

# Metode istraživanja pomaka obilježja

---

**Kleiner, Iva**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2010**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:691660>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-20**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK

Metode istraživanja pomaka obilježja  
Methods in studying character displacement

SEMINARSKI RAD

Iva Kleiner  
Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)  
Voditelj: doc.dr.sc. Vesna Benković  
Suvoditelj: dr.sc. Duje Lisičić

Zagreb, 2010.

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJA IZA CDa.....	2
3. METODE ISTRAŽIVANJA I PRISTUPI .....	4
3.1 Biometrijske metode.....	4
3.2 Molekularne metode.....	8
5. POPIS LITERATURE .....	11
6. SAŽETAK.....	12
7. SUMMARY .....	12

## 1. UVOD

Sam pojam pomaka obilježja relativno je nov- prvi put su ga 1956. definirali Brown i Wilson kao fenotipske promjene vezane uz korištenje resursa ili ponašanja prilikom parenja. Pomak obilježja (eng. *character displacement*- CD) vrsta je divergentnih fenotipskih promjena na populaciji jedne vrste koja je u simpatriji sa drugom, ekološki vrlo sličnom vrstom. Kompeticija najčešće može biti oko zajedničkih resursa (tzv ekološki CD) ili oko privlačenja partnera (reproduktivni CD). Nažalost, CD vrsta je dvosjeklog mača- pojedinci sa pomakom obilježja u simpatriji imaju veći fitnes od onih koji to nemaju (na taj način smanjuju kompeticiju), ali u usporedbi s pojedincima u alopatriji smanjen im je fitnes (Pfenning i Pfenning 2005).

Prilikom proučavanja ovog fenomena uglavnom su istraživane životinje (nešto malo i biljke), i to raznih skupina- kukci, ribe, gmazovi, vodozemci, sisavci i dr. Postoji dosta metoda kvantificiranja i objašnjavanja CD- od biometrijskih do molekularnih koje se često upotpunjuju filogenijom.

## 2. TEORIJA IZA CDa

Ovisno odvija li se kompeticija nad zajedničkim resursima (npr hrana, teritorij) dvije simpatrijske populacije ili nad potencijalnim partnerima, definirani su ekološki i reproduktivni CD.

Ekološki CD je evoucijski proces koji djeluje na morfološkim, bihevioralnim ili fiziološkim razinama jedne populacije određene vrste koja je u simpatriji sa drugom, ekološki sličnom vrstom. Rezultat može biti konvergentni ili divergentni CD. Smatra se da divergentni CD nastaje zbog kompeticije oko hrane, te dolazi do modifikacija ponašanja vezanih za ostvarivanje prehrambenih potreba. Na ovaj način dolazi do razdvajanja postojećeg izvora hrane, čime se smanjuje kompeticija. Indikacije za ovu vrstu CD sličnosti su dviju populacija u alopatriji i različitosti u simpatriji. Suprotno tome (sličnosti u simpatriji, različitosti u alopatriji dvije populacije raznih vrsta) nalazi se konvergentni CD. On najvjerojatnije nastaje zbog teritorijalne kompeticije simpatrijskih populacija, a mijenja osobine vezane uz dobivanje i održavanje teritorija- npr ponašanja vezana uz zastrašivanje i pretnje, obilježavanje i glasanje (Scott i Foster 2000). Ali i divergentni CD može nastati zbog sličnosti vezanih uz agresivno ponašanja prilikom obrane teritorija, kao što je primjećeno kod daždevnjaka (Adams 2004).

Reproduktivni CD odnosi se na promjene u ponašanju prilikom parenja, a nastaje zbog kompeticije nad potencijalnim partnerima i mjestima za gnijezđenje. Kod njega može doći do promjena u ponašanju (dručkijih kriterija odabira partnera) ili fenotipskih promjena (dručkiji izgled, glasanje). Reproduktivni CD može se smatrati dijelom ekološkog CD s kojim je povezan preko promjena ponašanja (Pfenning i Pfenning 2005).

Prirodna selekcija trebala bi ići u korist novih fenotipova, ali ove prilagodbe ponekad dolaze sa cijenom- smanjenim fitnessom koji može povećati vjerojatnost „Darwinovog izumiranja“ (izumiranje zbog interakciji s drugom vrstom). Ovaj fenomen smanjenja fitnesa odnosi se na ancestralni fenotip, te se javlja u simpatriji sa ograničenim resursima i partnerima. Naravno, nova adaptacija može populaciji dati bolji ili isti fitness (u usporedbi sa prethodnim fenotipom) što se događa u staništima sa malo kompetitora i puno resursa gdje se male grupice ishodišne vrste brzo prilagode raznim novih ekološkim nišama (Pfenning i Pfenning 2005).

No ponekad, može se dogoditi kako promjenama sličnim gore navedenim nije uzrok CD makar se prije tako smatralo (Scott i Foster 2000). Bilo kako bilo, ovaj je pojam još uvijek relativno subjektivan, pa ni netreba jako čuditi što nije opisan dobar primjer (teoretski mogućeg) konvergentnog CD.

### 3. METODE ISTRAŽIVANJA I PRISTUPI

#### 3.1 Biometrijske metode

Prilikom proučavanja CD (bilo ekološkog ili reproduktivnog) najčešće se koriste razne biometrijske i bihevioralne metode, ali se u današnje doba sve više ide na molekularne analize u kombinaciji sa filogenijom ili čak biokemijom. Od morfoloških promjena proučavaju se razlike u veličini i izgledu tijela ili dimenzije lubanje (žabe, anolisi, daždevnjaci - kod daždevnjaka otkiveno je kako agresivnije vrste imaju jaču čeljust), a od bihevioralnih, promjene ponašanja prilikom parenja, obrane teritorija te hranjenja (ribe, daždevnjaci). Uvijek se uspoređuju rezultati dobiveni u simpatriji sa onima iz alopatrije.

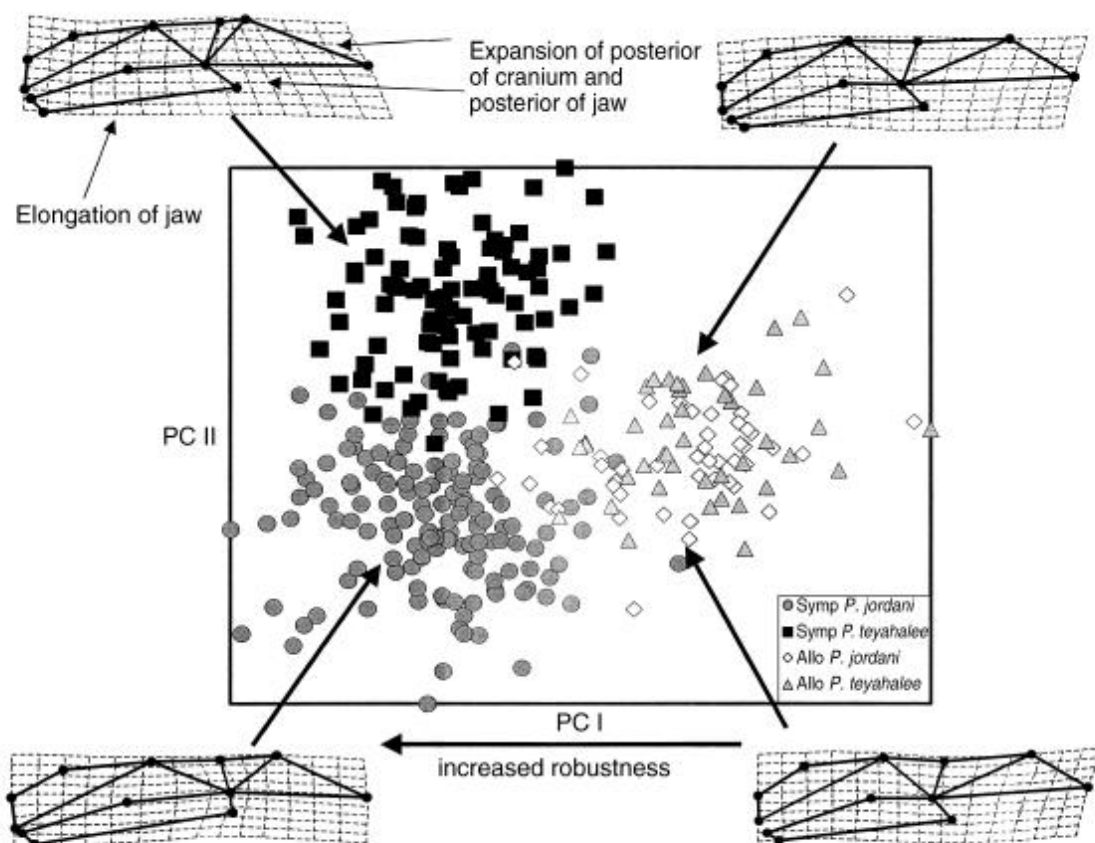
Npr kod nekih srodnih vrsta američkih žaba (*Spea bombifrons* i *S. multiplicata*) otkrivena je povezanost veličine tijela odraslih jedinki sa tipom punoglavca (sl. 1). U alopatriji obje su ove vrste vrlo slične prilikom parenja (mužjaci krekeču brzo, a ženke biraju snažnije), te rade sličan omjer dva oblika punoglavca- omnivoran (mali i sporo razvijajući koji se hrani detritusom) ili karnivoran (veći i brže rastući, sa jačim mišićima čeljusti boljim za lov račića i drugih punoglavca). U simpatriji se to drastično mijenja. Da bi se izbjeglo križanje među vrstama, *S. multiplicata* mužjaci razvijaju sporiji zov, a ženke biraju one slabije kondicije (reproduktivni CD na djelu). Njihovi su punoglavci manji i prilagođeniji ishrani detritusom (omnivorni oblik), te nemogu kompetirati *S. bombifronsu* (čiji su punoglavci veći i jači, te se bolje hrane), što znači kako se zbog slabije ishrane i slabijeg rasta razvijaju i slabiji pojedinci, što rezultira smanjenom plodnosti ženki i slabijom formi mužjaka, te u konačnici smanjenu preživljenja od samog početka.



**Slika 1** *S.multiplicata* omnivori (lijevo) i karnivori (desno) iste starosti i lokve (Preuzeto iz: Pfenning i Pfenning 2005)

Promjene ponašanja odnose se na drukčije ponašanje prilikom odabira partnera ili čuvanja teritorija. Kod žaba roda *Spea* vidjeli smo kako se ženjkama mijenjaju kriteriji za mužjake, a kod daždevnjaka otkrivena je povezanost povećanja agresivnosti (u simpatriji) sa značajnim morfološkim promjenama. Čim se eliminirala mogućnost kompeticije oko hrane kao uzrok CDA, sam eksperiment bio je vrlo elegantan. Uspoređivala se kranijalna morfologija južno apalčkih daždevnjaka (*Plethodon teyahalee*) i jordanovih daždevnjaka (*P.jordani*) u simpatriji i alopatriji (sl. 2). Statističkim testovima napravljeni su grafički prikazi gdje se vidi kako skoro nema morfoloških razlika u alopatriji, dok u simpatriji obje vrste pokazuju značajne promjene, ali je kod *P.teyahalee* dodatno izdužena i ojačana čeljust. To je i logično, pošto je ta vrsta po prirodi agresivnija, a griženje je glavni način obrane ovih guštera.





**Slika 2.** Analiza kranijalne morfologije *P. jordani* i *P. teyahalee* u simpatriji i alopatriji. PC I odgovara unutarvrstnim razlikama simpatrijskih i alopatrijskih populacija. PC II predstavlja međuvrstne razlike između *P. jordani* i *P. teyahalee*. (Preuzeto iz: Adams 2004)

Prilikom provođenja bihevioralnih ili morfoloških pokusa bitno je što više simulirati prirodne uvjete, u suprotnom može doći do krivih rezultata- kao što je ispalo sa konvergentim CDom kod koljuške (*Gasterosteus aculeatus*). Koljuška u slatkim vodama ima karakteristično šareno nuptijalno obojenje (crveni ventralni dio i plavo-zeleni dorzalni, sl. 3), dok u otpadnim vodama uz prisutnost endemske olimpijske crнке (*Novumbra hubbsi*, sl.4) poprima njihovo crno svadbenu ruho. Smatralo se da je izlaganje prijetećeg obojenja nastalo zbog međusobne kompeticije za teritorij i njegovog lakšeg zadržavanja. Prvo su 90'ih godina u laboratoriju nastojali odgonetnuti javlja li se obojanost samo zbog teritorijalnosti ili je vezana sa reprodukcijom. Pokus nije bio vjeran prirodnim uvjetima, životinje su bile u fizički odvojenim akvarijima, sa dopuštenim vizualnim kontaktom, ali i nedostajala mu je kritična kontrola, te nisu dobiveni nikakvi konkretni rezultati. Prije par godina, Foster i Scott ovaj su

eksperiment preselili u prirodu gdje su pomoću velikih kaveza kontrolirali prisutnost tj. odsutnost crnke i adekvatno tome istraživali unutarvrsne teritorijalne interakcije prema uspješnosti formiranja gnijezda obje forme koljuški. Također, proučavali su nekoliko gnijezdećih populacija prirodnih monomorfnih crnih koljuški kao jedan oblik kontrole pokusa. Prilikom postavljanja kaveza pažljivo su odabirali mjesta- što otvorenija sa što manje vegetacije, vodili su računa o prirodnoj gustoći riba i teritorijalnosti. Kontrolni kavezi imali su samo ženke crnke, a testni isti broj mužjaka i ženki crnki. Za koljuške mjerilo se dosta parametara- teritoriji, broj gnijezda i potomka. Iako je pokus bio dobro postavljen i dugotrajan, sa puno podataka, rezultati su bili negativni. Na kraju nije dokazan utjecaj prisutnosti ili odsutnosti crnki na svadbenu obojanost koljuški, tj konvergentni CD.



**Slika 3** Normalno svadbenu ruho *G. aculeatus* (Preuzeto iz: aquariumofpacific.org)



**Slika 4** *N. Hubbsi* (Preuzeto iz: palaeos.com)

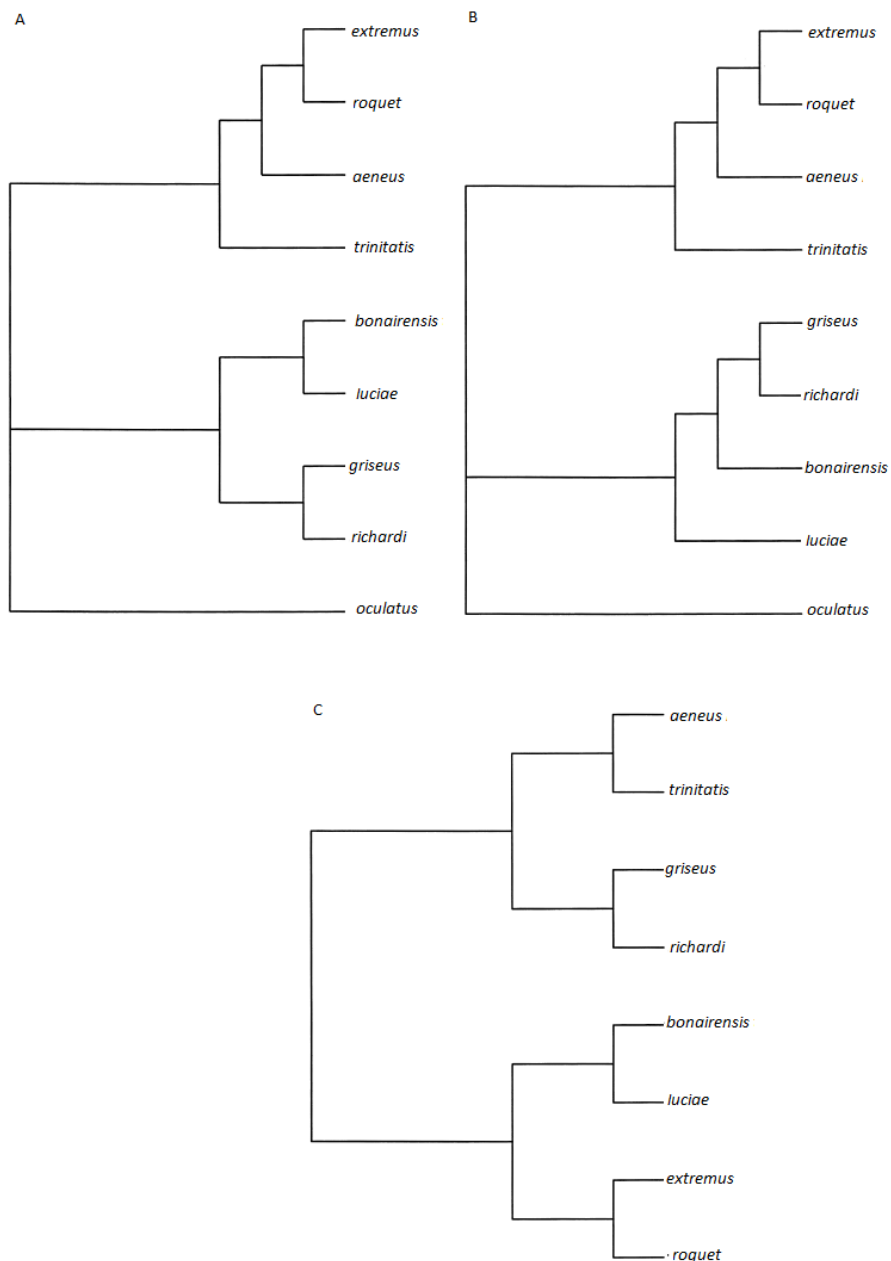
### 3.2 Molekularne metode

Ove vrste analizi temelje se na informacijama dobivenih iz nukleinskih kiselina i/ ili proteina, te su velika pomoć filogeniji koja je nekad potrebna za ~~dalje shvaćanje/~~ bolje razjašnjenje CDa. Sa njima se mogu identificirati i klasificirati organizmi (kod morfometrijski sličnih vrsta poput punoglavaca *Spea* korištena je mitohondrijska DNA za određivanje pripadnosti *S. bombifrons* ili *S. multiplicata*), te može pomoći u odgonetavanju njihove evolutivne prošlosti (srodnosti među taksonima, uspoređivanje danšnjih potomka sa (hipotetskim) pretkom). Kod CDa nastoji se saznati kada se u prošlosti dogodilo odvajanje neke osobine, kako se razvijalo, te je li u konačnici uvjetovalo nastanku nove vrste. Za to se često koriste molekularni markeri mitohondrijske DNA (mtDNA) koja se za razliku od jezgrine DNA brže mijenja, te je bolja za proučavanje bližih i srodnijih taksona.

Jedan od često korištenih mitohondrijskih markera je citokrom b (cyt-b mtDNA) koji se u filogeniji smatra jako dobrim „genom za početnike“. Na njemu je kod anolisa i ždralova dokazano kako je tranzicija (prijelaz purina u purin, ili pirimidina u pirimidin) jedan od glavnih razloga rane divergencije. Kod ždralova su provedena detaljnija istraživanja, te je otkriveno kako je kod svih vrsta u ranim fazama divergencije uglavnom dolazilo do tranzicijskih tih mutacija pirimidina na trećoj poziciji, te kako frekvencija krivo sparenih baza (adenin-citozin) raste što su mlađa odvajanja pojedinih vrsta (Krajewski i King 1996).

Ovaj je marker korišten prilikom pobijanja prijašnje, dosta jake Lososove hipoteze koja govori kako je za promjenu veličine tijela *Anolis roqueta* zaslužan samo *size assortment* a ne CD. Prema toj teoriji vrste već u alopatriji pokazuju različitosti u veličini, a te su promjene nastale kompetitivnim isključenjem ili *interbreedingom* (međuvrsto križanje), pa samo vrste sa različitom veličinom tijela mogu opstati, dok prema CDu, vrste iste veličine u simpatriji divergiraju i tako minimiziraju kompeticiju. Giannasi, Thorpe i Malhotra su iz vrška repova karipskih anolisa izolirali cyt-b mtDNA, te su određenim početnicama umnožili željenu sekvencu, koju su zatim analizirali, te prema tim rezultatima i raznim filogenetskim metodama (MP: maximum-parsimony, ML: maximum-likelihood ili NL: neighbour-joining) rekonstruirali moguća filogenetska stabla. Sva su imala sličnu topologiju i bila su ukorijenjena sa *A. Oculatus* kao izlaznom skupinom (sl. 5). Statističkim testovima ispitalo se imaju li čvorovi koji se mijenjaju u simpatriji/alopatriji veću promjenu tijela, od onih čvorova koji su isti u simpatriji/alopatriji. To se ispostavilo kao točno, a u svim modelima zamijećen je trend rasta veličine tijela potomaka. Prijašnja teorija govorila je kako evolucija tijela anolisa ide

