Какие результаты нам нужно обсудить?

Иду по результатам и пишу вопросы с комментариями:

Начать надо с того, что в предыдущих исследованиях наличие двух морфотипов, по-видимому, просмотрели. Хотя в некотррых работах и упоминается наличе более слабо развитого перламутра (палеонтологическая работа). «aragonite/calcite ratio very low (usually calcitic incursion below ligament area)»

1. Почему мы наблюдаем разные варианты морфотипов?

Про Т-морфотип:

Почему в каком-то случае полоса темная и широкая (архитипический беломорский вариант), а в каком-то она становится тонкой и бледной? Про бледную – это понятно, потому что призматический слой может быть сам по себе светлее чем темно-синий. Это кстати, определяется условиями в которых растет мидия, если она растет в темноте, то у нее более светлые раковины (есть где-то ссылка). А вот почему тонкая? Это вообще нужно обсуждать?

Над чем надо точно задуматься, так это над тем, почему в Балтике мало Т-морфотипов, а в Баренцевом море соленом, мало Е-морфотипов. То есть это так в лоб не связано с соленостью.

Про Е-морфотип:

Ну тут то же самое, что эта полоса может быть, но она покрыта тонким слоем перламутрового слоя. Почему такое происходит? Может сюда приплести про возможную онтогенетическую изменчивость? Что в некоторых выборках, где средний размер особей достаточно высокий, мы видим, что язычок может зарастать? И сослаться на статью про балтийских мидий, где показано что, чем старше мидия (длиннее раковина), тем больше у неё становится перламутра. И сказать, что у нас крупных литоральных мидий почти не бывает, как правило, поэтому у нас всё ок. Ну в новой версии результатов уже написано про это. Зарастание язычка - это одна из гипотез, которую надо озвучить, сославшись на данные статьи, где показано, что чем солонее, тем больше перламутра. Однако надо эту статью пнуть, так как они в Балтике не рассматривали генетическую особенность мидий (то, что они троссулусы), а запихивали их в общий анализ с эдулисами.

Здесь нужно сформулировать еще гипотезы, которые не связаны с тем, что морфотип является функцией от внешней среды, а является генетически обусловленным признаком. Вот как раз здесь неплохо смотрелась бы история про гибридов и то, что у них морфотипы плавают в зависимости от того кого больше в популяции.

Если делать про это какой-то абзац, то можно тут как раз процитировать палеонтолога Виссенигха, где в описании МТ он писал: «aragonite/calcite ratio very low (usually calcitic incursion below ligament area)»

1. Анализ изменчивости морфотипов по q-values и наблюдаемая зависимость сенситивити и специфисити от преваленс (модель 2). Мне кажется, что их нужно обсуждать вместе!

GAM1 (вероятность иметь Т-морфотип у разных q-values):

Как и ожидалось, чем ближе q к 1, тем больше вероятность иметь язычок, и наоборот для МЕ. Однако здесь интересен тот результат, что в «чистых» МЕ выборках, МТ-подобные гибриды не имеют язычка. И наоборот для МЕ (в «чистых» МТ выборках, МЕ-подобные гибриды имеют язычок. То есть, гибриды становятся морфологически похожи на тот вид, который преобладает в поселении! Как это объяснять? Интрогрессия? Misidentification? Какой-то адаптивный характер язычка? Я вот не знаю, откровенно говоря, надо думать всем вместе.

Мы считаем, что это явление стоит за наблюдаемой зависимостью сенситивити и специфисити от преваленс (Модель 2). Потому что там минорный генотип представлен не чистыми особями, а в основном или напополам гибридами, на которых морфотип-тест ошибается. Приводим аналогию с минорным состоянием пациентов, которое в популяциях с высоким или низким распространением болезни, является не очевидным, а рассматривается как «скорее болен/здоров». Эта ситуация ещё усугубляется тем, что даже золотой стандарт может быть иногда оценен неправильно для минорного состояния (это как раз мисидентификэйшн).

