двухфакторного прокрустова

Таблица 2. Значения конхиометрических параметров *L. stagnalis* (M±m).Table 2. The values of conchometric parameters of *L. stagnalis* (M ± m).

Признак	Пункт												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ВР	49,27 ±0,81	44,08 ±0,84	46,92 ±0,74	45,82 ±0,98	41,22 ±0,67	45,40 ±0,6	39,47 ±0,96	45,78 ±0,91	48,89 ±0,82	44,78 ±0,99	45,41 ±0,61	41,49 ±0,84	60,68 ±0,96
ШР	25,21 ±0,39	20,79 ±0,44	22,79 ±0,38	22,43 ±0,41	19,93 ±0,34	22,78 ±0,39	20,09 ±0,54	23,41 ±0,91	24,48 ±0,41	21,48 ±0,6	21,85 ±0,44	19,77 ±0,47	22,09 ±0,24
ВЗ	26,06 ±0,5	25,09 ±0,61	25,42 ±0,4	24,61 ±0,67	22,04 ±0,4	24,19 ±0,6	19,68 ±0,51	24,45 ±0,48	25,50 ±0,6	24,86 ±0,58	24,37 ±0,45	22,17 ±0,46	25,33 ±0,42
ВПО	36,71 ±0,55	33,41 ±0,58	35,42 ±0,54	33,59 ±0,68	31,17 ±0,65	34,23 ±0,62	29,81 ±0,74	34,84 ±0,63	36,81 ±0,66	34 ±0,84	34,1 ±0,49	31,76 ±0,6	34,75 ±0,41
ВУ	27,58 ±0,44	23,79 ±0,75	25,36 ±0,38	24,75 ±0,52	22,58 ±0,45	24,72 ±0,7	22,64 ±0,54	25 ±0,58	27,25 ±0,74	23,78 ±0,71	24,8 ±0,34	23,15 ±0,43	24,25 ±0,33
ШУ	18,34 ±0,36	15,14 ±0,31	16,08 ±0,22	16,8 ±0,33	14,4 ±0,34	17,45 ±0,34	14,38 ±0,32	16,56 ±0,34	17,39 ±0,39	15,06 ±0,42	15,72 ±0,26	14,46 ±0,26	15,39 ±0,23
ВР/ВУ	1,79 ±0,03	1,87 ±0,04	1,85 ±0,01	1,85 ±0,02	1,83 ±0,02	1,86 ±0,07	1,74 ±0,01	1,84 ±0,04	1,81 ±0,04	1,89 ±0,02	1,84 ±0,03	1,79 ±0,01	2,46 ±0,57
ВР/ШР	1,96 ±0,03	2,12 ±0,02	2,06 ±0,02	2,04 ±0,03	2,07 ±0,03	2,00 ±0,02	1,97 ±0,02	1,99 ±0,04	2,00 ±0,03	2,09 ±0,03	2,09 ±0,02	2,11 ±0,02	2,68 ±0,6
ВР/ВЗ	1,91 ±0,03	1,76 ±0,02	1,85 ±0,01	1,87 ±0,02	1,87 ±0,03	1,89 ±0,04	2,01 ±0,02	1,87 ±0,02	1,92 ±0,02	1,8 ±0,02	1,87 ±0,02	1,88 ±0,02	2,32 ±0,5
ВР/ВПО	1,34 ±0,01	1,32 ±0,01	1,33 ±0,01	1,37 ±0,02	1,32 ±0,01	1,33 ±0,01	1,32 ±0,01	1,31 ±0,01	1,33 ±0,01	1,32 ±0,01	1,33 ±0,01	1,31 ±0,01	1,7 ±0,38
ВУ/ШУ	1,52 ±0,03	1,57 ±0,04	1,58 ±0,01	1,48 ±0,02	1,57 ±0,02	1,42 ±0,04	1,57 ±0,01	1,51 ±0,03	1,57 ±0,03	1,58 ±0,02	1,59 ±0,03	1,6 ±0,01	1,58 ±0,02
Ч.О.	6,98 ±0,04	6,53 ±0,11	6,84 ±0,05	6,73 ±0,07	6,74 ±0,07	6,87 ±0,05	6,39 ±0,07	6,58 ±0,05	7,01 ±0,07	6,62 ±0,12	6,69 ±0,06	6,45 ±0,05	6,64 ±0,04

дисперсионного анализа в программе MorphoJ. Отсутствие статистически значимых различий между повторностями ($p > 0,05$), свидетельствовало о стандартизации оцифровки.

