

УДК: 632.7: 634.8

**ПЕРВИЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ
ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ВНУТРИВИДОВОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГРОЗДЕВОЙ ЛИСТОВЕРТКИ
(*LOBESIA BOTRANA* DENIS&SCHIFFERMÜLLER) В УСЛОВИЯХ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ**

Орлов О.В., м.н.с.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия
E-mail: orlovov@mail.ru*

Реферат. В работе представлены первичные результаты применения методов геометрической морфометрии на внутривидовую структуру популяции гроздевой листовертки (*Lobesia botrana*) в Краснодарском крае. Оценивается возможность поиска морфологических маркеров для резистентных популяций вредителя. Представлены результаты диапазона внутривидовой изменчивости структуры переднего крыла.

Ключевые слова: *Lobesia botrana*, гроздевая листовертка, EGVM геометрическая морфометрия, лэндмарки, вредитель, резистентность, TPS.

Summary. The research findings primary outputs infraspecific diversity European grapevine moth by geometric morphometrics methods.

Keywords: *Lobesia botrana*, European grapevine moth, EGVM, geometric morphometrics, landmarks, outlines, pest, resistance, TPS.

Введение. Расцвет методов обработки цифровой информации способствует развитию методов работы с тонкими геометрическими преобразованиями различных форм объектов. Так в классической биологической морфометрии выделилась так называемая “геометрическая морфометрия”. Теоретическая база была сформирована в 80-х годах XX века [1, 2]. На рубеже столетий происходит популяризация геометрической морфометрии, написан ряд научных монографий, программ и пакетов для обработки цифровой информации, руководств пользователям [3–9]. В 2018 г. на русском языке вышла монография [10], описывающая как теорию, так и процесс работы с основными программными пакетами по геометрической морфометрии.

Особенности геометрической морфометрии в отличии от традиционной морфометрии:

- Независимость морфометрических изменений от размеров организмов – проводится нормирование данных.

- Методы работы с формой, а не с отдельными признаками: метрическими (длинами, весами, угловыми величинами) и не метрическими (количеством отдельных элементов). Метод учитывает количественные размерности сразу между множеством точек.

В начале XXI века совокупность методов находит применение в селекции, экологии, палеонтологии, систематике, филогенетике, эволюционистике и др. Методы, позволяющие разделять и маркировать популяции, строить филогенетические деревья нашли прикладную область применения и в защите растений. Так в работе, проведенной в США [11], были выявлены значимые морфологические различия популяций западного кукурузного жука (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1868), отличающихся по резистентности к защитным мероприятиям. В нашей работе была поставлена цель оценить возможность поиска морфологических маркеров, как индикаторов различных популяций

экономически значимого вредителя винограда гроздевой листовертки (*Lobesia botrana* Denis&Schiffermüller, 1775).

Объекты и методы исследований. По воздействию экологических факторов были отобраны две группы бабочек гроздевой листовертки (*L. botrana*). В работу вошли самцы третьей генерации 2019 года, привлеченные на феромонные ловушки. Группа, численность которой контролируется инсектицидами на основе синтетических гормонов из популяции п-ова Тамань, близ п. Кучугуры (35 шт.), и группа бабочек из предместий г. Краснодар (Новая Адыгея) - 38 шт., популяция не подверженная систематическому химическому прессингу.

В работе использовали правые передние крылышки. Чешуйки удалялись с помощью кисточки, крылышки фиксировались между покровным и предметным стеклышками. Фотографии сделаны при помощи фотонасадки Levenhuk M1000 plus и микроскопа BresserAdance ICD в формате JPEG.

Расстановка меток (landmarks) и полуметок (outlines) производилась при помощи пакета программ TPS [5, 6]. Были выделены 8 гомологичных меток первой категории [8] у основания жилок центральной ячейки №1–7 и у пересечения анальной жилки (A1+2) с краем крыла - метка №22 (Рисунок 1). Также от вершины птеростигмы по внешнему краю до места соприкосновения анальной жилки (A1+2) с краем крыла была проведена окаймляющая кривая (backgroundcurves), описывающая форму частично костальной, апикальной, маргинальной и торнальной части крыла. На этой кривой автоматически выставлялись на равных расстояниях друг от друга 15 полуметок, в последующем с помощью пакета tpsUtil [6], переведенные в метки (№ 8 – 22) (рис. 1). Для меток и полуметок используются различные методы расстановки [9].