Здесь можно построить обсуждение на следующей интриге. В клинической медицине тоже говорят про то, что может наблюдаться зависомость сенситивити и спесифисити от преваленса. Но там эта зависимость имеет, скорее методологическую природу (как сформирована выборка, как измеряют и т.п.) в нашей ситуации есть биологическая основа этой связи - это гибридизация.

1. Что влияет на вероятность корректной идентификации? GAM2 и модель 4

Мне кажется, что мы больше лажаем с МТ-подобными гибридами, потому что, как показано в Католиковой, гибриды имеют промежуточную морфологию, если рассматривать z-индекс. А в нашей бинарной классификации в категорию МТ как раз попадают гибриды с таким состоянием язычка, которое мы называем Е-морфотипом. Возможные причины ошибок в идентификации минорного генотипа в чистых поселениях отчасти объяснены выше. Но не стоит забывать, что так и должно быть, согласно теореме Байеса.

В целом, наблюдаемые нами закономерности согласуются с теоретически ожидаемыми: в чистых поселениях мы не верим особям с минорным состоянием морфотипа. Таким образом, в опресненных местообитаниях Кольского полуострова, рекомендовать верить (т.е. когда вероятность корректной идентификации больше 0.5) Т-морфотипу мы можем в поселениях с Ptros от 0.05 до 1, а Е-морфотипу – от 0 до 0.75 (согласно линиям регрессии по WBL).

1. Сенситивити и специфисити (модель 2) и экураси (модель 3).

Мы использовали эти характеристики точности, чтобы формально оценить различия в точности морфотип-теста в выделах из Кольской гибридной зоны. Различия в частотах морфотипов (т.е. между сенситивити и 1-специфисити) в пресных местообитаниях были одинаково высоки (в районе 70%), и более низкими в соленых (около 30%). В последнем случае это связано с тем, что среди МЕ повышена частота Т-морфотипа. Это мы обсудим в разделе про региональную и макрогеографическую изменчивость язычковости.

Точность морфотип-теста высока в пресных местообитаниях, что и понятно, потому что там высокие значения специфисити и сенситивити. Наблюдаемая связь точности с Ptros в Белом море может быть объяснена несбалансированностью набора данных: в этом выделе у нас очень много «чистых» МЕ выборок. А для чистых выборок эта характеристика не очень годится, потому что ошибки в идентификации минорного состояния её не очень снижают. То есть в Белом море в чистых выборках всё слишком ок, потому что их там просто очень много. Будь 1 или 2, то линия регрессии так бы себя не вела, как мне кажется.

В случае с солеными местообитаниями, связь точности с Ptros можно объяснить следующим образом: чем больше в выборке МЕ, тем точность ниже, потому что в соленых местообитаниях морфотип-тест лажает на МЕ (среди них много язычков).

1. Макрогеографическая и региональная изменчивость язычковости

Мы наблюдаем изменчивость сенситивити и специфисити как в региональном (соленое Баренцево, где среди МЕ много язычковых), так и в макрогеографическом (в Балтике и Норвегии среди МТ много безъязычковых) масштабах. Плюс в GOM тоже есть две странные выборки, в которых картина, как в Балтике и Норвегии. Почему такое может быть?

Гипотеза 1: Т-морфотип как функция от толщины раковины в разных абиотических условиях.

По известным всем закономерностям: чем холоднее, тем меньше арагонита (перламутра, тк он энергетически более дорогой) и недавним исследованиям (на соотношение слоёв в раковине влияет солёность: чем преснее, тем меньше перламутра, потому что пресная вода – агрессивная среда), мы бы ожидали увидеть: в пресной Балтике все ракушки имеют Т-морфотип, в пресной и холодной Арктике – тем более!