Для устранения изометрических вариаций размера и ориентации, а также приведения данных в общую систему координат было выполнено прокрустово преобразование [Adams *et al.*, 2004]. Для визуализации изменений формы использовали метод тонких пластин (Thin-Plate Spline) [Stone, 1998] показывающий деформацию конфигурации ландмарк от эталонной конфигурации (консенсусной, усредненной для всех особей).

Для определения линейных комбинаций переменных был выполнен анализ главных компонент (PCA), который в геометрической морфометрии представляет собой анализ относительных деформаций (relative warps) [Vasil'ev *et al.*, 2018].

Чтобы определить существуют ли статистически значимые различия между исследуемыми популяциями, а также между особями, принадлежащими к разным речным бассейнам, на основе главных компонент были проведен однофакторный непараметрический многомерный дисперсионный анализ (one way perMANOVA) при помощи перестановочного теста с 10000 репликами.

Попарные сравнения между популяциями были выполнены с использованием Post-hoc теста для perMANOVA с поправкой Бонферони.

На основе морфологических параметров раковин и координат ландмарк был выполнен кластерный анализ для усредненных данных по каждой популяции. По матрице евклидовых расстояний с помощью кластерного анализа (UPGMA) определили иерархию межгрупповых различий, включающую бутстреп-анализ. Евклидово расстояние для классической морфометрии было рассчитано на основе данных промеров, для геометрической морфометрии – на основе преобразованных прокрустовых координат, усредненных для каждой популяции.

Все полученные данные анализировали с использованием программы PAST v.4.06 [Hammer *et al.*, 2001].

Результаты

Результаты классического морфометрического анализа раковин приведены в Табл. 2. Полученные данные демонстрируют высокую степень гетерогенности исследуемых популяций по конхиологическим признакам. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) подтверждает

Таблица 3 Результаты однофакторного дисперсионного анализа конхиометрических признаков *L. stagnalis*.Table 3. ANOVA results for conchological parameters of *L. stagnalis*.

Признак	Источник вариации	SS	df	MS	F	P-Значение
ВР	Между группами	2422	12	202	11,59	<0,01
	Внутри групп	5380	309	17,4		
ШР	Между группами	904	12	75,3	13,32	<0,01
	Внутри групп	1748	309	5,7		
ВЗ	Между группами	918	12	76,5	11,64	<0,01
	Внутри групп	2029	309	6,6		
ВПО	Между группами	1192	12	99	10,68	<0,01
	Внутри групп	2874	309	9,3		
ВУ	Между группами	723	12	60,3	9,59	<0,01
	Внутри групп	1942	309	6,3		
ШУ	Между группами	513	12	43	17,14	<0,01
	Внутри групп	771	309	2,50		
ВР/ВУ	Между группами	0,54	12	0,05	2,436	0,01
	Внутри групп	5,75	309	0,02		
ВР/ШР	Между группами	0,95	12	0,08	4,841	<0,01
	Внутри групп	5,03	309	0,02		
ВР/ВЗ	Между группами	0,91	12	0,08	5,658	<0,01
	Внутри групп	4,14	309	0,01		
ВР/ВПО	Между группами	0,06	12	0,01	1,941	<0,02
	Внутри групп	0,84	309	0,013		
ВУ/ШУ	Между группами	0,69	12	0,06	3,45	<0,01
	Внутри групп	5,18	309	0,02		
ЧИСЛО ОБ.	Между группами	11,11	12	0,93	9,978	<0,01
	Внутри групп	28,67	309	0,09		

этот вывод. Стоит отметить, что по всем используемым параметрам внутригрупповая дисперсия превысила межгрупповую ($p < 0,05$) (Табл. 3).

Для оценки изменчивости формы раковины без учета метрических данных значения координат ландмарк из всех популяций были выровнены с помощью общего прокрустового анализа. Их усреднённая (консенсусная) конфигурация представлена на Рис. 3 (вариант 1), а на вариантах 2–14 представлены консенсусные изображения отдельных конфигураций ландмарк *L. stagnalis* с отклонениями относительно общей средней конфигурации. Изменение формы можно увидеть по деформации ячеек трансформационной решетки.

Анализ главных компонент (РСА) также выявил высокую внутривидовую изменчивость по морфологическим признакам во всех местообитаниях в отличие от межвидовой изменчивости. Согласно результатам, представленным на рисунке 4, облака точек распределения особей для всех популяций как при использовании классической (Рис. 4 А), так и геометрической морфометрии (Рис. 4 В), практически перекрываются.