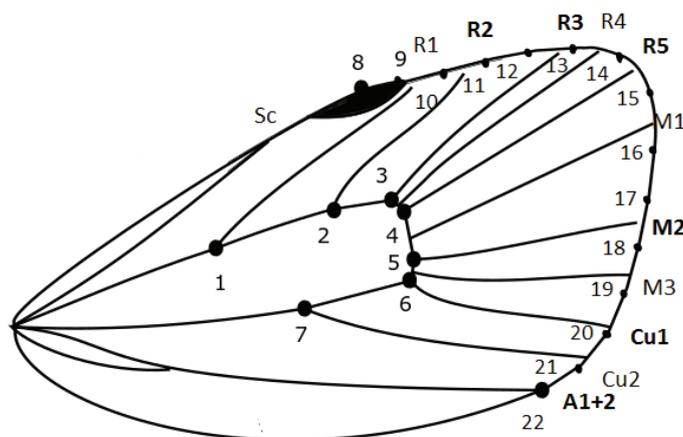


Рис. 1 Схема расстановки меток (landmarks) № 1 – 7 и пятнадцати полуметок (outlines) № 8 - 22 на переднем крыле имаго гроздевой листовертки (*L. botrana*)

Перевод меток из декартовых координат в прокрустовы, статистический анализ данных: дискриминантный анализ, матрица несоответствий (confusionmatrix), складной нож (jackknife), анализ главных компонент (PCA) проведен в программе PAST 2.17c [12]. Анализ главных компонент также был проведен в программе MorphoJ 1.07a [13].

Обсуждение результатов. Дискриминантный анализ выявил значимые различия между двумя группами гроздевой листовертки. Чтобы выявить наиболее пригодные наборы меток для маркирования популяций был проведен дискриминантный анализ для

каждого набора отдельно (таблица № 1). При сравнении меток первой категории наиболее значимые различия между выборками ($p=0,0003$) у набора меток (№ 1–7, 22). Включение в анализ окаймляющей кривой (метки № 1-8, 12, 14, 19, 20, 22) увеличило уровень значимости ($p=0,0001$) и позволило пройти тест матрицы несоответствий.

Таблица 1 - Уровень значимости и тесты классификации дисперсионного анализа двух выборок различных наборов гомологичных меток.

Показатели значимости различий выборок	Номера меток				
	3–6	1–7	1–8	1–7, 22	1-8, 12, 14, 19, 20, 22
р-значение	0,012	0,02	0,001	0,0003	0,0001
Матрица несоответствий	Не прошел	Не прошел	Не прошел	Не прошел	Прошел
Складной нож (jackknife)	Не прошел	Не прошел	Не прошел	Не прошел	Не прошел

Как видно из рисунка 5, основные различия между выборками наблюдаются в сближении – удалении меток 3 и 4, а также меток № 5 и 6 относительно друг друга. Популяция из предместий г. Краснодар характеризуется небольшим расстоянием между основаниями жилок R3 и R5; и жилок M2 и Cu1 на центральной ячейке в сравнении с популяцией из п-ова Тамань, п. Кучугуры. Что подтверждается дисперсионным анализом меток № 3 – 6 ($p = 0,012$), таблица 1.