Однако мы видим другую картину в макрогеографическом масштабе: пресная Балтика и какая? Норвегия – среди МТ много безъязычковых. Стоит отметить, что первооткрыватель Золотарев тоже не отмечал язычка у балтийских мидий. В зонах контакта, где признак работает (Белое и пресное Баренцево, Америка и Шотландия) –соленость не игрок, потому что GOM полносолёный. Я бы ещё отметила, что там везде сенситивити меньше, чем специфисити, те МТ чаще без язычка бывает, чем МЕ с язычком.

Из всей этой картины очевидно выбивается солёное Баренцево море, где большинство МЕ имеют язычок! Это выглядит так, будто бы язычок является в высоких широтах нормальным состоянием для МЕ, но в агрессивной кислой среде (опресненные местообитания) она себе его почему-то заращивает и становится Е-морфотипом..Подобный пример реагирования на стрессовую ситуацию уже был показан для мидий МЕ-МТ: при атаке хищников: МЕ умеет утолщать себе раковину, а МТ не умеет. Но в этой работе не указано, за счёт какого из слоёв раковины происходит её утолщение. Но вообще, считается, что наращивание перламутра в умеренных и теплых широтах как раз спасает от хищников. Поэтому, возможно, возможно МЕ себе как раз перламутр и наращивала.

1. Гипотеза о заращивании язычка, мягко говоря, не доказана. (По мне так и не верна). Поэтому строить на ней какие-то выводы не стоит. Ее надо рассматривать как одно из возможных объяснений, которым, да, согласуется то, что в некоторых случаях чем больше размер, тем меньше вероятность встретить Т-морфотип. Но этот факт может меть и другое объяснение - мидии с Т-морфотипом не доживают до больших размеров. Поэтому гипотезу зарастания не надо выпячивать.
2. В отношении утолщения раковины во взрослой жизни есть только одна возможность - увеличивать именно преламутровый слой (такова морфология моллюска).
3. На мой взгляд, полученные нами данные противоречат гипотезе о солености, как ведущем факторе географической изменчивости работоспособности морфотип-теста. У нас есть опресненные места где морфотип отлично работает (WBL), опресненное место, где он работает плохо (BALT, мы можем узнавать по нему только троссулусов). У нас есть полносоленое место GOM, где тест более или менее работает. Есть полносленое место, где он скорее всего работает (SCOT) и полносоленое место, где он работает плохо (BH) где тест позволяет узнать эдулисов по Е-морфотипу, но не троссулусов по Т-морфотипу. Стало быть причина этой изменчивости не в тупом влиянии параметров среды, типа в соленой воде лучше зарастает, а в какой-то генетике-эволюции. Я считаю, что здесь виновата интрогрессия: в каких-то условиях Эдулисы косят под троссулусов, а каких-то троссулусы под эдулисов.
4. Может надо рассуждать по-другому? В чем, собственно, разница между морфотипами? Хотя мы этого точно и не знаем, но можно предположить, что у Т- перламутр недоразвит. Встает вопрос: в чем преимущества и недостатки от такого морфотипа. Мидии Т-морфотипа не тратятся на очень дорогой преламутр. Это выгодно в условиях, где меньше еды или больше затрат на что-то другое. Например, в среде, где почему-то надо расти в длину быстрее более выгодно иметь Т-морфотип. Поэтому эдулисы, обладающие Т-морфотипом получают селективное преимущество и спеифисити тогда будет падать. Но! Так ли это в отношении BH? Зайдем с другого бока. У Т-морфотипа более гибкая, более легкая, но менее прочная раковина. Где будет выгодно иметь такой фенотип? Может среди фукоидов? Тогда почему в WBL, где фукоидов дофига этого не наблюдается? Может потому, что там еще не устаканились процессы отбора? Теперь про Е-морфотип. У него, возможно более прочная и более тяжелая раковина. Тогда давайте придумаем, почему это становится выгодным в BALT для тросулусов?
5. По-моему, для целей статьи не надо вообще лезть в рассуждения почему морфотип-тест где-то работает, а где-то нет или хуже. Надо ограничится констатацией того, что эта вариация связана с процесами гибридизации и интрогрессии (то, что это так видно из картинки с GAM). Интрогрессия же может идти по-разному в разных географических зонах. В одних зонах эдулисы внедряют гены, отвечающие за Е-морфотип в троссулусов (BALT, отчасти GOM), а в других троссулусы внедряют гены Т-морфотипа в эдулисов (BH). Почему так - надо проводить дополнительные исследования.