prilično sporo, ali se danas smatra kako je bila dosta brža. Kada su usporedili prijašnja stabla sa ovima, hipoteza minimalne evolucije (stablo sa najmanjim zbrojem duljine grana smatra se najtočnijim) pokazala se izrazito lošom, što govori kako *size assortment* sam ne može objasniti evoluciju veličine tijela *A.roquet*.



**Slika 5** Filogenetska stabla ukorijenjena sa *A.oculatus*om. (A) MP i NJ stablo, (B) desno ML stablo, (C) stablo sa minimalnom evolucijom (*size assortment* teorija) (Preuzeto iz: Giannasi, Thorpe i Malthora 2000)

Biokemijske metode rijetko se koriste kod istraživanja CDa, i to uglavnom kao pomoć u identifikaciji organizama. Tako se pomoću alozima specifičnih za vrstu (*Spea multiplicata* ili *S.bombifrons*) klasificiralo njihovo potomstvo (punoglavci).

Naravno, bitna je i količina dobivenih informacija. Što je veći i raznolikiji uzorak na kojem provodimo što više dobro osmišljenih pokusa, to su manje vjerojatnije i lakše uočljivije greške i točnije hipoteze. Izuzetno je bitna pravilna uporaba statističkih testova i modela, svaki sa svojim prednostim i manama.

## 5. POPIS LITERATURE

- Adams D.C. (2004) Character Displacement Via Aggressive Interference in Appalachian Salamanders. *Ecology* **85** (10), pp. 2664–2670
- Giannasi N., Thorpe R.S. i Malthora A. (2000) A phylogenetic analysis of body size evolution in the *Anolis roquet* group (Sauria: Iguanidae): character displacement or size assortment? *Molecular Ecology* **9**, 193–202
- Krajewski C. i King D.G. (1996) Molecular Divergence and Phylogeny: Rates and Patterns of Cytochrome b Evolution in Cranes. *Journal of Molecular Biology and Evolution* **13**, 21–30.
- Pfenning K.S. i Pfenning D.W. (2005) Character displacement as the “best of a bad situation“: fitness trade-offs resulting from selection to minimize resource and mate competition. *Evolution* **59** (10), pp. 2200–2208
- Scott R.J. i Foster S.A.(2000) Field data do not support a textbook example of convergent character displacement. *Proc. R. Soc. Lond. B* **267** , 607-612  
<http://mbe.oxfordjournals.org/content/10/5/1073.short>

## **6. SAŽETAK**

Iako su još uvijek dosta oprečna mišljenja o CDu i njegovom utjecaju na vrste, smatra se bitnim uzrokom adaptivne raznolikosti. Često se naziva „najbolje u najgoroj situaciji“ jer unatoč smanjenju kompeticije, smanjuje fitnes dotične populacije (u usporedbi sa „originalnom“ populacijom u alopatriji). Postoji pregršt starijih radova koji opisuju CD sa morfološkog stajališta, ali vrlo malo onih kojih su to i na molekularnom nivou ispitali, no vjerojatno će budućnost ići u ovom smjeru i rasvijetliti mnoge nedoumice.

## **7. SUMMARY**

Even though there are still opposite views on CD and its effect on species, it is considered one of the major causes of adaptive divergence. Often it is called “the best of a bad situation”, because at the cost of generating fitness trade-offs, it reduces competition between two sympatric populations. There is a plethora of older articles describing character displacement from a morphological point of view, but very few from a molecular perspective. Perhaps the future will go in this direction and illuminate many of today's dilemmas.