Результаты однофакторного непараметрического многомерного дисперсионного анализа (one way perMANOVA) межгрупповой морфоло-

гической изменчивости *L. stagnalis* (Табл. 4) показывают, что между исследуемыми популяциями можно выявить статистически значимые отличия ($p \leq 0,0001$) как с использованием классической, так и геометрической морфометрии. Также при сопоставлении групп популяций, принадлежащих к разным бассейнам рек (Днепровский и Донской) анализ показал статистически значимые отличия между этими группами.

При этом, попарное сравнение между популяциями с использованием post-hoc теста для perMANOVA (Табл. 5) показало, что при использовании геометрической морфометрии наблюдалось большее количество статистически значимых отличий (51,2 %), чем при использовании классической морфометрии (32,0%).

В результате кластерного анализа данных, полученных методом классической морфометрии, популяции разделились на две группы. В первый кластер вошли только особи из пункта сбора «Пруд» (№ 13). Второй кластер объединил все остальные популяции (Рис. 5 А). Стоит отметить, что пункт 13 единственный из всех, где улитки обитают в стоячем водоеме.

При использовании для кластеризации результатов геометрической дендрограмма выглядит иначе (Рис. 5 В). Были также выделены два основных кластера, однако первый объединил попу-

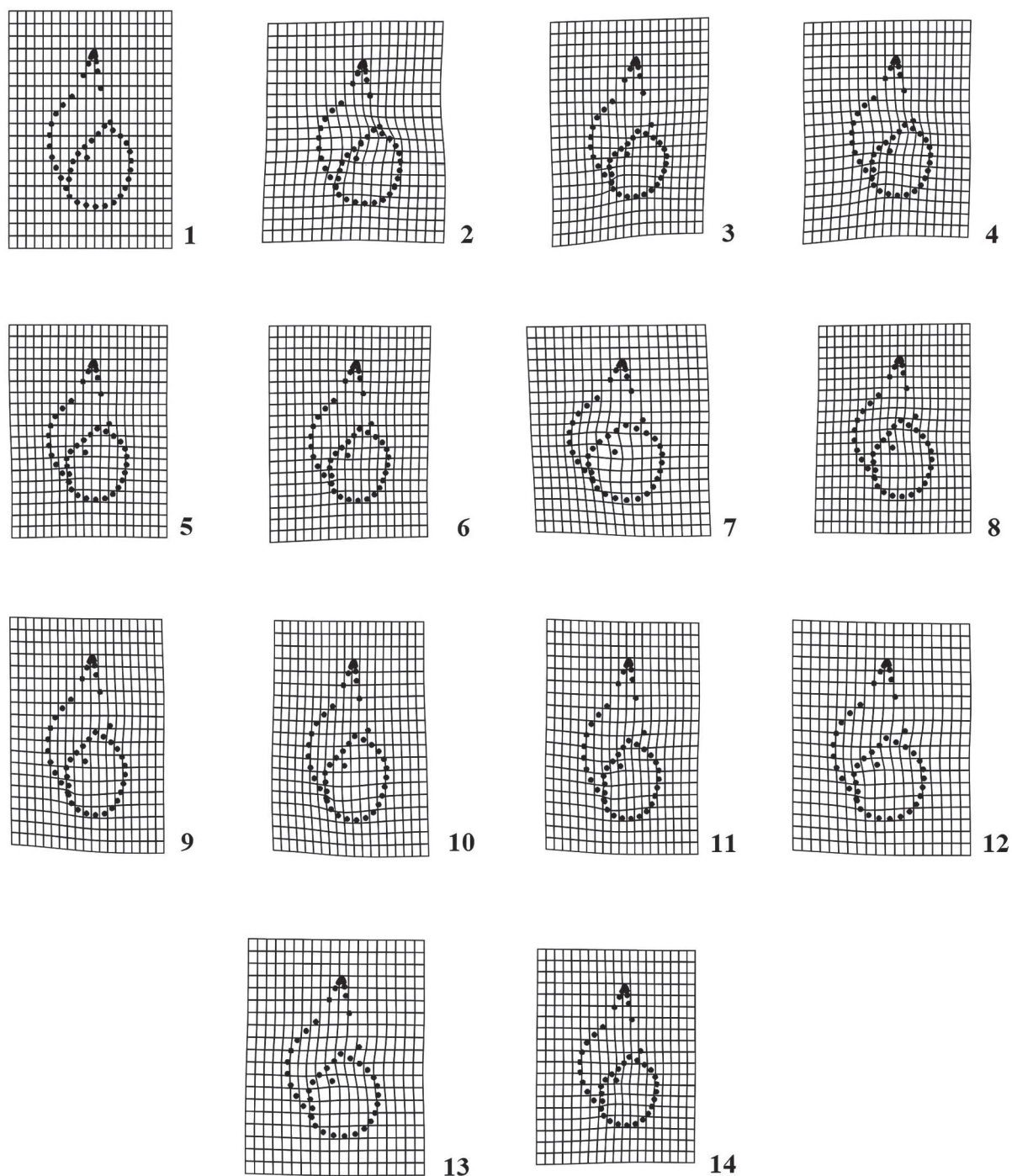


РИС. 3. Отображение деформации формы раковин в популяциях *L. stagnalis*, на основе метода тонких пластин (1 – консенсусная конфигурация, 2 – «Пена», 3 – «Ворскла», 4 – «Северский Донец», 5 – «Оскол», 6 – «Нежеголь», 7 – «Валуй», 8 – «Айдар», 9 – «Чуфичка», 10 – «Дон-1», 11 – «Дон-2», 12 – «Везелка», 13 – «Разумная», 14 – «Пруд»)