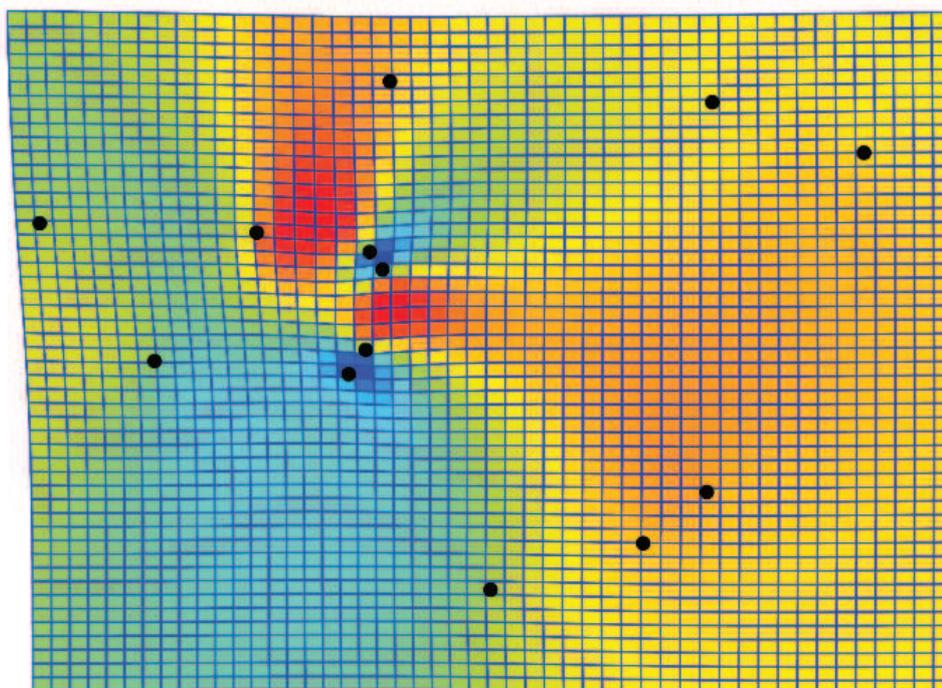


Рис. 2 Визуализация изменения формы поверхности крыла по дискриминирующим переменным двух популяций. Спектр в сторону красного – растяжение поверхности, спектр в сторону синего – сжатие.

Анализ главных компонент выявил 78,4 % кумулятивную изменчивость формы по четырем главным компонентам (Рис 2). Вдоль главной компоненты №1 (PC1) происходит вытяжение костальной и апикальной части крыла (на рисунке представлен обратный процесс, максимально наблюдаемое сжатие относительно среднего значения меток). Вдоль главной компоненты №2 (PC2) происходит вытяжение маргинальной части крыла и смещение метки № 8 т.е. птеростигмы в базальном направлении. Кумулятивная изменчивость формы по первым двум главным компонентам составляет 51,6 % от общего значения. Такое преобразование формы на вытяжение продольной оси крыла, вытяжение апикальной части, спрямление закругленных краев говорит о изменении геометрии крыла, связанной с летными характеристиками, в частности для стремительного маневренного полета, или наоборот, если изменения происходят в обратном направлении: скругление апикальной и торнальной части и вытяжение, округление маргинальной части – для равномерного продолжительного полета [14].

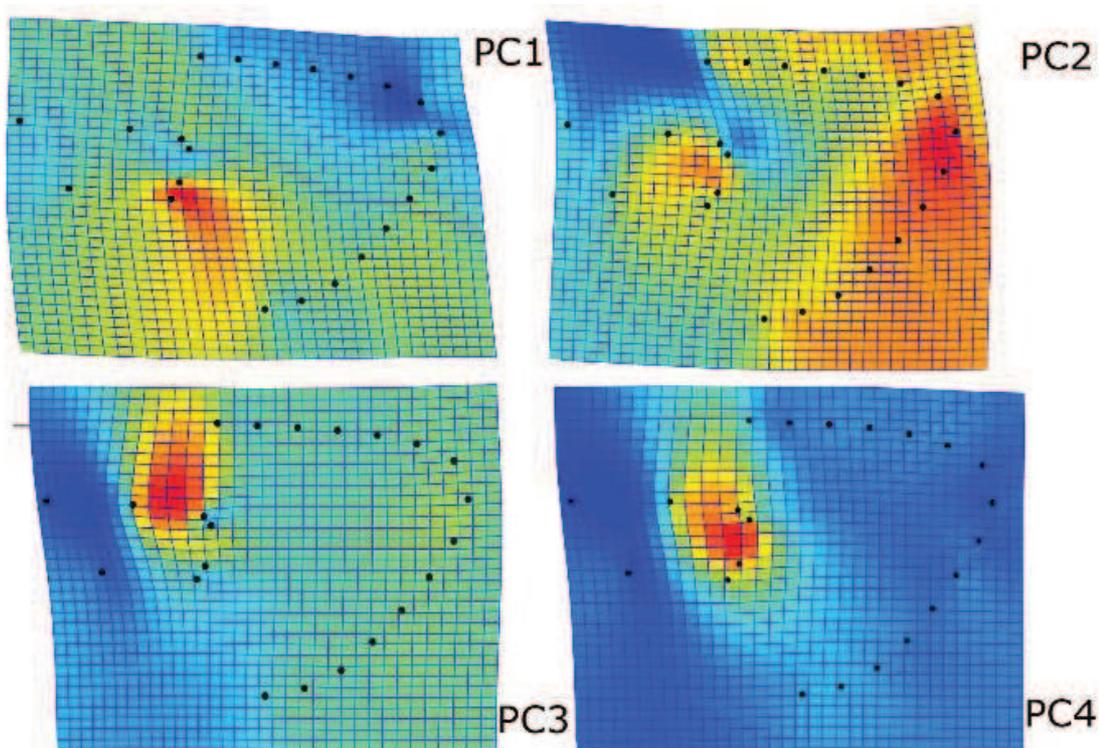


Рис. 2 Визуализация изменения формы крыльев по четырем главным компонентам (PC1 – PC4). Спектр в сторону красного – растяжение поверхности, спектр в сторону синего – сжатие.