В целом, наращивание перламутра в агрессивной среде (кислой пресной воде) не согласуется с базовыми эко-физиологическими концепциями (раковина в таких средах должна быть скорее тонкая). Но, может быть, мы просто чего-то не знаем о формировании раковины в условиях крайнего севера? Где-то я видела ссылку о недоизученности механизмов всего чего угодно у арктических беспозвоночных..

Но пока это выглядит так, что язычок в макрогеографическом масштабе это не функция от толщины раковины. Наоборот!!! толщина раковины - это функция от морфотипа. Это просто функция от развития призматического слоя в районе лигамента, на которую, почему-то, влияет солёность или тесно скореллированные факторы в условиях крайнего севера. НЕЕЕЕ!!! Призматический слой не изменяется самим моллюском после формирования призматического слоя, моллюск как-то может менять только перламутровый слой. Кроме того, еще раз, соленость как раз не влияет, судя по тому, что мы получили. Отличие WBL от BH связаны не с соленостью. Про это надо будет специально описать, что здесь мы ошиблись, хоть и, пользуясь могучей интуицией, правильно разделили выделы.

Ещё остаётся вопрос с GOM, где в региональном масштабе тоже есть оутлаеры. Думаю, что надо объединить две выборки, как в статье у Сары.

Гипотеза 2: разная эволюционная история и разные паттерны гибридизации и интрогрессии.

Как мы знаем, балтийская МТ – это какая-то отдельная сущность, которая эволюционировала в Балтике, и балтийская гибридная зона является унимодальной по своей внутренней структуре (гибридных генотипов больше, чем родительских). В Норвегии гибридов также много, но МТ туда не из Балтики пришла..

Как мы показали на богатом материале из Кольской гибридной зоны, морфотип-тест лажает на гибридах. Поэтому он может лажать и в Балтике и Норвегии. В бимодальных зонах (Кольская, GOM, Шотландия) всё прилично работает. Но опять же, здесь непонятно, почему лажа в солёном Баренцевом.

А вот это очень правильно! А главное согласуется с тем, что я писал выше. Там где интрогрессия идет там все плохо. Но! Вот как быть с BH? Там ведь тоже бимодаьная гибридная зона. Или нет?

1. Практические рекомендации

Мы показали, что морфотип-тест может быть использован для предсказания состава поселений и идентификации отдельных особей МЕ и МТ в опресненных местообитаниях Кольского полуострова, в заливе Мэн, и, возможно, в Шотландии. В Норвегии и Балтике по Т-морфотипу мы можем идентифицировать МТ, но не МЕ по Е-морфотипу, также в Балтике и Норвегии даже невысокая частота Т-морфотипа в поселении означает, что там доминирует МТ. Ровно противоположную картину мы наблюдаем в полносоленом Баренцевом море: верить можно Е-морфотипу, и если Е-морфотипа в выборке уже хоть процентов 30-50%, то там доминирует МЕ.

Исследователям мидий из Белого и опресненных участков Баренцева моря, мы рекомендуем пользоваться уравнениями, полученными нами на основе анализа богатого материала (Модель 5 для предсказания состава поселений, Модель 4 для предсказания таксономической принадлежности особей, см таблицу ESM).

Для исследователей из других, менее изученных зон контакта (Америка, Шотландия), мы можем посоветовать следующий более простой путь: