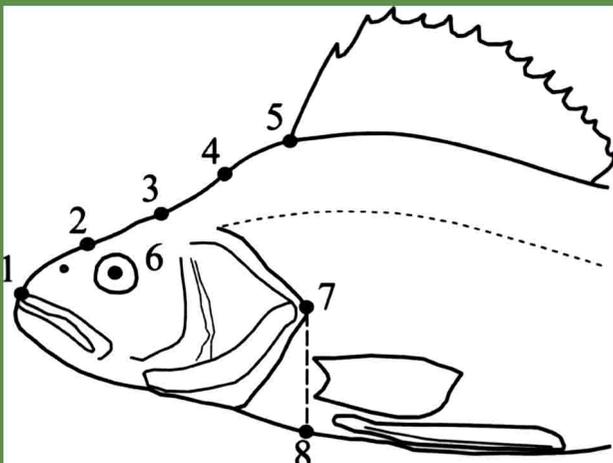
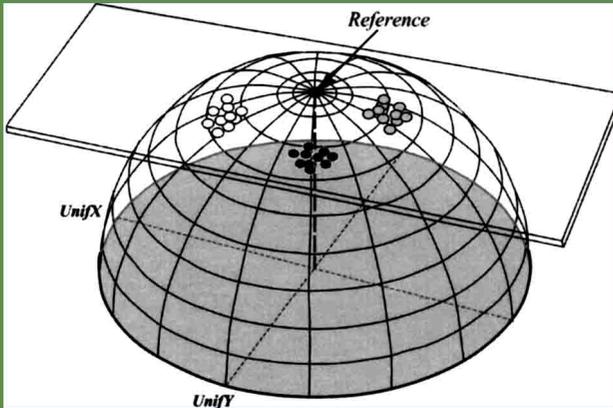


А. Г. Васильев  
И. А. Васильева  
А. О. Шкурихин

# ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ МОРФОМЕТРИЯ

от теории к практике



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ  
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
Институт экологии растений и животных

А. Г. Васильев, И. А. Васильева, А. О. Шкурихин

**ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ МОРФОМЕТРИЯ:  
ОТ ТЕОРИИ К ПРАКТИКЕ**

ТОВАРИЩЕСТВО НАУЧНЫХ ИЗДАНИЙ КМК  
Москва ❖ 2018

УДК 575.83:575.21  
ББК 28.62+28.66  
В19

**Васильев А. Г., Васильева И. А., Шкурихин А. О.** Геометрическая морфо-метрия: от теории к практике. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2018. 471 с.

В монографии представлено описание традиционных и новых методов в области геометрической морфометрии (ГМ). Книга предназначена для биологов, желающих освоить эти методы самостоятельно, и содержит детальные рекомендации для начинающих по применению наиболее популярных компьютерных программ (TPS, IMP, MorphoJ и др.). Предложен новый подход — фенограмметрия, позволяющий применять методы геометрической морфометрии для решения задач фенетики и популяционной феногенетики. Приведены примеры применения ГМ, включая решение задач таксономии, морфокартирования филогений и оценки филогенетического сигнала в морфологических данных у разных групп животных, оценки роли симпатрического формообразования в эволюции Дарвиновых вьюрков и флока африканских усачей (*Labeobarbus*). Изложен опыт разработки технологии экологического мониторинга на примере растений и животных с применением ГМ. Дан словарь понятий и терминов, используемых в ГМ. Книга представляет интерес для эволюционистов, систематиков, морфологов, экологов, преподавателей, аспирантов и студентов биологических факультетов университетов.

Табл. 13, Рис. 132, Библиограф. 335 назв.

**Ответственный редактор:**

*доктор биологических наук, профессор А. Г. Васильев*

**Рецензенты:**

*доктор биологических наук, профессор В. М. Ефимов*

*доктор биологических наук, профессор О. А. Жигальский*

*Монография подготовлена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН, а также при частичной финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН (проект № 18-4-4-28) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-04-01831-а).*

© ФГБУН ИЭРиЖ УрО РАН, текст, 2018

© А.Г. Васильев, И.А. Васильева, А.О. Шкурихин,  
текст, иллюстрации, 2018

© Т-во научных изданий КМК, издание, 2018

ISBN 978-5-6040894-2-2

FEDERAL AGENCY FOR SCIENCE ORGANISATIONS  
URAL BRANCH OF RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES  
INSTITUTE OF PLANT AND ANIMAL ECOLOGY

A. G. Vasil'ev, I. A. Vasil'eva, A. O. Shkurikhin

**GEOMETRIC MORPHOMETRICS:  
FROM THEORY TO PRACTICE**

KMK Scientific Press  
MOSCOW ❖ 2018

**Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Shkurikhin A.O.** Geometric morphometrics: from theory to practice. M.: KMK Scientific Press, 2018. 471 p. Tabl. 13. Ill. 132. Bibl. 335.

The authors represent a review of traditional and modern methods in a science domain known as Geometric Morphometrics (GM). The monograph is intended for biologists wishing to become familiar with GM independently. It comprises of the set of detailed recommendations for beginners how to use the most popular software programs (TPS, IMP, MorphoJ et al.). The original approach named phenogrammetry is developed to use GM in the population phenetics and phenogenetics. The book contains some illustrations of GM-using in practice included the solving problems in animal taxonomy, the morphological mapping onto phylogenies and the testing phylogenetic signal in morphological data in various taxonomic groups. The role of sympatric speciation in evolution is discussed on the example of the Darwin's finches and the African fish-flock *Labeobarbus*. Know-how developing biomonitoring technology for plants and animals by means of GM is presented. The glossary of principal terms, notions and concepts used in GM is provided. The book is addressed to biologist's interested in the evolutionary theory, systematics, morphology, ecology as well as to the lecturers, magisters, aspirants and students of high schools.

EDITOR-IN-CHIEF: PROF. A.G. VASIL'EV

REVIEWERS:

PROF. V.M. EFIMOV

PROF. O.A. ZHIGAL'SKII

*The Monograph was performed in the frame work of the State Contract of the Institute of Plant and Animal Ecology, UB RAS and partially supported by the Integrated Program of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (project no. 18-4-4-28) and Russian Foundation for Basic Research (project no. 16-04-01831-a).*

ISBN 978-5-6040894-2-2

© A.G.Vasil'ev, I.A.Vasil'eva, A.O.Shkurikhin, 2018

© IPAE, UB RAS, 2018

© KMK Scientific Press, 2018

«Наши формализации исправляют  
наши интуиции, в то время как  
наши интуиции формируют наши  
формализации»

Дж. Майхилл

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Уважаемый коллега! Стремительное появление геометрической морфометрии как особого раздела морфологических исследований в середине 90-х годов XX в. и дальнейшее её быстрое внедрение в различные области биологии настоятельно требуют специального тематического рассмотрения открывшихся в последние годы прикладных возможностей нового подхода. Подчеркнём, что пионерные исследования в России с использованием этой цифровой технологии провел Игорь Яковлевич Павлинов и его ученики и коллеги (Павлинов, 2000а, б; Павлинов, Микешина, 2002; Павлинов, Нанова, 2008 и др.). Интерес к данному подходу в мире с каждым годом возрастает, растёт и число публикаций. В нашей стране подобных исследований пока не так много. Поэтому возникает настоятельная необходимость показать широкому кругу специалистов-биологов те новые возможности, которые обеспечивает геометрическая морфометрия при решении фундаментальных и прикладных биологических задач. Наибольший интерес применение нового подхода представляет для систематики и экологии, поэтому мы решили сконцентрировать основное внимание на использовании геометрической морфометрии в этих областях науки. Несомненно, что данный метод также интересен для генетиков, палеонтологов, антропологов и других специалистов. Практический интерес геометрическая морфометрия вызывает в медицине, в частности лицевой хирургии и стоматологии, а также в области криминалистики и разработке методов биометрического поиска и распознавания лиц людей.

Следует заметить, что геометрическая морфометрия крайне математизирована и далеко не проста в понимании для биологов. Поэтому требуется первоначальный перевод такого сложного инструментария на доступный для неопитов уровень восприятия геометрической морфометрии как нового подхода и комплекса сопутствующих статистических методов и компьютерных программ. В предлагаемой вашему вниманию книге мы попытались осуществить такой упрощающий

«перевод». Во многом этому способствовало ознакомление с замечательной книгой М. Л. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004). В то же время читателю следует отдавать себе отчёт, что неизбежное упрощение этого революционного подхода в морфометрии оправдано лишь на первых шагах его изучения. Рекомендуем обязательно дополнить ознакомительную стадию дальнейшим углублённым изучением классических книг и статей Лесли Маркуса (Marcus et al., 1996), Фреда Букштейна (Bookstein, 1989a,b, 1991, 1996, 1997), Ф. Джеймса Рольфа (Rohlf, 1993, 1996, 2002) и Мириам Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004, 2012). Среди читателей профессиональные математики могут сразу обратиться к книге Смолла (Small, 1996) «Теория формы», которая для биологов сложна в такой степени, что советуем оставить её особо увлечённым этой проблемой математикам.

Хорошо известно, что работы по геометрической морфометрии содержат значительное число поясняющих иллюстраций, которые в журнальном варианте обычно неприемлемы и требуют дополнительного «пространства» для своего размещения. Поскольку в книге такого «пространства» несколько больше, чем в рамках журнальной статьи, это позволило авторам полноценно иллюстрировать и интерпретировать полученный материал. Ещё одно достоинство данной книги, на наш взгляд, состоит в том, что её первая часть (Главы 2–3) содержит обзор возможностей и конкретные рекомендации потенциальным пользователям ряда наиболее часто используемых, открытых и свободно распространяемых (freeware) компьютерных программ, реализующих методы геометрической морфометрии: APS, IMP, MorphoJ, Morphologika<sup>2</sup>, PAST, SAGE, TPS и др.

В последние годы в связи с широким распространением языка «R» для научного программирования и соответствующих пакетов R-программ появились специальные открытые компьютерные программы, нацеленные на решение задач геометрической морфометрии (shapes, geomorph, Morpho), краткий обзор которых также представлен в Главе 4 нашей книги. Полезные сведения по применению R-программ в геометрической морфометрии содержит замечательная книга Джулиана Клода (Claude, 2008).

Заключительное замечание касается того, что все используемые в книге примеры расчётов и результаты исследований получены с применением программ, работающих на платформе Microsoft Windows (MS Windows XP, Windows 7 и 8), а не Macintosh. Поэтому ссылки на существующие в мире Mac-программы для целей геометрической морфометрии мы не приводим и не обсуждаем.

Итак, желаем Вам, уважаемый читатель, удачи и успехов в освоении методов геометрической морфометрии, а также её использовании в различных биологических исследованиях. Полагаем, что Вам отчасти повезло, поскольку, ознакомившись с главами книги, в дальнейшем Вы гораздо легче проникнете в нелегкие детали техники геометрической морфометрии, чем это досталось на нашу долю.

*А. Г. Васильев, И. А. Васильева, А. О. Шкурихин*

Март, 2018 г. (г. Екатеринбург)

«Установление законов, по которым создаются органические формы, и есть идеал, к которому стремится эволюционная теория»

Л. С. Берг

## ВВЕДЕНИЕ

Новые времена неизбежно приносят и новые открытия, порождающие новые технологии, и постепенно одна идея сменяет другую, одни научные методы и подходы в значительной степени замещаются другими. В докомпьютерную эпоху появление геометрической морфометрии (Bookstein, 1997; Rohlf, 1999; Павлинов, 2000б; Zelditch et al., 2004) было невозможно. Сегодня это быстро развивающаяся область описания и моделирования формы самых разных объектов, дающая множество прикладных возможностей (Rohlf, 2002; Klingenberg, 2011, 2013a,b). В предлагаемой вашему вниманию книге мы намеренно будем рассматривать применение геометрической морфометрии только к решению биологических задач.

Каждое время закономерно порождает свои научные концепции, методы и технологии, а в борьбе идей, как правило, побеждают те из них, которые больше соответствуют существующей в представлениях современников «картине мира» (Чайковский, 1990, 2017). А. А. Любищев был убежден, что «теории никогда не строятся из фактов, но наоборот, факты получают освещение в свете теории». Аналогичную точку зрения выдвигал и К. Поппер, считавший, что «... «факты» не являются ни основой теории, ни их гарантией: они не более надежны, чем любые наши теории или «предрассудки»...». Поэтому мы должны признать, что нет просто фактов, а каждый факт становится таковым и может быть осознан только в рамках определённой теории. Значит, перспективы развития научной мысли в большей степени ограничиваются и определяются тем научным мировоззрением, которого придерживаются исследовательские коллективы, а лишь затем обусловлены арсеналом методов и технологий научного поиска, какие доступны на сегодняшний момент развития науки. Для понимания будущих перспектив использования геометрической морфометрии в биологии не только

как исследовательского аппарата или способа визуализации возможных трансформаций объектов, а как особой научной методологии изучения морфогенеза, нельзя не обратиться к истории представлений о природе возникновения биологической формы. Другими словами, нужно обратиться к истокам и причинам фенотипической изменчивости и морфологического разнообразия, возникающего в процессе индивидуального развития как веер вероятных морфогенетических состояний или реакций.

Поэтому в первой главе книги сделаем пусть краткую, но всё же серьёзную попытку разобраться в нелегком вопросе о том, что такое морфологический признак, изменчивость, фенотип и морфологическое разнообразие. Без таких попыток выбраться из очень глубокой, исторически накатанной колеи представлений о гене и морфологическом признаке нам, к сожалению, не удастся устремиться на «широкий простор», откуда будет видна современная биологическая «картина мира» (Чайковский, 2017) и где нас ожидает геометрическая морфометрия.

Напомним, что холистическая, системная идея «морфогенетического поля» (Гилберт и др., 1997) во времена появления хромосомной теории наследственности Т. Х. Моргана была просто обречена на поражение. Однако редуccionистский оптимизм генетиков, связанный с поиском молекулярной природы «гена», явно способствовал быстрому дальнейшему развитию молекулярной генетики и молекулярной биологии, что в результате, к некоторому удивлению самих генетиков, и обрушило значительную часть здания синтетической теории эволюции (СТЭ), которая считалась выдающимся сплавом генетики и дарвинизма. Геноцентрическая точка зрения относительно связи ген — признак, построенная на модели детерминации определённым геном той или иной морфологической структуры (называемой признаком), оказалась не только упрощённой, но и потребовала вновь возродить холистическую идею «морфогенетического поля». На рубеже XXI в. после открытия альтернативного сплайсинга, мобильных элементов генома, систем эпигенетической наследственности, а также «переоткрытия» молекулярными биологами идеи «морфогенетического поля» эукариотический «ген» сузился до «транскрипционной единицы» (Сингер, Берг, 1998). Сегодня идея «гена» материализовалась в виде реального фрагмента молекулы ДНК. Следует только радоваться тому, что при этом сам ген, под знаменем которого прошел XX век, пока не исчез и не растворился полностью в геноме.

Современный возврат к холистической парадигме индивидуального развития в русле возникшего в начале XXI в. синтеза эволюционистики, биологии развития и молекулярной генетики, которую называли эволюционной биологией развития — Evolutionary Developmental Biology или, как

Брайан Халл (Hall, 2000, 2003) шутливо его назвал, — Evo-Devo, с одновременным сохранением редуccionистских подходов отражает важный методологический аспект. Для того чтобы понять, как устроено «нечто целое», нужно сначала разобрать целое на части, а потом попытаться вновь эти части воссоединить, собрать воедино. Очевидно, что без аналитического компонента исследования, или редуccionии, невозможно осуществить синтез, или холистическое видение объекта. Поэтому методологически важно сочетать оба эти подхода, избегая крайностей, т.е. уклонения в чистый редуccionизм или холизм (Жерихин, 2003). С этой точки зрения генетический редуccionизм в виде идеи «гена» (молекулярного гена) должен, по-видимому, сочетаться и сосуществовать с холистической идеей «морфогенетического поля» биологии развития (Гилберт и др., 1997).

Геометрическая морфометрия, рассматривающая форму объекта как целостный признак, а изменения формы как набор состояний признака, позволяет эффективно сочетать редуccionистские и холистические аспекты изучения морфогенеза. Постараемся пояснить эту мысль. Морфогенез, как развитие и становление дефинитивной формы организма в онтогенезе, представляет собой процесс, который может отличаться у разных особей по скорости и содержанию (Беклемишев, 1994). В момент достижения одного и того же календарного или функционального возраста разными особями одного вида у некоторых из них может не только появиться, но и окончательно сформироваться та или иная часть фенотипа. У других эта часть либо не проявится, либо возникнет, ускорившись, другой элемент формы, которого нет у особей иного фенотипического класса (морфотипа). Поэтому морфологическое разнообразие фенотипов или изменчивость определённой отдельной черты строения — морфологического признака, при сопоставлении одновозрастных биологических объектов можно представить как горизонтальный срез морфологических состояний, характеризующий некоторый отрезок процесса морфогенеза данной группы (линии, популяции, вида).

Подобный приём С. В. Мейен (1984, 1988) определял как «процессуальную реконструкцию». Например, по проявлению широтной географической изменчивости (от южных к северным популяциям) можно попытаться реконструировать пути исторических изменений морфологии объектов при постепенном похолодании климата (и наоборот). В экологии такой приём реконструкции процесса по проявлению пространственной неоднородности тех или иных состояний объекта используется при воссоздании, например, кривых деградации или исчезновения вида на импактных участках по мере возрастания техногенного загрязнения (Воробейчик, 2004). Экологи получают на импактном участке набор сопряженных оценок доза–эффект и строят кривую, позволяющую

найти порог дозы воздействия, когда биологическая система уже не сможет её компенсировать и у неё произойдёт резкая деградация.

В рассмотренном выше случае при получении некоего среза допустимых морфогенетических состояний у одновозрастных особей популяции как в естественных условиях, так и при техногенных изменениях среды обитания мы можем реконструировать фрагмент протекания морфогенеза по вееру состояний формы. Применяя методы геометрической морфометрии, мы сможем количественно моделировать морфогенез данного фенотипа, морфотипа или морфоструктуры, а также визуализировать этот процесс. Обстоятельство, что геометрическая морфометрия в первую очередь характеризует морфогенетические изменения, является методологически крайне важным. В дальнейшем при рассмотрении различных аспектов в областях систематики и экологии мы будем постоянно использовать именно морфогенетическую интерпретацию выявляемых различий, которые благодаря геометрической морфометрии будут визуализированы и количественно оценены. В таком контексте морфоразнообразие внутри группы будет характеризовать главным образом морфогенетическое разнообразие, а объём морфопространства будет пониматься как область возможных морфогенетических реакций и фенотипических состояний.

Развитие кладистики, филогенетики и молекулярной филогеографии постепенно привело многих исследователей, с одной стороны, к осознанию недостаточности только молекулярно-генетических подходов при решении таксономических и эволюционных задач в русле этих дисциплин, а с другой, к пониманию необходимости дополнить их классическими и новейшими морфологическими подходами. Вновь актуальными становятся дискуссии о природе гомологии морфологических признаков. Сегодня в мировой науке активно обсуждаются природа морфологического признака, методы его выделения, проблема фенотипической пластичности и стабильности развития, способы описания морфопространства (*morphospace*) и морфологического разнообразия (*morphological disparity*). В этих случаях, как уже упоминалось выше, также могут быть эффективно использованы методы геометрической морфометрии. В книге мы попытаемся проиллюстрировать это на конкретных примерах.

Как хорошо известно, далеко не всегда сходство говорит о родстве (Мейен, 1975, 1988; Павлинов, 2005), что крайне важно учитывать при проведении исследований в области систематики. В свете недавних открытий молекулярной генетики и, главным образом, эпигенетики стало очевидно, что трудно ожидать полностью нейтральных как молекулярно-генетических, так и морфологических структур. В итоге исторического

формирования все они представляют собой продукт исторического структурно-функционального баланса на разных уровнях биологической организации: от молекул и клеток до организма и сообщества в целом. То, что может показаться нейтральным или неактивным сейчас, было выработано раньше и, несомненно, было актуальным, а также ещё может оказаться полезным при других условиях. Таким образом, при изучении морфологических структур от молекул до целых организмов среди них нет избранных и безупречных «летописцев» филогении.

Все морфоструктуры в той или иной степени функциональны и несут на себе экологический отпечаток, а также сложную историю перестроек и деформаций, поэтому искажают записи «летописи» в свою пользу. Единственный способ уловить филогенетический сигнал и нащупать правильный филетический путь — это привлечение в сравнительный анализ многих морфоструктур (генов, морфологических признаков) и поиск наиболее правдоподобных филогений на их основе. В последние годы появились подходы, позволяющие оценить сопряженность морфологических и филетических отношений между таксонами и провести морфологическое картирование молекулярной филогении, используя методы геометрической морфометрии для оценки уровня филогенетического сигнала в морфологических данных (Klingenberg, 2011). Любая морфоструктура, наряду со своими характерными структурными чертами — числом и способом соединения элементов, обладает размерами и формой. Геометрическая морфометрия позволяет рассмотреть эти аспекты отдельно, учитывая особенности формы и размеров при морфологическом картировании филогений.

В результате бурного становления молекулярной генетики и генетики развития за последнее десятилетие произошли революционные изменения представлений о системе и эволюции живых организмов в целом. Возникли новые научные направления: молекулярная систематика (геносистематика) и молекулярная филогенетика (генофилетика) (Антонов, 2000, 2002; Банникова, 2004; Павлинов, 2004, 2005а, б; Шаталкин, 2005). Полученные филогенетические реконструкции оказались во многом неожиданными даже в отношении таких хорошо изученных групп, как насекомые и млекопитающие. Назрела необходимость объединения результатов, полученных новыми молекулярными методами, с традиционными, классическими, главным образом морфологическими методами (Гилберт и др., 1997; Шаталкин, 2002, 2005; Rudel, Sommer, 2003; Воробьёва, 2005; Павлинов, 2005). Несомненный интерес представляет и понимание роли структурно-функциональной организации биологических сообществ в процессе морфологической эволюции (Чернов, 1984, 1991, 2005; Смирнов и др., 1986; Foote,

1993a,b, 1997; Поздняков, Литвинов, 1994; Сергеев, 2003; Смирнов, 2006). В этой связи появляются возможности для новой эколого-морфологической интерпретации палеонтологических данных и нового понимания макроэволюционных явлений при заполнении таксонами морфопространства (McGhee, 1991, 1999; Марков, Наймарк, 1998; Ciampaglio et al., 2001; Жерихин, 2003; Моуне, Neige, 2007; Васильев и др., 2010; Пузаченко, 2013). Все эти направления и аспекты исследований могут опираться на использование методов геометрической морфометрии.

Мы, конечно, далеки от мысли считать геометрическую морфометрию своеобразной «панацеей», пригодной для решения всех задач систематики и экологии, но широкие методические возможности этого направления нельзя отрицать.

Таким образом, для решения указанных выше проблем становится очевидной необходимость проведения сравнительного изучения морфологической изменчивости и разнообразия близкородственных таксонов разного ранга — от внутривидовых форм, включая популяции, инбредные линии лабораторных животных и подвиды, до аллопатрических форм спорного ранга (вид/подвид). Перспективным представляется изучение в этом направлении симпатрических видов-двойников, близких видов одной группы (подрода) и, наконец, видов, относящихся к разным родам и подсемействам.

Необходимо подчеркнуть, что в книге изложено авторское видение проблем, кратко очерчены современные представления о геометрической морфометрии, рассмотрены практические аспекты использования арсенала имеющихся в свободном доступе компьютерных программ, а также примеры конкретных исследований, нацеленных на решение задач систематики и экологии. Затронуты и возможности применения геометрической морфометрии для исследований, лежащих в русле сравнительно недавно сформулированных актуальных концепций фенотипической пластичности (Schlichting, Pigliucci, 1993; West-Eberhard, 2003, 2005), а также морфоразнообразия и морфопространства (McGhee, 1999; Navarro, 2003; Моуне, Neige, 2007).

Главной целью авторов книги было не только стремление к популяризации возможностей новой многомерной морфометрической технологии, но и желание показать на конкретных примерах, что с её помощью можно решать сложнейшие теоретические и прикладные задачи в области эволюционной и популяционной экологии, систематики и биомониторинга. Действительно, геометрическая морфометрия — это особая технология анализа формы объектов, позволяющая при использовании гомологичных элементов конфигураций легко переходить с популяционного уровня морфологических сравнений на ценотический уровень, что крайне сложно выполнить

в рамках традиционной многомерной морфометрии (этому во многом препятствуют различия в размерах). Таким образом, основная наша цель состоит в попытке несколько расширить границы традиционных применений геометрической морфометрии, исходя из негеноцентрических взглядов на изменчивость и морфоразнообразие, фенотип и фенон, признак и морфоструктуру. Важно было показать и методические преимущества геометрической морфометрии как нового подхода в решении ряда актуальных проблем систематики, а также эволюционной экологии и биомониторинга.

Многие вопросы в книге только поставлены и ждут своего дальнейшего решения, часть аспектов морфологического анализа мы сознательно не затронули, однако большинство высказанных идей опираются на значительный фактический материал, а предложенные нами методы вполне доступны и не требуют такого дорогостоящего оборудования, как приборы для молекулярно-генетических исследований. Исключением является, конечно, приобретение сравнительно дорогих лазерных 3D-сканеров для получения объёмных моделей изображений объектов для их дальнейшего анализа методами геометрической морфометрии. Однако на начальных этапах исследований без них вполне можно обойтись, а 2D-модели конфигураций меток-ландмарков дают достаточно высокую точность при распознавании формы объектов.

Когда основная часть книги нами была уже написана, авторы обнаружили в Интернете обобщённую инструкцию Д. Шитса и М. Зелдич по работе с наиболее популярными программами геометрической морфометрии, имеющимися в свободном доступе «A Practical Companion to Geometric Morphometrics for Biologists» (<http://booksite.elsevier.com/9780123869036/content/Workbook.pdf>). Поскольку мы преследовали во многом аналогичные цели при подготовке такого же расширенного руководства по геометрической морфометрии для русскоязычного научного сообщества биологов, ориентируясь на интересы специалистов, только начинающих работу в этой области, то англоязычная подборка кратких инструкций может быть также рекомендована читателям для получения дополнительных сведений и навыков по многим программам. С другой стороны, в нашей книге в отдельных главах показаны примеры исследований с применением методов геометрической морфометрии, в том числе и оригинальных, и интерпретации полученных результатов, что позволит читателям получить более полную картину. Поэтому мы искренне надеемся, что намеченные в книге пути решений задач систематики и экологии с применением геометрической морфометрии найдут среди читателей своих сторонников не только за рубежом, но и в нашей стране.

«Изменчивость есть бесконечный  
источник многообещающих вопросов»  
Эрнст Майр

## Глава 1

# СООТНОШЕНИЕ ПОНЯТИЙ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И РАЗНООБРАЗИЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИЗНАК И МОРФОСТРУКТУРА В ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

Прежде чем рассматривать особенности геометрической морфометрии, необходимо коснуться проблемы изменчивости морфологического признака, который является ключевым понятием, а также рассмотреть явления морфологического разнообразия и морфоструктуры. Постараемся кратко определить сущность «изменчивости» как таковой, а также понятий «морфологической структуры (морфоструктуры)» и «признака». Советуем нетерпеливым читателям набраться терпения и прочитать эту главу, поскольку в ней многое дано в непривычном толковании, а изложенные здесь представления могут оказаться полезными при вашей дальнейшей интерпретации результатов, полученных методами геометрической морфометрии.

### 1.1. ИЗМЕНЧИВОСТЬ И РАЗНООБРАЗИЕ ФОРМЫ

*Изменчивость* — неодинаковость определённого свойства организмов/организма, которая наблюдается на одном и том же этапе онтогенеза, степень проявления данного свойства. Если в одном массиве данных (выборке) одновременно сравнивать проявление определённой структуры на пренатальной и постнатальной стадиях развития (сопоставлять друг с другом объекты с незавершённым и завершённым морфогенезом), то это не будет являться изучением изменчивости данной структуры. В этом случае речь будет идти лишь о морфогенетических событиях: «новообразованиях», изменениях и возрастных трансформациях. Изменчивость как таковую можно обнаружить лишь у сходных по возрасту или фазе развития организмов, поскольку

объединённые аллохронные серии особей характеризуют не изменчивость, а смесь возрастных изменений с проявлениями феномена изменчивости на разных этапах онтогенеза. Поэтому в строгом смысле слова «возрастная изменчивость» характеризует различия в величине и структуре изменчивости на разных этапах развития, а не различия между этими этапами.

Программа морфогенеза это, безусловно, нелинейный процесс, нелинейная программа, да и программой в строгом смысле слова она не является, скорее, её можно представить ситуационно запрограммированным ветвящимся потоком (морфопроцессом по В. Н. Беклемишеву). Изменчивость представляет собой срез этого потока, в котором различия между сопоставимыми по возрасту или фазе развития особями оцениваются по одному свойству — признаку.

Изменчивость всегда характеризует один признак (свойство, структуру, переменную). Многомерный анализ нескольких признаков-переменных неизбежно приводит к многомерной классификации объектов, т.е. позволяет на основе сочетанной изменчивости нескольких переменных провести их ординацию и агрегирование по классам сходства. Тем самым многомерный подход позволяет от изменчивости и неодинаковости объектов перейти к оценке их разнообразия в выборке, т.е. выявлению сходства внутри выделенных агрегаций или классов фенотипически близких объектов и оценке различий между этими классами.

Изменчивость связана с одномерной характеристикой объектов, а разнообразие — с многомерной. Поскольку и в пределах одной переменной возможно выделение нескольких классов сходных объектов (полимодальное распределение), то понятия изменчивость и разнообразие часто отождествляются, что в принципе неверно. Однако иная ситуация наблюдается в геометрической морфометрии.

В геометрической морфометрии форма является многомерным морфологическим признаком, вариации которой характеризуют состояния этого признака. Поэтому в строгом смысле слова геометрическая морфометрия характеризует проявления изменчивости формы как фиксированного многомерного, но единичного признака. При этом морфоструктура в большинстве подобных исследований будет одинаковой, а форма объектов будет существенно различаться. Вариации формы — это множество состояний признака, поэтому разнообразие формы объектов в выборке в данном случае полностью совпадёт с изменчивостью формы как признака. Следовательно, лишь группируя объекты в выборке по классам сходных состояний формы, мы можем частично решить задачу выявления внутригруппового морфологического разнообразия формы относительно собственной измен-

чивости формы. При этом невозможно строго разделить проявление изменчивости признака (формы) и разнообразие группы объектов. Сходная проблема наблюдается при характеристике внутрипопуляционного полиморфизма: это и проявление внутригрупповой изменчивости, и проявление внутригруппового разнообразия (из-за дискретности морф) одновременно. Данное обстоятельство почти полной идентичности проявлений изменчивости и разнообразия в случае применения методов геометрической морфометрии следует себе чётко представлять.

Хорошо известна классификация изменчивости по типам, формам и проявлениям, предложенная А. В. Яблоковым (1966). Ю. А. Филипченко (1923, 1977) рассматривал изменчивость как процесс и как результат. Все эти аспекты изменчивости многократно обсуждались, и их подробное рассмотрение не входит в нашу задачу.

Как известно, изменчивость может быть межгрупповая (в качестве единицы наблюдения используются группы — популяции или внутривидовые таксоны), индивидуальная (сравниваются разные особи) и внутрииндивидуальная (сравниваются модульные метамерные и антимерные структуры внутри особи — листья (метамеры) дерева, левые и правые крылья (антимеры) насекомого).

Межгрупповая изменчивость, или проявление межгрупповых различий, относится к категории изменчивости с некоторой натяжкой, причём, только в пределах потенциально скрещивающейся совокупности особей — внутри вида. Если удалось гомологизировать определённую структуру, которая характеризуется одним признаком у разных таксонов, то данное межгрупповое сравнение формально также соотносится с изучением межгрупповой изменчивости. Если мы сравниваем изменчивость в одной группе особей, скажем, на двух этапах онтогенеза, то фактически проводится изучение «межгрупповой» изменчивости, хотя и внутри той же самой группы. Имеем ли мы право, сравнивая изменчивость гомологичных признаков у разных видов и надвидовых таксонов, говорить о межгрупповой изменчивости, зная, что изменчивость — это внутривидовая категория? Можно ли при этом таксономические межгрупповые различия приравнять к межгрупповой изменчивости? Наконец, можем ли мы полагать, что рассматриваем проявление межгрупповой изменчивости, сравнивая разные возрастные стадии в пределах одной и той же внутривидовой группы? Всё это далеко не простые вопросы.

Поскольку система развития (морфогенеза) крайне консервативна, и её устойчивость выше, чем у того генетического субстрата, с которым традиционно связывают наследственность, то при видообразовании многие анцестральные черты морфогенеза сохраняются почти в неизменном виде

и параллельно преобразуются у веера новых таксонов. Ещё И. И. Шмальгаузен (1940) подчеркивал это обстоятельство, указывая на то, что «механизм индивидуального развития обеспечивает у высших животных через сложную систему корреляций известную стойкость организации, а аппарат наследственности (с его мутациями), т.е. структура генома, гарантирует достаточную её пластичность в процессе эволюции» (с. 365). При этом он отчётливо понимал парадоксальность данной ситуации для геноцентрических представлений, которые доминировали в то время, и специально уточнял: «Этим я вовсе не хочу перевёртывать на голову все существующие представления. Конечно, и система корреляций до известной степени пластична, и она перестраивается в процессе эволюции. С другой стороны, я не отрицаю и того, что наследственный аппарат относительно весьма устойчив» (Там же, с. 365). Однако он всё же решался выступить против бытующих представлений и далее подчеркивал: «... Нельзя всю стойкость организации объяснять стойкостью наследственной субстанции и, в частности, генов. Такое «объяснение» решительно ничего не даёт. Я убежден, что дальнейшие исследования покажут неизмеримо большую их лабильность, чем это принято думать на основании изучения видимых мутаций, которые все представляют собой результаты сдвигов реакций за пределы их порогового значения. Все изменения, не выходящие за пределы реактивности тканей, просто ускользают пока от нашего анализа» (Там же, с. 365). Поэтому, когда мы гомологизируем структуры и морфогенетические процессы у разных, но близких по происхождению видов, мы имеем право говорить именно о межгрупповой изменчивости и особенностях её структуры у разных таксонов. Для гомологичных структур свойства изменчивости во многом должны сохраняться у близких таксонов, происходящих от общей предковой группы.

Другой проблемный момент касается изучения закономерностей внутрииндивидуальной изменчивости структур, которые можно проанализировать лишь при внутрииндивидуальном сравнении разных особей, т.е. на основе проведения группового сравнения. Изучая изменчивость морфоструктур, следует сравнивать только сравнимое — морфологически тождественные структуры и их элементы у разных особей. Из этого на первый взгляд следует, что при сравнении билатеральных структур следует использовать материалы лишь по одной из сторон тела. Однако нас может интересовать именно внутрииндивидуальная изменчивость билатеральных структур, которая предполагает, в частности, сравнение асимметричных проявлений одних и тех же структур на разных сторонах тела (проявлений флуктуирующей асимметрии).

Мы определяем *изменчивость* как явление разной потенциально допустимой морфогенетической реализации структуры, формы и размера, а также любого иного свойства интересующей нас части фенома у данной естественной группы. Феномен изменчивости обусловлен развитием процессами и всегда в той или иной степени является отражением феногенетической изменчивости (Васильев, 2009). В основе феномена изменчивости лежит функционирование единой эпигенетической системы, параметризующей веер допустимых морфогенетических траекторий — путей развития, главным из которых является аттрактивный и наиболее зарегулированный путь — креод (термин предложен, как известно, К. Х. Уоддингтоном). Другие возможные альтернативные пути, имеющие меньшую вероятность проявления, мы обозначаем как «субкреоды» (Васильев, 1988, 2005). Каждый креод и субкреод зарегулированы эпигенетическими порогами таким образом, что у каждого организма имеется потенциальная возможность реализовать весь допустимый (витальный и субвитальный) веер путей развития в соответствии с заданными пороговыми ограничениями (вероятностями), исторически сложившимися в морфогенезе конкретной группы (линии, популяции, вида).

Поскольку морфогенез нелинейно «запрограммирован» и представляет собой эпигенез (по К. Ф. Вольфу), т.е. развитие осуществляется с новообразованием, то программа морфогенеза, возникающая как регулятивное свойство функционирующей эпигенетической системы, должна быть рекурсивной, вложенной и ситуационной (Васильев, 2005). При достижении той или иной констелляции и последовательности событий морфогенеза эпигенетическая система может «включить» ту или иную подпрограмму и вероятностно «выбрать» следующий шаг развития, преодолевая те или иные ситуационно формирующиеся эпигенетические пороги. Определённый в ходе этого «выбора» новый путь создает новую ситуацию, которая вероятностно запускает одну из следующих вложенных рекурсивных подпрограмм, которые ранее были исторически выработаны, встроены и зарегулированы в эпигеноме (Васильев, 2005; Васильев, Васильева, 2009; Johnson, Tricker, 2010). Остановки на том или ином этапе морфогенеза и формируют неодинаковость морфологических структур, разную степень их выраженности, т.е. *изменчивость*. Прослеживая такие ряды изменчивости гомологичных структур внутри особи, Н. П. Кренке на примере листьев растений определил этот феномен как феногенетическую изменчивость. Феногенетическая изменчивость по своей природе является эпигенетической (Васильев, 2009) и характеризует проявления неодинаковости развития гомологичных структур особи, будь то метамеры или антимеры.

Изменчивость, не связанная непосредственно с морфогенезом, например, изменчивость окраски покровов насекомых и амфибий, перьев птиц, меха млекопитающих, пигментации листьев растений и других биологических объектов имеет сходную природу, но на другом — молекулярном уровне, часто проявляясь как полиморфизм и полифенизм. Остановка на определённой стадии пигментообразования, например, при возникновении меланина в покровах животных за счёт прерывания молекулярной цепи нормальных ферментных процессов ведёт к изменчивости окраски (Медников, 2005). Например, сходный по внешнему проявлению альбинизм может порождаться разными цепочками преобразований пигментов от стадии фенилаланина до стадии ДОФА, хотя главной причиной отсутствия меланина при этом является образование неполноценно функционирующего тирозина.

Особое место в обсуждении этого вопроса также занимает изменчивость паттерна окраски (определённой модели неравномерного распределения пигментов и формирования пигментных рисунков), которая часто имеет эпигенетическую природу (пигментные структуры могут по-разному проявляться на левой и правой стороне особи, формируя, например, разные типичные рисунки). Изменчивость окрасочных структур имеет ту же общую природу, что и изменчивость морфогенеза. В данном случае — это проявление разной завершённости цепочки последовательных шагов структурогенеза паттерна окраски в онтогенезе: например, на левой стороне может проявиться полный по структуре дефинитивный рисунок, а на правой — только его фрагмент.

Возвращаясь к характеристике изменчивости морфологических структур в процессе морфогенеза, мы должны дать им формальное определение.

Морфологическая структура (*морфоструктура*) — это определённая часть организма, которая закладывается в развитии как подобие некоего частного целого, входящего, однако, в состав общего целого (организма или его части). Внутренняя целостность и скоррелированность элементов части всегда выше по сравнению с окружающими элементами других частей или общим целым (McShea, Venit, 2001; Zwick, 2001). Для некоторой унификации понятий любую естественную структуру, которая формируется в морфогенезе, будем определять как *морфоструктуру*, подразумевая при этом, что она имеет ещё соответствующие размеры и форму (рис. 1.1), а не только типы, число и отношения (связи) входящих элементов, присущие любым структурам (Урманцев, 1972а, б). В этой связи следует несколько слов сказать об изменчивости морфоструктуры с позиций геометрической морфометрии, опираясь на схематический рисунок (см. рис. 1.1). В качестве примера изменения условной морфоструктуры нами были взяты не биологические объекты, а предметы посуды: блюдце, восточная пиала и чайная



Рис. 1.1. Изменения структуры, формы и размеров на примере сравнения предметов посуды: блюда, восточной пиалы и чайной чашки. Стрелки указывают проявление дискретных структурных элементов — «фенов»: а — отсутствие бокового прогиба, а' — наличие бокового прогиба; б — отсутствие ручки, в — наличие ручки.

чашка. Из рисунка видно, что все эти предметы различаются по форме, но если блюдо и пиала имеют сходную структуру, то чашка, несмотря на несомненное сходство формы, отличается от них тем, что у неё присутствует новый структурный элемент — ручка. Этот элемент изменяет структуру объекта. Поэтому для полноценного сравнения формы чашки потребуются дополнить её описание новым элементом структуры. Примечательно, что размеры объектов могут варьировать или быть одинаковыми, но это не влияет на форму, если не изменяются пропорции объекта, т.е. очень глубокое блюдо, например, становится пиалой. Прогиб боковой стенки пиалы, приводящий к её срединному сужению и изменению формы, тоже может рассматриваться как элемент структурного изменения (рис. 1.1, а, а'). Поскольку при геометрической морфометрии объекты выравнивают по размеру и тем самым избавляются от его влияния на их изменчивость, то сравниваются только формы (shapes). Но как сравнить форму объекта, более сложного по структуре? Как сопоставить отличающуюся по структуре форму чайной чашки со структурно идентичными, но разными по форме блюдом и пиалой? Ответ мы постараемся дать позднее. Здесь же важен другой момент, хорошо понятный для специалистов в области геометрической морфометрии. Строго говоря, нельзя полноценно сравнивать форму объектов, имеющих разную структуру. Однако правильна ли эта точка зрения? В дальнейшем мы вновь будем возвращаться к этому примеру, рас-

сматривая специфику формы и структуры, и постараемся пересмотреть эту традиционную точку зрения, дополнив геометрическую морфометрию анализом изменчивости морфоструктур в широком смысле (см. Глава 5).

Гомология структур предполагает, как уже отмечалось, их общее историческое происхождение, топологическую корреляцию с другими структурами, в том числе у билатеральных структур зеркальную симметрию одноименных сериальных элементов, а также сходную морфогенетическую последовательность их закладки и развития. Поэтому Н. П. Кренке (1933–1935), выявивший внутрииндивидуальные ряды заведомо гомологичных и повторяющихся метамерных и антимерных структур растений, во многом опирался на известный феномен вавилонских гомологических рядов в наследственной изменчивости. Феногенетическая изменчивость Кренке, однако, характеризует особые ряды внутрииндивидуальной изменчивости и связана с морфогенетическими процессами.

А. Г. Васильев (2009) определил *феногенетическую изменчивость как реализацию обусловленных развитием законов возможного (допустимого) преобразования отдельных морфоструктур в онтогенезе*. Феногенетическая изменчивость содержит две компоненты: детерминистическую (организующую) и стохастическую (случайную). Организующая составляющая — эпигенетическая изменчивость (Васильев, 1988) — канализованная компонента морфогенеза, обусловленная структурой креода и расстановкой эпигенетических порогов. Случайная — реализационная изменчивость (Астауров, 1974; Струнников, Вышинский, 1991) — стохастическая компонента морфогенеза, позволяющая спонтанно переключать программы развития (Васильев, 2009). Поскольку условия развития особи и её геном для левой и правой сторон организма или его метамеров в норме практически одни и те же (Астауров, 1974), то феногенетическая изменчивость — это внутрииндивидуальная изменчивость, которая обусловлена эпигенетическими причинами (Васильев, 1988, 1996, 2005).

Внутрииндивидуальная гомологическая изменчивость может проявиться как у разных метамеров особи, если таковые имеются, так и на левой и правой сторонах тела, т.е. у гомотипичных антимеров. Поэтому при рассмотрении тех или иных антимерных элементов структуры у организмов с метамерной структурой можно зафиксировать различия этих элементов как на разных сторонах метамера, так и у разных метамеров, что позволяет говорить об антимерной, метамерной и антимерно-метамерной компонентах внутрииндивидуальной изменчивости. Изучая упорядоченность внутрииндивидуальной гомологической изменчивости, можно выявить особенности структурогенеза и сопоставить их у разных таксонов (Васильев, Васильева, 2009).

Неупорядоченная внутрииндивидуальная изменчивость обычно связана с феноменом флуктуирующей асимметрии билатеральных морфоструктур (Захаров, 1987; Zakharov, 1992; Захаров, Кларк, 1993; Palmer, 1994), которая эффективно изучается с помощью геометрической морфометрии, поскольку при этом решена проблема предварительной нормировки размеров левой и правой сторон: требуется только получить разность значений прокрустовых координат обеих сторон (Klingenberg, McIntyre, 1998; Klingenberg, 2003; Breuker et al., 2007; Ялковская и др., 2014).

## 1.2. МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИЗНАК И МОРФОСТРУКТУРА

Этот раздел можно было бы назвать и иначе: «Почему нам не нужна «теория признака», а требуется теория морфогенеза структурных модулей или тектонов?». Каждая самостоятельная морфоструктура, т.е. часть организма, с позиции морфологии и биологии развития может быть определена как «структурный модуль» (Raff, 1996; Корона, Васильев, 2000, 2007; Kim, Kim, 2001; Шаталкин, 2002). Р. Рэфф (Raff, 1996) определил такой модуль как субъединицу целого. В настоящее время в результате многочисленных исследований, в частности с применением методов геометрической морфометрии, показано, что модуль внутренне интегрирован, т.е. входящие в него структурные элементы между собой связаны сильнее, чем с другими элементами, относящимися к другим модулям (Klingenberg et al., 2003; Klingenberg, 2008, 2011, 2013b). При сравнительном анализе процессов развития модуль выступает как элемент морфогенеза организма, часть организма.

При таксономическом рассмотрении структур на первый план выходит аспект гомологии данной естественной структуры-модуля и наделение её свойством некоего критерия классификации объектов, т.е. морфологического признака, который будет «представлять» данную структуру. К содержательному разделению понятий «морфоструктура» и «признак» также пришел И. Я. Павлинов, который придерживается понимания признака как базового элемента описания объекта. Он полагает (Павлинов, 2005), что сам «признак не следует отождествлять со свойством (атрибутом, частью, аспектом) сравниваемых объектов, как это нередко делается» (с. 175). Строго говоря, морфоструктура ещё не есть биологический признак, но признак вполне может быть структурой. Мы полагаем, что *признаком является то, что позволяет различать объекты, т.е. вложенный критерий их классификации*. Морфоструктура представляет собой часть организма, или мерон (последний термин предложил С. В. Мейен). Элемент морфоструктуры как некий строительный модуль организма или, по нашему определению, **тектон** (термин нами введен впервые) представляет собой естественный

природный объект, выполняет те или иные функции, и его проявление в морфогенезе данной таксономической группы представляет собой продукт длительной эволюции. При сравнении гомологичных меронов и множества их состояний — тектонов у разных таксонов можно проследить повторение их разнообразия в виде рядов, соответствующих разным этапам развития одноименных морфоструктур. Заметим, что такие упорядоченные повторы преобразований определённой части организма — мерона — у разных таксонов соответствуют представлению С. В. Мейена (1988) о рефрене.

Сегодня можно полагать, что морфогенез меронов и составляющих их тектонов зарегулирован генными сетями, эпигенетической системой и системным взаимодействием клеточных агрегаций разных тканей — *цитоценов* (термин вводится нами впервые). Мы также считаем, что *цитогенетические* взаимодействия (сингенез сообществ клеток разных тканей в процессе индивидуального развития), являющиеся основой морфогенеза, ещё только ожидают своих первооткрывателей. Уже сегодня специалисты, работающие в области канцерогенеза, начали рассматривать и моделировать взаимодействия и поведение «сообществ» и «популяций» стволовых и дифференцированных клеток как аналогию взаимодействий макроскопических сообществ и популяций организмов (Mazzio, Soliman, 2012). К сожалению, в данном разделе мы не можем останавливаться на этом крайне интересном для теории и практики общей биологии аспекте, который, скорее всего, к середине XXI в. станет основным предметом для обсуждения в эволюционной и экологической эпигенетике (Bonduriansky, 2012; Bonduriansky et al., 2012; Jablonka, Raz, 2012; Mazzio, Soliman, 2012; Ledón-Rettig, 2013).

Мы можем провести лишь сравнительный морфологический анализ, выделить и гомологизировать определённую морфологическую структуру у представителей разных таксономических групп. При этом она будет по-прежнему оставаться морфоструктурой, являясь «строительным блоком», мероном или модулем, из которых в процессе морфогенеза формируется организм. Если мы воспользуемся данной морфоструктурой как неким критерием определения общности или разделения таксономических групп, тогда мы и наделим её свойствами признака. На практике обычно такое мысленное разделение не проводится, и морфоструктура, которая прошла процедуру гомологизации, сразу рассматривается как потенциально полезный или бесполезный признак.

Длительное господство СТЭ и геноцентрической доктрины привело к некоторому искажению понятия признак во всех биологических науках. Признак в классической генетике оказался полностью совмещён с морфоструктурой или иным свойством организма (включая элементы поведения)

как фенотипический результат (продукт) работы определённых генов. Считалось, а также продолжает считаться, что каждый морфологический признак генетически детерминирован, а фенотип (подразумевается морфоструктура) есть результат взаимодействия генотипа и среды. Связка фен (=фенотип) и ген (=генотип) при проведении генетических скрещиваний обычно опирается на фенотипически различимые морфоструктуры или иные естественные свойства частей организма, которые отождествляются генетиками с понятием «признак». *Признак как описание критерия классификации*, конечно, никак не может быть детерминирован, и речь идёт не о признаках, а о вариациях естественных частей (модулей, морфотипов, структур, свойств). Морфоструктура становится признаком лишь тогда, когда мы её используем как критерий для классификации особей или таксонов.

Все эти обстоятельства, на наш взгляд, породили прагматичный утилитарный подход к содержанию понятия «признак» в биологии. По словам Колле (Colless, 1985), признак может рассматриваться трояко: а) как атрибут (различающий атрибут, качество, свойство структуры, форма, субстрат, функция); б) как особенность (часть, характерная черта некой физической природы, но являющаяся в целом абстрактной); в) как переменная (набор данных в виде логической или математической переменной). Поскольку отождествление морфоструктуры и признака в практике морфологических и таксономических исследований является, скорее, нормой, чем исключением, мы в дальнейшем будем чаще всего также придерживаться этой «практической нормы» или «индустриального стандарта», но осознавать искусственность отождествления двух понятий. Следует при этом подчеркнуть, что если естественных морфоструктур (модулей) существует очень большое, но всё же ограниченное конечное число, то признаков, как способов описаний и критериев сравнения объектов, может быть бесконечно много. Поэтому понятие «признак» является более широким по сравнению с морфоструктурой, не ограничивается только их описанием, может включать в себя любые характеристики и свойства организмов и их сочетания, в том числе функциональные, физиологические, этологические и экологические. Признак представляет собой краткое, обычно «шаржированное», описание, необходимое для классификации объектов, и, как правило, не нацелен на изучение строения или природы того свойства или структуры, которые описывает и характеризует. Поэтому можно говорить об относительной независимости признака и характеризуемого им свойства. Относительная независимость признака от естественной структуры или иного свойства организма и потенциальная бесконечность выбора способов и критериев сравнения делают его удобным инструментом не только для таксономического

и филогенетического исследования, но и для морфологического и эволюционно-морфологического анализа (Мина, 1986; Васильев, Васильева, 2009).

Различия между билатеральными противоположными антимерными структурами у одной и той же особи могут быть довольно велики, но если они проявились, то, следовательно, допустимы (разрешены) в процессе развития и являются, несмотря на частую разную комплектацию и компоновку, биологическими изомерами или подобием биоизомеров. На групповом уровне может проявиться всё допустимое для данной исторически сложившейся группы особей (популяции, таксона) разнообразие антимерных (односторонних) морфоструктур, которые будут гомологичными изомерами. Если линейно расположить такие структуры по степени сложности, то в этом ряду можно будет увидеть постепенное становление морфоструктуры, которое наблюдается в процессе морфогенеза при формировании наиболее сложной её конфигурации. Если связать друг с другом все билатеральные несовпадения антимерных структур в тех случаях, когда они проявляются одновременно у одних и тех же особей, но на разных их сторонах, то в результате можно построить некоторое морфологическое пространство, характеризующее «эпигенетический паттерн» (термин предложен А. А. Поздняковым). Однако по нашему определению, более точно суть явления отражает другой термин — «феногенетическое морфопространство» (phenogenetic morphospace). В основе формирования феногенетического морфопространства лежит эпигенетический ландшафт популяции данного таксона (Васильев, 1988, 2005, 2009).

Потенциальная структура морфопространства задается эпигенетической системой конкретной естественно-исторической группы (популяции, таксона) и для билатеральных морфоструктур представлена их феногенетической изменчивостью. Многомерный анализ проявлений внутрииндивидуальной изменчивости различных признаков (морфоструктур, модулей) у таксонов с разной степенью эволюционной дивергенции позволяет, во-первых, оценить устойчивость проявлений изменчивости гомологичных морфоструктур и их представленность у отдельных таксонов, а во-вторых, построить многомерное морфопространство модулей и их состояний. Поэтому в геометрической морфометрии вполне оправдано использование левых и правых антимерных морфоструктур, приведённых к односторонним изображениям (например, правым), которые включаются в общий внутри- и межгрупповой анализ проявлений внутрииндивидуальной изменчивости, а также флуктуирующей и направленной асимметрии.

Как уже отмечалось, морфологическим признаком в геометрической морфометрии является форма объекта, а состояния морфологического

признака — это вариации формы. В строгом смысле морфоструктура при проведении исследования методами геометрической морфометрии должна быть либо постоянной (имеется в виду стабильность качества элементов структуры, их числа и отношений, см. рис. 1.1), либо слабо изменчивой (см. рис. 1.1, а, а'). Форма объектов при этом может быть, напротив, высоко изменчива, как и их размеры (последние выравниваются). Поскольку при расстановке меток-ландмарков первого типа (см. Главу 2) они помещаются в определённые структурные узлы — точки, гомологичные для особей других видов, то при сохранении морфоструктуры объектов постоянной гомология элементов её формы не должна нарушаться. Гомология формы может нарушиться только в том случае, если основу среди выставленных ландмарков будут составлять метки не первого типа, а третьего (см. Главу 2). Изменчивость размеров в целом мало влияет на изменчивость собственно формы, если не связана со структурными возрастными изменениями пропорций в онтогенезе (Zelditch et al., 2008). При изучении крайне изменчивой морфоструктуры сопоставляемых объектов в рамках геометрической морфометрии используются разные приёмы сравнения, которые нами далее будут специально рассмотрены (например, см. Главу 6).

### 1.3. ФЕНОТИП, ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ПРОБЛЕМЫ КЛАССИФИКАЦИИ

Решение большинства проблем биологической классификации напрямую связано с пониманием фундаментальной природы фенотипа, фенотипической изменчивости и индивидуального развития. Понятие *фенотип*, как известно, было в начале XX в. предложено В. Иоганнсенем (Johannsen, 1911). В настоящее время это понятие несколько видоизменилось, но по-прежнему характеризует некий класс особей одного вида, сходных по какому либо свойству (признаку) строения или функционирования. Поскольку термин был предложен давно и тесно связан с историей становления генетики, его первоначальная трактовка отражала издержки этой науки на заре её становления. Постепенно сформировалось представление о том, что фенотип — это несколько искажённое средой отражение генотипа особи, причём фенотип рассматривался как внешнее проявление по отношению к генотипу — внутренней наследственной программе. Явление развития на этом этапе становления генетики вообще было устранено из рассмотрения (см. обзор Гилберт и др., 1997). Фенотип виделся как результат взаимодействия генотипа и среды в процессе развития, но само формообразующее развитие — морфогенез, за редкими исключениями (см. Астауров, 1974), игнорировалось. Традиционно стремились сравнивать «фенотипы» уже

взрослых, способных размножаться особей. Детерминация генотипом признаков фенотипа была принята за аксиому, поэтому для генетиков начала прошлого века актуальными были наследственные факторы — гены и «детерминируемые» ими фенотипические свойства — «признаки» взрослых организмов.

Появление феногенетики (Наескер, 1918, 1925) как науки о механизмах реализации наследственной изменчивости в фенотипе мало изменило эти представления, поскольку первоначально данное направление опиралось на те же геноцентрические установки. Обнаруженный Б. Л. Астауровым в 1927 г. феномен особой изменчивости, не связанной ни с генотипом, ни с влиянием среды, а обусловленной «стохастикой развития», мог бы существенно изменить ситуацию, но был почти полностью проигнорирован генетиками-современниками. Только в конце XX в. это явление В. А. Струнниковым и И. М. Вышинским (1991) было «реабилитировано» под названием *реализационная изменчивость*. В то же время, бытовавшее традиционное представление о генетической детерминации отдельно взятого признака постепенно сменилось пониманием плейотропной роли генетической среды в формировании целостного фенотипа особи: много генов могут влиять на формирование одного признака и, напротив, один ген может влиять на многие признаки (Тимофеев-Ресовский, Иванов, 1966). Во многом благодаря таким рассуждениям появился термин «*фено́м*». Термин был предложен генетиками и традиционно воспринимается с геноцентрическим уклоном в виде линейных связей между генами и элементами фенома (Houle et al., 2010).

В свете эпигенетических представлений, предполагающих целостное системное становление *фенома* особи, фенотип выступает как результат проявления одного из возможных альтернативных путей развития, приводящих к формированию в популяции определённого в морфофункциональном отношении класса сходных феномов. Собственно такой класс конструкционно и функционально близких феномов и является неким реализованным в процессе развития типом — фенотипом. С нашей точки зрения, *феном* рассматривается как *динамический результат развития совокупности всех свойств особи* (внутриклеточных, тканевых, физиологических, морфологических, этологических). При расширенном толковании фенома — это характерные свойства популяции и вида, которые эволюционно сложились для обеспечения функционирования взаимосвязанных биосистем клеточного, организменного и надорганизменного уровней.

Многомерная ординация объектов по множеству переменных (метрических, меристических и неметрических) уподобляется синтетической

процедуре формирования прообраза фенотипа, его многомерной реконструкции. При этом нужно отчётливо осознавать, что полное исчерпывающее многомерное описание фенотипа как биологического индивида во всех его проявлениях и чертах строения, т.е. как фенома, в настоящее время практически невозможно и, вероятно, в ближайшие десятилетия можно считать во многом недостижимой «идеальной» задачей. В то же время вполне реальной целью является создание многомерной модели фенотипа, его грубого подобия, своеобразного многомерного «шаржа», который становится операциональным объектом при осуществлении процедуры классификации множества фенотипов. При использовании методов фенетики и геометрической морфометрии мы всегда будем иметь лишь «шаржированное», упрощённое воспроизведение фенотипа.

Геометрическая морфометрия, для которой, как уже отмечалось выше, признаком служит форма объекта, а её вариации — состояниями этого признака, способна решить эту задачу. Создавая с помощью разных подходов (2D и 3D методы визуализации) «шаржированные» конфигурации изучаемых биологических объектов, можно не только моделировать изменчивость, но и визуально оценивать и интерпретировать пространство морфогенетических возможностей реализации фенома, которое мы предлагаем называть *морфогенетическое пространство* (morphogenetic space). Взаимное размещение центроидов представителей разных таксонов в общем морфопространстве Б. Л. Сидлаускас (Sidlauskas, 2008) предложил называть филоморфопространством (phylomorphospace). Такое морфопространство может формироваться, например при морфокартировании молекулярных филогений (см. Главы 5, 6).

Современная феномика (phenomics), пытается методами биоинформатики оценить сопряжённую изменчивость молекулярных, физиологических, морфологических и поведенческих характеристик (Bilder et al., 2009; Skelly et al., 2013), но находится в самом начале своего научного пути. К сожалению, феномика при полногеномном анализе пока опирается всё на те же линейные геноцентрические установки, будучи нацелена на каузальный поиск влияния структурных генных различий в проявлении фенотипических признаков, т.е. на каузальное решение заведомо нелинейной холистической проблемы. Вполне возможно, что геометрическая морфометрия или её отдельные подходы в недалеком будущем помогут эффективно содействовать решению задач феномики.

Особь в пределах *фенотипа*, т.е. класса сходных особей в силу стохастики развитийных процессов и коррекции развития при средовых воздействиях несколько отличаются друг от друга. Обычно эти небольшие

индивидуальные отклонения, обусловленные флуктуацией внутренней и/или внешней среды, относят к категории модификации. Однако в строгом смысле модификациями признаются лишь случаи фенотипической пластичности, т.е. когда на основе одного и того же генома проявляются разные фенотипы. Примерами такой внутригеномной фенотипической пластичности являются, в частности, листья одного дерева (метамеры) или левые и правые гомологичные элементы (антимеры билатеральных структур). Само явление фенотипической пластичности указывает на бессмысленность утверждений о жёсткой генетической детерминации признаков фенотипа. К сожалению, последняя тенденция доминирует в науке до сих пор, и модификации в генетике принято рассматривать лишь как досадную помеху при выявлении закономерностей наследственной изменчивости, а не как достойную цель для изучения, в частности, потенциального морфопространства регулятивных реакций в процессе развития.

Активный выбор организмами в ходе онтогенеза той или иной возможной траектории развития в соответствии с актуальной констелляцией условий среды, т.е. пластичность фенотипа — возможность одним и тем же геномом реализовать разные феномы, в последние годы приобретает особую актуальность в мировых исследованиях (West-Eberhard, 2003). Роль фенотипической пластичности в эволюционных преобразованиях становится одним из ключевых исследовательских направлений эволюционистики (Schlichting, Pigliucci, 1993; Debat et al., 2000; Schlichting, 2003; West-Eberhard, 2003; Klingenberg, 2009; Sutherland et al., 2013). Многомерный анализ феногенетической изменчивости при осуществлении процедуры классификации повышает разрешающую способность метода (Васильев, 2009) по сравнению с традиционными классификациями, основанными на межиндивидуальном сравнении (Яблоков, 1966, 1987; Sneath, Sokal, 1973). Геометрическая морфометрия позволяет анализировать изменчивость формы как симметричных морфоструктур (*symmetry form*) в виде целостных объектов (например, форма листовой пластинки, форма черепа), так и антимеров билатеральных морфоструктур, т.е. симметрично расположенных автономных половин или парных объектов (*matching forms*): левая и правая половины листовой пластинки, левое и правое крылья двукрылых, передние и задние крылья чешуекрылых, левая и правая нижнечелюстные ветви или гомологичные зубы. Поэтому вполне возможно изучение проявлений феногенетической и эпигенетической изменчивости, а также фенотипической пластичности с применением методов геометрической морфометрии.

Специфичность эпигенетического понимания изменчивости, как уже отмечалось ранее, состоит в том, что даже в пределах особи возможна дис-

кретная неодинаковость выбора путей развития (морфогенеза), например для антимерных (билатеральных) и/или метамерных (повторяющихся) структур. Другими словами, при одном и том же генотипе в пределах одной особи (например, на разных сторонах тела) могут реализоваться разные подпрограммы морфогенеза. Фенотипическая пластичность индивидуумов дополняется в этом случае специфической эпигенетической внутрииндивидуальной пластичностью. В то же время у каждой особи в одной и той же однородной и единой по происхождению популяции может реализоваться почти любой путь развития из потенциально возможного для популяции спектра онтогенетических траекторий в соответствии с характерными для данной группировки вероятностями. Чаще всего будут реализовываться особи с «нормальным» фенотипом, который соответствует адаптивной норме (в понимании И. И. Шмальгаузена), реже будут проявляться «аберрантные» варианты.

Однако аберрантность в этом случае означает лишь то, что вероятность их обычного естественного проявления ниже, чем у «нормы» (Шишкин, 1988), но также обусловлена расстановкой эпигенетических пороговых ограничений (Васильев, 1988, 2005). Ещё раз подчеркнём, что все эти пути развития из существующего в популяции поливариантного спектра могут быть реализованы любой особью и в известном смысле являются инвариантными для всех особей данной группы (Васильев, 2005, 2009). Другими словами, в популяции может быть реализован достаточно большой, но ограниченный и определённый набор фенотипов — устойчивых развитийных траекторий, который дополняется веером ещё более многочисленных, неустойчивых и малопредсказуемых комбинативных траекторий — морфозов, и лишь некоторые из них могут оказаться затем «новшествами» (novelties), если при творческой поддержке отбора (Шишкин, 1988, 2006) станут устойчивыми.

Можно ли дать определение термину «фенотип» вне геноцентрической парадигмы СТЭ? Иными словами, уцелеет ли этот термин при глубокой перестройке эволюционных представлений в русле эпигенетической теории эволюции — ЭТЭ (Шишкин, 1984, 1988, 2006, 2010)? Перед тем как ответить на этот вопрос, следует признать, что термин метафоричен, достаточно жестко встроен в «плоть и кровь» современной биологии, поэтому вряд ли появится возможность его быстрой замены. Вероятно, следует исходить из необходимости сохранения термина в дальнейших теоретических построениях и практике исследований.

Исходя из эпигенетической концепции, можно полагать, что фенотип как понятие не только может быть сохранён, но и оказывается крайне

удачным. Если с позиций СТЭ строго сохранять смысл термина, то в силу уникальности генотипа (генома) каждой особи (в том числе соматической неповторимости) само присутствие одинаковых или очень сходных вариантов строения или «типов» особей — фенотипов (феномов) — означает, что не существует строгого соответствия между генотипом и фенотипом. Следовательно, обычно не существует строгой детерминации генотипом фенотипа, а генами — признака. В таком случае исходная геноцентрическая концепция неверна, поскольку иначе фенотип как многомерная характеристика всегда должен отражать все нюансы строения генотипа и быть также абсолютно неповторимым. При этом мы не рассматриваем все соматические или функциональные особенности особей, по которым сходные феномы (например, однояйцевые близнецы) могут всё же различаться. Однако в многомерном морфопространстве выборки всегда имеются естественные агрегации ординат, если не идентичных, то почти повторяющихся по своему строению особей или модулей, представляющих определённый класс объектов — фенотип (подробнее см. Васильев, Васильева, 2009). Генотипы таких особей при этом существенно различаются и в молекулярном отношении уникальны и неповторимы.

Таким образом, в рамках СТЭ термин фенотип при строгом использовании геноцентрических представлений просто не имеет смысла и должен рассматриваться не более чем удобная абстракция и метафора. Напротив, с точки зрения эпигенетической теории и морфологии фенотип — это, действительно, тип, путь развития, приводящий к определённому облику (в том числе функциональному) в потенциальном структурно-функциональном пространстве, которое, упрощая, мы определили как «феногенетическое морфопространство». Термин «фенотип» при этом не только не теряет смысл, но в полной мере соответствует описываемому феномену.

Однако «генотип», трактуемый в рамках СТЭ, — термин, неверный даже с общих логических позиций: какой тип может существовать, если геномы всех особей, по определению самих генетиков, неповторимы и уникальны? Напомним в этой связи, что, по М. А. Шишкину (1988), термин мутация в строгом его толковании генетиками означает отклонение генотипа от нормы (дикого типа), а в силу неповторимости самих генотипов из этого следует, что все особи по отношению друг к другу являются мутантами. Поэтому логичнее было бы не распространять свойства гена на генотип и предполагать, что лишь отдельные гены могут «детерминировать» своей активностью, т.е. повысить вероятность проявления определённых состояний признаков — фенов (ещё раз напомним, что в геометрической морфометрии состояния признака — это вариации формы). Следовательно, с позиций СТЭ имеет

смысл не генотип, а ген, и не фенотип, а дискретный фен. Проявление в пределах популяции разных фенотипов, т.е. классов сходных в структурно-функциональном отношении особей, позволяет при сочетании разных характеристик найти такие комбинации свойств, которые дают возможность диагностировать нужные фенотипы и классифицировать особей по их принадлежности к тому или иному варианту развития – морфогенеза. Итак, после того, как мы «вооружились» негеноцентрическими представлениями об изменчивости и признаке, мы можем приступить к освоению геометрической морфометрии.

«...мы переходим от самой формы к пониманию создающих её сил; в самой форме мы видим диаграмму равновесных сил, а в сравнении родственных форм — величину и направление сил, необходимых для превращения одной формы в другую»

В. Д'Арси Томпсон

## Глава 2

# ВВЕДЕНИЕ В ГЕОМЕТРИЧЕСКУЮ МОРФОМЕТРИЮ: ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ПОДХОДЫ

Перед изложением принципов, сущности и методов геометрической морфометрии мы ещё раз должны подчеркнуть, что все представления почерпнули из доступных публикаций в этой области. Поэтому, во-первых, всё изложенное далее в главе является не достижением и изобретением авторов, а только отражением уже сложившихся представлений в данной области, а во-вторых, должно рассматриваться как авторская интерпретация этих представлений, что неизбежно требует от читателя дальнейшего обращения к первоисточникам. Заранее укажем также на присутствие в этой и последующих главах неизбежных повторов при рассмотрении основных понятий геометрической морфометрии и многочисленных напоминаний определений терминов. Эти моменты обусловлены сложностью математического и понятийного аппаратов геометрической морфометрии, которые требуют, с нашей точки зрения, именно такого «итеративного» способа изложения материала. Поскольку терминология геометрической морфометрии в русскоязычной литературе ещё не устоялась, мы вынуждены, наряду с русскоязычными терминами, постоянно дублировать и приводить (обычно в скобках) английские. Авторы предупреждают читателей, что не несут перед ними ответственности за субъективность собственного восприятия математической теории формы (shape), а также ряда других ма-

тематических аспектов геометрической морфометрии, которые изложены в книге, так как являются не математиками, а биологами. С другой стороны, мы отчётливо понимаем, что при освоении нового метода с чего-то нужно начинать, прежде чем обратиться к неисчерпаемым глубинам геометрической морфометрии. Если всё сказанное устраивает читателя, то продолжим.

## 2.1. ИСТОРИЯ ПОЯВЛЕНИЯ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

Историю возникновения геометрической морфометрии разные авторы представляют себе неодинаково. Некоторые полагают, что ещё знаменитый художник и математик Альбрехт Дюрер (1471–1528) обратил внимание на то, как могут измениться изображения при однородных изменениях (скашиваниях) сетки декартовой системы координат (рис. 2.1). Он замечательно изобразил этот феномен, прорисовывая по клеткам элементы рисунка человеческого лица. Примечательно, что компьютерное аффинное, т.е. однородное для всех точек изображения, скашивание нами исходного рисунка А. Дюрера (рис. 2.1в) мало отличается от того результата, который был вручную получен великим художником докомпьютерной эпохи (рис. 2.1б). Аффинные преобразования изображений иногда используются и в современной геометрической морфометрии.

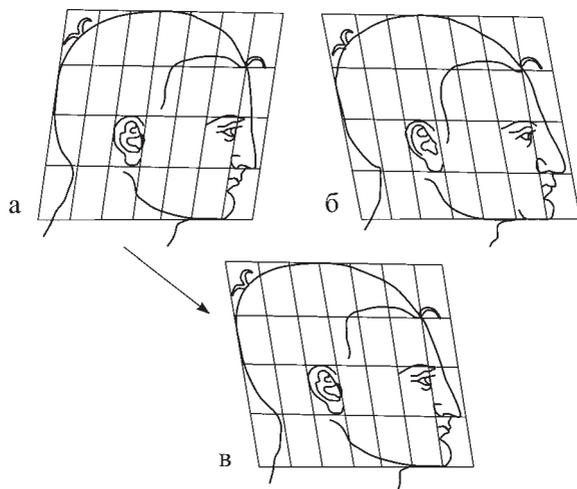


Рис. 2.1. Эксперименты А. Дюрера (1471–1528) по аффинным преобразованиям рисунка человеческого лица: а — исходный рисунок художника, б — рисунок, воссозданный художником в иной системе координат, в — аффинное однородное скашивание исходного рисунка с помощью компьютерной программы векторной графики.

Известный биолог и выдающийся биометрик Френсис Гальтон (1822–1911) — создатель корреляционного и регрессионного анализа, основатель метода сравнения отпечатков пальцев, отчасти также может считаться одним из предтеч геометрической морфометрии. Он предлагал создавать сложные фотопортреты, представленные комбинацией накладывающихся друг на друга фотографических изображений разных субъектов с помощью повторяющегося ограничения выдержки для формирования единого смешанного изображения. Такой подход явно напоминает основной метод суперимпозиции изображений, который широко применяется, хотя и несколько на другой основе, в современной геометрической морфометрии. Современные компьютеры позволяют производить подобное наложение изображений после их трансляции (центрирования), масштабирования (сведения к одному размеру) и оптимального вращения (выравнивания) по отношению к среднему, формируя по отдельным пикселям усреднённое консенсусное изображение, характеризующее среднее изображение для группы сравниваемых объектов. Наиболее стабильные части на итоговой фотографии выглядят при этом более резкими и контрастными, а изменчивые элементы — размытыми.

Другой известный биолог — В. Д'Арси Томпсон (1860–1948), обратил внимание на возможность путем изменения системы координат прогностично изменять форму объектов. Ему принадлежат, кочующие из учебника в учебник искаженные декартовы координаты, позволяющие так изменить пропорции тела и его форму, например у рыб, что из типичной формы тела «карася» можно при некотором искривлении сетки координат получить экзотическую форму тела «луны-рыбы». Типичны его примеры преобразования формы одного вида рыб в другой: например, *Argyropelecus olfersi* можно превратить в *Sternoptyx diaphana* путем простого аффинного скашивания всего исходного изображения вправо на заданный угол (рис. 2.2а), а представителя рода *Diodon* преобразовать в особь рода *Orthogoriscus* при неоднородной (неаффинной) трансформации координат (рис. 2.2б).

Интересным примером применения метода Д'Арси Томпсона является попытка линейной интерполяции координатных точек рисунка черепа ископаемого эоценового *Hyracotherium* (рис. 2.3а) на рисунок черепа современной лошади *Equus* (рис. 2.3б) с учётом всех гипотетических шагов этого интерполяционного процесса (рис. 2.3в). Говоря современным языком, можно полагать, что именно ему принадлежит идея закономерного и обратимого преобразования формы эволюционно близких биологических объектов в системе координат и совмещения точек референсного (reference) и целевого (target) рисунков с помощью трансформационной решётки (transformation

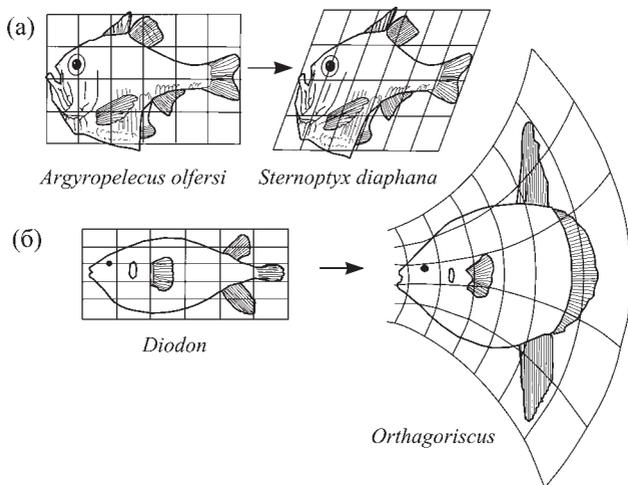


Рис. 2.2. Примеры использования трансформационных решёток координат Д'Арси Томпсоном для преобразования формы одного вида рыб в другой путем однородного аффинного (а) и неоднородного — неаффинного (б) изменения системы координат, взятые из его классической книги.

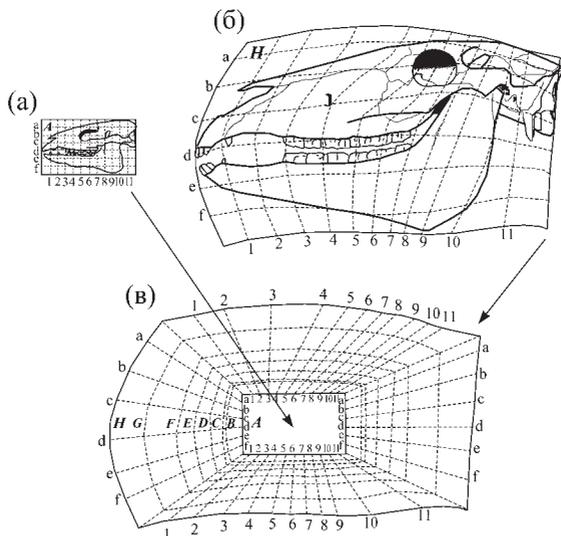


Рис. 2.3. Демонстрация интерполяционного метода Д'Арси Томпсоном (1917) при трансформации черепа ископаемого *Hyrachtherium* (а) в форму черепа современной лошади *Equus* (б) с учётом промежуточных гипотетических шагов интерполяции (в).

grid). Отсюда уже недалеко до представлений о построении общего морфопространства конфигураций гомологичных меток. Однако оказалось, что это весьма объёмное исследование оставило лишь исторический след и не имело продолжения. Норман Маклеод (Norman MacLeod) в одной из своих лекций по геометрической морфометрии отметил, что при частом цитировании работы Д'Арси Томпсона и рисунков из неё никто не попытался обсудить и использовать его технику, подробно изложенную в книге. Вероятно, это можно объяснить априори большой трудоёмкостью предлагаемой ручной процедуры интерполяции, поскольку до компьютеров, с помощью которых идеи Д'Арси Томпсона могли бы легко найти своих приверженцев и продолжателей, было ещё очень далеко. Тем не менее, именно этому автору можно отдать приоритет в формировании мировоззрения, позволившего в конечном итоге легко воспринять идеи геометрической морфометрии. В начале века вышло юбилейное переиздание его книги (D'Arshi Tompson, 2000 [1917]), чему во многом способствовал постоянно растущий интерес к изучению и моделированию изменчивости формы.

Однако реальная возможность появления методов геометрической морфометрии оказалась связана с исследованиями, проведёнными математиком Дэвидом Кендаллом (Kendall, 1977, 1984).



Дэвид Кендалл

Он открыл особое сферическое пространство, которое было впоследствии в его честь названо Кендалловым, оказавшееся чрезвычайно удобным для характеристики изменчивости формы самых разных объектов. Именно Д. Кендалл осознал, что собственно форма объекта при последовательных процедурах трансляции, масштабирования и ротации конфигураций объектов остается неизменной, а все атрибуты, не являющиеся формой, отменяются. Но это открытие, как полагают, оказалось малоинтересным своему создателю. Лишь благодаря почти синхронно появившимся работам Лесли

Маркуса, Фреда Букштейна и Джима Рольфа, воспользовавшихся метрикой Д. Кендалла и его математической теорией, геометрическая морфометрия в конце 80-х годов XX в. начала свое дальнейшее бурное развитие.

Сам термин — *геометрическая морфометрия* (geometric morphometrics) был предложен Марко Корти в 1993 г. (Corti, 1993). В этом же году в том же номере журнала вышла статья Джима Рольфа и Лесли Маркуса (Rohlf, Marcus, 1993), где также были изложены революционные принципы

новой морфометрии. Новую морфометрию, названную позднее геометрической, Фред Букштейн определил как статистический анализ изменения формы и её ковариацию с другими переменными (Bookstein, 1991).

Прошло почти 25 лет с момента выхода этих двух основополагающих работ по геометрической морфометрии, которые сразу вызвали большой интерес у исследователей. В 2013 г. специалисты всего мира, работающие в области геометрической морфометрии, отметили 20-летний юбилей её появления. Вышел специальный выпуск итальянского териологического журнала «Hystrix», названный «Virtual Morphology and Evolutionary Morphometrics in the new millenium», под редакцией Андреа Кардини (Andrea Cardini) и Анны Лой (Anna Loy), который содержит подборку статей крупнейших мировых специалистов в этой области исследований. В статьях представлены разные версии формирования геометрической морфометрии и показаны некоторые её новые возможности и технологии.