FIG. 3. Mapping of shell shape deformation in *L. stagnalis* populations, based on the thin plate method (1 – consensus configuration, 2 – «Pena», 3 – «Vorskla», 4 – «Seversky Donets», 5 – «Oskol», 6 – «Nezhegol», 7 – «Valui», 8 – «Aidar», 9 – «Chufichka», 10 – «Don-1», 11 – «Don-2», 12 – «Veselka», 13 – «Razumnaia », 14 – «Pond»).

ляции «Пена» (№ 1) и «Северский Донец» (№ 3), относящиеся к разным речным бассейнам. В свою очередь, второй кластер также распадается на два субкластера, в один из которых вошли популяции из пунктов сбора «Пруд» (№ 13) и «Ворскла» (№ 2), а в другой – оставшиеся популяции.

Обсуждение

Проведенное исследование продемонстрировало эффективность геометрической морфометрии для изучения изменчивости раковин *L. stagnalis* в дополнение к методам классической морфометрии. Согласно полученным данным, в

Таблица 4. Результаты многомерного непараметрического однофакторного дисперсионного анализа perMANOVA переменных, характеризующих межгрупповую морфологическую изменчивость *L. stagnalis*.

Table 4. Results of perMANOVA variables characterizing the intergroup morphological variability of *L. stagnalis*.

	Фактор	Общая сумма квадратов	Сумма квадратов между группами	F	Уровень значимости (p)
Геометрическая морфометрия	Популяция	1,263	0,8627	11,96	<0,0001
	Речной бассейн	1,178	1,078	26,58	0,0001
Классическая морфометрия	Популяция	$2,15 \times 10^4$	1.479×10^4	11,64	0,0001
	Речной бассейн	$2,03 \times 10^4$	1.911×10^4	18,11	0,0001

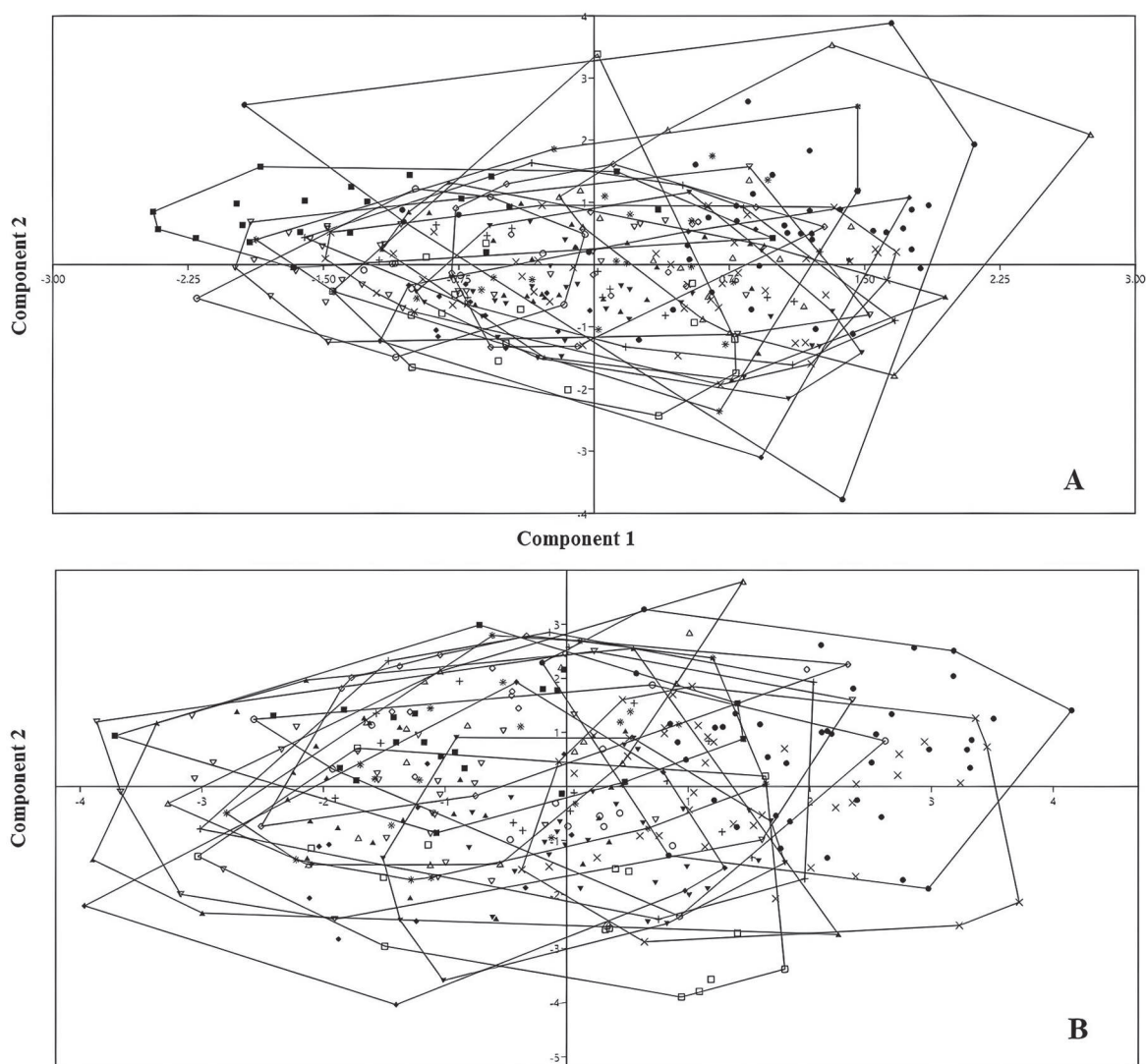


РИС. 4. Графическое выражение распределения главных компонент: А – при классической морфометрии (доля объясненной изменчивости: Component 1 – 83,6 %, Component 2 – 6,9 %). В – при геометрической морфометрии (доля объясненной изменчивости: Component 1 – 43,1 %, Component 2 – 26,2 %).

FIG. 4. Graphical expression of the distribution of principal components: A – with classical morphometry (the proportion of explained variability: Component 1 – 83.6%, Component 2 – 6.9%). B – with geometric morphometry (the proportion of explained variability: Component 1 – 43.1%, Component 2 – 26.2%).

Таблица 5. Результаты попарного сравнения между популяциями *L. stagnalis* с использованием post-hoc теста для perMANOVA. Шрифтом выделены достоверные отличия $P < 0,05$: над диагональю – с использованием классической морфометрии; под диагональю – с использованием геометрической морфометрии.

Table 5. Results of pairwise comparison between *L. stagnalis* populations using post-hoc test for perMANOVA. The font highlights significant differences ($P < 0,05$): above the diagonal – using classical morphometry; below the diagonal – using geometric morphometry.

Пункты	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. Пена		<0,01	0,17	0,08	<0,01	0,1	<0,01	0,22	1	0,02	<0,01	<0,01	<0,01
2. Ворскла	<0,01		1	1	0,68	1	0,05	1	<0,01	1	1	1	1
3. Северский Донец	<0,01	<0,01		1	0,02	1	<0,01	1	1	1	1	0,02	1
4. Оскол	<0,01	0,06	<0,01		0,09	1	<0,01	1	0,46	1	1	0,13	1
5. Нежеголь	<0,01	0,27	<0,01	1		<0,01	1	0,03	<0,01	0,61	0,03	1	<0,01
6. Валуй	<0,01	<0,01	<0,01	1	0,04		<0,01	1	0,21	1	1	0,07	1
7. Айдар	<0,01	<0,01	<0,01	0,45	0,35	1		<0,01	<0,01	0,02	<0,01	1	<0,01
8. Чуфичка	<0,01	<0,01	<0,01	1	1	1	1		1	1	1	0,05	1
9. Дон-1	<0,01	<0,01	<0,01	1	1	1	1	1		0,13	0,03	<0,01	0,06
10. Дон-2	<0,01	1	<0,01	0,08	1	<0,01	0,02	0,38	0,21		1	1	1
11. Везелка	<0,01	<0,01	<0,01	0,28	0,36	0,02	0,06	1	0,48	1		0,06	1
12. Разумная	<0,01	<0,01	<0,01	0,14	0,47	0,03	0,85	0,67	0,61	1	1		0,02
13. Пруд	<0,01	0,15	<0,01	0,02	0,59	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,14	<0,01	<0,01	

изучаемом районе моллюск обладает широкой внутри- и межпопуляционной изменчивостью, как по размерным характеристикам, так и по форме раковины. Это подтверждают результаты PCA-анализа, анализа perManova, а также кластерного анализа. При этом, геометрическая морфометрия оказалась более чувствительным методом по сравнению с традиционной конхотрией (Табл. 5). В данном случае высокая дифференциация групп по форме раковины лучше отражает неоднородность биотопических условий на территории юга Среднерусской возвышенности.

Известно, что на метрические параметры раковины водных моллюсков значительное влияние оказывают гидрологические характеристики водоемов [Вакег, 1928]. Отличия в картинах распределения популяций, полученных в ходе кластерного анализа, вероятно, свидетельствуют о различных векторах естественного отбора, определяющих форму и размер раковин. Хотя определенные общие тенденции все же наблюдаются. Так, при использовании обоих методов, обнаружены статистически значимые отличия между популяциями из разных речных бассейнов, что вероятно связано с их географической изоляцией.

Тем не менее, наблюдаемый паттерн кластеризации выборок, не совпадающий с географическими дистанциями между группами, может быть следствием того, что на форму и размер раковин оказывают определенное влияние микробиотопические условия, которые могут быть сходными в

географически удаленных пунктах, где векторы естественного отбора обуславливают формирование сходной формы раковины и близких ее размеров. При этом, несмотря на ландшафтную приуроченность, гидрологический режим даже близко расположенных водоемов может сильно различаться, обуславливая гетерогенность среды. Известно, что в условиях юга Среднерусской возвышенности водоемы представляют собой сильно изменчивую среду с клинами температуры воды, высыхания, изменения трофики, пресса хищников [Degtyar *et al.*, 2016]. К тому же, как и в любой другой урбанизированной среде, они сильно подвержены влиянию человека [Lisetsky *et al.*, 2015]. Вследствие этого, даже у близко расположенных популяций, в силу их изоляции, появляется некая генетическая оригинальность, которая, вероятно, сказывается на их конхиометрических показателях.

В заключение хотелось бы отметить, что для предотвращения потери важных данных, при использовании геометрической морфометрии важно проводить исследования в сочетании с методами классической морфометрии, учитывая размерные характеристики объекта исследования. Результаты полученные, на основе данного подхода могут быть использованы для более точной оценки внутри- и межпопуляционной изменчивости. Что, тем самым значительно расширяет наши представления об экологических особенностях видов и микроэволюционных процессах, протекающих в их популяциях.

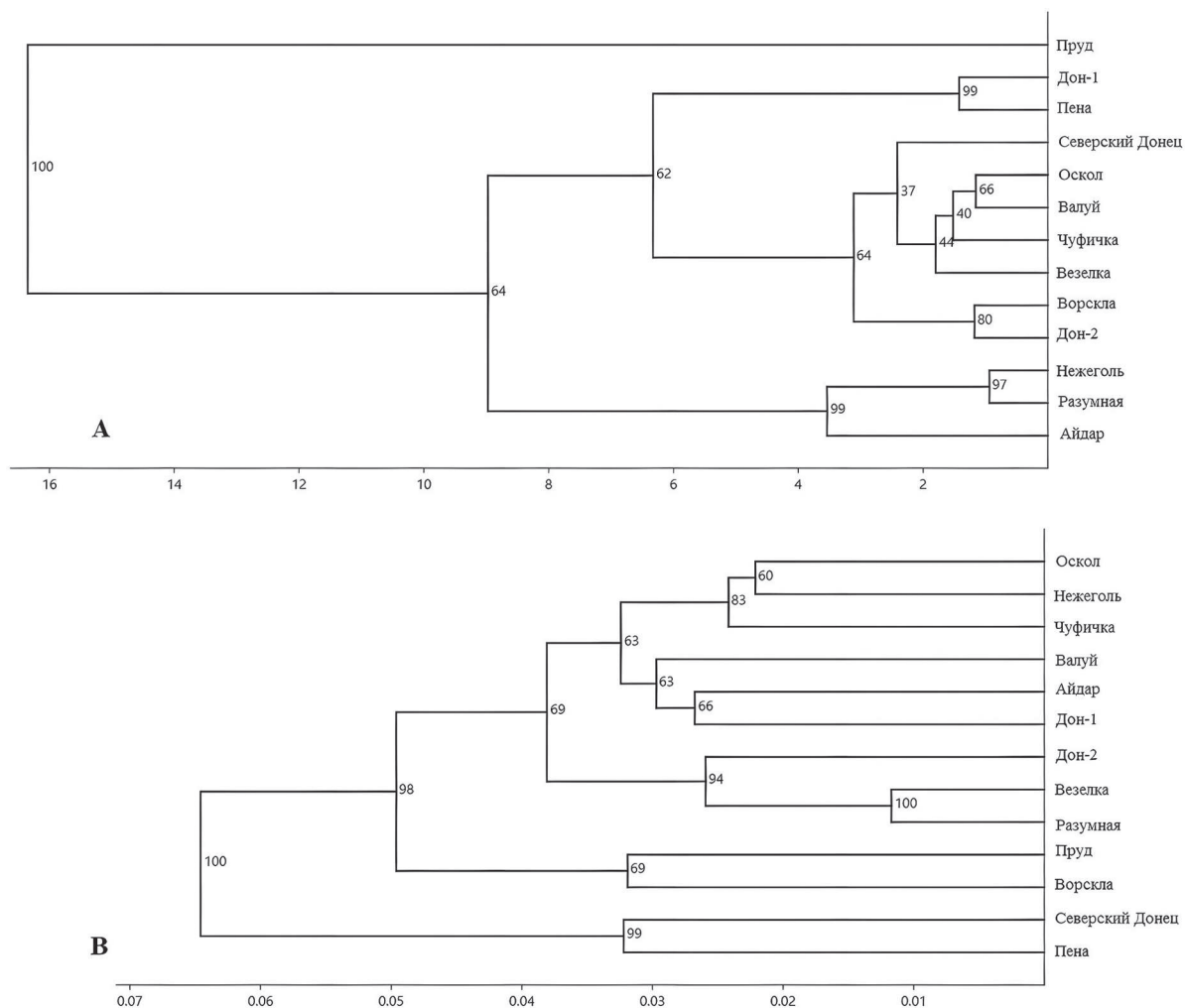


РИС. 5. Результаты кластерного анализа методом UPGMA с использованием бутстреп-процедуры при 1000 повторных репликах: А – при классической морфометрии, В – при геометрической морфометрии.

FIG. 5. Results of cluster analysis by UPGMA method using bootstrap procedure with 1000 repeated replicas: A – with classical morphometry, B – with geometric morphometry.

Благодарности

Авторы выражают благодарность анонимным рецензентам и редакторам журнала *Ruthenica* Ю.И. Кантору и М.В.Винарскому за ценные рекомендации и конструктивные замечания.

Литература

- Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 71(1): 5–16.
- Atli G., Grosell M. 2016. Characterization and response of antioxidant systems in the tissues of the freshwater pond snail (*Lymnaea stagnalis*) during acute copper exposure. *Aquatic Toxicology*, 176: 38–44.
- Baker F. 1928. Influence of a changed environment in the formation of new species and varieties. *Ecology*, 9(3): 271–283.
- Benítez H.A.; Püschel T.A. 2014. Modelando la vari-

anza de la forma: Morfometría geométrica aplicaciones en biología evolutiva. *International Journal of Morphology*, 32: 998–1008.

- Bookstein F.L. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 198 p.
- Degtyar A.V., Grigoryeva O.I., Tatarintsev R.Yu. 2016. *Ecology of Belogorye in figures*. Constant, Belgorod, 122 p.
- Fedorov V.G. 2009. Comparative data on the variability of shells of two species of molluscs of the genus *Lymnaea* (Gastropoda, Lymnaeidae). *Almanakh sovremennoy nauki i obrazovaniya*, 11(1) 187–191 [In Russian].
- Glöer P. 2002. *Die Süßwassergastropoden Nord- und Mitteleuropas: Bestimmungsschlüssel, Lebensweise, Verbreitung*. Conchbooks, Hackenheim, 327 p.
- Hammer Ø., Harper D., Ryan P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia electronica*, 4: 9.
- Hubendick B. 1951. *Recent Lymnaeidae. Their variation, morphology, taxonomy, nomenclature and dis-*

- tribution. Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar, Almqvist & Wiskell, Stockholm, 222 p.
- Jackiewicz M. 1998. European species of the family Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata, Basommatophora). *Genus*, 9(1): 1–93.
- Khokhutkin I.M., Vinarski M.V., Grebennikov M.E. 2009. *Mollusks of the Urals and the adjacent territories. The Family Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeiformes)*. Goshchitsky, Yekaterinburg, 156 p. [In Russian].
- Kruglov N.D. 2005. *Mollusks of the pond snail family (Lymnaeidae Gastropoda Pulmonata) of Europe and North Asia (Ecological features and parasitological significance)*. Publishing house of SGPU, Smolensk, 508 p. [In Russian].
- Lance E., Brient L., Bormans M., Gérard C. 2006. Interactions between cyanobacteria and Gastropods: I. Ingestion of toxic *Planktothrix agardhii* by *Lymnaea stagnalis* and the kinetics of microcystin bioaccumulation and detoxification. *Aquatic Toxicology*, 79(2): 140–148.
- Lisetsky F.N., Degtyar A.V., Buryak Zh.A., Pavlyuk Ya.V., Narozhnyaya A.G., Zemlyakova A.V., Marinina O.A. 2015. In Lisetsky F.N. (Ed.). *Rivers and water bodies of Belogorie*. Belgorod: Constant. 362 p. [In Russian].
- Mozley A.A. 1937. Biological study of the Sub-Arctic Mollusca. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 78(1): 147–189.
- Pavlinov I.Ya. 2001. Geometric morphometrics, a new analytical approach to comparison of digitized images. *Information Technology in Biodiversity Research: Abstracts of the 2nd International Symposium*. St. Petersburg: Russian Academy of Science, 44–64.
- Pavlinov I.Ya., Mikeshina N.G. 2002 Principles and methods of geometric morphometry. *Zhurnal obshchey biologii*, 63(6): 473–493 [In Russian].
- Piaget J. 1929. L'adaptation de la *Limnaea stagnalis* aux milieux lacustres de la Suisse Romande. *Revue Suisse de Zoologie*, 36: 263–526.
- Rohlf F.J. 2006. *TpsDig2, Digitize Landmarks and Outlines*, version 2.10. Stony Brook, NY: State University of New York.
- Stone J.R. 1998. Landmark-based thin-plate spline relative warp analysis of gastropod shells. *Systematic Biology*, 47: 254–263.
- Terentiev P.V. 1928. Variability of shells of *Limnaea (Limnus) stagnalis* L. from the environs of Cherdyn. *Russkij gidrobiologicheskij zhurnal*, 7(3–4): 81–86 [In Russian].
- Terentiev P.V. 1961. Shell variability of *Lymnaea stagnalis* (L.). *Trudy Leningradskogo obshchestva estestvoispytateley*, 72(1): 96–97 [In Russian].
- Terentiev P.V. 1970. Geographical variability of shells of the great pond snail. *Vestnik Leningradskogo universiteta*, 21: 146–154 [In Russian].
- Tsikhon-Lukanina E.M. 1987 *Trophology of aquatic molluscs*. Moscow: Nauka, 145 p. [In Russian].
- Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Shkurikhin A.O. 2018. *Geometric morphometrics: from theory to practice*. KMK Scientific Press, Moscow. 471 p. [In Russian].
- Vinarski M.V. 2010. Ecological variability of the shells of the great pond snail (on the question of the reality of the subspecies of *Lymnaea stagnalis*). *Ekologiya ot yuzhnykh gor do severnykh morey*. Materials of the conference of young scientists, April 19-23, Yekaterinburg: Goshchitsky: 40–44 [In Russian].
- Vinarski M.V. 2014. A comparative study of shell variation in two morphotypes of *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata). *Zoological Studies*, 53(1): 69.
- Vinarski M.V. 2015. Conceptual shifts in animal systematics as reflected in the taxonomic history of a common aquatic snail species (*Lymnaea stagnalis*). *Zoosystematics and Evolution*, 91(2): 91–103.
- Zakhvatkin A.A. 1927. Variability of *Limnaea stagnalis* L. in the Solovetsky Lakes. *Materialy solovetskogo obshchestva kraevedenija*, 7: 7–17 [In Russian].
- Zatravkin M.N. 1979. *Variability of the great pond snail (Limnaea stagnalis) from two natural populations*. *Zoologicheskij zhurnal*, 58(8): 1230–1232. [In Russian].
- Zelditch M., Swiderski D.L., Sheets H.D., Fink W.L. 2004. *Geometric morphometrics for biologists: A primer*. Elsevier, London, 437 p.
- Zhadin V.I. 1923. Variability of *Limnaea stagnalis* in water bodies near the city of Murom. *Russkij gidrobiologicheskij zhurnal*, 2(5-7): 97–106 [In Russian].
- Zhadin V.I. 1928. On the study of the variability of freshwater molluscs *Limnaea stagnalis* L. var. *goktschana* Mouss. *Russkij gidrobiologicheskij zhurnal*, 7(5–7): 146–151 [In Russian].
- Zhadin V.I. 1952 *Mollusks of fresh and brackish waters of the USSR*. AS USSR Publishing House, Moscow, Leningrad, 376 p. [In Russian].