Вдоль главной компоненты № 3 и № 4 наблюдаются изменения, связанные с морфологическим положением оснований жилок на центральной ячейке. 16,9 % изменчивости (главная компонента №3 или PC3) от общей изменчивости формы крыла во многом связана с положением основания радиальной жилки R2. Это положение фиксировалось меткой № 2. 11 % от общей изменчивости формы наблюдается вдоль главной компоненты № 4 (PC4). Наиболее характерная изменчивость связана с диапазоном расстояний между парами меток № 3 и 4, а также № 5 и 6. Иными словами в популяции имеется широкий диапазон изменчивости длины жилки между основаниями радиальной R5 и основанием медиальной M2 жилок на центральной ячейке.

Выводы. Дискриминантный анализ двух выборок гроздовой листовертки третьей генерации по двум отличающимся по экологическим факторам популяциям выявил значимые отличия в строении крыла. Данная работа показывает, что возможно найти доступные, не дорогостоящие морфологические маркеры для фиксирования различий между популяциями вредителя винограда гроздовой листовертки.

Анализ главных компонент выявил внутривидовую изменчивость геометрии крыла, что связано с летными характеристиками отдельных особей. Также была выявлена тонкая внутривидовая морфологическая изменчивость жилкования крыла.

Литература

1. Bookstein, F.L. The elements of latent variable models: a cautionary lecture / F.L. Bookstein, M.E. Lamb, A.L. Brown [et al.] // *Advances in developmental psychology*. - 1986.- Vol.4.- P.203–230.
2. Kendall, D.G. Shape manifolds, procrustean metrics and complex projective spaces // *Bull. Lond. Math. Soc.* - 1984.- Vol.16.- P. 81–121.
3. Rohlf, F.J. Relative warps analysis and example of its application to mosquito wings / F.J. Rohlf, L.F. Marcus, E. Bello, [et al.] // *Contributions to morphometrics*. Madrid: C.S.C.I.- 1993. - P.131–160.
4. Rohlf, F.J. Morphometric spaces, shape components and the effect of linear transformations / F.J. Rohlf, L. Marcus, M. Corti [et al.] // *Advances in morphometrics*, Plenum Press. - N.Y.- 1996.- P.131–152.
5. Rohlf, F.J. TpsDig version 2.10. // *Ecology & Evolution: (program)*, Suny at Stony Brook, N. Y.- 2006.
6. Rohlf, F.J. TpsUtil version 1.40. // *Ecology & Evolution: (program)*, Suny at Stony Brook, N. Y.- 2008.
7. Bookstein, F.L. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology / Cambridge Univ. Press. - N.Y.- 1991.- 435p.
8. Zelditch, M.L. Geometric morphometrics for biologist: a primer / M.L. Zelditch, D.L. Swiderski, H.D. Sheets [et al.] // Elsevier Acad. Press. - N.Y.- 2004.- 443 p.
9. Павлинов, И.Я., Микешина Н.Г. Принципы и методы геометрической морфометрии / И.Я. Павлинов, Н.Г. Микешина // *Журн. общ. Биол.* - 2002. Т. 63, №6. - С. 473–493.
10. Васильев, А.Г. Геометрическая морфометрия: от теории к практике / А.Г. Васильев, И.А. Васильева, А.О. Шкурихин // Товарищество научных изданий КМК. – М.- 2018. - 471 с.
11. Katarina, M. Changes in corn rootworm wing morphology are related to resistance development / M. Katarina, D.L. Mikac, A. Hugo [et al.] // *Journal of Pest Science*. - 2019.- Vol.: 92.- P. 443–451. - Режимдоступа: <https://doi.org/10.1007/s10340-018-01077-2>
12. Hammer, O. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis / O. Hammer, D.A.T. Harper, P.D. Ryan // *Palaeontologia Electronica*. - 2001.- Vol. 4, № 1.- P. 4-9.
13. Klingenberg, C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics // *Mol. Ecology Res.* - 2011.- Vol. 11, P. 353–357.
14. Berwaerts, K. Does flight morphology relate to flight performance? An experimental test with the butterfly *Parargeaegeria* / K. Berwaerts, H. Van Dyck, P. Aerts // *Functional Ecology*. - 2002.- Vol. 16.- P. 484–491.