Лесли Маркус признанно считается пионером геометрической морфометрии, её «разгонным модулем», если применить этот термин, взятый из космонавтики. Он исполнил роль идейного начала, организовал серию научных конференций и симпозиумов, привлек финансовые средства, объединил усилия целого ряда талантливых математиков и биологов, а также лично написал несколько компьютерных программ для геометрической морфометрии (GR-ND и др.). Некоторые из них, написанные для операционной системы MS-DOS, ещё могут функционировать и на современных операционных системах при использовании специальных программ, эмулирующих MS-DOS (например, DOSBox и др.). Однако на его пионерные работы в области геометрической морфометрии научные потомки сегодня ссылаются крайне редко. К большому сожалению, этот выдающийся учёный, организатор науки, создатель и популяризатор геометрической морфометрии рано ушел из жизни.



Фред Л. Букштейн

Ф. Букштейн предложил и разработал большинство терминов и алгоритмов геометрической морфометрии. Ему принадлежат такие термины, как ландмарки и классификация их по типам, Кендаллово пространство, пространство предформ, тангенциальное пространство, частные и относительные деформации, понятие базовой линии, особый способ задания фиксированных координат базовой линии (впоследствии — букштейновы координаты —  $BC$ ), метод контурного описания формы — метод

аутлайнов, а также представление о полуметках — семиландмарках и др. (Bookstein, 1991).

Ф. Дж. Рольф разработал особый метод — генерализованный Прокрустов анализ (GPA), который используется в большинстве современных исследований по геометрической морфометрии. Он также разработал, постоянно поддерживает и модернизирует пакет компьютерных программ — TPS (название пакета происходит от характерного интерполяционного метода сплайнов в виде тонких пластин — Thin-Plate Spline, предложенного всё тем же Ф. Л. Букштейном). Ф. Дж. Рольфу принадлежит и другой известный пакет программ NT-SYS-рс, исходно возникший в 80-е годы XX в. для операционной системы MS-DOS и модернизированный в 2002 г. для Windows.



Ф. Дж. Рольф

В нашей стране, как уже говорилось, пионерные работы в области геометрической морфометрии выполнили И. Я. Павлинов и его ученики на млекопитающих, а также С. М. Мироновский на рыбах. Именно благодаря энтузиазму и просветительской активности Игоя

Яковлевича Павлинова методы геометрической морфометрии стали известны сотрудникам нашего Института экологии растений и животных УрО РАН ещё на рубеже этого века, за что мы все ему очень благодарны.

Дальнейшие исторические этапы развития геометрической морфометрии в мире связаны не только с совершенствованием компьютерных технологий, но и технологий получения изображений (рентгенография, электронная томография, цифровые фотоаппараты и лазерные 3D-сканеры). На смену 2D-технике приходит более точная 3D-техника геометрической морфометрии. В наши дни осуществилась оптимистическая мечта В. Д'Арси Томпсона, который полагал, что «если трудности в описании и представлении результатов и могут быть преодолены, то только с помощью трёхмерных координат». Он ещё в 1917 г. писал, что «тогда мы сможем, наконец, получить адекватную и удовлетворяющую нас картину процессов деформации и направлений роста живых объектов» (D'Arshi Tompson, 2000 [1917]). С ним можно во многом согласиться, хотя до сих пор существует много нерешённых технических и математических проблем при использовании 3D-технологий, описании изменения формы и размеров в процессе роста и морфогенеза биологических объектов.

Главными историческими вехами развития геометрической морфометрии были компьютерные программы, большинство которых по традиции, созданной Л. Маркусом и Ф. Дж. Рольфом, являются программами свободного доступа (freeware).

В конце 90-х годов XX в. и первые годы XXI в. доминировал, а также используется в настоящее время уже упомянутый выше пакет программ TPS Ф. Дж. Рольфа. Он создал специальный сайт, на котором собраны его программы и программные разработки других авторов: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet.html>. Заметим, что в программе NTSYSpc 2.02c, также разработанной Рольфом (Rohlf, 1998), имеются некоторые программные модули, которые используют алгоритмы геометрической морфометрии, в том числе и те, которые он ранее предложил. В частности, модуль TPSWTS вычисляет проекции 2D или 3D координат объектов на главные деформации (principal warps) в виде тонкопластинных сплайнов (thin-plate spline), использующих матрицы энергии искривления (bending energy matrix), что позволяет провести статистический анализ неаффинных (non-affine) компонент изменчивости формы. Другой модуль, FOURIER, позволяет описывать форму с помощью рядов Фурье и вычислять эллиптические трансформации Фурье. Эти методы также хорошо представлены в программе К. Хаммера с соавт. (Hammer et al., 2001), названной ими PAST (см. ниже, Глава 3).

В 2001 г. появился пакет программ Ксавьера Пенина APS (**A** **P**rocrustes **S**uperimposition software), позволяющий динамично визуализировать деформации как 2D, так и 3D, но ограниченный 200 объектами и 40 ландмарками.

В 2003–2006 гг. был впервые разработан пакет программ IMP (Integrated Morphometrics Package) для анализа данных, основанных на ландмарках, созданный Дэвидом Шитсом при участии Мириам Зелдич и Дэвида Свицерски (Zelditch et al., 2004). Этот пакет непрерывно совершенствуется. В 2009–2012 гг. появилась его новая и более интегрированная версия — IMP7 (для XP и Windows 7), а в 2014 г. — IMP8 (для Windows 8, 10 и Mac OS X 10.7, 10.8). В дальнейшем в Главе 3 мы остановимся на этом полезном программном комплексе и рассмотрим его возможности более подробно.

Крупным достижением была уже упомянутая выше программа PAST К. Хаммера (Hammer et al., 2001), которая постоянно развивается и совершенствуется, интегрирована с TPS и содержит основной арсенал алгоритмов геометрической морфометрии. В версии программы PAST 2.17c реализованы различные методы, включая возможность возвращать исходные размеры объектам, уже прошедшим Прокрустов анализ (опция «Keep size»).

Удобная графическая поддержка, включающая возможность применения морфологических «термокарт» и динамических методов визуализации деформации сетчатых сплайнов для частных и относительных деформаций, делает программу крайне полезной в работе. Другим преимуществом программы, существенно ускоряющим и облегчающим обработку материала, является предусмотренная в ней возможность автоматического распознавания и прямого импортирования TPS-файлов. Новые версии PAST 3.0–3.19 этого автора разработаны для Windows 8, но сегодня функционируют также на XP и Windows 7. Последние версии уже полностью воссоздают все программные возможности предыдущей PAST 2.17c и имеют больше графических и алгоритмических возможностей, причём не только повторяя, но одновременно и развивая программный потенциал версии PAST 2.17c. Однако при кодировании объектов версия PAST 2.17c по-прежнему удобнее в работе и поскольку она доступна для скачивания, мы рекомендуем её параллельное использование, наряду с последними версиями.

Полезные программы по геометрической морфометрии были созданы в начале XXI века. Программа Morphologika<sup>2</sup> была разработана Паулем О’Хиггинсом и Николасом Джонсом (O’Higgins, Jones, 2006). Последняя её уже коммерческая версия (2010 г.) допускает 3D обработку данных, но написана для компьютеров Macintosh, поэтому для пользователей Windows, а их большинство в нашей стране, к сожалению, не подходит.

В связи с быстрым развитием R-языка программирования для статистической обработки данных (R\_Development\_Core\_Team, 2017) появилось несколько хороших пакетов программ, использующих возможности этого языка для решения задач геометрической морфометрии. Одна из наиболее известных в мире R-программ — программа «shapes», написана Яном Драйденом (Dryden, 2012: <http://CRAN.R-project.org/package=shapes>). Другой аналогичной R-программой является пакет прикладных программ «geomorph», исходно разработанный Дином Адамсом и Эриком Отярола-Кастильо (Adams, Otárola-Castillo, 2013). Новые R-программы и скрипты для геометрической морфометрии более частного характера можно найти на сайте Ф.Дж. Рольфа (см. выше). Еще одна замечательная R-программа Morpho, нацеленная на обработку 3D изображений, в 2014 г. была предложена Стефаном Шлагером (Stefan Schlager). Пакет Morpho размещен по адресу: <http://cran.r-project.org/web/packages/Morpho/>.

В случае если анализируется единая симметричная билатеральная структура, например череп грызуна, но часть ландмарок поставить не удается (есть пропуски, которые, используя билатеральные ландмарки-гомологи, нужно восстановить перед суперимпозицией), то можно воспользоваться

R-программой OSymm(), которая разработана Аннет Хабер (Annat Haber). R-код программы размещен по адресу: [http://home.uchicago.edu/annat/homepage/R\\_scripts\\_files/OSymm.R](http://home.uchicago.edu/annat/homepage/R_scripts_files/OSymm.R).

В 2002–2007 гг. интересная программа Landmark была подготовлена коллективом программистов Института анализа и визуализации данных университета Калифорнии (США), которая предназначена для создания и обработки 3D-изображений и их морфинга (манипуляций с объёмной формой).

Для анализа проявлений флуктуирующей асимметрии в 2004–2013 гг. Эладио Дж. Маркес (Eladio J. Márquez) создал программу SAGE (Symmetry and Asimmetry in GEometric Data), которая доступна свободно и размещена по адресу: <http://www-personal.umich.edu/~emarquez/morph/index.html>. Этому же автору принадлежат и другие программы, о которых будет подробнее сказано ниже в Главе 3.

Определённый интерес представляет программа Жана-Пьера Дюжардена CLIC (Collecting Landmarks for Identification and Characterization, 2002–2016), объединяющая несколько программных модулей: TET – для конвертации TPS и NTS файлов в специфические форматы программы; MOG – Прокрустова суперимпозиция, расчёт частных и относительных деформаций, анализ главных компонент и др.; PAD – дискриминантный анализ; COV – работа с матрицами, морфоразнообразие (disparity); VAR – дисперсия размера центроида и вычисление Qst – морфометрического аналога Fst; ASI – оценка флуктуирующей асимметрии по Палмеру и Стробек (Palmer, Strobeck, 1986); и другие. Данный пакет программ постоянно совершенствуется и расширяется автором. Последняя 99 версия 2016 г. уже является коммерческой программой.

Самой серьёзной вехой в продвижении и развитии методов геометрической морфометрии стала новая мощная и универсальная программа Кристиана Клингберга MorphoJ (Klingenberg, 2009, 2011), написанная на языке Java, о возможностях которой мы подробно расскажем далее. В последние годы методы геометрической морфометрии стали всё шире использовать молекулярно-генетические оценки. В частности, программа MorphoJ содержит алгоритм квадратично-изменяемой парсимонии М. Мэддисона (Maddison, 1991) для осуществления морфологического картирования филогенетических деревьев (mapping into phylogeny) и поиска филогенетического сигнала в морфологических данных. Мы проиллюстрируем эту возможность на примерах морфологического картирования и поиска филогенетического сигнала в изменчивости проявления композиций фенотипических признаков у группы обыкновенных полёвок (*Microtus arvalis* s.l.), а также на других примерах.

Подпрограммы для работы с системой равномерной расстановки контурных меток — аутлайнами (outlines), о чем далее будет рассказано подробнее, разработаны во многих уже упомянутых программах (например, PAST, TPS и MorphoJ), но имеются специализированные пакеты программ, предназначенные главным образом для этой категории меток. В первую очередь это программа Shape 1.3 (Iwata, 2002, 2006), исходно разработанная Хироёши Ивата в 2001 г. и основанная на использовании рядов Фурье.

Другая программа — EFA3D (3D Elliptic Fourier), способна вычислять трёхмерные (3D) эллиптические коэффициенты Фурье для трёхмерного контура и разработана Ф. Дж. Рольфом. Третья программа — GMTP 2.1 (Geometric Morphometrics Tools Package), созданная Сиавашем Таравати и Джамшидом Дарвишем (Taravati, Darvish, 2010), позволяет конвертировать аутлайновые tps-файлы в форматы программ PAST, EFA, MorphoJ, CSV. Последняя программа способна преобразовывать аналогичные nts-файлы с данными после Прокрустова выравнивания в CSV формат и переводить гармоники EFA и полученные аутлайны с расширением \*.out в формат PAST. Она позволяет также вычислять положение и размер центроида, площадь и контур для объектов с аутлайном, координаты исходных и итоговых аутлайнов и осуществлять их визуализацию. Все эти и некоторые другие аналогичные программы можно найти на сайте Ф. Дж. Рольфа (см. выше).

В ближайшие годы, как уже отмечалось, всё шире будут использоваться методы геометрической морфометрии, основанные на анализе 3D изображений. Это обеспечит не только большую точность измерений и оценок, но и облегчит возможность визуализации и интерпретации морфологических различий. Поэтому можно с уверенностью заключить, что геометрическая морфометрия и дальше будет совершенствоваться и развиваться.

## 2.2. КРАТКО О СПЕЦИФИКЕ ТРАДИЦИОННОЙ И ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

Обычно подразделяют два многомерных подхода в морфометрии: традиционная морфометрия, основанная на промерах, и геометрическая морфометрия, использующая для изучения формы геометрические координаты — метки (Rohlf, 2000, 2001; Adams et al., 2013). В свою очередь геометрическая морфометрия подразделяется на морфометрию, основанную на метках-ландмарках (landmarks), и другую, которая использует полуметки (semilandmarks) при создании и отслеживании контуров формы объектов — аутлайнов (outlines). Геометрическая морфометрия нацелена на обнаружение различий между объектами только по их форме, исключая влияние абсолютных размеров. Информация о размерах объектов в виде так

называемого размера центроида при этом сохраняется и может быть проанализирована отдельно или прокоррелирована с переменными, характеризующими изменчивость формы.

Традиционная морфометрия опирается на использование метрических и счётных признаков, характеризующих длину, ширину, высоту, массу, индексы (отношения переменных), угловые величины (в градусах и радианах), число элементов, метамеров и другие. Как правило, традиционная морфометрия использует измерение тех или иных размеров объектов, т.е. характеризует изменчивость их роста и динамику пропорций, но почти всегда изменчивость формы и размеров невозможно разделить (эти свойства смешаны друг с другом). Одни и те же линейные промеры часто позволяют получать сходные результаты, хотя при этом сравниваются объекты, имеющие разную форму (рис. 2.4).

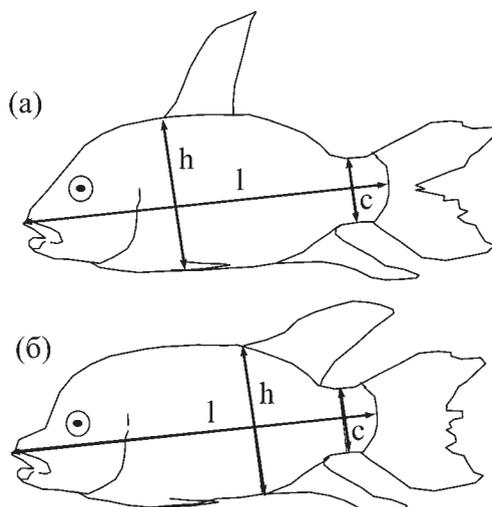


Рис. 2.4. Результаты снятия трёх линейных промеров ( $l$ ,  $h$ ,  $c$ ) у двух близких видов рыб (а) и (б) которые различаются по форме тела (по Rüber, Adams, 2001, с изменениями).

Многие методы многомерного статистического анализа, разработанные и широко используемые в рамках традиционной морфометрии, вполне пригодны и для геометрической морфометрии: метод главных компонент, методы канонического и дискриминантного анализа и др. Предполагается, что при логарифмировании промеров, их специальной индивидуальной нормировке, измерении пропорций — индексов как отношений метриче-

ских переменных, а также угловых величин можно в той или иной степени избавиться от влияния общих размеров.

В традиционной морфометрии существуют способы, позволяющие в значительной степени снять влияние размеров при изучении изменчивости, например, исключить первую главную компоненту, в наибольшей степени характеризующую размерную изменчивость, но полностью избежать влияния размеров невозможно. Можно после логарифмирования многомерных данных делить их для каждого экземпляра на его центроид (корень из суммы квадратов индивидуальных значений признаков), т.е. нормировать так, чтобы максимально избавиться от размеров, но *форму по этим данным представить невозможно*. Наилучшие результаты по «снятию влияния размеров» имеют угловые величины, которые фактически описывают элементы изменчивости формы. В принципе угловые измерения не совсем являются морфометрией, а скорее, характеризуют инвариантные отношения между частями организмов, имеющих разные размеры, т.е. описывают всё же не размеры, а форму. На рисунке (рис. 2.5) показано, что ландмарки могут выступать в качестве соответствующих вершин углов. При этом расстояния между ландмарками служат и промерами данной морфоструктуры, и сторонами углов одновременно. Замкнутая последовательная цепочка углов *pab, abc, bcd, cde, def* и т.д. образует шаржированную и схематичную конфигурацию нижней челюсти, позволяя судить о её форме в виде контура.

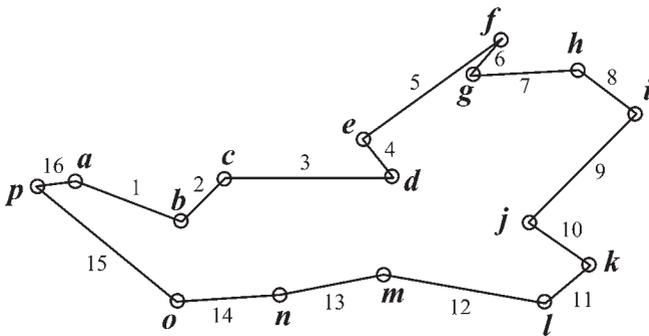


Рис. 2.5. Представление конфигурации нижней челюсти малой лесной мыши в виде цепочки 16 угловых величин при использовании 16 узловых ландмарок (*a-p*), являющихся вершинами углов, а стороны (лучи) этих углов служат в качестве промеров (1–16) челюсти.

Обычно считают, что традиционная морфометрия содержит минимум информации об изменении собственно формы биологических объектов и

только косвенно её характеризует. С другой стороны, полагают, что геометрическая морфометрия, основанная на использовании ландмарков, напротив, эту информацию об изменении формы содержит, поскольку опирается на данные по координатам меток-ландмарков, которые чаще всего связаны с определёнными гомологичными морфологическими узлами на стыках определённых частей сравниваемых организмов. Поскольку эти узловые точки одновременно фигурируют в сравнении, то удаётся конфигурационно, а не по отдельным ландмаркам описать изменчивость собственно формы организмов. Обычно используют 2D-, а в последние годы всё чаще и 3D-технологии описания формы. Иногда при поломках или фрагментации биологических объектов (последнее характерно для ископаемых образцов) нельзя разместить все ландмарки, что затрудняет анализ, но существуют способы оценки и отсутствующих (*missing*) ландмарков, как и в традиционной морфометрии. В некоторых случаях возможно применение техники искусственного виртуального выпрямления (*unbending*) изогнутых объектов, например, в пакете программ TPS (см. *tpsUtil*).

### 2.3. ТИПЫ МЕТОК-ЛАНДМАРКОВ (LANDMARKS) И ИХ КОМБИНИРОВАНИЕ

Как уже отмечалось, понятие «тип ландмарки» ввел Фред Л. Букштейн (Bookstein, 1991). Поскольку перевод его английских определений несколько затруднен, приведем одновременно и его названия, и наше толкование терминов. Он подразделил ландмарки по степени их надежности и качества расстановки на три типа: I — дискретные точки стыка гомологичных частей (*discret juxtapositions of tissues*); II — угловые точки наибольшей кривизны структур, их выпуклости или вогнутости (*maxima of curvature*); III — крайние ограничивающие точки (*extremal points*). Первые наиболее надежны, а последние наименее устойчивы при повторных расстановках меток.

Первый тип ландмарков как категория, по мнению Букштейна, объединяет такие точки пространства, в которых обычно соприкасаются три структуры. Например, это могут быть костные швы переносицы у человека, отверстия для крупных кровеносных сосудов или нервов, которые видны в двух и трёх измерениях, точки края глаза у позвоночных, а также пересечения кривых, соединяющих планы симметрии объектов. Уточним, что эти морфологические структуры или части (мероны) являются с биологической точки зрения гомологичными частями (Васильев, Васильева, 2009), которые позволяют корректно сопоставить и сравнить форму морфоструктур у представителей разных таксонов. Критерием принадлежности точки к первому типу считается возможность достаточно строгой её гомологизации. Примерами подобных строго гомологичных точек могут служить:

определённые узлы соединений жилок на крыльях насекомых, узлы на стыках костных швов черепа млекопитающих, узлы в местах отхождения плавника у рыб и другие подобные. Вероятно, необязательно, чтобы именно три структурные части обеспечивали жесткость расположения данной точки, поскольку размещение отверстия для определённого кровеносного сосуда или нерва гомологично, но само по себе вовсе не является стыком именно трёх структурных элементов.

Второй тип ландмарок соответствует точкам, которые размещают на максимально выдающихся краях выступов или наиболее глубоких участках края впадины. Часто такие угловые точки сложно отличить от первого типа, поскольку их гомологизация оказывается вполне возможной. Например, если мы будем размещать ландмарку на дистальном конце сочленовного отростка нижней челюсти, то в этом случае, скорее, можно говорить о первом типе, но такая точка по Букштейну соответствует и второму типу. По-видимому, Букштейн подходил к таким точкам больше с позиции художественного или абстрактного геометрического восприятия формы объекта (объектом для изучения формы может быть и кремнёвый наконечник стрелы), а не только биологической морфоструктуры, где гомология важнее общей конфигурации. Тем не менее, в случае формы всё той же нижней челюсти точка наибольшего углубления венечно-сочленовной впадины будет уже строго соответствовать второму типу, поскольку будет в меньшей мере гомологичным элементом, чем точкой, расположенной на геометрической кривой.

Третий тип ландмарок связан с краевыми точками, которые ограничивают объекты. Традиционно такие точки используются в обычных морфологических измерениях: длины, ширины и высоты объектов. Они не связаны с первым типом, поскольку относятся не к элементам структуры, а скорее, отражают габитуальные свойства объекта и его ростовые процессы. Иногда их трудно отличить от ландмарок второго типа. Если крайней точкой, характеризующей длину нижней челюсти, является точка, размещённая на дистальном крае её углового или сочленовного отростков, то установить их принадлежность к третьему или второму типу весьма затруднительно. Критериями классификации ландмарок по типу здесь могут быть: цель расстановки такой ландмарки (является ли она краевой в вашем исследовании) и точное её размещение относительно объекта (если она выставлена на наиболее выпуклой части отростков — это второй тип, а если просто ограничивает край относительно наибольшей длины объекта — то третий). При сложной конфигурации объекта иногда пользуются радиальной системой векторов, которая определённым образом накладывается на изображение, центрируется и ландмарки расставляются при пересечении

векторов с ближайшим краем объекта. Подобные ландмарки также следует относить к третьему — ограничивающему типу, если метки не оказываются полуметками (об этом см. ниже). По мнению Ф. Букштейна, в случаях, когда определить тип ландмарки строго не удастся, допустимо указывать переходный вариант с учётом двух смежных типов, например, относить ландмарку к I–II или II–III типам.

Если расположить типы ландмарок по порядку их номеров, то первый номер в большинстве случаев соответствует структурной компоненте описания формы объектов, второй больше характеризует нюансы собственно самой формы, а третий — её размерной компоненты. Напомним, что В. В. Корона (Корона, Васильев, 2007) предлагал разделять в морфогенезе процессы структурогенеза, формогенеза и размерогенеза, и выделенные Ф. Букштейном типы ландмарок могут отчасти характеризовать эти три составляющие морфогенеза объекта.

Иногда структурные изменения могут быть очень велики, приводя к потере или, напротив, возникновению определённого элемента или нескольких элементов структуры. В частности, напомним, что при сравнении формы чайной чашки, среднеазиатской пиалы и блюда (см. рис. 1.1), обращает на себя внимание дополнительный элемент структуры чашки — ручка, которой ни у пиалы, ни у блюда нет. Как уже отмечалось выше, можно легко сравнить форму этих трёх предметов, не учитывая ручку, но описание будет неполным. Если для нас важна полнота описания изменения формы, следует попытаться решить задачу данного сравнения неравных в структурном отношении форм. Примером аналогичной ситуации применительно к биологическим объектам может быть возникновение дополнительных призм или их исчезновение в структуре щёчных зубов полёвок, что приводит к резкому изменению общей структуры и формы зубов в плоскости жевательной поверхности.

В качестве одного из компромиссных путей выхода из такой ситуации, которая в биологии встречается довольно часто, И. Я. Павлинов (2000) предложил использовать особые фантомные структурные метки-ландмарки. Их можно помещать на наиболее сложные в структурном отношении объекты *как полноценные метки* на соответствующие элементы проявившейся структуры, поскольку такая возможность в данном случае имеется. Однако у объекта, лишённого данной структуры, размещение метки производится на то место, где потенциально должен появиться структурный элемент. Безусловно, если выстроить ландмарки по порядку с учётом букштейновых типов, то данная категория структурных меток будет в этом ряду самой последней. Таким меткам, которые И. Я. Павлинов определил

как «виртуальные метки», мы предлагаем присвоить номер IV в системе типов ландмарок Букштейна и обозначить как особый тип фантомных нестабильных ландмарок — квази-ландмарок (quasi-landmarks).

Другой способ расстановки меток, которые по определению Ф. Букштейна называют полуландмарками (semilandmarks) или, как более правильно звучит на русском языке, — полуметками (Павлинов, Микешина, 2002), характеризует форму гладких, шарообразных или эллипсовидных объектов, а также тех, у которых имеется сложная структура, способная существенно изменяться и варьировать у разных особей. Сам метод построения контурных конфигураций (по Букштейну — outlines) с помощью полуметок может быть определён как контурный. Формируемую контурную конфигурацию меток мы предлагаем на русском языке обозначить как аутлайн (от outline), а метки должны быть названы контурными полуметками (по версии И. Я. Павлинова). Контурные полуметки, или просто полуметки, представляют собой серию последовательно размещённых вдоль контура объекта точек, каждая смежная пара которых расположена вдоль кривой контура на одинаковом расстоянии друг от друга. Число таких контурных меток можно изменять произвольно. Чем больше контурных меток, тем точнее воспроизводятся контурные изображения — аутлайны объектов.

Первая точка помещается в структурно гомологичной части объекта, причём таким образом, чтобы у разных особей она была максимально сопоставимой по своему положению, например это может быть апикально-краевая точка, т.е. расположенная на самой выпуклой верхней части изображения. Преимущество такого подхода заключается в том, что он может быть применён в случаях трудно описываемой и структурно слабо выраженной конфигурации объекта (например, форма семян, плодов и листьев деревьев, яиц или икринок, раковин моллюсков и др.). Недостаток состоит в произвольности расположения ландмарок, которые невозможно строго гомологизировать, поскольку их «гомологизация» является исключительно условной и определяется только порядком последовательной расстановки и числом заданных полуметок.

Контурные полуметки позволяют облегчить измерение контура и площади объектов. В программном модуле tpsDig2 реализована такая возможность интерактивного измерения изображений и их фрагментов, которые заранее оконтурены или контур которых заранее порогово контрастирован (например, черный контур на белом фоне) для автоматической расстановки полуметок при построении конфигураций аутлайнов. В модуле tpsUtil (Rohlf, 2017a) предусмотрена опция «Compute area» для вычисления площади объекта, автоматически оконтуренного полуметками и/или ландмарками.

При расстановке полуметок в программном комплексе IMP используются дополнительные вспомогательные метки-точки, которые были названы М. Зелдич хэлперными (helper points). Эти хэлперные метки являются временными и позволяют пометить положение центра или края изображения, кроме того, указывать любые другие вспомогательные точки, необходимые для правильного позиционирования специального радиального или сетчатого шаблона. Такой шаблон, например, накладывается на изображение в программе MakeFan6 (входящей в стандартный пакет IMP) или её версии MakeFan7 и нужен для размещения ландмарок и полуметок. После завершения расстановки всех типов меток с помощью другой программы SemiLand6 (стандартный пакет IMP) и специального текстового протокола можно удалить хэлперные точки и отделить друг от друга полуметки и ландмарки. Это важно потому, что ландмарки имеют две степени свободы, а полуметки — одну. Вспомогательные хэлперные метки могут быть исключены из финального файла, предназначенного для дальнейших операций, например оценки регрессионных моделей (рис. 2.6).

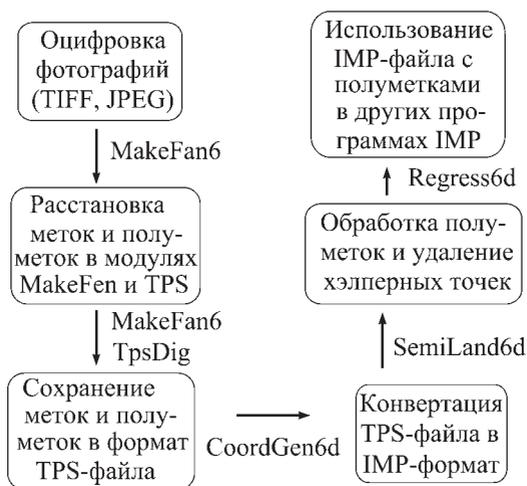


Рис. 2.6. Последовательность использования программных модулей IMP и TPS при одновременном применении ландмарок и полуметок, их первичной разметке и дальнейшем освобождении итогового файла от хэлперных точек.

Прежде чем принять систему расстановки ландмарок для практического применения в исследовании, необходимо для каждой из них определить

тип, чтобы оценить как надежность их расстановки, так и возможности дальнейшей интерпретации морфологических различий. Напомним, что структурные особенности в большей мере характеризуют метки первого типа, форму объекта — метки второго типа, а «размеры» — третьего, поэтому от соотношения разных типов меток биологическая интерпретация морфологических различий может быть несколько разной.

В практике геометрической морфометрии встречаются самые разные способы расстановки ландмарок. Иногда комбинируют расстановку ландмарок и полуландмарок на разные части объекта. Один из таких нестандартных, но хорошо известных приёмов заключается в комбинировании собственно ландмарок I и III типов с ландмарками, которые выставляются подобно полуметкам, но не по порядку. Например, одна ландмарка II типа выставляется на боковой проекции головы рыбы на максимально выпуклую точку в носовой части, а вторая — на точку пересечения с основанием переднего плавника (рис. 2.7). Затем в промежутке между ними выставляется срединная точка 3 по верхнему краю головы на равном расстоянии от первых двух. Следующий шаг — между точками 1 и 3 помещается средняя промежуточная точка 4, а другая точка 5 помещается посередине между точками 3 и 2. Такой процесс ручной расстановки ландмарок, характеризующих форму наподобие кривой произвольного контура — аутлайна, вполне эффективен, хотя, возможно, он и не так точен, как при автоматической расстановке заданного числа контурных полуметок при создании настоящих аутлайнов (outlines).

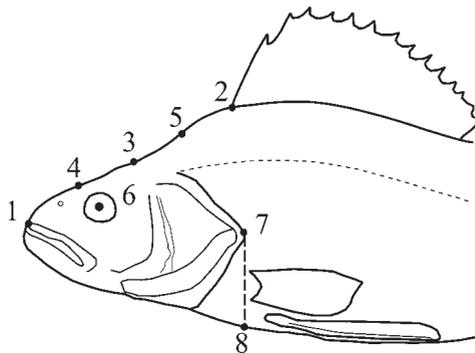


Рис. 2.7. Пример расстановки меток-ландмарок 1–8 разных типов на контурном изображении боковой проекции головы окуня *Perca fluviatilis* (см. пояснения в тексте).

Можно изменить порядок нумерации ландмарок в модуле tpsUtil или вручную при текстовом редактировании с помощью программы WordPad

и других редакторских программ. Предпочтительнее для этого случая программа WordPad, поскольку она импортирует сравнительно большой текстовый объём информации, удерживает формат текста и при сохранении итогового файла позволяет давать нужное расширение имени файла. Для нормальной дальнейшей работы с текстовыми файлами формата TPS и NTS нужно в момент их сохранения после редактирования указывать после имени файла его тип (расширение), например \*.tps или \*.nts.

Второй приём состоит в произвольном (на глаз) помещении ландмарки в центр того или иного частного объекта, входящего в изучаемый объект, например помещение ландмарки в центр глаза рыбы (рис. 2.7, № 6) или небольшой кости, а также любого другого относительно небольшого овального или круглого объекта. Третий способ касается помещения ландмарки на месте пересечения с перпендикуляром, который мысленно восстанавливается к той или иной строго гомологичной точке (рис. 2.7, № 7, 8). При этом можно говорить о том, что данная ландмарка № 8 третьего типа выставлена на уровне точки № 7 первого или второго типа.

Наконец, четвёртый способ заключается в использовании накладывающихся шаблонов в виде радиальных векторов, расходящихся из центра, веера векторов, исходящих от определённого края объекта или накладывающейся решётки с определённым числом и размером ячеек. На пересечении с векторами или узлами решётки или иных форм шаблонов могут выставляться ландмарки и полуметки (semilandmarks). Подобный способ расстановки ландмарок можно реализовать при использовании программного модуля MakeFan7 из пакета прикладных программ IMP (Sheets, 2010), где имеется несколько таких шаблонов. Специально полуметки (semilandmarks), их особенности и специфику рассмотрим позднее в соответствующем разделе. Вновь заметим, что в отличие от ландмарок полуметки (полуландмарки) последовательно и равномерно расставляются вдоль кривых, характеризующих контур формы как в 2D, так и в 3D. Ещё раз подчеркнём, что они не являются гомологичными узлами, а отражают только последовательность их равномерного размещения вдоль кривой. Использование ландмарок и полуметок требует различных подходов, в том числе и математических, что подразделяет геометрическую морфометрию на два разных блока, о чем мы уже писали выше.

Имеются также искусственные масштабирующие ландмарки, которые выставляют по делениям линейки (ruler) для дальнейшей юстировки реальных размеров объекта (см. раздел 2.5).

В заключение заметим, что допустима комбинация разных вариантов расстановки ландмарок, однако, как уже отмечалось выше, следует заранее

осознавать, какой вклад той или иной ланмарки в общую изменчивость формы можно ожидать и быть готовым его интерпретировать. Если вы использовали большинство ланмарок первого типа — результаты отражают в значительной мере структурный компонент формы, а если доминируют ланмарки третьего типа — речь в основном идёт о размерных (ростовых) составляющих изменений формы, в большей мере зависящих от экологических условий роста и развития особей. В последнем случае представляет интерес оценить также аллометрическую компоненту изменчивости формы и провести регрессию переменных формы с переменной, характеризующей размер центроида объектов (известно, что при этом предпочтительнее использовать логарифм размера центроида).

#### 2.4. ДВА ЭТАПА ОЦИФРОВКИ ИЗОБРАЖЕНИЙ ОБЪЕКТОВ

*Уважаемый коллега! Если у вас нет опыта оцифровки материала и расстановки меток-ланмарок, то можете прочитать этот небольшой раздел для того, чтобы такой опыт появился. Опытные «оцифровщики» могут этот раздел пропустить.*

Итак, оцифровка материала в геометрической морфометрии предполагает два важных этапа: получение серии цифровых фотографий объектов исследования и расстановку меток-ланмарок на изображение с помощью экранного дигитайзера (по-русски — цифрователя или оцифровывателя, от слова «digit» — цифра). Фотографии могут быть получены разными способами: с помощью цифрового фотоаппарата, цифровой видеокамеры, планшетного сканера. Существуют и другие специфические способы фотографирования — рентгенография, электронная томография, применение механических и лазерных 3D-сканеров.

Имеются и вполне надежные «дедовские» методы: сканирование рисунков, полученных с помощью рисовальных аппаратов, установленных на микроскопах. В некоторых ситуациях такие рисунки могут даже иметь преимущество по сравнению с цветными цифровыми фотографиями, поскольку под микроскопом, благодаря большой глубине резкости и возможности зрительной аккомодации, значительно легче отличить тени от морфологических частей самого объекта изображения. Недостаток последнего способа, однако, состоит в том, что весьма вероятно некоторое искажение изображений, так как сложно нарисовать один и тот же объект абсолютно одинаково. Решением в этом случае будет выбор того числа повторных рисунков, которые необходимо выполнить для получения наиболее точной усреднённой оценки изображения. Поскольку в геометрической морфометрии часто требуется получать и использовать повторные фотографии одних и тех же объектов для

оценки надежности межгрупповых различий, то получение повторных рисунков и их цифровое усреднение не являются специфической процедурой.

Переходя непосредственно к получению цифровых изображений, мы рассмотрим самый простой и наиболее распространённый случай — использование для этого планшетного сканера.

### **А. Сканирование плоских биологических объектов**

Почему при сканировании идёт речь о плоских объектах? Это и простой, и одновременно очень сложный вопрос. Фотография всегда искажает реальное изображение объекта. Об этом написаны многочисленные статьи и книги, которые посвящены искусству фотографирования. Предполагается, что Вы, коллега, уже внимательно прочитали основную информацию о том, как получаются фотографические изображения, какова роль линз и фокусного расстояния и что такое выдержка и резкость в процессе съёмки. Тем не менее, искажение изображения на фотографии всё равно будет происходить, новичок вы в фотографии или профессионал. С этим печальным обстоятельством приходится, к сожалению, примириться. Общая задача при изготовлении цифровых фотографий для геометрической морфометрии, однако, состоит в том, чтобы при выполнении серии фотографических изображений формы определённых объектов или одного объекта были получены максимально одинаковые снимки, характеризующие одинаковые ракурсы, освещение, увеличение и расположение предмета съёмки на фотографии, что позволяет минимизировать неизбежные искажения формы объектов. При фотографировании объёмных объектов, если вы не имеете 3D-сканера, возникает много сложностей (если такой сканер имеется, то появляется не меньше проблем другого рода, в частности получение изображений затемнённых пустот или загрязнённых участков и др.). Объёмные объекты, например, череп грызуна или куницы тоже можно сканировать планшетным сканером, но при этом будут наблюдаться существенные искажения реальной формы. Для того чтобы быстро убедиться в этом, можете сделать такой «опыт»: зажмурьте глаза, расположите свое лицо максимально близко к сканеру и сделайте свой цифровой снимок. Результаты съёмки вас позабавят, как коридор кривых зеркал в комнате смеха, и наглядно покажут, в какой степени искажает сканер форму объёмных объектов. Поэтому для двумерной (2D) геометрической морфометрии использование объёмных объектов возможно, но готовьтесь к многочисленным артефактам. Для снижения риска получения артефактов используйте большие серии, проводите специальный подбор числа необходимых повторностей для получения наиболее устойчивых усреднённых изображений. Используйте в случае фотографирования фотоаппаратом би-

латеральных центрально-симметричных объектов (например, дорзальной части черепа грызуна, т.е. его вида сверху) при их дальнейшей оцифровке только левую или правую половину из-за неизбежных отклонений от строгой симметрии положения самого объекта в пространстве во время съёмки. Это не исключает, конечно, возможности оцифровки и обеих половин.

Абсолютно плоских биологических объектов не бывает. Однако имеются *достаточно* плоские объекты: крыло насекомого, лист растения, нижнечелюстная ветвь грызуна и др. В то же время не существует критерия «достаточной плоскости» объекта, при которой он может эффективно использоваться при 2D геометрической морфометрии. В этом случае только вы можете решить, можно ли рассматривать ваш объект как плоский, а также каково будет искажение его формы из-за неотъемлемо присутствующего объёма и кривизны поверхности этого биологического объекта. Можно, конечно, использовать способ перевода объёмного объекта в плоский. Для того чтобы такой объёмный объект, как раковина улитки, мог рассматриваться как плоский, можно с помощью рисовального аппарата нарисовать контуры раковины, а затем сканировать и оцифровать плоское изображение. Во время рисования под рисовальным аппаратом, как уже отмечалось выше, вы можете учесть те особенности строения объекта, которые не будут вам видны или будут спорными при получении и последующем изучении, например цветной 2D фотографии объёмной раковины.

Перед тем как приступить к работе, необходимо протестировать вашу оцифровывающую технику в разных режимах съёмки соответствующих биологических образцов и выбрать наиболее стабильный режим для повторной съёмки. В любом случае следует стремиться к тому, чтобы повторное получение изображения приводило к минимально возможным различиям между фотоизображениями по яркости, контрастности, равномерности освещённости при одинаковом для всех изображений разрешении. Нестабильность условий съёмки и получаемых фотографических изображений может привести к получению многочисленных «неуправляемых» артефактов и снижению уровня дискриминации по свойствам формы между сравниваемыми группами объектов.

Итак, мы используем для двумерной (2D) геометрической морфометрии сравнительно плоские объекты, изображение которых будет минимально искажено при фотографировании.

### ***Что следует учесть при сканировании биологических образцов?***

1. Расположите объект (особь) в центре стекла планшетного сканера, но ориентируйте его головной (передней) частью к началу движения считыва-

ющей головки (движущейся светящейся лампы) так, чтобы он располагался вертикально, а не горизонтально. Это нужно для того, чтобы неизбежно возникающие тени не усложнили процесс дальнейшей расстановки меток-ландмарок.

2. Советуем заранее изготовить рамку в виде небольшого прямоугольного окна в плотном листе бумаги (лучше картона), закрывающем стекло сканера полностью. В её центре (центр стекла сканера) нужно вырезать небольшой (вертикальный) прямоугольник («окно»), который приблизительно в 2.5 раза больше, чем длина и ширина потенциального изображения объекта.

а). По нижнему краю вырезанного бумажного (картонного) окна, т.е. противоположному по отношению к источнику света, нужно горизонтально приклеить узкую полоску миллиметровой бумаги, чтобы её изображение было видно после сканирования. Другими словами, её нужно подклеить так, чтобы деления линейки были ориентированы к лампе сканера. Линейка нужна для того, чтобы при последующей расстановке меток поставить на краю изображения на определённые деления две дополнительные точки для коррекции и учёта размеров особи. Их смещение относительно положения объекта не будет важно, так как программно эта задача смещения линейки (ruler) решена (см. ниже краткое описание программы IMP). При полностью открытой крышке сканера во время сканирования общий фон изображения обычно бывает либо черным, либо фиолетовым (для темных объектов это мало подходит).

б). При необходимости получить белый фон изображения, требуется закрывать крышку сканера при сканировании. Однако при закрытии крышки хрупкие биологические объекты могут быть повреждены. Поэтому со стороны крышки сканера (противоположной источнику света) на верхний и нижний края «окна» (или боковые края) желательно приклеить небольшие пластинки пенопласта, ластика или картона (отступив от самого края на 1–2 мм). Высота (толщина) этой подложки должна быть такой, чтобы объекты в процессе сканирования при закрытии крышки не повреждались, т.е. не придавливались.

3. Поместите объект внутрь получившегося «окна». Старайтесь его класть примерно в одно и то же место и одинаково ориентировать в пространстве (см. пункт 1), т.е. крайне нежелательно, чтобы верх объекта «смотрел» на фотографии то вниз, то вверх.

4. Установите необходимое разрешение будущего изображения (для мелких объектов требуется высокое разрешение от 1200 до 2400 пикселей на дюйм) и укажите полноцветное изображение (серые полутона хуже пере-

дают форму объекта, хотя и обеспечивают небольшие по величине файлы). Напомним, что пиксель — точка (квадратик), являющаяся наименьшей частью растрового изображения. Проведите предварительное сканирование, а затем установите границы окна сканирования по величине и положению «окна», в которое помещён объект, «прихватив» край с изображением линейки или миллиметровки. В дальнейшем старайтесь сохранять эту настройку области сканирования.

а). Убедитесь, что установлено нужное разрешение (число пикселей на дюйм), и только потом сканируйте окончательно. *Если разрешение на разных фотографиях будет существенно различаться, то полноценно работать с ними будет невозможно.* Напомним, что низкое разрешение может привести к зернистому внешнему виду изображения, а более высокое обеспечит более качественное изображение, но заметно увеличит размер файла (и время его обработки соответственно).

б). Для геометрической морфометрии как правило используют изображения в графических форматах JPG или TIFF. Графический файл формата TIFF хорошо сохраняется, он обычно больше по размеру и числу пикселей на дюйм, чем файл предыдущего формата. Для более точных оценок формы объекта при таком же исходном разрешении больше пригоден этот формат. Однако, при численно больших сериях фотографий, раньше, при небольших объёмах памяти на жестких дисках (HDD), формат TIFF предпочитали заменять форматом JPG из-за экономии свободного места на диске. Сегодня это уже не так важно из-за огромных объёмов носителей памяти. Можно увеличить разрешение файла JPG и тогда он будет вполне сопоставим с файлом TIFF. Заметим также, что в R-программе `geomorph` для геометрической морфометрии используются только графические файлы формата JPG.

в). Нельзя сравнивать в одной серии изображения, сохранённые в разных графических форматах.

г). Напомним, что есть оптическое разрешение сканера и вычисляемое по определённым алгоритмам автоматически, т.е. сверх оптических возможностей. При установке разрешения вашего сканера выставляйте разрешение только в пределах реального оптического (часто это предпоследняя градация из шкалы возможного разрешения). Разрешение в диапазоне 1200–2400 пикселей на дюйм (dpi) вполне надежно. Низкое разрешение 150–200 dpi (увеличение приблизительно в 3–4 раза) можно применять лишь к очень крупным объектам (более 15–20 см), например черепам или нижним челюстям крупных млекопитающих (косуля, рысь), если они могут быть помещены для сканирования на стекло вашего планшетного сканера.

Разрешение должно быть достаточным для точного размещения меток-ландмарков на всех частях объекта при завершении оцифровки.

### ***Что делать с полученными при сканировании файлами?***

1. Складывайте все графические файлы с изображениями объектов конкретной выборки в один и тот же каталог (=папку, =директорий). Для другой выборки сделайте отдельную папку и т.д. Это позволит вам легко оперировать элементарными выборками, комбинируя их при необходимости (например, элементарные выборки самцов и самок, сеголеток и взрослых впоследствии можно будет объединить в общем файле).

2. Следует заранее подумать и решить, как называть отдельные файлы с изображениями. Поскольку наименование файлов, совмещающее их специальную кодировку, оказывается важным для дальнейшей работы в практическом отношении, коротко остановимся на этом аспекте. Тире, восклицательный и вопросительный знаки, двоеточия, точки с запятой, любые кавычки и скобки не используйте (в крайнем случае, применяйте в качестве разделителя знак подчеркика «\_» или дефис «-»). Обозначайте файлы с фотографиями только латинскими буквами (это связано с тем, что многие свободно используемые программы по геометрической морфометрии весьма требовательны к коду латиницы).

Приведём пример условной кодировки имен графических файлов для случая, когда выборки собраны в один и тот же год, но в разных локалитетах. Самую первую букву имени файла можно, например, зарезервировать для обозначения стороны тела (s — sinister — левый; d — dexter — правый) для билатеральных морфоструктур (нижнечелюстные ветви грызунов, крылья насекомых и др.). Следующие две буквы имени файла можете резервировать для помещения аббревиатуры, обозначающей место сбора, одну позицию — на указание его пола, а затем три позиции — для помещения номера объекта. Например, имя файла dSzM012a.jpg означает, что d — правое крыло насекомого, S — Свердловская область, z — заповедник, M — самец, 012 — порядковый номер 12, причём буква «a» после номера указывает на повторное сканирование той же особи. Номер особи обязательно записывайте в формате с дополняющими нулями впереди. Можно предполагать, что в одном и том же месте вы не соберете выборку больше чем 100–200 экз. (потенциально это будут трёхзначные номера), но предваряющие нули в номере особи облегчат сортировку объектов. Обычно при простой компьютерной сортировке в списке после 1 следует 11, а после 2 появляется 21. Если введёте два нуля или нуль впереди этих чисел, то такого эффекта уже не будет наблюдаться, и ваши объекты будут отсортированы по порядку но-

меров. Имена, присваиваемые файлам изображений объектов, будут крайне важны как метчики, указывающие на принадлежность к выборке, а также для проведения их дальнейшей сортировки и формирования кодирующих списков выборок.

3. На первом пробном этапе оцифровки нужно сделать минимум по две фотографии с каждого объекта (особи), маркируя повторы, например, буквой «а» в имени файла. Если таких повторов потребуется больше, то можно их обозначать следующими буквами латинского алфавита или иначе.

### **Б. Расстановка меток-ландмарок с помощью экранного дигитайзера**

Наиболее удобными программами экранного дигитайзера, обеспечивающими расстановку меток-ландмарок, являются tpsDig и tpsDig2, разработанные Ф. Дж. Рольфом (Rohlf, 2004, 2017b). В пакете программ CLIC, разработанном Ж.-П. Дюжарденом (Dujardin, 2010), имеется аналогичный программный модуль COO, который требует последовательно находить и открывать в окне отдельно взятые изображения (позднее мы рассмотрим работу в CLIC). Неплохой дигитайзер имеется в R-программе geomorph, но пока ещё далеко не все пользуются R-программами из-за необходимости помнить синтаксис форматов функций, а также использовать непривычный принцип командного языка на R-консоли вместо меню. Программный модуль tpsDig, напротив, обеспечивает достаточно удобную работу с заранее заготовленными последовательными списками файлов изображений, поскольку эти файлы один за другим могут быть вызваны в определённом порядке без прерывов на запоминание результатов оцифровки каждого изображения. Поэтому подробно рассмотрим работу именно в tpsDig (=tpsDig2).

Перед началом оцифровки ландмарок нужно обязательно установить на жестком диске компьютера два программных модуля — tpsUtil и tpsDig (или tpsDig2). Первая программа tpsUtil предназначена для нескольких функций, главная из которых построить файл в виде списка имен графических файлов, заранее помещенных в соответствующую папку. Вторая программа, например, tpsDig2, как уже отмечалось выше, — экранный дигитайзер.

### ***Что нужно делать при создании исходного файла для оцифровки изображений?***

0. Сначала перепишите из сайта Рольфа (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>) указанные программные файлы в каталог (папку) на вашем компьютере. Этот сайт содержит ссылки на большинство компьютерных программ по геометрической морфометрии и близким к ней областям,

а также программы из пакета TPS самого Рольфа. Запустите по очереди переписанные программы, которые являются установочными Setup- файлами. Просто подтвержайте согласие (Ok) на все запросы при их установке. Они автоматически будут установлены на диске C: в каталоге Program Files и подкаталоге tps.

1. **Старгуйте программу tpsUtil** — это программа утилит (инструментов и обслуживающих приспособлений). Её ярлык выглядит как изображение молоточка и других инструментов. В первой доступной строке в верхней части серой панели (не в самой верхней строке меню) нажмите на черный треугольник справа и выберите из открывшегося «субменю» нужную строчку. Необходимо щёлкнуть по строке, где написано «Build file from images», т.е. «Построить файл (TPS) из изображений».

а). Откроется доступ к клавише «Input» (серые буквы названия клавиши потемнеют), которая означает «Ввод данных». Щёлкните мышью по клавише, и в открывшемся окне доступа (файлере) найдите свой каталог с оцифрованными изображениями объектов, откройте его и щёлкните по любому, например первому, имени файла-изображения, что позволит программе узнать путь к остальным изображениям в этом каталоге для данной выборки. После этого откроется доступ к следующей кнопке «Output» — «Вывод данных в файл». Вновь щёлкните мышью по клавише и введите название будущего TPS-файла, куда будут записываться координаты меток.

б). Станет доступной кнопка «Setup». Нажмите её и проверьте порядок расположения объектов по номерам. Галочка слева означает, что объект учитывается, но если снять галочку, щёлкнув по ней, то эта особь не будет учитываться. Если мышкой «встать» (один раз щёлкнуть левой кнопкой) на имя файла изображения особи (объекта), то можно передвинуть её в списке с помощью кнопок панели с изображенными на них стрелками вниз или вверх. Обычно не следует выбирать опцию **Path** (Путь), т.е. ставить галочку в пустой квадратик рядом. Пусть эта опция будет отключена, так как при её активации при создании файла TPS будут записаны не только имена файлов, но и их местоположение на соответствующем диске, каталоге и подкаталоге. При запуске файла на другом компьютере, где путь поиска файла (Path) будет отличаться, программа tpsDig2 не сможет найти эти файлы и прекратит работу. Для восстановления доступа Вам придётся либо вручную в текстовом редакторе удалять Path из tps-файла для каждого объекта, либо воспользоваться новой опцией в программе tpsUtil 1.68, созданной в 2016 г., где этот процесс будет осуществлен автоматически.

в). Завершая выбор опций в блоке Setup, нужно нажать кнопку «Create», означающую запуск подпрограммы по вёрстке списка файлов-изо-

бражений (шаблона для будущего tps-файла). После этого можно закрыть программу, нажав кнопку «Exit» или щёлкнуть по правому верхнему кресту на панели программы, чтобы её выключить (выгрузить).

2. Следующим шагом нужно запустить вторую **программу tpsDig2, или tpsDig**. На первых шагах работы различия, существующие между ними, неважны. На открывшейся панели вверху появится строка меню. Выберите в меню File, потом Input source, затем слегка сдвиньте мышку вправо и щёлкните по File, где изображена папка. Откроется диалоговое окно, с помощью которого вы должны найти свой каталог (папку) и выбрать в нём tps-файл, имя которому вы уже дали в предыдущей программе утилит в блоке Output. Файл формата TPS (подготовленный с помощью программы tpsUtil) содержит в этот момент только имена файлов-изображений в той последовательности, в какой они были в списке (где были «галочки») в программе утилит. На первом изображении, которое откроется на экране, нужно будет последовательно расставлять мышкой точки — метки-ландмарки. Заранее хорошо продумайте и пронумеруйте последовательность расстановки ландмарок на изображении объекта (советуем распечатать изображение и нарисовать на нём метки и их порядковые номера, а затем держать эту картинку перед собой на первом этапе оцифровывания).

3. Для удобства расстановки меток выполните следующие действия. На панели инструментов есть кнопки плюс и минус. Нужно нажать на минус несколько раз, чтобы уменьшить изображение или на плюс, чтобы увеличить. Эти манипуляции никак не влияют на истинное изображение и координаты, так как работает только функция виртуальной экранной лупы.

4. Для начала расстановки меток нужно активировать данный процесс. Нажмите на кнопку в меню с изображением мишени. После этого курсор мышки на экране будет выглядеть (по умолчанию) тоже в виде мишени. Если такое изображение курсора вам не подходит, то можно открыть в верхней строке меню блок опций (Options) и выбрать в нём строку Image tools, а в открывшейся панели выбрать заголовок Cursors. В открывшемся наборе изображений курсора мышки выберите нужный, щёлкнув по пустому кружку (это значок «radio») рядом с ним. Часто выбирают курсор в виде белой стрелки, с помощью которой наиболее удобно указывать местоположение меток на изображении.

5. Точки-ландмарки на фотографии нужно расставлять последовательно, наводя центр мишени (или конец стрелки) на нужное место и щёлкая один раз левой клавишей мыши. Старайтесь при щелчке не сдвигать мышку, так как положение метки может сместиться. Порядок расстановки должен быть одинаковым для каждого последующего объекта (особи). На-

поминаем, что для удобства заранее полезно нарисовать схему расстановки ландмарков с их порядковыми номерами, положить её перед собой и при необходимости обращаться к этой схеме. Каждая метка должна помещаться в соответствии со своим порядковым номером на свою позицию, которая должна быть стандартной для всех других объектов. Пропуски или изменение порядка расстановки точек приведут к серьезным ошибкам.

а). Если заранее выбрать в блоке Options строку «Warn # landmarks not same?» (после щелчка по строке слева появится галочка, указывающая на активацию этой опции), то при несовпадении числа меток на последующих или предыдущих изображениях во время перелистывания изображений будет звучать предупреждающий звуковой сигнал. Появится также текстовое указание о несоответствии необходимого числа ландмарков на очередном изображении по сравнению с предыдущим.

б). Перейти на следующее изображение или вернуться назад, на изображение, где уже расставлены ландмарки, можно щелчком по одной из двух противоположно направленных красных стрелок вверх слева на панели задач. Перед началом работы, когда на экране изображен первый объект, в верхнем левом углу видна красная стрелка, направленная вправо. После расстановки всех меток на конкретной фотографии при однократном нажатии мышкой на стрелку вызывается следующее изображение по списку. В этот момент активируется красная стрелка вверх в самом левом углу панели, направленная «влево». Она позволяет переключаться назад к предыдущей картинке, а стрелка «вправо» — двигаться вперед к следующему по списку изображению.

6. Прекратить расстановку ландмарков можно в любой момент на любом этапе и сохранить результат Save. Если после перерыва в работе необходимо вновь загрузить программу и файл, то последовательно нажимая красную стрелку, ориентированную вправо, следует «дошагать» до нужного места и продолжить расстановку точек. При повторном сохранении файла нужно выбрать опцию подтверждения Overwrite (перезаписать поверх), а не опцию Append (подклеить снизу).

7. Если вы используете линейку (ruler), то последняя пара точек — ландмарков — расставляется по определённым делениям линейки или миллиметровки, например на расстоянии 5 мм друг от друга. Эти точки могут, как уже отмечалось выше, быть расставлены не на одни и те же деления линейки на разных изображениях, но расстояние между ними должно быть постоянным для всех объектов (особей). В дальнейшем в программах (например, в IMP или geomorph) будет учтено только это расстояние между последними двумя ландмарками.

8. Если вы случайно поставили лишнюю метку и её нужно удалить или передвинуть к следующей позиции, то для этого нужно щёлкнуть мышью по кнопке меню, где изображена «диагональная белая стрелка». Эта опция означает возможность выбора графического объекта. После этого нужно щёлкнуть левой клавишей мыши, указав на нужную/ненужную ландмарку. Затем, если требуется точку удалить, нажмите правую клавишу мышки и щёлкните на открывшемся меню по строке Delete левой кнопкой мыши. Метка после этого исчезнет. Если метку нужно передвинуть, а не удалить, то после нажатия на левую клавишу, не отпуская её, необходимо плавно потащить метку в нужное место и отпустить клавишу только тогда, когда нужная позиция будет достигнута. Для возврата в режим расстановки ландмарок вновь щёлкните в меню по кнопке с изображением мишени и продолжайте расстановку меток.

9. После сохранения результатов расстановки ландмарок в TPS-файл для выхода из программы нажмите на верхнюю правую кнопку в строке меню — «двери», или щёлкните по верхнему правому крестику окна программной панели, или в подменю File выберите нижнюю строку Exit.

## 2.5. РАЗМЕР ЦЕНТРОИДА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИНЕЙКИ

Центроид изображения — центр его «тяжести». По терминологии, принятой в геометрической морфометрии, размер центроида (centroid size — CS) — это корень квадратный из суммы квадратов расстояний от каждой из ландмарок до центра («тяжести») изображения. Фактически CS — это средний радиус окружности, которая включает изображение. Если форма биологического объекта близка к форме круга, то размер центроида будет равен его радиусу. В модели, приведённой на рис. 2.8, размер центроида можно вычислить как корень квадратный из суммы квадратов радиальных лучей  $CS = (R1^2 + R2^2 + R3^2)^{0.5}$ . Величина CS в данной упрощённой модели составляет 2.29.

При сложной форме объекта размер центроида будет не только пропорционален его общим размерам, но и окажется больше по величине у конфигураций с наиболее сложным и изрезанным краем, но равных по размерам. Поэтому нельзя жестко связывать размер центроида с размерами объекта, хотя такая связь всегда очень высока ( $r > 0.90$ ). При затруднении получить характеристики общих размеров объекта можно уверенно пользоваться этим показателем. Во многих модулях пакета программ TPS имеются опции для сохранения размера центроида в виде самостоятельной переменной.

Для того чтобы иметь возможность юстировать и масштабировать промеры, которые можно получить между произвольным числом пар ланд-

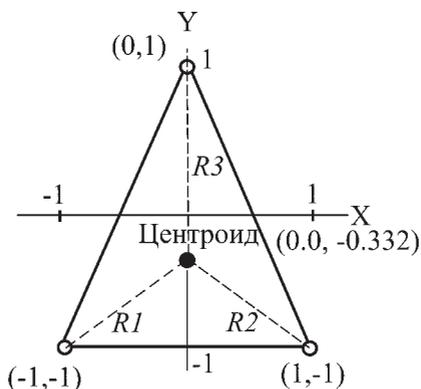


Рис. 2.8. Расположение центра у объекта с конфигурацией треугольной формы, построенной по трем ландмаркам относительно осей абсцисс ( $X$ ) и ординат ( $Y$ ). Значения координат ландмарок и центра указаны в скобках (по: Zelditch et al., 2004).

марок, используется специальный приём, касающийся расстановки двух специальных масштабирующих ландмарок. Рассмотрим это подробнее. Две последние ландмарки обычно выставляются на нужном расстоянии, как правило, на делениях приложенной при фотографировании или сканировании линейки (ruler). Это требуется для того, чтобы масштабировать последующие измерения и размеры самого центра. Линейка желательна при цифровом фотографировании с помощью штатива и необходима при получении фотографий вручную (без применения штатива или при укреплении фотокамеры на микроскопе). При фотографировании, например, нижнечелюстных ветвей небольших млекопитающих, которые не были заранее разъединены (в музеях это норма), можно воспользоваться специальной пластинкой-линейкой, расположенной вертикально перед штативом с фотоаппаратом. Сами объекты могут прикрепляться к линейке пластилином, помещаться на специальную подставку или подклеиваться скотчем (рис. 2.9).

В случае сканирования плоских объектов с помощью планшетного сканера использование линейки желательно, но необязательно. При отсутствии масштабирующей линейки размер центра вычисляется в пикселях и зависит от разрешения, установленного при съёмке: чем выше разрешение, тем больше будет размер центра в пикселях. Поэтому для сопоставимости данных о размерах объектов, полученных при сканировании и фотографировании, необходимо либо прикладывать линейку и вы-

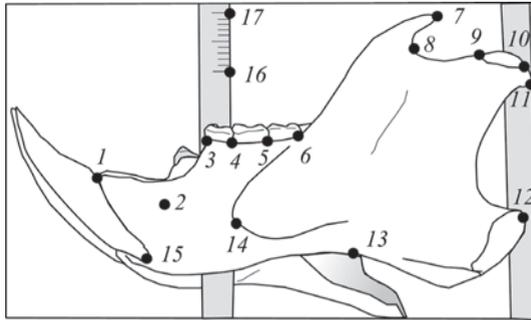


Рис. 2.9. Пример расстановки ландмарок (1–15) и масштабирующих меток (16–17) на нижней челюсти крупного грызуна, размещённой на пластинке-линейке перед установленным на штативе цифровым фотоаппаратом.

ставлять две ограничивающие мерный отрезок ландмарки, либо стремиться к сохранению разрешения и глубины резкости изображения во время съёмки. Как уже отмечалось выше, недопустимо, чтобы одна серия объектов была снята при одном разрешении, а вторая — при другом. Поэтому нельзя и произвольно изменять число делений линейки при расстановке масштабирующих ландмарок у разных особей в выборке.

При необходимости в программах IMP и TPS стандартные значения линейки учитываются и позволяют достигнуть большей точности при измерениях. Например, в программном модуле *CoordGen6f*, входящем в стандартный пакет IMP, по умолчанию размер длины отрезка составляет 10 ед. (миллиметров или иных единиц измерения длины). Эту величину в данной программе можно изменить вручную, заменив цифру в соответствующем окне-ячейке с названием «Ruler Length». В этом модуле для получения данных о масштабирующем отрезке линейки обычно последними выставляются две ландмарки, ограничивающие один и тот же отрезок линейки (например, 5 или 10 мм). В частности, при расстановке 15 основных ландмарок, характеризующих форму объекта, ландмарки 16 и 17, т.е. две последние, должны быть помещены на деления линейки для масштабирования размеров объекта (см. рис. 2.9).

Преимущество формата IMP-файлов состоит в том, что последняя (правая) колонка содержит индивидуальные значения размера центроида (CS). Если используется линейка, то размер центроида будет вычислен

пропорционально единицам измерения линейки, в противном случае значения CS будут представлены в пикселях.

В R-программе `geomorph` при пользовании функцией дигитайзера `digitize2d()` масштабирующие метки выставляются первыми, а затем после расстановки ландмарок на изображении при желании (установка масштабирующего коэффициента `scale`) можно автоматически пересчитывать координаты ландмарок с учётом масштаба (см. раздел 3.8).

## 2.6. МЕТОДЫ СУПЕРИМПОЗИЦИИ, ИСПОЛЬЗУЮЩИЕ АУТЛАЙНЫ И ЛАНДМАРКИ

Ключевым понятием геометрической морфометрии является понятие о форме объекта, данное Дэвидом Кендаллом (Kendall, 1977). По Кендаллу форма — это вся геометрическая информация об объекте за исключением информации об его местоположении и ориентации в пространстве координат, а также его размерах. Изменения изображения объекта могут быть изометрическими и неизометрическими (Павлинов, Микешина, 2002). Согласно определению, изометрические изменения объекта не меняют его формы, примером могут служить трансляция (смещение), масштабирование (изменение размера) и ротация (поворот) изображения. На рис. 2.10, где показаны операции с формой нижнечелюстной ветви роющего грызуна — обыкновенной слепушонки, хорошо видно, что при всех трёх операциях форма практически не изменяется.

Неизометрические изменения изображения приводят к изменению собственно формы объекта. Они делятся на два типа: однородные, или аффинные (*affine, uniform*), и неоднородные — неаффинные (*non-affine, non-uniform*). Аффинные изменения характеризуются тем, что все точки изображения при таких изменениях сдвигаются параллельно. Среди аффинных, или однородных (*uniform*), изменений выделяют: растяжение (*dilation*), сжатие (*compression*) и перекашивание (*shear*). Неаффинные изменения изображений сопровождаются неодинаковыми и непараллельными перемещениями точек, которые равномерно расположены на исходном изображении объекта. Примеры подобных изменений формы приведены на рис. 2.11.

Анализ формы обычно начинается с исключения той информации, которая не является собственно формой. Избыточная с точки зрения геометрической морфометрии информация может быть удалена из координат ландмарок несколькими способами, которые называются методами суперимпозиции. Были предложены несколько методов суперимпозиции, каждый из которых использовал несколько отличающиеся протоколы. Регистрация

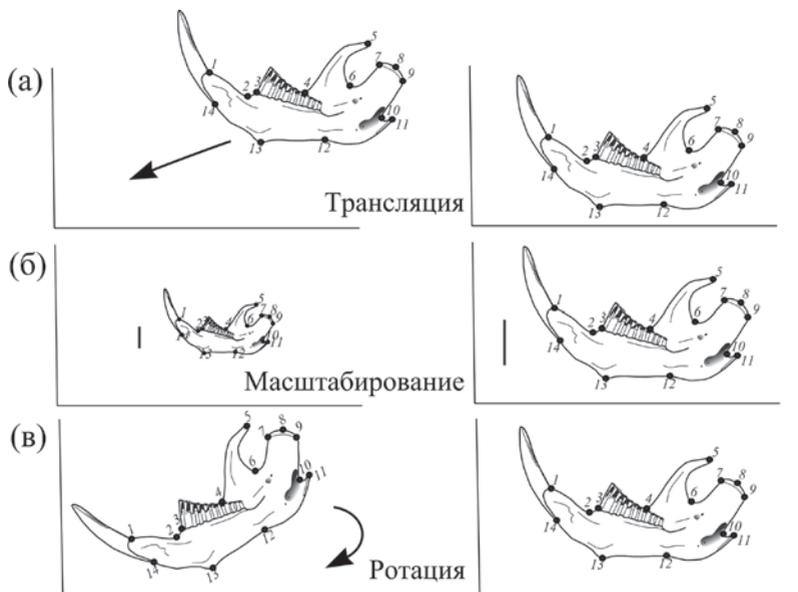


Рис. 2.10. Устойчивость формы нижней челюсти обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus*) при трёх операциях с её изображением: трансляции (а), масштабировании (б) и вращении (в).

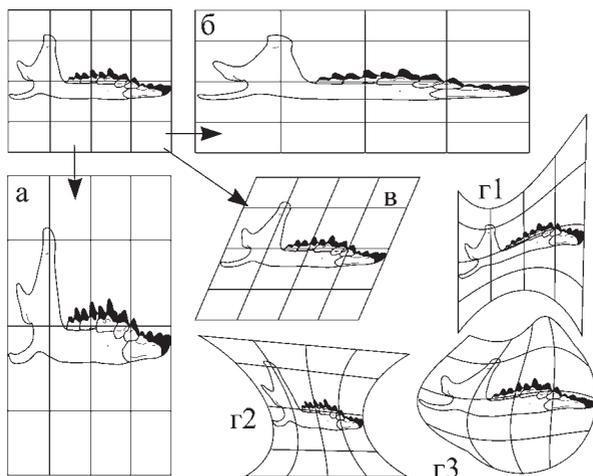


Рис. 2.11. Варианты аффинных изменений формы объектов, включающих растяжение (а), сжатие (б) и перекашивание (в), а также неаффинные изменения (γ1–γ3).

и фиксация двух точек базовой линии (Букштейновых координат формы) была простейшей суперимпозицией. Данный метод состоит в выборе двух произвольных ландмарок из общей конфигурации и присвоении их координатам значений  $(0,0)$  и  $(0,1)$ . Эти ландмарки становятся концами осевой или базовой линии (baseline). В дальнейшем все объекты в выборке совмещаются друг с другом таким образом, что координаты ландмарок их базовой линии принимают значение  $(0,0)$  и  $(0,1)$ . В результате объекты выборки транслируются (перемещаются) и поворачиваются в одно и то же положение, а их размеры масштабируются относительно базовой линии к единице её длины. Как уже было сказано выше, данные преобразования согласно определению не изменяют форму объекта.

Недостатком данного приёма является произвольный выбор двух точек для построения базовой линии. Если ландмарок много, то существует опасность выбрать две крайние метки, что приведёт к существенному асимметричному смещению последующих изображений объекта. Такая же опасность возникает, если ландмарок выставлено немного. Этот эффект смещения и искусственного искажения изображения при неудачном выборе крайних точек базовой линии хорошо проиллюстрирован М. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004). Единственный простой выход из этой ситуации, если требуется воспользоваться букштейновыми координатами, заключается в итеративном выборе двух крайних точек, которые действительно формируют базовую линию и лежат вдоль наибольшей длинной оси объекта.

Альтернативный и часто используемый на практике метод — Обобщённый Прокрустов анализ (GPA — Generalized Procrustes analysis). Для каждой конфигурации вычисляют координаты центра тяжести. Заметим, что  $x$ -координата центра тяжести — есть среднее значение всех  $x$ -координат ландмарок особи, а  $y$ -координата данного центра тяжести — есть среднее значение всех  $y$ -координат (см. раздел 2.5). Затем все конфигурации транслируются (перемещаются) в пространстве координат таким образом, что центр тяжести каждой формы в выборке располагается в точке  $(0,0)$ . После трансляции размер центра тяжести каждой конфигурации приравнивается к единице, тем самым все объекты масштабируются к одному размеру (Bookstein, 1986). В заключительной стадии конфигурации оптимально вращаются (ротация) так, чтобы минимизировать расстояние между соответствующими (корреспондирующими) друг другу, т.е. гомологичными, ландмарками (Gower, 1975; Rohlf, Slice, 1990). Этот процесс итеративно продолжается до момента вычисления средней формы, которая не могла быть оценена априори (до завершения этого процесса суперимпозиции — итеративного взаимного наложения конфигураций ландмарок). Визуализация данного процесса может выглядеть следующим образом (рис. 2.12).

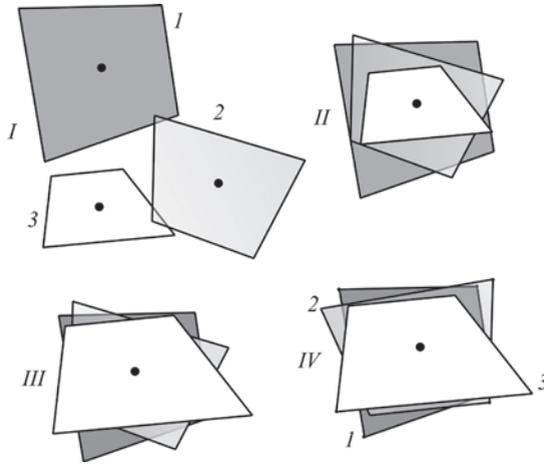


Рис. 2.12. Последовательность этапов Прокрустова анализа конфигураций лан্ডмарков для трёх условных объектов (1–3): *I* – исходное пространство фигур; *II* – трансляция (translation) и центрирование объектов с сохранением их размеров; *III* – масштабирование (scaling) с выравниванием размеров объектов; *IV* – вращение (rotation) с максимальным взаимным совмещением конфигураций лан্ডмарков относительно референсной конфигурации.

Прокрустов анализ имеет ряд ограничений. Одно из них состоит в том, что Прокрустова суперимпозиция использует критерий наименьших квадратов для нахождения оптимального вращения. Поэтому изменчивость, локализованная в отдельной лан্ডмарке, может как бы размазаться и усилиться во многих — так называемый «эффект Пиноккио». Другое ограничение состоит в том, что суперимпозиция может задавать и переносить собственный паттерн ковариации на лан্ডмарки.

Когда большая часть изменчивости формы ограничена влиянием малого числа лан্ডмарков, может быть использована процедура GRF (generalized resistant-fit) — обобщённого устойчивого совмещения для визуализации полученной модели изменчивости формы (Rohlf, Slice, 1990). Процедура GRF оценивает параметры суперимпозиции как медианы, а не как оценки наименьших квадратов. Угол вращения и масштаб находятся как медиана от медиан в соответствующих индивидуальных наборах лан্ডмарков, а трансляция представляет собой простую по координатам медиану. Как и при GPA, данная процедура итерировается до тех пор, пока для отдельных особей (объектов) не будет полностью завершена суперимпозиция. В отличие от

использования GPA применение GRF не завершается дальнейшим статистическим анализом (Adams, 2002).

Кроме рассмотренных способов суперимпозиции известны, по крайней мере, ещё два метода: метод скользящей регистрации базовой линии (SBR — sliding baseline registration) и тета-ро анализ упругого совмещения (RFTRA — resistant fit theta-rho analysis), разработанные и описанные М. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004). Оба метода не очень часто используются на практике, поэтому мы отсылаем интересующихся за информацией об этих методах к указанной выше книге.

Наконец, на первых этапах развития геометрической морфометрии любая информация, которая не улавливалась по ландмаркам и/или полуметкам, не могла быть проанализирована, включая, например, такие показатели, как «наибольшая ширина черепа». В последние годы предложены методы, которые добавляют финальный шаг суперимпозиции, на котором переменные формы масштабируются обратно к исходным размерам центроида. Такая возможность опционально предусмотрена в программе PAST при проведении процедуры Прокрустовой суперимпозиции. Для этого в верхней строке меню после загрузки и выбора данных tps-файла нужно выбрать блок «Transform» и в нём строку «Procrustes (2D+3D)», где следует указать число измерений (2D или 3D) и выбрать строку «Keep size (only translate + rotate)».

Контурные методы, использующие аутлайны (outlines) первыми стали применяться в геометрической морфометрии. При этом методе с помощью дигитайзера расставляются точки-полуметки вдоль контурной линии, затем производятся подгонка точек к математической функции чаще всего с помощью рядов Фурье и сравнение кривых по коэффициентам функций как переменных формы с помощью многомерного анализа. Точки в этом многомерном пространстве параметров (пространстве коэффициентов Фурье) могут трансформироваться обратно к физическому пространству организмов и быть визуализированными в виде контуров-аутлайнов (Adams et al., 2004). Первоначальные контурные методы осуществляли подгонку длин равномерно расставленных вкруговую от центральной точки радиальных линий. Поскольку этот подход был ограничен отдельными простыми контурами, то потребовались другие методы, использующие изменение углов касания каждой точки вдоль контура, оценивающие значения минимальных отклонений координат точек по абсциссе и ординате как функции их удалённости вдоль кривой, а также методы, использующие координаты точек вдоль контура как последовательность комплексных чисел (Rohlf, 1990). При использовании всех этих подходов, как отмечал Ф. Дж. Рольф, основная проблема заключалась в том, что статистический анализ, основан-

ный на разных методах, давал разные статистические результаты и отсутствовали критерии для выбора наилучшего метода.

Контурный анализ (outline analysis) отличают коэффициенты математических функций, совмещающие точки, расположенные вдоль контурных линий. Имеется несколько путей оцифровки контурных линий или аутлайнов. Известны способы нахождения подгонки к полиномиальной кривой и анализ главных компонент, которые постепенно замещаются двумя более новыми подходами: анализ собственных значений формы (eigenshape analysis) и эллиптический анализ Фурье (elliptical fourier analysis — EFA), которые используют введённые вручную или компьютерно прослеженные аутлайны. Первый анализ (eigenshape analysis) включает совмещение (fitting) заранее известного числа полуметок, устанавливаемых на равных расстояниях друг от друга вдоль контура-аутлайна, характеризующего форму. Он регистрирует отклонение на каждом шаге от полуметки до полуметки так, чтобы суммарный пошаговый угол между ними в итоге при характеристике формы объекта описал полный круг. Второй подход (EFA) определяет аутлайн как сумму минимального числа эллипсов, требующихся для имитирования формы (оба эти подхода успешно реализованы в программе PAST 2.17c).

## 2.7. КРАТКИЙ ОЧЕРК ТЕОРИИ ФОРМЫ

Ландмарка, как её определили И. Л. Драйден и К. В. Мардиа (Dryden, Mardia, 1998), — это точка совмещения на каждом объекте, которая строго совпадает (гомологична) у особей внутри и между популяциями. Поскольку отдельные ландмарки не могут описать форму объекта, сравнение объектов производится не по отдельным ландмаркам, а по их конфигурации в целом. Конфигурация ландмарок — полный набор всех регистрируемых у данного объекта или особи ландмарок. Представление о форме объекта как конфигурации ландмарок является центральным моментом теории геометрической морфометрии (Zelditch et al., 2004). Конфигурация ландмарок может быть представлена в виде конфигурационной матрицы размерностью  $p \times k$ , где  $p$  — это количество ландмарок, а  $k$  — мерность пространства (Dryden, Mardia, 1998; Zelditch et al., 2004). Так, в случае анализа двухмерных объектов (изображение на плоскости)  $k = 2$ , в случае трёхмерных объектов  $k = 3$ . На рис. 2.5 присутствуют 16 ландмарок на плоскости (размерность данных равна 2), следовательно, данная конфигурация задана матрицей  $16 \times 2$ . При этом мы характеризуем форму по конфигурации (набору) 16 ландмарок, а не 32 переменных. Ни ландмарки, ни 2D-координаты не являются переменными формы, а изучаются полные конфигурации объектов и полные конфигурации сравниваются между выборками. Этот подход кардинально отличается от традиционного морфометрического анализа.

Исходную конфигурацию ландмарков, содержащую избыточную информацию о положении объекта-изображения относительно декартовых координат, размерах и ориентации его главной оси в пространстве, К. Гудолл (Goodall, 1991) предлагал назвать «фигурой» (figure), т.е. ещё не формой «в чистом виде». Термин фигура, по-видимому, не прижился, и предпочитают говорить об исходной конфигурации ландмарков. Совокупность всех возможных конфигураций ландмарков, или фигур по Гудоллу, образует пространство конфигураций, или пространство фигур (figure space).

Рассмотрим случай конфигурационной матрицы треугольника (по: Zelditch et al., 2004), у которого ландмарки размещены по вершинам его углов. Обозначим координаты ландмарков каждой вершины как  $X_1$  и  $Y_1$ ,  $X_2$  и  $Y_2$ , а также  $X_3$  и  $Y_3$  для конфигурационной матрицы треугольника  $X$  в следующей форме:

$$X = \begin{bmatrix} X_1 & Y_1 \\ X_2 & Y_2 \\ X_3 & Y_3 \end{bmatrix}$$

Ту же конфигурационную матрицу можно представить в виде строчного вектора:

$$X = [X_1 \ Y_1 \ X_2 \ Y_2 \ X_3 \ Y_3]$$

Строчный вектор координат ландмарков можно вновь конвертировать в конфигурационную матрицу. В качестве примера возьмем треугольник (рис. 2.13), представив его в виде конфигурационной матрицы:

$$X = \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ +1 & -1 \\ 0 & +1 \end{bmatrix}$$

В виде строчного вектора он будет записан следующим образом:

$$X = [-1 \ -1 \ +1 \ -1 \ 0 \ +1]$$

Наряду с конфигурационной матрицей в теории геометрической морфометрии было введено представление о конфигурационном пространстве — совокупности всех возможных  $p \times k$  матриц, являющихся описанием всех возможных конфигураций ландмарков, для которых заданы  $p$  и  $k$ . Конфигурационное пространство  $p$  ландмарков с  $k$  координатами на каждую ландмарку будет иметь размерность  $p \times k$ . В частности,  $16 \times 2$  размерное конфигурационное пространство (см. рис. 2.5) представляет собой про-

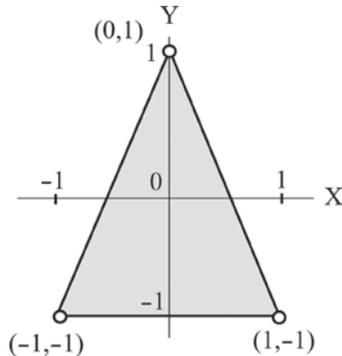


Рис. 2.13. Декартовы координаты ландмарков, размещенных в вершинах треугольника.

странство всех конфигураций, имеющих 16 двумерных ландмарков. Любая группа биологически сходных организмов, имеющих корреспондирующие ландмарки, займет в конфигурационном пространстве относительно небольшую область в силу того, что конфигурации ландмарков будут очень мало отличаться друг от друга. Если совместить в одном конфигурационном пространстве конфигурации ландмарков разных биологических объектов с одной и той же размерностью  $p \times k$  (например, по 16 двумерных ландмарков), то они займут разные подпространства, т.е. их форма будет неодинаковой. Чтобы определить местоположение какой-либо формы в конфигурационном пространстве, мы должны точно определить  $p \times k$  компонент вектора или элементов матрицы, если мы работаем с конфигурационной матрицей.

Расположение конфигурационной матрицы представляет собой местоположение её центроида, который является  $k$ -размерным вектором (для плоских объектов при двумерных ландмарках размерность  $k = 2$ ). Его компоненты, например в двумерном случае, являются усреднёнными  $X$  и  $Y$  координатами ландмарков соответственно  $X_c$  и  $Y_c$ . На рассмотренном ранее рисунке 2.8 приведена простая модель (построенная по данным Zelditch et al., 2004) размещения центроида и вычисления его положения, которое в рассмотренном примере имеет координаты  $(0, -0.332)$ . Конфигурационная матрица в дальнейшем центрируется, т.е. среднее по всем координатам соответствует нулю. Процедура центрирования обеспечивается перемещением конфигурации вдоль осей  $X$  и  $Y$  (в случае 2D), т.е. трансляцией формы. Такая трансляция производится добавлением положительных и отрицательных значений к  $X$  и  $Y$  координатам ландмарков: сначала вычисляются значения координат центроида  $X_c$  и  $Y_c$  для конфигурационной матрицы  $X$ ,

а затем положение центроида вычитается из каждой координаты для формирования центрированной конфигурационной матрицы ХС.

Заметим также, что если две конфигурационные матрицы различаются только по положению центроида, то форма сравниваемых объектов одинакова, так как они отличались только по положению (трансляции), но не по форме. Важно заметить, что трансляция не изменяет размеры центроида. При этом если объекты различаются только по размеру центроида, они имеют одинаковую форму. Другими словами, они различаются только по масштабу.

Каждую конфигурацию  $\mathbf{p}$  ландмарков (индивидуальную форму), имеющих  $\mathbf{k}$  координат, можно представить как точку в пространстве  $\mathbf{p} \times \mathbf{k}$  размерности. В данном случае точка соответствует всей конфигурации ландмарков, а не одной ландмарке. В таком пространстве конфигурации ландмарков могут отличаться по размерам центроида и его местоположению. Можно наложить два ограничения на конфигурационные матрицы, чтобы они не отличались ни по размещению, ни по размерам центроида. Если мы проведём процедуру центрирования конфигурационных матриц и затем нормируем их по размеру центроида, приведя к его к единице, то данное пространство уже будет соответствовать пространству предформ (pre-shape space), как это принято называть в геометрической морфометрии (Dryden, Mardia, 1998). Для того чтобы получить пространство предформ нужно осуществить процедуры транслирования и масштабирования, после которых каждая исходная конфигурация преобразуется в новую, ограниченную свойствами пространства предформ. Каждая новая конфигурация станет центрированной предформой. Напомним, что две ограничивающие процедуры — трансляция и масштабирование — собственно форму объекта не меняют (см. рис. 2.10).

При создании пространства предформ обеспечивается требование, согласно которому центроид конфигурации ландмарков совмещается с началом координат, а квадраты координат ландмарков дают в сумме единицу. Удовлетворяющее указанным требованиям пространство предформ имеет ряд характерных свойств, которые мы рассмотрим подробнее. Представим себе набор равноудалённых от некоего центра точек на плоскости, координаты которых описываются уравнением  $X^2 + Y^2 = 1$ . Весь набор точек будет располагаться на окружности с радиусом 1 с центром в начале координат. Поскольку все точки на окружности равноудалены от центра, для нахождения конкретной точки требуется только определить направление от центра до неё. В результате положение каждой точки на окружности может быть описано только направлением, т.е. его можно описать, используя одно измерение (dimension)

Усложним нашу двумерную модель с окружностью, добавив третье измерение. Теперь мы имеем набор равноудалённых от центра точек в трёхмерном пространстве, координаты которых описываются уравнением  $X^2+Y^2+Z^2 = 1$ . Данный набор точек располагается на поверхности сферы единичного радиуса, центр которой расположен в точке  $(0,0,0)$ . Как и в примере с окружностью, все точки на поверхности сферы равноудалены от её центра, а местоположение определённой точки задается направлением от центра до неё. Отличие от двухмерного случая заключается в том, что для описания положения точки на поверхности сферы требуется определить два измерения, аналогичные широте и долготе при описании положения географических точек на поверхности Земли.

Поскольку в пространстве предформ центроиды всех конфигураций располагаются в начале координат, а сумма квадратов координат ландмарков равна единице, то пространство предформ представляет собой поверхность гиперсферы. Данная гиперсфера является обобщением обычной сферы, но для пространства с размерностью  $p \times k$ . Другими словами она полностью эквивалентна сфере, построенной более чем в трёх измерениях.

Число измерений в пространстве предформ можно определить, учитывая число измерений, которые были потеряны при переносе из исходного пространства конфигураций. Одно измерение теряется при приведении размера центроида к единице, при котором исключается размерная составляющая пространства конфигураций. Другие  $m$ –измерений теряются при центрировании конфигураций, при котором удаляются измерения, требующиеся для характеристики местоположения (координаты) центроида. Получается, что при перемещении из пространства конфигураций в пространство предформ происходит уменьшение размерности пространства на  $k+1$ . Поэтому, в трёхмерном случае число измерений для пространства предформ будет определяться как  $m = 3p-4$ , а в двухмерном —  $2p-3$ . В нашем примере пространство предформ для треугольников будет иметь размерность  $2*3-3 = 3$ .

В пространстве предформ каждая конфигурация представлена одной точкой. Объекты в пространстве предформ различаются между собой не только по форме, но и по ориентации в пространстве, т.к. ещё не была произведена завершающая процедура суперимпозиции — вращение (ротация). Положение конфигураций, различающихся только по ротации, в пространстве предформ удобно представить, введя понятие *файбер* (fiber) или, буквально, на русском языке — волокно или нить (Zelditch et al., 2004). Повёрнутые в разной степени относительно друг друга одинаковые конфигурации образуют серию точек на поверхности гиперсферы пространства

предформ в виде дуг. Различающиеся по форме конфигурации образуют разные файберы на поверхности гиперсферы.

Используя файберы, можно минимизировать дистанции между двумя разными формами, находя такие точки на дугах, где файберы наиболее близко подходят друг к другу. Угол  $\rho$  от начала координат до двух точек минимального расстояния между файберами (характеризующими потенциальные формы после вращения) ограничивает на поверхности сферы дугу. Её хорда проходит через внутреннюю часть сферы и кратчайшим путем соединяет точки (предформы). Эта хорда представляет собой минимальную дистанцию между предформами ( $\rho$ ). Длина дуги, которая задается углом между радиусами, связывающими центр гиперсферы с двумя точками, где файберы-линии, характеризующие потенциальные формы, в наибольшей степени сближаются друг с другом, называется *Прокрустовой дистанцией* (ПД).

Прокрустова дистанция представляет собой дугу, идущую по поверхности сферы, и обычно измеряется в радианах. Поскольку радиусы, идущие до обеих точек, равны по длине, величина дуги равна величине угла, которая может предельно варьировать от нуля до  $\pi$ . При достижении предельной величины угла между точками ( $\pi$ ) они располагаются на противоположных сторонах пространства предформ. Длина кратчайшей дистанции вдоль хорды между этими двумя точками называется *частной Прокрустовой дистанцией* ( $D_p$ ). Таким образом, обе Прокрустовы дистанции характеризуют меру сходства между двумя формами (преобразованными конфигурациями ландмарок).

Следующий шаг — построение пространства форм (shape space). Пространство форм содержит по одной конфигурации, взятой из каждого файбера в точке наибольшего сближения волокон, т.е. по одному результату одной ротации для каждой центрированной предформы. Выбирается одна такая конфигурация предформы (обычно усреднённая), которая служит неким эталоном (reference) — референсной конфигурацией. Её выбор зависит от исследователя. Однако эталонная конфигурация обычно определяется как усреднённая конфигурация, или консенсус (consensus), у которого обобщённые отличия координат корреспондирующих ландмарок для всех объектов выборки являются минимальными (Павлинов, Микешина, 2002). Для каждой из оставшихся конфигураций, которые называются целевыми (target) или зависимыми (subject), производится выбор точек из точки, лежащей на файбере, где данная предформа наиболее близка к референсной (эталонной) конфигурации. О том, что расстояние между ними минимально, можно судить по величинам Прокрустовых дистанций между референсной и целевой конфигурациями. Точки файберов, расположенные дальше

от выбранного эталона, чем целевые, отличаются как по самой форме, так и по эффектам, которые возникают при её вращении, от точек, расположенных ближе к нему. Выбирая наиболее близкие к эталону точки фиберов, т.е. целевые точки, мы уменьшаем (редуцируем) каждый фибер — линию (серию) предформы до одной единственной точки, т.е. собственно формы. Все финальные целевые конфигурации отличаются друг от друга теперь только по форме.

Пространство форм имеет меньше измерений, чем пространство предформ, поскольку ряд измерений теряется при преобразовании. Общее число измерений в пространстве форм определяется по формуле  $m = rk - k - 1 - (k(k-1))/2$ , где  $k$  — число координат ландмарков (исходное измерение для конфигурации). Поэтому пространство формы для 2D конфигурации  $p$ -ландмарков должно иметь  $2p-4$  измерений. Все 4 потерянных измерения обусловлены проделанными с конфигурациями ландмарков процедурами масштабирования размера ( $-1$ ), трансляции изображений ( $-2$ ) и вращения или ротации ( $-1$ ). Для трёхмерной ситуации, судя по величине  $m$ , можно сделать вывод о том, что 3D-форма может быть повернута вокруг центра вдоль трёх ортогональных осей в пространстве декартовых координат. Поэтому следует дополнительно вычесть 3 из формулы для оценки числа измерений пространства предформ  $3p-4$ , т.е. для пространства 3D-форм эта формула будет переписана как  $3p-7$ . Из 7 потерянных измерений на соответствующие операции с 3D-формой приходятся: на масштабирование ( $-1$ ), трансляцию в трёх направлениях ( $-3$ ) и соответствующее вращение ( $-3$ ).

Пространство форм в приведённом примере с треугольниками имеет размерность  $2*3-4 = 2$  и представляет собой двумерную поверхность трёхмерной сферы. Следует рассматривать при этом половину гиперсферы пространства формы, поскольку вторая половина является зеркальным отражением первой. Расстояние между двумя конфигурациями в пространстве форм не является кратчайшим возможным (Zelditch et al., 2004). Покажем это на примере среза, проходящего через полярную ось полусферы, характеризующей изменения формы треугольников (рис. 2.14). В пространстве формы дистанция от формы  $A$  до эталонной точки равна углу  $\rho$  и называется Прокрустовой дистанцией. Как видно на рис. 2.14, дуга, проходящая по поверхности сферы, не является наикратчайшей возможной дистанцией между двумя формами. Длина хорды между формой  $A$  и  $R$  (эталонной формой) называется частной Прокрустовой дистанцией ( $D_p$ ). Хорда выглядит короче, но и она не самая минимальная возможная дистанция. Чтобы получить наименьшую дистанцию между двумя формами, нужно со-

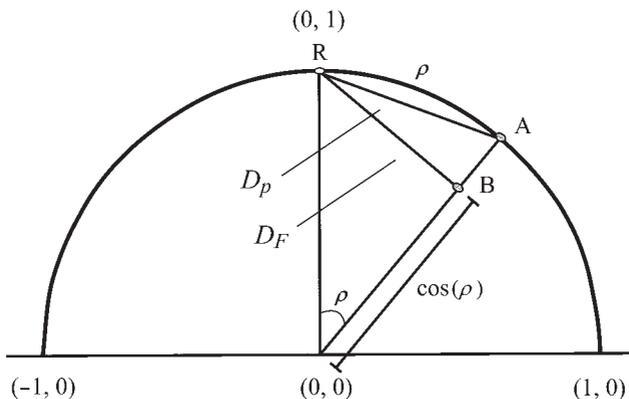


Рис. 2.14. Разрез через часть пространства формы треугольников, показывающий взаимоотношения дистанций между эталонной (референсной) формой (её координаты  $0,1$ )  $R$  и формой  $A$ . Полуокруг представляет собой поперечное сечение пространства, которое является полусферой с единичным радиусом. Длина дуги  $RA$  — Прокрустова дистанция ( $\rho$ ), длина хорды  $RA$  — частная Прокрустова дистанция ( $D_\rho$ ),  $RB$  — наикратчайшая возможная дистанция между референсной формой и формой  $A$  (форма  $B$  получена при уменьшении размера центроида формы  $A$ ) — полная Прокрустова дистанция ( $D_F$ ) (по Zelditch et al., 2004).

хранить размер центроида эталонного (reference) объекта равным единице, а размер центроида целевого (target) объекта изменить. Полученная в результате дистанция называется полной Прокрустовой дистанцией ( $D_F$ ) (см. Zelditch et al., 2004). На рис. 2.14 точками  $A$  и  $B$  показаны две конфигурации одинаковой формы, но с разным размером центроида, при этом точка  $B$  расположена ближе к референсному объекту, чем точка  $A$ .

Точка целевого объекта при подгонке размера его центроида сместится вглубь сферы вдоль своего радиуса на минимально возможное расстояние от целевого объекта до эталонного, что отражает также уменьшение размера центроида целевого объекта. При этом положение новой точки ( $B$ ) для этого целевого объекта (под поверхностью сферы) определяется по линии, которая перпендикулярна к радиусу целевого объекта и проходит через точку эталона, расположенную на поверхности сферы. Соответствующий размер центроида целевого объекта теперь будет равен  $\cos(\rho)$ , а дистанция между этими конфигурациями —  $\sin(\rho)$ . Эта величина и называется полной хордовой Прокрустовой дистанцией ( $D_p$ ).

Поскольку  $\cos(\rho)$  уменьшается по мере увеличения угла  $\rho$ , масштабирование каждой конфигурации в пространстве форм относительно  $\cos(\rho)$

( $\rho$  — дистанция до эталона) приводит к образованию нового пространства форм в виде новой сферы меньшего размера с радиусом равным  $\frac{1}{2}$  (рис. 2.15). Новая внутренняя сфера касается предыдущей полусферы в эталонной (референсной) точке, т.е. тангенциальна к ней. Новая сфера представляет собой особое Кендаллово пространство форм (Kendall shape space): набор центрированных форм, каждая из которых выровнена по размеру и ориентации таким образом, чтобы минимизировать её дистанцию от эталона (reference). Кендаллово пространство форм существенно отличается от предыдущего пространства форм, но основные свойства остались теми же, и в первую очередь остается неизменной Прокрустова дистанция между референсной и целевой формой.

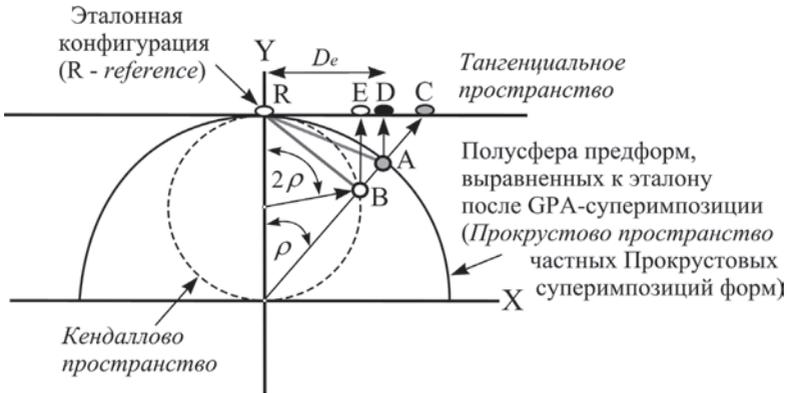


Рис. 2.15. Тангенциальное пространство к пространству формы «треугольников» и проекции конфигураций на тангенциальное пространство. Полусфера рассечена через пространство центрированных и выровненных форм, масштабированных к единице размера центраида. Внутренний круг — сечение через Кендаллово пространство формы центрированных и выровненных форм «треугольников», масштабированных к  $\cos(\rho)$ . Плоскость касается полюсов сферы и полусферы в точке R эталонной (reference) формы. Конфигурация в точке B представляет собой форму треугольника, лежащего на поверхности Кендаллова пространства, а в точке A — той же формы, но масштабированной к единице размера центраида и лежащей на поверхности Прокрустова пространства форм; C — стереографическая проекция точки B на тангенциальную плоскость; D — ортогональная проекция целевой (target) точки A на тангенциальную плоскость; E — ортогональная проекция точки B на эту же плоскость;  $\rho$  — угол дуги, равной Прокрустовой дистанции. Расстояние между R и A — частная Прокрустова дистанция ( $D_p$ ); расстояние между R и B — полная Прокрустова дистанция ( $D_f$ );  $D_e$  — евклидова дистанция в тангенциальном пространстве.

В первом пространстве форм дистанция от целевой формы до эталона была равна углу  $\rho$ , а в Кендалловом пространстве форм величина этого угла дуги определяется как  $2\rho$ . Но поскольку длина радиуса в этом случае составляет половину от длины предыдущего пространства форм, то длина дуги будет равна  $2\rho/2$ , т.е. составит прежнюю величину угла  $\rho$ . В Кендалловом пространстве сохраняется то же число измерений.

Однако имеются и важные отличия. При переходе к Кендаллову пространству ограничения, определяемые размером центроида, были изменены. В новом пространстве ограничения составляют  $\cos(\rho)$ , а не единицу (см. рис. 2.14). Как и пространство форм, Кендаллово пространство для треугольников — двумерная поверхность трёхмерной сферы. Причём, для любой конфигурации ландмарков, так же как и для треугольников, здесь применяются тот же набор и последовательность операций для преобразования пространства предформ в два пространства формы. Независимо от числа ландмарков и числа координат ландмарков (2D или 3D) эти преобразования включают выбор тех результатов вращений, для которых дистанции от эталона до предформ минимальны, а также нахождение таких размеров центроида, которые полностью минимизируют дистанцию от конфигурации до эталона.

Все пространства формы, о которых говорилось выше, включая и Кендаллово пространство, являются нелинейными и неевклидовыми, поэтому для них не подходят статистические методы, использующие евклидову метрику. Для их визуализации и применения к ним обычных многомерных статистических методов требуется спроецировать новые координаты точек, лежащих на поверхности сферы, на тангенциальную плоскость (касательную к поверхности сферы), где выполнима евклидова метрика (рис. 2.16). Поэтому часто используется тангенциальное пространство, о котором речь пойдёт ниже. Ещё одно неудобство Кендаллова пространства заключается в том, что оно пригодно лишь для сравнения очень сильно различающихся форм. Серия сравниваемых сходных форм (в биологии они обычно достаточно близки) настолько сближается с эталоном, что они оказываются в этом пространстве почти неразличимыми.

При построении пространства форм для установления угла вращения, который нужен для размещения одной предформы на минимальной Прокрустовой дистанции от другой (на сопоставляемых фиберах), достаточно повернуть первую — целевую форму (target) так, чтобы минимизировать суммарную квадратированную дистанцию между ней и эталонной конфигурацией (reference). Выше уже говорилось о том, что эта минимизированная дистанция и есть частная Прокрустова дистанция. Поскольку Прокрустова

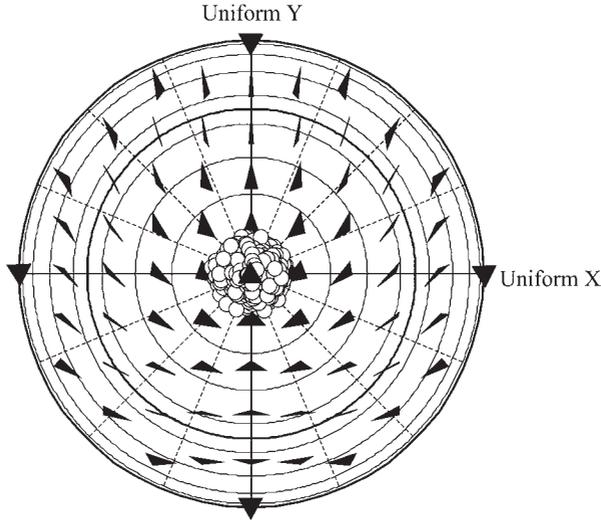


Рис. 2.16. Проекция всех возможных форм треугольников на тангенциальную плоскость — Тангенциальное пространство (по Ф. Дж. Рольфу — см. программу `tpsTri`).

дистанция является монотонной функцией частной Прокрустовой дистанции, то минимизируя частную Прокрустову дистанцию мы также минимизируем и Прокрустову дистанцию. Рассмотрим коротко математический аспект минимизации Прокрустовой дистанции и угла поворота, опираясь на пример из книги М. Зелдич с соавт. (2004). Произвольное вращение целевой (target — T) формы (в случае 2D) на угол  $\theta$  позволяет изобразить (картировать) пары лан্ডмарок  $(X_{Tj}, Y_{Tj})$  для целевого объекта с помощью координат  $((X_{Tj} \cos\theta - Y_{Tj} \sin\theta), (X_{Tj} \sin\theta + Y_{Tj} \cos\theta))$ . Сумма квадратов евклидовых дистанций между  $p$  лан্ডмарками поворачиваемого целевого объекта и эталона вычисляется по формуле:

$$D^2 = \sum_{i=1}^p \left[ (X_{Rj} - (X_{Tj} \cos\theta - Y_{Tj} \sin\theta))^2 + (Y_{Rj} - (X_{Tj} \sin\theta + Y_{Tj} \cos\theta))^2 \right]$$

где  $X_{Rj}, Y_{Rj}$  — координаты лан্ডмарок эталона. Для минимизации этой квадратированной дистанции, как функции угла  $\theta$ , берем производную относительно  $\theta$ , приравниваем её к нулю:

$$-\sum_{j=1}^p \left[ 2(X_{Rj} - (X_{Tj} \cos\theta - Y_{Tj} \sin\theta))(-X_{Tj} \sin\theta - Y_{Tj} \cos\theta) \right. \\ \left. + 2(Y_{Rj} - (X_{Tj} \sin\theta + Y_{Tj} \cos\theta))(X_{Tj} \cos\theta - Y_{Tj} \sin\theta) \right] = 0$$

и вычисляем угол  $\theta$ :

$$\theta = \arctg \left( \frac{\sum_{j=1}^p Y_{Rj} X_{Tj} - X_{Rj} Y_{Tj}}{\sum_{j=1}^p X_{Rj} X_{Tj} + Y_{Rj} Y_{Tj}} \right),$$

дающий нам величину угла, на который нужно повернуть целевой объект для минимизации его удаления от эталона.

Рассмотрим теперь числовой пример. Например, пусть у треугольника **A** координаты центроида  $X_c = (1/3)(-1+1+0) = 0$  и  $Y_c = (1/3)(-1+(-1)+1) = -0.333$ . У другого треугольника **B** координаты центроида  $X_c = (1/3)(1.07+3.1+1.55) = 1.907$  и  $Y_c = (1/3)(-1.64+(-0.72)+0.82) = -0.513$ . Центрируем конфигурационную матрицу **XC**, вычитая координаты центроидов из соответствующих координат каждой ландмарки:

$$\mathbf{XC} = \begin{bmatrix} (X_1 - X_c) & (Y_1 - Y_c) \\ (X_2 - X_c) & (Y_2 - Y_c) \\ \vdots & \vdots \\ (X_K - X_c) & (Y_K - Y_c) \end{bmatrix}$$

Центрированные конфигурационные матрицы форм треугольников в этом числовом примере будут выглядеть так:

$$\mathbf{A}_{\text{центрир.}} = \begin{bmatrix} (-1-0) & (-1-(-0.333)) \\ (+1-0) & (-1-(-0.333)) \\ (0-0) & (+1-(-0.333)) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & -0.667 \\ +1 & -0.667 \\ 0 & +1.333 \end{bmatrix},$$

$$\mathbf{B}_{\text{центрир.}} = \begin{bmatrix} (1.07-1.907) & (-1.64-(-0.513)) \\ (3.10-1.907) & (-0.72-(-0.513)) \\ (1.55-1.907) & (+0.82-(-0.513)) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.837 & -1.127 \\ +1.193 & -0.207 \\ -0.357 & +1.333 \end{bmatrix}.$$

После процедуры центрирования оба треугольника становятся наложенными друг на друга, т.е. выполняется требование суперимпозиции. Поскольку у обоих треугольников центроиды имеют координаты  $(0,0)$ , которые соответствуют средним значениям координат ландмарок, то можно использовать координаты только двух ландмарок для определения координат третьей ландмарки. Поэтому можно считать, что пространство центрированных треугольников фактически является четырёхмерным.

Центрированные треугольники ещё не находятся в пространстве предформ. Для их помещения в него нужно их масштабировать так, чтобы раз-

меры центроида были равны единице. Формула для вычисления размера центроида может быть записана в следующем виде:

$$CS(X) = \sqrt{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^k (X_{ij} - C_j)^2}$$

Соответственно получим для обоих модельных треугольников следующие размеры центроидов:

$$CS(\mathbf{A}_{\text{центр.}}) = \sqrt{(-1.0)^2 + (-0.667)^2 + (1.0)^2 + (-0.667)^2 + (0)^2 + (1.333)^2} = 2.160$$

$$CS(\mathbf{B}_{\text{центр.}}) = \sqrt{(-0.837)^2 + (1.127)^2 + (1.193)^2 + (-0.207)^2 + (-0.357)^2 + (1.333)^2} = 2.311$$

Матрицу предформ получаем после деления каждой координаты централизованного треугольника на его центроид:

$$\mathbf{A}_{\text{pre-shape}} = \frac{1}{2.160} \begin{bmatrix} -1 & -0.667 \\ +1 & -0.667 \\ 0 & 1.333 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.463 & -0.309 \\ +0.463 & -0.309 \\ 0.000 & +0.617 \end{bmatrix};$$

$$\mathbf{B}_{\text{pre-shape}} = \frac{1}{2.311} \begin{bmatrix} -0.837 & -1.127 \\ +1.193 & -0.207 \\ -0.357 & 1.333 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.362 & -0.488 \\ +0.516 & -0.089 \\ -0.154 & +0.577 \end{bmatrix}.$$

Пространство предформ для треугольников является трёхмерной поверхностью в четырёхмерном гиперпространстве, поэтому не поддается простой графической визуализации. Выберем треугольник А в качестве эталона, а треугольник В — в качестве целевой конфигурации. Теперь на том же числовом примере рассмотрим, как осуществляется при ротации треугольников переход из пространства предформ в пространство форм.

Для этого следует повернуть целевой треугольник В вокруг центроида на угол  $\theta$  до наибольшего совмещения с треугольником А, т.е. в ориентацию, когда минимизируются различия между двумя сериями парных координат ландмарк для треугольников. После вращения X- и Y-координаты каждой ландмарки должны быть преобразованы в новые координаты  $(X\cos\theta - Y\sin\theta)$ ,  $(X\sin\theta + Y\cos\theta)$ . В итоге повернутая форма треугольника  $\mathbf{B}_{\text{pre-shape}}$  будет выглядеть следующим образом:

$$\mathbf{B}_{\text{pre-sh.,rotat.}} = \begin{bmatrix} (0.362 \cos\theta) - (-0.488 \sin\theta) & (-0.362 \sin\theta) + (-0.488 \cos\theta) \\ (0.516 \cos\theta) - (-0.089 \sin\theta) & (0.516 \sin\theta) + (-0.089 \cos\theta) \\ (-0.154 \cos\theta) - (0.577 \sin\theta) & (-0.154 \sin\theta) + (0.577 \cos\theta) \end{bmatrix}$$

Для получения величины минимального угла между эталонным (А) и целевым (В) треугольниками нужно вычислить минимальный квадратный корень из суммы квадратов дистанций (рис. 2.17) между соответствующими (корреспондирующими) лан্ডмарками:

$$D = \sqrt{(X_{11} - X_{21})^2 + (Y_{11} - Y_{21})^2 + \dots + (X_{13} - X_{23})^2 + (Y_{13} - Y_{23})^2}.$$

В данном числовом примере угол, на который нужно повернуть треугольник В, равен  $\theta = -19.2^\circ$ . Подставив значение этого угла в матрицу для  $\mathbf{V}_{pre-shape,rotat.}$  (см. выше), получим новые координаты для треугольника В после его оптимального доворота:

$$\mathbf{V}_{pre-shape,rotat.} = \begin{bmatrix} -0.502 & -0.341 \\ +0.458 & -0.254 \\ 0.044 & +0.596 \end{bmatrix}$$

Если сравнить эту матрицу с исходной эталонной матрицей конфигурации, то можно заметить, что они совпадают и по знакам, и по значениям величин.

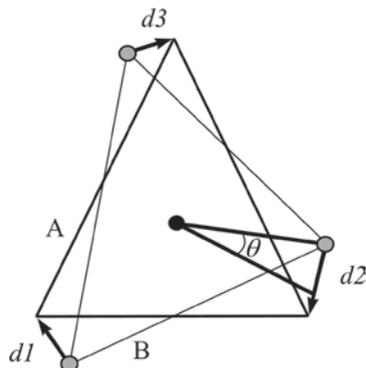


Рис. 2.17. Оптимальное выравнивание (alignment) конфигурации треугольника В по эталонной конфигурации треугольника А путем вращения В вокруг центра тяжести на неопределённый угол  $\theta$  для минимизации квадратного корня из суммы квадратов дистанций d1, d2 и d3 (на основе Zelditch et al., 2004).

При вычислении частной Прокрустовой дистанции между целевым и эталонным треугольниками ( $D_p$ ) различия по их форме в целом не очень велики:

$$D_p = \left[ (-0.502 - (-0.463))^2 + (-0.341 - (-0.309))^2 + (0.458 - 0.463)^2 + (-0.254 - (-0.309))^2 + (0.044 - 0)^2 + (0.596 - 0.617)^2 \right]^{0.5} = 0.089$$

После оптимального поворота целевого треугольника его конфигурация ландмарков максимально (как только это было возможно) была совмещена корреспондирующими ландмарками с эталонной конфигурацией (рис. 2.18).

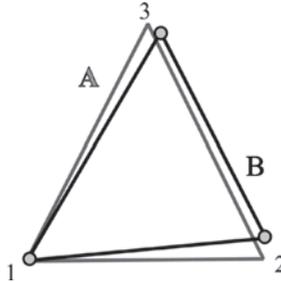


Рис. 2.18. Треугольники А (эталонная конфигурация) и В (целевая конфигурация) после поворота В для минимизации Прокрустовой дистанции. Нумерация вершин треугольников указывает их «гомологию».

Хорошо видно, что данные треугольники максимально совмещены, т.е. этот доворот получен путем Прокрустовой суперимпозиции целевого треугольника.

Ранее уже отмечалось, что Прокрустова дистанция соответствует углу  $\rho$ , выраженному в радианах, и это значение численно соответствует величине дуги между эталоном и целевой точкой. Между Прокрустовой дистанцией и частной Прокрустовой дистанцией существует следующее соотношение:  $\rho = 2 \arcsin(Dp/2)$ . Формула для расчёта частной Прокрустовой дистанции имеет следующий вид:  $Dp = 2 \sin(\rho/2)$ . В приведённом числовом примере Прокрустова дистанция ( $\rho$ ) и частная Прокрустова дистанция ( $Dp$ ) слабо различаются: 0.08943 и 0.08941 соответственно. Полная Прокрустова дистанция (для конфигураций, лежащих на поверхности гиперсферы Кендаллова пространства) вычисляется как  $D_F = \sin(\rho) = 0.08929$  (в числовом примере).

Как уже отмечалось, пространство форм треугольников представляет собой двумерную поверхность, размещённую в трёхмерном пространстве, поэтому его визуализация вполне осуществима. Для преобразования пространства форм в Кендаллово пространство на числовом примере с двумя треугольниками необходимо элементы матрицы  $\mathbf{B}_{pre\text{-}shape,rotat}$ , полученные

после оптимальной ротации и соответствующей минимизации частной Прокрустовой дистанции, умножить на косинус соответствующего угла  $\theta$ , обеспечивая переход к  $\mathbf{V}_{shape}$ :

$$\mathbf{V}_{shape} = \cos(0.089) \begin{bmatrix} -0.5021 & -0.3414 \\ +0.4583 & -0.2542 \\ 0.0439 & +0.5956 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.5001 & -0.3401 \\ +0.4564 & -0.2532 \\ 0.0437 & +0.5932 \end{bmatrix}$$

В итоге были получены декартовы координаты вершин целевого треугольника  $\mathbf{V}_{shape}$ , лежащего на поверхности Кендаллова пространства форм. Поскольку при образовании Кендаллова пространства форм была использована полная Прокрустова дистанция, которая потребовалась для определения координат ландмарок треугольника  $\mathbf{V}$ , то следует заключить, что конфигурация  $\mathbf{V}_{shape}$  находится в полной Прокрустовой суперимпозиции относительно треугольника  $\mathbf{A}$  (Zeldtch et al., 2004). Интересно, что поскольку в Кендалловом пространстве целевые конфигурации масштабируются относительно референса по размеру центроида, который равен  $\cos(\rho)$ , а дистанция эталонной конфигурации от самой себя равна нулю, то  $\cos(\rho)$  равен для эталона единице. Гиперсферы пространства форм и Кендаллова пространства соприкасаются только в одной точке — в точке эталонной (референсной) конфигурации.

Выше отмечалось, что пространство форм и Кендаллово пространство криволинейны и не позволяют использовать методы многомерной статистики, которые ориентированы на метрику евклидовых дистанций между объектами. Решением данной проблемы является замена криволинейных пространств с помощью евклидовой аппроксимации. Такой евклидовой аппроксимацией может служить тангенциальная (касательная) плоскость, которая соприкасается с пространством форм и Кендалловым пространством в точке эталонной или референсной конфигурации (см. рис. 2.15). Можно спроецировать положение точек, расположенных на криволинейных поверхностях обеих сфер на тангенциальную плоскость, двумя способами.

Первый способ — осуществить радиальные проекции от центра сфер, которые называются стереографическими. На рисунке 2.15 примером стереографической проекции является проецирование точки  $\mathbf{B}$  Кендаллова пространства на точку  $\mathbf{A}$ , лежащую на поверхности Пространства форм, полученного при Прокрустовой суперимпозиции, и далее на тангенциальную плоскость в точку  $\mathbf{C}$ . Видно, что стереографическая проекция, проходящая через поверхность Кендаллова пространства и Пространства форм, совмещается в общей точке  $\mathbf{C}$  на тангенциальной плоскости. Стереографические проекции могут использоваться в случаях, когда различия целевых форм от

эталонной сравнительно невелики. Если различия большие, то данная проекция при приближении исходной целевой точки к «экватору» сферы Кендаллова пространства может вообще не попасть на тангенциальную плоскость. Стереографические проекции дают большее удаление в плоскости от эталона по сравнению с дугowymi расстояниями Прокрустовой дистанции.

Другой способ, которым обычно пользуются, это получение ортогональных проекций в виде перпендикуляра, восстановленного к тангенциальной плоскости. Эти проекции приводят к меньшим дистанциям от эталонной точки, чем Прокрустовы дистанции. Однако ортогональные проекции дают на тангенциальной плоскости дистанции, близкие к частным Прокрустовым дистанциям, причём в отличие от стереографических проекций по мере увеличения угла  $\rho$  их дистанции между целевыми и эталонными точками возрастают асимптотически, достигая максимума, равного радиусу пространства форм.

Ещё одно различие между стереографическими и ортогональными проекциями состоит в том, что первые отражаются в тангенциальной плоскости одинаково для точек обеих сфер, а второй способ даёт различия, т.е. проекции с обеих сфер на тангенциальную плоскость в этом случае обычно не совпадают (см. рис. 2.15). При ортогональной проекции с полусферы точки дают дистанции от эталона ближе к частным Прокрустовым дистанциям, но меньше, чем Прокрустовы. При проекции с Кендалловой сферы проецируемые точки ложатся на удалении от эталона близко к значениям полной Прокрустовой дистанции. В то же время при приближении угла  $\rho$  к нулевому значению в области эталона различия между проекциями с разных сфер разных пространств формы нивелируются. Другими словами, если вы изучаете представителей одной локальной популяции, то разница будет очень мала, а при сравнении представителей разных отрядов различия резко увеличатся. Многое зависит и от выбора эталонной конфигурации. Если будет взята самая молодая особь, то все остальные будут заведомо упорядочены при суперимпозиции в онтогенетический ряд. Если выбрана средняя по форме особь, что обычно происходит по умолчанию при пользовании соответствующими программами, то результат сравнения форм будет существенно иным. Такие нюансы будущей интерпретации различий следует учитывать. Что произойдёт в морфопространстве форм, если эталоном формы будет ювенильный самец? Как это проявится в смешанной по полу и возрасту выборке? Это далеко не простые вопросы и их нужно тщательно продумывать перед началом проведения исследования.

В заключение изложения самых общих контуров теории формы перечислим морфологические пространства, которые последовательно преоб-

разуются для извлечения, описания и сравнения собственно форм. Итак, последовательность преобразования морфопространств при анализе данных методами геометрической морфометрии выглядит следующим образом.

1. *Конфигурационное пространство* КП ( $p \times k$  — размерности) — пространство, в котором располагается набор всех возможных конфигураций (матриц)  $p$ -ландмарков с  $k$  координатами (по Гудоллу — Figure space, пространство фигур).

2. *Пространство предформ* ППФ (Pre-shape space)  $pk - (k+1)$  — размерности — набор  $p \times k$  конфигураций с размерами центроида, равными единице, которые центрированы на начало координат. ППФ является поверхностью гиперсферы с радиусом, равным 1. Напомним, что в этом случае  $k$  размерностей теряются при центрировании и одна при масштабировании. Дистанция между ближайшими точками, лежащими на фиберах — кривых, отслеживающих изменение определённой формы при всех возможных её вращениях, вдоль поверхности гиперсферы ППФ, называется Прокрустовой.

3. *Пространство форм* ПФ (Shape space) или *Прокрустово пространство* (Procrustes space) размерности  $pk - k - k(k-1)/2$  — пространство, в котором располагаются конфигурации, различающиеся только по форме, но не по размеру, местоположению и ориентации (ротации). ПФ является поверхностью гиперсферы единичного радиуса. Уменьшение размерности пространства при переходе от ППФ к ПФ зависит от  $k$  — исходного количества координат ландмарков: при  $k = 2$  теряется 1, а при  $k = 3$  теряются 3 измерения. Исходной точкой при построении ПФ служит эталонная (reference) конфигурация, а все другие формы, называемые целевыми (target), размещаются и ориентируются в пространстве так, чтобы соответствовать расположению на фиберах в точках, наиболее близких к эталонной. Выбор этого положения определён минимизацией корня квадратного суммы квадратов различий между координатами соответствующих ландмарков. Хорда, кратчайшим (минимальным) способом соединяющая целевую и эталонные точки (ближайшие на фиберах), — это частная Прокрустова дистанция. Конфигурации, которые удовлетворяют условиям этой минимизации расстояния, находятся в частной Прокрустовой суперимпозиции относительно эталонной конфигурации.

4. *Кендаллово пространство* (Kendall space). Обладает той же размерностью, что и ПФ. Кендаллово пространство является поверхностью гиперсферы с радиусом  $1/2$ , заключённой внутри большей гиперсферы форм с радиусом 1. Малая гиперсфера касается большей гиперсферы в точке эталонной конфигурации. Конфигурации в Кендалловом пространстве масштабированы к размеру центроида, равному не 1, а  $\cos(\rho)$ , где  $\rho$

— угловое расстояние между эталонной и целевой формой. При таком масштабировании новые преобразованные конфигурации находятся в состоянии полной Прокрустовой суперимпозиции относительно эталонной. Результирующая дистанция между формами (квадратный корень из суммы квадратов различий между координатами соответствующих ландмарков) и есть полная Прокрустова дистанция.

5. *Тангенциальное пространство* (Tangent space). В точке эталонной конфигурации касательно к обоим гиперсферам (большой и малой) замыкает тангенциальная плоскость, характеризующая *тангенциальное пространство*. В тангенциальной плоскости, как уже отмечалось, соблюдается евклидова метрика.

Лежащие на поверхности сферы форм или на Кендалловой сфере точки, характеризующие конфигурации ландмарков, могут быть спроецированы на тангенциальную плоскость двумя способами: ортогонально или стереографически. Ортогональная проекция точки на тангенциальную плоскость дает несколько различающиеся по величине дистанции между эталонным и целевым объектом в зависимости от того, с какого пространства осуществляется проекция — с пространства форм (ПФ) или Кендаллова пространства. В первом случае дистанции на тангенциальной плоскости количественно ближе к частной Прокрустовой дистанции, во втором случае — к полной. Поскольку объекты лежат обычно близко от эталона, различия в дистанциях точек, проецируемых на тангенциальную плоскость, сравнительно невелики и ими можно пренебречь.

Если нарушить процедуру суперимпозиции и масштабирование конфигураций не производить, но осуществлять трансляцию и ротацию конфигураций, то изменчивость размеров объектов (size) и их форм (shape) создадут пространство образов (form space). Фактически это именно то пространство, от которого мы собирались уйти, снимая размерную компоненту и переходя к изменчивости собственно форм (shape), лишённой изменчивости, обусловленной размерами. Иногда при решении некоторых задач систематики требуется изометрически сохранять размеры объектов.

Ф. Миттероеккер с соавт. (Mitteroecker et al., 2004) для этого предложили достаточно простой способ. Для создания нового *пространства образов* (form space), получаемого из пространства форм (shape space), они рекомендуют проводить процедуру умножения прокрустовых координат на натуральные логарифмы размеров центроида соответствующих им объектов. При этом появляется возможность, сохраняя форму объектов (shape), придавать им ещё и компоненту размера (size), создавая Прокрустово пространство образов (size–shape space). Авторы показали, что, так же, как и в пространстве

форм, в подобном пространстве образов наблюдается нормальная сферическая вариация распределения объектов вокруг консенсусной средней формы. Поэтому пространство образов (form space), построенное таким образом, может быть использовано, когда необходимо одновременно с формой (shape) объектов анализировать и их общие размеры. При этом авторы указывают на интересную возможность изучить особенности распределения одних и тех же объектов, сравнивая (контрастируя) их размещение в пространстве форм (shape space) и образов (form space). Похожую процедуру можно осуществить, например, при использовании программы PAST (Hammer et al., 2001), где просто производится умножение Прокрустовых остатков на соответствующие объектам размеры центроида (процедура Keep size).

## 2.8. ЧАСТНЫЕ И ОТНОСИТЕЛЬНЫЕ ДЕФОРМАЦИИ, ЭНЕРГИЯ ИСКРИВЛЕНИЯ И МЕТОД ТОНКОПЛАСТИННЫХ СПЛАЙНОВ

Процедура обобщённого Прокрустова анализа (GPA) позволяет получить референсную (reference) конфигурацию (как правило, это усреднённая конфигурация) и набор целевых (target) конфигураций, количественной мерой различий между которыми являются Прокрустовы дистанции. В принципе этого уже достаточно для проведения формального статистического сравнения форм (shapes) и визуализации результатов. Однако у всех методов суперимпозиции, основанных на координатах ландмарков, при интерпретации результатов существует одно фундаментальное ограничение — это отсутствие данных о пространстве между ландмарками. Именно для целей визуализации преобразований формы в любой точке конфигурации ландмарков был разработан метод тонкопластинных сплайнов.

Тонкопластинный сплайн (thin-plate spline — TPS) — это гладкая интерполяционная функция, позволяющая визуализировать изменения формы объектов с помощью трансформационных решёток, в которые вписаны конфигурации ландмарков объектов, что в некоторой степени аналогично методу, применявшемуся Д'Арси Томпсоном (Thompson d'Arcy, 1917, цит. по Thompson d'Arcy, 1992). Параметры, описывающие эти деформации, называются координатами **частных деформаций (partial warp scores)** и могут использоваться как переменные формы для дальнейшего проведения статистических внутри- и межгрупповых сравнений изменчивости формы (Adams et al., 2004). С этим же подходом обычно связан и анализ **относительных деформаций (relative warps)**, который представляет собой многомерную ординацию координат частных деформаций методом главных компонент (PCA).

Идея TPS-метода состоит в том, что изображения объектов уподобляются модели бесконечно больших, бесконечно тонких и абсолютно одно-

родных (без дефектов) металлических пластин (листов). При сравнении двух объектов разной формы один объект деформируется или «искривляется» так, что совмещается по ландмаркам с другим. Для того чтобы деформировать стальную пластинку, необходимо затратить некоторое количество энергии, называемой энергией искривления (bending energy — BE). Величина энергии искривления всей стальной пластинки пропорциональна накопленному по всем ландмаркам локальному искривлению, необходимому для полного совмещения изображений объектов. Осуществить искривление рельефа пластинки между точками, локализованными очень близко друг от друга, значительно труднее, чем между удалёнными точками. Энергия искривления в первом случае будет значительно больше, чем во втором. Действительно, «мастеру» для получения мелкого и нерегулярного рельефа или неправильной волновой ряби на поверхности металлической пластинки нужно затратить больше сил и труда, чем, если просто согнуть пластинку пополам, сдавливая её за самые дальние края. При этом во всех руководствах по геометрической морфометрии подчеркивается, что данную модель нельзя трактовать буквально, поскольку биологические объекты — не тонкие металлические пластинки, а здесь речь, скорее, идёт о локальных искривлениях их конфигураций при совмещении референсных (эталонных или средних) и целевых (реальных) объектов по гомологичным корреспондирующим меткам-ландмаркам. Тем не менее, данная модель предусматривает, что смещения ближних меток с высокой степенью локализации имеют большую энергию искривления, чем смещения тех меток, которые локализованы далеко друг от друга.

Оценка энергии искривления ЭИ (рус.) = BE (eng.) — (bending energy) есть просто измерение различий по очертаниям двух конфигураций ландмарок. Как уже говорилось, ЭИ придает наибольший вес различиям в форме объектов на малом геометрическом масштабе, причём она обусловлена только неаффинными изменениями формы и полностью не использует их аффинные различия. Последнее не означает, что тонкопластинный сплайн не визуализирует однородные деформации (см. ниже). ЭИ не является строгой метрикой для измерения дистанции (она не симметрична) и обычно, если только в этом нет особой надобности, не используется при статистических оценках. Тем не менее, этот показатель, наряду с прокрустовой дистанцией и величиной угла  $\rho$ , выраженного в радианах, можно получить с помощью программы Ф. Дж. Рольфа **tpsSpln**.

Перед рассмотрением математических деталей метода тонкопластинных сплайнов, а также частных и относительных деформаций коротко обсудим идею этого метода, предложенного Ф. Букштейном (1989, 1991).

Напомним при этом ещё раз, что любые геометрические деформации объектов являются комбинациями аффинных (однородных) и неаффинных (неоднородных) деформаций. Выше уже отмечалось, что аффинными считаются такие деформации (рис. 2.19, 1–7), при которых все точки изображаемого объекта при деформации испытывают одинаковый эффект (линии на их поверхности остаются всегда параллельными).

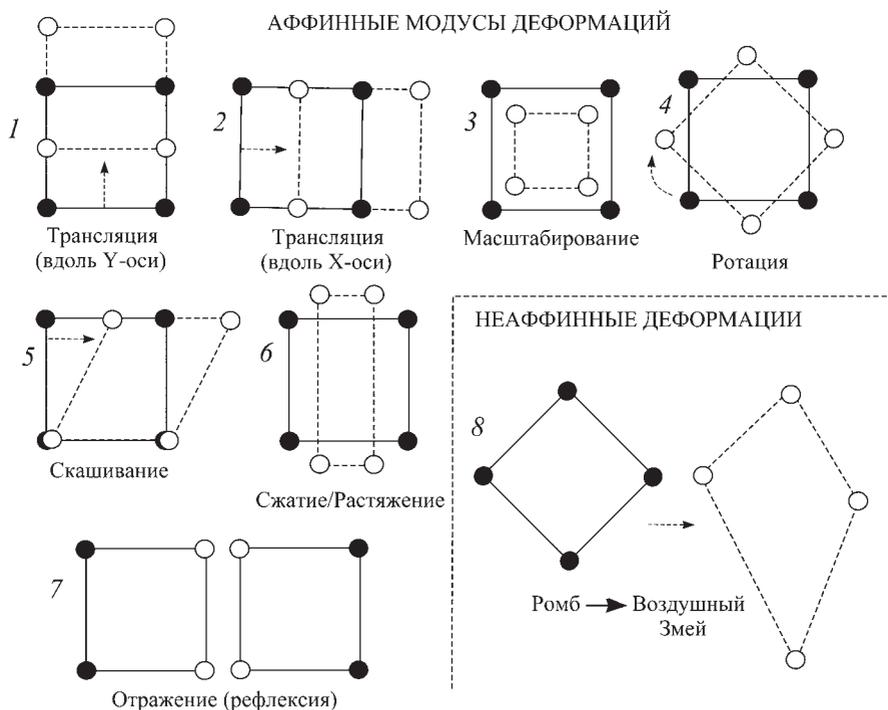


Рис. 2.19. Примеры аффинных (1–7) и неаффинных (8) деформаций.

Аффинные деформации могут быть нескольких типов. В первую очередь это те аффинные изменения изображения, эффекты которых будут удалены в процессе суперимпозиции при получении собственно формы (shape): трансляции (смещения) в двух перпендикулярных направлениях, ротация и масштабирование (изометрическое изменение размера). Есть ещё два типа однородных деформаций (рис. 2.19, 5, 6): скашивание (shear) и сжатие/растяжение (compression/dilation), которые нельзя удалить при

суперимпозиции и можно учитывать или не учитывать (по желанию исследователя) в качестве особых компонент однородных (uniform) деформаций (affine component). Отражения, или рефлексии (reflection) формы (рис. 2.19, 7) мы здесь не рассматриваем. Другая компонента деформаций изображений объектов является неаффинной (non-affine component), когда деформации пространственно локализуемы на объекте, т.е. неоднородны по всему его протяжению. Тонкопластинные сплайны (TPS) позволяют визуализировать деформации объектов отдельно для обеих компонент.

При использовании метода тонкопластинных сплайнов производится совмещение референсной конфигурации ландмарок, характеризующей эталонную (исходную) форму, с целевой формой (формой одного из объектов).

Рассмотрим некоторые математические аспекты представления преобразований формы объектов с помощью тонкопластинного сплайна (TPS), учитывая, что данный сплайн одновременно представлен двумя основными типами деформаций — аффинной, или однородной, (uniform) и неаффинной, или неоднородной, (non-uniform). Интерполяционная функция TPS используется для имитации поведения свободной от дефектов, однородной и бесконечно тонкой металлической пластинки при её искривлении в z-направлении в соответствии с геометрией смещения формы (shape).

Для того чтобы интерполяционная функция могла быть использована для моделирования поведения любой точки металлической пластинки при её деформации, она должна удовлетворять двум условиям. Во-первых, она должна быть гладкой, т.е. быть дифференцируемой на всей области определения, и, во-вторых, полностью описывать наблюдаемые деформации (Zelditch et al., 2004). Удовлетворяющая данным условиям функция имеет вид:

$$U(\mathbf{r}_{ij}) = -r_{ij}^2 \ln r_{ij}^2.$$

Здесь  $r_{ij}^2$  представляет собой квадрат дистанции между парами ландмарок  $i$  и  $j$  для совокупности координат референсной конфигурации, а  $\ln$  — натуральный логарифм. Функция  $U$  является фундаментальным решением бигармонического уравнения  $\Delta^2 U = 0$ , описывающего форму стальной пластинки (Bookstein, 1989a).

При характеристике деформации пластинки в геометрической морфометрии исходят из минимизации энергии искривления (см. выше), поэтому первоначально вычисляют индекс энергии искривления для каждой локальной ландмарки. Энергия искривления **ВЕ** стальной пластинки в точке с координатами  $X, Y$  может быть охарактеризована следующим образом (Zelditch et al., 2004):

$$BE(X, Y) = \left( \frac{d^2U}{dx^2} \right)^2 + 2 \left( \frac{d^2U}{dxdy} \right)^2 + \left( \frac{d^2U}{dy^2} \right)^2,$$

а суммарная внутренняя энергия искривления в целом для «стальной пластинки» для каждой её точки оценивается соответствующим интегралом:

$$\int (BE(X, Y) dx dy)$$

Выбор  $U(r)$  минимизирует эту энергию искривления. Минимизация энергии искривления приводит к минимизации кривизны пластинки. Поэтому когда мы подбираем линейную комбинацию функции  $U(r)$  к реальным данным, мы подбираем такую функцию, которая минимизирует степень кривизны, необходимой для того, чтобы построить модель наблюдаемой реальной деформации (Zelditch et al., 2004). Понятно, что речь идёт не о стальной пластинке, а о моделировании кривизны деформации изображений биологических объектов.

Как уже неоднократно отмечалось, взаимное размещение ландмарок вносит ограничения при формировании сплайна, поскольку труднее (на это уходит больше «энергии») достигнуть искривления между близко локализованными ландмарками, чем локализованными на удалении друг от друга. Для того чтобы определить интерполяционную функцию для TPS-поверхности всех возможных способов искривлений набора ландмарок, в литературе по геометрической морфометрии (Bookstein, 1991; Rohlf, 1996; Zelditch et al., 2004) принято использовать подразделенную блочную матрицу  $\mathbf{L}$ , которая может быть представлена следующим образом:

$$\mathbf{L} = \begin{bmatrix} \mathbf{P} & \mathbf{Q} \\ \mathbf{Q}' & \mathbf{0} \end{bmatrix}.$$

Левый верхний  $\mathbf{P}$ -блок матрицы объединяет дистанции между ландмарками, используя приведённую выше  $U$ -функцию, т.е.  $U = U(r_{ij})$ , где  $r_{ij}$  — расстояния между  $i$  и  $j$  ландмарками:

$$\mathbf{P} = \begin{bmatrix} U(0) & U(r_{12}) & U(r_{13}) & \cdots & U(r_{1p}) \\ U(r_{21}) & U(0) & U(r_{23}) & \cdots & U(r_{2p}) \\ U(r_{31}) & U(r_{32}) & U(0) & \cdots & U(r_{3p}) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ U(r_{p1}) & U(r_{p2}) & U(r_{p3}) & \cdots & U(0) \end{bmatrix}$$

Согласно приведённой выше системе обозначений, подстрочный индекс  $p$  означает общее число ландмарок как в референсной, так и в целевой конфигурациях. Диагональные элементы этой матрицы заняты нулями,

поскольку дистанции между координатами одной и той же ландмарки всегда будут равны нулю. За пределами диагонали вычисляются значения  $U$ -функции между соответствующими парами ландмарок. Матрица  $\mathbf{P}$  является квадратной и симметричной относительно своей диагонали. Блок  $\mathbf{Q}$  матрицы представляет координаты референсной конфигурации ландмарок:

$$\mathbf{Q} = \begin{bmatrix} 1 & x_1 & y_1 \\ 1 & x_2 & y_2 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & x_p & y_p \end{bmatrix}$$

Блок  $\mathbf{Q}^t$  матрицы является транспонированной  $\mathbf{Q}$  матрицей. Наконец, правый нижний блок  $\mathbf{0}$  матрицы представляет собой матрицу  $3 \times 3$ , представленную только нулями:

$$\mathbf{0} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

Все блоки матрицы  $\mathbf{L}$  в соответствии с приведённым выше уравнением формируют составную квадратную симметричную матрицу размерностью  $(p + 3)(p + 3)$ , диагональные элементы которой представлены нулями.

Поскольку в биологических исследованиях не моделируется искривление реальной стальной пластинки, то смещение точек данной пластинки в третьем измерении  $Z$  при её деформации можно представить как смещение точек в плоскости  $(X, Y)$  самой пластинки (Bookstein, 1989a). В данном случае смещение точки вдоль оси  $Z$  непосредственно добавляется к одной или обоим координатам  $(X$  и/или  $Y)$ . На практике, для того, чтобы вычислить и описать деформации в  $X$  и  $Y$  направлениях, предложены следующие линейные комбинации значений интерполяционной функции  $U(r)$ :

$$z_x(X, Y) = A_{x1} + A_{xx}X + A_{xy}Y + \sum_{i=1}^p W_{xi}U(X - X_i, Y - Y_i);$$

$$z_y(X, Y) = A_{y1} + A_{yx}X + A_{yy}Y + \sum_{i=1}^p W_{yi}U(X - X_i, Y - Y_i),$$

где  $z_x$  и  $z_y$  – функции сплайна, описывающие деформации вдоль  $X$ - и  $Y$ -направлений по отношению к референсной конфигурации, а  $W_{xi}$  и  $W_{yi}$  – весовые коэффициенты функций  $U(X - X_i, Y - Y_i)$ , привязанных к координатам ландмарок референсной конфигурации  $(X_i, Y_i)$ .

Коэффициентами  $\mathbf{A}$  характеризуются однородные деформации целевой конфигурации, представленные для полноты картины, но потом они будут удалены как нулевые. Позднее мы вновь рассмотрим формулы вычисления векторов TPS-сплайна для двух типов однородных деформаций – сжатия/растяжения и скашивания.

Используем матрицу координат  $\mathbf{V}$  размерностью  $(p + 3) \times k$ , характеризующую наблюдаемые деформации для каждой из  $p$  ландмарков с  $k$  координатами, в которой  $i$ -ые ландмарки будут обозначены как  $(X'_i, Y'_i)$ . Данная матрица описывает конфигурацию целевого объекта и может быть также преобразована через  $Z_x$  и  $Z_y$  – функции TPS-сплайна:

$$\mathbf{V} = \begin{bmatrix} X'_1 & Y'_1 \\ X'_2 & Y'_2 \\ \vdots & \vdots \\ X'_p & Y'_p \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} z_x(X_1, Y_1) & z_y(X_1, Y_1) \\ z_x(X_2, Y_2) & z_y(X_2, Y_2) \\ \vdots & \vdots \\ z_x(X_p, Y_p) & z_y(X_p, Y_p) \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} = \mathbf{LW}$$

где  $\mathbf{LW}$  – произведение рассмотренной выше матрицы  $\mathbf{L}$  и матрицы весовых коэффициентов  $\mathbf{W}$ .

Соединив все четыре блока матрицы  $\mathbf{L}$ , можно представить её в следующем виде:

$$\mathbf{L} = \begin{bmatrix} U(0) & U(r_{12}) & U(r_{13}) & \dots & U(r_{1p}) & 1 & X_1 & Y_1 \\ U(r_{21}) & U(0) & U(r_{2,3}) & \dots & U(r_{1,2}) & 1 & X_2 & Y_2 \\ U(r_{31}) & U(r_{3,2}) & U(0) & \dots & U(r_{1,2}) & 1 & X_3 & Y_3 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ U(r_{p1}) & U(r_{p2}) & U(r_{p3}) & \dots & U(0) & 1 & X_p & Y_p \\ 1 & 1 & 1 & \dots & 1 & 0 & 0 & 0 \\ X_1 & X_2 & X_3 & \dots & X_p & 0 & 0 & 0 \\ Y_1 & Y_2 & Y_3 & \dots & Y_p & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix},$$

а матрицу весовых коэффициентов  $\mathbf{W}$  с учётом приведённых выше линейных комбинаций для вычисления локализуемых  $z_x$  и  $z_y$  – функций TPS-сплайна можно представить так:

$$\mathbf{W} = \begin{bmatrix} W_{X1} & W_{Y1} \\ W_{X2} & W_{Y2} \\ \vdots & \vdots \\ W_{Xp} & W_{Yp} \\ A_{X1} & A_{Y1} \\ A_{XX} & A_{YX} \\ A_{XY} & A_{YY} \end{bmatrix}.$$

Матрица  $\mathbf{W}$  в дальнейшем будет важна при обсуждении частных и относительных деформаций. Поскольку  $\mathbf{V} = \mathbf{LW}$ , то весовую матрицу  $\mathbf{W}$  можно также представить как  $\mathbf{W} = \mathbf{L}^{-1}\mathbf{V}$ . При этом матрица  $\mathbf{L}$  преобразуется в обратную матрицу  $\mathbf{L}^{-1}$ . Верхний левый блок матрицы  $\mathbf{L}^{-1}$  размерностью  $p \times p$  принято обозначать  $\mathbf{L}_p^{-1}$ , данная матрица называется матрицей энергии искривления и используется для вычисления нелинейной компоненты трансформаций референсной конфигурации в целевую. Матрица  $\mathbf{L}_p^{-1}$  характеризует «энергию», необходимую для смещения ландмарков референсной конфигурации (искривления соответствующей референсной TPS-поверхности) в любом сочетании и на любую величину. Поскольку исходная матрица  $\mathbf{L}$  выражала степень взаимного сближения ландмарков в пространстве декартовых координат, то обращение матрицы  $\mathbf{L}^{-1}$  приводит к тому, что выраженность степени сближения ландмарков будет обратной (инверсной). Соответственно, в обращенной матрице энергии искривления относительно большие значения теперь связаны со сравнениями между ландмарками, лежащими вблизи друг от друга, а относительно малые значения  $\mathbf{W}$  теперь относятся к ландмаркам, которые лежат на большом расстоянии друг от друга.

Матрица  $\mathbf{W}$  может быть подразделена на две части. Первые  $p$  строк матрицы представляют собой веса, приписываемые неаффинной (non-uniform) изменчивости формы, а оставшиеся три ряда представлены весами, приписываемыми её аффинной, или однородной, (uniform) изменчивости. Уравнение, по которому вычисляются коэффициенты для нелинейной компоненты TPS-поверхности, представляет собой произведение матрицы координат референсной конфигурации  $\mathbf{X}_c$  размерностью  $p \times k$  и матрицы энергии искривления  $\mathbf{L}_p^{-1}$  размерностью  $p \times p$ :

$$\mathbf{TPS}_{\text{non-unif}} = \mathbf{X}_c \mathbf{L}_p^{-1}.$$

Данный способ вычисления нелинейной части преобразования формы был предложен Ф. Букштейном (Bookstein, 1989a) и до сих пор остался не-

изменным. Напротив, определение однородной компоненты преобразования формы производилось различными способами (Rohlf, Bookstein, 1990, 2003; Bookstein, 1991, 1996; Rohlf, 1993; Zelditch et al., 2004).

Математические детали вычисления однородной компоненты деформаций (uniform), характеризующих степень скашивания и сжатия/растяжения для расчёта векторов локальных лан্ডмарков референсной конфигурации, подробно изложены в соответствующих руководствах (см. Bookstein, 1991, 1996; Dyden, Mardia, 1998; Rohlf, Bookstein, 2003; Zelditch et al., 2004). Во всех вариантах расчётов заранее принимаются некоторые необходимые условия: 1 – референсная конфигурация ориентирована (повёрнута) относительно главных осей выравнивания (principal axis alignment) так, чтобы  $\sum_i x_i y_i = 0$ ; 2 – референсная конфигурация имеет размер центроида, равный единице так, чтобы  $\sum_i (x_i^2 + y_i^2) = 1$ ; 3 – координаты центроида соответствуют (0,0) так, чтобы  $\sum_i x_i = 0$  и  $\sum_i y_i = 0$ .

Для упрощения формальной записи решения этой задачи, например в соответствии с рекомендациями Ф. Букштейна (Bookstein, 1996), вводятся коэффициенты:  $\alpha = \sum x_i^2$  и  $\gamma = \sum y_i^2$  для сумм квадратов координат референсной конфигурации. Пусть также,  $\Delta x$  и  $\Delta y$  обозначают различия между координатами целевого объекта после Прокрустова анализа и теми, на которые будет довёрнута референсная конфигурация. Затем Ф. Букштейн, применяя эти коэффициенты в формулах, использует линеаризованные Прокрустовы оценки однородной компоненты деформаций для расчёта координат  $u_1$  и  $u_2$  у каждого целевого объекта:

$$u_1 = \frac{\alpha \sum y_i \Delta x_i + \gamma \sum x_i \Delta y_i}{\sqrt{\alpha\gamma}};$$

$$u_2 = \frac{-\gamma \sum x_i \Delta y_i + \alpha \sum y_i \Delta x_i}{\sqrt{\alpha\gamma}}.$$

Для двумерного случая  $u_1$  и  $u_2$  при заданной референсной конфигурации являются линейными комбинациями  $\Delta x$  и  $\Delta y$  (Rohlf, 1996). Геометрически  $u_1$  и  $u_2$  позволяют визуализировать эффект соответствующих однородных деформаций для координат лан্ডмарков референсной конфигурации, с помощью уравнения, описывающего эффект однородного преобразования формы на координатах лан্ডмарков у референсной конфигурации:

$$\begin{bmatrix} x' \\ y' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & u_1 \\ 0 & 1 + u_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix},$$

где  $x$  и  $y$  — центрированные, масштабированные и ротированные координаты референсной конфигурации, а  $x'$  и  $y'$  — координаты той же референсной конфигурации после операции её сдвига, определённого параметрами  $u_1$  и  $u_2$ .

Следует, однако, учесть, что данные формулы несколько отличаются от тех, которые использовали Ф. Дж. Рольф (Rohlf, 1996) или М. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004). Заметим также, что здесь величина  $\alpha$  не является тем ключевым показателем степени  $\alpha$ , который будет представлен далее в формуле Рольфа (Rohlf, 1993) при расчёте координат частных деформаций (см. ниже).

Известен также другой способ вычислений, предложенный Ф. Дж. Рольфом (Rohlf, 1993), который применяется чаще. Согласно этому способу, используется всё та же составная блочная матрица  $\mathbf{L}^{-1}$ , в которой основа для получения однородной компоненты преобразования формы содержится в верхнем правом блоке размерностью  $p \times 3$ . Этот блок обозначен индексом  $q$ , что подчёркивает его аналогию с матрицей  $\mathbf{Q}$ . Поэтому  $\mathbf{L}_q^{-1}$  разбиение блочной матрицы  $\mathbf{L}^{-1}$  используется для вычисления однородной компоненты TPS по следующей формуле:

$$\mathbf{TPS}_{\text{uniform}} = \mathbf{X}_c \mathbf{L}_q^{-1}.$$

Поскольку сплайны прорисовываются как поверхности, включающие в себя и ландмарки, то на участках сплайна между ландмарками и в зонах, лежащих вокруг областей, покрытых набором ландмарок, возникает тенденция к проявлению больших деталей сплайновой конфигурации, чем это реально имеется. Поэтому классики геометрической морфометрии подчеркивают необходимость учитывать тот факт, что, за исключением непосредственных участков, окружающих ландмарки, все другие аспекты сплайна представляют собой искусственные интерполяции (до некоторой степени артефакты). Если для исследователя очень важно изучить изменчивость формы для фрагментов поверхности объекта, расположенных между конкретными ландмарками, вполне допустимо разместить на этих участках или вблизи от них дополнительные ландмарки и повторить анализ изменчивости формы объекта.

Для двумерной ситуации Ф. Дж. Рольф (Rohlf, 1996) предложил вычислять интерполяционную TPS-функцию, включая как её однородную, так и неоднородную (нелинейную) компоненты:

$$\begin{bmatrix} x_i \\ y_i \end{bmatrix} = \mathbf{A} \begin{bmatrix} 1 \\ x \\ y \end{bmatrix} + \sum_{j=1}^p n_j \mathbf{U}(\mathbf{r}_j),$$

где  $x'_i$  и  $y'_i$  — вычисленные координаты целевой конфигурации  $i$ -объекта,  $x$  и  $y$  — координаты референсной (эталонной) конфигурации. Матрица  $\mathbf{A}$ , элементы которой имеют размерность  $k \times (k + 1)$ , характеризует все аспекты однородных преобразований референсной формы. Элементы матрицы рассчитываются по формуле  $\mathbf{TPS}_{\text{uniform}}$  (см. выше). Формула для вычисления функции энергии искривления  $U(r_j)$  характеризует, как уже отмечалось выше, расстояние (искривление) между метками эталона ( $j = 1, \dots, p$ ). Для трёхмерного случая функция  $U(r_{ij}) = r_{ij}^2$ . По матрице  $\mathbf{TPS}_{\text{non-unif}}$  (см. выше) вычисляются  $n_j$  — векторы, определяющие неоднородные преобразования конфигурации. Полная интерполяционная TPS-функция, характеризующая преобразование референсной конфигурации в целевую имеет размерность  $k \times (k + 1) + kp$  и складывается из  $\mathbf{TPS}_{\text{non-unif}}$  и  $\mathbf{TPS}_{\text{uniform}}$ .

Матрица коэффициентов энергии искривления  $\mathbf{L}_p^{-1}$  может быть преобразована в серию собственных векторов  $E_i$  и собственных чисел  $\lambda_i$  таким образом, что будет справедливо уравнение:  $\mathbf{L}_p^{-1}E_i = \lambda_i E_i$ . Поскольку диагональная матрица собственных чисел  $\mathbf{\Lambda}$  представлена как:

$$\mathbf{\Lambda} = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & \lambda_p \end{bmatrix},$$

а произведение матрицы энергии искривления на транспонированную матрицу равно единице ( $\mathbf{E} \times \mathbf{E}^T = 1$ ), то можно записать  $\mathbf{L}_p^{-1} = \mathbf{E} \mathbf{\Lambda} \mathbf{E}^T$ , где  $\mathbf{\Lambda}$  — диагональная матрица собственных чисел, а элементы в столбцах матрицы  $\mathbf{E}$  являются собственными векторами матрицы  $\mathbf{L}_p^{-1}$ . В общем виде для двумерного и трёхмерного случаев исходной матрицы координат первые верхние  $p - k - 1$  строк относятся к собственным векторам, характеризующим нелинейные (неоднородные) трансформации, а последние  $k + 1$  строк — это векторы, характеризующие однородные деформации, причём их собственные значения равны нулю.

Собственные векторы (eigenvectors)  $E_i$  представляют собой набор координатных осей пространства, которое в данном случае является евклидовым тангенциальным пространством к точке референсной формы. Поэтому матрицу наблюдаемых деформаций  $\mathbf{V}_i = \mathbf{X}_i - \mathbf{X}_{\text{reference}}$ , т.е. координат  $i$ -х целевых объектов ( $i = 1, \dots, p$ , где  $p$  — число изучаемых объектов), можно выразить как линейную комбинацию собственных векторов матрицы энергии

искривления. Собственные числа соответствуют энергиям искривления на данном пространственном масштабе, т.е. величине различий данной формы от эталона, выраженной в единицах Прокрустовой дистанции (Zelditch et al., 2004). Три собственных числа матрицы энергии искривления равны нулю, а  $X$ - и  $Y$ -коэффициенты этих собственных векторов отражают шесть однородных компонент деформации. Напомним, что однородные деформации являются нелокализуемыми (они касаются сразу всех элементов формы), а оставшиеся  $(p - 3)$  собственных векторов, напротив, являются локализуемыми компонентами деформаций (warps). Ф. Букштейн (Bookstein, 1991) предложил назвать собственные векторы матрицы энергии искривления **Е** размерностью  $p \times (p - 3)$  — **главными деформациями** (principal warps) по аналогии с главными компонентами (principal components). Фактически главные деформации создают базис пространства форм (Bookstein, 1991). Главные деформации, упорядоченные по собственным числам, характеризуют степень локализуемости преобразований референсной конфигурации: первые наибольшие собственные числа соответствуют главным деформациям, характеризующим мелкомасштабные преобразования конфигураций, т.е. локализованные между ближайшими ландмарками. Напротив, наименьшими собственными числами обладают главные деформации, характеризующие искривления сплайна, наблюдаемые между наиболее удалёнными ландмарками. Последние три главные деформации равны нулю, поэтому если исходно имеется  $p$ -ландмарок, то число строк собственных чисел матрицы главных деформаций (principal warps) на 3 меньше  $(p - 3)$ .

Существует некоторая путаница в терминологии в отношении главных деформаций. Под частной деформацией Ф. Букштейн (Bookstein, 1989, 1991) изначально понимал произведение вектора координат деформаций на главные деформации. Напомним, что Букштейн определил собственные векторы матрицы энергии искривления ( $Lp - 1$ ) как главные деформации (principal warps), намекая на аналогию с анализом главных компонент. Считалось также, что собственные числа (eigenvalues) связаны с соответствующими векторами главных чисел (principal values). Напротив, Слайс с соавт. (Slice et al., 1996) назвал те же собственные векторы частными деформациями (partial warps) в том смысле, что они описывают часть паттерна деформации, характерного для матрицы энергии искривления. Эта двойная терминология привела к значительной неразберихе, поскольку Букштейн (Bookstein, 1989, 1991) уже ранее использовал термин частные деформации (partial warps) для обозначения другой процедуры (см. выше). Несмотря на прояснение этого вопроса, терминология Слайса с соавт. (Slice et al., 1996) закрепилась в литературе в качестве некоего стандарта (см. Zelditch

et al., 2004). Норман Маклеод в одной из своих лекций даже пошутил, назвав их главные-частные деформации (principal-partial warps).

Тем не менее, композиция однородных и неоднородных компонент полностью описывает любое изменение формы, любую деформацию. Совокупность координат *частных деформаций* (partial warp scores), включая координаты, характеризующие и однородную компоненту, может быть эффективно использована в любом статистическом анализе (Zelditch et al., 2004). Они могут быть использованы так же, как прокрустовы координаты, а сумма их квадратов равна квадрату Прокрустовой дистанции целевого объекта от эталона (референсной конфигурации). Координаты частных деформаций имеют корректные степени свободы. Поэтому, по мнению М. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004), можно использовать частные деформации (partial warps – PW) не только для визуализации деформаций и сравнении форм, но и для любого статистического анализа, включая регрессионный. Таким образом, от каждого конкретного исследователя зависит, какое решение следует принять в дальнейшей работе.

Координаты частных деформаций сохраняют привязку к исходным координатам, т.е. соотносятся с ними, хотя спроецированы на тангенциальное пространство. По Ф. Дж. Рольфу (1993), скалярное произведение каждой строки  $V_i = X_i - X$  с соответствующими  $p_k - 1$  колонками матрицы  $E$  при условии, что собственные числа больше чем 0, дает координаты частных деформаций (partial warp scores). Они отражают только неаффинные различия формы между референсной точкой и  $i$ -м объектом для нового набора переменных. Координаты частных деформаций вычисляются по следующей формуле:

$$W_i = \frac{1}{\sqrt{n}} V_i E \Lambda^{-\alpha/2}$$

где  $n$  – число объектов в выборке,  $\alpha$  – масштабирующий коэффициент,  $V_i$  – матрица координат наблюдаемых деформаций  $i$ -х целевых объектов,  $E$  – собственные векторы матрицы энергии искривления, а  $\Lambda$  – собственные числа этой матрицы. Произведение  $\Lambda^{-\alpha/2}$  позволяет изменять геометрический масштаб, обеспечивая с помощью величины коэффициента  $\alpha$ , взвешивание собственных чисел главных деформаций (Rohlf, 1996). В случае, когда  $\alpha = 0$ , масштаб не изменяется, а веса собственных чисел остаются неизменными. При  $\alpha < 0$ , что задается обычно в виде  $-1$  (минус единицы), просто извлекается квадратный корень из  $\Lambda$ . Соответственно, в силу инверсности  $E$ , существенно увеличивается вес мелкомасштабных, но имеющих большую энергию искривления локальных деформаций. Если коэффициент  $\alpha > 0$ , что задается в виде  $+1$ , будет наблюдаться противо-

положительная картина, т.е. усилится вес преобразований с низкой энергией искривления — слабо локализованных из-за удалённости ландмарков, что обычно наблюдается при аллометрических эффектах неодинакового относительного роста разных частей тела объекта. Поэтому если в соответствующих программах (в частности, tpsRelw) вами будут заданы поправки для величины коэффициента альфа, то будут получены соответствующие эффекты изменения веса деформаций разного геометрического масштаба. Обычно принимается нулевое значение альфа, что и рекомендуется делать, но в некоторых ситуациях, когда, например, таксономисту важно оценить эффекты разных по масштабу локальных нелинейных деформаций, такая процедура применяется: вычисления проводятся при  $\alpha < 0 = -1$ ,  $\alpha = 0$  и  $\alpha > 0 = +1$  (Monteiro, dos Reis, 2005).

Если учитываются также однородные компоненты изменчивости формы, то сохраняются все колонки матрицы  $\mathbf{E}$ , что позволяет всю изменчивость, выраженную в целевой матрице  $\mathbf{X}_i$ , отразить в матрице весов  $\mathbf{W}_i$  (Rohlf, 1996). При этом дополнительные колонки матрицы не являются частными деформациями, поскольку характеризуют однородные смещения для всех ландмарков и не имеют локальных деформаций, но обычно они вычисляются отдельно и прибавляются к общей матрице частных деформаций, хотя имеют нулевую энергию искривления. В программе tpsRelw (Rohlf, 2017c) — это две последние колонки (Unif\_X и Unif\_Y), в программе PAST (Hammer et al., 2001), напротив, первые две колонки матрицы частных деформаций (Warp 0, 0). Если три последние строки матрицы  $\mathbf{E}$  игнорируются, т.е. не учитывается однородная компонента изменчивости формы, то в матрице  $\mathbf{W}_i$  для  $i$ -го объекта остается  $k$  — строк и  $p - k - 1$  колонок, и формула расчёта значений частных деформаций (partial warps scores) упрощается следующим образом (Rohlf, 1996):

$$\mathbf{W}_i = \frac{1}{\sqrt{n}} \mathbf{X}_i \mathbf{E} \Lambda^{-\alpha/2}$$

Главные деформации (principal warps) ортогональны к референсной конфигурации, так как произведение матриц  $\mathbf{X}_c \mathbf{E}$  для первых  $p - k - 1$  колонок  $\mathbf{E}$  равно нулю. Ф. Дж. Рольф подчеркивает, что хотя  $\mathbf{W}_i$  — это линейная функция от  $\mathbf{X}_i$ , тем не менее, она обуславливает нелинейную деформацию, которая требуется для преобразования референсной конфигурации таким образом, чтобы местоположения её ландмарков совместились с таковыми у  $i$ -й особи.

Поскольку конфигурация частных деформаций определяется главными деформациями, которые в свою очередь задаются выбором референсной средней или эталонной конфигурации, то она нестабильна и прямо зави-

сит от выбора эталона. Если будет взят другой эталон, то и конфигурация частных деформаций изменится, а соответственно и значения частных деформаций, определяющие локализацию объектов в морфопространстве на тангенциальной плоскости. Поэтому в отличие от традиционной морфометрии частные деформации не являются самостоятельными независимыми переменными, а лишь все вместе, в единой совокупности могут характеризовать изменение формы объекта. Каждое исследование в геометрической морфометрии во многом уникально, поскольку смена эталона ведёт к иной констелляции объектов в морфопространстве. Если добавление новых объектов в матрицу для расчёта главных компонент при традиционной морфометрии будет лишь сопровождаться появлением дополнительных ординат, позволяя накапливать и дополнять материал, то в геометрической морфометрии дополнительные объекты неизбежно приведут к изменению эталона (средней референсной конфигурации), а затем и к изменению взаимного расположения ординат объектов в морфопространстве.

**Относительные деформации (relative warps — RW).** Анализ относительных деформаций, предложенный Букштейном и Рольфом (Bookstein, 1989a, 1991; Rohlf, 1993) представляет собой анализ главных компонент изменчивости формы в тангенциальном пространстве на основе  $\mathbf{W}$  матрицы. Рассмотрим этот аспект геометрической морфометрии несколько подробнее. Для изучения изменчивости формы в выборке из  $n$  особей, Ф. Дж. Рольф преобразовал ранее полученную матрицу  $\mathbf{W}_i$  (координаты частных деформаций, — см. выше) в единичную матрицу  $\mathbf{W}$ . Новая матрица имеет  $n$  строк, соответствующих  $n$  особям, и  $k(p - k - 1)$  колонок, соответствующих координатам частных деформаций для каждой особи, последовательно расположенным вдоль единой строки (за  $x$ -проекциями следуют  $y$ -проекции, а также  $z$ -проекции, если это необходимо). Матрицу можно получить следующим образом (Rohlf, 1996):

$$\mathbf{W} = \frac{1}{\sqrt{n}} \mathbf{V}(\mathbf{I}_k \otimes \mathbf{E} \alpha^{-x/2})$$

где символ  $\otimes$  обозначает прямое произведение (произведение матриц Кронекера) двух матриц:  $\mathbf{I}_k$  — единичной матрицы  $k \times k$  и  $\mathbf{V}$  —  $n \times k$  матрицы различий между каждым объектом и референсной точкой, растянутыми вдоль каждой оси. Согласно Ф. Дж. Рольфу, все различия в  $x$ -координатах следуют за такими же различиями в  $y$ -координатах и, возможно, если необходимо в  $z$ -координатах. Матрицы  $\mathbf{A}$  и  $\mathbf{E}$ , а также скаляр  $\alpha$  вычисляются по уравнению для получения  $\mathbf{W}_i$  матрицы координат частных деформаций.

Если масштабирующий коэффициент  $\alpha \neq 0$ , то производится взвешивание главных компонент в соответствии с весами функции геометрическо-

го масштаба для каждой компоненты изменчивости формы. Если  $\alpha = 0$ , то анализ относительных деформаций совместим с Прокрустовой метрикой, что позволяет измерять различия между сравниваемыми формами (Rohlf, 1996). Несмотря на то, что главные деформации геометрически ортогональны, проекции особей в выборке на главные деформации (principal warps) обычно скоррелированы. Поэтому задача процедуры применения метода главных компонент состоит в описании основных направлений изменчивости в нескольких новых ортогональных измерениях (как только это возможно). Векторы главных компонент матрицы **W** и называются **относительные деформации** (relative warps — RW). Они могут быть визуализированы с помощью трансформационной решётки, показывающей деформации референсной конфигурации ландмарков, необходимые для совмещения с конфигурацией целевого объекта. Такие визуализации, как будет показано в разделе 2.9 этой главы, выполняются как выражение каждой относительной деформации как полиномиального тонкопластинного сплайна.

Выше уже отмечалось, что М. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004) предлагают использовать частные деформации в многомерных статистических сравнениях. Однако на практике чаще применяют либо относительные деформации (RW), либо прокрустовы координаты, которые используют как основу для проведения дальнейшего дискриминантного или канонического анализа.

## 2.9. ВИЗУАЛИЗАЦИИ ИЗМЕНЕНИЙ ФОРМЫ В ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

Геометрическая морфометрия обладает тем несомненным достоинством, что позволяет визуализировать изменения формы объектов, получать и представлять консенсусные изображения отдельных групп, а затем при желании сравнивать их друг с другом, изображать обобщённые образы, характерные для рода и даже семейства, видеть, как динамически проявляется аллометрия по итогам регрессии прокрустовых координат с размером центроида. Можно долго перечислять эти возможности, в том числе аспекты, связанные с вычитанием формы одного объекта из другого (программа IMP), реконструкцией предковых форм при высоком и значимом филогенетическом сигнале соответствующих морфоструктур (программа MorphoJ), сравнением 3D изображений на основе их морфинга (программа Landmark). Однако наряду с большими плюсами при интерпретации и визуализации результатов сравнения формы объектов существуют и большие минусы, о которых необходимо постоянно помнить. Именно этому аспекту, а также демонстрации разных способов визуализации изменений формы и посвящен этот раздел главы.

Детально проблемы, возникающие при визуализации формы (shape), рассмотрены в статье К. Клингберга (Klingenberg, 2013a), на которую мы опираемся в этом разделе и рекомендуем заинтересованным коллегам с ней ознакомиться. Визуализация — важный момент исследования изменений формы. Большинство подходов основаны либо на относительных сдвигах положения ландмарок между стартовой (reference) и целевой (target) формами после их совмещения (суперимпозиции), либо на идее Д'Арси Томпсона о трансформационной решётке. Оба эти подхода имеют свои преимущества и недостатки. Любая визуализация требует предварительного показа размещения конфигурации ландмарок с указанием их нумерации (желательно приводить описание ландмарок и указывать их тип по классификации Букштейна). Для этой цели возможно приведение конфигурации ландмарок, привязанной к реальному изображению объекта, и/или схематической их конфигурации, в которой определённые ландмарки могут быть соединены линиями для выразительности и более легкой интерпретации изменений формы.

Ранее уже неоднократно подчеркивалось, что форма (shape) представляет собой все геометрические черты объекта, за исключением его размеров, местоположения и ориентации в пространстве (Kendall, 1977). На эти принципы и опираются методы визуализации в геометрической морфометрии. Каждая форма, характеризуемая конфигурацией  $p$ -ландмарок  $k$ -размерности (2D или 3D), соответствует единичной точке в Кендалловом пространстве форм (Kendall's shape space), но и каждая точка в этом пространстве соответствует определённой форме, имеющей определённую конфигурацию ландмарок. Поскольку пространство форм является, как уже говорилось, нелинейным (криволинейным), то требуется спроецировать точки на тангенциальное пространство, которое обладает евклидовыми линейными свойствами и касается Кендаллова пространства форм в точке локализации средней формы данной выборки. Эта линейная аппроксимация обычно в статистическом отношении является хорошей, что позволяет реконструировать некую физическую форму объекта, которая соответствует точке как тангенциального пространства, так и Кендаллова пространства.

Таким образом, появляется возможность возвратиться от тангенциального пространства назад в Кендаллово, а затем вновь вернуться в тангенциальное, характеризуя для данной точки реальную форму объекта. Однако речь не идёт о буквальной визуализации формы конкретного объекта, но о любой точке, лежащей в тангенциальном или Кендалловом пространствах. На этом и основана возможность визуализации в геометрической морфометрии, т.е. любая точка в тангенциальном пространстве есть проекция точки в пространстве форм (Klingenberg, 2013a).

Концепция изменений формы (shape change) тесно связана с концепцией различий формы (shape difference). Различия между двумя формами означают, что две формы не являются теми же самыми, но в этом случае нет направления от начала сравнения к его концу, тогда как изменения формы предполагают направленные различия от стартовой исходной формы к целевой (target shape). Изменение формы представляет собой движение от стартовой точки в пространстве форм и одновременно в тангенциальном пространстве к точке, характеризующей целевую форму, т.е. вектор, который имеет направление и размер (Klingenberg, Monteiro, 2005). Оценки различий формы осуществляются, например, при сравнении формы тела представителей разного пола. Оценить изменения формы можно при сопоставлении формы на разных онтогенетических или филогенетических этапах. При визуализации изменения формы всегда требуется связать это изменение с самими формами. Так, при проведении многомерных статистических сравнений разное расположение координат объектов в плоскости соответствующих осей также можно рассматривать как изменение их формы вдоль этих осей. В этом случае сами оси (главные компоненты, канонические переменные и др.) могут быть интерпретированы как характеристики изменения формы.

Изменения формы могут варьировать по направлению и величине, но обычно они невелики. Поэтому часто исследователи несколько утрируют (exaggerate) эти различия, чтобы детальнее рассмотреть, показать и описать общие тенденции изменений. Степень усиления эффекта при визуализации изменений формы К. Клингденберг (Klingenberg, 2013a) рекомендует выбирать таким образом, чтобы они были ясно видимы, но не настолько усилены, чтобы это привело к большим искажениям конфигурации. При этом необходимо всегда указывать степень утрирования (exaggeration) изменений формы в подписи к рисунку.

Визуализация изменений формы в выборке по итогам суперимпозиции обычно показывает как соответствующие ландмарки каждой индивидуальной конфигурации перестраиваются относительно другой конфигурации, причём существует несколько подобных вариантов (рис. 2.20). Основной вариант визуализации представлен схемой рассеивания ландмарок относительно выборочной средней конфигурации (рис. 2.20a). Такой рисунок можно получить, вероятно, во всех программах ГМ, включая те из них, которые используют R-язык программирования. Наиболее чёткое рассеивание ландмарок с учётом местоположений ландмарок средней выборочной конфигурации можно получить с помощью программы MorphoJ (см. Глава 3).

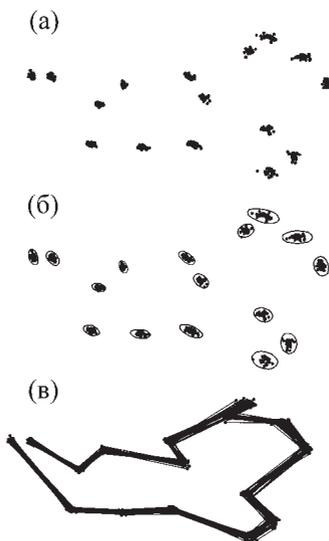


Рис. 2.20. Способы визуализации итогов Прокрустовой суперимпозиции на примере изменчивости формы нижней челюсти в выборке малой лесной мыши (*Sylvaemus uralensis*): а — рассеивание индивидуальных ландмарок относительно ландмарок выборочной средней конфигурации; б — эллипсоиды рассеивания индивидуальных ландмарок; в — каркасные линии (wireframe) между ландмарками для оконтуривания индивидуальных конфигураций.

В другом случае для учёта степени варьирования формы в области той или иной ландмарки производится наложение на предыдущий рисунок эллипсоидов рассеивания ландмарок (см. рис. 2.20б). Имеются относительно стабильные и варьирующие элементы формы, маркируемые ландмарками. Для графического представления изменчивости каждой из ландмарок в виде эллипсоидов удобно воспользоваться программой PAST 2.17с (см. детали о работе в программе PAST в Главе 3). После импорта tps-файла проведите процедуру суперимпозиции в блоке меню Transform -> Procrustes (2D/3D), затем выделите ячейки электронной таблицы (spreadsheet) для всех полученных значений координат (используйте для выделения нужных ячеек данных щелчок по левой верхней непоименованной ячейке или мышью при отключенной галочке в боксе Edit mode). Затем в блоке меню Plot выберите опцию «XY graph» и поставьте мышью галочку в боксе «95% ellipses» на открывшейся графической панели. На рисунке будут изображены ландмарки и эллипсоиды вокруг них, характеризующие 95% их локаль-

ной изменчивости. Аналогично можно выбрать не эллипсоиды, а полигоны изменчивости (Convex hulls), которые оконтурят изменчивость элементов формы объектов в области каждой ландмарки.

Ещё один вариант визуализации — построение каркасных линий (wireframe) между последовательными ландмарками для оконтуривания их конфигураций (см. рис. 2.20в). Этот рисунок также можно получить в пакете PAST. Повторив указанные выше действия, включая проведение суперимпозиции, в меню Plot выберите опцию «Landmarks», а на поле графической панели поставьте мышью галочку в боксе «Links». На рисунке будут изображены накладывающиеся друг на друга конфигурации ландмарок.

Поскольку расположение каждой ландмарки зависит от позиционирования всей конфигурации ландмарок и состава выборки, включённой в анализ, величина рассеивания в пределах каждой индивидуальной ландмарки не является её абсолютным атрибутом. Если включить в выборку ещё один объект и повторно провести расчёт, то может оказаться, что величины областей варьирования для каждой из ландмарок распределятся в ином соотношении. Тем не менее, как правило, те элементы формы, которые варьируют сильнее других, а также те, которые относительно стабильны, обычно всё же сохраняются в конкретной выборке при небольших колебаниях её состава. Указанные выше изменения могут произойти лишь при внесении в выборку объекта с аномальной или нетипичной формой.

В целом описанные графики полезны только для понимания конкретной ситуации в отношении варьирования конфигураций на фоне средней выборочной конфигурации с учётом данного состава выборки. Поэтому К. Клиндженберг (Klingenberg, 2013b) рекомендует не опираться на данный тип графиков при презентациях и публикациях. Мы полагаем, что в тех случаях, когда выборка является конечной и добавления или удаления объектов не происходит, такие графики всё же могут использоваться как вспомогательные. Окрашенные графики размещения ландмарок после Прокрустовой суперимпозиции, где цветом указаны метки представителей разных групп (видов, популяций), также не совсем пригодны для публикаций, поскольку не ориентированы на межгрупповые сравнения, не учитывают структуру данных и не гарантируют хорошую визуализацию различий. Они полезны лишь для исследователя, оценивающего свойства изменчивости формы в целом.

Следует подчеркнуть, что изменения формы нельзя связывать с отдельно взятыми ландмарками. Встречаются ситуации, когда в одной части конфигурации ландмарок или для отдельной ландмарки проявляется сильное локальное уклонение по отношению к остальным ландмаркам, которое

названо «эффектом Пиноккио». Ранее мы уже упоминали об этом феномене. Термин появился после того, как Р. Чапмен (Chapman, 1990) провел искусственное сравнение изображений Пиноккио с сильно варьирующей разной длиной носа, где кончик носа варьировал значительно сильнее, чем все остальные ландмарки головы. Было установлено, что основанная на наименьших квадратах Прокрустова суперимпозиция (least-squares Procrustes superimposition) обладает свойством распространять изменчивость от ландмарок с большой изменчивостью на ландмарки с минимальной или даже отсутствующей изменчивостью: изменчивость от одной варьирующей ландмарки передается вокруг неё к остальным. По мнению Чапмена, эти негативные свойства данного метода можно преодолевать с помощью резистентно-совмещающей суперимпозиции (resistant-fit superimposition), однако это не было доказано (Zelditch et al., 2004). Тем не менее, в ситуации с Пиноккио формально нельзя определить, движется ли кончик носа вперед по отношению к фиксированному положению лица или, наоборот, голова удаляется от зафиксированного в пространстве кончика носа, поскольку обе ситуации эквивалентны. Опираясь исключительно на человеческий опыт, можно предполагать, что первая версия более правдоподобна. Тем самым возникает проблема двусмысленности (неоднозначности) визуализации тождественных изменений. Поэтому нужно всегда удерживаться от искушения связывать изменения формы с отдельными метками, а не с их общей конфигурацией. В любом случае трактовать уклонение той или иной ландмарки в отрыве от всей конфигурации просто не имеет смысла.

Имеется несколько графических способов визуализации изменений формы, которые достаточно широко применяются на практике. На начальных этапах развития геометрической морфометрии для этой цели использовали простые схематические изображения, являющиеся подобиями стрелок (рис. 2.21а), которые Клиндженберг (Klingenberg, 2013b) назвал «леденцы на палочке» (lollipop). В таких случаях от стартовой ландмарки (reference) в виде залитого кружка — «леденца», принадлежащей референсной конфигурации, к соответствующей целевой ландмарке (target) направлена палочка (часто стрелка) определённой длины. Наиболее типично этот вариант визуализации изменений целевой формы по отношению к референсной, который мы обозначаем как диаграмма Клиндженберга, представлен в программе MorphoJ. В программе IMP для аналогичных вариантов прорисовываются стрелки.

Другой более сложный, но наиболее типичный способ визуализации изменения формы задается парой наложенных один на другой каркасных (wireframe) графиков или каркасных конфигураций, принадлежащих стар-

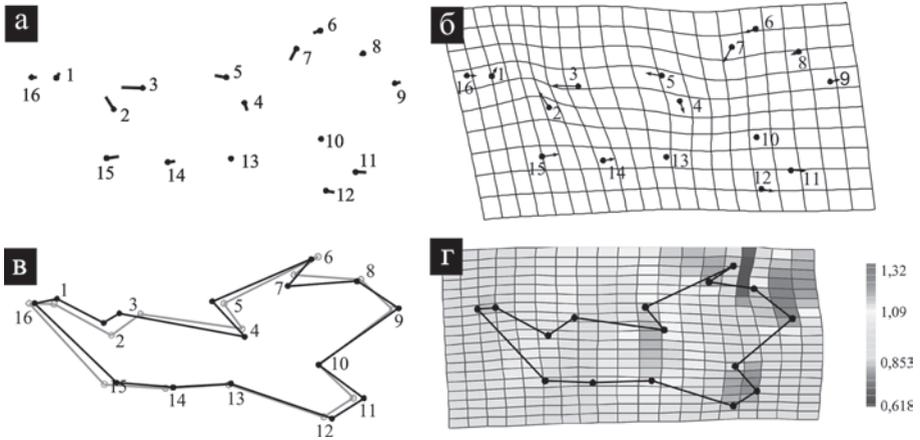


Рис. 2.21. Способы визуализации изменений формы в геометрической морфометрии на примере нижней челюсти малой лесной мыши (*Sylviaemus uralensis*): а — диаграмма Клиндженберга — «леденцы на палочке» (lollipops), где положение ландмарков стартовой формы показано в виде точек, а сдвиги ландмарков к целевой форме изображены линиями; б — трансформационная решётка целевой формы со стрелками, идущими от ландмарков стартовой формы; в — совмещённые каркасные (wireframe) конфигурации стартовой (серая) и целевой (чёрная) форм, где ландмарки соединены между собой линиями; г — трансформационная решётка в виде термокарты (цветное изображение здесь было преобразовано в оттенки серого цвета).

товой и целевой формам. Чтобы добиться выразительности, необходимые ландмарки соединяются между собой линиями по определённой схеме (см. рис. 2.21б). В программе MorphoJ этот вид визуализации реализован в цветном варианте, когда каркасная конфигурация у стартовой формы представлена кружками и линиями голубого цвета, а у целевой формы — синего цвета (при черно-белом варианте рисунка — серого и черного цвета, соответственно).

В этой же программе реализована возможность представить изменение формы стартовой к целевой конфигурации в виде аутлайнов (outlines) разного цвета. Мы данный вариант в качестве графического примера здесь не приводим и отсылаем любознательных читателей к программе MorphoJ и её хорошо иллюстрированному справочнику.

Существует ещё один характерный тип визуализации изменений формы — трансформационные решётки (transformation grids), которые очень часто встречаются в статьях, использующих методы ГМ. Трансформаци-

онные решётки подобны тонкой резиновой прямоугольной сетке, ячейки которой представляют собой квадраты для стартовой референсной формы, но начинают деформироваться: изгибаться, перекашиваться, растягиваться или сжиматься для получения конфигурации целевой формы (см. рис. 2.21в). Обычно приводят целевые конфигурации, встроенные в деформированные трансформационные решётки. Подобные изображения могут быть нескольких типов: 1 — трансформационные решётки без ландмарок и стрелок; 2 — с ландмарками; 3 — с ландмарками и стрелками (или «леденцами на палочках»); 4 — в виде термокарты, где красным цветом обычно указано увеличение, а синим — уменьшение координат целевой конфигурации по отношению к стартовой. Первые три типа доступны к созданию в программах MorphoJ, IMP, geomorph и др., последний тип — построение трансформационных решёток в виде термокарт — представлен в программе PAST (см. рис. 2.21г).

Способ наложения поверхностей — термокарт — использует конкретные точки и требует специфической (не Прокрустовой) суперимпозиции. Горячие и холодные точки не обладают локальными свойствами, а зависят от всей поверхности, поэтому при описании результатов от исследователя требуется хорошее понимание допустимых пределов их интерпретации.

При использовании трансформационных решёток следует учесть один важный для интерпретации результатов момент. Поскольку реальная информация о положении ландмарок локализована и не распространяется на соседние участки, где ландмарок нет, то все изгибы трансформационной решётки являются лишь вспомогательными фиктивными атрибутами, предназначенными для исследователя, облегчают его понимание изменения формы. Следует осознавать, что трансформационные решётки базируются на аналогии, а не на реальных биологических явлениях и не являются эквивалентом гладких эластичных деформаций биологической формы. Глядя на них, создается впечатление, что они отражают и трансформацию пространства между ландмарками, но это не так. В реальности трансформационные решётки — это чистая фикция, как подчеркивает К. Клиндженберг (Klingenberg, 2013b). Поэтому исследователи должны помнить и учитывать, что трансформационные решётки — это лишь изобразительное средство для визуализации изменений формы. При этом следует учитывать и то, что при любой визуализации, основанной на суперимпозиции, существует свойство относительности смещения ландмарок, поскольку в данном случае всё зависит от выбора стартовой и целевой конфигураций.

В практике ГМ при визуализации используют также трансформации рисунка без применения трансформационных решёток. Подобная про-

рисовка может быть простым контуром, контуром с залитой внутренней площадью, а также детальным рисунком, если он, например, является аутлайном (outline). Тем не менее, если объект недостаточно покрыт системой ландмарок, детальность рисунка может ввести в заблуждение. Ещё раз подчеркнём, что вся информация о форме содержится только в ландмарках, а любая интерпретация изменений в промежутках между ними должна быть осторожной (Klingenberg, 2013b). В этом смысле, по мнению Клиндженберга, голые трансформационные решётки, т.е. без включения ландмарок и рисунков, иногда могут быть даже предпочтительнее для интерпретации изменений формы (с этим, однако, нелегко согласиться).

В ГМ существует проблема прерывистостей (discontinuities), т.е. нарушений непрерывности конфигураций, которая важна для визуализации. Все трансформационные подходы ГМ имеют ограничения, если имеются нарушения непрерывности. Между ландмарками для успешной визуализации изменений формы должно всегда сохраняться некое расстояние, т.е. разные ландмарки не должны сходить в точку и полностью сливаться. При этом нарушается однозначное соответствие точек на планах или поверхностях. Это достаточно распространённое явление, когда некая структура то возникает, то исчезает и приходится совмещать ландмарку, предназначенную для потенциально возникающей структуры, с предыдущей ландмаркой, характеризующей форму, когда структура не проявляется. В качестве примеров могут быть взяты случаи исчезновения или появления дополнительных выступов в контуре рисунка жевательной поверхности щёчных зубов полёвок, разделение структуры на две в случае появления дополнительного отверстия для прохождения нерва и т.д. Подобная прерывистость может не мешать статистическому анализу, но станет проблемой при визуализации изменений формы с помощью трансформационных решёток ГМ.

Во многих случаях при проведении многомерного статистического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы объектов, требуется визуализировать изменения формы объектов вдоль главных компонент или канонических переменных. Обычно приводят конфигурации, соответствующие крайним значениям вдоль соответствующих осей (рис. 2.22). Возможность получать изображение формы в виде конфигураций ландмарок, в том числе вписанных в трансформационные решётки, имеется во многих программах, например в программах IMP, MorphoJ и PAST. Несколько сложнее использовать подобные изображения, получаемые, например, в R-программе geomorph 3.0.5

Особый интерес представляют возможности трёхмерной визуализации изменений формы в виде ландмарок, аутлайнов или поверхностей,

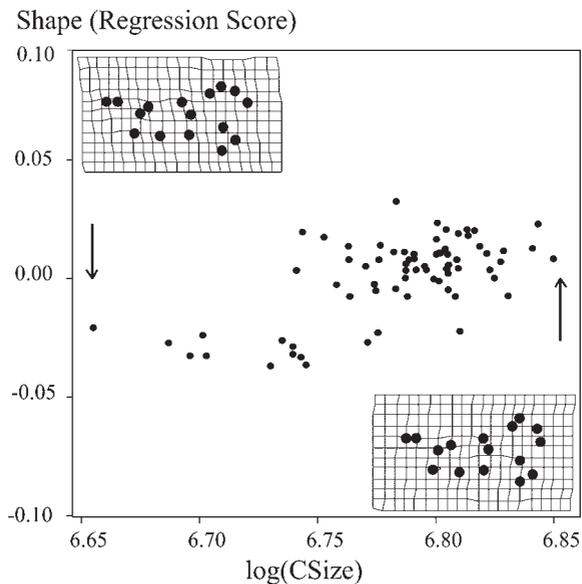


Рис. 2.22. Вычисленный с помощью R-программы geomorph 3.0.5 пример визуализации крайних — максимальных и минимальных — конфигураций лантмарков вдоль осей переменных при оценке регрессионной зависимости формы (shape) нижней челюсти малой лесной мыши (*Sylviaemus uralensis*) от логарифма размера центроида (logCSize).

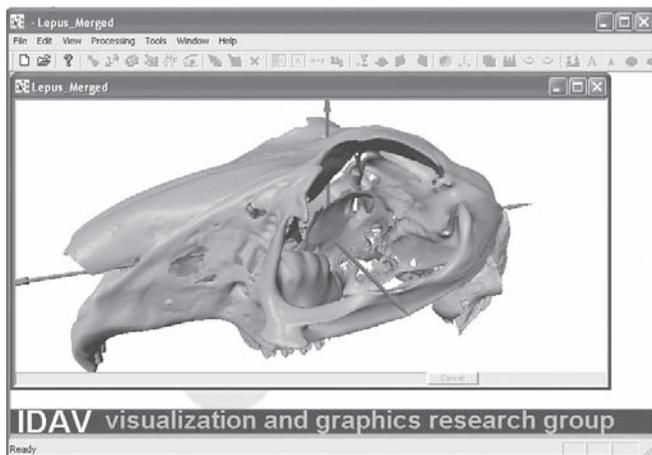


Рис. 2.23. Элементы морфинга, сканированного авторами с помощью 3D-сканера, трёх-мерного изображения черепа зайца-беляка (*Lepus timidus*) в программе Landmark.

позволяющие строить объёмные изображения или их модели. Интересная возможность морфинга, т.е. прорисовки гладких поверхностей для объёмных сканов объектов, полученных ручными системами оцифровки и реставрации ландмарков с помощью стилусов, например Microscribe (Immersion Corporation) или лазерными 3D-сканерами, автоматически оцифровывающими поверхности, имеется в программе Landmark (рис. 2.23). Программа позволяет совмещать в одном объекте два разных, маркируя их поверхности разным цветом, что облегчает возможности сравнения формы.

Ещё один аспект визуализации изменений формы касается представления итогов Прокрустовой суперимпозиции в виде реального совмещения оцифрованных изображений, при котором относительно ориентации изображения первого объекта выравниваются и накладываются все остальные изображения в выборке. Возможность построения такого Прокрустова совмещения реализована в программе Ф. Дж. Рольфа tpsSuper. Это достаточно долговременный процесс, который завершается построением консенсусного рисунка, в котором наиболее чёткие и контрастные элементы формы указывают на их относительную морфогенетическую стабильность, а размытые фрагменты — на высокую вариабельность (рис. 2.24). Данный тип рисунков относится к категории растровых и, возможно, по этой причине редко используется в публикациях. Тем не менее, такой тип визуализации достаточно выразителен и может быть хорошим вспомогательным инструментом как для самого исследователя, так и для понимания полученных им результатов коллегами.

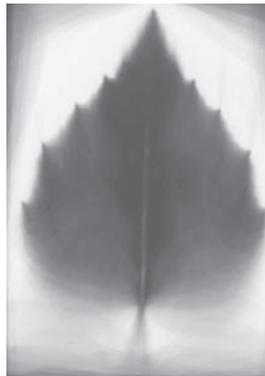


Рис. 2.24. Итоги Прокрустовой суперимпозиции формы листовой пластинки берёзы повислой (*Betula pendula*) в выборке деревьев из окрестностей Средне-Уральского медеплавильного завода — СУМЗа (Ревдинский р-он Свердловской области), полученные с помощью программы tpsSuper 2.01 (Rohlf, 2016a).

В заключение следует отметить, что различные методы визуализации, используемые в ГМ, имеют как сильные, так и слабые стороны. В этой связи отметим несколько важных предостережений, высказанных К. Клингенбергом (Klingenberg, 2013b). Необходимо учитывать, что сдвиг ландмарков по итогам суперимпозиции не может быть интерпретирован однозначно и всегда относителен, поскольку он относится ко всему их набору (конфигурации), а также зависит от состава объектов, включённых в данное сравнение. Опираясь на подобную относительность результатов суперимпозиции, для лучшего эффекта можно несколько утрировать (exaggerate) различия. При этом лучше для визуализации использовать каркасные модели (wireframe). Необходимо ещё раз подчеркнуть, что трансформационные решётки — это фикция, но они могут быть использованы как вспомогательный инструмент для облегчения понимания изменения формы. Биологические интерпретации деформаций трансформационных решёток должны быть крайне осторожными, в частности при описании изменений тех областей, которые находятся в промежутках между ландмарками и заметно удалены от них. Желательно приводить изображение стартовой формы (с прямоугольными ячейками решётки), чтобы наблюдатель понял их анатомический контекст и мог сопоставить его с деформациями решётки целевого объекта. По мнению К. Клингенберга, деформационные аутлайновые модели (warped outlines) и модели поверхностей (scanned surface model) лишены части указанных выше недостатков, но деформационные критерии и в этих случаях остаются биологически спорными.

Визуализацию, являющуюся основным элементом исследования изменений формы в геометрической морфометрии, следует воспринимать не только как инструмент для формулировки и проверки гипотез, но и как способ коммуникации между специалистами (Klingenberg, 2013b), при этом исследователи должны приводить для читателей максимум пояснений. В процессе чтения также требуется внимательно изучить все детали и пояснения.

Таким образом, сами по себе методы визуализации обычно не ведут к точным и окончательным решениям, но на основе морфометрического анализа позволяют сформировать некие общие представления о биологических (морфогенетических) процессах, облегчая их интерпретацию.

## **2.10. ИСТОЧНИКИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОШИБОК В ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ**

Сравнение формы объектов иногда не требует статистических сравнений и ограничивается лишь констатацией морфологических различий, например, при парных сравнениях. Тем не менее, в подавляющем большинстве случаев

в геометрической морфометрии сравнение выборок предполагает использование статистических оценок выявляемых различий, что требует априорного определения источников ошибок (Frusciano, 2016), негативно влияющих на статистическую мощность при тестировании. Хорошо известно, что при любых измерениях возникают те или иные ошибки. В геометрической морфометрии, как и при традиционной морфометрии можно выделить два рода ошибок: случайные и/или систематические (Frusciano, 2016). Оба рода погрешностей, приводящих к искажению данных, увеличению случайных ошибок измерения и возникновению артефактов, влияющих на интерпретацию результатов, могут возникнуть на любой стадии исследований методами геометрической морфометрии. Если случайные ошибки могут быть связаны с любой причиной, не обусловленной биологической природой объектов, то систематические, или неслучайные, точнее могут быть определены как «смещение» по отношению к правильным (реальным) значениям. При возрастании случайных ошибок увеличивается дисперсия, а при проявлении систематических «смещений» изменяются средние величины. Комбинирование таких ошибок влияет как на величину дисперсии, так и на среднее значение.

В первую очередь источниками ошибок могут быть причины, связанные с методами и способами подготовки материала для анализа — ошибки подготовительного периода (Arnqvist, Mårtensson 1998), которые появляются еще до того, как исследователи приступят к фотографированию или сканированию объектов. Еще на стадии сбора материала закрадываются возможности получить неконтролируемое искажение результатов за счёт непродуманного сбора биологических объектов. Сбор материала может происходить: в разное время суток, месяца, сезона или года, с помощью разных ловчих средств, приводящих к избирательности тех или иных сложно сопоставимых групп биологических объектов. Сбор может вестись без учёта их возраста и стадий индивидуального развития, на разных фазах динамики численности, без учёта пола, а также иных экологических факторов (влияние радиации, техногенного загрязнения, рекреации, высотного пояса, типа леса и др.). Если перечисленные аспекты не являются специальной целью таких сравнений, а просто бессознательно или сознательно не учитываются исследователем, вполне могут появиться неконтролируемые различия в изменчивости формы объектов на последующих этапах сравнения методами геометрической морфометрии. Все перечисленные факторы типичны для любого биологического исследования, но при анализе материала методами геометрической морфометрии благодаря их чувствительности к артефактам неучтенные факторы изменчивости формы могут существенно повлиять на результаты и привести к их ошибочной интерпретации.

Другой причиной возникновения ошибок на стадии подготовительного периода исследований является способ фиксации собранных биологических объектов. Хорошо известно, что на изображениях форма тела свежепойманной рыбы и этой же особи после замораживания и последующего размораживания будет несколько иной. Время фотографирования тоже может повлиять на изображение. Если рыба полежит несколько часов, то её изображение будет уже отличаться от такового у свежепойманной. Различающиеся изображения тела той же особи можно получить после фиксации в этаноле или растворе формалина. Известно, в частности, что личинки и взрослые рыбы могут различно деформироваться при одном и том же способе фиксации. Особое значение имеет вероятность использования частично повреждённых объектов. Есть четыре возможных подхода к решению этой задачи: 1 — при массовом материале удалить частично повреждённый объект; 2 — исключить ландмарку в позиции, которая часто бывает полностью или частично повреждена; 3 — в редких случаях попытаться мысленно реконструировать недостающий фрагмент и поставить ландмарку; 4 — установить для данной позиции ландмарки средние выборочные значения. Последний вариант значительно менее приемлем, чем предыдущий третий, поскольку заведомо привносит существенный артефакт и искажает естественную конфигурацию ландмарок.

Интересно, что даже музейная коллекция черепов грызунов в разные сезоны и годы теоретически может изменяться в размерах и, вероятно, в пропорциях. Это может неожиданно повлиять на результаты. Плохо очищенные от соединительной и мышечной тканей элементы скелета (осевые черепа, ничечелюстные ветви, позвонки, кости конечностей и др.) после фотографирования внесут множество мелких ошибок. Систематическая ошибка проявится при сравнении серий плохо и хорошо очищенных элементов скелета. Все эти различия крайне малы, но в силу высокой чувствительности методов ГМ, они могут быть неожиданно выявлены исследователем как значимые и покажутся ему необъяснимыми и/или приведут, как мы уже отмечали, к ошибочной интерпретации.

На этапе фотографирования искажения формы объекта могут быть связаны с его особенностями. Ранее мы уже неоднократно подчеркивали, что форма объёмного 3D-объекта при фотографировании будет искажена больше, чем у относительно плоского объекта. Искажение формы будет наблюдаться и при слишком большом приближении к нему фотоаппарата, поскольку ближайшая к фронтальной части объектива часть будет выглядеть непропорционально крупнее, чем дальние периферические фрагменты из-за известного оптического искажения от эффекта параллакса. Во многом

эти искажения и ошибки отображения нивелируются тем, что подход будет одним и тем же ко всем объектам.

Важно также учитывать и стремиться сделать стандартным освещение и направление источника света, так как неизбежные тени, сохранившиеся в изображении, потом могут повлиять на точность расстановки оператором меток-ландмарок. Ранее мы уже отмечали особенности работы с планшетным сканером и необходимость правильно ориентировать объект по отношению к источнику света, размещая объект на стекле так, чтобы движущаяся лампа — источник света — стандартно минимизировала разнообразие теней на будущем его изображении. Имеются также особенности в проявлении случайных ошибок при сравнении результатов 2D и 3D сканирования, а также сканирования планшетным сканером и фотографирования (Cardini, 2014). На это стоит заранее обратить внимание и хорошо продумать и отладить процесс получения изображений и числа их повторностей.

На стадии проведения непосредственного анализа материала методами геометрической морфометрии также могут возникать случайные и систематические ошибки. В частности, если в плоскости первых трёх главных компонент величина случайных ошибок обычно минимальна, то она закономерно возрастает при сравнении ординат в плоскостях, сформированных последующими главными компонентами (Frusciano, 2016).

Результаты расстановки ландмарок — дигитайзинга — одним оператором, как правило, сопровождаются низким уровнем случайных ошибок. При работе опытного оператора результаты оцифровки весьма устойчивы и даже через несколько лет могут быть с высокой точностью повторены. Другое дело, когда расстановку ландмарок первый раз проводит неопытный оператор. Его результаты со временем постепенно улучшаются, причём оператор достаточно быстро набирает опыт и, обычно, обеспечивает стабильность результатов. Поэтому мы вновь рекомендуем операторам-новичкам многократно поработать с одной и той же серией и провести дигитайзинг несколько раз через определённые периоды времени, например, через 3–5 дневные промежутки, для того, чтобы оценить надёжность своей работы по расстановке ландмарок и отработать свои собственные критерии дигитайзинга. Необходимо подчеркнуть, что величина случайных ошибок при расстановке ландмарок одним и тем же оператором, повторно выполненной в разное время, обычно меньше, чем при таком же сравнении результатов работы разных операторов. По этой причине желательно, чтобы расстановку ландмарок для конкретного исследования проводил один и тот же оператор. Крайне редко встречаются люди, которые из-за индивидуальных особенностей зрения и/или психофизического состояния, мало подходят для

поведения дигитайзинга и работы в качестве оператора. Подчеркнём также, что иногда исследователи, получив высокий уровень случайных ошибок по конкретным ландмаркам, вновь обращаются к материалу и проводят повторную расстановку ландмарок у отклоняющихся особей. Иногда это позволяет уменьшить величину дисперсии. Если повторный дигитайзинг не помогает, то в некоторых случаях авторы исключают такие ландмарки и размещают другие, которые дают более устойчивое рассеивание. Как мы уже отмечали выше, изменчивость, локализованная в отдельной ландмарке, как бы «размазывается», распределяется по остальным ландмаркам всей конфигурации и усиливается во многих или в одной области, поэтому иногда возникает «эффект Пиноккио» — резкое смещение положения отдельных ландмарок при визуализации. Последнее и приводит к возрастанию такого рода «накопленной» ошибки.

При большом числе ландмарок существует возможность перепутать при расстановке их расположение. Наиболее вероятно это может проявиться при 3D дигитайзинге на его первоначальном этапе. Для того чтобы исправить такие ситуации, в программе MorphoJ предусмотрена возможность редактирования, например, можно поменять ландмарки местами с помощью опции Swap landmarks в блоке меню Preliminaries -> Find outliers. Интерфейс программы дает возможность обнаружить уклоняющиеся варианты размещения ландмарок в виде цветных векторов. Перед проведением основных расчётов необходимо тщательно проверить качество введённого материала в этом разделе программы.

Иногда необходимо оценить величину случайных ошибок. Обычно это возможно при использовании повторных расстановок и получения повторных оценок. Повторной может быть расстановка ландмарок на одних и тех же изображениях и/или на повторно сделанных изображениях. Предварительно можно с помощью методов ординации и визуализации получить картину рассеивания ординат одноименных объектов в пространстве главных компонент (PC) или относительных деформаций (RW). В тех случаях, когда повторная расстановка ландмарок содержит потенциальную ошибку, ординаты будут расположены в морфопространстве относительно далеко друг от друга. Сходные результаты ординации одноименных особей проявятся в том, что их ординаты будут тесно агрегированы или даже совмещены в пространстве осей.

При оценке устойчивости повторной расстановки ландмарок предложен подход, основанный на использовании кластерного анализа полученных ординат (Franklin et al., 2007; Jobe, Pokojovy, 2014) для проверки их принадлежности конкретным индивидуумам. Ординаты, полученные при

повторной расстановке ландмарков для одних и тех же особей, проявляют тенденцию объединяться в совместные кластеры, а возможность случайной ошибки измерения при этом считается низкой.

К. Фруциано (Frusciano, 2016) предлагает для этого случая использовать версию кластерного анализа на основе алгоритма k-means, не связанную с иерархическим подходом, причём при её использовании можно заранее установить число кластеров, равное числу объектов. Степень несоответствия ординат повторяющихся конфигураций ландмарков друг другу будет отражать величину ошибок повторяемости и устойчивости расстановки ландмарков.

Применение внутриклассового коэффициента корреляции  $R$  (repeatability), предложенного ещё Р. Фишером, позволяет корректно оценить величину ошибки повторяемости ординат по формуле (Arngqvist, Mårtensson 1998):

$$R_n = nR / [1 + (n-1)R]$$

где  $n$  — число повторных измерений, а  $R$  — внутриклассовый коэффициент корреляции:

$$R = S_A^1 / (S_W^2 + S_A^2)$$

$$S_A^2 = (MS_{among} - MS_{within}) / n$$

$$S_W^2 = MS_{within}$$

где  $S_A^2$  — компонента межиндивидуальной дисперсии,  $S_W^2$  — компонента внутрииндивидуальной дисперсии,  $MS_{among}$  и  $MS_{within}$  — межгрупповые и внутригрупповые средние квадраты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Для вычисления компонент  $R_n$  можно воспользоваться программой PAST (Hammer et al., 2001), а затем подставить их в приведённые формулы. В случае если используется только две повторности расстановки ландмарков, для вычисления внутриклассового коэффициента корреляции можно использовать коэффициент корреляции Пирсона.

Для многомерных данных с повторностями измерений, основанными, например, на прокрустовых координатах, К. Фруциано (Frusciano, 2016) обсуждает возможность использовать коэффициент RV, введённый Эскуфье (Escoufier), который можно вычислить в программе MorphoJ К. Клиндженберга (Klingenberg, 2011) в разделе расчётов оценки модульности Modularity блока меню Covariation.

Ещё один способ оценки случайной ошибки измерений по повторным расстановкам конфигураций ландмарков может быть вычислен с по-

мощью двухфакторного Прокрустова дисперсионного анализа (Procrustes ANOVA), базирующегося на генерализованном Прокрустовом анализе и алгоритме смешанного двухфакторного анализа. В этом случае первый фактор случайный – повторность расстановки ландмарков у индивидуума, а второй фактор фиксированный – фотография (2 и более изображений каждого индивидуума). Соответственно имеются два или более вариантов повторных расстановок ландмарков для каждой фотографии. Данную схему вычислений случайной ошибки дигитайзинга и ошибки повторной съёмки можно выполнить в программе MorphoJ на основе раздела Procrustes ANOVA (блок меню Variation) для вычисления дисперсий направленной и флуктуирующей асимметрии. По компонентам этого же Прокрустова дисперсионного анализа можно вычислить по приведённым выше формулам внутриклассовый коэффициент корреляции  $R_n$ .

Для того чтобы уменьшить случайную ошибку дигитайзинга, некоторые авторы рекомендуют осуществлять несколько таких повторных процедур оцифровки объектов (repeated measurements) и их повторно сделанных изображений, а затем проводить усреднение полученных прокрустовых координат всех повторностей расстановок ландмарков по каждому объекту. Считается, что благодаря этому можно уменьшить величину случайной ошибки. Такой расчёт с усреднением данных по индивидуумам можно легко осуществить в программе MorphoJ. Тем не менее, не следует объединять и усреднять данные, полученные разными операторами, так как иногда приводятся аргументы, доказывающие, что в такой ситуации ошибка не уменьшится, а напротив, может возрасти (Frusiano, 2016).

Некоторые объекты могут быть существенно деформированы после фиксации тем или иным способом, например, изогнуты. У палеонтологов такие объекты могут встречаться регулярно из-за влияния тафономических факторов. С другой стороны, подобные палеонтологические находки редки и всегда являются ценными объектами, которыми нельзя пренебречь, как это можно осуществить при относительно массовом неонтологическом материале. В геометрической морфометрии существует возможность виртуально искусственно исправить кривизну таких объектов, выпрямить их и избежать ошибки смещения результатов анализа. Среди компьютерных программ геометрической морфометрии имеются те, которые позволяют проводить процедуру «выпрямления» (unbending) и получения искусственных виртуальных объектов. Для этой цели, например, в программе tpsUtil Ф. Дж. Рольфа ранних версий была предусмотрена возможность выпрямления конфигурации ландмарков по трём дополнительным точкам-меткам, проставленным вдоль мысленной центральной линии изогнутого

объекта, наряду с обычными ландмарками, помещёнными в гомологичные позиции. В более поздних версиях этой программы была использована кубическая функция, позволяющая выпрямить объект по четырём точкам. Данные аспекты вычислений «Unbend specimens» кратко изложены в Главе 3. Возможные ошибки, связанные с интерпретацией визуализированных данных, мы уже обсудили в предыдущем разделе.

Подводя итоги этого раздела, следует заключить, что перед тем, как провести исследование с помощью методов геометрической морфометрии нужно обязательно провести предварительную интеллектуальную работу по предсказанию, поиску и снижению вероятных случайных и систематических ошибок, снижающих статистическую мощность и искажающих реальные результаты и их интерпертацию. Для каждого объекта или объектов исследования могут существовать свои ограничения и правила работы. Геометрическая морфометрия, как уже неоднократно говорилось, представляет собой крайне чувствительный комплекс методов анализа формы, поэтому она чувствительна и к артефактам. Необходимо это учитывать. Настоятельно советуем читателю не пренебрегать этими рекомендациями и на всех этапах исследования думать о возможности совершения ошибок.

«Лишь когда знание форм  
поднимается до познания их, лишь  
когда рассмотрение форм (Gestalten)  
поднимается до объяснения их, лишь  
когда из пестрого хаоса форм выявятся  
законы их образования, лишь тогда  
низкое искусство морфографии сможет  
превратиться в возвышенную науку  
морфологию»

Эрнст Геккель

### **Глава 3**

## **ОБЗОР КОМПЬЮТЕРНЫХ ПРОГРАММ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ И ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯМ**

В этой главе мы не ставили перед собой задачу подробного описания всех программ, которые используются в геометрической морфометрии, но некоторые советы и комментарии по поводу практической работы в нескольких основных программах мы постарались здесь коротко изложить. Для каждой программы существует специальное описание того, как ею пользоваться и как она работает, но часто имеются некоторые неясности, которые не сразу понимаются исследователями, осваивающими эту программу. Наша цель заключалась в том, чтобы выполнить две задачи: во-первых, кратко описать необходимые шаги при пользовании несколькими основными программами, а, во-вторых, показать каким образом упомянутые выше неясности и затруднения могут быть преодолены. Безусловно, мы не раскроем перед читателями все сложные моменты, возникающие при пользовании программами, но приведённых в главе минимальных знаний будет, на наш взгляд, достаточно, чтобы самостоятельно приступить к работе, лишь иногда заглядывая в приложенные к программам специальные руководства.

### 3.1. КЛАССИЧЕСКИЙ ПАКЕТ ПРОГРАММ TPS (THIN-PLATE SPLINE)

Ф. Дж. Рольф разработал надежный и эффективный пакет компьютерных программ TPS, который регулярно обновляется и совершенствуется, отражая основные изменения как свойств самих компьютеров, так и их программных платформ. Постоянно обновляются и графические возможности этого пакета. Первые варианты программ были написаны этим автором в конце 90-х годов прошлого века ещё для операционной системы MS-DOS. Затем появились версии для Windows. В настоящее время пакет представлен 12 автономными программными модулями, включающими в названии аббревиатуру TPS: tpsUtil, tpsDig, tpsDig2, tpsPLS, tpsPower, tpsRegr, tpsRelw, tpsSmall, tpsSpln, tpsSuper, tpsTree, tpsTri. Свободный доступ к этим программным модулям возможен по адресу: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet.html>, откуда их можно легко скопировать и установить.

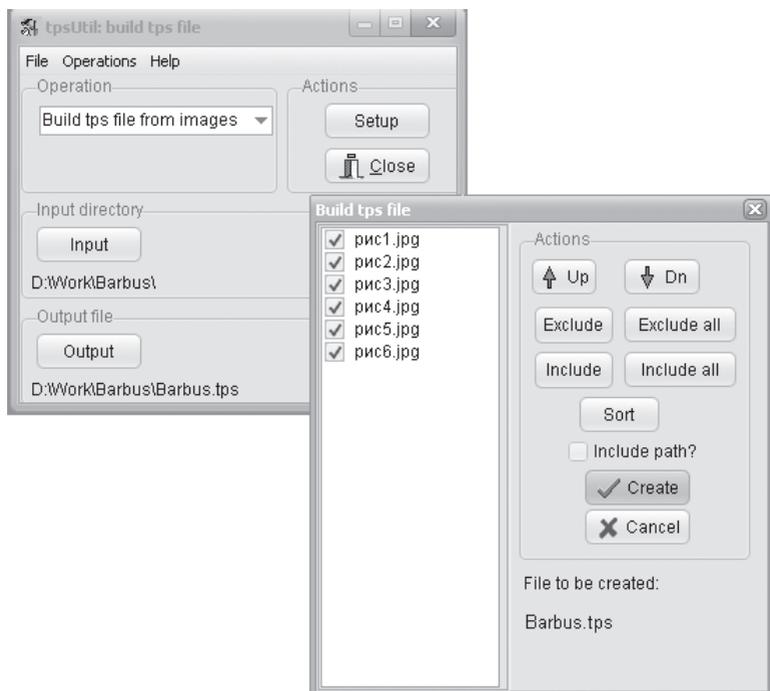


Рис. 3.1. Базовая панель программы утилит – tpsUtil и открытое окно блока «Setup».

Ключевыми из них являются несколько модулей: программа утилит – tpsUtil и tpsDig (другая её версия tpsDig2, допускающая измерение углов), а также программы tpsRelw и tpsSuper. Работа с использованием первых двух модулей – **tpsUtil** и **tpsDig**, частично описана в главе 2 (подраздел Б в 2.4). Подчеркнём, что использование данного пакета невозможно без последовательного применения обеих программ. При работе с пакетом TPS сначала должен быть создан первичный tps-файл в программе tpsUtil (рис. 3.1), в котором формируется последовательность (список) вызова графических файлов с цифровыми изображениями объектов (последовательность их имен), которые должны затем оцифровываться в следующей программе – tpsDig или tpsDig2 (рис. 3.2).

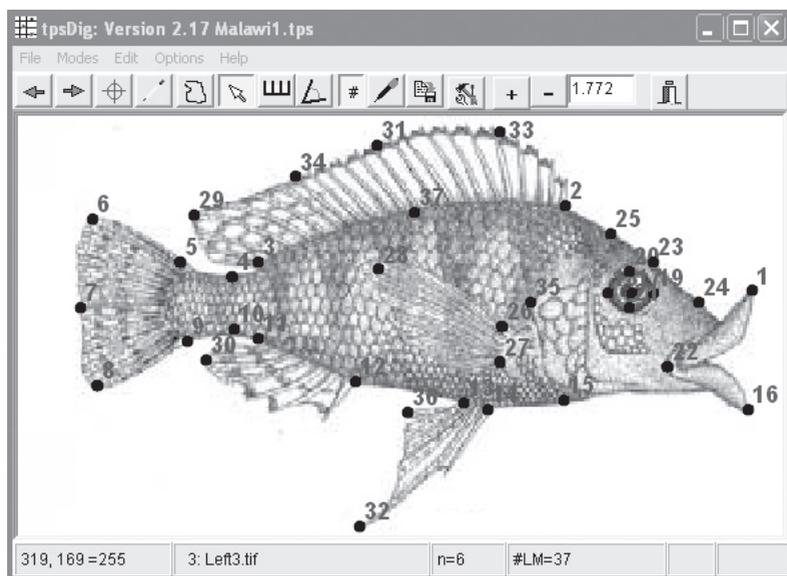


Рис. 3.2. Рабочая панель программы экранного дигитайзера – tpsDig2.

Первичный tps-файл является заготовкой (полуфабрикатом) для формирования последующего основного tps-файла, в котором будет уже содержаться информация не только об именах графических файлов с изображением объекта, но представлены также данные о числе ландмарок, координаты ландмарок, иные возможные атрибуты (расположение аутлайнов, масштабирующая шкала, порядковый идентификационный номер и

др.). Напомним, что tps-файл должен содержать информацию о трёх и более конфигурациях (объектах). Лишь в этом случае программные модули смогут с ним работать. Поскольку мы уже ранее описывали работу с этими двумя программными модулями, предлагаем читателю обратиться к соответствующему разделу книги в главе 2, а также внимательно прочитать встроенный справочник (Help) в этих программных tps-модулях. Кроме того, описание некоторых дополнительных возможностей работы с программами tpsUtil и tpsDig приведены ниже в следующем подразделе главы.

**Форматы разных типов файлов в пакете программ TPS.** В программах TPS применяются два основных универсальных формата файлов: tps и nts, которые могут быть использованы не только в этом пакете, но и во многих других, предназначенных для геометрической морфометрии и многомерной статистики. Первый тип — tps-файл — содержит информацию о числе ландмарков, координатах ландмарков, а также точек для графических кривых (curves) и аутлайнов (outlines). Кривые и аутлайны применяются для целей визуализации преобразования конфигураций объектов с помощью техники тонкопластинных сплайнов (thin-plate spline), но не при вычислениях. Другой тип файлов — nts-файлы, которые первоначально были разработаны для программы Ф. Дж. Рольфа NTSYSpc. Эти файлы пригодны не только для указанной программы и пакета TPS, но и для многих статистических программ, использующих ввод текстовых (ASCII) файлов (nts формат легко импортируется в MS Excel и далее может быть преобразован в иные форматы). Данный тип файла в отличие от предыдущего не содержит информацию о графических кривых (curves) и аутлайнах (outlines).

В формате TPS важна последовательность определённых ключевых слов и необходимых параметров. Файл этого типа состоит из цепочки повторяющихся текстовых фрагментов, организованных по определённому плану. Отдельные фрагменты характеризуют индивидуальные конфигурации ландмарков и форму объектов. Каждая конфигурация ландмарков форматируется следующим образом. Первая строка всегда содержит информацию о числе ландмарков (LM= $n$ ). Следующие строки (по числу ландмарков) характеризуют 2D или 3D координаты ландмарков. Затем по мере необходимости вводится информация о числе графических кривых (CURVES=2) — они иногда используются для подчеркивания элементов формы и равномерной расстановки меток. Далее указывается число точек в каждой кривой, а ниже приводятся координаты точек (сначала пишется POINTS=4, затем координаты 4 точек, потом вновь пишется POINTS=3, и вводятся строчки с координатами 3 точек). Затем располагаются строки, характеризующие число аутлайнов (OUTLINES=1), далее число точек в цепочке (CHAIN=100),

ниже координаты первой точки (точки начала цепочки аутлайна), а в следующей строчке/строчках специальным цифровым кодом указывается направление последовательных точек в пределах цепочки аутлайна или, если дано число точек, координаты этих точек по строкам. В следующей позиции располагается название графического файла с его расширением (IMAGE=br001.jpg). Далее располагается строка идентификатора, где указан порядковый номер объекта (ID=5). Следует при этом знать, что идентификатор первого объекта в tps-файле по умолчанию нумеруется как ID=0, поэтому ID=5 указывает на порядковый номер 6. В следующих строках последовательно могут размещаться текст комментария для данного объекта (COMMENT=), название переменной (VARIABLES=) и масштабирующая шкала с поправочным коэффициентом (SCALE=).

В обычных расчётах в большинстве программ учитываются только три ключевых оператора с их значениями: LM, ID, SCALE (последний оператор иногда используется, если нужно провести юстировку размеров центроида и выразить его в единицах измерения, а не в пикселях) и колонки цифр — координаты ландмарок. Все остальные информационные строки, описанные выше, не учитываются, но могут использоваться при визуализации в разных модулях TPS. Многие из этих характеристик важны при расчётах, алгоритмы которых реализованы в модуле tpsUtil. Приведём пример с комментариями одного текстового фрагмента tps-файла, включающего все указанные выше атрибуты и ключевые операторы (LM, CURVES, POINTS, OUTLINES, CHAIN, IMAGE, ID, COMMENT, VARIABLES, SCALE):

```
LM=16 (число ландмарок)
741.000 261.000 (x, y — координаты ландмарок)
620.000 222.000
579.000 276.000
399.000 279.000
430.000 315.000
285.000 425.000
319.000 387.000
193.000 389.000
138.000 340.000
244.000 217.000
182.000 177.000
231.000 142.000
399.000 171.000
512.000 143.000
628.000 129.000
783.000 252.000
```

```

CURVES=2 (число кривых)
POINTS=4 (число точек в первой кривой)
231.000 142.000 (координаты точек в первой кривой)
399.000 171.000
512.000 143.000
628.000 129.000
POINTS=4 (число точек во второй кривой)
579.000 276.000 (координаты точек во второй кривой)
399.000 279.000
430.000 315.000
285.000 425.000
OUTLINES=2 (2 аутлайна)
CHAIN=10 (точки расположены в общей цепи в 10 шагов кода)
741.000 261.000 (координаты первой точки цепи, расположенной вдоль
аутлайна)
0233344443 (цифровой код для выбора направления последовательных точек)
POINT=5 (число точек во втором аутлайне)
430.000 315.000 (координаты точек второго аутлайна)
285.000 425.000
319.000 387.000
193.000 389.000
138.000 340.000
IMAGE=SuEg781m.jpg (имя графического файла с изображением объекта)
ID=1 (любой идентификационный код, включая текст, например название вида)
COMMENT=female (произвольный комментарий)
VARIABLES=Var1 (произвольное название переменной)
SCALE=0.002145 (масштабирующий коэффициент расчёта для пикселей)

```

Затем в tps-файле следует такой же фрагмент для следующего объекта с идентификационным номером ID=2 и т.д. Заметим, что цифровой код, характеризующий направление расположения очередных точек в цепочке аутлайна, достаточно прост и соответствует 8 направлениям против движения часовой стрелки с шагом в 45 угловых градусов: 0 — вправо, 2 — вверх, 4 — влево, 6 — вниз, а остальные промежуточные направления соответствуют цифрам 1, 3, 5, 7 соответственно. Ещё раз подчеркнём, что операторы-атрибуты CURVES, POINTS, OUTLINES, CHAIN, COMMENT, VARIABLES, IMAGE и даже SCALE не являются обязательными и необходимыми при расчётах.

Формат nts-файла включает меньшее число и разнообразие строк-линий, чем tps-файл. Первые две линии в nts-файле, помеченные кавычками (") зарезервированы для комментария и при расчётах игнорируются. В следующей строке последовательно расположены четыре параметра, отделённые друг от друга пробелом. На первом месте цифрой указывается тип матрицы

данных, но в данной программе используется только один тип, который соответствует прямоугольной матрице и обозначается цифрой 1. На второй позиции в этой строке указывается число объектов/особей в файле, которое будет различным (справа по умолчанию добавляется прописная латинская буква L для нумерации колонок матрицы). На третьей указывается удвоенное число ландмарков, а на четвертой позиции в строке записывается фиксированное значение 0 (означает число пропусков данных, которых в данном случае быть не должно). В следующих строках располагаются x,y- координаты в свободном формате вдоль одной или нескольких линий, включающих по ширине не более 255 знаков. Координаты каждого последующего объекта записываются с новой строки. Пример nts-файла приведен ниже:

```
" файл из 69 объектов по 16 ландмаркам (комментарий)
"
1 69L 32 0 (управляющая и форматирующая строка)
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 (нумерация объектов в выборке)
10 11 12 13 14 15 16 17 18 19
20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
30 31 32 33 34 35 36 37 38 39
40 41 42 43 44 45 46 47 48 49
50 51 52 53 54 55 56 57 58 59
60 61 62 63 64 65 66 67 68
666.000000 271.000000 564.000000 238.000000 511.000000
287.000000 335.000000 292.000000 385.000000 334.000000
212.000000 459.000000 262.000000 397.000000 125.000000
424.000000 75.000000 375.000000 194.000000 243.000000
128.000000 222.000000 218.000000 165.000000 341.000000
188.000000 456.000000 162.000000 558.000000 147.000000
711.000000 266.000000 (пары координат 16 ландмарков, объект № 1)
741.000000 261.000000 620.000000 222.000000 579.000000
276.000000 399.000000 279.000000 430.000000 315.000000
285.000000 425.000000 319.000000 387.000000 193.000000
389.000000 138.000000 340.000000 244.000000 217.000000
182.000000 177.000000 231.000000 142.000000 399.000000
171.000000 512.000000 143.000000 628.000000 129.000000
783.000000 252.000000 (пары координат 16 ландмарков, объект № 2)
... и т.д.
```

При использовании nts-файлов в R-программах, например в программе geomorph, необходимо указывать размерность (dimension) в управляющей форматирующей строке. В этом случае для приведённого выше примера nts-файла в управляющей строке следует записать: 1 69L 32 0 dim=2.

В программах TPS для целей визуализации конфигураций ландмарков дополнительно введены два формата файлов: link-файл (связующий файл), позволяющий попарно связывать линиями необходимые ландмарки, и slider-файл (скользящий файл, или слайдер), образованный полуландмарками (semilandmarks) и формирующий скользящий по изображению схематический эскиз объекта. Оба эти файла относятся по своему типу к nts-файлам и используются как необходимые текстовые протоколы-инструкции для программных модулей.

Link-файл имеет k-строку, где k — число связей между парами ландмарков, и представлен двумя колонками. В соответствии со стандартом NTSYS у nts-файлов, как уже отмечалось, первые две строчки начинаются парными кавычками и могут содержать комментарий. В третьей строке последовательно через пробел приводятся 4 форматизирующие цифры, необходимые для чтения программой этого файла: первая, третья и четвёртая позиции имеют фиксированные значения 1, 2 и 0 соответственно, а во второй указывается число связей (k) между ландмарками. Поясним, что на первой позиции цифра 1 означает, что это прямоугольная матрица, в третьей позиции всегда приведено число колонок, а цифра 0 на четвёртой позиции указывает, что пропусков значений в матрице нет. Ниже показаны пример записи протокола для link-файла и визуализация конфигурации нижней челюсти (рис. 3.3) на его основе.

```
" link-файл
" варианты попарных связей для 16 ландмарок
1 16 2 0
1 2
1 16
2 3
3 4
4 5
5 6
6 7
7 8
8 9
9 10
10 11
11 12
12 13
13 14
14 15
15 16
```

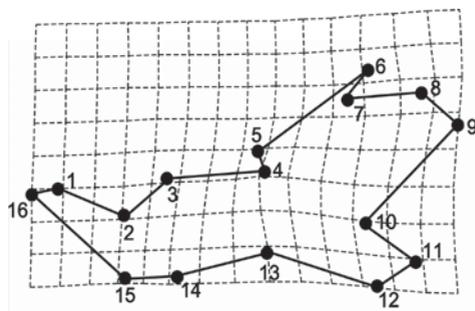


Рис. 3.3. Визуализация конфигурации лингвальной стороны нижней челюсти у малой лесной мыши (*Sylviaemus uralensis* L.) с помощью link-файла.

Slider-файл, или слайдер, строится по точкам — полуландмаркам и позволяет моделируемому эскизу объекта скользить вдоль оцениваемых кривых в процессе суперимпозиции методом GPA. Данный тип файла представляет собой nts-файл с  $k$ -строчками, где  $k$  — число полуландмарок (semi-landmarks), и представлен тремя колонками. Средняя колонка содержит последовательные номера точек — полуландмарок. В первой и третьей колонках приведены порядковые номера точек, между которыми должны скользить полуландмарки. Проще всего изготовить слайдер с помощью программы tpsUtil. Для этого нужно заранее выбрать операцию «Make sliders file», затем загрузить tps-файл, дать название выходному файлу (output) с расширением имени \*.nts и щёлкнуть мышкой по кнопке «Setup». Слева в открывшемся рабочем окне появится изображение консенсусной конфигурации ландмарок для данной выборки. С помощью левой клавиши мыши нужно нажать на соответствующую первую метку и «потянуть» появившуюся линию до нужной соседней и закончить на третьей точке от начала. Появится ломаная штриховая линия, соединяющая три ландмарки. Вернуться к предпоследней точке и начиная от неё вновь протянуть линию сначала к следующей ландмарке, а затем завершить на третьей по счёту. Вновь появится линия, соединяющая три последовательные ландмарки. Таким же образом следует продолжать этот процесс и дальше до тех пор, пока штриховая линия не образует замкнутый контур. Процедура напоминает шаги фехтовальщика или танцора: шаг назад и два шага вперед. При завершении нажать кнопку «Create». Пример применения слайдера для визуализации различий формы объектов в программе tpsSplin приведен на рис. 3.4.

Аналогично в программе tpsUtil можно создать и link-файл. Отличие будет заключаться лишь в том, что в этом случае линия должна соединять

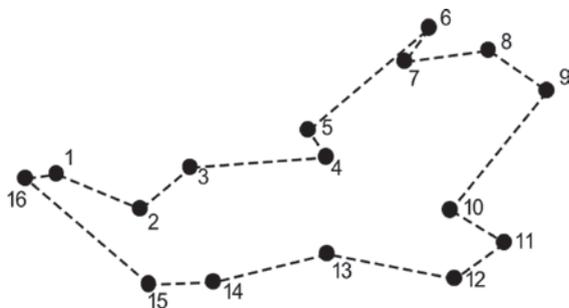


Рис. 3.4. Пример использования слайдера для визуализации индивидуальных различий нижней челюсти малой лесной мыши в программе tpsSplin.

смежные пары ландмарков, формируя схематическую каркасную конфигурацию объекта, которая позволит в дальнейшем легче интерпретировать изменения его формы.

Сложным для пользователя является самостоятельное освоение метода построения на изображении кривых (Curves) и размещения на них произвольного числа полуландмарков (semilandmarks), а затем превращения их (Points) в ландмарки. Чтобы это осуществить, вновь потребуется использовать программу tpsDig2 для прорисовки линий. В графическом меню tpsDig2 после загрузки tps-файла выберите кнопку с изображением карандаша (Draw background curves) или то же самое можно выбрать в меню Modes -> Draw curves. На изображении объекта, появившегося в графическом окне, поместите курсор мыши, подведя его к нужному месту, с которого вы хотите начать рисовать контурную кривую, щёлкните левой кнопкой мыши, а затем, немного отступив вдоль края объекта, щёлкните вновь. При этом вы увидите, что протянулась линия от первой метки до второй. Вновь немного сместите курсор мыши вдоль контура объекта в нужном направлении и, щёлкнув мышью, закрепите очередную метку. Повторяйте эту процедуру до точки завершения построения кривой. Постепенно прорисовывается нужная кривая вдоль края объекта. Если вы несколько ошиблись — кривая получилась не идеально проведённой, это не фатально, так как потом вы сможете легко откорректировать положение соответствующих меток и сдвинуть линию кривой, сдвигая эти метки. После завершения расстановки меток щёлкните правой кнопкой мыши, что укажет программе на завершение процесса построения произвольной кривой линии. При этом возникнет меню, в котором можно левой кнопкой мыши выбрать строку Resample curve. В открывшейся панели в верхней строке будет указано число исходных ме-

ток, которые вы поставили при формировании кривой. В небольшом окне Number of points можно вручную изменить число полуландмарок, которые на равном друг от друга расстоянии автоматически разместятся вдоль кривой. Для того чтобы это произошло, выберите расположенную ниже опцию By length и нажмите кнопку ОК. Если вы оставите опцию By steps, то размещение меток будет соответствовать вашему исходному порядку, который возник при создании кривой. Если вы решили удалить кривую, выберите в меню строку Delete curve (кривая после этого исчезает). Для измерения в пикселях длины кривой нажмите строку Curve length. После этого внизу во втором слева небольшом окне появится число точек в кривой (Pts — points) и её длина (Length). Если вы хотите откорректировать положение кривой, то выведите курсор мыши за пределы кривой и щёлкните левой клавишей (меню исчезнет). Затем наведите курсор на некорректно размещённую метку и при возникновении крестика со стрелками, нажав левой клавишей на нужную метку, её можно, не отпуская клавиши мыши, перетащить в нужное положение. Если вы наведёте курсор на саму кривую, а не на метку, то возникнет другой вид курсора — большой крестик и справа сверху мелкий крестик. Этот курсор позволяет выбрать кривую, которую можно удалить или измерить (см. выше).

После того, как в программе tpsDig2 для каждой особи в выборке будут построены гомологичные кривые с равным числом точек — полуметок, потребуется преобразовать полуландмарки в ландмарки. Поэтому следующий этап состоит в перекодировании полуландмарок в ландмарки. Для этого загрузите программу tpsUtil и в меню выберите строку Append tps Curve to landmarks. Затем выберите Input и в открывшемся окне найдите нужную папку, где находится tps-файл с координатами кривых. Далее выберите Output и дайте название новому tps-файлу, в котором полуландмарки (Points) будут конвертированы в координаты ландмарок. После этого нажмите клавишу Setup. Если вы заранее сделали всё правильно, конвертация осуществится (в случае ошибки появится табличка оповещения о ней). В дальнейшем можно будет использовать бывшие полуметки как обычные ландмарки.

Если вы имеете замкнутый контур, например контур раковины моллюска в виде отсканированного контрастного рисунка (идеально, если это черно-белый графический формат bmp), то для его оцифровки можно с помощью программы tpsDig или tpsDig2 использовать аутлайны (outlines). В tpsUtil создайте заготовку tps-файла с указанием графических файлов, содержащих сканированные заранее рисунки с контурами объектов. Затем загрузите этот tps-файл в tpsDig или tpsDig2. Выберите в меню графиче-

ского окна кнопку Outline object или в блоке меню Modes -> Outline mode, затем наведите курсор на контур объекта и щёлкните левой кнопкой мыши. В результате вдоль замкнутого исходного контура объекта появится линия с полуметками, расположенными на равном расстоянии друг от друга, которое приблизительно соответствует размеру метки в пикселях. Наведя курсор на линию, щёлкните правой клавишей мыши. После этого появится дополнительная панель меню. Для того чтобы выбрать нужное число полуметок и сохранить их как XY-координаты, щёлкните левой клавишей мыши по верхней строке «Save as XY coords.» и в окошке появившейся на экране ещё одной панели «No. of coords.» вставьте вручную нужное число меток или оставьте то число, которое появляется по умолчанию. Для сохранения вашего выбора нажмите кнопку ОК. Все прочие строчки базового меню для построения аутлайнов понятны и не требуют комментариев. Следует, однако, обратить внимание на две полезные опции: 1 — вычисление площади замкнутого контура «Enclosed area»; 2 — вычисление длины контура, т.е. периметра объекта «Perimeter...». После нажатия соответствующих строк меню значения этих параметров появляются во втором слева нижнем информационном окне и в блоке меню File -> View listing, причём в последнем также дополнительно приводятся экранные XY координаты центроида объекта. Чтобы при желании конвертировать режим аутлайна в ландмарки, вновь воспользуйтесь программой tpsUtil. Выберите в меню «Select operation» строку «Convert tps XY outline to landmarks», укажите в Input папку с исходным tps-файлом, затем в Output присвойте название итоговому tps-файлу и нажмите кнопку Setup. В дальнейшем можно оперировать этим файлом так же, как и обычным.

**Программа tpsSuper** позволяет осуществить визуализацию как деформаций изображений отдельных объектов в выборке, которые возникают при их совмещении со средней (консенсусной) конфигурацией ландмарок, так и обобщённой консенсусной формы для всей выборки (рис. 3.5).

Консенсусная форма для выборки изображается как компьютерное наложение всех изображений объектов, которые максимально, как только возможно, «подогнаны» к эталонной или референсной конфигурации ландмарок и ориентированы в соответствии с расположением первого в списке объекта на цифровой фотографии. Если первый объект расположен на фотографии вертикально, а остальные горизонтально, то консенсусное изображение будет представлено в вертикальной конфигурации. Подгонка и наложение изображений с получением усреднённой формы объекта осуществляются по отдельным пикселям, поэтому наиболее варьирующие по отдельным особям части изображений будут выглядеть на итоговой синте-



Рис. 3.5. Панель программы tpsSuper, предназначенной для графического представления итогов Прокрустовой суперимпозиции.

зированной фотографии более размытыми, чем те части, которые варьируют меньше.

При визуализации группового консенсусного изображения имеются опции, позволяющие показать расположение как ординат ландмарк особей, так и их векторов, что дает возможность оценить степень их взаимного варьирования в группе, а также выявить направления вариации ординат конкретной ландмарки в выборке особей относительно общей усреднённой консенсусной конфигурации ландмарк объекта. Изначально с помощью Прокрустова анализа (Rohlf, Slice, 1990) вычисляется средняя консенсусная конфигурация ландмарк на основе процедуры обобщённых ортогональных наименьших квадратов (*generalized orthogonal least-squares procedures*), а затем применяется процедура суперимпозиции (последовательного наложения изображений объектов с соответствующей подгонкой их размещения относительно средней конфигурации ландмарк).

Начало работы с программой tpsSuper заключается в загрузке соответствующего основного tps-файла. Имейте в виду, что число ландмарк при работе в данной программе не должно превышать 100, а сами объекты соответствуют только двум измерениям (2D). Допустимо использовать также 15 нарисованных в tpsDig кривых (*background curves*) с размещением не

более 125 точек-полуметок на каждой такой кривой. Число объектов для анализа определяется лишь возможностью оперативной памяти компьютера, так как при процедуре укладки-подгонки (unwarp) изображений используется большой объём памяти. При работе данной программы теперь допустимо использование файлов изображений с большим разнообразием графических форматов: BMP, TIF, JPG, PCX, WMF, GIF и PNG.

Нажмите левую (доступную) кнопку «Data» на базовой панели программы и введите tps-файл. Основным условием при его загрузке является то, что он должен быть расположен в каталоге (папке), где размещены и все графические файлы объектов сравнения. Заметим, что в большинстве других TPS программ присутствие графических файлов вместе с tps-файлом в одном и том же каталоге не требуется.

После последовательного нажатия кнопок «GPA» и «Unwarp» (в предыдущей версии программы — «Procrustes fit» — Прокрустово совмещение) начнется процедура обработки. Обработка файлов длится продолжительное время, а за стадией завершенности процесса можно следить по степени заполнения полоски (progress bar), появившейся в нижней левой части панели в виде динамической полосы цветной заливки, а также по проценту степени завершения.

При желании можно просмотреть заранее, а также в процессе обработки или после её завершения на все исходные изображения объектов, включённые в выборку. Для этого нужно выбрать в меню базовой панели программы Actions → Plot → Data или щёлкнуть по правой кнопке Data на панели, расположенной в блоке Display. Затем в открывшемся окне можно выбрать Options → Plot options. В новом открывшемся опциональном окне можно выбрать размер ландмарок Points → Radius, их цвет → Color, заливку меток → Fill. Можно также установить номера меток Points → Label points (щёлкнув мышью, поставить слева в квадрате галочку), а также изменить размер шрифта → Size (используя стрелки в виде черных теугольников, направленных вершинами вверх и вниз). После подтверждения (выбора) соответствующей опции результат на экране может не проявиться сразу. Чтобы эффект выбранной опции появился на экране, нужно подвести курсор мыши к любому углу окна с изображением объекта (в этот момент появится двусторонняя стрелка) и немного «потянуть» мышью за уголок в любом направлении. После этого эффект опции проявится на экране. Если несколько раз изменить размер шрифта, то все этапы изменений (в имеющейся версии программы) могут одновременно проявиться на экране. Для того чтобы эти наклейки исчезли и остался последний вариант выбора, нужно закрыть окно, а потом снова открыть и щёлкнуть мышью по изобра-

жению (по окну). После этого шрифт приобретает на экране должный вид. Щёлкая мышью по стрелкам-треугольникам в левой нижней части этого графического окна, можно последовательно вызывать и просматривать изображения объектов (особей), причём их порядковый номер будет показан в небольшом квадратном окне слева. Рекомендуем всегда осуществлять такой предварительный просмотр материала, поскольку иногда встречаются ошибки и в материале, и в расстановке ландмарок.

Для получения усреднённого — консенсусного изображения (среднего изображения для выборки) следует щёлкнуть по кнопке «Average». Изображение будет слегка размытым, что соответствует результатам процедуры наложения друг на друга и подгонки всех изображений. Нечёткие и слегка размытые фрагменты изображения соответствуют наиболее варьирующим по форме частям объектов, а чётко проявившиеся — слабо варьирующим частям. В меню окна можно выбрать Options → Show landmarks (для их проявления чуть потяните за уголок окна, как мы рекомендовали выше). Если нужно, чтобы номера ландмарок исчезли, отключите мышью галочку слева от опции Show landmarks, закройте и вновь откройте это графическое окно, а затем щёлкните мышью по окну (изображению) — номера исчезнут, а консенсусное изображение останется. Для изменения цвета, заполненности и размеров ландмарок, а также размера шрифта используйте те же рекомендации, которые были описаны выше по отношению к просмотру изображений отдельных объектов.

В блоке Display базовой панели программы для просмотра схематического изображения консенсусной конфигурации ландмарок выберите кнопку «Consensus». В меню выберите Options → Options и установите нужные параметры ландмарок, размер их номеров, а также местоположение изображения на экране (Margins). Затем можно визуализировать разброс индивидуальных ландмарок возле каждой консенсусной ландмарки, выбрав Options → Points (будут показаны выровненные координаты для каждой ландмарки у всех особей в выборке) и/или Options → Vectors (стрелками будут показаны направления и величина векторов положения индивидуальных координат по отношению к консенсусной ландмарке). Для проявления экранного эффекта немного «потяните» за угол графического окна. Удобнее изучать эту визуализацию, выбрав Points и Vectors одновременно, поскольку будет понятна принадлежность индивидуальных координат к той или иной консенсусной ландмарке, особенно если ландмарки были размещены на изображении близко друг от друга. Для сохранения изображения в меню выберите File → Save image. В окне-файлере сохраните графический файл, указав его имя и графический тип (JPG, TIF и т.д.). При сохранении коор-

динат консенсусной конфигурации выберите File → Save consensus, указав имя файла в строке файлера с необходимым расширением tps или nts. При этом в папке автоматически сохранятся два файла: текстовый, например tps-файл консенсусной конфигурации, и графический bmp-файл, которому будет присвоено то же имя tps-файла, а затем после символа подчеркик «\_» появится дополнение в виде Average, например consensus\_Average.bmp. Для сохранения выровненных по отношению к консенсусу координат индивидуальных конфигураций объектов в меню выберите File → Save aligned (файл сохраняется как текстовый Data-файл), который можно при желании обрабатывать далее.

Опция View report содержит в текстовой форме информацию о консенсусной конфигурации как в прокрустовых координатах (Consensus configuration — верхний текстовый блок), так и в усреднённых пикселях (Consensus scaled to match average image size — нижний блок). Можно также обратить внимание на вспомогательную информацию — размеры изображений — Image size (важно, чтобы они были одинаковы), а также число итераций при получении референсной конфигурации.

Для просмотра деформированных изображений объектов, полученных при их выравнивании относительно консенсусной конфигурации (unwarp), щёлкните мышью по кнопке «Unwarped images». Основные настройки и опции в этом графическом окне аналогичны окну Consensus (способы устранения экранных проблем те же, что и выше). Однако, поскольку это во многом вспомогательная визуализация — в блоке меню File предусмотрены только опции сохранения конкретного изображения (в исходной версии автоматически копировались изображения всех объектов), распечатки данного изображения и просмотра координат консенсусной конфигурации. Просмотр изображений в этом блоке желателен по двум причинам: а) наиболее искривлённые объекты больше всего отличаются по форме от средней консенсусной конфигурации; б) при просмотре легко найти ошибки в порядке расстановки ландмарков (это иногда происходит при работе оператора) — такие изображения резко и характерно искажены. Перелистывать изображения можно с помощью стрелок-треугольников, расположенных слева внизу окна (порядковый номер объекта указывается в квадратном окне слева от стрелок).

Последняя кнопка «Average image» в блоке Display позволяет не только получить консенсусное изображение для выборки, но и наложить на него местоположение ландмарков, указать их номера. Сохранение произвольного изображения, совмещающего или не совмещающего наложение ландмарков и их номеров в выбранном пользователем типе графического файла, произ-

водится через оконное меню File → Save image. При выборе File → Save consensus можно сохранить в текстовом файле координаты консенсусной конфигурации и одновременно с ней автоматически получить изображение в формате BMP-файла (см. выше).

Вторая и третья моды программы соответственно позволяют осуществить подгонку (unwarp) изображений к одной или нескольким целевым формам (target shapes), а не к консенсусной конфигурации, которая может быть получена из координат ландмарок загружаемого tps-файла. Для выбора второй моды с одиночным целевым файлом щёлкните по кнопке-ярлыку «Target», а для выбора третьей моды — по «Targets» с оценкой нескольких целевых файлов. Все основные опции в этих модах программы работают так же, как и в стандартной моде. Некоторые дополнения, не требующие комментариев, появляются в «View report». Во второй моде на базовой панели программы появляются три новые кнопки. Первая из них — «Target config» — предназначена для ввода файла целевой конфигурации (это может быть консенсусный tps-файл другой группы, конфигурация отдельного объекта данной группы в формате tps-файла, например самого молодого и др.). Вторая кнопка — «Fit to Target» — обеспечивает получение нормализованной референсной конфигурации аналогично процедуре GPA. Третья кнопка «Target», расположенная справа в блоке Display, функционирует аналогично кнопке «Consensus».

В третьей моде программы на базовой панели тоже наблюдаются изменения. Сначала вводится tps-файл, а затем появляется кнопка «Targets», с помощью которой вводятся несколько целевых конфигураций в виде единого tps-файла (в нём несколько блоков координат, соответствующих нескольким целевым конфигурациям). В блоке Compute появляется одна кнопка «Estimate targets», с помощью которой осуществляется оценка целевых конфигураций относительно исходно введённой группы конфигураций. Затем в блоке Display появляется возможность просмотра изображений — кнопка «Data», затем «Targets», а для получения целевых изображений используется кнопка «Estimated images».

Если нажать на кнопку «Plot consensus», то на экране появится предварительная консенсусная конфигурация ландмарок. Дальнейший процесс графической суперимпозиции начнется после нажатия кнопки «Unwarp images». При этом все изображения объектов последовательно будут появляться на экране в виде отдельных форм с индивидуальной конфигурацией ландмарок, которые математически совмещены со средней или консенсусной конфигурацией. При большой величине графических файлов и большом их числе процесс суперимпозиции в программе tpsSuper будет длиться

продолжительное время. Процент выполнения задачи отображается на рабочей панели программы.

После завершения процесса суперимпозиции появится возможность просмотреть, какова степень деформации изображений отдельных объектов. Для этого в нижней части панели можно, последовательно щёлкая мышкой по небольшим черным стрелкам или вписывая порядковый номер особи вручную, получать соответствующее искаженное за счёт математического совмещения с консенсусной конфигурацией ландмарок изображение очередного объекта. Просмотр желателен, поскольку позволяет составить представление о разнообразии форм отдельных объектов, а также обнаружить ошибки в порядке расстановки ландмарок. Затем нажмите на кнопку «Averages images» и получите усреднённое консенсусное изображение для выборки в целом. Можно воспользоваться соответствующими меню для сохранения консенсусного изображения «Save plot», а также его координат ландмарок «Save consensus». Эти данные могут быть вами использованы в дальнейшем для проведения сравнений, где единицей наблюдения являются средние консенсусные изображения для выборок и координаты их ландмарок. Опция «View gerort» позволит посмотреть значения ординат для построения консенсусной конфигурации (это можно сделать, например, в программе Excel) и значения экранных 2D-координат ландмарок (после усреднения они становятся дробными десятичными числами). Вновь заметим, что последние координаты могут быть использованы для объединения и сравнения с другими подобными консенсусными координатами других выборок. В этих случаях конкретные групповые консенсусные конфигурации будут взяты как единичные наблюдения и объединены в tpsUtil или текстовом редакторе в tps-файл, аналогично тому, как это было сделано с индивидуальными конфигурациями.

Программой предусмотрены три моды (способа) расчётов при суперимпозиции, которые можно произвольно выбирать и изменять в блоке меню «Options». Первый вариант «Unwarp to average configuration», когда выравнивание изображений идёт при математическом сохранении усреднённой консенсусной конфигурации ландмарок, предлагается по умолчанию. Второй вариант «Estimate image as average» позволяет провести суперимпозицию, последовательно принимая каждый объект за консенсусное среднее (все объекты выравниваются относительно условного среднего). Для запуска этого варианта следует сначала в блоке «Options» выбрать строку «Mode», а в открывшейся дополнительной панели меню щёлкнуть мышью по второй строке «Estimate image as average». После этого в основном меню программы выберите строку «Open file for estimated», в уточняющем до-

полнительном меню щёлкните по первой строке с надписью «coordinates file» и в появившейся панели выберите соответствующий tps-файл. После этого следует произвести все действия с кнопками на основной панели программы, которые выполнялись в первом варианте расчётов, затем нажать на кнопку «Estimate images».

Примечательно, что в этой и других программах TPS доступ к соответствующим кнопкам рабочей панели организован последовательно: доступны только те кнопки, которые на определённом этапе расчётов становятся активными (на них проявляется контрастная надпись). При выполнении расчётов первого варианта (mode) последняя кнопка является неактивной и активируется только при выполнении второго варианта вычислений. Последний вариант расчётов «Unwarp to fixed configuration» нужен для выравнивания всех конфигураций и изображений относительно одной определённой фиксированной конфигурации (например, самого молодого объекта). После нажатия данной кнопки следует вернуться в блок «File» основного меню программы, выбрать и загрузить соответствующую конфигурацию, которая должна быть заранее размещена первой в последовательности конфигураций ландмарок tps-файла. Относительно неё и будут проводиться суперимпозиция и выравнивание. После загрузки файла следует сначала нажать кнопку для старта процедуры выравнивания «Align», а затем кнопку «Unwarp images» и дождаться окончания процесса. В завершение нажмите кнопку «Averages images» и получите консенсусное изображение относительно этой фиксированной конфигурации. При этом, например, при фиксации исходной конфигурации ландмарок наиболее молодой особи, итоговое консенсусное изображение будет существенно размытым, отражая направления онтогенетических преобразований формы объекта.

Все варианты (modes) предусматривают возможность итогового сохранения результатов при нажатии кнопки «Save» и выборе нужного результата расчётов: во-первых, сохранения данных по суперимпозиции конфигурации отдельных объектов и их выровненных относительно консенсусной конфигурации изображений «Aligned data & unwarped images»; во-вторых, усреднённой консенсусной конфигурации и её обобщённого изображения «Average unwarped image»; кроме того при втором варианте расчётов оценки каждого из объектов относительно всех остальных, включая построение для них изображений – «Estimated shapes & images». Доступна также возможность просмотра результатов при нажатии кнопки «View report», где приведена текстовая цифровая информация (при желании её можно сохранить).

Как уже отмечалось выше, при сохранении итоговых изображений можно использовать следующие графические форматы: BMP, TIF, JPG, PCX, WMF, GIF, PNG. Расширения имен графических файлов в данной программе следует прописывать вручную (например, consensus\_wing.jpg). Не забывайте поставить после имени файла точку перед соответствующим расширением (в данном случае \*.jpg)! Получение обобщённых или консенсусных образов объектов и усреднённых исходных координат ландмарк для конкретных выборок позволяет в дальнейшем использовать их при сравнении выборок как самостоятельных единичных объектов: например, при анализе закономерностей межгрупповой географической изменчивости формы, оценке морфологического разнообразия популяций и видов, а также построении древовидных кластеров, характеризующих таксономические взаимосвязи, и др.

**Программа tpsRelw** предназначена для вычисления координат соответствующих осей для частных и относительных деформаций, а также визуализации преобразований формы объекта с применением техники тонкопластинных сплайнов (TPS) в пределах изучаемой выборки. Поскольку относительные деформации (relative warps) представляют собой подобие главных компонент, то полученные в данном программном модуле координаты часто применяют при дальнейшем многомерном анализе внутри- и межгрупповой изменчивости формы, например при использовании методов главных компонент формы, а также канонического и дискриминантного анализов. Особый интерес вызывает хорошо реализованная в программе возможность визуализации изменчивости формы объектов в плоскости соответствующих пар осей, что существенно облегчает интерпретацию этих изменений.

Методом генерализованного Прокрустового анализа (GPA) наименьших квадратов (Rohlf, Slice, 1990) вычисляется усреднённая консенсусная конфигурация ландмарок (consensus), которая служит референсной конфигурацией. Напомним, что она представлена точкой соприкосновения между пространством форм (shape space) и касательной к ней тангенциальной плоскости (tangent space) при использовании технологии тонкопластинных сетчатых сплайнов (thin-plate splines) или трансформационных решёток в виде сплайнов. Как уже отмечалось ранее, относительно референсной конфигурации при GPA суперимпозиции осуществляется выравнивание (align) объектов сравнения. Необходимо заметить, что полученные различия формы объектов при использовании метода тонкопластинных сплайнов достаточно отчётливы, поскольку опираются на проявление ковариации между ландмарками.

На основе матрицы энергии искривления (bending energy) вычисляются главные деформации (principal warps), обозначенные в программе как матрица **E**. Проекция конфигураций ландмарок каждой особи на главные деформации задает частные деформации, которые позволяют представить и показать положение каждого объекта относительно  $x$  и  $y$  компонент для каждой главной деформации. При этом каждая частная деформация не может быть интерпретирована биологически, однако полученная матрица координат частных деформаций (в программе она обозначена как взвешенная (weight) матрица или **W**) может быть успешно использована как матрица данных для анализа с помощью самых разных методов многомерной статистики (Rohlf, 1996). Выше мы уже обсудили технику получения относительных деформаций (relative warps), которые вычисляются как суммарная вариация между особями по отношению к координатам их частных деформаций с поиском важнейших направлений изменчивости формы. Фактически при коэффициенте  $\alpha = 0$  эта процедура представляет собой анализ главных компонент ковариационной матрицы координат частных деформаций. При иных значениях коэффициента  $\alpha$  ординация производится относительно энергии искривления. Полученная матрица координат относительных деформаций, обозначенная в данной программе **S**, может быть использована наряду с визуализацией расположения ординат вдоль RW-осей для вычисления канонических переменных, характеризующих межгрупповые различия.

В tpsRelw имеется возможность интерактивно изучать изменения формы объектов как вдоль осей  $x$  и  $y$  отдельных частных деформаций (partial warps — PW), так и вдоль RW-осей. Предложено окно визуализации (visualizer window), которое показывает проявление деформаций объектов по отношению к референсной конфигурации с учётом и в соответствии с выбранным положением ординаты любого объекта в выборке. При этом можно использовать технику «моментальных снимков» («snapshots») для оценки реальной деформации объектов, а также технику «изготовления видеоряда», кадром показывающего динамическую последовательность деформаций отдельных ординат в плоскости, образованной соответствующими переменными ( $x$ ,  $y$  PW или RW). Программа допускает возможность сохранять координаты ландмарок для отдельных конфигураций и объектов в виде tps-файла, который при желании может быть использован в другой программе — tpsSuper — для получения усреднённого изображения, соответствующего данной конфигурации ландмарок.

Рассмотрим последовательность и особенности работы в программном модуле tpsRelw в режиме «по умолчанию». Для начала работы загрузите в программу необходимый tps-файл, используя кнопку «Data» (рис. 3.6).

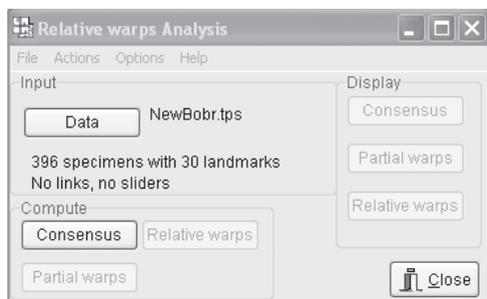


Рис. 3.6. Рабочая панель программы tpsRelw.

После этого в блоке «File» основного меню программы можно загрузить заранее подготовленные файлы: слайдер — «Open slider file» или link-файл — «Open link file», для более эффективной визуализации и облегчения интерпретации деформаций. Сначала нажмите ставшую доступной кнопку «Consensus», а затем кнопки «Partial warps» и «Relative warps». После нажатия этих кнопок станут доступными одноименные кнопки, дающие доступ к окнам визуализации результатов расчётов. Нажатие кнопки «Consensus» на правой стороне рабочей панели приведёт к появлению окна, в котором изображается консенсусная конфигурация лан্ডмарок.

Если вы заранее загрузили link-файл, то появляется возможность в открывшемся меню в верхней части данного окна визуализации в блоке «Options» загрузить данный протокол, в результате чего соответствующие лан্ডмарки будут соединены линиями, а форма консенсусной конфигурации — её каркас (wireframe) — станет более понятной. В этом же блоке имеется одноименная опция «Options», позволяющая улучшить графические свойства изображения. В открывшейся дополнительной панели «Consensus plot options» можно изменить размер точек для лан্ডмарок, откорректировать края рисунка по размеру, поместить нумерацию лан্ডмарок или отменить её. Можно также изменить размер порядковых номеров лан্ডмарок, изменить цвет линий и фона изображения, увеличить длину потенциальных стрелок и провести другие операции. В общем блоке «Options» можно выбрать опцию «Points» для размещения индивидуальных ординат по каждой из лан্ডмарок, а также опцию «Vectors» для показа векторов от консенсусного положения лан্ডмарки до индивидуальных ординат этой лан্ডмарки. Степень рассеивания индивидуальных ординат лан্ডмарок указывает на области с разным уровнем изменчивости для изучаемой формы, а также основные направления трансформаций для разных частей объекта изучения.

В блоке «Edit» общего меню визуализации консенсуса можно выбрать возможность копировать изображение как векторный метафайл или растровый BMP-файл. В блоке «File» можно сохранить изображение «Save plot» или его распечатать «Print plot», а также сохранить координаты консенсусной конфигурации «Save/ Save consensus» и выровненных индивидуальных конфигураций «Save/ Save aligned». Важная информация содержится в разделе «View report». Здесь в текстовом виде последовательно отображены нормированные координаты консенсусной конфигурации, частные дисперсии для каждой ландмарки как по абсциссе и ординате, так и обобщённые дисперсии ландмарок по обоим осям. Приведены также собственные числа (Eigenvalues) по главным деформациям (principal warps), вклад в общую дисперсию каждой из ландмарок (SS), величина и доля объяснённой дисперсии для относительных деформаций (RW), матрица координат частных деформаций (weight matrix) с двумя завершающими колонками значений аффинных или однородных деформаций (uniform).

Особый интерес представляют два окна визуализации для частных (кнопка на основной рабочей панели справа «Partial warps») и относительных (аналогичная кнопка вызова «Relative warps», расположенная ниже) деформаций. При выборе первой кнопки появляется окно, в котором слева изображены результаты ординации объектов в пространстве аффинных осей X и Y, а сверху — кнопки с изображением фотоаппарата и кинокамеры. Выбрав мышкой кнопку с фотоаппаратом, вы откроете ещё одно окно с изначально консенсусной конфигурацией ландмарок. При выборе в меню данного окна блока «Options» и затем опции «Show links» (если исходно был загружен link-файл) на экране появляется контурное изображение конфигурации. Одновременно слева на перекрестье осей появится небольшой кружок, который отображает местоположение соответствующей ординаты в пространстве, сформированном осями. Сдвигая мышью кружок от одной ординаты к другой, одновременно отслеживаем деформации исходной конфигурации на правом малом дополнительном окне. Для этого лучше расположить оба окна рядом, выровняв их по размеру. Изменяя с помощью пары вертикальных стрелок, расположенных сверху основного окна визуализации, порядковый номер частной деформации, мы можем одновременно изучать и закономерности рассеивания ординат объектов в выборке и соответствующую им конфигурацию ландмарок для конкретной RW или аффинной деформации.

Другой способ визуализации становится доступен при нажатии кнопки с изображением кинокамеры. После этого нажатия несколько изменяется дизайн дополнительного окна: на его верхней части появляются дополни-

тельные кнопки. Если подвести курсор мыши к левой кнопке, проявится уточняющая надпись «Show sequence of plot», означающая последовательный показ отдельных точек графика, а возле правой кнопки появляется «Loop sequence continuously», т.е. формирование непрерывной петли последовательного показа изображений (другими словами, зацикливание показа). Для появления подвижного кружка на левом поле окна визуализации щёлкните по нему мышью. Затем, смещая курсор мыши к той или иной ординате или вдоль осей, повторите щелчок. При этом появится стрелка, направленная от точки первоначальной ординации к последующей точке. Повторяя эту процедуру со смещением курсора и фиксацией нового его положения в пространстве, образованном соответствующими осями, можно получить цепочку, выстроенную стрелками. Теперь щёлкните мышью по кнопке с изображением треугольника на дополнительном окне с конфигурацией ландмарков и наблюдайте за изменениями конфигурации и трансформационной решётки. В соответствии с местоположением очередных ординат в направлении, указанном стрелками, конфигурация ландмарков будет пошагово изменяться (динамически трансформироваться). После выполнения заданной последовательности шагов показ остановится. Если же нажать на соседнюю кнопку с изображением петли (кольца) из стрелок, расположенную правее, то пошаговый показ не остановится после выполнения всей последовательности шагов, а продолжит её дальше, начав сначала. Для остановки цикла показа нажмите на красную кнопку с надписью «STOP». При сохранении результатов и выборе опций сохраняются черты, уже описанные для консенсусного окна визуализации. Отличие состоит в том, что в блоке меню «File» данного окна сохраняются матрицы значений главных деформаций «Save / Save principal warps» и координат частных деформаций «Save / Save weight matrix».

Аналогично устроено окно визуализации для показа изменений формы объектов в пространстве относительных деформаций. Единственное его отличие заключается в том, что в этом случае возможен произвольный выбор осей, задающих соответствующую им ординацию объектов. При сохранении результатов сохраняются матрицы координат относительных деформаций «Save / Save scores» и вкладов соответствующих RW-осей в объяснение общей изменчивости формы «Save / Save R»t...».

Теперь вновь вернёмся к началу работы с программой tpsRelw и рассмотрим потенциальные произвольные режимы расчётов. После стандартной загрузки tps-файла и ввода дополнительной информации из link-файла о каркасе конфигурации ландмарков (wireframe) можно выбрать блок главного меню программы «Options», а в нём указать строку «Alpha...». В по-

явившемся дополнительном окошке можно заменить значение «0.0000», например, на «1.0000». При таком значении коэффициента  $\alpha$  предполагается, что энергия искривления (деформации) для нелинейных преобразований формы минимальна, а сами изменения, тем не менее, связаны с крупными, хорошо заметными перестройками формы. Если подставить значение «-1.0000», то на первый план выйдут мелкие трансформации, причём с максимально высоким уровнем энергии искривления. При проведении таксономических сравнений иногда последовательно используют все три контрастных значения коэффициента  $\alpha$ : +1, 0 и -1 (Monteiro, dos Reis, 2005). Это позволяет сравнить результаты ординации таксонов при разных уровнях энергии искривления (ВЕ), т.е. от крупных изменений с низкой энергией искривления до мелкомасштабных детальных трансформаций с высоким уровнем энергии искривления (ВЕ). Первые изменения, вероятно, чаще затрагивают простые ростовые процессы (включая аллометрические изменения), а вторые связаны, скорее, с существенными морфогенетическими преобразованиями и координациями.

**Программа tpsSmall** предназначена для вычисления степени соответствия (аппроксимации) ординат конфигураций лан্ডмарков, размещённых в линейном тангенциальном пространстве, их положению на поверхности нелинейного Кендаллова пространства форм. Ф. Дж. Рольф (2013) подчеркивает, что статистические методы анализа, использующие Букштейновы координаты формы, а также тонкопластинные сплайны, априори предполагают, что эта аппроксимация является адекватной. Программа способна анализировать двумерные (2D) и трёхмерные (3D) данные. Проводится расчёт ортогональных наименьших квадратов средних Прокрустовых конфигураций лан্ডмарков, используя обобщённую ортогональную процедуру наименьших квадратов. В случае исходных двумерных ординат (2D) расчёты выполняются в соответствии с алгоритмом, описанным Рольфом и Слайсом (Rohlf, Slice, 1990), а для трёхмерных (3D) данных используются обобщённые матричные методы вычислений. Средняя конфигурация при расчётах методом тонкопластинных сплайнов обычно рассматривается как консенсусная (consensus configuration) и служит в качестве референсной конфигурации (reference configuration) — точки касания тангенциальной плоскости (tangent space) и пространства форм (shape space). Программа предполагает возможность выбора двух способов масштабирования, после того как объекты будут выравнены (aligned) относительно консенсусной конфигурации. По умолчанию предполагается способ, когда каждый объект имеет размер центроида, равный 1. Другой способ — выравнивание с помощью  $\cos(\rho)$  — можно выбрать вручную (Options / Scale aligned/).

Здесь же можно выбрать и способ проекции ординат на тангенциальную плоскость (по умолчанию предлагается ортогональный метод проекции — Orthogonal).

Для начала вычислений нажмите мышью на клавишу с надписью «Compute». При дальнейшем расчёте используется консенсусная конфигурация, относительно которой проводится вычисление евклидовых дистанций между всеми парами выравненных и масштабированных объектов (aligned and scaled specimens). Эту матрицу можно сохранить в виде текстового файла (Save). Затем вычисляют Прокрустовы дистанции (как углы, выраженные в радианах) между всеми парами объектов (эту матрицу можно также сохранить в файле). Далее методом наименьших квадратов вычисляют линейную регрессию и оценивают пирсоновскую корреляцию (без центрирования) между двумя переменными — евклидовыми дистанциями в линейном тангенциальном пространстве и Прокрустовыми дистанциями в пространстве форм. Можно вывести график зависимости и оценить степень и форму линейной связи между ними («View plot»). По умолчанию вычисляется фиксированный масштаб. Его можно при желании отменить: Options -> отключить мышью галочку слева от Fixed scale. Можно также построить график зависимости обеих дистанций для каждого объекта от референсной конфигурации (Options -> Distance to reference). Полученные графики можно при необходимости сохранить в растровом (BMP) и векторном (WMF) форматах (File -> Save plot). Они будут демонстрировать степень аппроксимации тангенциальных и Прокрустовых дистанций. При выборе формата графического файла не забывайте указывать его тип в виде расширения bmp или emf (после имени файла ставьте точку, отделяя буквы расширения имени, например plot1.bmp). В противном случае появится предупреждающая английская надпись о том, что такой тип файла не поддерживается. Редактирование свойств полученного графика — толщина линий, шрифты и проч. — доступно в Options -> Plot options.

В меню графика можно просмотреть результаты расчётов линейной регрессии и коэффициента корреляции (File -> View report). Аналогичный просмотр возможен в основном меню на базовой панели программы. Текстовый файл с итогом расчётов можно сохранить (File -> Save). В итоговых результатах вначале указаны способы масштабирования и проецирования, затем приведено число итераций вычислений методом GPA (Обобщённый Прокрустов анализ) с итоговыми величинами совмещения на каждом этапе, далее координаты консенсусной (референсной) конфигурации, а ниже значения минимальных, максимальных и средних величин Прокрустовой и тангенциальной дистанций. Они позволяют сравнить, насколько отли-

чаются между собой дистанции после проецирования на тангенциальную плоскость. Для сравнения строкой ниже указано эталонное значение максимально возможной Прокрустовой дистанции (1.570796, или  $\pi/2$ ). Завершающий блок итоговых результатов содержит информацию о значениях коэффициентов линейной регрессии ( $y = a + bx$ ):  $Y = 0$  (это пересечение с референсной точкой, где  $a = 0$ ), Slope (в нашей версии формулы линейной регрессии — коэффициент  $b$ , характеризующий в радианах угол наклона линии регрессии). Значение коэффициента корреляции Пирсона (Correlation), вычисленного без центрирования, приведено строкой ниже. В случае, когда коэффициент корреляции близок к 1.0, степень сжатия ординат вдоль линии регрессии максимальна, а Slope, близкий к 1.0, указывает на положительную регрессионную зависимость. В большинстве случаев корреляционная связь между этими переменными (дистанциями) близка к максимальной величине, т.е. тангенциальные и Прокрустовы дистанции действительно хорошо аппроксимируются.

Вновь обратимся к базовой панели программы tpsSmall (рис. 3.7). В блоке меню File и строке Save имеются дополнительные возможности для сохранения промежуточных результатов в виде отдельных файлов: 1 — координат выравненных (Aligned specimens) объектов (в форматах tps и nts); 2 — величин индивидуальных размеров центраида (Centroid size); 3 — матрицы парных Прокрустовых дистанций (Procrustes distances); 4 — матрицы парных тангенциальных евклидовых дистанций (Tangent distances); 5 — значений индивидуальных Прокрустовых дистанций от референсной конфигурации (Procrustes d to reference); 6 — значений индивидуальных тангенциальных дистанций от референсной конфигурации (Tangent d to reference).

Поскольку степень аппроксимации Прокрустовых и тангенциальных дистанций практически всегда очень велика, эту программу чаще используют для других целей — вычисления именно последнего набора переменных и матриц, которые могут быть использованы в других программах.

**Программа tpsRegr** предназначена для оценки взаимосвязей и регрессионных зависимостей между формой, включая однородную (аффинную) и нелинейную (неаффинную) её компоненты, а также одной или более независимыми переменными (например, размером центраида). Программа включает многомерный тест для оценки возможности предсказания изменчивости формы при использовании одной или нескольких независимых переменных. Используется многомерный множественный регрессионный анализ, который позволяет осуществлять выявление согласованностей изменчивости для разнообразных многомерных обобщённых линейных моде-

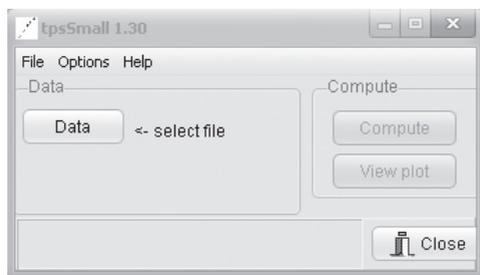


Рис. 3.7. Базовая панель программы tpsSmall.

лей (GLM). В программе реализована возможность наряду с традиционным  $\Lambda$ -тестом Уилкса (Wilks' Lambda test) использовать для оценки значимости регрессионной зависимости обобщённый F-тест Гудолла (Goodall's F-test) и перестановочный (permutation) тест.

В этой программе так же, как и в других программных tps-модулях, основным методом является Генерализованный Прокрустов анализ (GPA), использующий процедуру наименьших квадратов (по Rohlf, Slice, 1990), и вычисляется средняя Прокрустова, или консенсусная конфигурация. Она служит в качестве референсной конфигурации лан্ডмарков, расположенной в точке касания пространством форм тангенциальной (касательной к нему) плоскости (tangent space) при вычислениях, связанных с тонкопластинными сплайнами. С помощью программы можно визуализировать консенсусную конфигурацию и размещение конфигураций объектов в выборке, используя наложение в виде точек и векторов (стрелок). Применение для визуализации изменений формы метода тонкопластинных сплайнов позволяет выявить ковариацию между лан্ডмарками и проследить изменчивость формы в виде деформаций. Ф. Дж. Рольф обращает внимание на то, что поскольку используется метод множественного наложения формы объектов или суперимпозиции на основе наименьших квадратов, то получаемые изображения не должны интерпретироваться буквально. Метод такой визуализации упрощает и несколько искажает преобразования формы (в частности, это может наблюдаться при малом числе меток-лан্ডмарков). Вычисляются частные деформации (partial warps) путем проецирования конфигураций каждого объекта на главные деформации (principal warps), полученные на основе матрицы энергии искривления (bending energy matrix), которая рассчитывается из консенсусной конфигурации, полученной методом обобщённых наименьших квадратов (Rohlf, 1993). Программой выполняется многомерный тест для оценки обобщённой линейной модели,

предсказывающей изменчивость формы (с учётом частных деформаций и аффинной (uniform shape) компоненты формы) как функцию одной или более независимых переменных. Наряду с обычным использованием для этой цели размера центроида (CS) как единичной независимой переменной или других метрических признаков допустимо применять в качестве такой «независимой» переменной искусственный индикатор переменной (dummy indicator variable). В инструкции к программе Ф. Дж. Рольф поясняет, что такая переменная может маркировать групповую принадлежность особей. Для особей одной группы вводится метка 1 (единица), а для другой — метка -1 (минус единица), чтобы протестировать межгрупповые различия формы объектов для двух групп. С помощью аналогичных переменных (включающих аналогичные контрасты), можно использовать данную программу для выполнения разных типов многомерного дисперсионного и ковариационного анализов (MANOVA, MANCOVA).

Программа также вычисляет Прокрустовы дистанции от референсной конфигурации до каждого объекта и от каждого объекта до конфигурации, предсказанной линейной регрессией, что позволяет выполнить обобщённый F-тест Гудолла (Goodall, 1991). Предусмотрена возможность выполнения перестановочного теста для  $\Lambda$ -теста Уилкса (Wilks' Lambda) и F-теста Гудолла. По выбору пользователя при использовании только одной независимой переменной программой может быть осуществлена множественная регрессия для предсказания независимой переменной как функции формы. При этом программа позволяет получить подробное описание результатов такого анализа в итоговом листинге (View report), но не позволяет построить соответствующие графики (в этом случае недоступны и графики для перестановочных тестов).

Взаимосвязь между каждой деформацией (warp) и независимыми переменными может быть представлена в виде соответствующей линии регрессии (или частной регрессии). Остаточная изменчивость (residuals) из полученной регрессионной модели также изображается на графике в виде эллипсоида рассеивания индивидуальных ординат для соответствующих независимых переменных. При этом можно сохранить матрицу координат частных деформаций (partial warp scores) в виде отдельного файла, который предполагается использовать в дальнейшем для анализа как индивидуальные прокрустовы координаты объектов. Следует заметить, что Ф. Дж. Рольф предпочитает обозначать эти координаты матрицей весового вклада деформаций (= the weight matrix, W). Дополнительно вычисляется матрица b-коэффициентов регрессии, а также матрица суммы квадратов остатков (residual sum of squares matrix), которая также может быть сохранена в виде

файла. После проведения расчётов это можно осуществить в блоке меню File -> Save базовой панели программы.

Особый интерес в программе tpsRegr (рис. 3.8) представляет имеющаяся в ней возможность вручную деформировать конфигурации объектов по отношению к консенсусной конфигурации, осуществляя визуализацию изменений формы при разных значениях соответствующей независимой переменной. В специальных графических окнах при движении ползунка влево и вправо можно отразить все изменения формы при тех или иных изменениях значений независимой переменной. Например, если независимый параметр отражает размеры (при фиксированном возрасте) или переменную календарного возраста объектов, то можно соответственно увидеть аллометрические или возрастные изменения их формы и сохранить их при желании в виде растровых или векторных графических файлов (bmp, emf).

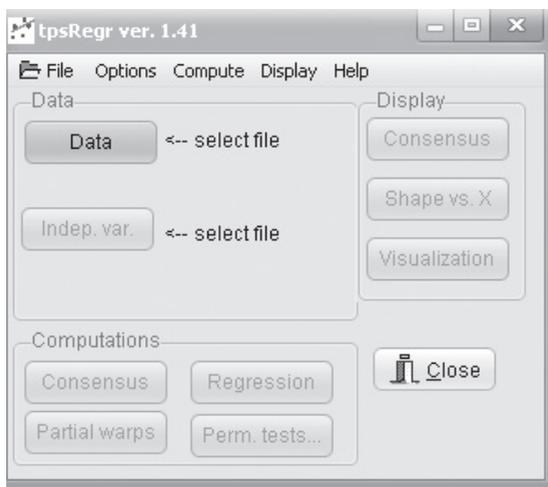


Рис. 3.8. Рабочая панель программы tpsRegr.

Для конкретных значений независимой переменной можно сохранить соответствующую единичную конфигурацию ландмарков объекта в формате TPS, а затем, как предложено в инструкции к программе, можно прочитать данный tps-файл в программе tpsSuper и создать изображение, соответствующее этой конфигурации. Однако на практике для этого нужно создать tps-файл, имеющий не менее трёх элементарных индивидуальных tps-блоков (конфигурационных состояний формы при разных значениях независимой

переменной). Следует отобразить с помощью графического окна и копировать в виде частных tps-файлов три состояния формы объектов, соответствующие минимальному, максимальному и консенсусному значениям переменной. Для этого нужно открыть блок Visualization на базовой панели программы, а конкретное изображение можно сохранить в File -> Save estimate в виде tps-файла (или nts-файла, если предполагается дальнейшая работа в программе NTSYS). В программе tpsUtil нужно склеить полученные файлы в общий файл (функция Append files). Обязательно требуется присутствие в папке соответствующих изображений в формате bmp. Копировать изображения состояний также можно в блоке Visualization (базовая панель программы) -> Edit -> Copy bitmap, а затем выгрузить изображение в любой графической программе для растровых изображений и сохранить его в формате bmp.

Для обеспечения рутинного процесса обработки файлов в программе tpsRegr можно воспользоваться специальными текстовыми командными протоколами — пакетными файлами (batch mode). Такие batch-файлы пишутся в текстовом формате в ASCII коде и содержат список последовательных команд и имен файлов. При проведении рутинных повторяющихся исследований, например при имитационном моделировании процессов морфогенеза, а также при связывании итоговых результатов с интерфейсами других статистических программ, этот способ работы оказывается полезным.

Начиная работу в программе tpsRegr, следует помнить, что tps-файлы, как и во многих других TPS-программах, должны быть представлены не менее чем тремя объектами, которые должны содержать равное число ландмарков (без пропусков). Вся дополнительная информация о кривых, масштабе, а также связанных с объектом изображениях и прочих его информационных атрибутах полностью игнорируется, и используются только основные координаты ландмарков для объектов и идентификационные номера. Для успешного проведения многомерных тестов число объектов (особей) должно быть всегда больше, чем число частных деформаций плюс число независимых переменных, относительно которых оценивается регрессионная зависимость изменчивости формы. Необходимо заранее спланировать вычисления и использовать соответствующие опции для выбора путей и особенностей вычислений. Для этого в меню на базовой панели нужно открыть блок Options и решить, включаете ли вы дополнительно в состав матрицы частных деформаций аффинную компоненту (Include uniform): если да, то слева от этой строки должна быть выставлена галочка. Если этот пункт выбран, то в конце итоговой матрицы частных деформаций будут добавлены и две колонки аффинных координат UnifX и UnifY. Аналогично следует

решить, каким методом будет вычислена регрессия формы: многомерная или множественная (Regr method -> Multivariate regr или Multiple regression), нужно ли проводить многомерные тесты (Do multivariate tests) и как должны использоваться другие опции из перечня блока Options? Прежде чем начать вычисление, следует решить, нужно ли использовать текстовый протокол, именуемый link-файл, для указания структуры линий, связывающих ландмарки для создания схематичной конфигурации объекта. Такой файл создается заранее (его формат и описание приведены выше в разделе 3.1 и на рис. 3.3). Для его загрузки в меню базовой панели программы выберите File -> Open links file, а в открывшемся окне выберите мышью нужный link-файл. При дальнейшей визуализации этот файл чрезвычайно важен и полезен, облегчая понимание и интерпретацию направлений изменений конфигурации объектов.

Если вы уверены, что всё готово для работы, то нажмите мышью на базовой панели программы кнопку «Data» и введите нужный tps-файл, заранее созданный с помощью программ tpsUtil и tpsDig или tpsDig2. Программа tpsRegr, как и все остальные программы пакета TPS последовательно делают доступными соответствующие этапы работы программы, которым соответствуют кнопки на панели. Когда кнопка становится доступной, надпись на ней становится контрастной. При недоступности этого этапа вычислений надпись на кнопке лишь слабо заметна. Второй доступной кнопкой-клавишей становится кнопка с надписью «Inder.var.» — независимая переменная. Обычно в качестве независимой переменной используется размер центроида, поскольку регрессия формы на эту переменную показывает, в какой мере присутствует аллометрия в изменчивости формы. Если такая зависимость велика и процент предсказания формы от размера центроида высок, то можно заключить, что аллометрия проявляется (при этом в дальнейшем можно оценить, какие элементы формы больше подвержены аллометрии).

Можно воспользоваться этой же программой для получения независимой переменной — размер центроида (CS) в виде отдельного файла и в дальнейшем его загрузить после нажатия кнопки Inder.var. из появившегося окна. Для создания файла в базовом меню tpsRegr откройте File -> Save -> Centroid size (или **log centroid size**) и присвойте ему название, используя латиницу (например, CSz1.nts или LogCS1.nts). Если первая переменная пропорциональна размеру (иногда и сложности формы) объекта, то вторая отражает его логарифм и часто используется для оценки аллометрических зависимостей.

Итак, загрузим полученный файл LogCS1.nts с логарифмом размера центроида в качестве независимой переменной. После этого доступными

станут кнопки-клавиши в блоке вычислений, который на панели помечен надписью Computations. Необходимо последовательно нажать становящиеся доступными кнопки «Consensus» -> «Partial warps» -> «Regression». Смысл действий при этом не требует специальных пояснений. Сначала методом GPA вычисляется референсная средняя конфигурация ландмарок, затем главные (principle warps) и частные деформации (partial warps) и, наконец, проводится регрессия частных деформаций на независимую переменную. Допустимо изменить некоторые опции в блоке базового меню Options перед тем, как нажать кнопку «Regression». При необходимости получения оценок перестановочных тестов далее следует нажать кнопку «Perm.tests». Эти оценки полезны при анализе устойчивости и значимости результатов многомерных тестов. Если это не требуется, то можно продолжить процесс анализа результатов, перейдя к этапу их визуализации.

На базовой панели программы кнопки, обеспечивающие визуализацию результатов, расположены справа вверху в блоке, обозначенном надписью Display. Кнопка «Consensus» позволяет визуализировать среднюю референсную конфигурацию ландмарок, а также разброс конфигураций ландмарок для всех объектов в выборке. Если будет загружен link-файл, то в блоке Options в строке меню открывшегося окна Consensus его можно активировать, выбрав опцию Show links. Отдельно или в сочетании друг с другом выбрав опции «Points» и «Vectors», можно оценить индивидуальную изменчивость положения тех или иных ландмарок и её направления. Все полученные изображения можно модифицировать, выбрав внутреннюю опцию Options, где можно подобрать цвет разных элементов рисунка, размеры элементов и шрифтов. Для сохранения полученных изображений выберите либо File -> Save plot (при этом изображение сохраняется в графическом формате BMP), либо Edit -> Copy bitmap (тоже растровый формат BMP), или Edit -> Copy metafile (векторный графический формат Windows Metafile). В последнем случае потребуется выгрузить скопированные изображения в соответствующие графические программы (например, Adobe Photoshop и Corel Draw) для создания соответствующих графических файлов, пригодных к публикации. Аналогичные возможности имеются во всех других окнах, предназначенных для визуализации.

Особый интерес представляют возможности другой кнопки базовой панели программы, названной «Share vs. X» и позволяющей открыть окно визуализации с серией однотипных графиков регрессии каждой частной деформации (PW) на независимую переменную X. Каждая точка на графиках соответствует конкретной особи. Щёлкая мышью по черным треугольникам-стрелкам, можно просмотреть все регрессионные зависимости,

ориентируясь по углу наклона линии регрессии. В меню этого окна можно выбрать опцию Options и модифицировать графики, выбрав шрифты, цвет линий и заливки точек, их размеры, а также появление или исчезновение номеров объектов. Интересна возможность выбрать другую опцию — Plot residuals, при которой на графике будут изображены только координаты объектов, характеризующие остаточную (residual) изменчивость формы. При её отключении (для этого нужно убрать щелчком мыши галочку слева) возвращается экран с линией регрессии и соответствующим эллипсом рассеивания ординат объектов, связанных с изменчивостью независимой переменной. Последней парой переменных формы выводятся аффинные переменные — UnifX и UnifY.

При выборе более чем одной независимой переменной в импортируемом файле в окне визуализации «Shape vs. X» справа будет доступен просмотр зависимостей одних и тех же PW от каждой из введенных X-переменных. Для просмотра зависимости с очередной переменной нужно щёлкнуть мышью справа вверху от **X**: окна по управляющей кнопке в виде небольшого черного треугольника.

Самая полезная визуализация, позволяющая посмотреть, как преобразуется форма объекта при изменении значений независимой переменной (например, от изменения размера центра), доступна на основной панели программы в блоке Display при нажатии кнопки Visualizaton. Двигая ползунок, расположенный в верхней части окна визуализации, слева направо, можно по изменению конфигурации ландмарок и изгибу трансформационной решётки увидеть направления изменения формы объекта в зависимости от значения независимой переменной (эти значения высвечиваются в небольшом окне, расположенном слева от ползунка). В верхней строке меню открывшегося окна можно также выбрать Options и изменить способ визуализации изменений формы объекта, щёлкнув по опции Vectors. После этого при передвижении ползунка от каждой ландмарки потянутся стрелки — векторы, указывающие направление и степень изменений данного элемента формы, а трансформационная решётка исчезнет. Существует возможность усилить тенденции изменения конфигурации ландмарок в 3 или 10 раз, выбрав соответствующие множители (Options -> 3\*X range или 10\*X range).

Представляет интерес возможность просмотра регрессии формы с добавлением и без добавления аффинных и неаффинных деформаций. Для этого в блоке меню Options окна визуализации следует выбрать (включить или отключить) необходимую комбинацию — Show uniform и Show non-affine (по умолчанию обе опции активированы). На любой стадии можно сохранить полученное изображение, выбрав в меню окна визуализации

опцию Edit, а затем соответствующий формат копирования графического файла (растровый — BMP или векторный — WMF), которые можно загрузить в соответствующие программы обработки изображений.

Все полученные результаты отображаются в итоговом отчёте в текстовой форме. Для их просмотра необходимо в любом рабочем окне программы открыть опцию File -> View report. В открывшемся окне можно через меню File -> Save сохранить результаты в виде текстового файла с расширением имени txt, также копировать текстовое содержимое этого файла в опции Edit -> Select all, а затем Copy. Текст с результатами можно затем загрузить в любой программе, допускающей обработку текста и обмен текстовыми файлами через Clipboard: MS Word, MS Excel или MS WordPad.

Отчёт View report о результатах вычислений содержит следующую информацию:

```
tpsRegr program, (C) 2011, F. James Rohlf
Version: 1.38
Date & time: 15.01.2014 1:38:03
-----
Data file: D:\Work\Ondatra\Nch1TPS\Tot4adNewLndm16.tps
There are 165 specimens

Independent variable file: D:\Work\Ondatra\Nch1TPS\CS_2.nts
Reading specimen labels...
There are 165 specimens and 2 variables.
```

Референсная (средняя) конфигурация получена за две итерации, а её координаты (Consensus configuration) приведены ниже:

```
GPA iterations:
iter change
  1 0.00174798
  2 0.00000000
Reference aligned with its PCA axes.
```

```
Consensus configuration:
 1 -0.40342  0.10522
 2 -0.27154  0.02054
 3 -0.22681  0.05019
 4  0.01477 -0.04757
 5 -0.06283  0.03591
 6  0.16117  0.17331
 7  0.08910  0.04447
```

8	0.22041	0.11215
9	0.26132	0.10432
10	0.27138	0.05683
11	0.16739	-0.09244
12	0.24066	-0.09605
13	0.12847	-0.17096
14	0.02856	-0.15500
15	-0.21247	-0.15074
16	-0.40616	0.00979

Далее приведены собственные значения для 13 главных деформаций (principal warps). Формат значений с учётом мантиссы должен читаться так:  $2.1158\text{E}+002 = 211.58$ ;  $1.3788\text{E}+001 = 13.788$ ;  $2.1892\text{E}+000 = 2.1892$ .

Eigenvalues for each principal warp:

i	Lambda
1	2.1158E+002
2	1.1978E+002
3	9.6869E+001
4	8.0793E+001
5	6.0920E+001
6	4.4222E+001
7	3.1780E+001
8	2.5683E+001
9	1.6876E+001
10	1.3788E+001
11	7.6458E+000
12	4.5431E+000
13	2.1892E+000

Затем указывается, что применена Букштейнова линейризация при Прокрустовой оценке аффинной (uniform) компоненты, используя конфигурации особей, полученные в процессе подгонки (fitting) к референсной конфигурации методом наименьших квадратов:

Bookstein (1996) linearized Procrustes estimate of uniform component using specimens fitted by least-squares to reference. Reference must have been rotated to its principal axes.

Ниже приведены результаты множественной регрессии координат частных деформаций ( $W$  — означает по Ф. Дж. Рольфу матрицу весов  $PW$  или, собственно, значения их координат) на две независимые переменные:

X1 — размер центроида, выраженный в пикселах, и X2 — переменная, маркирующая принадлежность особей к двум разным выборкам, которая здесь задана как вектор 1,1,1, ... 0, 0, 0, ..., -1, -1, -1, ..., а также средние (Mean) и предельные (Min, Max) значения переменных, коэффициент корреляции Пирсона между переменными, коэффициенты регрессии переменных формы — частных деформаций на независимые переменные:

Multivariate regression of W on indep. variables

Independent variables:

Var.	Min	Max	Mean
X1	1164.4703	1555.2200	1347.9315
X2	-1.0000	1.0000	0.2182

Correlations among the indep. vars.

	X1	X2
X1	1.00000	
X2	-0.37482	1.00000

Regression of shape variables onto indep. vars.

	1X	1Y	2X	2Y
3X	3Y			
-----				
Const	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000
0.00000000	0.00000000			
X1	-0.00001549	-0.00000509	-0.00001427	0.00002591
0.00002228	-0.00000915			
X2	0.00087716	0.00094968	-0.00098986	-0.00034221
-0.00116473	0.00088845			
	4X	4Y	5X	5Y
6X	6Y			
-----				
Const	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000
0.00000000	0.00000000			
X1	-0.00003336	0.00002767	0.00004078	-0.00002626
0.00004745	-0.00002688			
X2	0.00022329	0.00121864	0.00027019	0.00161878
0.00194673	-0.00316342			
	7X	7Y	8X	8Y
9X	9Y			
-----				
Const	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000
0.00000000	0.00000000			

```

      X1 | 0.00000367  0.00004552 -0.00002460  0.00004787
-0.00008889  0.00003458
      X2 | -0.00319562  0.00264148  0.00101165  0.00184341
-0.00394142  0.00325015

```

```

      | 10X      10Y      11X      11Y
12X  | 12X
-----|-----

```

```

Const | 0.00000000  0.00000000  0.00000000  0.00000000
0.00000000  0.00000000
      X1 | 0.00002081 -0.00003626 -0.00005488  0.00004754
0.00006841  0.00006616
      X2 | 0.00280803  0.00085185 -0.00371454 -0.00239375
-0.00396346 -0.00087052

```

```

      | 13X      13Y      UniX      UniY
Const | 0.00000000  0.00000000  0.00000000  0.00000000
      X1 | -0.00008326  0.00009594  0.00017817 -0.00001871
      X2 | 0.00317030 -0.00012791 -0.00576562  0.00139456

```

Далее приведены результаты оценки регрессии для каждой частной деформации (Comp). Последняя пара содержит оценки для однородных компонент: UnifX и UnifY. В каждой строке последовательно даны значения для  $R^2$  — коэффициента детерминации, Fs — критерия Гудолла для переменных, df1 и df2 — числа степеней свободы для Fs-критерия и Prob — вероятности подтверждения нулевой гипотезы (значимость оценок для каждой переменной):

Results of regressions for each shape variable:

Comp.	R2	Fs	df1	df2	Prob
1X	0.2631	28.9239	2	162	0.00000
1Y	0.1349	12.6258	2	162	0.00001
2X	0.0308	2.5698	2	162	0.07967
2Y	0.2459	26.4062	2	162	0.00000
3X	0.1430	13.5203	2	162	0.00000
3Y	0.1006	9.0616	2	162	0.00019
4X	0.1123	10.2441	2	162	0.00006
4Y	0.1878	18.7308	2	162	0.00000
...	.....	.....	..	...	.....
12X	0.4754	73.3921	2	162	0.00000
12Y	0.4612	69.3361	2	162	0.00000
13X	0.5395	94.9140	2	162	0.00000

13Y	0.4535	67.2126	2	162	0.00000
UniX	0.6701	164.5599	2	162	0.00000
UniY	0.0631	5.4563	2	162	0.00509

Для частной деформации 2X с вероятностью ~ 8% (0.07967) нулевая гипотеза об отсутствии регрессионной зависимости подтверждена, т.е. для данной переменной регрессия с размером центроида и принадлежностью выборки статистически недостоверна. В остальных случаях регрессионная зависимость достоверна.

Далее приведены оценки для четырёх наиболее известных многомерных тестов:  $\Lambda$ -критерий Уилкса (доля внутригрупповой изменчивости к общей изменчивости), следовый тест Пиллаи (отношение межгрупповой изменчивости к внутригрупповой), следовый тест Хотеллинга-Лаулея (сумма собственных чисел) и тест максимального корня Роя (наибольшее собственное число), а также их обобщённый эквивалент в виде  $F_s$ -критерия Гудолла, включая числа степеней свободы и вероятность согласования с нулевой гипотезой об отсутствии регрессии (приведённые в примере вероятности крайне низки, приближаясь к нулю, поэтому многомерная регрессия статистически значима).

Multivariate tests of significance:

Statistic	Value	$F_s$	df1	df2	Prob
Wilks' Lambda:	0.03976342	19.357	56	270.0	3.178E-067
Pillai's trace:	1.52973337	15.800	56	272.0	1.214E-058
Hotelling-Lawley trace:	9.82661575	23.514	56	268.0	9.209E-076
Roy's maximum root:	8.04675082	39.084	28	136.0	7.619E-052

Для каждой переменной оцениваются U-тест соответствия k-корня нулю, соответствующее значение  $F_s$ -критерия Гудолла, числа степеней свободы и вероятность согласования с нулевой гипотезой.

Test that kth root and those that follow are zero:

k	U	$F_s$	df1	df2	Prob
1	0.03976342	19.357	56	270.0	3.178E-067
2	0.35972971	8.965	27	136.0	4.100E-019

Для каждой особи вычисляются корреспондирующие значения квадрата Прокрустовой хордовой дистанции от референсной конфигурации ( $\text{Ref } d^2$ ), которые измеряют общую изменчивость для выборки, и квадратов дистанций между остаточными конфигурациями, подвергнутых Прокрустовой суперимпозиции особей, и их конфигурациями, предсказанными на основе регрессионного анализа ( $\text{Resid } d^2$ ). Эти статистики позволяют оценить регрессионное соответствие (goodness of fit).

Тест Гудолла (Goodall, 1991) основан на использовании Прокрустовых дистанций и предполагает, что остатки (residuals) имеют такое же рассеивание и ту же корреляцию, что и каждая ландмарка. Из суммы значений для колонки  $\text{Ref } d^2$  (общей изменчивости) вычитается сумма значений для колонки  $\text{Resid } d^2$  (остаточная изменчивость). Остаток ( $\text{Ref } d^2 - \text{Resid } d^2$ ) составляет долю предсказанной с помощью регрессии изменчивости конфигураций —  $\text{Sum } d^2 \text{ of predicted fit}$ . При вычитании из 1 отношения  $\text{Sum } d^2 / \text{Ref } d^2$  получается доля необъясненной изменчивости (при умножении этой величины на 100, доля выражается %). Ф. Дж. Рольф подчеркивал, что, сравнивая сопряженную изменчивость значений между этими колонками, можно также измерить, насколько хорошо регрессия предсказывает реальные конфигурации ландмарок по сравнению с тем, насколько хорошо проводится подгонка этих же конфигураций относительно их частных деформаций:

Squared Procrustes chord residual distance for each specimen:

Spec	Ref $d^2$	Resid $d^2$
1	0.001745	0.002058
2	0.004017	0.002572
3	0.005754	0.002259
4	0.005891	0.002782
5	0.004772	0.003210
6	0.003679	0.000859
7	0.005789	0.002550
8	0.005823	0.002429
9	0.007411	0.003020
10	0.003032	0.001794
...	.....	.....
155	0.002070	0.001624
156	0.003253	0.002110
157	0.004527	0.001643
158	0.001639	0.002095
159	0.001567	0.001216
160	0.002301	0.001083
161	0.001300	0.000466

162	0.002671	0.002591
163	0.001482	0.001101
164	0.000922	0.001081
165	0.002974	0.001933
-----		
Sum	0.392616	0.250904
Sum d2 of predicted fit	= 0.141884	
Percent unexplained	= 63.9058%	

Ниже приведены величина обобщённого F-теста Гудолла, числа степеней свободы и вероятность согласования с нулевой гипотезой (значимость):

Generalized Goodall F-test:  
 $F = 45.8049$ ,  $df = 56$ ,  $4536: P = 0.0000$

В конце отчёта о результатах вычислений приводятся итоги перестановочных тестов при выполнении 1000 случайных перестановок (permutations) для значений, полученных при расчётах многомерных  $\Lambda$ -критерия Уилкса и обобщённого F-теста Гудолла. При перестановочном тесте оцениваются число и процент оценок значений  $\Lambda$ -критерия Уилкса и обобщённого F-теста Гудолла по отношению к заданной вероятности  $p = 0.001$  или в процентах — 0.10%. Итоговое значение, полученное в данном примере, для  $\Lambda$ -критерия Уилкса составило 0.03976342 (см. выше), но при выполненных перестановках сохраняется условие перестановочного теста о том, что вычисленные значения всегда будут меньше или равны ( $\leq$ ) значению исходно вычисленного  $\Lambda$ -критерия (при этом исходное значение участвует в общей выборке при сравнении реплик, а число Count = 1 в данном случае означает его присутствие в выборке повторных реплик). Аналогично оценивается и устойчивость обобщённого F-теста Гудолла. Поскольку в обоих случаях условие  $\leq$  для 999 повторных реплик сохраняется, а исходно вычисленное значение соответствующего теста является единственным исключением (Count=1), то с высокой вероятностью можно судить о статистической значимости регрессии:

```

--- Permutation tests with 1000 random permutations ---
(           Counts include the observed value.)
Number of specimens: 165
Permute over all observations
Number and percent of Lambda values <= observed (0.03976342)
  Count  Percent
    1    0.10%
```

Number and percent of Goodall F values  $\geq$  observed (45.80489851)

Count	Percent
1	0.10%

(Note: counts include observed)

(Note: small percentages imply «significance»)

Более сложные способы использования программы для сравнения групп мы здесь рассматривать не будем. Возможность визуализировать взаимосвязи между набором переменных и изменчивостью формы имеется также в программе tpsPLS (Rohlf, 2016b).

**Программа tpsPLS** предназначена для оценки взаимоотношений между изменчивостью формы (как для аффинных, так и неаффинных её компонент) и изменчивостью другой формы или набором переменных (в этом случае они должны быть сняты для тех же самых объектов). Новые версии программы появляются сравнительно часто и размещаются на сайте Ф. Дж. Рольфа. Фактически, она направлена на сравнение ковариационных матриц. Число объектов при сравнениях должно совпадать. Коротко постараемся описать возможности программы. Специфика PLS-метода от регрессии заключается в том, что переменные и форма в этом случае изучаются в равной мере, а не для объяснения изменчивости формы как функции от изменчивости независимых переменных. Возникает возможность оценки сопряженности изменчивости формы, т.е. ковариации, например для передних и задних крыльев чешуекрылых или стрекоз, а также формы осевого черепа и нижней челюсти и т.д., которые имеют две разные конфигурации точек, но описываемые для одних и тех же особей.

Подобно многим другим TPS-программам, в программе tpsPLS (рис. 3.9) вычисляется консенсус — средняя Прокрустова конфигурация на основе метода наименьших квадратов (Rohlf, Slice, 1990). Расчёт проводится для одной или двух форм в зависимости от варианта сравнения. Эта конфигурация является референсной для форм и расположена в точке касания пространства форм и тангенциального пространства при использовании тонкопластинных сплайнов, что позволяет визуализировать ковариацию между ландмарками.

Частные деформации вычисляются отдельно для двух форм, если они сравниваются, путем проецирования каждого объекта (особи) на главные деформации, вычисленные на основе матрицы энергии искривления. По выбору пользователя можно оценивать однородные компоненты (uniform component), которые можно добавлять как две дополнительные переменные, которые имеют нулевую энергию искривления и о них, как замечает Рольф, можно думать как о нулевых частных деформациях. Программа позволяет вычислять ковариацию между самими переменными, между

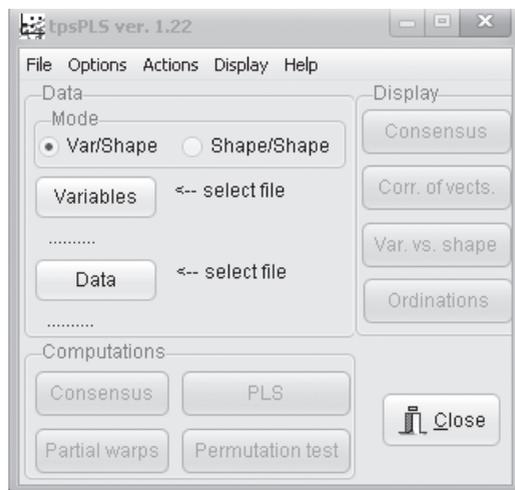


Рис. 3.9. Базовая панель программы tpsPLS.

переменными и частными деформациями, если целью является оценка ковариации между переменными и формой, или ковариацию внутри и между частными деформациями, если основная задача — оценить ковариацию между двумя формами. Переменные при этом всегда стандартизуются. Частные деформации тоже могут быть стандартизованы, но Рольф полагает, что этого делать, вероятно, не следует.

Далее выполняется частный анализ ковариации между переменными и частными деформациями методом наименьших квадратов (или то же, но для двух наборов частных деформаций двух сравниваемых форм). В результате формируются набор векторов (линейных комбинаций) для переменных и набор векторов для частных деформаций, которые являются парными: первый вектор переменных парный с первым вектором частных деформаций, второй со вторым и т.д. Одни парные векторы коррелируют, другие — нет. В отличие от канонического корреляционного анализа эти векторы не являются ортогональными внутри каждого набора. Программа tpsPLS также включает возможность выполнения перестановочных тестов как для корреляций, так и для единичных значений. Затем особи проецируются на полученные векторы для создания координат как для переменных, так и для частных деформаций.

Далее рассчитываются коэффициенты корреляций между векторами. Эллипсоиды рассеивания, соответствующие парным векторам, могут

быть визуализированы на плоскости. Рольф считает, что, даже если коэффициенты корреляции высоки, нужно проверять процент ковариации, объяснённой этой парой векторов. При высокой корреляции значений для конкретной пары её роль может быть невелика из-за того, что она объясняет слишком малую ковариацию.

Взаимосвязи между переменными и векторами в программе могут быть визуализированы в виде эллипсоидов рассеивания. Рольф замечает, что графики для частных деформаций менее интересны, но были включены автором программы для полноты представленности информации. При анализе ковариации между двумя формами эти графики недоступны.

На ординационных графиках отображается расположение каждой особи относительно значений координат переменной или векторов частных деформаций. Если парные векторы высоко скоррелированы, то их ординации очень похожи. В соответствующем оконном меню имеется опция вызова биплота (biplot), т.е. графика, на котором одновременно показана ординация объектов и графически указаны векторы, соответствующие исходным переменным или частным деформациям. Программа позволяет визуализировать также линейные комбинации переменных или формы, соответствующие тому или иному положению на графике при произвольной ординации. Линейные комбинации переменных показаны на так называемом профильном графике. При этом оцениваемые формы также можно отобразить с помощью трансформационной решётки с применением деформаций тонкопластинных сплайнов относительно референсной конфигурации ландшафтов.

Опции программы в основном соответствуют тем, которые были описаны выше для других программных модулей TPS. Начиная работу, следует выбрать одну из двух мод (Mode): Var/Shape — набор независимых переменных и форма; Shape/Shape — форма и форма. Для осуществления выбора нужно щёлкнуть мышью по кружку (его принято называть radio) слева от нужной моды вычислений. Независимой переменной может быть размер центроида или его логарифм, а также любой набор переменных, соответствующих данной выборке особей. При сравнении двух форм нужно проследить, чтобы объём сравниваемых выборок был строго одинаков (если выборки не будут одинаковы, расчёты не могут быть продолжены). В блоке Computations необходимо последовательно нажать кнопки базовой панели программы, которые становятся доступными при проявлении на них чёткой надписи. В блоке Display кнопки можно выбирать произвольно. Кнопка Consensus при моде 1 — переменная и форма — позволит увидеть одну консенсусную конфигурацию, рассеивание и векторы ординат особей

вокруг ландмарков консенсусной конфигурации, а при моде 2 — сравнение двух форм — визуализирует два консенсуса в виде двух окон. В последнем случае окно верхнего консенсуса (форма 1) часто исходно меньше, чем нижнего (форма 2). Слегка потянув за правый нижний край базового окна визуализации, вы получите нормальные изображения консенсусов для обоих окон. В случае, когда выбрана мода 2, в блоке Display не будет доступна кнопка визуализации Var vs. shape, предназначенная для моды 1. Выбор кнопки Corr. of vects. при моде 1 и наличии одной переменной покажет только один график регрессионной зависимости и выдаст соответствующий коэффициент корреляции переменной с вектором формы. При моде 2 появится возможность визуализации всех парных графиков для векторов (dimensions) частных деформаций двух сравниваемых форм, а также коэффициентов корреляций между ними. При фиксированном масштабе графика, т.е. при выборе соответствующей опции оконного меню Options -> Fixed scale, последовательно двигая пары сравниваемых векторов форм (стрелка в виде черного треугольника, направленного вершиной вверх), можно заметить, как постепенно уменьшается величина ковариации, а эллипсоид рассеивания ординат сжимается.

При моде 2 кнопка Ordinations позволит увидеть эллипсоиды рассеивания для обеих форм при соответствующих измерениях (Dimensions) парных векторов формы. Это окно визуализации называется Partial least-squares ordination plot и позволяет параллельно ординировать и проецировать местоположение ординаты одного графика на другом графике. Для этого нужно щёлкнуть мышью по иконке, изображающей «фотоаппарат» (или «видеокамеру»). Откроются два дополнительных окна визуализации с изображениями исходной референсной конфигурации ландмарков. Параллельно в центрах обоих графиков в области пересечения осей координат появятся небольшие пустые кружки. Двигая такой кружок на одном графике, вы увидите, как он проецируется на другом графике и как при этом изменяется конфигурация обеих форм на дополнительной паре окон визуализации. При выборе не «фотоаппарата», а «видеокамеры», вы получите возможность, щёлкая мышью на нижнем графике, выбрать серию последовательных положений для ординат. В результате появится цепочка стрелок, указывающих «шаги» деформации, которые можно будет динамически проследить на дополнительной паре окон. Для запуска «кино», представляющего собой динамическую последовательность сопряженных слайдов для всех четырёх окон, нужно нажать на верхнем дополнительном окне с референсной конфигурацией ландмарков черный треугольник, наведя мышью на который можно будет через секунду прочесть его название «Show sequence»

of plots». Можно «заиклеть» демонстрацию слайдов, если нажать на соседнюю кнопку-опцию, расположенную правее, на которой изображены несколько стрелок. Если навести мышь на эту кнопку, то через секунду можно будет прочитать её название — «Loop sequence continuously». Для остановки цикла показов слайдов нужно нажать на кнопку «Stop» с появившимся красным фоном кнопки.

Выбрав опцию биplot (biplot), можно одновременно изобразить на верхнем графике и ординаты объектов, и векторы переменных формы. Заранее загрузив link-файл, можно обеспечить более удобную графическую интерпретацию изменений конфигурации объекта в соответствующих окнах визуализации. На всех этапах работы и визуализации можно сохранить те или иные графики и изображения, воспользовавшись графическими опциями. Результаты вычислений можно, как и в других программах TPS, просмотреть или записать в виде текстового файла из окна View reports. Английские надписи и обозначения в тексте итоговых результатов хорошо понятны и не требуют особых пояснений.

**Программа tpsSplin** предназначена для визуализации и попарного сравнения форм методом тонкопластинных сплайнов (с использованием трансформационных решёток или векторов деформаций), вычисления индивидуальных значений энергии искривления (Bending Energy), измеряющей силу деформации, Прокрустовых дистанций и дистанций, представленных в виде углов (в радианах).

Все эти величины можно сохранить в виде текстовых файлов и использовать в других программах. В окне визуализации View report, кроме этих величин, можно проследить итоговый отчёт о проведённых вычислениях по оценке относительного вклада каждой особи в проявление соответствующих главных деформаций. Эта информация может быть интересна, но обычно анализируется и используется крайне редко. При анализе полученных данных об энергии искривления для каждой особи следует обратить внимание на то, что информация начинается с указания ID-номера особи: Partial warps for specimen 1: 0. Эта поясняющая запись в программе иногда приводит пользователей в недоумение, однако речь просто идёт о порядковом номере объекта, учитываемом при расчётах, а затем о его идентификационном номере в tps-файле. В этой связи напомним, что первый объект в tps-файле обычно имеет нулевой идентификационный номер (ID=0). Далее для каждой особи приводятся значения энергии искривления (E), её доля (E%) для данной частной деформации (i) от общей энергии искривления, «накопленной» особью, а также амплитуда значений энергии искривления (Magnitude). Амплитуда энергии искривления представляет собой сумму

квадратов коэффициентов матрицы частных деформаций ( $W$ ), кратных числу особей в матрице данных (в случае сравнения конфигураций особи и консенсуса таких значений 2). По словам Рольфа, амплитуда измеряет силу частной деформации без её взвешивания относительно собственных чисел.

Перед началом работы с программой tpsSpln (рис. 3.10) выберите один из двух возможных сценариев: либо предполагается заранее ввести референсную конфигурацию (обычно это консенсус, но может быть, например, самая молодая особь), либо референсная конфигурация ландмарков должна быть вычислена из введённых данных, содержащихся в tps-файле.

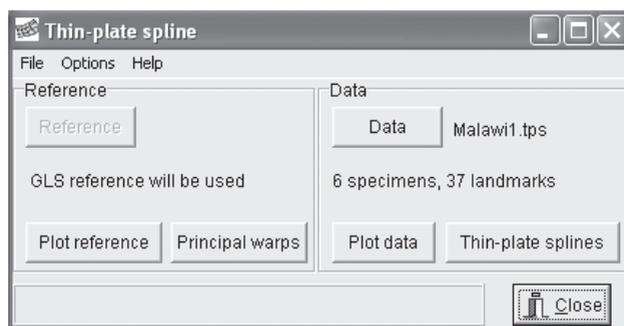


Рис. 3.10. Рабочая панель программы tpsSpln.

В первом случае в меню Options на базовой панели программы следует отключить Compute reference (убрать щелчком мыши галочку, размещённую слева от надписи). Во втором случае этого делать не нужно, т.е. галочка должна быть поставлена. Стандартным является второй случай. Выбрав указанную опцию, необходимо щёлкнуть по кнопке Data на правой половине панели и ввести из открывшегося окна необходимый tps-файл. После этого на левой половине панели станут доступными кнопки «Plot reference» (для просмотра референсной конфигурации) и «Principal warps» (для визуализации и сохранения собственных чисел матрицы энергии искривления и матрицы главных деформаций). На правой половине доступными станут две кнопки: «Plot data» и «Thin-plate spline». Кнопка «Plot data» предназначена для просмотра индивидуальных конфигураций ландмарков особей, изображения которых последовательно сменяются при нажатии стрелки в виде черного треугольника внизу окна визуализации, расположенного справа от номера объекта. Вторая кнопка «Thin-plate spline» нужна для просмотра частных деформаций объектов в виде слайнов трансформационной решётки, частных значений энергии искривления —  $E$  и Прокрусто-

вых дистанций —  $dl$  между консенсусом и конфигурацией особи или между конфигурациями двух определённых особей. Последняя возможность выбора произвольных пар сравнения конфигураций объектов особенно удобна, когда в качестве объектов используются консенсусные конфигурации разных выборок (например, географически удалённых) и появляется возможность попарно оценить между ними дистанции и меру энергии искривления относительно друг друга. Первая конфигурация в паре сравнения будет являться референсной (reference), а вторая — целевой (target).

Внизу окна визуализации имеется кнопка «Partial warps», позволяющая открыть отдельное дополнительное окно визуализации для просмотра частных деформаций, сортированных по собственным числам. При этом первой открывается аффинная «деформация» с нулевой энергией искривления. Щёлкнув мышью по верхнему черному треугольнику, можно открыть второе окно для неаффинных частных деформаций. В этом случае приводится суммарная энергия искривления (=деформации). Последующие изображения под номерами 1, 2 ...  $n$  будут представлять частные деформации, упорядоченные по величине собственных чисел ( $\lambda$ ) и энергии искривления. Для каждой частной деформации указывается и амплитуда энергии искривления (Magnitude).

Если заранее вычислить референсную конфигурацию и сохранить её в виде отдельного tps-файла, то можно реализовать первый сценарий. Как уже говорилось, для этого нужно отключить вычисление референсной конфигурации из вводимых данных. При этом следует включить опцию расчёта матриц дистанций Options -> Compute distance mxs. Затем необходимо ввести файл с референсной конфигурацией: можно щёлкнуть по ставшей доступной кнопке «Reference» и воспользоваться открывшимся окном; то же самое можно сделать через меню базовой панели программы, в котором требуется выбрать File -> Load reference. Затем надо загрузить с помощью кнопки Data tps-файл и нажать на кнопку «Thin-plate spline». После этого в меню открывшегося окна визуализации можно выбрать опцию File -> Save -> Procrustes distance или Geodesic distance и сохранить нужную треугольную матрицу попарных дистанций. Меру индивидуальных значений этих дистанций и величины энергии искривления можно получить при копировании фрагмента текстового файла итогового отчёта из окна View report.

Программа tpsSplin позволяет при сравнениях использовать слайдеры и link-файлы для лучшей визуализации изменений формы объектов. Все стандартные опции, типичные для других программ, присутствуют и в этом случае.

Остальные программы пакета TPS имеют меньшее практическое значение и используются редко. Программа **tpsPower** позволяет смоделировать

применение нескольких статистических тестов на произвольной случайной выборке с вводимыми пользователем параметрами. Она дает возможность оценить пороговые значения выборок для получения надежных оценок применяемых статистических критериев. Программа **tpsTree** нацелена на визуализацию филогенетических изменений формы на кладограмме, которая вводится в формате Nexus. С помощью программы возможно получение индивидуальных и обобщённых изображений конфигураций ландшафтов для сравниваемых таксонов в виде изменений трансформационной решётки. Заметим, что полнее эти возможности также реализованы в более поздней программе MorphoJ (Klingenberg, 2011), о которой мы расскажем ниже. Наконец, программа **tpsTri** представляет собой небольшой интерактивный обучающий графический тренажер для более полного понимания предмета геометрической морфометрии и природы Кендаллова и тангенциального пространств.

Коротко рассмотрим программу tpsTree, предназначенную для изучения разнообразия формы объектов, принадлежащих разным видам, с учётом их расположения на иерархическом дереве, отражающем филогенетические отношения. Иерархические деревья задаются самим пользователем. Программа позволяет вычислять координаты частных деформаций и однородные (uniform) компоненты изменчивости формы для отдельных особей, а также использовать эти данные (матрицу  $W$ ) для получения кластеров средних значений или иерархических таксономических единиц (HTUs). Производится подгонка (fitting) данных, характеризующих форму объектов, к их состояниям в узлах дерева (nodes), что дает возможность визуализации реконструкций формы в узлах дерева. Автор программы предлагает возможность введения двух форматов деревьев: 1 — ультраметрическое иерархическое вложенное (nested) дерево, которое задается форматом деревьев, принятым в программе NTSYSpс; 2 — аддитивное дерево с учётом длин его ветвей, получаемое в программе PAUP и записываемое в формате языка Nexus. Деревья могут быть либо укоренёнными, либо неукоренёнными, но в данной программе они всегда будут выглядеть как укоренённые. Форма каждой иерархической таксономической единицы (HTU) оценивается на основе процедуры квадратично-изменяемой парсимонии, разработанной Мэддисоном (Maddison, 1991) и усовершенствованной Макардлом и Родриго (McArdle, Rodrigo, 1994). Эта процедура для тех же целей используется также в программах Mesquit Мэддисона и MorphoJ Клингберга. Наибольший интерес в программе tpsTree представляет итоговая визуализация изменений формы HTU и их узловых (node) состояний. Однако следует заметить, что для этих целей более удобна программа MorphoJ К. Клингберга (Klingenberg, 2011).

### 3.2. ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС IMP (INTEGRATED MORPHOMETRICS PACKAGE)

Дэвидом Шитсом (David Sheets) при участии в дизайне программы Мириам Зелдич и Дэвида Свидерски разработан свободно распространяемый пакет программ IMP — интегрированный морфометрический пакет. Данный пакет представляет собой набор отдельных программ-модулей для решения ряда конкретных задач геометрической морфометрии. IMP имеет версии, предназначенные для работы как в операционной системе Windows, так и в системе Mac OS. В настоящее время доступно несколько версий пакета — IMP6, IMP7 и IMP8, получить доступ к которым можно по адресу <http://www3.canisius.edu/~sheets/>. Пакет прикладных программ IMP6 работает только в операционной системе Windows XP, пакет программ IMP7 предназначен для работы в операционных системах Mac OS версии 10.6.0 и выше, а также в Windows XP и более поздних версиях, однако Д. Шитс напоминает, что корпорация Microsoft перестала поддерживать Windows XP, а значит, и обеспечивать совместимость XP-приложений с более новыми версиями Windows. Соответственно корректная работа IMP7 на новейших операционных системах Windows уже не гарантирована. Наконец, последняя на данный момент версия — IMP8 — предназначена для работы с Windows 7 и 8, а также с Mac OSX 10.7.

Каждая версия IMP написана на языке программирования MATLAB, поэтому для работы любого программного модуля необходим компилятор MATLAB Compiler Runtime (MCR). Необходимо помнить, что конкретная версия IMP будет работать *только* с той версией компилятора, с помощью которой она была написана, и не будет работать с любым другим компилятором, даже самых последних версий! Скачать программу установки компилятора (MCRInstaller) можно по вышеуказанной ссылке. Чтобы скачать версию компилятора для IMP7, необходимо связаться с самим Д. Шитсом и получить от него логин и пароль, которые потребует сайт <http://www3.canisius.edu> при переходе на ссылку MCRInstaller download. Для получения компилятора предыдущих версий IMP логин и пароль не требуются. Программа MCRInstaller создаст серию папок с компонентами компилятора, для правильной работы все рабочие программы-модули IMP должны храниться в одной из них (v78/bin/win32 в случае версии IMP7). При установке IMP8 необходимо, прежде всего, скачать модуль CoordGen8, который впоследствии самостоятельно получит все необходимые для своей работы компоненты из Интернета. CoordGen8 создаст папку IMP8/, куда должны быть загружены остальные модули пакета.

Набор рабочих модулей отличается от версии к версии, поэтому мы опишем работу лишь в самых часто используемых и хорошо нам знакомых

программах. В настоящий момент в версию IMP7 входят модули для анализа 2D данных: CoordGen7, CVAGen7b, DisparityBox7, LMEdit7, MakeFan7, MatchMaker7, PCAGen7a, PCAGen7SP, PLSMaker7, PLSAngle7, Regression7a, Standard7, TwoGroup7, VecCompare7, VecLand7, Vis\_Proto7, а также анализа 3D данных: DisparityBox3D, MatchMaker3D7, PLS3D7, Simple3D, ThreeDCVA, ThreeDPCA, ThreeDRegress7, ThreeDPLS7, WireMan7. Многие из этих модулей доступны и в версии IMP8, но на данный момент список ещё неполный. Вероятно, автор продолжит работу над восьмой версией пакета, и недостающие программы также появятся в открытом доступе. В данном разделе за основу описания работы программ мы возьмем версию IMP7 как наиболее полно представленную.

В программах пакета IMP используется особый формат данных, разработанный Дэвидом Шитсом (H. David Sheets). Данные вводятся при помощи текстового файла в кодировке ASCII, причём файл должен быть организован особым образом. В каждой отдельной строке записываются X и Y координаты всех ландмарок одного объекта по порядку, начиная с X координаты первой ландмарки, завершает строку значение величины центраида (Centroid Size). Количество строк в файле равно количеству объектов в выборке. В общем виде запись одного объекта в подобном файле выглядит так:

$$X_1 Y_1 X_2 Y_2 \dots X_n Y_n C_s,$$

где  $n$  — количество ландмарок.

Перевести данные из более привычного tps-формата в формат IMP можно в специальной программе CoordGen (рис. 3.11). Программа способна преобразовывать tps-файлы с информацией о масштабирующем коэффициенте пересчёта пикселей в другие единицы измерения (строка SCALE), которая может быть получена в программе tpsDig. Для этого в окне программы CoordGen нужно выбрать на верхней панели пункт меню File Options -> Load TPS File with Scale Factor.

Сохранить информацию об истинных размерах объекта можно также при использовании двух дополнительных ландмарок, которые на каждом из изображений в выборке расставляются на строго одинаковом расстоянии друг от друга, например на деления линейки. Если tps-файл содержит две такие дополнительные ландмарки, то при преобразовании файла необходимо указать их номера, иначе они будут приняты в расчёт при построении консенсусной формы и дальнейших вычислениях. Чтобы загрузить tps-файл с масштабирующими ландмарками, нужно выбрать пункт Load TPS File (with ruler) в оранжевой области окна программы. Ниже в голубом окне необходимо указать номера дополнительных ландмарок и длину отрезка между ними. Если для целей исследования размеры объектов не

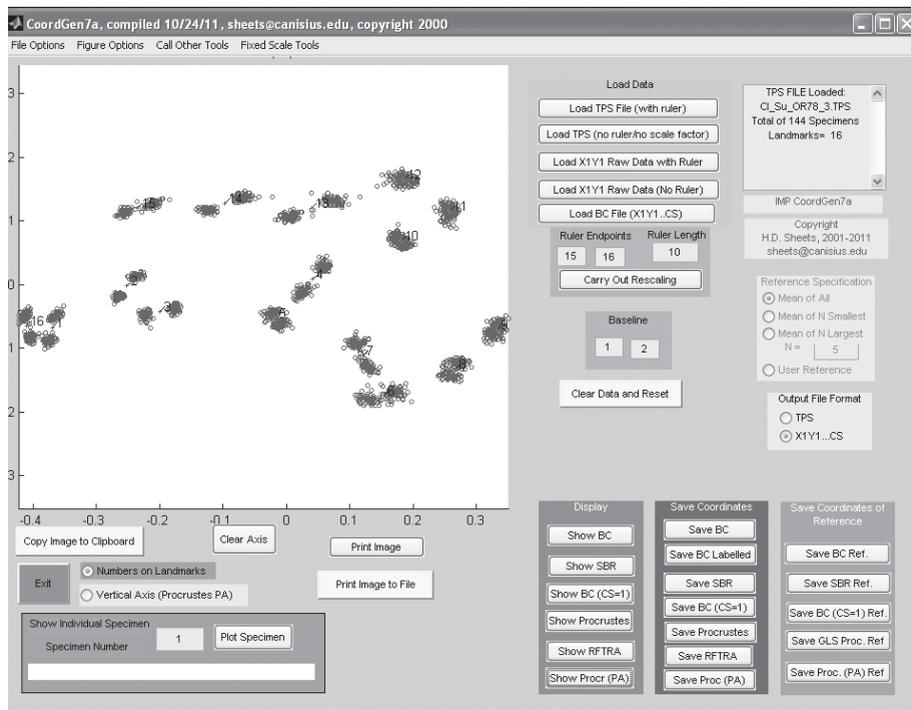


Рис. 3.11. Рабочая панель программы CoordGen7 из пакета прикладных программ IMP.

важны, можно загрузить tps-файл без масштабирующего коэффициента и дополнительных ландмарков, выбрав пункт Load TPS File (no ruler/ no scale factor) в оранжевой области панели программы. В правом нижнем углу панели расположены три области, предназначенные для визуализации и сохранения результатов суперимпозиции объектов выборки, которая может быть проведена несколькими различными способами. Как правило, наиболее часто используется Прокрустов метод суперимпозиции (GPA), а его результаты можно увидеть и сохранить, выбрав пункты меню Show Procrustes и Save Procrustes соответственно. Полученный в результате файл формата IMP может быть использован при расчётах в других модулях пакета.

Начиная с версии пакета IMP7, в программу CoordGen встроены несколько дополнительных модулей, которые в предыдущих версиях запускались отдельно. На наш взгляд, наиболее полезны из них модули, позволяющие производить традиционные измерения длин и углов (модуль

TmorphGen), а также суперимпозицию на основе ландмарок и полуландмарок (модуль SemiLand). Чтобы начать работу с первым модулем, нужно в окне программы на верхней панели выбрать пункт меню Call Other Tools, затем в выпадающем меню выбрать первый пункт Traditional Morphometrics Generator. В появившемся окне программы справа будут предложены три различных варианта загрузки данных для выполнения расчётов. Программа работает как с форматом файлов IMP, так и с обычными tps-файлами. Чтобы загрузить данные из файла в формате IMP, нужно выбрать пункт Load Data Set (XY...CS format). Есть возможность производить расчёты по tps-файлам с масштабирующим коэффициентом (пункт Load TPS data with scale) или без него (пункт Load TPS data no scale). В последнем случае все полученные результаты будут представлены в пикселях.

Важным моментом при работе с модулем TmorphGen является создание протокола измерений, который представляет собой текстовый файл в кодировке ASCII — в нём должно быть 3 столбца, разделённых пробелами. В первом столбце указывается порядковый номер измерения, во втором и третьем — номера ландмарок, расстояние между которыми должно быть в дальнейшем измерено. Никаких дополнительных пояснений в первой строке приводить не нужно. Для измерения углов между ландмарками также необходим текстовый протокол, отличающийся от предыдущего наличием одного дополнительного столбца. В первом столбце по-прежнему указывается номер измерения, в трёх последующих перечисляются ландмарки, образующие измеряемый угол, причём вершина данного угла указана в третьем столбце файла. Ниже приведены примеры протокола для измерения длин (а) и углов (б) в модуле TmorphGen:

а)	1 1 10	б)	1 1 4 7
	2 3 15		2 3 8 10
	3 7 8		3 5 1 15
	4 4 9		4 3 11 5

После загрузки файла с данными и протокола станет активной кнопка Calculate Traditional Length Set, позволяющая вычислить длины отрезков между выбранными ландмарками, которые затем можно сохранить в обычном или логарифмированном виде. Аналогично можно получить результаты измерения углов в радианах или градусах, выбрав кнопки с соответствующими опциями. Результаты программа сохраняет также в виде текстового файла.

Перед началом процедуры суперимпозиции полуландмарок из исходного tps-файла должны быть удалены строки CURVES = и POINTS =, разделяющие ландмарки и полуландмарки. Данную процедуру можно выполнить заранее в программе tpsUtil, выбрав раздел меню «Append tps

Curve to landmarks». Лишние строки из исходного tps-файла можно удалить и другим способом — для этого нужно открыть tps-файл в программе CoordGen, выбрав на верхней панели пункты меню File Options -> Load tps, convert curves, create SLM proto либо File Options -> Load tps, convert curves & ruler, create SLM proto. Второй вариант следует использовать, если в данных присутствуют дополнительные масштабирующие ландмарки. Программа CoordGen автоматически создаст текстовый файл-протокол, в котором будут разделены ландмарки и полуландмарки.

Если строки CURVES= и POINTS= были удалены заранее в программе tpsUtil, то tps-файл следует открывать с помощью пунктов меню в оранжевой области окна программы, как мы описывали выше, а текстовый протокол придётся создавать самостоятельно. В текстовом файле протокола должны присутствовать 4 колонки. В первой из них указывается номер кривой, которой принадлежит конкретная точка. Ландмарки считаются лежащими на кривой с номером 0, далее первой кривой с полуландмарками присваивается номер 1, второй — номер 2 и т.д. Если кривая с полуландмарками замкнута в кольцо, то перед номером такой кривой ставится знак «-», а нумерация начинается с -1, даже если такая кривая по счёту не является первой. Во второй колонке указывается номер точки в соответствующей кривой, для каждой кривой нумерация начинается с 1. В третьей колонке указывается номер точки, присвоенный ей программой tpsDig в процессе расстановки ландмарок и полуландмарок, нумерация точек при этом сквозная. Наконец, в четвёртой колонке указывается тип точки, ландмарке присваивается 0, полуландмарке — 1, вспомогательной точке — 2. Вспомогательные (хэлперные) точки используются при суперимпозиции, но затем удаляются из файла с данными. Текстовый файл-протокол, содержащий 5 ландмарок и 2 кривые с 3 семиландмарками в каждой, выглядит так:

0	1	1	0
0	2	2	0
0	3	3	0
0	4	4	0
0	5	5	0
1	1	6	1
1	2	7	1
1	3	8	2*
2	1	9	1
2	2	10	1
2	3	11	1

(\* — данная точка является вспомогательной и будет удалена после суперимпозиции).

После того, как данные в виде tps-файла и протокол будут открыты, на верхней панели окна программы следует выбрать пункт меню Call Other Tools -> SemiLandmark alignment. Откроется окно программы SemiLand, в котором справа необходимо нажать на зеленую кнопку Load Protocol File, чтобы загрузить заранее созданный текстовый файл-протокол. Сохранить результаты суперимпозиции можно, выбрав на верхней панели окна программы пункт File. Программа позволяет сохранять результаты суперимпозиции с использованием только ландмарок, ландмарок и полуландмарок, а также полного набора точек (ландмарки, полуландмарки и вспомогательные точки). Аналогично можно сохранить в трёх вариантах отдельно конфигурацию консенсуса. Полученный в результате файл в формате пакета IMP можно использовать при дальнейших расчётах.

Как мы уже упоминали выше, в версию пакета программ IMP7 входит большое количество отдельных модулей, каждый из которых выполняет одну или несколько функций. Далее мы опишем работу тех модулей, функции которых наиболее важны при решении биологических задач методами геометрической морфометрии, а также модулей с такими функциями, которые на данный момент не реализованы ни в одной из других программ.

**Программный модуль CVAGen.** Мы начнём с программы CVAGen, позволяющей проводить ординацию нескольких групп объектов при помощи канонического анализа (CVA). Чтобы проводить сравнения нескольких выборок по форме в программе CVAGen, прежде всего, необходимо объединить tps-файлы каждой из выборок в один общий, а затем преобразовать его при помощи программы CoordGen в рабочий формат IMP. Для работы CVAGen также необходим текстовый файл-протокол, состоящий из одного столбца, в котором цифрами 1, 2,... n указана принадлежность каждого объекта к одной из групп. Количество объектов в объединенном файле данных и число строк в протоколе должны совпадать.

Для корректной работы программы общее количество объектов в tps-файле должно превышать  $2n-4$ , где  $n$  — число ландмарок. Подобная ситуация особенно часто возникает при использовании полуландмарок. В этом случае *перед открытием файла* данных необходимо выбрать опцию Use PCA Reduction в левом нижнем углу окна программы и указать, сколько первых главных компонент будет включено в анализ. В зависимости от количества взятых главных компонент результаты канонического анализа могут несколько отличаться. В случае использования редукции главных компонент в текстовом файле протокола все анализируемые группы обязательно должны быть перечислены по порядку без пропусков, т.е. нельзя группы в протоколе нумеровать, например, таким образом: 1, 3, 4, 5. Без ис-

пользования редукции главных компонент такая организация протокола допустима. Также в левом нижнем углу расположена опция Include Cs in CVA, позволяющая проводить канонический анализ на совместной основе частных деформаций формы и размера центроида объектов. Данная опция должна быть включена также *до загрузки файла* данных.

Файл данных в формате IMP можно открыть, нажав на кнопку Load File 1 (Red+) в правой верхней области окна программы. Чуть ниже располагается кнопка Load Group Membership List, с помощью которой необходимо открыть текстовый файл-протокол, кодирующий принадлежность строчных объектов к группе. Непосредственно после данных процедур в графическом окне программы появятся результаты прокрустовой суперимпозиции объектов всех анализируемых групп, ландмарки каждой из групп будут окрашены в свой цвет. Дополнительно в третьем окне программы (Auxillary Result Box) появятся результаты многомерного дисперсионного анализа (MANOVA) статистической значимости полученных канонических осей с указанием значений  $\Lambda$  Уилкса,  $\chi^2$  и величины уровней значимости  $p$ . Несмотря на то, что количество канонических осей всегда меньше на единицу, чем число исследуемых групп, далеко не все из них способны эффективно данные группы дискриминировать.

В фиолетовой области окна программы расположены опции управления графиком рассеивания ординат объектов в пространстве выбранных канонических осей (CVA). Вывести график рассеивания можно с помощью кнопки Show CVA Plot (рис. 3.12). С помощью кнопок Up и Down можно выбрать требующиеся канонические оси, при этом справа в окне Eigenvalue будет приведено собственное значение величины межгрупповой дисперсии, объяснённой данной канонической осью.

Также в фиолетовой области окна программы есть опции, позволяющие вывести на график рассеивания порядковый номер объектов в выборке (Label Points on CVA Plot) и положение группового среднего для каждой из исследуемых групп (Show Means). Чтобы отобразить на графике рассеивания ординат любые изменения, необходимо каждый раз нажимать на кнопку Show CVA Plot.

В белой области окна программы расположены кнопки, управляющие графическим окном для иллюстрации различий между группами по деформации конфигураций объектов с помощью техники тонкопластинных сплайнов (thin-plate spline). При выборе опции Show Def. (Procrustes) в графическом окне мы получим деформацию консенсусной конфигурации объекта, построенной на основе Прокрустовой суперимпозиции (GPA), вдоль выбранной канонической оси. Кнопками Up и Down можно выбрать инте-

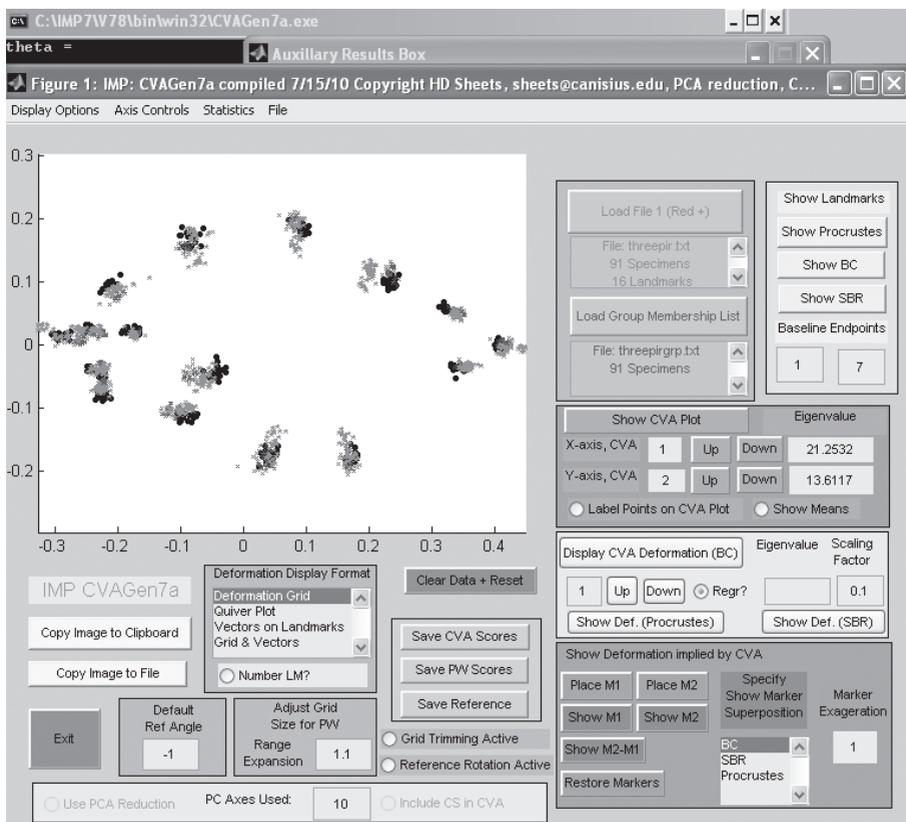


Рис. 3.12. Рабочая панель программного модуля CVA Gen7, входящего в пакет прикладных программ IMP.

ресующую каноническую ось (по умолчанию программа предлагает первую ось). Наряду с Прокрустовой суперимпозицией, имеется возможность получить деформации консенсуса с суперимпозицией на основе букштейновых координат – кнопка Display CVA Deformation (BC) или букштейновых координат с изменяемой длиной базовой линии – кнопка Show Def. (SBR). Заметим, что при последних двух вариантах суперимпозиции значительно труднее интерпретировать и локализовать изменения формы объектов, чем при Прокрустовой суперимпозиции. В небольшой рамке под надписью Scaling factor указано число, являющееся масштабирующим коэффициентом при визуализации деформаций. Это число можно произвольно изме-

нять непосредственно в рамке с помощью клавиатуры. Изменяя величину или знак перед числом, мы изменяем амплитуду или направление деформаций в окне визуализации. Помимо прочего, в белой области расположена очень важная функция **Regr?**, использование или неиспользование которой приводит к значительным различиям в получаемой в графическом окне картине деформации объектов. По умолчанию опция включена, при этом визуализируются все коррелирующие с канонической осью деформации формы, т.е. мы получаем полные различия по форме между группами, которые дискриминирует данная ось. Если же функция отключена, то иллюстрируются только те различия между группами, которые наиболее эффективно дискриминируют данные группы (отношение их межгрупповой дисперсии к внутригрупповой максимально). Такие различия не обязательно будут самыми большими межгрупповыми различиями и, что вполне вероятно, могут не иметь большого биологического значения для организмов.

В правом нижнем углу окна программы расположена область с функциями, позволяющими визуализировать различия между конкретными исследуемыми группами, даже если их центроиды не лежат строго на одной из канонических осей (CVA). С помощью кнопок Place M1, а затем Place M2 можно поместить маркеры (перекрестие прицела вместо обычного курсора) в окне визуализации для двух интересующих групп в любые точки данного пространства вдоль заданных осей CVA (например, указать групповые средние — центроиды выборок). Затем кнопками Show M1 и Show M2 можно визуализировать деформацию данной формы от консенсуса к конкретной точке в пространстве CVA, а кнопкой Show M2-M1 — деформацию формы M1 к форме M2 (разность деформаций). При этом необходимо помнить, что подобные деформации вычисляются как комбинация двух чистых канонических осей, как если бы описанная выше кнопка **Regr?** была отключена. Соответственно мы не увидим полных различий по форме между интересующими нас точками, а лишь комбинацию из двух переменных, дискриминирующих группы объектов по компонентам изменчивости их формы. В этом же цветовом поле панели программы под надписью **Marker Exaggeration** можно изменять масштаб визуализируемых различий по аналогии с описанной выше функцией **Scaling Factor** (искусственно усилить или ослабить степень деформации).

Непосредственно под окном визуализации в программе CVAGen расположен набор опций, изменяющих способ отображения деформаций формы объекта. Можно выбрать отображение в виде трансформационной решетки, векторов смещения ландмарков или их комбинацию. Рядом расположены кнопки, позволяющие скопировать полученное изображение в буфер

обмена (Copy Image to Clipboard) или сохранить его в виде графического файла (Copy Image to File). Также под окном визуализации в оранжевой области расположены кнопки, позволяющие сохранять матрицы координат частных деформаций (Save PW Scores), ординат объектов в пространстве канонических осей (Save CV Scores) и конфигурацию консенсуса.

Программа CVAGen позволяет оценить статистическую значимость различий между анализируемыми группами при помощи однофакторного многомерного дисперсионного анализа (MANOVA). Для запуска анализа в верхнем выпадающем меню окна программы Statistics нужно выбрать пункт Single Factor Permutation Manova, после чего в появившемся окне указать количество перестановок при вычислении F-критерия Фишера для перестановочного теста (Permutation test). Результаты вычислений в виде стандартной таблицы дисперсионного анализа появятся в третьем окне программы (Auxillary Result Box). К сожалению, в программе CVAGen невозможно оценить величину и значимость различий между конкретными группами. При выборе пунктов Show Groupings by CVA или Jack-knife groupings в окне Auxillary Result Box появится таблица корректности классификации объектов, построенная на основе полученных канонических осей. Во втором случае корректность классификации будет проверена при помощи ресэмплинга по методу складного ножа (Jackknife test). Пункты меню Run Assignment Test или Run Detailed Assignment test позволяют получить текстовый файл, в котором подробно будут приведены результаты классификации каждого из объектов в выборках.

**Программный модуль PCAGen.** PCAGen предназначен для вычисления главных компонент (PC) изменчивости формы, которые тождественны относительным деформациям (relative warps) при коэффициенте  $\alpha = 0$ . Принципиально сходные результаты можно получить практически в любом другом пакете программ для геометрической морфометрии (например, в программах tpsRelw, PAST, MorphoJ). Интерфейс данного модуля очень похож на интерфейс программы CVAGen, поэтому мы не будем подробно останавливаться на его работе. Модуль PCAGen работает с данными в формате пакета IMP, текстовый файл-протокол не обязателен, если сравниваются представители одной единой по происхождению выборки. Однако использование протокола идентификации позволяет отличать разные группы особей в составе общей выборки, если это необходимо.

Файл-протокол должен быть организован точно так же, как и для канонического анализа в CVAGen. Кнопка Show PCA Plot в фиолетовой области окна программы позволяет визуализировать ординаты объектов в пространстве двух выбранных главных компонент изменчивости формы

(PC). Небольшим отличием от CVAGen являются расположенные в этой же фиолетовой области функции Axis 1+ и Axis 2+, позволяющие зеркально инвертировать расположение объектов вдоль любой из выбранных главных компонент. Данные функции полезны тем, что позволяют удобно расположить объекты в пространстве PC (напомним, что направления «+» и «-» вдоль главной компоненты равноправны). Чуть ниже, в белой области окна программы, расположены кнопки, предназначенные для визуализации деформаций формы объекта вдоль выбранной главной компоненты. Как и в случае работы модуля CVAGen, в этом модуле наиболее легко интерпретировать различия, полученные на основе Прокрустовой суперимпозиции — кнопка Show Def. (Procrustes). В правом нижнем углу окна программы расположены кнопки, позволяющие визуализировать искривления трансформационной решётки от консенсусной конфигурации к любому объекту в выборке либо от одного объекта к другому объекту. Кнопки Place M1/M2, Show M1/M2 и Show M2/M1 работают аналогично тому, как это было описано для программы CVAGen (такая возможность изображения зеркальных деформаций имеется только в IMP).

**Программный модуль MakeFan** предназначен для наложения вспомогательных линий (fans) на изображения объектов перед процедурой расстановки ландмарок или полуландмарок (рис. 3.13). Особенно полезны такие вспомогательные линии при расстановке ландмарок третьего типа или полуландмарок на контурах объекта или иных кривых, когда затруднительно установить точное гомологичное положение точки на всех объектах.

Основной принцип построения вспомогательных линий в программе MakeFan заключается в том, что от определённой точки на изображении строятся радиальные линии, расходящиеся под одинаковым углом. Эти вновь построенные линии сохраняются вместе с изображением, после чего при желании на объекте уже можно расставлять ландмарки в программе tpsDig. Вспомогательные линии расположены на одинаковом расстоянии друг от друга на каждом объекте, поэтому можно достаточно точно определить положение ландмарки или полуландмарки на любой кривой или иной интересующей структуре на изображении объекта — это будет точка пересечения вспомогательной линии и данной структуры.

Программа MakeFan позволяет открывать графические файлы в форматах tiff, jpeg и bitmap. Для этого в выпадающем меню окна программы File нужно выбрать первый пункт Load Image. Программа работает одновременно только с одним изображением, поэтому после расстановки всех необходимых вспомогательных линий измененное изображение можно сохранить (меню File -> Save Image). Можно на сетке вспомогательных линий

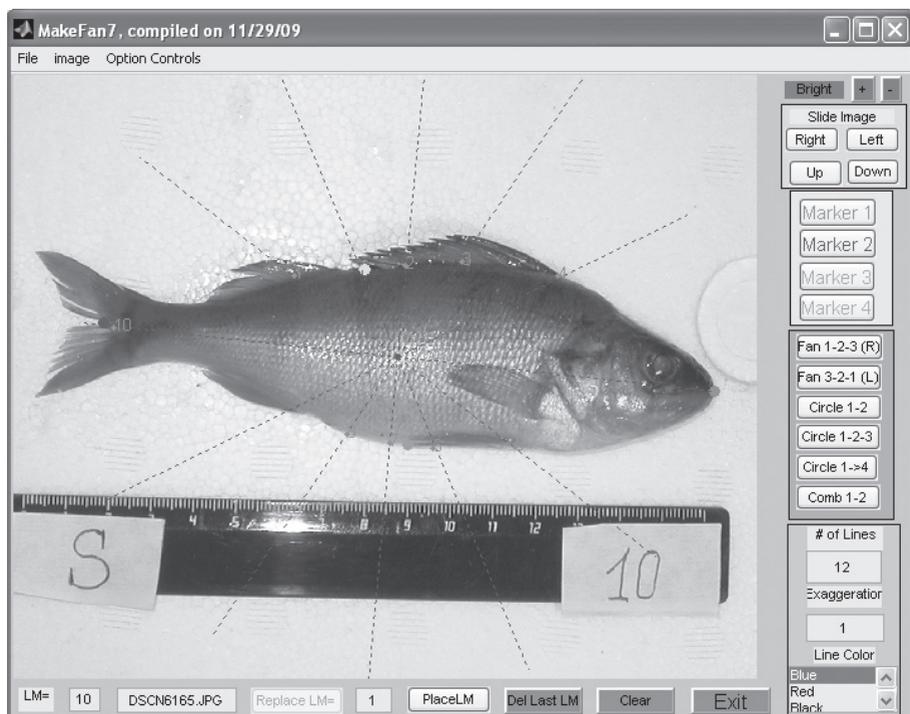


Рис. 3.13. Программный модуль MakeFan7, входящий в пакет прикладных программ IMP, с размещённым на графической панели изображением тела речного окуня и расставленными вспомогательными линиями.

расставить ландмарки в этой программе IMP, заранее щёлкнув по клавише начала расстановки меток PlaceLM в нижней части панели и не прибегать в дальнейшем к помощи tpsDig или tpsDig2. При загрузке следующего изображения все несохранённые изменения пропадут. В правой части окна программы расположено несколько цветных областей с кнопками, контролирующими расстановку и видоизменение вспомогательных линий. Прежде всего, на изображении необходимо расставить от 2 до 4 точек (кнопки Marker 1–4), являющихся основой для построения стандартной системы вспомогательных линий. Положение данных точек должно быть строго гомологичным для всех объектов. Вспомогательные линии можно построить одним из нескольких способов, указанных на рисунке 3.14.

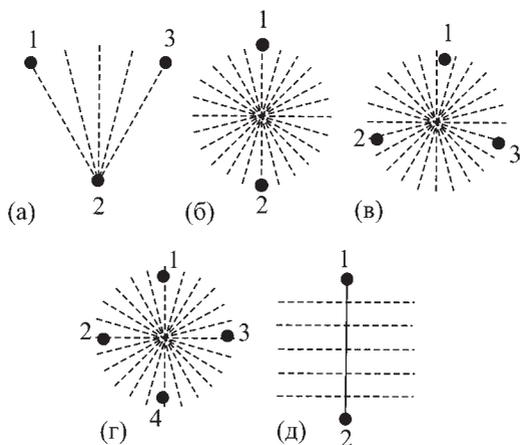


Рис. 3.14. Варианты построения вспомогательных линий (fans) в программе MakeFan: (а) — веер линий из вершины угла, (б)–(г) — построение радиально расходящихся лучей из геометрического центра относительно 2–4 меток–маркеров; (д) — построение серии линий, перпендикулярных к выбранной главной оси.

Первый способ заключается в построении веера линий из вершины угла, образованного точками 1, 2, 3 (кнопки Fan 1–2–3 (L) или Fan 3–2–1 (R) фиолетовой области окна программы). Второй способ — построение нескольких радиально расходящихся прямых из середины отрезка между точками 1 и 2 (кнопка Circle 1–2). Третий способ — построение радиально расходящихся прямых из геометрического центра трёх или четырёх точек (кнопки Circle 1–2–3 или Circle 1->4). Наконец, последний вариант — это построение серии линий, перпендикулярных к отрезку между точками 1 и 2 (кнопка Comb 1–2). Ниже на панели программы расположена область с функциями, с помощью которых можно изменить число вспомогательных линий, их длину (Exaggeration) и цвет. В программе MakeFan, как уже отмечалось, присутствует возможность расстановки ландмарков, однако сам автор программы советует пользоваться для этой цели программой tpsDig, экспортируя изображения, на которые наложены вспомогательные линии.

Конкретный пример использования программы MakeFan для построения вспомогательных линий на крыле дрозофилы показан на рис. 3.15. На фотографии в точках пересечения изображения края крыла с линиями в режиме **Comb 1–2** расставлены 23 ландмарки. Данный способ удобно использовать при сложном или гладком контуре изображения объекта, но с

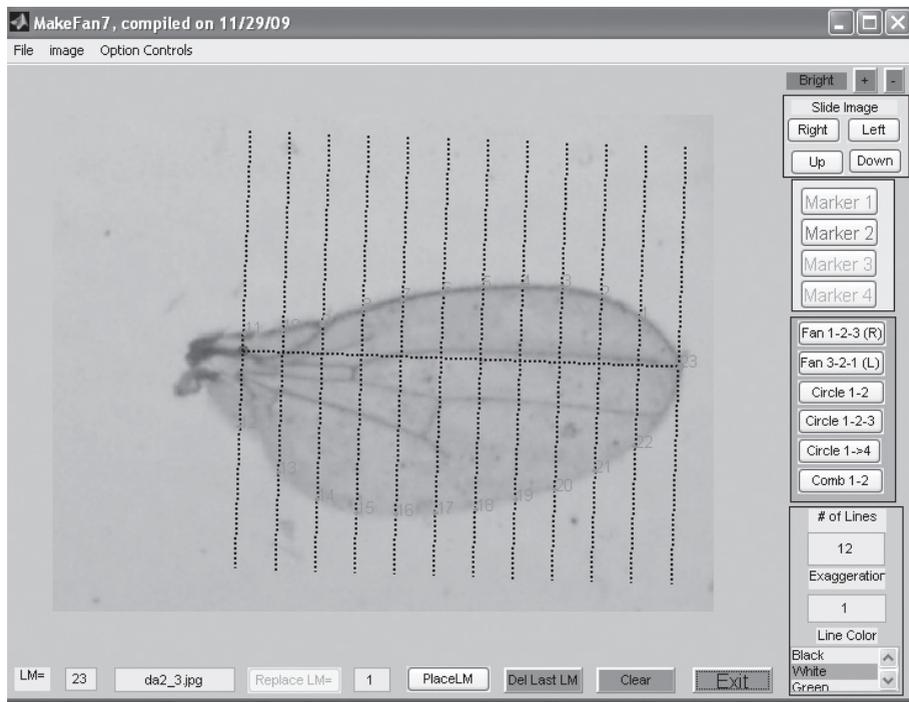


Рис. 3.15. Пример размещения на изображении крыла дрозофилы вспомогательных перпендикулярных линий в режиме **Comb 1–2** вдоль осевой линии, помеченной двумя маркирующими точками, и последовательной расстановки 23 ландмарков в точках пересечения линий с краями крыла.

хорошо определяемыми двумя гомологичными для других объектов точками, в которые будут заранее установлены осевые метки-маркеры.

Все представленные выше системы построения линий и расстановки с их помощью ландмарков, являются промежуточным вариантом между типичным размещением меток в гомологичных (или достаточно строго определённых точках) и расстановкой полуландмарков (semilandmarks) вдоль отрезков кривых линий или замкнутых аутлайнов (outlines).

**Программный модуль DisparityBox.** Данный программный модуль предназначен для вычисления величины морфологического разнообразия (disparity) на основе формы биологических объектов. Концепция морфологического разнообразия активно развивается с конца XX в. Её основная идея заключается в том, что биологическое разнообразие (diversity) какой-

либо группы организмов не сводится только к видовому богатству, но зависит и от морфологической неоднородности, различий между входящими в группу видами. Данный морфологический компонент биоразнообразия и называется морфологическим разнообразием — morphological disparity. При вычислении величины морфоразнообразия программа DisparityBox опирается на предложенную М. Футом (Foote, 1993a) формулу:

$$MD = \frac{\sum_{j=1}^N D_j^2}{(N-1)},$$

где  $D_j$  — Прокрустово расстояние от группового среднего (усреднённая конфигурация объекта для конкретного вида) до общего среднего (усреднённая конфигурация, вычисленная по всем видам), а  $N$  — число групп, относительно которых вычисляется общее среднее. Приведённая формула является адаптацией к методам геометрической морфометрии формулы дисперсии (Zelditch et al., 2004), вследствие чего в программе DisparityBox можно оценить не только морфоразнообразие формы в группе видов, но и изменчивость формы индивидуумов в популяции.

Модуль DisparityBox работает с общим для пакета IMP форматом файла данных, поэтому перед началом работы необходимо преобразовать исходный trs-файл в программе CoordGen. Файл можно открыть при помощи кнопки Load Data Set, расположенной в правой области окна программы. Данные для анализа морфоразнообразия могут быть структурированы по-разному. Можно, например, создать исходный trs-файл, в котором каждый вид будет представлен одним объектом (или консенсусной конфигурацией ландмарк). Другой вариант организации данных — разделить всю группу видов на несколько подгрупп по таксономическому, экологическому или любому другому критерию. В качестве отдельной подгруппы может выступать и выборка из нескольких индивидуумов одного вида. При такой организации данных для каждой подгруппы необходимо создать отдельный trs-файл и все нужные частные файлы подгрупп последовательно открыть при помощи кнопки Load Data Set. Кнопкой List Loaded Sets можно вызвать полный список всех уже загруженных файлов, что удобно при большом количестве участвующих в анализе подгрупп для контроля их последовательного ввода.

После того, как данные будут введены, необходимо вычислить общую консенсусную конфигурацию: если данные не содержат подгрупп или объёмы наблюдений в каждой группе и подгруппе близки, то консенсусную конфигурацию следует вычислять при помощи кнопки Find Grand Consensus Mean (**Specimens**); если данные содержат подгруппы и объём подгрупп сильно различается, то лучше воспользоваться кнопкой Find Grand Con-

sensus Mean (**Groups**). В этом случае программа сначала вычисляет среднее для каждой подгруппы по индивидуумам, а затем находит общее среднее по групповым средним. В нижней части окна программы под надписью Active Set указано имя файла, объём выборки и количество ландмарков для той активной подгруппы, с которой в данный момент работает программа. Щёлкая по стрелке-треугольнику в этом окне, можно последовательно вызывать для внутригрупповых вычислений каждую из выборок. В случае неструктурированных данных активным будет лишь один единственный открытый файл данных.

Все функции для вычисления морфоразнообразия для неструктурированных данных либо для выбранной активной подгруппы расположены в выпадающем меню «1-Group Analysis». При выборе пункта меню «Bootstrap Disparity within Group» в левой области окна программы появятся результаты вычисления величины морфоразнообразия по М. Футу (Foote, 1993a), 95%-ный доверительный интервал и стандартная ошибка. Доверительный интервал и стандартная ошибка рассчитываются при помощи процедуры бутстрепа, для чего в нижнем левом углу панели программы можно выбрать число необходимых повторных вычислений. Полученные результаты можно сохранить в виде текстового файла, выбрав пункт выпадающего меню File->Save Result Box. Для любой выбранной активной подгруппы можно рассчитать Прокрустово расстояние от подгруппового среднего до общего среднего (пункт меню 1-Group Analysis-> Distance Group mean to Grand mean): чем больше полученная величина, тем сильнее выбранная подгруппа отличается от прочих подгрупп по усреднённой форме. Наряду с этим программа выдаст также величины Прокрустовых расстояний от каждого объекта подгруппы до группового и общего среднего.

Для анализа структурированных на подгруппы данных предназначено меню Multi-Group Analysis. Вычислить общее морфологическое разнообразие можно, выбрав пункты меню Bootstrap Geometric Disparity или Bootstrap Geometric Disparity (*MD*, *PD*): в первом случае в области выдачи результатов будут приведены значение морфоразнообразия (*MD*), а также 95%-ный доверительный интервал и стандартная ошибка; во втором случае, кроме указанных результатов, будут вычислены также величина частного морфоразнообразия (*PD*), приходящегося на каждую подгруппу, и его стандартная ошибка. Частное морфоразнообразие вычисляется по адаптированной для целей геометрической морфометрии формуле М. Фута (Foote, 1993a):

$$PD = \frac{D_i^2}{(N-1)},$$

где  $D_i$  — Прокрустово расстояние от  $i$ -й подгруппы до общего среднего,  $N$  — количество подгрупп в анализе. Общее морфоразнообразие ( $MD$ ) группы видов является суммой частных морфологических разнообразий ( $PD$ ) всех её подгрупп. Так как величина  $PD$  пропорциональна расстоянию от подгруппового среднего до общего среднего, то она может очень сильно отличаться от морфологического разнообразия самой подгруппы. Последние два пункта меню Multi-Group Analysis позволяют оценить статистическую значимость различий величины морфоразнообразия между двумя произвольно взятыми выборками. При использовании функции Bootstrap Pairwise Difference in Disparity программа предложит выбрать группы для анализа из тех, что были открыты первоначально на этапе загрузки файлов данных, а также количество повторных ресэмплинговых вычислений (реплик) бутстрепа. В области результатов помимо величины  $MD$  для каждой выборки будет указана разность данных величин и 95-процентный доверительный интервал разности. Если в доверительный интервал не попадает число 0, то различия между группами по  $MD$  статистически значимы. При выборе функции Permute Pairwise Difference нужно также выбрать группы для анализа и указать число ресэмплинговых реплик перестановочного теста. В области результатов вновь, помимо величины  $MD$ , для каждой выборки будет указана разность данных величин. Статистическая значимость различий определяется по количеству итераций перестановочного теста, в которых величина рассчитанной разности превысит наблюдаемую разность. Если число таких итераций не больше 5% от их общего числа, то различия в  $MD$  можно считать достоверными.

Если в изменчивость формы объектов существенный вклад вносят аллометрические зависимости, то на уровень морфоразнообразия формы в выборке может в значительной степени оказывать влияние морфоразнообразие размеров объектов или объём выборки. В программе DisparityBox есть возможность устранить аллометрические зависимости при помощи регрессионного анализа, приведя объекты к единому стандартизованному размеру и соответствующей такому размеру форме. В данном случае перед вычислением морфоразнообразия необходимо создать текстовый файл протокол с указанием размеров, к которым будут стандартизованы все объекты в выборках. В качестве характеристики размеров используется натуральный или десятичный логарифм размера центроида ( $CS$ ), причём на каждый загруженный в программу DisparityBox файл с данными (подгруппу) в текстовом файле-протоколе должна приходиться одна строка с одним значением  $CS$ . Каждую подгруппу можно стандартизовать к своему собственному размеру, но в таком случае порядок загружаемых файлов с

данными и порядок строк в файле-протоколе должны совпадать. Текстовый файл-протокол со стандартизованными размерами загружается при нажатии кнопки Load Log Size Targets в правой части окна программы. Если в программу DisparityBox загружены четыре файла с данными, то протокол для стандартизации размеров будет выглядеть следующим образом:

```
4.0365
3.8603
4.0874
3.9478
```

Для вычисления морфологического разнообразия формы с поправкой на размеры в меню 1-Group Analysis и Multi-Group Analysis есть соответствующие пункты с пометкой «Size corrected». Принципы работы данных пунктов меню полностью совпадают с описанными выше шагами для не-стандартизованных данных.

В модуле DisparityBox существует возможность вычисления морфо-разнообразия на основе системы традиционных промеров. Длины отрезков между ландмарками измеряются подобно тому, как это было описано для модуля TmorphGen. Перед началом вычисления морфоразнообразия по традиционным промерам необходимо создать текстовый файл-протокол, содержащий информацию о количестве промеров. Протокол организован точно так же, как и для модуля TmorphGen. Открыть файл-протокол можно с помощью кнопки Load length protocol, расположенной рядом с кнопкой загрузки данных. Морфологическое разнообразие при использовании системы промеров вычисляется как след (trace — сумма квадратов диагональных элементов, т.е. дисперсий) вариационно-ковариационной матрицы длин измеряемых отрезков. В меню 1-Group Analysis данная функция обозначена как Trace of Trad Measure Var/Cov Matrix, а в меню Multi-Group Analysis — как Bootstrap Traditional Measure Disparity. Традиционные промеры также можно стандартизовать к единому размеру центраида, если необходимо избавиться от аллометрической зависимости (это возможно в другом программном модуле — Standard7).

Выше мы описали способы, с помощью которых по переменным формы или измерениям длин отрезков можно вычислить величину морфологического разнообразия. Другой важной характеристикой морфоразнообразия является его структура: паттерн распределения объектов в морфопространстве. Такими объектами могут быть индивидуумы в морфопространстве одной выборки или подгрупповые средние в общем морфопространстве группы. В качестве характеристики структуры морфоразнообразия про-

грамма DisparityBox использует среднюю величину Прокрустова расстояния между наиболее близко расположенными объектами (Nearest-neighbor distances или NND). Объекты в общем пространстве формы могут располагаться неупорядоченно, на случайном расстоянии друг от друга, либо более близко (агрегирование объектов) или слишком далеко (сверхрассеивание объектов), чем это можно было бы объяснить случайностью. Оценка вероятности «скупенности» или «отталкивания» объектов в общем морфопространстве в DisparityBox реализована через сравнение наблюдаемой наименьшей дистанции между ближайшими соседями  $D$  и смоделированной с помощью метода Монте-Карло (параметрический аналог бутстрепа) случайной дистанции  $R$ . Соотношение  $P$  этих двух дистанций вычисляется по формуле:

$$P = \frac{D - R}{R}.$$

Если данное соотношение меньше нуля, то объекты «скупены» — неслучайно агрегированы в морфопространстве, если же  $P > 0$ , то объекты «отталкиваются» — наблюдается их неслучайное сверхрассеивание (overdispersion). Методом Монте-Карло для величины  $P$  строится 95%-ный доверительный интервал. В случае попадания в нулевой интервал объекты считаются удалёнными друг от друга на случайном расстоянии.

Перед вычислением величины NND необходимо выбрать один из двух предполагаемых вариантов распределения в выборке. Программа предлагает выбирать между нормальным и равномерным распределением. В первом случае величина NND постепенно возрастает по мере удаления от центра распределения, т.е. от консенсусной конфигурации. Во втором случае величина NND предполагается постоянной в любой точке морфопространства. Нормальное распределение предпочтительнее в том случае, если анализируются индивидуумы в пределах гомогенной выборки, например особи группы одного пола и возраста. Равномерное распределение лучше отражает характер заполнения морфопространства независимыми объектами, например, представителями разных видов в общей группе. В правом нижнем углу окна программы расположена опция NN Model Gaussian, переключающая вычисления с одного типа распределения на другой. При работе с равномерным типом распределения для расчётов методом Монте-Карло определяются верхний и нижний пределы размаха NND. В случае небольшого объёма выборки наблюдаемый размах значений, как правило, меньше реального. В программе DisparityBox есть функция скорректированного расчёта размаха NND — кнопка Sadler Stile Range, при активировании которой расчёт верхнего и нижнего пределов размаха проводится по методу

Страусса и Сэдлера (Strauss, Sadler, 1989). Все функции для вычисления NND расположены в меню NN Model, поэтому имеется возможность вычислять минимальные дистанции на основе стандартизованных и нестандартизованных по размеру центроида данных. Также можно опционально сделать выбор, рассчитывать ли NND для конкретной выбранной подгруппы (пункт меню Foote NN Model within Active Group) или проводить вычисления на основе полного набора данных (пункт меню Foote NN Model).

Другие программы IMP можно относительно легко освоить по аналогии самостоятельно, используя приложенные авторами пакета справочники. Следует также заметить, что в последней версии пакета для Windows 8 — IMP 8 в большинстве опций и возможностей вычислений используются практически те же самые, которые были применены в IMP 7 и даже IMP 6. Поэтому «переучиваться» для работы в новой версии IMP 8 будет несложно.

### **3.3. ЭЛЕМЕНТЫ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ В ПРОГРАММЕ PAST (PALEONTOLOGICAL STATISTICS)**

Компактный, удобный в работе пакет статистических программ PAST свободно распространяется и доступен по адресу: <http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>. PAST был написан тремя программистами Хаммером (Ø. Hammer), Харпером (D. A. T. Harper) и Райаном (P. D. Ryan) для палеонтологов в 1999 г., однако стал очень популярен также у биологов других специальностей и геологов. Значок (иконка) программы традиционно изображает боковую проекцию раковины аммонита. Несмотря на очень большое число встроенных статистических и графических программ, объём пакета долгое время был традиционно невелик (не более 4 Мб) и ограничивался одним файлом. Однако после версии PAST 2.17с, которая вышла весной 2013 г., Хаммер разработал новые версии — PAST 3.0–3.19, предназначенные для операционных систем Windows 7.0 и 8.0. Появление принципиально новой версии было обусловлено модернизацией Windows. Объём программы при этом достиг 15 Мб, а её интерфейс заметно изменился. К сожалению, на данном этапе он стал менее гибким и удобным, чем в более ранней версии пакета (version 2.17с), и пока не оснащен всеми статистическими подпрограммами, которые были в прежней версии. При этом у новой версии появились и некоторые новые графические возможности, а также полезные новшества и новые статистические подпрограммы, в том числе для геометрической морфометрии.

Поскольку PAST всегда был обеспечен очень кратким и в то же время емким справочным разделом (мануалом), мы не будем детально останавливаться на всех его особенностях. Наряду с рутинными статистическими

процедурами пакет содержит подпрограммы для многомерной статистики, кладистики и геометрической морфометрии. Ввод данных производится непосредственно в ячейки таблицы или при копировании фрагмента данных из листа программы MS Excel. В разделе меню, посвященном геометрическому анализу данных, имеются возможности проведения статистики направленности (Directional statistics), статистики распределения ближайших соседних точек (Nearest neighbour distance) и использования других методов графического анализа. Большая часть этого меню содержит возможности вычислений в традиционном русле геометрической морфометрии.

Ввод данных для геометрической морфометрии предусмотрен в блоке меню File непосредственно из tps-файла, который автоматически распознается программой. По строкам таблицы для ввода информации размещаются данные об особях, а в колонках — координаты соответствующих лан্ডмарков (рис. 3.16).

В пакете PAST, начиная с версии 3.01, предусмотрены возможности проведения анализа 2D- и потенциально 3D-конфигураций лан্ডмарков. С учётом пожеланий пользователей производится преобразование лан্ডмарков в букштейновы координаты — Bookstein fitting (2D) или осуществляется Прокрустов анализ Procrustes (2D+3D), а также доступна процедура Transform, позволяющая перекодировать координаты, например с учётом поворота левостороннего объекта в правосторонний. Можно также осуществить путем перекодировки координат произвольный «поворот» объектов на  $+90^\circ$ ,  $-90^\circ$  или  $180^\circ$ , а также «перевернуть» их снизу-вверх или наоборот. На данной стадии развития программного комплекса осуществляется 3D-преобразование при Прокрустовом анализе, но в основном блоке Geometry программы 3D-анализ пока проводится только методом ГК (PCA).

В блоке меню Transform выберите Landmarks. В открывшемся окне Landmarks для выбора преобразования координат лан্ডмарков имеется полезная опция, позволяющая сохранять информацию об исходных размерах объектов, пропорциональных размерам центроида, и после получения Прокрустовых остатков Procrustes residuals возвращать исходный размер объектам: опция «Keep size (only translate and rotate)». Строкой ниже имеется опция «Add size column» для вычисления размера центроида в пикселях в виде отдельной переменной, которая будет встроена, как уже отмечалось выше, в первую колонку с названием Size, отодвинув вправо колонки преобразованных координат. После преобразования исходных координат лан্ডмарков в необходимую вам систему (обычно выбираются Прокрустовы координаты), можно продолжить анализ материала.

В меню раздела Geometry после выбора опции Landmarks (2D) имеются возможности для вычисления главных компонент формы, при которых

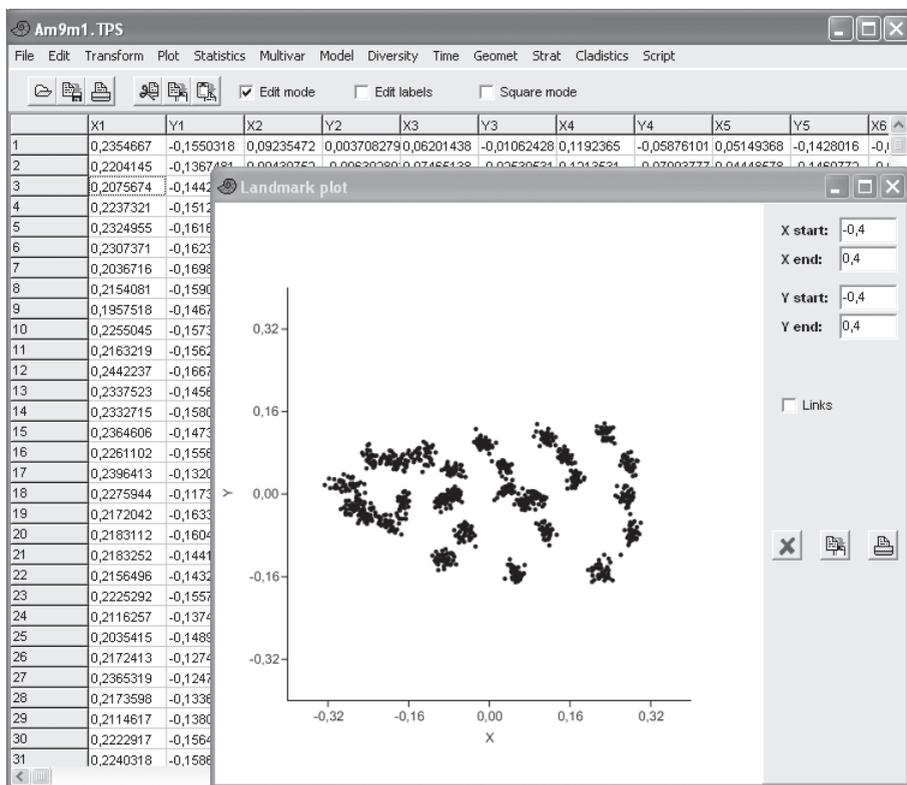


Рис. 3.16. Рабочая панель программы PAST 2.17с в виде электронной таблицы (spreadsheet) с меню доступа к блокам программы и открытой графической панелью.

оцениваются относительные деформации (relative warps), их координаты и визуализируются трансформации — опция PCA (relative warps). При выборе опции Thin-plate spline, с помощью метода построения тонкопластинных сплайнов осуществляется визуализация частных деформаций (partial warps) объектов по отношению к средней форме (Mean shape) или конкретным целевым объектам. Здесь пока ещё не предусмотрена возможность сохранения координат PW, включая аффинные переменные, как это было предусмотрено в предыдущей версии 2.17с. Интересные и новые возможности по сравнению с предыдущей версией дает выбор опции Linear regression, 1 indep. Если заранее вычислен размер центра — Size-переменная,

то на экране появится график линейной зависимости переменных формы от размера центроида, т.е. появится возможность оценить аллометрические зависимости (напомним, что изменение формы при изменении размера указывает на проявление аллометрической зависимости).

Регрессионный анализ позволяет не только показать на графиках линию регрессии (опция Plot), но и оценить обобщённую многомерную статистику (опция Statistics). При выборе опции Numbers для переключения доступны три режима выдачи информации о результатах: 1 — Slopes and intercepts — численные значения коэффициентов регрессии ( $a$  — slope и  $b$  — intercept) с величинами их ошибок, а также коэффициент корреляции ( $r$ ) с оценкой вероятности ( $p$ ) его равенства нулю; 2 — Residuals — остаточная изменчивость переменных формы; 3 — Predictions — предсказанная регрессией изменчивость переменных формы. Используя эти данные, можно снять (исключить) изменчивость формы, обусловленную аллометрической зависимостью, и оценить, например, межгрупповую изменчивость формы без влияния аллометрии.

Применяя опцию Deformation, можно в графическом окне визуализировать изменения формы, зависящие от размера центроида и других переменных. Щёлкая по левому (уменьшение значений) или правому (увеличение) стрелкам-треугольникам, можно изменить значения независимой переменной (в окне меняются цифры, соответствующие значениям этой переменной), что будет сопровождаться изменением размещения конфигурации ландмарков на тонкопластинном сплайне, отражающем изменение формы объекта. При отключении опции Grid (relative warps) исчезнет трансформационная решётка тонкопластинного сплайна, но появятся векторы (линии), указывающие направление и степень смещения ландмарков объектов относительно консенсусной конфигурации ландмарков. Если опция Grid (relative warps) включена, то дополнительно можно подключить опцию Expansion factors, позволяющую в виде цветной термокарты, наложенной на тонкопластинный сплайн, увидеть, как изменяются разные части изображения объекта при изменении значений независимой переменной: усиление красного цвета отражает увеличение значения переменных формы, а синего — уменьшение.

Наряду с этим в разделе Geometry имеется возможность визуализировать и оценить изменчивость формы по введённому tps-файлу, используя гармоники рядов Фурье. Для этого можно выбрать опцию Elliptic Fourier и осуществлять изучение изменчивости формы объектов методом эллиптического анализа формы с использованием гармоник Фурье (elliptic Fourier shape analysis). Опция EFA coefficients позволяет вычислить коэффициенты гармоник Фурье и моделировать по ним изображение объекта (если

все ландмарки расположены вдоль контура объекта по порядку, то появляется возможность увидеть индивидуальные модели формы объекта, которые будут изменяться от объекта к объекту). Опция EFA Common Allom. Component дает возможность вычислить обобщённую аллометрическую компоненту (CAC – common allometric component) и остаточные компоненты формы (RSC – residual shape component). В открывшемся окне можно получить следующие данные: при выборе опции Summary для каждой остаточной компоненты формы приводятся значения собственных чисел (Eigenvalue) и их доля (%) от общей дисперсии; опция Scatter Plot позволяет увидеть графики эллипсоидов рассеивания ординат между всеми парами остаточных компонент формы (RSC), включая обобщённую аллометрическую компоненту (CAC), а опция Scores – индивидуальные значения всех этих компонент.

Можно также проводить оценку собственных форм (eigenshapes) и формировать каркас конфигураций ландмарок (wirframes) для дальнейшей более отчётливой визуализации направлений их деформаций. Интересной и полезной возможностью является выведение трансформационных решёток (тонкопластинных сплайнов), характеризующих изменение формы объектов в виде термокарт, когда увеличение или уменьшение значений параметров при деформации объектов задается также соответствующим градиентом изменений цветовой шкалы: усиление красного цвета указывает на увеличение локальных значений переменных, а синего – на уменьшение значений по сравнению с характеристиками референсного объекта.

При сохранении результатов расчётов следует обратить внимание на то, что поскольку tps-файл исходно автоматически размещается в таблице ввода данных, то для сохранения этого файла в исходном состоянии нужно обязательно присваивать новое имя сохраняемому файлу. PAST позволяет автоматически сохранять файлы с исходными данными и дополняющими их результатами в текстовом формате Dat и дает им расширение \*.dat. Поэтому, если после ввода tps-файла в PAST вы, не задумываясь, сохраните его по умолчанию, то исходный формат файла нарушится и будет представлен уже как spreadsheet. Вернуть исходный tps-файл при этом уже не удастся и потребуются вновь проводить оцифровку изображений (заново изготавливать tps-файл).

Программа PAST постоянно обновляется и совершенствуется, существует также интерактивная информационная поддержка сайта, поэтому мы рекомендуем периодически заходить на сайт, следя за обновлениями, и/или подписаться на рассылаемую через сайт полезную информацию для пользователей программы.

### 3.4. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ИЗМЕНЧИВОСТИ ФОРМЫ В ПРОГРАММЕ APS (A PROCUSTES SOFTWARE) И ПАКЕТЕ ПРОГРАММ MORPHOLOGICA2

В геометрической морфометрии удобство визуализации данных с помощью прикладной компьютерной программы является важным критерием для её выбора при работе исследователя. Одной из таких удобных для визуализации изменчивости формы объектов программ является APS (A Procrustes Software), которая создана Ксавьером Пенином (Xavier Penin) в 2004–2007 гг. Программу можно свободно скачать по интернет адресам: <http://www.procuste.com/aps.html>; <http://www.procuste.fr/telechargements>. Она предназначена для проведения Прокрустовой суперимпозиции данных методом GLS (Generalized least squares), вычисления главных компонент изменчивости формы и визуализации изменчивости двух- или трёхмерных объектов.

Данные вводятся при помощи текстового файла в кодировке ASCII с расширением \*.dat, в каждой отдельной строке которого последовательно записываются X и Y координаты всех ландмарок одного объекта. В первой управляющей строке файла тремя числами через пробел указывается количество объектов в выборке, количество ландмарок на одном объекте и мерность объекта (2 или 3 измерения). Запись одного двухмерного объекта в файле данных для 10 ландмарок в текстовом файле выглядит так:

```
20 10 2
x1 y1 x2 y2 ... x10 y10
```

Для улучшения визуализации изменчивости формы в программе APS предусмотрена возможность создания link-файлов, при помощи которых отдельные ландмарки на изображении объекта соединяются линиями. Текстовый link-файл с расширением \*.lie содержит две колонки, в каждой строке через пробел указываются номера пары ландмарок, между которыми будет построена линия. В первой строке указывается одно число — количество пар ландмарок в данных.

В программе APS реализована возможность расчёта регрессионной зависимости формы объектов от одной непрерывной количественной переменной. По умолчанию вычисляется зависимость от размера центроида. Для того чтобы рассчитать регрессию от другой переменной, необходимо загрузить файл с ковариатой. Данный файл с расширением \*.ves также является текстовым, в первой строке которого записываются через пробел число объектов в выборке и два контрольных числа (обычно это две единицы). Ниже записываются в столбик численные значения ковариаты — по

одному значению в строке для каждого объекта. Запись векторного файла с ковариатой X при выборке в пять объектов выглядит так:

```
5 1 1  
X1  
X2  
X3  
X4  
X5
```

При запуске программы APS появляется контрольная панель и 4 окна выдачи результатов: Plot Window, Vectors Window, Specimens Window, Log Window (рис. 3.17). В окне Log Window отображается информация обо всех произошедших операциях.

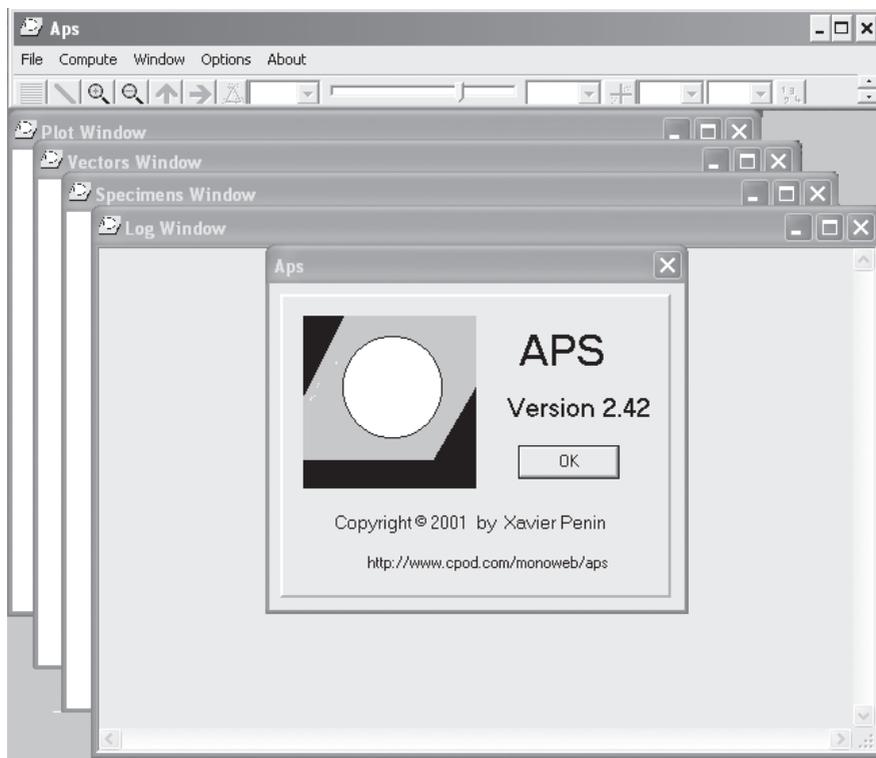


Рис. 3.17. Исходная конфигурация окон программы APS (пояснения см. в тексте).

Для начала работы на контрольной панели программы в выпадающем меню File нужно выбрать пункт Open Data и загрузить текстовый файл с данными. При необходимости в том же меню File можно открыть link-файл, выбрав пункт меню Open Link. После этапа загрузки данных следует провести процедуру Прокрустовой суперимпозиции – соответствующая функция расположена в выпадающем меню Compute, пункт Superimposition. При выборе функции Window-> Specimens на главной панели программы в окне Specimens Window появится консенсусная конфигурация объекта. После проведения процедуры Прокрустовой суперимпозиции в меню Compute становится активной опция Components, при выборе которой программа рассчитывает главные компоненты изменчивости формы. Количественные результаты вычисления главных компонент (процент дисперсии, объясненной каждой главной компонентой, и кумулятивный процент объясненной дисперсии) появятся в окне Log Window. При выборе функции Window-> Vectors в окне визуализации Vectors Window будет проиллюстрирована изменчивость конфигурации объекта вдоль выбранной главной компоненты (рис. 3.18).

Для вычисления регрессионной зависимости формы объектов от непрерывной переменной сначала необходимо провести суперимпозицию и вычислить главные компоненты, а затем в пункте меню Compute выбрать опции Regression и Regression Test. Программа в диалоговом окне предложит указать количество главных компонент для анализа, далее в окне визуализации Log Window появятся количественные результаты регрессионного анализа, а в окне Vectors Window будет проиллюстрирована изменчивость конфигурации объекта, объясненная регрессионной зависимостью.

В программе APS имеется возможность дискриминировать две группы объектов по их форме. В качестве переменных используются главные компоненты формы. Обе дискриминируемые группы следует объединить в один файл данных. В меню Options на контрольной панели программы есть пункт Define groups, с помощью которого необходимо указать в файле данных порядковый номер первого объекта второй группы. В этом случае все объекты, перечисленные в файле данных до выбранного, будут считаться относящимися к группе 1, а все объекты после него – к группе 2. После процедуры определения групп для анализа, а также проведения суперимпозиции и вычисления главных компонент в меню Compute на контрольной панели программы следует выбрать пункты Discrimination и Discrimination test. Количественные результаты дискриминантного анализа появятся в окне Log Window, а в окне визуализации Vectors Window будут проиллюстрированы различия между выбранными группами по форме.

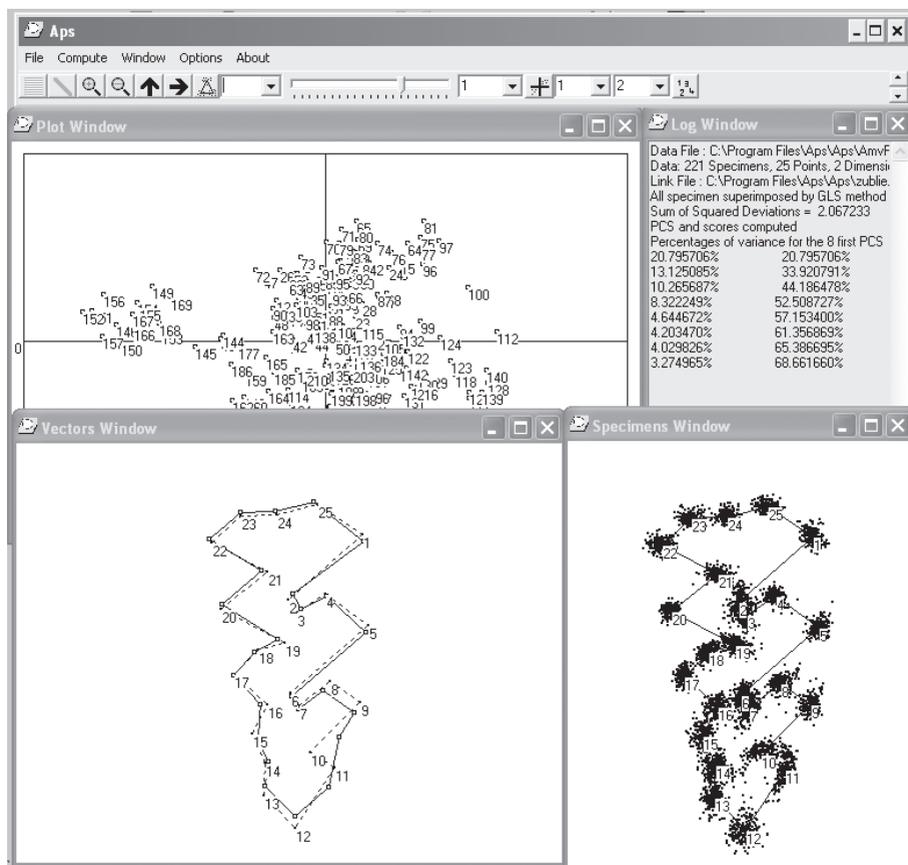


Рис. 3.18. Пример размещения четырёх рабочих окон программы APS, характеризующих изменчивость формы третьего верхнего щёчного зуба большеухой полёвки *Alticola macrotis*.

На контрольной панели программы APS расположен ряд функций, управляющих визуализацией изображений объектов. Цифрой 1 на рис. 3.19 подписаны функции, позволяющие менять масштаб изображения в окнах Specimens и Vectors Window, а цифрой 2 обозначены кнопки, позволяющие выбрать одну из трёх проекций при визуализации трёхмерных объектов.

В выпадающем меню Specimen selection (обозначено на рисунке цифрой 4) можно выбрать любой отдельный объект из выборки и вывести его конфигурацию в окно Specimens Window. Если предварительно был за-

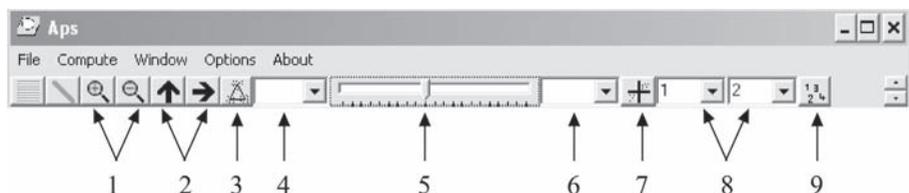


Рис. 3.19. Главная панель программы APS с некоторыми элементами управления визуализацией изображений объектов (пояснения см. в тексте).

гужен link-файл, то конфигурация выбранного объекта будет соединена красными линиями, а конфигурация консенсуса — черными. При нажатии кнопки 3 в окне Specimens Window конфигурации отдельных объектов удаляются, и остается только консенсусное изображение. В выпадающем меню Vector Selection (цифра 6 на рисунке) можно выбрать, вдоль какой главной компоненты будет проиллюстрирована изменчивость формы объекта в окне Vectors Window. Последние два пункта в меню Vector Selection — «Regress» и «Discrim» — позволяют визуализировать регрессию формы объектов выборки от непрерывной независимой переменной (например, величины центраида) или различия по форме между двумя группами. С помощью скользящего ползунка 5 можно изменять амплитуду и направление изменений конфигурации объекта в окне Vectors Window при анализе главных компонент изменчивости формы, регрессионных зависимостей или различий между группами. Выбор функции Plot scores (на рисунке цифра 7) позволяет вызвать в окне визуализации Plot Window ординацию объектов выборки в пространстве двух главных компонент, изменять порядок появления которых можно кнопками 8. Кнопкой Labels (цифра 9 на рисунке) можно вывести нумерацию всех объектов на графике рассеивания ординат в пространстве главных компонент в окне Plot Window. Программа удобна при работе с двумя небольшими выборками для облегчения интерпретации изменения формы объектов.

**Программа Morphologica<sup>2</sup>** (tools for shape analysis) Version 2.4 была разработана в 2006 г. П. О'Хиггинсом и Н. Джонсом (O'Higgins, Jones, 2006). Программа (рис. 3.20) способна использовать файлы tps-формата непосредственно. После загрузки tps-файла можно увидеть справа в открывшемся окне загруженный текст tps-файла.

С помощью кнопок предлагается одновременно загрузить три опции. Во-первых, нажав на кнопку Load link, можно загрузить специальный link-файл, который позволяет строить каркасную модель объекта при соединении

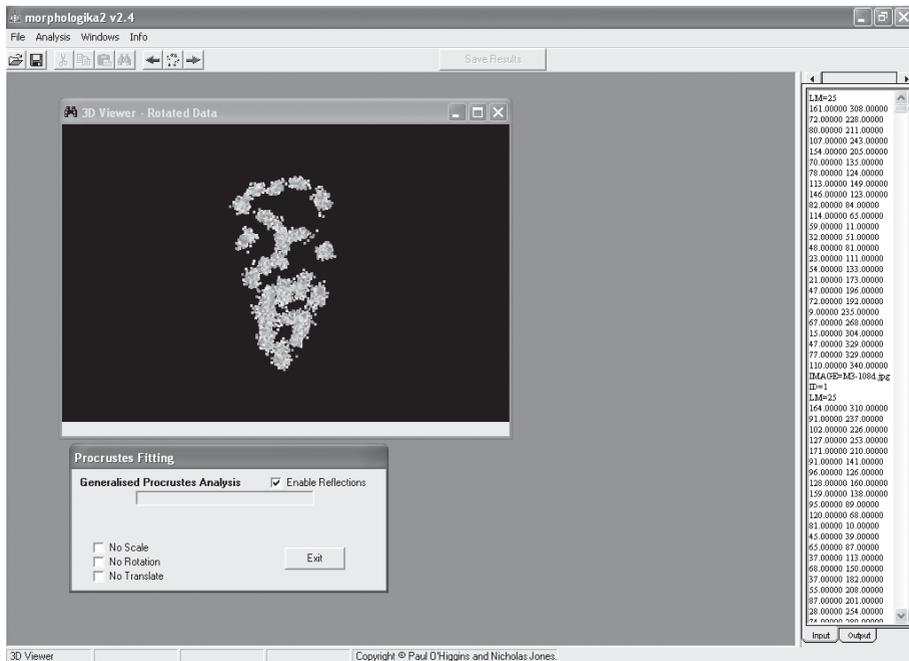


Рис. 3.20. Графическая, управляющая и текстовая панели программы Morphologica<sup>2</sup>.

ландмарк линиями (этот файл задается при желании заранее в формате NT-SYS — \*.nts). Во-вторых, есть возможность сохранить импортируемый файл в текстовом формате \*.dat, пригодном для данной программы. Однако это не обязательные, а вспомогательные требования, и после нажатия клавиши Continue появляется окно с указанием нужного файла. Нужно щёлкнуть мышью по строке выбранного trs-файла, что позволит открыть слева сверху две новые опции. Опция **Group** при нажатии на неё открывает порядковые номера объектов в файле. В открывшемся справа окне можно отключить ненужные для дальнейшей работы объекты, убрав с помощью мыши галочки в квадратах перед их номерами. Они при этом не будут обрабатываться программой на данном этапе. Вторая опция **Landmarks** открывает в правом окне порядковые номера ландмарков, которые аналогично предыдущему случаю можно выбрать или отключить. После изменения состава ландмарков дальнейшие расчёты будут проводиться только с ландмарками, оставшимися в списке (с установленными галочками против номеров ландмарков). Клавиша UnduAll

возвращает ситуацию к первоначальной стадии до выбора списка особей и ландмарков. Для продолжения вновь щёлкните по строке с выбранным tps-файлом. После того, как выбор нужных для дальнейших вычислений особей и ландмарков завершится, нажмите внизу общего окна клавишу ОК и подтвердите ваш выбор в появившейся выскакивающей панели.

Далее появится новое графическое окно с изображением конфигураций ландмарков всех особей: если *левой* клавишей потянуть за край изображения, то оно повернётся; если *правой* — оно или увеличится или уменьшится в зависимости от направления движения мыши.

Для дальнейших расчётов в верхнем строчном меню выберите Analysis -> Procrustes Analysis. В появившейся внизу панели в стандартном случае следует нажать клавишу Start. Можно также при желании выбрать опции по отключению любой из трёх необходимых процедур для получения собственно форм: масштабирования (scale), вращения (rotation) и центрирования со смещением объекта (translation). После нажатия на кнопку Start и некоторого времени, необходимого на проведение Прокрустова анализа, изображение в окне изменится и будет более организованным. На верхней строке меню появятся стрелки, направленные влево и вправо. Щёлкая по этим стрелкам, можно последовательно по одному экземпляру просмотреть конфигурации ландмарков. Если щёлкнуть по центральной кнопке, разделяющей кнопки со стрелками, то на экран возвратится исходное общее изображение, включающее все объекты. В меню в блоках Settings (установки), Lightings (подсветки) и Effects (эффекты для изображений) имеются возможности изменить размер меток, цвет, толщину линий и другие графические свойства.

Дальнейший анализ материала методом главных компонент доступен в меню в блоке Analysis -> Principal Components Analysis. Так же, как и в предыдущем случае, после выбора этого этапа программы на экране появится выскакивающая панель корректировки дальнейших действий пользователя: можно выбрать либо проекцию данных на тангенциальное пространство, либо проекцию на Прокрустово пространство форм. Внизу панели имеются возможности для пользователя задавать необходимые подробности вывода результатов, включая ковариационную матрицу (covariation matrix), собственные числа (eigenvalue), собственные векторы (eigenvectors), а также координаты главных компонент (PC scores). После нажатия на кнопку Start, через некоторое время, которое необходимо для вычислений, появится графическое окно PCA Graph с графиком ординации объектов в плоскости первых двух главных компонент. Под этим окном расположено окно вывода данных PCA Data Summary, где по строкам (объектам) и колонкам приводится: имя и порядковый номер объекта, lnCS — логарифм размера

центроида, CS — размер центроида, координаты для X-оси (например, PC1) и Y-оси (например, PC2). Параллельно на экране появляется управляющая панель Control, в которой можно выбрать нужные оси главных компонент для проецирования объектов. При выборе другой оси, например PC3, происходит автоматическое изменение значений в окне данных (изменяются значения вдоль Y-оси), и в графическом окне изменяется конфигурация ординат в плоскости, образованной теперь осями PC1 и PC3. Если щёлкнуть левой клавишей мыши по определённой ординате на графическом окне, то автоматически в окне данных выбирается нужная строка для этого объекта. Если перейти в управляющей панели Control на ярлычок TPS Controls и щёлкнуть мышью по определённому объекту, то на управляющей панели в окнах X-axis и Y-axis появятся значения её соответствующих PC-координат, а на исходном графическом окне, где располагаются конфигурации ландмарков (3D Viewer), сначала появится референсная конфигурация в виде меток на фоне трансформационной решётки, а затем, после выбора в небольшом окне на управляющей панели вместо Reference Shape опции Target Shape (целевая форма, которую только что указали мышью на графическом экране), в другом окне 3D Viewer появится результат растягивания референсной конфигурации до целевой конфигурации ландмарков. При этом трансформационная решётка заметно деформируется, показывая, в каком направлении по отношению к референсной конфигурации изменилась форма целевой конфигурации. Результаты расчётов можно запомнить в текстовом файле, используя кнопку Save Results. К большому сожалению, динамические графические отображения в окне 3D Viewer можно запомнить, только используя клавишу Print Screen на клавиатуре и выгружая экранную копию в соответствующую графическую программу.

Другой недостаток состоит в том, что некоторые функции, например вычисление регрессии, возможное под Windows 98 и Windows 2000, под управлением Windows XP и Windows 7, часто выдает фатальную ошибку, и программа автоматически закрывается.

Представляет интерес одно несомненное достоинство программы — возможность изображения трёхмерных объектов и их графического сравнения в 3D пространстве. Все другие аспекты вычислений успешно решены другими программами ГМ, поэтому 3D моделирование и удобство сравнения данных — единственные большие плюсы этой в целом очень полезной и удобной в работе программы. Существует очень большая вероятность, что программа будет нестабильно работать и в Windows 8, хотя авторы книги специально этот вопрос не изучали. Новая версия программы Morphometrica, разработанная для операционной системы Macintosh, является коммерческой.

### 3.5. ПАКЕТ ПРОГРАММ CLIC (COLLECTING LANDMARKS FOR IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION)

CLIC представляет собой пакет программ по геометрической морфометрии, автором которого является Жан-Пьер Дюжарден (Jean-Pierre Dujardin). Одна особенность пакета состоит в том, что у него имеется общее управляющее меню, которое позволяет запускать по выбору пользователя тот или иной программный блок (рис. 3.21).

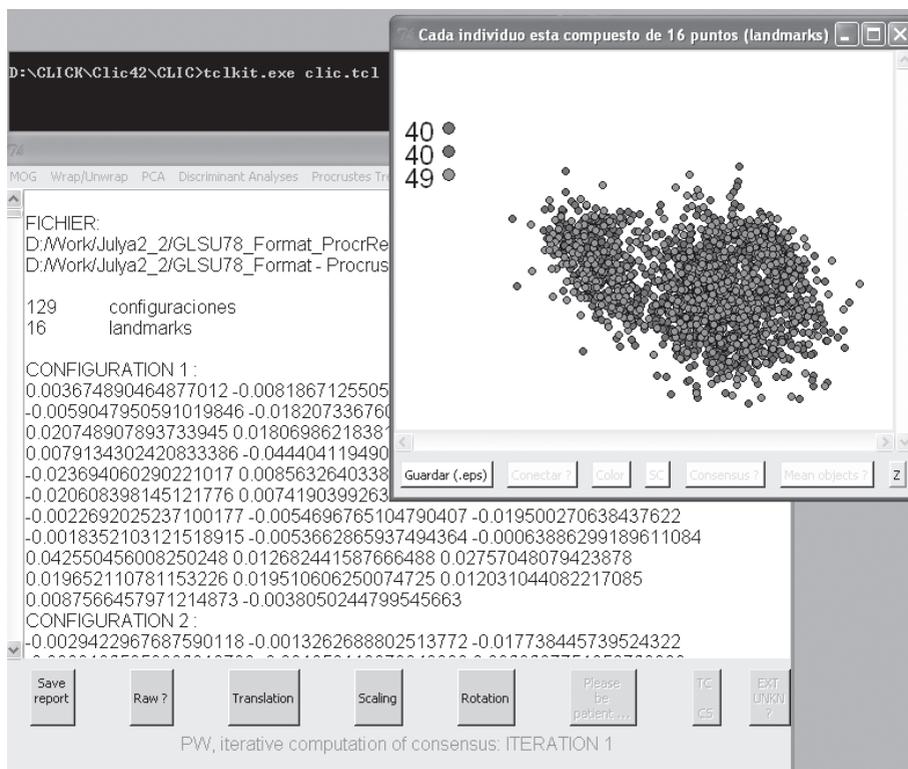


Рис. 3.21. Рабочие панели программы CLIC.

В английских пояснениях, к сожалению, часто встречаются опечатки и мелкие ошибки. Тем не менее, пакет многофункционален, содержит много полезных возможностей, которые иногда слабо представлены или даже отсутствуют в других пакетах программ по геометрической морфометрии,

поэтому имеет смысл им воспользоваться. Мы, рекомендуя работу с этим пакетом, не отвечаем за вероятные ошибки в программе.

Распространяемый автором дистрибутивный модуль пакета (около 100 Мб) можно легко скачать из соответствующего раздела на сайте Geometric Morphometrics Ф. Дж. Рольфа по адресу: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>. Пакет сравнительно легко распаковывается и устанавливается, а сам процесс установки не требует комментариев.

В пакете имеется своя подпрограмма экранного дигитайзера СОО для расстановки ландмарков на изображение. Этот блок можно вызвать из общего меню в его первой верхней строке. В целом программа СОО работает неплохо и действительно формирует подобие tps-файла, причём пользователь имеет дело каждый раз с одним изображением и должен его самостоятельно выбирать в папке. После завершения работы по расстановке меток в процессе сохранения результатов (для этого щёлкните мышкой по иконке в виде дискеты, расположенной внизу окна программы) будет автоматически склеен tps-файл из отдельных блоков информации, запасенных в оперативной памяти. Используя текстовый редактор (например, WordPad), можно легко преобразовать данный файл в типовой формат для пакета TPS. В удобстве работы с изображениями и ландмарками экранный дигитайзер СОО почти не уступает аналогичной классической программе Ф. Дж. Рольфа tpsDig. Некоторым недостатком можно считать лишь постоянный формат выдачи строки, указывающей путь (Path) к файлу с изображением объекта, что при работе на другом компьютере с другой системой расположения каталогов и вложенных папок неизбежно приведёт к невозможности автономной работы с tps-файлами. Другие мелкие недостатки — наличие встроенного комментария в первой строке итогового текстового файла, а также возникновение пустых строк между индивидуальными блоками координат, которые не позволяют без редактирования запускать этот файл в других программах геометрической морфометрии, использующих tps-формат. Автоматически при записи программа СОО параллельно создает два файла: один — в формате DB, а другой — файл координат ландмарков в собственном формате CLIC, который наряду с именем файла в его конце имеет дополнительную комментирующую характерную запись «\_Format».

Программа CLIC имеет собственный формат рабочих файлов в каждом блоке, поэтому, чтобы ввести tps-файл, изготовленный не с помощью СОО, в другие программные блоки, сначала необходимо воспользоваться конвертором, который находится в программном блоке TET. Обычно tps-файл, созданный в программе tpsDig, следует в этой же программе сохранить в формате nts (NT-SYS), чтобы не редактировать tps-файл вручную для CLIC (вставлять строку комментария и делать пустые строки разрывы

между индивидуальными блоками координат). Из формата nts-файла преобразовать файл в формат CLIC легче, чем из tps-файла. Для этого сначала импортируйте nts-файл с помощью меню программы TET: FILE -> Open a «source» file, а затем TRANSFORMATIONS -> nts file (from TPSdig) >> \_Format.txt. В появившейся после этого панели нужно в строке вписать удвоенное число ландмарков (в данном случае колонок файла – COLUMNAS) и щёлкнуть мышью по большой серой панели с надписью на испанском языке. Программный блок TET содержит много мелких дополнительных возможностей для редактирования файлов, которыми при желании можно воспользоваться. Однако описанная выше процедура конвертирования nts-файла в формат clic-файла используется наиболее часто.

После этого можно будет закрыть данный программный блок и обратиться к блоку MOG, который позволяет проводить Прокрустов анализ с визуализацией этапов первичного наложения конфигураций, их трансляции, масштабирования и ротации, а затем получать итоговые файлы со значениями частных (PW) и относительных (RW) деформаций, а также с размерами центроидов (CS) особей. Преимуществом такой визуализации является возможность анализировать особенности не только одной общей выборки, но и нескольких её субгрупп на всех этапах превращения конфигураций в форму, свободную от влияния размеров, ориентации и размещения объектов. В этом блоке можно затем провести анализ главных компонент, дискриминантный анализ, а также оценить влияние аллометрии для прокрустовых координат, относительных деформаций и дискриминантных функций, используя значения размеров центроидов.

Пакет CLIC содержит также блоки VAR (здесь по размерам центроида можно вычислить долю межгрупповой к внутригрупповой дисперсии в виде показателя  $Q_{st}$  — аналога  $F_{st}$ , провести непараметрический ANOVA и оценить повторяемость — repeatability — R), PAD (блок позволяет провести дискриминантный анализ с перестановочными тестами), COV (здесь возможно вычисление дисперсий, ковариаций и показателей морфоразнообразия — disparity) и ASI (блок предназначен для вычисления оценок, связанных с изучением нарушений билатеральной симметрии и проявлением флуктуирующей асимметрии — FA). Во всех блоках имеются возможности визуализации результатов. Все промежуточные отчёты о результатах вычислений, как правило, помещаются в обычном текстовом формате на текстовой панели окна программных блоков, поэтому их можно просматривать и/или сохранять в виде текстовых файлов. Пакет программ CLIC постоянно совершенствуется автором, и регулярно появляются его новые версии, каждая из которых содержит все большие и разнообразные возможности. Как уже отмечалось ранее, начиная с версии 99 (2016), программа стала коммерческой.

### 3.6. ОЦЕНКА ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ ФОРМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ С ПОМОЩЬЮ ПРОГРАММЫ SAGE (SYMMETRY AND ASYMMETRY IN GEOMETRIC DATA)

Программа SAGE разработана Эладио Маркесом (Eladio Márquez) специально для оценки флуктуирующей асимметрии формы. Данная программа распространяется свободно, актуальную на текущий момент версию можно получить по адресу <http://www-personal.umich.edu/~emarquez/morph/index.html>. Программа SAGE написана на языке программирования MATLAB с использованием компилятора MATLAB Compiler Runtime (MCR). Для каждой версии SAGE требуется своя версия компилятора, в противном случае программа работать не будет. Скачать программу установки компилятора (MCRInstaller) можно по указанной выше ссылке, при этом необходимо заранее связаться с Э. Маркесом, чтобы получить от него логин и пароль для скачивания. Другой вариант получить MCRInstaller — скачать его непосредственно с сайта фирмы MathWorks по адресу <http://www.mathworks.com/products/compiler/mcr>. Программа MCRInstaller создаст серию папок с компонентами компилятора, а для правильной работы все содержимое архива с программой должно храниться в одной из них (например, в v81/bin/win32).

Перед началом работы необходимо определить, к какому из двух типов билатеральной симметрии относятся данные. В первом случае левая и правая стороны объекта входят в одну общую конфигурацию, т.е. у объекта есть линия симметрии. Первый тип симметрии можно назвать объектной симметрией (object symmetry), а примером может служить череп млекопитающего, в котором правая сторона симметрична левой. Во втором случае билатерально симметричные структуры образуют каждая свою конфигурацию, линия симметрии в конфигурацию не входит. Такой тип симметрии называется совпадающей (сочетанной) симметрией (matching symmetry), например парные конечности позвоночных или крылья насекомых. В зависимости от типа симметрии в данных будут различаться способы расстановки ландмарок на объектах. При объектной симметрии ландмарки правой и левой сторон объекта расставляются на одном и том же изображении, допустимо также расставлять ландмарки на средней линии. В результате должен получиться один tps-файл с данными. При совпадающей симметрии для каждого антимера существует собственное изображение, на котором и нужно расставлять ландмарки. В данном случае в результате исходно существуют два tps-файла, по одному на каждую сторону объекта. Для корректной статистической оценки величины флуктуирующей асимметрии программе SAGE необходимы минимум две повторности, т.е. несколько tps-файлов

с повторной расстановкой ландмарок на одних и тех же объектах. Список изображений объектов в файлах-повторностях должен полностью совпадать, а также должны полностью совпадать число и расположение объектов в tps-файлах для левой и правой сторон в случае использования данных с совпадающим типом симметрии.

Программа SAGE работает с тремя типами файлов: tps-файл, файл формата IMP и текстовый файл, в каждой отдельной строке которого записываются X и Y координаты всех ландмарок одного объекта по порядку (без колонки с размерами центроида). Запись одного объекта в текстовом файле выглядит так:

X1 Y1 X2 Y2 ... Xn Yn,

где n — количество ландмарок.

Программа способна открывать tps-файлы с информацией о масштабирующем коэффициенте пересчёта пикселей в другие единицы измерения (строка SCALE). Можно использовать также дополнительные масштабирующие ландмарки (ruler). Если в tps-файле присутствуют одновременно и масштабирующий коэффициент, и дополнительные ландмарки, то информация о размерах будет получена из последних. Очень важен порядок организации файла с данными. При объектной симметрии в файле с данными сначала идут все повторности первого объекта, затем второго и т.д. до последнего объекта. При совпадающей симметрии файл с данными начинается со всех повторностей первого правого объекта, затем второго правого и т.д. до последнего правого, после чего в том же порядке идут конфигурации левой стороны.

Кроме файлов с данными для расчётов, в программе SAGE необходимы два текстовых файла-протокола, структура которых различается в зависимости от типа симметрии. При объектной симметрии потребуется протокол индивидуумов (specimen identification protocol), уточняющий количество отдельных объектов и количество повторностей, а также протокол связи ландмарок (landmark pairing protocol), в котором будет указано соответствие ландмарок правой и левой сторон объекта. Протокол индивидуумов представляет собой текстовый файл с одной колонкой цифр: все повторности первого объекта в нём обозначаются цифрой 1, второго — цифрой 2 и т.д. В протоколе связи ландмарок содержится две колонки, в одной из которых перечислены ландамарки левой стороны объекта, а в другой соответствующие им ландамарки правой стороны. У ландмарок, лежащих на средней линии, нет антимеров, поэтому в протоколе такие ландамарки перечисляются в самом начале в левой колонке, а в соответствующих им строках правой колонки ставится 0. Пример организации протокола индивидуумов (а) и связи ландмарок (б) приведен ниже:

а) 1	б) 1	0
1	2	0
2	3	0
2	4	5
3	6	7
3	8	9

Как видно из протоколов, файл с данными состоит из трёх объектов, каждый в двух повторностях, общее количество ландмарок равно 9, первые три лежат на средней линии.

При совпадающей симметрии также потребуются два протокола — протокол индивидуумов и протокол сторон. В первом должно быть описано количество отдельных объектов и количество повторностей, а во втором указывается принадлежность изображения к одной из двух сторон объекта. Протокол индивидуумов по организации полностью совпадает с описанным для объектной симметрии случаем, протокол сторон содержит всего одну колонку, в которой цифрой 0 обозначена правая сторона объекта, цифрой 1 — левая. Пример организации протокола индивидуумов (а) и сторон (б) в случае совпадающей симметрии приведен ниже:

а) 1	б) 0
1	0
2	0
2	0
3	0
3	0
1	1
1	1
2	1
2	1
3	1
3	1

Файл с данными состоит из трёх объектов, каждый в двух повторностях: сначала перечислены конфигурации правой стороны объекта, затем в том же порядке — левой.

После этапа подготовки можно приступить к оценке флуктуирующей асимметрии. В окне программы SAGE после запуска активна только одна кнопка — Load data. С её помощью необходимо загрузить файл с данными в программу. Если среди ландмарок имеются две дополнительные масштабирующие (ruler), то справа от кнопки Load data необходимо активировать

функцию Ruler LM, указать номера дополнительных ландмарков, затем нажать кнопку Proceed. Если дополнительных масштабирующих ландмарков нет, следует сразу нажимать кнопку Proceed, а далее указать тип симметрии в данных, нажав на изображение «череп» («объектная симметрия») или «мухи» (совпадающая симметрия). При выборе объектной симметрии появится диалоговое окно ввода протоколов. Нажмите Load specimen identification protocol и кнопку Select, чтобы ввести протокол индивидуумов. Далее нажмите Load landmark pairing protocol и кнопку Select, чтобы ввести протокол связи ландмарков. Когда оба протокола будут открыты, нажмите кнопку Done. Если была выбрана совпадающая симметрия, то в появившемся диалоговом окне ввода протоколов нужно ввести протокол индивидуумов (аналогичный описанному выше) и протокол принадлежности сторон (функция Load side identification protocol).

Оценка флуктуирующей асимметрии в программе SAGE производится методом двухфакторного дисперсионного анализа. Различия между отдельными объектами являются одним из факторов, различия между сторонами объекта — вторым фактором. Флуктуирующая асимметрия при этом рассчитывается как взаимодействие случайного и фиксированного факторов в смешанной модели (см. Palmer, Strobeck, 1986; Palmer, 1994). В программе SAGE реализованы два варианта дисперсионного анализа — одномерный (Procrustes ANOVA) и многомерный (MANOVA). Для обоих вариантов анализа доступна параметрическая оценка уровня значимости различий и непараметрическая с использованием перестановочного теста (permutation test). Если объём выборки не превышает  $2n-4$ , где  $n$  — количество ландмарков, то параметрическая оценка при многомерном дисперсионном анализе будет некорректной и лучше воспользоваться перестановочным тестом.

Функции одномерного и многомерного дисперсионного анализа располагаются в правой части окна программы: в синей и желтой области соответственно. В данных областях галочками можно указать предпочитаемые варианты анализа. После того как необходимый вариант анализа выбран, можно дополнительно выбрать опцию Perform PCA of variance components в правом нижнем углу окна программы. Данная опция позволяет визуализировать различия формы объекта между сторонами с помощью трансформационной решётки. После того, как программа выполнит все вычисления, результаты можно просматривать непосредственно в выпадающих меню в синей (Procrustes ANOVA) и желтой (MANOVA) областях панели программы. Также можно сохранить полную таблицу результатов в виде текстового файла, нажав на кнопку Save results to text file. Под окном визуализации расположено выпадающее меню, в котором можно выбрать, какой из ком-

понентов асимметрии (направленная или флуктуирующая) будет проиллюстрирован.

Непосредственно из программы SAGE изображение с соответствующей трансформационной решёткой можно получить следующим образом. Щёлкните левой клавишей мыши на свободное от трансформационной решётки поле графика сверху или снизу, затем сначала щёлкните правой клавишей, а левой клавишей выберите в появившейся панели нужную опцию: 1 — Change plot appearance (Изменить свойства появившегося графика), 2 — Save as image (Сохранить в виде изображения). В первом случае можно: 1 — изменить размер изображения (Grid expansion) — при увеличении значения размер объекта уменьшится; 2 — изменить плотность сетки (Grid density); 3 — преувеличить или приуменьшить степень деформации на изображении (Deformation exaggeration); 4 — увеличить длину вектора деформации референсной решётки в направлении совпадения с целевой ландмаркой (Vector magnification). Во втором случае можно сохранить изображение в одном из подходящих для пользователя графических форматов (\*.tif — TIFF; \*.bmp — Windows bitmap; \*.emf — Enhanced metafile; \*.eps — Encapsulated Level 1; \*.jpg — JPEG; \*.pcx — Paintbrush 24-bit). Имеется также возможность сохранить результаты анализа в виде файла в формате IMP, а затем открыть его в данном пакете и уже там получить нужное изображение. Чтобы сохранить симметричную и/или асимметричную компоненты конфигурации объектов в виде текстового файла, следует сначала выбрать в выпадающем меню File пункт Save fitted data, а далее либо пункт individual component (symmetry), либо пункт interaction component (asymmetry).

В заключение заметим, что автор этой программы создал серию других программ, использующих методы геометрической морфометрии: Mint 1.06 (Modularity and Integration analysis tool for morphometric data, 2008) — для поиска морфогенетических модулей формы; CORIANDIS 1.1 (Correlation analysis based on distances, 2007–2008) — для визуализации корреляций с учётом ландмарок и иных типов данных; Mace 1.0 (Matrix correlations for landmark data, 2003–2006) — для визуализации и сравнения корреляционных матриц, основанных на данных с применением ландмарок; Lori 1.01 (Model-based Estimation of Local Shape Deformations, 2012; Márquez et al., 2012) — для оценки переменных формы, которые измеряют локальные различия (мельчайшие по площади в пределах конфигураций) в форме между индивидуальными объектами и их Прокрустовой средней. Разработанные Э. Маркесом программы весьма эффективны для изучения и визуализации межгрупповых морфогенетических изменений в процессе развития.

### 3.7. ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГРАММЫ MORPHOJ

**MorphoJ** ([http://www.flywings.org.uk/MorphoJ\\_page.htm](http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_page.htm)) — распространяемый свободно (freeware) пакет программ для геометрической морфометрии на основе использования двух- и трёхмерных конфигураций ландмарков. Автором пакета является выдающийся специалист в области морфометрического анализа, а также его эволюционных и таксономических приложений Кристиан Клиндженберг (Klingenberg, 2011). Программы написаны на языке Java и могут запускаться на любом компьютере, где можно установить виртуальную машину Java (она распространяется свободно). Это позволяет использовать MorphoJ на компьютерах с разными платформами, включая Microsoft Windows, Apple Macintosh, Linux и Unix. В данном пакете программ используются только конфигурации ландмарков (landmarks) и нет приложений, нацеленных на обработку цепочек последовательных меток, которые распределены равномерно вдоль контурных кривых, характеризующих форму (outlines). Поскольку мы имели опыт работы с данным пакетом программ лишь для Microsoft Windows, далее речь пойдёт об использовании только этой версии программы (на указанном выше сайте доступны версии для всех перечисленных операционных систем).

MorphoJ работает с тремя типами иерархически организованных информационных блоков: проектами (projects), комплектами данных (datasets) и матрицами данных (data matrices). *Проект* представляет собой подборку всех *комплектов* данных, графики и итоги проведённых анализов данных, полученных разными методами. Структура проекта отображается в виде дерева, иерархически увязывающего все материалы (рис. 3.22).

Выбирая тот или иной иерархический блок дерева, можно вновь просмотреть текстовые или графические результаты, дополнительно обработать полученные данные, а также экспортировать результаты для дальнейшего анализа с помощью других статистических программ. Аналогичное виртуальное дерево имеется, например, в свободно распространяемом пакете статистических программ проф. Ф. В. Янга (Young, 2001) ViSta — The Visual Statistic System Version 6.4.3436-EWU. Пакет Statistica версий 6.0–10.0 также содержит возможность сохранения всех промежуточных результатов, но в виде рабочей книги (Workbook). Заметим, что это делает полученные результаты компактными и взаимосвязанными, что, безусловно, оказывается удобным и полезным при анализе данных, позволяя неоднократно возвращаться к материалам предыдущих вычислений.

Программа MorphoJ не способна работать одновременно с несколькими проектами. С её помощью можно осуществлять исследования только по одному проекту. Однако число блоков, включённых в проект, строго не

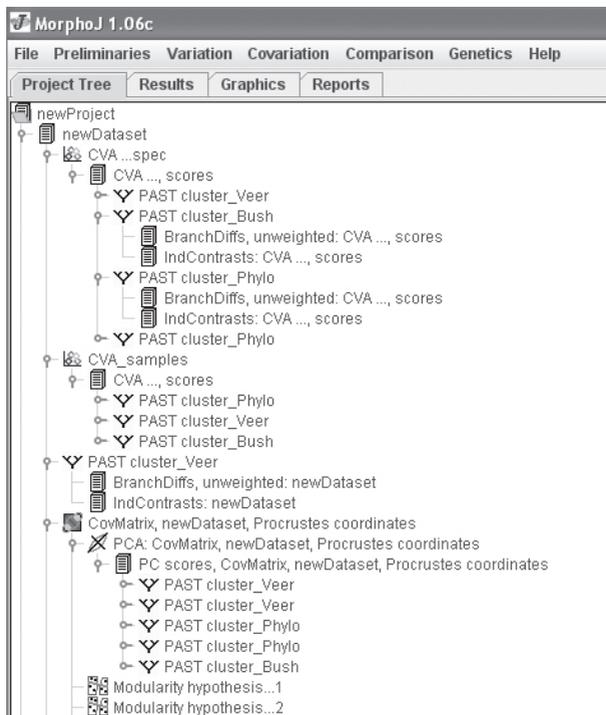


Рис. 3.22. Иерархическая структура дерева проекта (project) в программе MorphoJ, где ярлычки отображают путь доступа к комплектам данных (datasets), матрицам данных (data matrices) и итоговым результатам вычислений с помощью разных программных модулей.

ограничено. Проект может включать, например, данные, необходимые для написания статьи и т.д.

Комплект, или набор данных (Dataset), представляет собой блоки информации, которые наиболее тесно связаны с проведением определённого статистического анализа (необходимы для него). Он объединяет сведения о расстановке ландмарков для каждого индивидуума, прокрустовы координаты, определённые метчики-идентификаторы и классификаторы, внешние матрицы и т.д. Другой важный аспект использования комплектов данных — возможность при каждом анализе складывать вместе материалы, необходимые для его проведения, причём вместе с результатами и графическими визуализациями. Как уже отмечалось, это позволяет вновь возвращаться

к проведённым расчётам, изменять их условия и кратчайшим путем получать новые материалы, которые можно легко сравнить с уже запасёнными результатами. Последние, включая графики, можно экспортировать для использования в других программах. Каждый комплект данных (Dataset) может состоять из нескольких частей — например, содержит несколько матриц данных (матрицы координат по строкам, координат формы после Прокрустова выравнивания (прокрустовых координат), центроидные размеры и др.). Каждая матрица данных соответствует определённому типу данных (type of data). MorphoJ запасает эти матрицы автоматически, но пользователь почти всегда имеет возможность выбора типа данных. Каждая матрица данных содержит одну или несколько переменных (variables). Кроме того, вводятся специальные переменные, которые называются идентификаторами наблюдений (identifiers), а также переменные-классификаторы (classifiers), характеризующие групповую принадлежность объектов, и ковариаты (covariates), представляющие собой количественные внешние данные (например, содержание тех или иных техногенных поллютантов в организме, масса надпочечника, длина черешка и др.).

Поскольку данная программа способна выполнить многие стандартные, а также некоторые нестандартные статистические процедуры геометрической морфометрии, требуется заранее хорошо продумать содержание исследовательского проекта, сформулировать цель и гипотезу, которую следует проверить, а также подготовить необходимые файлы сопровождения.

Наиболее простой путь ввода данных в MorphoJ — использование tps-файлов (см. выше), а также заранее подготовленных файлов-классификаторов. Tps-файл, исходя из целей данной работы, может быть элементарным (например, соответствует выборке молодых самцов) или композитным, т.е. состоящим из нескольких элементарных блоков (например, молодые и взрослые самцы и самки — четыре последовательно объединённые выборки). Как уже говорилось выше, композитные tps-файлы удобно формировать в программе tpsUtil с помощью операции «Append files» — «подклеивания файлов», предварительно сложив элементарные tps-файлы в общую папку (каталог). Напомним, что при выполнении в программе tpsUtil процедуры подклеивания (объединения) последовательности элементарных файлов в один общий следует заранее, прежде чем нажать клавишу «Create» (Создать), выбрать опцию — сохранить идентификаторы групповой принадлежности «Save -> GroupID». Из полученного nts-файла, как и из заготовки в любом текстовом редакторе (например, WordPad), легко сделать основу для будущей переменной-классификатора, например, убрав две первые поясняющую и форматизирующую строки и оставив

колонку цифр или имен, связанных с порядком расположения объектов в tps-файле. Из этой текстовой колонки и копируется данная информация в ячейки нужной колонки (столбца) идентификатора в MorphoJ.

Загрузив MorphoJ, первым делом в строке меню выберите «File», а в появившемся меню — опцию «Create New Project». Если ваша задача является стандартным случаем применения геометрической морфометрии (двумерная расстановка ландмарков), следует выбрать в строке «File type» — TPS. Затем в строке «Look In:» укажите каталог (папку), в котором находится нужный tps-файл, и выберите его с помощью мыши. При этом имя файла появится в строке «File Name». Завершая этот этап, нажмите клавишу «Create Dataset».

В появившейся второй строке меню щёлкните мышью по ярлычку «Project Tree» (дерево Проекта). Появится схематическое изображение начального дерева проекта (его основание). В верхнем блоке написано название проекта, а в следующем нижнем, подчиненном блоке указано наименование комплекта данных — «newDataset». С помощью мыши установите курсор и выберите этот нижний блок. Затем откройте в верхней строке меню блок «Preliminaries» (Предварительные действия), в списке опций выберите первую строку — «New Procrustes Fit» (Новая Прокрустова подгонка), а в возникшем окне следует согласиться с установкой опции «Align by principal axis» (Выравнивание по главным осям) и нажать клавишу «Perform Procrustes Fit» (Выполнить Прокрустову подгонку). При этом можно заранее поискать вылетающие из ряда значения — «outliers» и выбрать следующую строку меню «Предварительных действий» — «Find outliers» (Найти уклонения). Это полезно в некоторых ситуациях. Иногда, если расстановка ландмарков в программе tpsDig проводится без предварительной установки следящего шаблона (Template), возможны ошибки в порядке выбора смежных гомологичных меток. Например, метку 12 можно ошибочно поставить на позицию метки 13, а последнюю установить на позицию предыдущей. Визуализатор (окно слева сверху) в блоке «Find outliers» позволит легко обнаружить эту ошибку при последовательном просмотре ранжированных объектов (окно слева внизу). При обнаружении ошибки данного типа следует выбрать опцию «Swap landmarks» — «Взаимная замена меток», в появившемся окне выбрать нужные номера меток и нажать клавишу «Ok». В итоге произойдёт обмен номеров у меток — 12 станет 13, и наоборот. При выходе из блока нажмите клавишу «Accept» — «Принять».

При стандартной ситуации следующий шаг после Прокрустовой подгонки — создание ковариационной матрицы, необходимой для проведения дальнейшего анализа — опция меню «Generate Covariance Matrix». В итоге

не только будет создана ковариационная матрица, но и произведена визуализация консенсусной (усреднённой) конфигурации ландмарков и разброс координат особей вокруг них. Для более удобной визуализации преобразований формы полезно в меню «Предварительных действий» выбрать опцию «Create or Edit Wireframe» (Создать или редактировать каркасную модель). При этом нужно вновь на «дереве Проекта» установить курсор на блоке «newDataset» и лишь затем выбрать данную опцию.

Создание каркасной модели (конфигурации) размещения ландмарков на изображении объекта исследования — ответственный процесс. Заранее необходимо продумать, какие из ландмарков следует соединить линиями, чтобы добиться выразительности трансформируемой каркасной модели объекта. В открывшемся окне слева сверху выбирайте нужные пары ландмарков, а затем, нажав левую клавишу мыши, протяните линию, соединяющую эти метки. В результате повторения процедуры между ландмарками прорисовывается каркасная линия, а в окне справа появится запись о связи данных пар меток. Другой более медленный способ — выбор в верхней строке правого окна соответствующих номеров ландмарков и подтверждение их соединения при нажатии клавиши «Link landmarks» — «Соединить метки». Если была набрана ошибочная пара меток и возникла нежелательная линия, то в общем списке набранных пар связанных ландмарков мышью выберите ту из них, которая соответствует ошибочному соединению, и нажмите клавишу «Delete link» — «Удалить соединение», после чего линия на рисунке исчезнет. Запасенная версия каркасной модели может неоднократно редактироваться. Она доступна в большинстве графических моделей ландмарков в разных видах статистического анализа для данного проекта. Заметим, однако, что при редактировании каркасной модели уже после того, как были сделаны расчёты, новая модель становится доступной лишь в новых расчётах, а в старых остается прежняя модель. Поэтому приходится вновь пересчитывать некоторые прежние блоки для того, чтобы проявилась измененная каркасная модель.

Завершает предварительные действия по подготовке комплекта данных к работе — редактирование переменной классификатора. Для этого в меню в дереве проекта нужно установить курсор на блок — «newDataset» и выбрать в «Preliminaries» опцию — «Edit classifiers». В открывшемся окне слева появится ряд строчных числовых идентификаторов особей в данной выборке. Для создания переменной, являющейся классификатором, т.е. указывающей принадлежность данной особи к определённой группе, нажмите на клавишу «Add classifier» и дайте условное название этой переменной (нажмите клавишу «ОК»). Затем откройте в текстовом редакторе или MS Excel тот ID-файл

(с расширением NTS), который был создан при формировании исходного композитного tps-файла в программе tpsUtil. Скопируйте колонку числовых строчных идентификаторов групп (сочетание двух клавиш Ctrl+C) и вставьте её (сочетание клавиш Ctrl+V) в пустую колонку нового классификатора в MorphoJ. Затем выберите колонку классификатора, щёлкнув левой клавишей мыши по верхней ячейке с именем классификатора, и подтвердите правильность сделанного, нажав клавишу «Асцепт».

На этом обычный минимум подготовительных действий завершается и можно приступить к статистическому анализу данных. Следует отметить, что предварительные действия (preliminaries) не исчерпываются теми, о которых мы говорили выше. В меню «Preliminaries» имеются опции, позволяющие изменить набор ландмарков, добавить и отредактировать переменную ковариат, подразделить комплект данных на подблоки, используя переменную-классификатор, а также выбрать опцию усреднения центроидных размеров прокрустовых координат по выборкам, объединить комплекты данных и т.д.

Для проведения дальнейших расчётов методом главных компонент в дереве проекта «Project tree» поставьте курсор на блок «CovMatrix, newDataset, Procrustes coordinates», а затем в верхней строке меню выберите блок «Variation» и в его меню опцию — «Principal Component Analysis». После этого на экране появится конфигурация ландмарков, где векторы обозначают направление и степень их смещения по отношению к референсной модели вдоль данной главной компоненты. Нажимая правую клавишу мыши, можно вызвать всплывающее окно, в котором в первой верхней строке содержится опция по выбору той или иной главной компоненты. Во второй строке имеется возможность изменить значение коэффициента утрирования (Set Scale Factor) длины векторов (это важно при слабой изменчивости формы для того, чтобы всё же увидеть направления смещений ландмарков).

Другие опции позволяют повернуть или зеркально отразить изображение ландмарков, а также изменить размер самих ландмарков и число горизонтальных и вертикальных линий при выборе сопровождающей трансформационной решётки. Имеется также возможность визуализировать разные варианты конфигурации ландмарков: в виде точек-ландмарков с векторами, их изображения на фоне трансформационной решётки, каркасной модели, а также, если заранее в tpsDig программе было подготовлено фоновое изображение объекта с помощью контурных кривых (outlines), его можно импортировать и вставить в качестве динамического фона. В справочном файле MorphoJ для последнего случая дается инструкция как это сделать, но некоторые последовательные шаги этого процесса требуют предоставить читателю некоторые дополнительные пояснения.

Произвольный аутлайн — контурное «художественное» изображение объекта требуется в случаях, когда каркасное изображение слишком грубо передает его модель при визуализации. Для создания и импортирования произвольного аутлайна требуется: 1 — загрузить с помощью tps-файла одно из изображений объекта в окно tpsDig2 (напомним, что фотографии должны находиться в той же папке, что и tps-файл); 2 — выбрать в меню опцию «желтый карандаш» (draw background curves) и щёлкая левой клавишей мыши и сдвигая вдоль края объекта курсор обвести его контур в том числе и по уже проставленным заранее ландмаркам (при этом для выразительности можно провести несколько отдельных линий, но не более 12); 3 — после проведения каждой линии можно вызывать правой клавишей мыши вспомогательную панель опций, выбрать Resample curve и изменить число поставленных полуметок с учётом длины линии (=by length), т.е. распределить их равномерно; 4 — сохранить данную версию tps-файла с прорисованным контурным изображением одного объекта, а затем открыть этот файл в WordPad и скопировать в буфер памяти новый его текстовый фрагмент, включающий строки координат исходных ландмарок, curves, points и координаты полуметок (не копируйте строки, включающие LM=, IMAGE=, ID=); 5 — откройте MS Excel, поместите текстовый фрагмент на странице в позицию B1, замените в текстовых колонках точки на запятые, превратите текст в данные по столбцам; 6 — в колонке A разместите кодирующие цифры: против каждой пары координат исходных ландмарок поставьте нуль, удалите строку Curves=, ниже первой строки Points= для строк координат полуметок поставьте цифру 1, ниже второй строки Points= каждую строку координат маркируйте цифрой 2 и т.д. (по числу проведённых линий — curves), а затем удалите все строки, содержащие Points=; 7 — скопируйте три созданные колонки чисел в буфер памяти и сохраните их в WordPad как неформатированный текст; 8 — в программе MorphoJ с загруженным tps-файлом в дереве Project Tree выберите кликом левой клавиши мыши исходный файл, полученный после Procrustes Fit, и в меню File выберите строку Import Outline File...; 9 — в открывшемся окне выберите заранее сохранённый в WordPad текстовый файл, после чего в дереве Project Tree внизу появится элемент outline; 10 — выберите в Project Tree нужный блок, например CVA, затем щёлкнув правой клавишей мыши, выберите Display Graphs и в графическом окне CV shape changes, вновь щёлкнув правой клавишей мыши, в открывшейся панели выберите Change The Type of Graph... и Warped Outline Drawing. В итоге на графической панели появится два контурных рисунка: голубой соответствует референсной консенсусной конфигурации ландмарок, а синий — деформации конфигурации ландмарок в области положительных значений CV1 (по умолчанию).

Наконец, можно распечатать то или иное изображение, экспортировать и сохранить его по умолчанию в формате SVG-файлов (дальнейший их просмотр и работа с ними доступны с помощью свободно распространяемой графической программы Inkscape). При желании можно экспортировать графическое изображение в других графических форматах (\*.eps – Encapsulated PostScript, \*.swf – Macromedia Flash, \*.pdf – Portable Document Format, \*.ps – PostScript, \*.emf – Windows Enhanced Metafile, \*.gif – Graphics Interchange Format, \*.bmp – BMP image file, \*.png – PNG image file). Мы рекомендуем использовать векторные emf-файлы, которые затем могут быть легко обработаны в CorelDraw или иных векторных графических программах (Inkscape, CorelXARA 2, Xara Xtreme Pro 5).

Наряду с этой графической моделью размещения ландмарок программа предусматривает автоматическое формирование двух других графиков: распределения доли объясненной дисперсии вдоль главных компонент и скаттер-диаграммы индивидуальной изменчивости объектов по форме в пространстве соответствующих главных компонент (выбор визуализации индивидуальной изменчивости формы вдоль нужной компоненты тоже возможен с помощью правой клавиши мыши).

Для выделения групповой принадлежности объектов можно использовать классификаторы. Находясь на графической панели с ярлычком «PC scores», нажмите на правую клавишу мыши и выберите в открывшейся дополнительной панели меню опцию “Color the Data Points”. Появится новая панель, в которой поставьте мышью галочку выбора в верхней ячейке “Use a classifier variable to determine the color for each category”. После этого станет доступной ячейка с именами классификаторов, расположенная ниже. Для выбора классификатора из списка нажмите на черный треугольник-стрелку справа от названия первого классификатора и выберите нужный вариант. Ниже в окне классов (Classes), обозначающих групповую принадлежность по условиям данного классификатора, можно откорректировать цвета точек объектов разных групп. Для этого щёлкните мышью по названию класса в окне, затем выберите мышью в палитре тот квадратик, который имеет нужный цвет, и подтвердите выбор, нажав на нижнюю левую кнопку «Use color». Для просмотра изменения цвета точек данной группы на графике нажмите на нижнюю правую кнопку «OK». Можно также в дополнительном графическом меню выбрать опцию «Resize Data Points» и поставить нужную цифру, означающую диаметр точки, выраженный в числе экранных пикселей. При выборе опции «Confidence ellipses» появляется интересная возможность построения для каждой группы объектов эллипсоидов, включающих заданный процент дисперсии выборки (по умолчанию 90%) или эллипсов, соответствую-

ющих величине доверительных интервалов для групповых средних (центроидов). После выбора опции в открывшемся меню проставьте галочку мышью в верхней ячейке «Draw ellipse(s)», затем выберите тип эллипса и укажите нужную вероятность. Проставьте галочку мышью в ячейке «Use classifier as a criterion for grouping observations», что позволит выбрать из списка нужный классификатор групповой принадлежности. Рекомендуем также выбрать и следующую, указанную ниже, опцию, которая позволит присвоить эллипсам цвет объектов данной группы. Все другие опции в этом графическом меню не требуют пояснений и вполне понятны.

В блоке «Results» (результаты), расположенном во второй строке меню в текстовом формате, осуществляется непрерывная допечатка очередных результатов статистического анализа данных (рис. 3.23).

```

MorphoJ 1.06c
File Preliminaries Variation Covariation Comparison Genetics Help
Project Tree Results Graphics Reports
Canonical Variate Analysis: CVA ...spec

Dataset: newDataset
Classification criterion: species

Groups Observations
1. 1 68
2. 2 23
3. 3 41

Variation among groups, scaled by the inverse of the within-group variation

Eigenvalues % Variance Cumulative %
1. 5,29850672 72,369 72,369
2. 2,02305073 27,631 100,000

Mahalanobis distances among groups:

1 2
2 5,3259
3 4,7762 4,2093

P-values from permutation tests (10000 permutation rounds) for Mahalanobis distances among groups:

1 2
2 <.0001
3 <.0001 <.0001
    
```

Рис. 3.23. Пример выдачи результатов расчётов на текстовой панели MorphoJ при выборе блока «Results» в строке ярлыков основного меню программы.

Для вычисления регрессии формы на размер центроида нужно сначала выбрать блок «Covariation» в верхней строке меню, затем опцию «Regression» и в открывшемся окне щёлкнуть мышью в верхнем левом блоке (в зоне зависимой переменной — *Dependent variable*) на нужный комплект данных (*dataset*), например *newDataset*. Аналогично этот же блок выбирается в верхнем правом блоке. При этом в расположенных ниже блоках (окнах) необходимо выбрать соответствующие матрицы данных: справа можно выбрать матрицу «*newDataset, Procrustes coordinates*», а слева — матрицу «*newDataset, centroid size*». В расположенной ниже паре блоков нужно выбрать соответствующие переменные (*variables*): справа имеется единственный выбор — Прокрустовы координаты — «*Procrustes coordinates*», а слева — «*Centroid Size*» (размер центроида) или, что правильнее, «*Log Centroid Size*» (логарифм размера центроида). Следующий шаг состоит в том, чтобы пометить (щёлкнуть мышью в пустом квадратике) необходимость подключения перестановочного теста (*permutation test*) и уточнить число раундов (по умолчанию предлагается 10 000 повторных вычислений — реплик, с чем правильнее будет согласиться). В завершение нужно решить, следует ли подразделять вычисление регрессии по субвыборкам, соответствующим классификатору, или производить вычисление по объединённому материалу. Если подразделение требуется, то щёлкните мышью в соответствующем пустом квадратике и выберите нужный классификатор (в вашем проекте их может быть несколько). В завершение установки опций нажмите на клавишу «Execute» — «Выполнить».

Все текстовые результаты расчёта подклеиваются к предыдущим и размещаются в блоке меню «Results». При расчёте регрессии приводятся регрессионные коэффициенты, соотношение сумм квадратов, характеризующих общую дисперсию, а также предсказанную и остаточную компоненты общей дисперсии, вычисляется доля предсказанной дисперсии (%). В завершение даются итоги перестановочного теста (по умолчанию предлагается выполнить 10 000 раундов повторных расчётов) и оценивается вероятность нулевой гипотезы (отсутствия зависимости). Графические итоги представлены в двух вариантах. В первом визуализируется смещение меток, обусловленное регрессией, характеризующее изменение формы (*Shape changes*), а во втором — проецирование координат особей в плоскости, например образованной вдоль оси *X* размерами центроида и вдоль оси *Y* — координатами регрессии прокрустовых координат (см. в качестве примера результаты, полученные в работе Drake, Klingenberg, 2008). Регрессия переменных формы на размеры центроида позволяет оценивать влияние аллометрии.

В этом же разделе меню «Covariation» существует возможность расчёта методом двублочных частных наименьших квадратов (*partial least squares*

— PLS). В алгоритме расчётов учитывается не только качество получаемой аппроксимации, но и дисперсия линейной комбинации, на основе которой делается предсказание. При этом, чем больше данная дисперсия, тем надежнее оценки и предсказательные свойства регрессии. В данном случае максимизируется коэффициент ковариации между зависимой переменной и аппроксимирующей её линейной комбинацией независимых переменных (Ефимов, Ковалева, 2008). Переменные с нулевой или малой дисперсией не вносят никакого вклада, что усиливает предсказательные свойства регрессии. К. Клиндженберг подчеркивает, что 2B-PLS-регрессия позволяет исследовать паттерны ковариации между формой и другими переменными (в частности, средовыми переменными, данными экспериментов, формой других структур). Данная процедура позволяет идентифицировать те черты формы, которые имеют наибольшую ковариацию с другим набором переменных. Поэтому PLS-анализ нацелен не только на поиск сочетающихся ковариационных паттернов, но также, до некоторой степени и оценку силы их связи. Преимущество метода состоит в том, что он позволяет найти общие ковариационные тенденции для разного набора признаков, но для одних и тех же объектов. Например, мы имеем возможность на одних и тех же экземплярах бабочек оценить сопряженность вариации формы передних и задних крыльев, конфигурации которых имеют разное число ландмарок!

Интерфейс ввода сопряженных данных аналогичен тому, который был описан выше для регрессионного анализа. В результате расчётов для каждого блока данных (например, значений главных компонент (PC) в первом блоке и канонических переменных (CV) — во втором) программа строит несколько графиков. Первыми формируются графики величин и направлений вкладов соответствующих переменных для каждого из двух блоков данных. Графики (Block1, Block2) в целом напоминают структуру биплотов, распространённых в программах расчёта главных компонент, но при этом координаты значений самих объектов относительно PLS-переменных строятся на отдельных графиках. Щелчок правой клавишей мыши по графику выводит всплывающее меню с опциями, позволяющими выбрать нужное сочетание номеров PLS-осей, распечатать картинку на принтере или запасти график в файл. На отдельном графике строится гистограмма, показывающая относительные величины вкладов каждой PLS-переменной в процентах от общей квадратованной ковариации. Имеется возможность построить графики скаттер-плоты индивидуального рассеивания объектов в плоскости произвольно выбираемых PLS-осей между блоками (PLS scores, block 1 & 2), центрированными по группам (Group-centred PLS scores) и каждому блоку в отдельности (Scores block 1, Scores block 2).

Итоги расчётов в текстовой форме доступны после выбора мышью на дереве проекта значка PLS, содержащего результаты расчётов, затем с помощью правой клавиши мыши открывается дополнительная панель, в ней выбирается опция Display Results. В открывшейся текстовой панели после надписи «Partial Least Squares Analysis: PLS» приводятся детали результатов расчётов. Для каждого блока указываются переменные, которые были включены в анализ, а также объём выборки (Total sample size). Далее для каждого блока в табличной форме приводятся матрицы PLS-коэффициентов (PLS Coefficients). Ниже дается оценка силы связи между блоками в виде множественного коэффициента корреляции RV и результаты перестановочного теста (Permutation test) с 10000 случайных раундов перестановки в виде вероятности выполнения условий нулевой гипотезы ( $P$ -value). В завершение в табличном виде приводятся оценки для каждой PLS-оси величин сингулярности (Singular value) с соответствующей оценкой значимости ( $P$ -value (perm.)), доля от общей ковариации блоков (% total covar.), коэффициент корреляции (Correlation) и его значимость ( $P$ -value (perm.)).

Наряду с возможностью проведения расчётов для двублочной модели программа позволяет выполнить такие расчёты и внутри конфигурации (Partial Least Squares Analysis: PLS within config). Выдача графических результатов при этом меньше по разнообразию, чем в предыдущем случае, а текстовые результаты выдаются в той же форме.

В блоке меню «Covariation» предусмотрена также возможность проверки гипотезы о модульной структуре данного объекта. Это один из наиболее интересных фрагментов программы MorphoJ. На основе перебора всех связей между ландмарками, входящими в конфигурацию, появляется возможность построить гипотезу о наличии модулей (относительно независимо формирующихся в морфогенезе фрагментов морфоструктуры), а затем её проверить. Это осуществляется с помощью сравнения исходного гипотетического группирования связей между ландмарками и того, которое выявляется на основе перестановочного теста по расчётам многомерного коэффициента корреляции RV. Границы между возможными модулями определяются по минимуму связей между наборами ландмарок.

Для проведения расчётов выберите ковариационную матрицу, которую можно, например, вычислить в блоке меню Preliminaries -> Generate Covariance Matrix, используя исходный комплект данных NewDataset в дереве проекта (Project Tree). Затем в блоке меню Covariation в нижней строке выберите подпрограмму Modularity: Evaluate Hypothesis. Откроется стартовая графическая панель с изображением конфигурации ландмарок вашего объекта, связанных друг с другом линиями. Щёлкните мышью по ярлычку

с надписью *Select subsets of landmarks* и в открывшейся новой графической панели в квадратной ячейке (боксе) справа вверху укажите число ожидаемых модулей (по умолчанию их 2). Затем нужно указать принадлежность ландмарков к соответствующим гипотетическим модулям. Принадлежность к первому модулю исходно задана для всех ландмарков, поэтому те из них, которые, по вашему мнению, относятся к первому модулю, выделять не нужно. Начните выделять ландмарки, принадлежащие ко второму модулю (*Set 2*). Удерживая клавишу *Ctrl*, щёлкните мышью в расположенном ниже вертикальном прямоугольном окне по ландмаркам данного (второго) блока (*Set 2*). Далее выберите внизу номер этого блока, для чего нажмите мышью на черный треугольник-стрелку справа от размещенного внизу бокса (ячейки), а затем ткните мышью в открывшемся списке в нужный номер модуля, например *Set 2*. После этого нажмите справа на клавишу «Assign» — «Присвоить». Если модулей больше, чем два, то продолжите распределение ландмарков по модулям. В завершение процесса нажмите клавишу «Accept» справа внизу панели. Вновь откроется стартовая графическая панель этой подпрограммы, где будет изображено распределение ландмарков по соответствующим гипотетическим модулям, причём принадлежность ландмарков будет помечена определённым цветом. Затем следует выбрать способ оценки гипотезы: 1 — полный перебор готового блочного разбиения (*Full enumeration of partition*), 2 — случайные блочные разбиения (*Random partitions*). В последнем случае нужно уточнить и число случайных разбиений. Обратите внимание на выбор опции «Contiguous partitions only». Если в этой ячейке стоит галочка, то это означает, что оценка гипотезы будет проводиться только для смежных (*contiguous*) разбиений.

Для старта проверки гипотезы нажмите внизу справа кнопку «Accept». После достаточно быстрых вычислений появится новая графическая панель, на которой будет размещена гистограмма распределения значений коэффициента корреляции *RV* и стрелкой помечено его минимальное значение, которое позволяет компромиссно выделить указанные модули. Уточнённый результат разбиения ландмарков по модулям и их выявление представлены на другом графике, открыть который можно щёлкнув мышью по соседнему ярлычку «Minimum covariation». Гипотетическая исходная модель доступна при нажатии левого ярлычка «Hypothesis». Можно сравнить полученный результат с исходной гипотезой, поочередно щёлкая по этим крайним ярлычкам графической панели.

Результаты в текстовой форме можно посмотреть, нажав на ярлык меню «Results». В любой момент результаты можно найти и находясь в дереве проекта. Это возможно для получения подобной информации во всех

подпрограммах MorphoJ. Надо только выбрать левой клавишей мыши необходимый ярлык на дереве проекта, который соответствует той или иной подпрограмме, и щёлкнуть правой клавишей, а затем выбрать в меню нужную опцию «Display Results» (рис. 3.24).

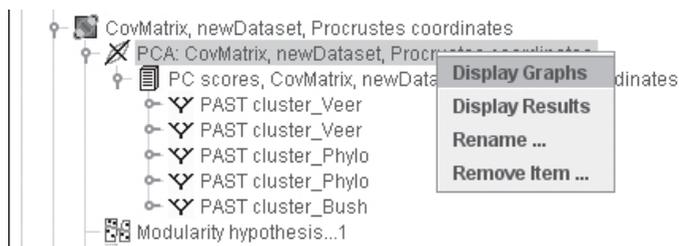


Рис. 3.24. Всплывающее меню (отклик на правую клавишу мыши), появляющееся при выборе левой клавишей мыши ярлычка на дереве проекта, которое позволяет оперативно выбрать нужную опцию: просмотр графических (Display Graphs) и текстовых (Display Results) результатов, переименование ярлычка (Rename...), удаление ярлычка (Remove item) и всех связанных с ним результатов.

В дереве проекта результаты проверки гипотезы модульной принадлежности ландмарков можно будет найти по ярлычку с надписью «Modularity hypothesis...». Выберите этот ярлык на дереве проекта и нажмите правую клавишу мыши, а затем выберите «Display Results». В появившейся текстовой панели после текста заголовка «Evaluation of the hypothesis on modularity: Modularity hypothesis...» будут размещены итоги вычислений. Вначале указывается число модулей (Number of subsets of landmarks), затем перечисляются номера ландмарков, входящих в гипотетические модули (Landmarks in the subsets of the a-priori hypothesis) и дается исходное значение коэффициента корреляции  $R_V$  для этого разбиения. Далее приведены итоги проверки гипотезы: указано число вариантов разбиений, число разбиений с меньшей величиной  $R_V$ , чем для априорной гипотезы, их доля (вероятность) от общего числа разбиений, минимальное значение  $R_V$  для финального разбиения с минимальной ковариацией, а также соответствующее этому уровню  $R_V$  распределение номеров ландмарков по модулям (Landmarks in the subsets).

Рассмотрим подпрограммы блока меню «Comparison». Верхняя строка «Canonical Variate Analysis» запускает подпрограмму канонического анализа. В открывшейся панели нужно выбрать в списке нужный комплекс данных «Dataset», нажав предварительно на черный треугольник справа.

Автоматически в окне «Data type», расположенном ниже, высвечивается соответствующий блоку набор прокрустовых координат, и расчёты проводятся по этим переменным. Ниже в списке следует указать нужное имя переменной классификатора для группирования объектов, щёлкнув по имени левой клавишей мыши. Рекомендуется также выбирать опцию выполнения перестановочного теста «Permutation test for pairwise distances» и, при особом желании, уточнить число повторных перестановок (мы рекомендуем не изменять число). После завершения всех установок опций нажмите кнопку «Execute» — «Выполнить». В результате появится графическая панель «CV shape changes», на которой по умолчанию появится изображение диаграммы Клиндженберга, характеризующее изменение целевой конфигурации ландмарков в виде «леденцов на палочке» (lollipop): точки означают положение стартовой конфигурации, а линии направлены к целевой конфигурации (чем больше длина линии, тем больше деформация референсной конфигурации для получения целевой). На первом графике по умолчанию представлена конфигурация, характеризующая наибольшее положительное значение первой канонической переменной CV1. Щёлкнув правой клавишей мыши по графической панели, откройте дополнительное графическое меню. Первая строка меню «Choose CV to Display» позволяет произвольно выбирать нужные канонические переменные. Вторая строка «Set Scale Factor» не только помогает выбрать степень утрирования изменений формы, изменив значение (по умолчанию 10), но и изменив знак, например  $-10$ , можно получить графическое изображение конфигурации, близкое к минимальному значению соответствующей канонической переменной. Остальные опции дополнительного графического меню вполне понятны и не требуют особых комментариев. Аналогичные графические возможности доступны и при проведении вычислений с помощью большинства других подпрограмм: главных компонент, дискриминантного анализа, PLS-анализа, регрессионного анализа.

Вторая графическая панель «CV scores» и принципы построения и изменения графика рассеивания индивидуальных координат объектов на ней устроены так же, как и в аналогичной панели «PC scores». И в этом случае можно строить эллипсоиды, характеризующие диапазон внутригрупповой изменчивости, и изменять цвет объектов с помощью использования разных классификаторов, указывающих на групповую принадлежность объектов (species, population, sample, biotope, sex, age и др.).

Основные результаты канонического анализа размещаются на текстовой панели (доступной из меню «Results») после заголовка «Canonical Variate Analysis: CVA ...». Далее сначала указаны названия исходного ком-

плекта данных — Dataset и имя классификатора, затем приводятся порядковые номера и имена групп по классификатору, число наблюдений в каждой группе. Ниже в табличной форме приведена информация о межгрупповой изменчивости, включающая сведения о собственных числах канонических переменных (Eigenvalues), доле их дисперсии (% Variance), накопленной доле дисперсии (Cumulative). К сожалению, здесь данные о значимости межгрупповой изменчивости вдоль канонических переменных отсутствуют (такие данные можно получить при использовании программы CVAGen в пакете IMP). Далее в виде нижней треугольной матрицы приводятся обобщённые неквадратированные расстояния Махаланобиса ( $D$ ) и соответствующие им уровни значимости. Ещё ниже располагаются аналогичная матрица Прокрустовых дистанций и уровни их значимости. В обоих случаях значимость межгрупповых попарных различий оценивается на основе перестановочного (permutation) теста с 10 000 повторных реплик. Выдачу результатов завершает представленная в табличной форме матрица канонических коэффициентов (Canonical coefficients) для соответствующих прокрустовых координат.

В меню «Comparison» вторая строка «Discriminant Function...» запускает подпрограмму дискриминантного анализа. Открывшаяся панель во многом устроена аналогично таковой для канонического анализа. Отличие составляет правое окно, в котором можно выбирать конкретные пары выборок для попарного дискриминантного анализа. Если поставить галочку в ячейке «Include all pairs of groups», то автоматически будут включены в анализ все пары групп в соответствии с классификатором. Опционально, как и для канонического анализа, предусмотрено использование перестановочного теста для оценки значимости.

Графические результаты дискриминантного анализа предусматривают построение трёх графиков: 1 — конфигурации ландмарков, характеризующей особенности каждой группы вдоль дискриминантной функции (Shape difference); 2 — гистограммы распределения значений дискриминантной функции для сравниваемых групп (Discriminant scores); 3 — гистограммы распределения значений дискриминантной функции для сравниваемых групп по итогам перекрёстного теста на достоверность (Cross-validation scores).

Текстовая часть результатов дискриминантного анализа для каждой пары начинается с заголовка «Discriminant Function Analysis 'Discriminant function...'», затем указываются номера пар сравнения, далее значения Прокрустовой дистанции, обобщённой дистанции Махаланобиса ( $D$ ), значение критерия  $T^2$  и параметрический уровень его значимости. Строкой ниже приведены уровни значимости межгрупповых различий, оцененные с помощью перестановоч-

ного теста: для Прокрустовой дистанции и критерия  $T^2$ . Далее расположены таблицы корректности отнесения объектов к группам на основе дискриминантной функции и после теста перекрёстной проверки (cross-validation).

В блоке меню «Comparison» имеется доступ к подпрограмме морфокартирования филогений «Map Onto Phylogeny» (рис. 3.25). Чтобы воспользоваться этой подпрограммой необходимо заранее подготовить текстовый файл, содержащий в формате языка Nexus запись о структуре филогенетического дерева (см. также Глава 5).

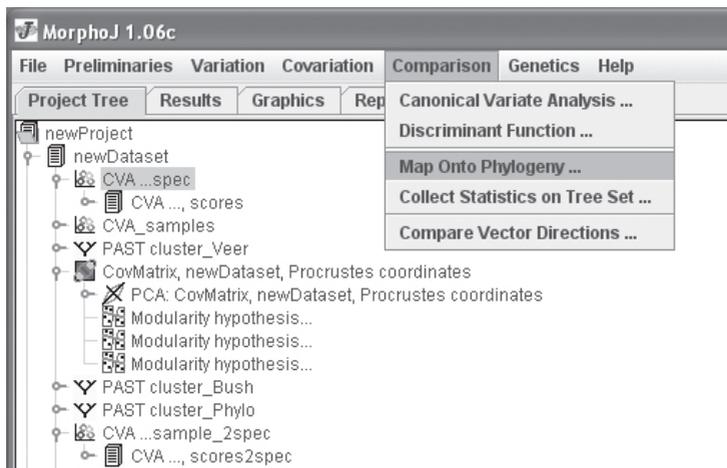


Рис. 3.25. Всплывающее меню блока «Comparison» и перечень доступных подпрограмм.

Формат Nexus используется для описания структуры филогенетических деревьев и широко используется в компьютерных программах филогенетики и кладистики. Рассмотрим пример записи структуры дерева в формате Nexus и напомним, что это текстовый файл с расширением \*.nex, например microtus.nex:

```
#NEXUS
BEGIN TAXA;
TaxLabels rossi obscurus ilaeus arvalis;
END;
BEGIN TREES;
Tree Microtus_cluster=
(ilaeus:7.0,(rossi:5.0,(obscurus:3.0,arvalis:3.0):1.5):0);
END;
```

В первой строке указывается примечание, что это запись дерева в формате Nexus. В следующей строке дана команда BEGIN TAXA, завершающаяся командой END для процедуры считывания имен таксонов, входящих в состав филогенетического дерева, и исполняющая команда TaxLabels, в которой перечислены имена таксонов. Следует обратить внимание на то, что имена таксонов могут быть даны в буквенной или цифровой (более экономной) форме, но все они должны быть обязательно перечислены ниже в структуре дерева. Типичные ошибки — несоответствие числа и правильности написания имен таксонов при копировании в дерево — препятствуют работе программы. Требуется полное соответствие имен, включая соблюдение их пунктуации, капитализации (записи прописными или строчными буквами), порядка букв и интервала между ними. Обратите внимание на знаки «;» в конце командных строк — они означают код завершения записи строки, поэтому их нельзя пропускать (файл без них работать не будет).

Далее, с команды BEGIN TREE, начинается описание самого дерева в формате Newick. Имя дерева (Tree) — *Microtus\_cluster*. Заметим, что программа MorphoJ не импортирует деревья без имен. В формате Newick сестринские ближайшие таксоны заключаются в скобки и отделяются от других запятой, а после двоеточия записывается длина ветви дерева. В данном примере структура (*obscurus*:3.0,*arvalis*:3.0):1.5 означает, что виды *obscurus* и *arvalis* — сестринские таксоны, которые удалены от их ближайшей общей предковой формы на 3 условные единицы, а их гипотетический предок позиционирован на 1.5 единиц выше следующего предкового узла ветвления дерева.

Затем нужно импортировать этот файл (с расширением имени — \*.nex). Импорт осуществляется через блок меню File -> Import Phylogeny File. После этого можно запускать данную подпрограмму морфокартирования филогений. В открывающемся меню подпрограммы в верхней строке следует выбрать требующуюся филогению, которая была импортирована. Автоматически в следующей строке появится имя этой филогении. Далее в строке «Dataset» указывается нужный комплект данных (*newDataset*; *CVA...*,*scores* или *PC scores*, *CovMatrix*, *newDataset*, *Procr...*). В строке «Data type» необходимо уточнить предлагаемые программой варианты. Например, при вводе в строку «Dataset» комплекса данных *newDataset* в строке «Data type» появится запись *Centroid size*. Можно, конечно, оставить её и использовать в расчётах морфокартирования филогении на размер центроида у сравниваемых групп, но можно выбрать, предварительно нажав на черный треугольник справа, другую доступную в списке запись *Procrustes coordinates*. Затем укажите имя классификатора (*Classifier for taxa*) для группирования объектов по тем таксонам, которые входят в филогению. Если в импорти-

рованном файле в структуре дерева указана длина ветвей, то появляется возможность выбрать опцию взвешивания филогении по длинам ветвей (в ином случае эта опция недоступна).

Следующая опция «Mapping with rooted tree» — морфокартирование филогении с укоренённым деревом — является обычной. При неукоренённом дереве можно опцию отключить. Желательно включить опцию проведения перестановочного теста для выявления филогенетического сигнала — Permutation test for phylogenetic signal. После установки всех опций нужно нажать правую нижнюю кнопку «Execute». После расчёта станут доступны две графические панели: Tree — график с изображением структуры филогенетического дерева и Scores — график с совмещением структуры дерева и центроидов сравниваемых таксонов относительно переменных, взятых для морфокартирования.

Текстовая панель с полученными результатами начинается заголовком «Phylogenetic mapping», затем перечисляются сведения о комплексе данных (Dataset) и типе данных (Data type). Далее приводятся название филогении и метод, а также указывается, является ли дерево укоренённым или нет. Затем приводятся вычисленная длина дерева (Tree length) и результаты перестановочного теста по оценке значимости филогенетического сигнала, содержащегося в морфологических данных. Значимость оценивается как вероятность обнаружения при 10 000 перестановок ещё более короткого дерева.

Программа MorphoJ содержит много разных возможностей, поэтому, перед тем как с ней работать, читателям необходимо обратиться к хорошо иллюстрированному встроенному в неё справочнику, выбрав в меню: Help -> User's Guide. Некоторые аспекты программы MorphoJ, которые нами здесь не обсуждались, в частности блок меню Genetics, не являются рутинными, требуют особого материала и специальной осведомленности. Другой важный раздел, связанный с оценкой проявления флуктуирующей и направленной асимметрии, основан на использовании смешанного двухфакторного дисперсионного анализа. Данная подпрограмма доступна в блоке меню Variation -> Procrustes ANOVA. Поскольку эти аспекты были рассмотрены ранее при описании аналогичной программы SAGE, а работа в Procrustes ANOVA не представляется сложной, мы эту подпрограмму здесь не комментируем и отсылаем заинтересованных коллег к справочнику MorphoJ. Полагаем, что той информации, которая приведена в этом разделе, вполне достаточно, чтобы самостоятельно сделать первые шаги в программе MorphoJ, иногда заглядывая в справочник. Затем вы сможете самостоятельно решать собственные задачи. В этом и состояла цель написания раздела.

«Самая реальная и широкая польза для людей является лишь в результате великих и бескорыстных усилий»

Гёте

## Глава 4

# Р-ПРОГРАММЫ ДЛЯ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

В последние годы исследователи всё чаще обращаются к использованию особого языка R для осуществления индивидуального программирования или использования всё увеличивающегося арсенала свободно распространяемых готовых R-пакетов программ для статистического и графического анализа материала. Для целей геометрической морфометрии в последнее десятилетие было разработано несколько таких пакетов R-программ, часть из которых будут коротко рассмотрены в этом разделе.

Программы, написанные на R-языке, адресуются большому числу прикладных пакетов на этом же языке и могут быть отредактированы и дополнены пользователями. Имеется немало файлов функций, написанных на R (functionsR), и программных сценариев, или скриптов (scriptsR), которые пользователи могут интерактивно запускать и редактировать с учётом собственных наборов данных. Изучить R-язык для того, чтобы выполнять простые операции, включая запуск готовых скриптов и функций, сравнительно несложно, поскольку существуют хорошие справочники, в том числе и на русском языке (Шипунов и др., 2014). Хороший, доступный и полноценный online справочник «R Tutorial» создан Келли Блэк (Kelly Black) — URL: <http://www.cyclismo.org/tutorial/R/>.

На процесс самообучения R-языку у пользователей может быть затрачено от двух недель до одного месяца. Значительно сложнее овладеть элементами R-программирования на уровне написания собственных оригинальных функций и скриптов.

В этой главе мы постараемся очень коротко привести перечень наиболее известных R-программ для геометрической морфометрии, многие

из которых доступны на сайте <http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet.html>, поддерживаемом Ф. Дж. Рольфом. В общем виде рассмотрим некоторые их возможности. Попытаемся также привести примеры R-программ, которые написаны другими авторами для ввода tps-файлов в R, проведения суперимпозиции методом GPA и графического вывода результатов. Дальнейшее зависит от самих любознательных читателей, которые могут проникнуться R-языком и освоить его настолько, чтобы продвигаться дальше самостоятельно, осваивать готовые функции и скрипты и даже писать собственные новые.

Программное обеспечение R (The R Foundation for Statistical Computing) распространяется свободно (традиционно без предоставления гарантий) и доступно для скачивания по адресу — URL: <http://cran.r-project.org/>. Загрузите сначала базовый R-пакет и установите на своем компьютере. Откройте базовый R-пакет, зайдите в строке меню в блок Packages -> Install Package(s) и в открывшемся окне CRAN mirror в списке стран найдите и выберите Russia и щёлкните мышью по кнопке «ОК». Откроется алфавитный список имеющихся пакетов. Загрузите и установите пакеты geomorph, ape, rgl и ещё два полезных пакета — shapes и, как рекомендует Дэвид Шитс, vegan (последний может пригодиться также для сложного морфометрического анализа и анализа экологических данных). При скачивании конкретного пакета могут быть автоматически подгружены и иные вспомогательные пакеты, в частности пакет rgl. Все скачанные пакеты не сразу будут доступны, а только после того, как будут вами загружены внутрь программной среды R. Чтобы, например, осуществить загрузку установленного ранее пакета shapes в программную R-среду, находясь в базовом R-пакете, нужно после строчного значка приглашения (>) напечатать команду:

```
>library(shapes)
```

Нажмите далее на клавишу «Enter» для ввода этой команды.

Затем можно посмотреть краткое руководство по пакету shapes. Для этого введите команду:

```
> ??shapes
```

Появится строка с ответом:

```
starting httpd help server... done
```

После этого появится руководство с перечнем (index) основных функций и их описаний, которые первое время полезно держать под рукой. При этом можно сверяться с описанием функций и примерами, иногда копируя их и используя при обработке своих данных, как блоки в конструкторе Lego или детские кубики.

Соответственно для загрузки пакета geomorph требуется набрать и выполнить команду:

```
>library(geomorph)
```

Справочник можно посмотреть так же, как и в предыдущем случае, набрав команду:

```
>??geomorph
```

Сначала коротко рассмотрим некоторые моменты, связанные с загрузкой файлов данных для работы в соответствующих пакетах программ. Расчёты в пакете программ shapes Яна Драйдена (Dryden, 2012) возможны после ввода соответствующих tps- или imp-файлов. Рассмотрим с учётом рекомендаций Д. Шитса пути ввода tps-файла внутрь программной R-среды этого пакета. Сначала необходимо загрузить файл в R, а затем задать для него формат, читаемый пакетом shapes.R. Сам процесс загрузки не сложен, но может осуществляться тремя путями в зависимости от того, каковы особенности tps-файла: имеются ли в нём данные о кривых (curves), точках (points) или масштабе (scale factor).

Коротко прокомментируем процесс импорта данных в R для пакета shapes. Обычно для загрузки стандартных tps-файлов в R применяется функция read.table(). Под стандартным понимается такой файл, в котором в строках содержатся данные каждого объекта, а в столбцах — координаты лан্ডмарков в последовательности x1, y1, x2, y2,...xk, yk. В случае трёхмерных координат в их последовательности добавляются соответствующие z-координаты. Для импорта такого файла в среду R в командной строке нужно написать:

```
>data <- read.table(file.choose())
```

Согласно правилам синтаксиса R-языка, эта запись означает присвоить значение (символом присвоения является последовательность значков <-) объекту типа таблица данных (dataframe), обозначенному data, из файла, выбор которого осуществляется при помощи функции file.choose(). Эта вспомогательная функция открывает диалоговое окно, в котором можно выбрать папку с необходимым файлом. В данном случае эта функция указана в качестве аргумента file функции read.table(), который служит для указания пути к импортируемому файлу. Вместо неё можно сразу указать путь к файлу, например:

```
>data<-read.table("c:\Мои документы\filename.tps")
```

Если сначала скопировать файл или фрагмент данных в буфер обмена (clipboard), можно импортировать данные непосредственно оттуда:

```
>data<- read.table("clipboard")
```

Функция `read.table()` обладает большим количеством аргументов, позволяющих настраивать процесс загрузки данных. Например, если импортируемый фрагмент данных в первой строке содержит заголовки колонок, для их сохранения нужно указать значение аргумента `header`:

```
>data<- ("clipboard",header=TRUE)
```

Убедиться в правильности загрузки данных можно с помощью команды

```
>data (в этом случае будет показана вся таблица данных)
```

или

```
>data [, , 1] (в этом случае будет показан фрагмент таблицы для первого объекта).
```

Подобные файлы, в частности матрицы, могут быть полезны как основные, а чаще как вспомогательные массивы данных или кодирующих меток, характеризующих принадлежность объектов к той или иной группе (вид, популяция, локальная выборка и др.). Они могут быть также использованы как факторы или ковариаты.

Для импорта tps-файла в рабочее пространство R в пакете `shapes` лучше всего использовать одну из трёх функций, созданных разными авторами. Первую такую функцию — `read.tps1()` — создал Дэвид Полли (D. Polly). Она предназначена для загрузки в R обычного tps-файла, который не содержит сведений о масштабе, кривых и точках. Вторую функцию — `read.tps2()`, являющуюся модификацией предыдущей, создал Дэвид Шитс (H. D. Scheets). Функция дополнительно учитывает масштаб (`scalefactor`). Наконец, третья модификация функции — `read.tps3()`, способная учитывать сведения о масштабе, кривых (`CURVES=`) и точках (`POINTS=`), была создана Мишель Лоуинг (A. M. Lawing). Важное свойство этой функции — возможность конвертации точек вдоль кривых в координаты ландмарков. Все эти функции, в том числе рассмотренная выше `read.table()`, пригодная для считывания imp-файла, а так же и иные функции могут быть загружены в каталог (папку) `functionsR()`. В другом каталоге `scriptsR` могут содержаться скрипты (=сценарии) последовательного выполнения функций и программ. Все названия скриптов начинаются значком диеза # (hashmark). Можно использовать готовые скрипты, редактировать их по усмотрению и желанию пользователя, или создавать собственные. Коды упомянутых выше функций (`read.tps1()`, `read.tps2()`, `read.tps3()`) можно скачать из блока R-программ на сайте Ф. Дж. Рольфа: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet.html> или других сайтов, например, Дэвида Полли: <http://mypage.iu.edu/%7Eepdpolly/>.

Дэвид Шитс рекомендует сохранять скрипты, а также соответствующую программную сессию и при желании вновь использовать все это для дальнейших вычислений.

Для импорта нужных R-кодов откройте в меню File→NewScript и в открывшуюся текстовую панель редактора скриптов скопируйте необходимый R-код, например функцию `read.tps()`, предложенную Дэвидом Полли. Затем сохраните этот скрипт с расширением \*.R в каталоге (по умолчанию это папка Мои документы) — он может пригодиться в дальнейшем. После этого откройте скрипт в меню File → Openscript и загрузите его из редактора, копируя все строки (`copy`), вставьте их (`paste`) в R-среду. Это можно делать разными способами. В частности, можно выбрать все строки сочетанием клавиш `Ctrl+A`, затем, находясь на панели R-редактора, нажать правую клавишу мыши, вызвав всплывающее меню. В нём можно выбрать командную опцию «Run line or selection» или нажать сочетание клавиш `Ctrl+R`. После этого весь выбранный текст скрипта загрузится в среду R. Таким же путем могут быть загружены строка или выбранный фрагмент скрипта.

Работа с пакетом `shapes` позволяет выполнить многие функции: Прокрустову суперимпозицию (`procGPA`, `procWGPA`), Прокрустовы ANOVA и регрессионный анализ изменений формы, оценку аллометрии, 2B-PLS-анализ (`two.b.pls`), анализ главных компонент (`shaperca`), канонический анализ (`shapes.cva`), оценку скоростей морфологической эволюции по филогениям (`compare.evol.rates`), анализ морфогенетических траекторий (`trajectory.analysis`), тестирование различий между средними формами с применением разных методов ресэмплинга (`testmeanshapes`), работу с 3D конфигурациями (`shapes3d`), включая интерактивные графические возможности и др. (Dryden, 2014).

В частности, для Прокрустовой суперимпозиции данных из `tps`-файла, загруженного и форматированного в R с помощью одной из упомянутых выше трёх функций `read.tps()`, в программе `shapes` используется функция `procGPA()`. Назовем набор данных, куда будут выведены результаты Прокрустовой суперимпозиции, `super`, тогда запись командной строки будет представлена следующим образом:

```
>super<- procGPA (data)
```

Полученные результаты Прокрустовой суперимпозиции можно будет посмотреть, набрав команду:

```
>super
```

В процессе распечатки будут показаны несколько блоков переменных, которые записываются в формате, составленном из имени файла данных, значка доллара и названия собственно переменной. В частности, появятся переменные, содержащие прокрустовы координаты (`super$rotated`), размер

центроида для объектов (`super$size`), консенсусную среднюю конфигурацию (`super$mshape`), значения координат главных компонент (`super$scores`). Для дальнейшего анализа можно выбрать либо прокрустовы координаты, либо любые другие полученные переменные. Фрагменты ряда данных, связанные с объектами, обозначаются с помощью квадратных скобок и трёх позиций в них, первая из которых соответствует номеру строки, вторая — номеру колонки (признака), а третья — номеру объекта. Например, в записи `[,1,1]` указано, что извлекаются только данные по первому признаку для первого объекта, а в записи `[,1]` — все данные о первом объекте. Если требуется извлечь и обработать блок данных для нескольких объектов, то запись будет представлена так: `[,1:15]`, т.е. все данные для первых 15 объектов. Другой фрагмент данных для следующих 10 объектов будет, например, выглядеть так: `[,16:25]`. С учётом этого можно, например, построить два набора конфигураций ландмарков по значениям прокрустовых координат для двух групп мышей, присвоив им разный цвет ординат, обозначаемый опцией `col=` (первые конфигурации будут представлены красными метками `col="red"`, а вторые — сиреневыми=пурпурными `col="purple"`):

```
Super <- procGPA(data)
mouse1 <- super$rotated[, , 1:15]
mause2 <- super$rotated[, , 16:25]
plot(mouse1[, 1, ], mouse1[, 2, ], asp=1, xlab="", ylab="", cex=2.8,
axes=F, pch=20, col="red")
points(mause2[, 1, ], mause2[, 2, ], pch=20, cex=2.8, col="purple")
```

В первой строке указано, что результаты Прокрустовой суперимпозиции присваиваются файлу `super`. Во второй и третьей строках полученные данные распределяются по двум группам — `mouse1` (15 экз.) и `mause2` (10 экз.). Функция `plot()` является базовой функцией, где первые две позиции соответствуют осям графика `x` и `y`. Записи `[,1,]` и `[,2,]` означают информацию о первом и втором признаках — колонках данных. Другие опции графика обозначают следующее: `asp=1` — пропорции изображения не искажены; `xlab=""` и `ylab=""` — подписи (лэйблы) для осей отсутствуют; `cex=2.8` — коэффициент утрирования (`exaggerate`) значений; `axes=F` — отмена осей (`F = FALSE`) и наконец, `pch=20` — тип символа, который будет использован для построения графика (`pch` — `plotting character`). Для просмотра соответствия номеров символам можно набрать команду:

```
> legend(locator(1), as.character(0:25), pch=0:25)
```

Используя этот же массив данных `super`, можно построить график рассеивания (`scatterplot`) **координат** в пространстве соответствующих главных компонент:

```
>plot(super$scores[,1],super$scores[,2],asp=1,xlab="PC1",
      ylab="PC2",
      cex=3.5,pch=20, col="purple")
```

Здесь сочетание опций `pch=20` и `col="purple"` означает залитые фиолетовым цветом кружки — ординаты объектов в плоскости первых двух главных компонент (`xlab="PC1"`, `ylab="PC2"`). Имеющиеся в R-языке типы графических символов (`pch`) и их номера представлены на рис. 4.1.

0 □	5 ◇	10 ⊕	15 ■	20 ●	25 ▼
1 ○	6 ▽	11 ⊗	16 ●	21 ●	
2 △	7 ⊠	12 ⊞	17 ▲	22 ■	
3 +	8 *	13 ⊗	18 ◆	23 ◆	
4 ×	9 ⊕	14 ⊠	19 ●	24 ▲	

Рис. 4.1. Типы графических символов (`pch` — plotting character) и их номера, принятые в R-языке для визуализации (серым цветом помечены символы, изначально имеющие красный цвет "red").

Многочисленные примеры работы с пакетом `shapes` содержатся в прилагаемом к нему справочнике, а также в электронном ресурсе, авторами которого являются Мириам Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2013), что позволяет заинтересованным коллегам самостоятельно освоить пакет.

В другом пакете — `geomorph` (Adams et al., 2013, 2016, 2017) — имеются специальные функции для считывания `tps`-файлов и иных типов файлов: `readland.tps()`, `readland.nts()`, `readmulti.nts()`, `read.ply()` и `bread.morphologica()`. Могут также применяться базовые функции импорта файлов: `read.table()`, `read.csv()`.

Обычный вариант — считывание `tps`-файла, созданного с помощью экранного дигитайзера Рольфа — `tpsDig2`. Напомним, что при 2D формате

конфигурации ландмарков для каждого объекта предваряющая запись в первой строке, указывающая число ландмарков, представлена в форме "LM=". Если это 3D формат, то данная запись должна быть изменена на "LM3=".

Общий формат команды для считывания tps-файла имеет здесь следующий вид:

```
readland.tps(file, specID=c("None", "ID", "imageID"),
readcurves= FALSE, warnmsg = T)
```

Если файл доступен непосредственно из папки (доступ возможен, например, из каталога «Мои документы»), то допускается прямо указать имя нужного файла "mausel.tps", а затем опцию specID в нужном режиме. Например, команду можно записать так:

```
>mydata<- readland.tps("mausel.tps", specID = "ID"),
readcurves =
FALSE, warnmsg = T)
[1] "Not all specimens have scale. Assuming landmarks have
been previously scaled."
[1] "Specimen names extracted from line ID="
```

Команда для проверки правильности ввода может быть указана в следующей строке:

```
>mydata[, , 1]
[,1] [,2]
[1,] 190 286
[2,] 309 242
[3,] 356 297
[4,] 542 283
[5,] 505 326
[6,] 677 419
[7,] 633 399
[8,] 754 400
[9,] 813 336
[10,] 693 229
[11,] 744 180
[12,] 703 136
[13,] 532 177
[14,] 417 156
[15,] 315 147
[16,] 153 283
```

В tps-файле в качестве идентификаторов можно указать видовые названия, например ID=uralensis. Применение опции specID = "ID" в командной строке дает возможность учесть видовую принадлежность как

код классификатора для объектов. Опция `specID = "imageID"` позволит извлечь переменную имен объектов из названий изображений объектов, которые содержатся в `tps`-файле в строке `"IMAGE="`. Если нет необходимости использовать названия, содержащиеся в идентификаторах и названиях изображений, можно указать опцию `specID = "None"`.

В том случае, если в `tps`-файле у всех особей указан масштаб — `"SCALE="`, то при считывании автоматически происходит пересчёт координат ландмарков с умножением на указанную величину. Однако если хотя бы у одного объекта масштаб не будет указан, то автоматический пересчёт значений координат с учётом масштаба для этого файла исключается, и координаты остаются в исходном виде (Sherratt, 2014; Adams et al., 2017).

В самом упрощённом виде можно записать команду считывания файла следующим образом (R\_Development\_Core\_TeamR, 2017):

```
>mydata<- readland.tps(file.choose())
```

В открывшемся окне выберите файл в нужной папке, после чего в следующей строке появится запись.

```
[1] "Not all specimens have scale. Assuming landmarks have  
been previously scaled."
```

```
[1] "No Specimen names extracted"
```

Такой способ очень прост, но не очень хорош, так как не позволяет сразу считывать дополнительную информацию и автоматически вводить переменную–классификатор для обозначения групповой принадлежности объектов, т.е. её придётся добавлять.

После считывания файла бывает полезно проверить формат введённых данных, так как при неверном формате дальнейшие расчёты могут быть некорректными. Для проверки формата могут быть использованы базовые R-функции: `class()`; `attributes()`; `dim()`; `nrow()`; `ncol()`; `dimnames()`; `names()`; `rownames()`; `colnames()`; `is.numeric()`.

Примеры вызова соответствующих базовых вспомогательных функций даны ниже:

```
>class(mydata)
[1] "array"
>dim(mydata)
[1] 17 2 672
>attributes(mydata)
$dim
[1] 17 2 672

$dimnames
```

```

$dimnames[[1]]
NULL

$dimnames[[2]]
NULL

$dimnames[[3]]
[1] "da1_1" "da1_10" "da1_11" "da1_12" "da1_13" "da1_14"
[7] "da1_15" "da1_2" "da1_3" "da1_4" "da1_5" "da1_6"
[13] "da1_7" "da1_8" "da1_9" "da2_1" "da2_10" "da2_11"
[19] "da2_12" "da2_13" "da2_14" "da2_15" "da2_2" "da2_3"
... ..
>names(mydata)
NULL
>nrow(mydata)
[1] 17
>ncol(mydata)
[1] 2
>rownames(mydata)
NULL
>is.numeric(mydata)
[1] TRUE

```

Важно учитывать, что программа `geomorph` способна считывать одни и те же данные как в виде 2D массива (`matrix`), так и в виде 3D массива (`array`). При этом группирующие переменные являются либо векторами (`vectors`), либо факторами (`factors`). Текстовые выдачи результатов (`outputs of functions`) могут рассматриваться как списки (`lists`). Более подробно с информацией о классах объектов в R рекомендуется ознакомиться на <http://www.statmethods.net/input/datatypes.html>.

После того, как `tps`-файл считан, отформатирован в 3D массив (`array`), который требуется в программе `geomorph`, и загружен в R, он может быть обработан функцией `gpragen()` для осуществления Прокрустовой суперимпозиции и получения прокрустовых координат:

```
> Y.gpa <- gpragen(mydata) #GPA-alignment
```

Проверить результаты расчётов и получить прокрустовы координаты конкретной особи можно с помощью следующей команды:

```

> Y.gpa$coords[, , 1]
[,1] [,2]
[1,] -0.22418304 0.053939467
[2,] -0.09480172 0.088198412
[3,] 0.38300435 0.143766505

```

```
[4,] 0.49273805 0.042024025
[5,] -0.04416574 0.015426047
[6,] -0.14241142 0.016853442
[7,] -0.08322087 0.038446711
[8,] -0.22816865 0.026740519
[9,] -0.19680525 0.018583246
[10,] -0.24247622 -0.013046914
[11,] -0.04607965 -0.009650556
[12,] 0.09413882 -0.033776543
[13,] 0.46609188 -0.035501019
[14,] 0.13686598 -0.131948393
[15,] 0.07792528 -0.098674997
[16,] -0.17542541 -0.035600741
[17,] -0.17302640 -0.085779212
```

Затем можно построить по итогам Прокрустовой суперимпозиции график рассеивания лан্ডмарков вокруг их средней выборочной конфигурации (рис. 4.2):

```
> plotAllSpecimens(mydata)
```

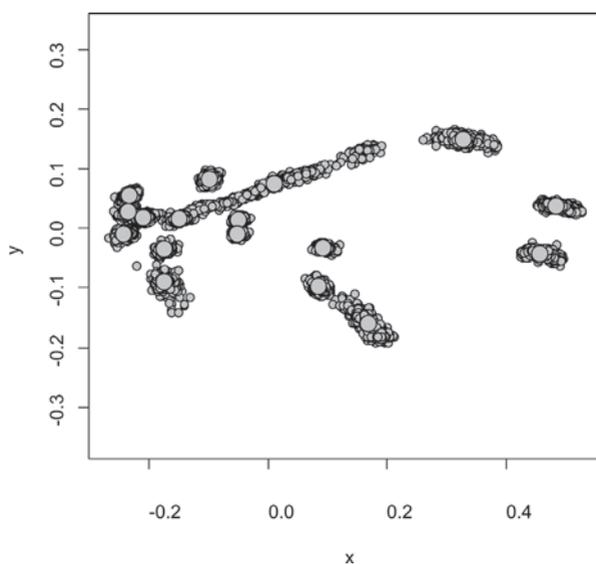


Рис. 4.2. R-график рассеивания лан্ডмарков, характеризующих изменчивость формы и структуры крыла линии *Drosophila melanogaster* (маркированной мутацией *ri* – radius incompletus), вокруг их средней выборочной конфигурации по результатам Прокрустовой суперимпозиции (исходный материал был нам любезно предоставлен д.б.н. Л. А. Васильевой, ИЦиГ СО РАН).

Полученный график, как и все остальные в пакете `geomorph`, может быть скопирован в буфер обмена в векторном графическом формате WMF (`metafile`) или в растровом формате BMP (`bitmap`), а также сохранён в форматах EMF и `postscript`. Для того чтобы это сделать, нужно щёлкнуть правой кнопкой мыши по графической панели с результирующим изображением и во всплывающем меню выбрать нужный вариант сохранения рисунка.

Далее можно вычислить референтную консенсусную конфигурацию с помощью следующей команды:

```
>ref<- mshape(Y.gpa$coords)
> ref
[,1] [,2]
[1,] -0.23408426 0.055615906
[2,] -0.09948294 0.083088705
[3,] 0.32868411 0.149209777
[4,] 0.48489452 0.037579023
[5,] -0.05054320 0.014076153
[6,] -0.15032387 0.015808843
[7,] 0.01098116 0.074770387
... ..
```

Может быть вычислена также средняя конфигурация для определённой группы объектов, включающей, например, первые 50 экземпляров:

```
> gp1.mn<-mshape(Y.gpa$coords[, , 1:50])
>gp1.mn
[,1] [,2]
[1,] -0.231456984 0.052941030
[2,] -0.100949210 0.084506398
[3,] 0.345508524 0.148635027
[4,] 0.486385647 0.039277532
[5,] -0.051194122 0.015587428
[6,] -0.155407779 0.015562255
[7,] 0.004633111 0.073860516
... ..
```

С помощью функции `plotRefToTarget()` в виде трансформационной решётки с ландмарками можно визуализировать изменение референтной конфигурации для совмещения с целевой конфигурацией данной группы, причём в данном случае коэффициент увеличения (утрирования) изменений формы составит `mag=3` (рис. 4.3):

```
>plotRefToTarget(ref, gp1.mn, mag=3)
```

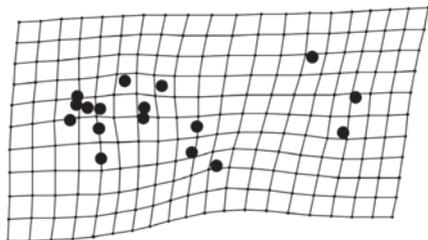


Рис. 4.3. Визуализация с помощью трансформационной решётки и ланدمарков изменения референтной конфигурации для совмещения с целевой конфигурацией, характеризующей форму крыла у изученной группы линейных дрозофил.

Для визуализации рассеивания координат объектов при проецировании их на тангенциальную плоскость методом главных компонент может быть построен график, включающий наложение по его углам конфигураций ланدمарков и трансформационных решёток, соответствующих максимальным значениям главных компонент вдоль обеих осей (рис. 4.4):

```
>plotTangentSpace(Y.gra$coords)
```

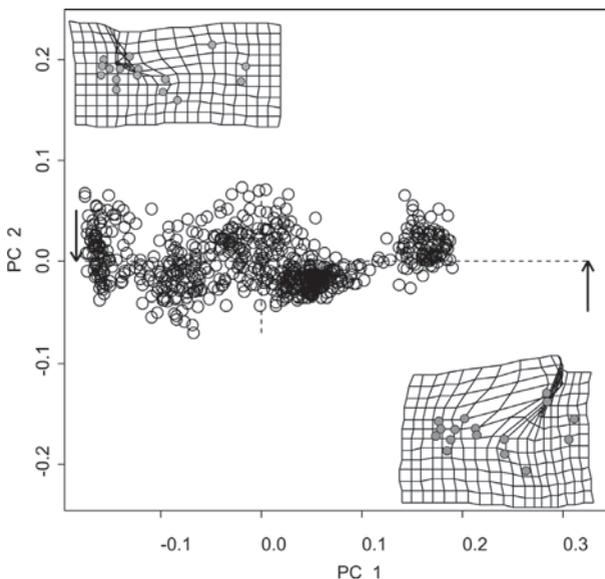


Рис. 4.4. R-график рассеивания координат объектов (scatterplot) при проецировании их на тангенциальную плоскость методом главных компонент (в углах графика — конфигурации ланدمарков и трансформационные решётки, соответствующие максимальным значениям первых двух главных компонент PC1–PC2).

Одновременно с появлением графика на текстовой консоли распечатываются результаты главных компонент формы, включающие величины стандартных отклонений, доли объясненной дисперсии вдоль каждой компоненты и накопленные величины дисперсии в ряду компонент.

```
Importance of components:
PC1 PC2 PC3 PC4 PC5 PC6
Standard deviation 0.1016 0.02503 0.02200 0.01070 0.007427
0.006831
Proportion of Variance 0.8639 0.05240 0.04047 0.00957
0.004610 0.003900
Cumulative Proportion 0.8639 0.91625 0.95672 0.96629
0.970900 0.974800
PC7 PC8 PC9 PC10 PC11 PC12
Standard deviation 0.006608 0.006082 0.00519 0.004887
0.004647 0.004321
Proportion of Variance 0.003650 0.003090 0.00225 0.002000
0.001810 0.001560
Cumulative Proportion 0.978460 0.981550 0.98380 0.985800
0.987600 0.989160
... ..
```

Имеется возможность построения нескольких графиков с учётом опций и выдачи соответствующей текстовой части результатов при изучении связи изменения формы с эффектом аллометрии, а также оценки регрессий с другими переменными. Ниже приведен пример построения линии регрессии прокрустовых координат относительно размера центра, выполненный методом усреднённой предсказывающей линии на основе 99 повторных итеративных раундов (рис. 4.5). Результаты однофакторного дисперсионного анализа представлены в виде таблицы.

```
>gdf<- geomorph.data.frame(Y.gpa)#gdf - geomorph.data.frame
> DrozAllometry <- procD.allometry(coords~Csize, f2 = NULL,
f3=NULL,logsz = TRUE, data=gdf, iter=99)

Allometry Model
|=====| 100%
>
>summary(DrozAllometry)

Call:
procD.allometry(f1 = coords ~ Csize, f2 = NULL, f3 = NULL,
logsz = FALSE,iter = 99, data = gdf)
```

```
Type I (Sequential) Sums of Squares and Cross-products
Randomized Residual Permutation Procedure Used
100 Permutations
df SS MS Rsq F Z Pr(>F)
size 1 3.1875 3.1875 0.39721 441.5 9.8897 0.01 *
Residuals 670 4.8371 0.0072
Total 671 8.0245
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
>plot(DrozAllometry, method = "PredLine")
```

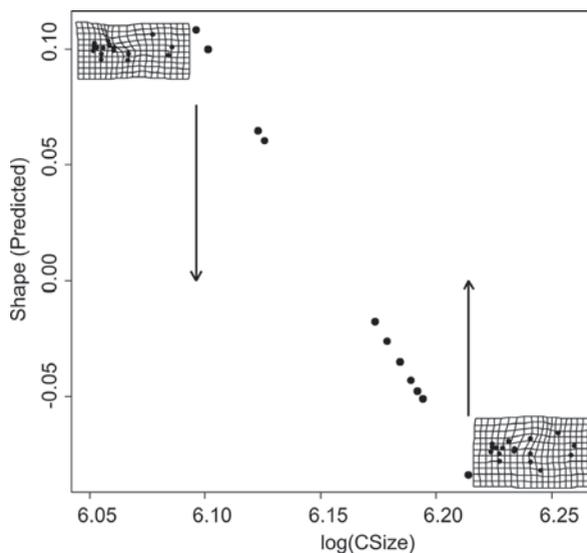


Рис. 4.5. Оценка проявления аллометрии формы крыла дрозофил с помощью построения линии регрессии прокрустовых координат относительно логарифма размера центроида методом усреднённой предсказывающей линии (на основе 99 повторных реплик).

В программе `geomorph` предусмотрена возможность расстановки ландромарков для 2D и 3D изображений. В частности, для оцифровки 2D изображений применяется функция экранного дигитайзера `digitize2d()`, которая имеет следующий общий формат:

```
digitize2d(filelist, nlandmarks, scale=NULL, tpsfile, verbose=TRUE) .
```

Данная функция работает только с графическими файлами формата \*.jpg, причём пользователи могут использовать как имя одного файла, так и список файлов, имеющихся в рабочем каталоге. Заранее требуется указать

число лан্দмарков (nlandmarks) и, если желательнo пересчитывать координаты лан্দмарков из пикселей в единицы измерения с учётом масштаба (с помощью линейки), опционально должна устанавливаться его величина (scale). Если в течение одной сессии расставить лан্দмарки не удалось, можно прервать процесс и вновь его повторить для того же списка файлов (filelist) и trps-файла. В этом случае функция digitize2d() определит, на каком графическом файле пользователь прервал процесс расстановки лан্দмарков, и можно будет продолжить процедуру.

Ниже показан пример использования этой функции для расстановки лан্দмарков на изображении правой нижнечелюстной ветви обыкновенной слепушонки — *Ellobius talpinus* — в программной оболочке RStudio, упрощающей работу в R (рис. 4.6). RStudio можно свободно получить по адресу: <http://www.rstudio.com/ide/>.

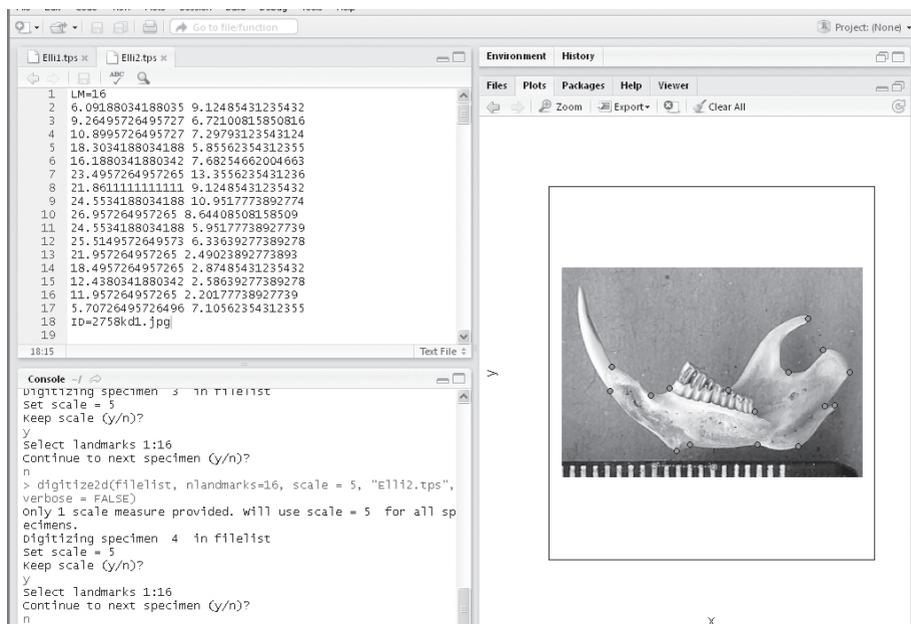


Рис. 4.6. Пример использования функции экранного дигитайзера digitize2d() в программной многооконной оболочке RStudio для размещения масштабирующих меток (ruler), расстановки лан্দмарков на изображении правой нижнечелюстной ветви обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus*) и создания trps-файла.

Интерактивная функция `digitize2d()` предусматривает сначала расстановку двух вспомогательных меток для фиксации масштаба по делениям линейки (`ruler`), если определён масштаб (`scale`). Здесь масштаб соответствует 5 мм линейки и задан опцией `scale=5`.

После расстановки меток появляется запрос о необходимости принять результат к исполнению или отклонить его — `Keepscale (y/n)?` Согласие подтверждается в следующей строке буквой «y» и переводом строки (`Enter`). Затем по заранее определённому числу ландмарок, устанавливаемому с помощью опции `nlandmarks=`, производится их непосредственная расстановка на изображении с помощью мыши. При наведении курсора мыши на появившееся изображение объекта, он преобразуется в крестик, удобный для указания на точку постановки ландмарки. Каждая ландмарка размещается щелчком левой клавиши мыши. После каждой ландмарки в данном примере требуется подтвердить правильность её установки. Если всё верно, в следующей строке устанавливается буква «y», и осуществляется переход на следующую строку. Если нужно изменить местоположение ландмарки, устанавливается буква «n», и процесс повторяется для этой ландмарки вновь. Если в месте очередной ландмарки имеется локальная поломка или загрязнение объекта и область установки ландмарки не ясная, ставится буква «a» (`absent`) и запись координат не производится, но в этой части `tps`-файла вставляется запись «NANA». Такие последовательность действий и запись в файл появятся только при выборе опции детализации `verbose = TRUE`. Если опция `verbose = FALSE`, то оцифровка ландмарок будет проводиться непрерывно и без требования подтвердить правильность установки для каждой метки. Однако при этом необходимо предельное внимание оператора, так как в случае ошибки на её исправление потребуются дополнительное время и некоторая изобретательность.

```
>digitize2d("2765kd1.jpg", nlandmarks=15, scale=5, "Ellob2.tps", verbose = TRUE)
Digitizing specimen 1 in filelist
Set scale = 5
Keep scale (y/n)?
y
Select landmark 1
Keep Landmark 1 (y/n/a)?
y
Select landmark 2
Keep Landmark 2 (y/n/a)?
y
Select landmark 3
Keep Landmark 3 (y/n/a)?
```

В рассмотренном выше примере фигурировал лишь один графический файл, но, как уже указывалось выше, имеется возможность работать со списком (filelist) jpg-файлов, которые будут последовательно извлекаться из рабочей папки (каталога). Для создания списка файлов можно использовать следующую универсальную команду:

```
>filelist<- list.files(pattern = ".jpg")
```

Затем можно, например, набрать следующую команду:

```
>digitize2d(filelist, nlandmarks=15, scale=5, "Ellob3.tps",
verbose = FALSE)
```

```
Only 1 scale measure provided. Will use scale = 5 for all
specimens.
```

```
Digitizing specimen 1 in filelist
```

```
Set scale = 5
```

```
Keep scale (y/n)?
```

```
y
```

```
Select landmarks 1:15
```

```
Continue to next specimen (y/n)?
```

```
y
```

```
Digitizing specimen 2 in filelist
```

```
Set scale = 5
```

```
Keep scale (y/n)?
```

```
y
```

```
Select landmarks 1:15
```

В этом случае появится изображение первого объекта, на котором должны быть расставлены две метки масштаба (scale). Далее нужно будет подтвердить правильность установки масштаба буквой «y», а затем без всяких подтверждений на изображении необходимо расставить нужное число ландмарков. По завершении расстановки указанного числа ландмарков появится запись «Select landmarks 1:15» и вопрос «Continue to next specimen (y/n)?» — «Продолжить для следующего объекта (y/n)?», на который нужно дать ответ выбрав соответствующую букву. Если объект оказался лишним или ошибочно попал в папку, можно отказаться от его оцифровки, выбрав «n» и процесс прервется. При этом в итоговом tps-файле вместо координат ландмарков (пересчитанных с учётом масштаба) будут проставлены пары нулей у следующего «лишнего» и у всех остальных оставшихся в папке необработанных jpg-файлов. Данная функция digitize2d() позволяет обходиться без экранного дигитайзера tps-Dig или tpsDig2. Однако в тех случаях, когда, в частности, нужны кривые (CURVES) и точки (POINTS), пакет geomorph не поможет и нужно обращаться к TPS.

Мы не считаем необходимым полностью и на конкретных примерах рассматривать все существующие возможности пакета *geomorph* в данном разделе, поскольку имеются доступные описания программы и примеры работы с ней (Adams, Otárola-Castillo, 2013), краткий справочник «*Geomorph. Quick Guide to Geomorph v.3.0.5*», подготовленный Дином Адамсом и Эммой Шерратт с соавт. (Adams et al., 2017), а также детальное R-руководство к *geomorph 3.0.5*. Поэтому в заключение только коротко перечислим те возможности данной программы, которые ещё не были нами затронуты в этом обзоре. Особый интерес вызывает возможность импортировать 3D файлы изображений (\*.ply), расставлять на них метки и полуметки, а также патчи — фрагменты поверхностей, и работать с ними в программе *geomorph*. Программа обеспечивает парное сравнение групп по форме объектов (*pairwiseD.test*), проведение Прокрустова однофакторного дисперсионного (ANOVA) и регрессионного анализов формы (*procD.lm*), двублочного анализа частных наименьших квадратов — 2B-PLS (*two.b.pls*), оценки морфологической интеграции модулей (*morphol.integr*, *define.modules*, *compare.modular.partitions*) и филогенетического сигнала в морфометрических данных (*physignal*). Кроме того, можно количественно оценить филогенетическую интеграцию между двумя наборами переменных (*phylo.pls*) и скоростью эволюции формы для филогений (*compare.evol.rates*). Представляют также интерес возможности оценки морфоразнообразия (*morphological disparity*) для одной или нескольких групп (*morphol.disparity*), а также сравнения изменения траекторий формы в онтогенезе (*trajectory.analysis*).

В 2014–2015 гг. был создан новый R-пакет *Morpho*, который нацелен на 3D объекты и позволяет наряду со многими типовыми задачами геометрической морфометрии решать сложные задачи по реконструкции повреждённых, в частности палеонтологических объектов. В пакете имеется функция *mirror()*, которая обеспечивает зеркальное восстановление одной стороны другой и наоборот, т.е. повреждённые части морфоструктуры одной стороны компенсируются и достраиваются за счёт этой же неповреждённой части, но другой стороны, или за счёт другого целого объекта. Функция записывается в программе *Morpho* следующим образом:

```
mirror(x, icpiter = 50, subsample = NULL)
```

Здесь «x» — блок данных, а опция *icpiter* — число заданных итераций для совмещения неполных отражений с оригиналом. Ниже приведен пример работы этой функции в программе *Morpho*, которая использует для решения своих задач и другие пакеты, в частности *shapes* и *rgl*. Обратите внимание на базовую функцию *require()*, которая в данном случае аналогична функции *library()*, но обеспечивает в процессе работы подключение и

проверку наличия в R-среде дополнительных, ещё не подключённых пакетов. Вспомогательные комментарии указываются, как и ранее, значками ##:

```
>library(Morpho)
>data(boneData)
> ##now mirror a complete mesh
>require(rgl)
Loading required package: rgl
>skullMir<- mirror(skull_0144_ch_
fe.mesh,icpiter=10,subsample = 30)
> ###compare result to original
>wire3d(skull_0144_ch_fe.mesh,col=5)
>wire3d(skullMir,col=1)
```

В итоге этих процедур вызывается 3D изображение фрагмента черепа самки гориллы в виде мелкой сети треугольников (mesh), моделирующей поверхность объёмного изображения после 3D-сканирования, которое зеркально восстанавливается и реконструируется (рис. 4.7).

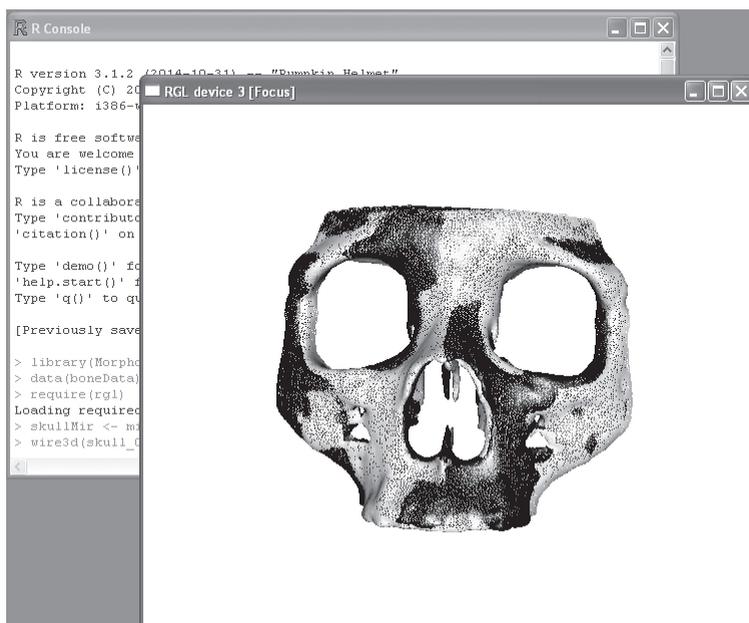


Рис. 4.7. Результат зеркальной 3D-реконструкции лицевой части черепа самки гориллы с помощью функции `mirror()` в пакете программ `Morpho` (светлые части соответствуют целым элементам черепа, а тёмные — восстановлены).

В заключение подчеркнём, что этот раздел был написан исключительно для того, чтобы обратить внимание исследователей на гибкий и эффективный R-язык и имеющиеся наиболее известные пакеты R-программ для геометрической морфометрии: `shapes`, `geomorph` и `Morpho`. Мы не ставили задачу исчерпывающе их описывать, а только продемонстрировать, что это перспективная инструментальная область для исследований и, как показал наш опыт, вполне доступная и полезная для биологов. Заметим также, что пакеты программ, как и версии программной среды R часто обновляются авторами и перед тем как воспользоваться конкретным пакетом следует попытаться его обновить (иногда при этом требуется обновление программной среды R). В приведённых выше примерах мы опирались на R (A Programming Environment for Data Analysis and Graphics) Version 3.4.3.23796 (2017–12–20).

«Математическое описание формы  
обладает точностью, которая  
практически отсутствует на стадии  
чистого описания»

Д'Арси-Томпсон

## **Глава 5**

# **ФЕНОГРАММЕТРИЯ – НОВЫЙ МЕТОД ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ ФЕНЕТИКИ ДЛЯ АНАЛИЗА ИЗМЕНЧИВОСТИ ДИСКРЕТНЫХ МОРФОСТРУКТУР**

Цель данной главы заключается в описании новой методики геометрической фенетики — фенограмметрии (*geometric phenetics — phenogrammetry*), позволяющей использовать альтернативные структурные вариации неметрических признаков — фены, а также их композиции — морфотипы и морфы в геометрической морфометрии. Это объясняется тем, что научные интересы авторов метода традиционно нацелены на использование гомологичных фенев неметрических признаков для решения задач систематики и эволюционной экологии (Васильев, 1988, 2005, 2009; Васильева, 2006; Васильев, Васильева, 2009). Метод позволяет также проводить сравнение выборок и по набору частот встречаемости качественных признаков (например, зелёный, синий, жёлтый, красный и др.). Наряду с традиционной характеристикой изменчивости формы и размера объектов появляется возможность оценить изменчивость их морфологической структуры (и вариации проявления качественных признаков), используя одни и те же компьютерные программы, разработанные для геометрической морфометрии.

Такая перспектива позволяет рассматривать одновременно на одних и тех же объектах проявление трёх разных, дополняющих друг друга морфогенетических аспектов: размерогенеза (роста), формогенеза (изменения конфигурации в морфогенезе) и структурогенеза (возникновения в онтогенезе и варьирования проявления дискретных элементов структуры), о которых писал В. В. Корона (Корона, Васильев, 2007). Действительно размер

центроида (CS) в геометрической морфометрии характеризует изменчивость общих размеров и ростовых процессов. Изменчивость формы объектов может быть выявлена по их аффинным и неаффинным деформациям. Наконец, для тех же особей и выборок можно будет изучать вариацию структурных и иных альтернативных признаков методом геометрической фенограмметрии, опираясь на изменчивость виртуальных конфигураций — лепестковых диаграмм или фенограмм, характеризующих особенности фенотипической реализации реальных морфоструктур. Заметим также, что даже этологические тесты, выявляющие регулярные повторения актов поведения животных, т.е. характеризующие частотами тех или иных состояний (характерных поз, реакций, последовательностей, издаваемых звуков и других элементов поведения), могут быть основой для изучения индивидуальной и групповой изменчивости методами геометрической фенограмметрии. Подчеркнём, что фенограммы являются виртуальными искусственными изображениями — графическими «симулякрами», характеризующими проявление реальных композиций фенотипов или морфотипов (и даже сопряженных типов поведения). Недавно была показана возможность применения геометрической морфометрии для сравнительного анализа акустических сигналов и сонограмм млекопитающих (MacLeod et al., 2013), что отчасти напоминает наш подход, который будет здесь изложен.

Поскольку технология геометрической морфометрии весьма эффективна при морфологических сравнениях и обеспечена полезным и обширным набором специальных компьютерных программ, у авторов появилась насущная потребность применить методы геометрической морфометрии, казалось бы, к чуждым областям — фенетике и популяционной мерометрии (Васильев, Васильева, 2009), которые опираются на использование альтернативных вариаций гомологичных морфоструктур. Данный раздел книги посвящен краткому описанию предложенной авторами методики использования методов геометрической морфометрии для изучения как индивидуального проявления фенотипических признаков, так и групповых частот их встречаемости. В качестве иллюстрации возможностей нового метода рассмотрен результат анализа изменчивости композиций гомологичных фенотипических признаков черепа у серых полёвок рода *Microtus*.

Вначале коротко напомним об особенностях природы и проявления неметрических признаков и их вариаций. Существует общепринятое подразделение признаков на три типа: *метрические*, или размерные; *меристические*, или счётные, а также *альтернативные*, или качественные (Яблоков, 1966). Однако известны также пороговые неметрические признаки, на количественную основу варьирования которых накладываются эпигенетические

пороговые ограничения (см. Глава 1). В итоге у части особей структурный признак может не проявиться, а у тех, у кого он проявился, будет варьировать как обычный количественный признак. Такой особый класс пороговых признаков был детально описан английскими генетиками на линейных мышах, а сам феномен такого варьирования был назван «квазинепрерывной» изменчивостью (Grüneberg, 1951, 1963). Поскольку было показано, что частоты этих мелких вариаций (*minor variants*) устойчивы, характеризуют специфику линий мышей и коррелируют с проявлением крупных мутаций, то выявляемые различия в их проявлении вполне допускали генетическую интерпретацию. В российской науке эти дискретные проявления неметрических признаков были названы фенами (термин, как хорошо известно, был предложен В. Иоганнсеном — Johanssen, 1911), а после выхода книги Н. В. Тимофеева-Ресовского, А. В. Яблокова и Н. В. Глотова (1973) направление исследований, где для косвенных генетических сравнений использовали дискретные альтернативные вариации, стало называться «фенетикой популяций».

Несмотря на то, что термин «фенетика» в данном случае был преокупирован, поскольку появился ранее вместе с нумерической систематикой (*Numerical Taxonomy*) П. Снита и Р. Сокэла (Sokal, Sneath, 1963), он в сочетании с популяционным уровнем рассмотрения изменчивости и редуccionистскими традициями популяционной генетики XX в. прижился в российской научной литературе (см. Глава 1).

Поскольку большинство фенов проявляются как устойчивые состояния пороговых признаков и имеют скрытую количественную природу варьирования, то частота их встречаемости (в статистике её принято называть частотой) представляет собой среднее значение количественного признака подобно тому, как это наблюдается для обычных метрических и меристических признаков. По модели, предложенной Д. С. Фальконером (Falconer, 1960), варьирование таких пороговых признаков имеет нормальное колообразное распределение, но лишь часть его находится в видимой области, а другая невидимая часть расположена в зоне ниже нулевого значения, обусловленного положением ограничивающего фенотипическое проявление порога. Г. Грюнеберг (Grüneberg, 1951, 1963) показал, что соответствующие морфоструктуры закладываются в эмбриогенезе, но могут не достигать пороговой величины и не проявляются в фенотипе (например, щёчные зубы *m3* и *M3* у мышей линии СВА или «зубы мудрости» у человека). Такие альтернативные фены, кодируемые цифрами 1 и 0, не должны рассматриваться как полностью качественные признаки (например, зелёный, красный, желтый и т.д.), хотя на первый взгляд и представляются таковыми, поскольку характеризуют изменчивость количественных признаков, на которую на-

кладываются пороговые ограничения, приводящие к дискретности их проявления в фенотипе.

Напомним, что в популяционной генетике хорошо известен метод визуализации частот аллелей нескольких генов или дискретных признаков с помощью полигонов А. С. Серебровского (1970). Частоты нескольких альтернативных признаков представляют в виде лучей разной длины, исходящих от центра круга, радиус которого приравнивается 100% встречаемости. Каждый луч (вектор) соответствует конкретному признаку (в исходном случае «аллелю» того или иного гена). Между всеми смежными лучами задается равный угол. При соединении концов векторов признаков линией формируется контур полигона, который имеет сходную конфигурацию у групп/популяций с близкими частотами встречаемости признаков, но различную при несходстве частот.

А. С. Серебровский применил этот способ визуализации для межпопуляционных сравнений при решении задач геногеографии кур. Действительно, ему удалось выявить (Серебровский, 1970) разную степень сходства генетической структуры популяций кур из населённых пунктов в горах Кавказа при разной степени их орографической изоляции. Данный метод был рассчитан на сравнение групповых характеристик — частот встречаемости аллелей разных генов, имеющих дискретное фенотипическое проявление (рис. 5.1).

Полигоны А. С. Серебровского как геометрические фигуры характеризуются некоторой формой: у них может быть изрезанный или напротив относительно гладкий контур, сам полигон может быть округлым или вытянутым в длину/ширину и т.д. Если исследуемые выборки сходны по анализируемым признакам, то и полигоны будут сходны по форме. У полигона А. С. Серебровского легко «гомологизируются» вершины, так как для каждого признака задано определённое направление вектора. Поэтому такие полигоны пригодны для расстановки ландмарков, что дает возможность их дальнейшего сравнения методами геометрической морфометрии.

В данном случае ландмарки расставляются на концах радиальных отрезков, соответствующих частотам признаков, образуя звездчатую конфигурацию. Можно задать размеры и направления радиальных отрезков-признаков, например с помощью графических возможностей программы MS Excel. Примеры создания таких полигонов А. С. Серебровского, характеризующих как композицию проявившихся у особи дискретных морфоструктур, так и среднюю выборочную композицию по частотам встречаемости гомологичных фенотипических признаков черепа на примере обыкновенной полёвки (*Microtus arvalis* s.str.), показаны на рис. 5.2.

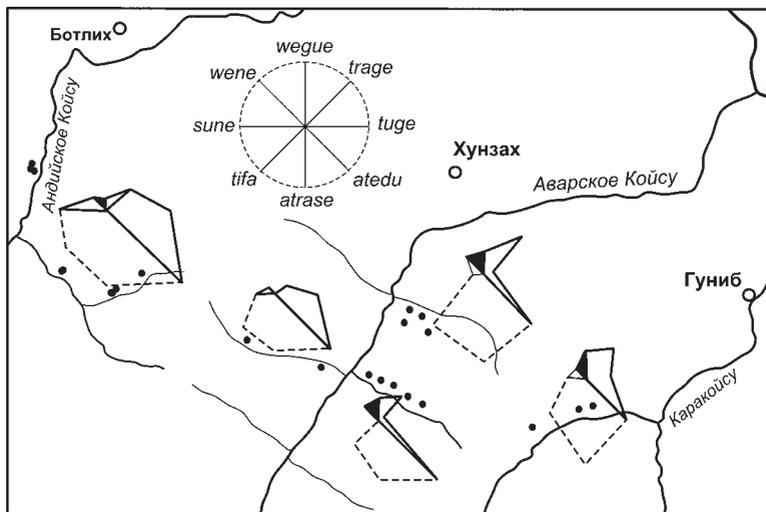


Рис. 5.1. Полигоны А. С. Серебровского, визуализирующие географические различия генетической популяционной структуры кур из разных населённых пунктов Кавказа с разной степенью их орографической изоляции по частотам встречаемости 8 мутантных аллелей (*atedu*, *atrase*, *sune*, *tifa*, *trage*, *tuge*, *wegue*, *wene*) (по Серебровский, 1970).

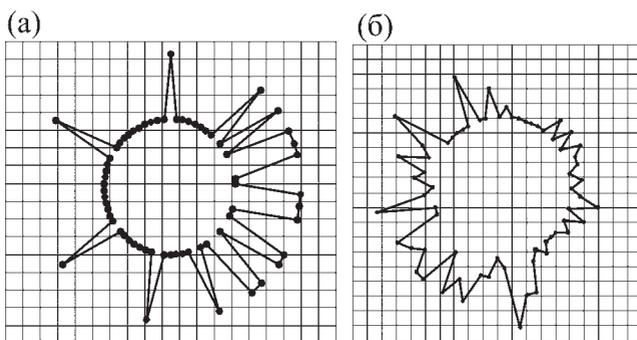


Рис. 5.2. Примеры создания индивидуальных и групповых фенограмм – астеронов, как аналогов полигонов А. С. Серебровского, характеризующих композицию проявившихся у особи дискретных морфоструктур – фенов (а) и среднюю выборочную (консенсусную) композицию по частотам встречаемости гомологичных фенов неметрических признаков черепа (б) обыкновенной полёвки (*Microtus arvalis* s.str.).

Следуя принципу построения полигона А. С. Серебровского можно визуализировать матрицы данных, характеризующие проявление гомологичных фенотипических признаков неметрических признаков. Мы предлагаем называть индивидуальные и групповые полигоны (лепестковые диаграммы) *фенограммами*. Кстати, «лепестковая» фенограмма может быть заменена на «ленточную» фенограмму — гистограмму, где признакам соответствуют вертикальные линии. До некоторой степени ленточная фенограмма соответствует структуре соннограммы при анализе акустических сигналов методами геометрической морфометрии, о котором было сказано выше (MacLeod et al., 2013). Поскольку лепестковая фенограмма, или как мы её предлагаем назвать — *астерон*, является более компактной, мы остановились именно на её использовании.

В нашем случае имеется матрица бинарных данных, характеризующих индивидуальное проявление гомологичных фенотипических признаков в соответствующих выборках. Используя принцип построения полигона А. С. Серебровского, для каждой особи строим бинарные лепестковые фенограммы (см. рис. 5.2а). В качестве минимума была принята единица (+1), ограничивающая радиус внутреннего круга фенограммы. Фенограмма (рис. 5.2а) строится по матрице бинарных данных, характеризующих индивидуальное проявление гомологичных фенотипических признаков, где цифра 1 означает, что фенотип не проявился, а цифра 2, что фенотип проявился. Представляется очевидным, что такой способ кодирования удобнее для визуализации, чем 0 и 1. Если фенотип не проявился, конец соответствующего ему вектора окажется на внутренней окружности, радиус которой равен 1, а если фенотип проявился — на внешней, радиус которой равен 2. Возможно, при очень большом числе признаков или их состояний удобнее минимальный радиус сделать больше, чем 1.

Таким образом, для каждой особи по числу неметрических признаков из центра круга равномерно (на равную величину угла) проводили лучи, максимальная длина которых была равна 2. Число радиальных лучей-признаков должно быть одинаковым для всех сравниваемых объектов данной группы. В случае усреднения проявления фенотипических признаков в целом по выборке (вычисления частот встречаемости) получается подобие полигона А. С. Серебровского — усреднённая фенограмма (см. рис. 5.2б).

Рассмотрим подробнее последовательные этапы процесса индивидуальной фенограмметрии на примере сравнения структуры рисунка надкрылий трёх особей усача изменчивого *Brachyta interrogationis* (Coleoptera: Cerambycidae). Варьирующая часть пигментного рисунка надкрылий — перемычки (перевязи) между пятнами, местоположение которых в потен-

циальной структуре рисунка надкрылий строго сохраняется. Ранее нами было показано, что перемычки между пятнами проявляют себя как устойчивые состояния пороговых признаков, т.е. являются феноми (Васильев и др., 2007). Установлены несколько характерных способов соединения пятен перемычками, нумерация местоположений которых приведена на схеме (рис. 5.3а).

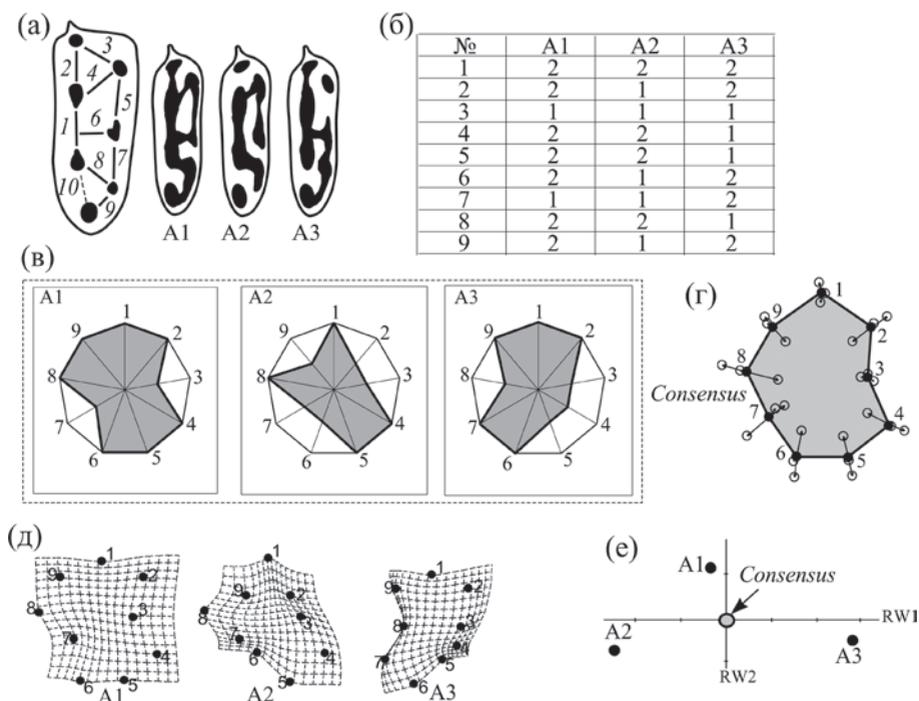


Рис. 5.3. Техника проведения индивидуальной фенограмметрии на примере структуры рисунка надкрылий усача изменчивого: (а) локализация потенциальных перемычек (фенов 1–9) между пятнами и три реальные фенокомпозиции (A1–A3) на правых надкрыльях; (б) таблица проявления 9 фенов (по строкам) для трёх надкрылий A1–A3 (по столбцам); (в) фенограммы, характеризующие особенности структуры рисунка трёх надкрылий по 9 феном; (г) усреднённая (консенсусная) конфигурация ландрмарков, полученная при Прокрустовой суперимпозиции трёх индивидуальных фенограмм по данным trpс-файла; (д) визуализация фенограмм с помощью трансформационных решёток; (е) ординация фенограмм в плоскости первых двух относительных деформаций (relative warps – RW).

Для каждого надкрылья определяли конкретную композицию фенов — сочетание номеров перемычек. На рисунке представлены три фенокомпозиции надкрылий, обозначенных А1–А3 (рис. 5.3а).

Перемычка под номером 10 в среднеуральской популяции усача изменчивого встречается пренебрежимо редко, поэтому для упрощения структуры её не включили в таблицу (рис. 5.3б). Для левого и правого надкрылий частоты обычно совпадают, несмотря на частую асимметрию проявления фенов на разных сторонах особи. В данном примере мы рассматриваем только правые надкрылья. В таблице (рис. 5.3б) строкам соответствуют данные о наличии того или иного из 9 фенов, а столбцам — надкрылья разных особей. Проявления соответствующих перемычек (=фенов) кодировали 2, а их отсутствие — 1. На основе этой таблицы для трёх надкрылий построили индивидуальные астероны в MS Excel (рис. 5.3в). Можно экспортировать эти изображения в виде jpg-файлов и провести расстановку ландмарков в экранном дигитайзере tpsDig2 (Rohlf, 2017) или конвертировать исходную таблицу в tps-файл при помощи макроса TPSCreator (см. ниже). Полученный тем или иным способом tps-файл можно использовать в любой программе для геометрической морфометрии. На рис. 5.3г показан консенсусный астерон, полученный в результате Прокрустовой суперимпозиции. Можно визуализировать фенограммы с помощью трансформационных решёток (рис. 5.3д), а также провести ординацию объектов в пространстве главных компонент или относительных деформаций — *relative warps* — RW (рис. 5.3е).

Рассмотрим на примере программы Microsoft® Office Excel 2007 процесс ручной процедуры получения tps-файла на основе заранее подготовленной прямоугольной матрицы данных, колонкам которой соответствуют особи, а строкам — признаки (фены). На основе таких колонок данных, как уже говорилось, строятся индивидуальные лепестковые диаграммы (это один из стандартных графиков MS Excel), т.е. фенограммы (астероны). Два полученных в MS Excel рисунка фенограмм затем следует сохранить в виде графических файлов в формате TIFF. На их основе в программе tpsUtil создается заготовка tps-файла, а в программе tpsDig2 проводится последовательная расстановка ландмарков, соответствующих наличию или отсутствию фенов. В первом случае на изображении фенограммы нужно получить координаты для ситуаций с нулевым проявлением фенов по всем радиальным признакам, т.е. для точек, принадлежащих окружности с радиусом 1. Со второго графического файла аналогично снимаются координаты ландмарков, принадлежащих окружности с радиусом 2. Более точные координаты ландмарков можно получить, если триж-

ды (или более) выполнить расстановку ландмарок и использовать средние значения координат.

Как уже отмечалось выше, два этих изображения с расставленными на них ландмарками (на меньшей и большей окружностях) служат графическими шаблонами при дальнейшей конвертации проявления дискретных структур — фенов — в соответствующие координаты ландмарок для всех особей в выборке. Единственным условием для дальнейшего процесса конвертирования структуры в форму является отсутствие пропусков информации о проявлении каких-либо фенов у конкретной особи (это выражается в невозможности расстановки соответствующей ландмарки). В случае, когда из-за поломки, загрязнения или иной причины нельзя наблюдать ту часть морфоструктуры, где возможно проявление того или иного фена, приходится полностью выбраковывать такую особь из выборки из-за неопределённости.

Значения координат признаков в итоговом tps-файле после расстановки ландмарок на два шаблонных изображения должны быть представлены двумя парами столбцов (колонок). В первой (левой) паре указываются значения координат ландмарок только для нулевых состояний признаков (принадлежащих окружности радиуса 1), а во второй (правой) — для проявившихся фенов (с радиусом 2). Эти две пары колонок координат из tps-файла можно далее использовать как шаблоны всех вероятных значений координат ландмарок для всех других особей и их признаков.

С помощью программы MS Excel можно осуществить конвертирование значений 1 и 2 в соответствующие координаты tps-файла путем подстановки (замены по условию). Например, если в ячейке исходной классификационной таблицы проявления фенов имеется значение 2, то в другую ячейку, где производится запись текстового tps-файла, заносятся соответствующие координаты данного структурного элемента фенограммы, которые извлекаются из определённой колонки и строки координат графических шаблонов. Соответственно если стоит цифра 1, то в условии выбора указываются координаты для ситуации непроявившегося фена по данному признаку фенограммы.

Опыт показывает, что на практике удобно вручную проводить последовательную замену с одновременной подстановкой не более чем для 10 особей (колонок). Формула конвертирующих замен в MS Excel 2003 может выглядеть следующим образом: «=ЕСЛИ(G2=1;B2;D2)» для левой и «=ЕСЛИ(G2=1;C2;E2)» для правой колонки координат. При этом пары координат ландмарок для «1» должны быть размещены в столбцах B и C, а ландмарок для «2» — в столбцах D и E. Исходные значения кодов в виде «1»

и «2» для признаков первого объекта/особи/метамера должны быть расположены в ячейках столбца (колонки) G. Соответственно правее столбца G должны быть заняты ещё 9 столбцов (H–P), чтобы общий блок ввода данных включал, как указывалось выше, 10 особей (рис. 5.4).

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	QR	S	T	U
1	LM	Xnul =	Ynul =	1Xplus=	2Yplus=	Traits	odessa		LM=25										
2	1	242	361	241	420	Ch1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	241	420	
3	2	271	358	286	412	Ch2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	286	412	
4	3	299	346	330	396	Ch3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	330	396	
5	4	321	327	364	371	Ch4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	364	371	
6	5	342	304	393	335	Ch5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	393	335	
7	6	354	279	411	297	Ch6	1	1	2	1	2	2	2	1	2	1	411	297	
8	7	361	250	421	254	Ch7	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	421	254	
9	8	359	218	418	208	Ch8	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	418	208	
10	9	349	191	405	165	Ch9	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	405	165	
11	10	334	165	380	127	Ch10	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	380	127	
12	11	313	145	348	97	Ch11	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	348	97	
13	12	285	132	309	77	Ch12	2	2	2	2	2	1	2	1	1	2	309	77	(d)
14	13	256	125	265	63	Ch13	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	265	63	
15	14	227	124	221	63	Ch15	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	221	63	
16	15	197	130	176	75	Ch16	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	176	75	
17	16	172	146	137	95	Ch17	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	137	95	
18	17	150	165	104	126	Ch18	1	2	1	2	1	1	1	1	2	1	104	126	
19	18	135	191	80	165	Ch19	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	80	165	
20	19	124	218	67	207	Ch20	1	1	2	1	2	1	2	2	1	2	67	207	
21	20	123	249	62	254	Ch21	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	62	254	
22	21	127	278	71	296	Ch22	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	71	296	
23	22	140	304	90	336	Ch23	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	90	336	
24	23	161	329	121	372	Ch24	1	1	2	2	1	1	1	1	2	1	121	372	
25	24	185	345	155	397	Ch26	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	155	397	
26	25	213	357	198	414	Ch27	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	198	414	
27						ID=	odessa		Image=										
28																	ID=odessa		
29																	LM=25		
30																	241	420	
31																	286	358	

Рис. 5.4. Фрагмент листа электронной книги MS Excel с примером конвертации исходной матрицы встречаемости фенотипических признаков в tps-файл (на примере выборки черепов обыкновенной полёвки из окрестностей г. Одессы): а – координаты ландмарков для «1» эталонной фенограммы; b – координаты ландмарков для «2»; c – блок матрицы исходных данных о встречаемости фенотипических признаков в формате «1» и «2»; d – итоговый фрагмент tps-файла с конфигурацией ландмарков для первого объекта.

Стандартный tps-файл должен включать необходимый минимум атрибутов записи. Начало каждого нового блока пар координат для отдельной особи в tps-файле обозначается как LM=N, где N – число признаков. Например, если фенотипических признаков 25, то запись будет выглядеть так: LM=25. Затем ниже по строкам вводятся пары значений координат, соответствующие числу признаков (строк столько же, сколько признаков). Завершает информационный блок для одного объекта строка с записью «ID=» (в этом случае имеет смысл вводить индивидуальный порядковый номер или общий групповой идентификатор в зависимости от цели создания файла и его дальнейшего использования в той или иной программе). Идентификатором группы, например, может быть аббревиатура названия

соответствующего локалитета (Zp – заповедник, т.е. ID=Zp). В последнем случае удобно использовать простую формулу соединения текстовых фрагментов для первого объекта =СЦЕПИТЬ(\$G\$28;G27), а для второго =СЦЕПИТЬ(\$G\$28;H27) и т.д. Здесь \$G\$28 фиксирует текст «ID=», а переменные колонки G, H и т.д. соответствуют номеру или общему групповому идентификатору каждого объекта, которые заранее записываются в ячейки колонок (G, H, I ... P) или форматируются путем копирования в ячейки определённой строки MS Excel.

Каждый новый блок (фрагмент выборки) по 10 особей поочередно помещается в один и тот же определённый диапазон ячеек, для которых запрограммирована описанная выше замена с проверкой условий и форматированием tps-файла. Полученный новый фрагмент tps-файла копируется из MS Excel и подклеивается снизу в текстовый файл, расширением имени которого будет не txt, а tps. Для этой цели подойдёт любой текстовый редактор, например, WordPad. «Синтезированный» таким путем tps-файл можно использовать в любой программе геометрической морфометрии. По этому файлу можно построить индивидуальные полигоны, получить и построить усреднённый или консенсусный полигон (см. рис. 5.3г), а затем применить технику построения полигонов с помощью трансформационных решёток (см. рис. 5.3д) и, наконец, провести ординацию объектов с помощью главных компонент или относительных деформаций – RW (см. рис. 5.3е). Следует подчеркнуть, что для вычислений в программах геометрической морфометрии данный tps-файл пригоден так же, как и все традиционные (полученные не для виртуальных форм, отражающих изменчивость структуры объектов, а для описания изменчивости собственно формы).

Однако в дальнейшей работе с файлами, характеризующими изменчивость формы астеронов, следует учитывать один важный момент. При геометрической фенограмметрии анализируется форма астеронов, а не реальных объектов. С точки зрения методов геометрической морфометрии форма двух астеронов, один из которых описывает объект с полным набором реализовавшихся признаков (т.е. все признаки в таблице исходных данных закодированы «2»), а второй с полным набором не реализовавшихся (все признаки закодированы «1»), одинакова. Такие астероны являются правильными многоугольниками с равным количеством вершин и различаются только размерами, но не формой. В процессе Прокрустовой суперимпозиции размеры центроидов этих астеронов будут приравнены к единице, и объекты станут полностью идентичными. Тем не менее, с точки зрения феноетики различия между описываемыми объектами являются максимально возможными.

Предположим, что у нас имеется четыре объекта и четыре соответствующих им астерона. У объекта 1 все признаки не проявились (в таблице данных стоят только «1»), у объекта 2 все признаки проявились (только «2»), у объекта 3, например, первый признак проявился, а остальные нет (одна «2», остальные «1») и, наконец, у объекта 4 – первый признак не проявился, а остальные проявились (одна «1», остальные «2»). После Прокрустовой суперимпозиции астероны 1 и 2 по форме различаться не будут, а астерон 3 будет в равной мере (т.е., например, по величине Прокрустовой дистанции) отличаться от астеронов 1 и 2. Аналогичная ситуация возникнет и с астероном 4. При этом очевидно, что на самом деле наиболее сходны по проявившимся признакам астероны 1 и 3, а также 2 и 4. То есть в данной ситуации величина Прокрустовой дистанции, являющаяся метрикой при анализе различий формы объектов, не пропорциональна величине истинных различий между объектами. В результате статистические оценки сходства и различий объектов в выборке, полученные методом Прокрустовой суперимпозиции, будут существенно смещены. Предположительно, величина смещения будет выше при исследовании групп со стабильным проявлением признаков и ниже в ситуациях, когда все признаки варьируют.

Авторы предлагают два основных способа, с помощью которых можно избежать смещений статистических оценок в геометрической фенограмметрии. Первый способ может быть реализован в программах, где возможно вернуть исходный размер центроида объекта после Прокрустовой суперимпозиции. Например, в программе PAST (Hammer et al., 2001) при процедуре трансформации исходных координат в меню «Transform» → «Procrustes (2D/3D)» следует выбирать опцию «Keep size». Тогда после Прокрустовой суперимпозиции всем астеронам будут возвращены их исходные размеры. В геометрической фенограмметрии различия между астеронами существенны как по форме, так и по размерам. Сохраняя информацию об исходных размерах, мы получим корректные статистические оценки.

Такой же способ, но требующий дополнительную ручную процедуру возвращения объектам исходных размеров центроида, возможен и в программе MorphoJ 1.6d (Klingenberg, 2011). Для этого следует осуществить экспорт файла, полученного после Прокрустового анализа (в меню File опция «Export Dataset»), а затем вручную в MS Excel умножить все значения прокрустовых координат на соответствующие им значения центроидов (CS). После этого полученный текстовый файл вновь требуется импортировать в программу MorphoJ (в меню File опция «Import Shapes Changes Vectors») и далее использовать как откорректированную версию исходных прокрустовых координат. Наряду с коррекцией смещения координат дан-

ный способ обеспечивает возможность морфокартирования молекулярных и иных филогений на основе композиций неметрических признаков (Васильев и др., 2013) в программе MorphoJ.

Ф. Миттерозеккер с соавторами (Mitteroecker et al., 2004) рекомендуют процедуру умножения прокрустовых координат на натуральные логарифмы соответствующих им размеров центроида. При этом появляется возможность, сохраняя форму объектов (shape), придавать им ещё и компоненту размера (size), создавая Прокрустово пространство образов (size–shape space = form space). Как и в пространстве форм (shape space), в подобном пространстве образов (form space) наблюдается нормальная сферическая вариация распределения объектов вокруг консенсусной средней формы. Поэтому мы предлагаем для исключения описанного выше смещения использование процедур умножения прокрустовых координат на CS или на  $\ln(\text{CS})$ .

Второй способ избежать смещения оценок заключается в применении Букштейновой, а не Прокрустовой суперимпозиции. Данный способ предложен нашими коллегами А. О. Шкурихиным и Т. С. Ослиной. Не следует выбирать в качестве меток базовой линии анализируемые признаки (вершины астерона), иначе после суперимпозиции мы получим тот же артефакт, что был описан выше. В данном случае правильно будет использовать в качестве базовой линии две дополнительные метки, не кодирующие никаких признаков. Их добавление не повлияет на различия между исследуемыми объектами, поскольку у всех объектов в выборке координаты этих дополнительных меток будут одинаковыми. Таким образом, мы самостоятельно выравниваем все астероны по размерам еще до процедуры суперимпозиции, и все различия по значащим признакам сохраняются. При таком методе астероны 1 и 2 из примера выше будут различаться. Воспользоваться Букштейновой суперимпозицией (Bookstein, 1991) можно, например, в программах PAST (Hammer et al., 2001) или IMP (Sheets, 2001).

Еще один способ избежать смещения оценок – выбрать в качестве фенограммы не астерон, а гистограмму, в которой каждому признаку соответствует вертикальная линия, длина которой равна 1 в случае отсутствия фена и 2 – при его проявлении. В этом случае форма гистограммы при максимальном проявлении признаков также не будет соответствовать таковой в случае их полного отсутствия. Достоинством данной модели является возможность корректного применения процедуры Прокрустовой суперимпозиции, а её недостаток обусловлен громоздкостью изображения.

Наконец, мы предлагаем использовать в программе PAST непосредственно значения координат астеронов без выполнения Прокрустова анализа. В процессе создания фенограмм уже осуществлены трансляция

(все они имеют один и тот же центр) и ротация (каждому признаку соответствует определённый вектор), а масштабирование в фенограмметрии не требуется, поэтому полученные координаты можно рассматривать как «квазипрокрустовы». При таком способе смещение невелико, доступна ординация индивидуальных и групповых композиций фенев и не теряется возможность их визуализации. Фактически данный способ почти не отличается от процедуры многомерной ординации композиций бинарных кодов встречаемости фенев методом главных компонент, предложенной авторами ранее (Васильева, 2006; Васильев, Васильева, 2009), но позволяет в программе PAST визуализировать индивидуальные и групповые композиции с минимальной погрешностью.

Итак, визуализацию конфигураций виртуальных объектов в виде фенограмм следует делать с осторожностью. Заметим также, что в этом случае излишне использовать утрирование (*exaggeration*) — изменение коэффициента масштаба деформирования с помощью соответствующих опций. В программе MorphoJ, например, при расчётах в блоке канонического анализа (CVA) по умолчанию стоит коэффициент утрирования *Scaling factor* = 10.0. Рекомендуем либо не применять данную опцию, либо использовать значение коэффициента не более 2.0 во избежание сильного искажения фенограммы.

Проиллюстрируем результаты ординации индивидуальных фенограмм по описанному выше фрагменту выборки обыкновенной полёвки (см. рис. 5.4) с помощью метода относительных деформаций — RW. На рис. 5.5 наряду с индивидуальными фенограммами изображена консенсусная (усреднённая) групповая фенограмма, соответствующая средним значениям прокрустовых координат выборки. Поскольку в данном случае приведено рассеивание ординат объектов на плоскости вдоль первой и второй относительных деформаций (RW1 и RW2), а не в трёхмерном пространстве, проекции некоторых из них, заметно различающихся по конфигурации, оказываются расположенными близко друг от друга. Подобный эффект обусловлен тем, что элементы формы астерона, соответствующие отдельным фенам, у млекопитающих варьируют в своем большинстве независимо друг от друга, т.е. проявляют крайне слабую корреляцию, поэтому на первую ось, как и на последующие, обычно приходится небольшая доля общей дисперсии. По матрице значений всех относительных деформаций с помощью кластерного анализа можно построить дендрограмму, отражающую степень реального структурного сходства особей в выборке. Наиболее фенетически близкие (сходные по структуре) объекты будут при этом сгруппированы в общие субкластеры.

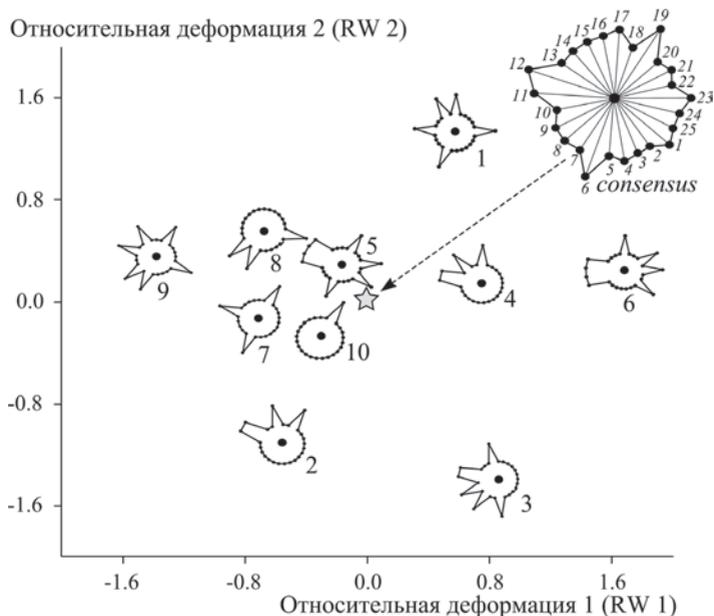


Рис. 5.5. Результаты ординации индивидуальных астеронов, по фрагменту выборки обыкновенной полёвки из окрестностей г. Одессы ( $n = 10$ ) методом относительных деформаций – RW (при  $\alpha = 0$ ) и изображение консенсусной (средней) конфигурации – референсной фенограммы.

Интересно отметить, что при изменении значения коэффициента масштабирования  $\alpha$  проекции ординат объектов в плоскости первых двух относительных деформаций будут существенно изменяться. В частности, если коэффициент  $\alpha = -1$ , т.е. характеризует главным образом мелкомасштабные изменения с высокой энергией деформации, то картина ординации будет иной, поскольку проявление относительно редких структурных признаков выходит при этом на первый план. При ординации объектов с коэффициентом  $\alpha = +1$ , т.е. при усилении крупномасштабных структурных изменений с наименьшей энергией деформации на первый план выходят резкие различия в проявлении признаков. Напомним, что при  $\alpha = 0$  ординация объектов методом относительных деформаций (RW) практически идентична той, которая получена методом главных компонент. Таким образом, эти возможности, связанные с изменением коэффициента  $\alpha$ , следует учитывать при планировании исследования и интерпретации его результатов.

Что позволяет получить такая, на первый взгляд, изошрённая техника конвертирования встречаемости фенотипов и морф в фенограммы для геометрической морфометрии? Не проще ли просто использовать частоты фенотипов или морф и сравнивать выборки традиционными методами? Вероятно, правильный ответ заключается в том, что так и следует поступать во многих случаях. Однако существуют задачи, при решении которых геометрическая фенограмметрия будет иметь заметное преимущество.

Мы полагаем, что предложенный подход в первую очередь позволяет представлять в виде виртуальной конфигурации структурные особенности не только групп, он предоставляет уникальную возможность сравнивать между собой в структурном отношении отдельных особей (визуализировать эти различия), а также оценивать дистанции между объектами. Методы фенетики популяций ранее не позволяли сравнивать индивидуальные сочетания — композиции фенотипов («фенокомплексы» по терминологии Н. И. Лариной) и опирались в основном на межгрупповые сравнения. После разработки нами методов многомерной ординации индивидуальных композиций фенотипов в общем морфопространстве (Васильев, Васильева, 2009) эта проблема в рамках популяционной мерометрии в значительной степени была решена, за исключением задачи визуализации индивидуальных фенетических различий. Предложенная нами техника геометрической фенограмметрии позволяет решать и эту задачу.

Во вторую очередь становится принципиально возможным соотносить в единой системе методов геометрической морфометрии итоги сравнения размеров (размер центроида  $CS$ ), формы (Прокрустовы координаты форм) и структуры (Прокрустовы координаты фенограмм) представителей одной и той же выборки. Затем с помощью PLS-методов можно находить общие направления изменчивости этого комплекса признаков для одних и тех же особей (или выборок).

Подобным образом можно переводить в графическую и соответственно количественную формы и данные по частотам встречаемости дискретных, а также качественных признаков, например окрасочным морфам или морфотипам строения зубов для выборок (групп). Идя таким путем, можно сравнивать объекты с большим числом структурных признаков как множество виртуальных форм. Выполнить такую же процедуру, используя традиционные многомерные методы классификации, иногда сложно в вычислительном отношении. Следует, однако, учитывать, что размер центроида ( $CS$ ) в данном случае будет отражать меру структурной сложности объектов (до некоторой степени пропорционален среднему числу проявившихся при-

знаков). В этом легко убедиться, если сравнить ряд индивидуальных фенограмм с разным числом признаков (рис. 5.6).

Необходимо учесть, что индивидуальные астероны могут иметь разную форму при равном числе проявившихся фенов неметрических признаков, но соответственно, одинаковые размеры центроида (рис. 5.7). Поэтому размер центроида (CS) в данном случае будет отражать суммарную структурную сложность фенокомпозиций, но не их структуру. Мы рекомендуем использовать CS как индекс структурной сложности индивидуальных и групповых астеронов. Индекс позволит соотнести объекты сравнения по степени общего проявления фенов. Он также может применяться как индекс индивидуальной и групповой aberrантности при использовании aberrантных фенов, отклоняющихся от структурной нормы.

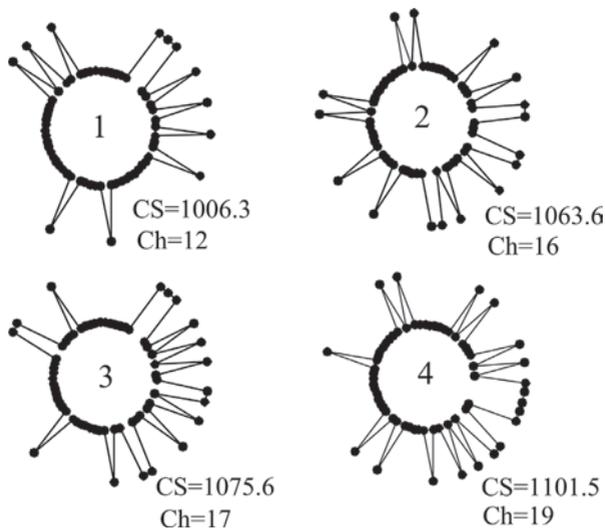


Рис. 5.6. Ряд индивидуальных фенограмм (1–4) с разным числом дискретных признаков (Ch) и соответствующими размерами центроида (CS) для каждой конфигурации.

В случае если индивидуальную информацию о проявлении альтернативных признаков (фенов) в конкретном исследовании получить трудно, но при этом имеются данные о частотах их встречаемости для сравниваемых групп, то по ним можно также проводить межгрупповое сравнение, применяя геометрическую фенограмметрию.

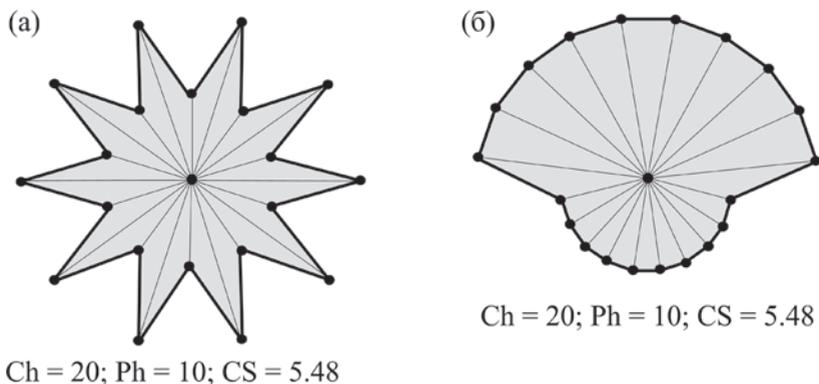


Рис. 5.7. Индивидуальные фенограммы разной формы (а-б) с одинаковым числом исходных (Ch) и проявившихся (Ph) признаков и, соответственно, одинаковым размером центра (CS).

Поскольку анализ межгрупповых различий по частотам встречаемости фен (или морф) является нормой для популяционных фенологических сравнений (Яблоков, 1980; Новоженев, 1980; Яблоков, Ларина, 1985; Васильев, 1988), рассмотрим на отвлеченном примере технику групповой геометрической фенограмметрии (рис. 5.8). В качестве примера используем условный полиморфизм трёх выборок по встречаемости 9 морф, которые представлены в виде уже рассмотренных в первой главе вариантов предметов посуды: чашка, пиала, блюдце, причём каждый предмет маркирован также тремя вариантами окраски — белый, серый и черный.

Таким образом, в каждой условной выборке имеется по 9 морф в разном частотном соотношении, но их встречаемость в сумме составляет 100% (рис. 5.8а). Поясним, однако, что подобная ситуация типична при сравнении встречаемости морф (или морфотипов). Фены, взятые как одно из альтернативных состояний признака, в отличие от морф значительно чаще проявляются у разных признаков независимо друг от друга.

Для получения изображений — фенограмм каждой из выборок — в столбцах листа MS Excel следует указать данные по разным выборкам, а в соответствующих строках — данные о частоте встречаемости морф, фен или качественных признаков в виде долей единицы или процента встречаемости (рис. 5.8б). Для конкретной выборки (столбца данных) нужно выбрать в меню «Вставка» лепестковую диаграмму (лучше выбрать заполненную). Заметим, что в MS Excel 2007 такой тип диаграммы следует ис-

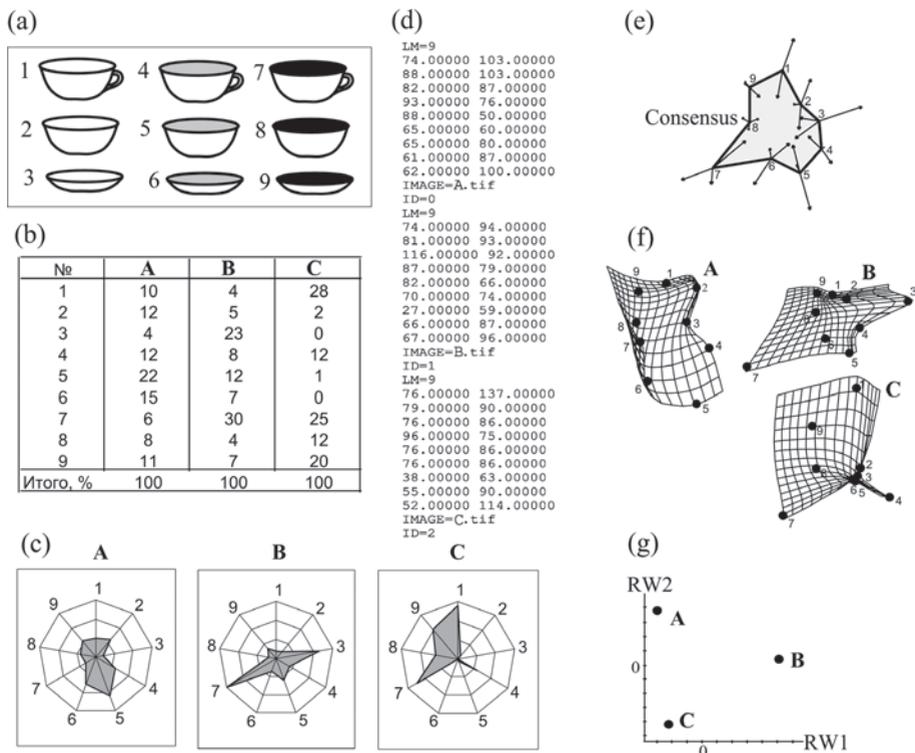


Рис. 5.8. Техника проведения групповой геометрической фенограмметрии на условном примере сравнения встречаемости 9 морф в виде предметов посуды, маркированных разной окраской: (а) — условные «морфы», встречающиеся с разной частотой в трёх выборках; (б) — таблица с результатами классификации проявления 9 морф (по строкам) для трёх выборок А, В и С (по столбцам); (с) — фенограммы (полигоны), характеризующие особенности соотношения морф трёх выборок, построенные в программе MS Excel; (д) — trs-файл с координатами ландмарков, характеризующих форму полигонов — групповых фенограмм; (е) — усреднённая (консенсусная) конфигурация, полученная при суперимпозиции конфигураций ландмарков трёх выборок по данному trs-файлу; (ф) — визуализация фенограмм для трёх выборок с помощью трансформационных решёток; (г) — ординация центроидов трёх выборок в плоскости первых двух относительных деформаций (RW).

кать в блоке «Другие диаграммы». В результате этого будут сформированы аналоги полигона А. С. Серебровского (рис. 5.8с). Размеры этих диаграмм должны быть постоянными, фиксированными для всех последующих вы-

борок. Полученные диаграммы (фенограммы выборок) затем следует скопировать и сохранить в любом графическом редакторе для растровых изображений (Adobe Photoshop, Microsoft Paint и др.) в форматах JPEG, TIFF или BMP. Накопив необходимое число таких изображений фенограмм в определённом каталоге (папке), создайте по ним с помощью программы tpsUtil каркас tps-файла (см. выше, Глава 3). В программе tpsDig (или tpsDig2) расставьте соответствующие конфигурации лан্ডмарок и сформируйте рабочий tps-файл (рис. 5.8d). Дальнейший анализ закономерностей межгрупповой изменчивости фенограмм выборок, включая Прокрустову суперимпозицию и получение консенсусной конфигурации (рис. 5.8e), визуализацию фенограмм с помощью трансформационных решёток (рис. 5.8f) и ординацию центроидов выборок в плоскости относительных деформаций (RW) или главных компонент (рис. 5.8g) можно провести в любом из имеющихся пакетов программ по геометрической морфометрии. Напомним, что для полученных прокрустовых координат требуется обязательно вносить поправку на размер центроида, т.е. заранее выбрать опцию «Keep size» в программе PAST или в пакете MorphoJ осуществить экспорт прокрустовых координат, в ручную умножить их на соответствующие CS или  $\ln(CS)$  и вновь импортировать в программу для дальнейших расчётов. Затем этот материал можно также анализировать в других программах для оценки степени своеобразия фенограмм, а также интерпретации выявленных межвыборочных различий.

А. Г. Васильев и И. А. Васильева совместно с Т. С. Ослиной разработали макрос для программы Microsoft® Office Excel. Данный макрос, названный «TPSCreator», позволяет конвертировать матрицы данных по индивидуальным проявлениям комплекса фенотипических признаков и таблицы частот встречаемости фенотипов в формат tps-файла. Для каждого объекта формируется фенограмма (астерон и гистограмма) с числом вершин (лан্ডмарок), соответствующим числу фенотипов. Координаты каждой лан্ডмарки астерона рассчитываются как координаты её радиус-вектора, модулем которого является величина, характеризующая состояние признака.

Чтобы воспользоваться макросом TPSCreator, нужно поместить таблицу исходных данных в книгу MS Excel, содержащую данный макрос. При желании макрос можно скопировать в личную книгу макросов, тогда он будет доступен из любой открытой книги MS Excel на Вашем компьютере. В настройках безопасности MS Excel должен быть разрешён запуск макросов.

При запуске макроса появится диалоговое окно «Создание TPS-файла», состоящее из двух блоков (рис. 5.9). Верхний блок предназначен для создания tps-файла из фенограмм типа «гистограмма», а нижний — из

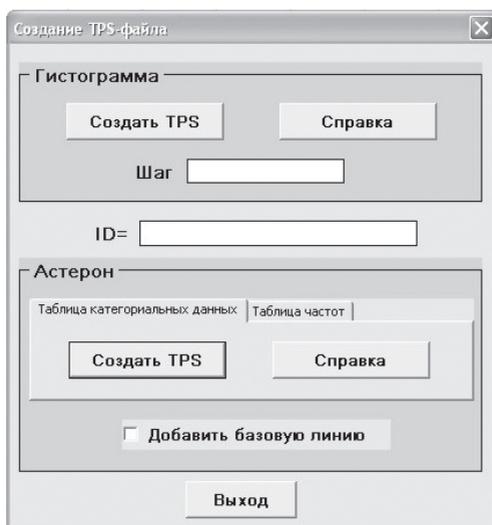


Рис. 5.9. Диалоговое окно TPSCreator с выбранной закладкой «Таблица частот», введённым именем идентификатора и добавлением опции базовой линии.

астеронов. Для создания tps-файла на основе матрицы, характеризующей индивидуальное проявление гомологичных фенов неметрических признаков в обоих случаях нужно выбрать закладку «Таблица категориальных данных». Строкам таблицы исходных данных должны соответствовать изучаемые объекты, столбцам — признаки. Состояние исследуемых признаков в данном случае можно кодировать любыми целыми числами (0 и 1, 1 и 2 и т.д.). Кроме того, возможно создать tps-файл в случае, когда состояний признака будет более двух. Состояния признака также должны быть кодированы целыми числами (например, 1, 2, 3, 4, 5 в случае пяти возможных состояний). Если вводятся данные для одной конкретной выборки, то при необходимости в поле «ID=» можно ввести общий идентификатор для особей в выборке. Для этого можно использовать буквы латинского алфавита и любые символы, кроме пробела. Если поле оставить пустым, объекты в tps-файле будут пронумерованы по порядку, начиная с нуля. Если нужно создать tps-файл для Букштейновой суперимпозиции, поставьте галочку в поле «Добавить базовую линию». При необходимости можно воспользоваться справкой. Затем на листе MS Excel нужно выделить таблицу введённых данных без заголовков и строчных имен восполь-

зоваться кнопкой «Создать TPS» в соответствующем блоке (гистограмма или астерон), в появившемся окне указать имя и папку назначения для создаваемого файла и нажать кнопку «Сохранить». В итоге в выбранной папке появится tps-файл.

Для создания tps-файла из таблицы частот, нужно выбрать соответствующую закладку диалогового окна (рис. 5.9). Таблица исходных данных должна быть организована следующим образом (рис. 5.10). В заголовке таблицы должны быть даны названия (номера) выборок, они будут представлены в tps-файле. Названия выборок лучше указывать на латинице. Для каждого фена неметрического признака должно быть указано число объектов, у которых он обнаружен, а также объём данной выборки. Например, в таблице (рис. 5.10) в выборке 1 (sample1) признак 1 (fen1) встречается у 7 объектов из 105 и т.д. Как и в предыдущем случае, можно при желании добавить базовую линию. Далее нужно выделить таблицу без заголовков (см. рис. 5.10), кликнуть по кнопке «Создать TPS» в нужном блоке (гистограмма или астерон), указать имя и папку назначения для файла и нажать кнопку «Сохранить». В итоге в выбранной папке появится tps-файл, содержащий координаты ландмарков для соответствующих фенограмм сравниваемых выборок.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1		sample1		sample2		sample3		sample4		
2	fen1	7	105	19	76	37	90	44	100	
3	fen2	12	104	24	76	18	86	38	100	
4	fen3	34	105	12	75	5	90	2	98	
5	fen4	54	105	33	76	79	88	98	100	
6	fen5	22	101	12	76	3	90	11	100	
7	fen6	67	105	40	73	38	90	29	100	
8	fen7	1	105	14	76	8	90	10	99	
9	fen8	0	105	5	74	17	90	39	100	
10	fen9	16	105	27	76	45	89	65	98	
11	fen10	11	105	15	76	22	89	18	98	
12										

Рис. 5.10. Выделенная область таблицы введенных групповых данных для формирования tps-файла с помощью макроса TPSCreator.

Для получения макроса TPSCreator для Microsoft® Office Excel можно направить запрос авторам по электронной почте vag@ipae.uran.ru или самостоятельно скачать файл с сайта URL: <http://ipae.uran.ru/lab106/>

TPSCreator.zip (раздел «Наши разработки» лаб. эволюционной экологии ИЭРиЖ УрО РАН). Авторы декларируют, что подготовили макрос для решения собственных задач и не несут ответственности за его использование.

Библиографическую ссылку при использовании TPSCreator рекомендуется представлять в следующей форме:

Васильев А.Г., Васильева И.А., Ослина Т.С. TPSCreator – макрос Microsoft® Office Excel для конвертации таблиц индивидуальной и групповой встречаемости фенев в формат tps-файла. 2018 [URL: <http://ipae.uran.ru/lab106/TPSCreator.zip>]. Рекомендуется также следующая англоязычная ссылка: Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Oslina T.S. TPSCreator – the Microsoft® Office Excel macros for conversion of phenogram in tps-file format. 2018 [URL: <http://ipae.uran.ru/lab106/TPSCreator.zip>].

Наиболее интересно использование предложенного нами метода геометрической фенограмметрии для морфологического картирования молекулярных филогений и оценки обобщённого филогенетического сигнала комплекса гомологичных фенев неметрических признаков. Визуализация структурных различий с помощью фенограмм несколько облегчает интерпретацию полученных результатов.

Рассмотрим применение метода геометрической фенограмметрии на примере сравнения ряда близких видов и форм обыкновенных полёвок группы *Microtus arvalis sensu lato*. Авторы сравнивали музейные серии данных форм из коллекций лаборатории эволюционной экологии и Музея ИЭРиЖ УрО РАН, включая выборки киргизской *Microtus kirgisorum* (вварная колония ИЭРиЖ УрО РАН), восточноевропейской *Microtus rossiaemeridionalis* и алтайской *M. obscurus* (Южный Урал) полёвок. Прежнее название киргизской полёвки – илийская полёвка (*M. ilaeus*) почти не используется. Ранее восточная форма обыкновенной полёвки, названная *obscurus*, рассматривалась как сильно дифференцированная внутривидовая форма обыкновенной полёвки, т.е. как *Microtus arvalis obscurus* (Мальгин, 1983; Мейер и др., 1996).

Вопрос о таксономическом статусе восточной (алтайской формы) обыкновенной полёвки по-прежнему до конца не решён (Булатова и др., 2013). Когда при диагностике особей мы использовали нуклеотидные последовательности гена цитохрома *b* мтДНК, взятые из Генбанка (NCBI), то у всех исследованных экземпляров таксономическая принадлежность восточной и западной форм обыкновенной полёвки безошибочно определялась. Поэтому в данном исследовании мы склонны придерживаться представлений Н. Ш. Булатовой с соавт. (2013) о таксономическом статусе алтайской полёвки *M. obscurus* как вида или, по крайней мере, полувида.

С указанными выше таксонами мы сопоставляли две выборки собственно обыкновенной полёвки в узком смысле *M. arvalis arvalis* s. str. — из Центральной России (окр. г. Липецка) и Украины (окр. г. Одессы). Авторы благодарны проф., д.б.н. [Н. М. Окуловой], а также д.б.н. В. А. Лобкову за любезно предоставленные коллекционные материалы из Центральной России и Украины.

Нами были поставлены следующие цели: а) соотнести размах феногенетических различий между близкими криптическими таксонами в общем морфопространстве с их молекулярной филогенией; б) оценить филогенетический сигнал для сравниваемых форм по комплексу гомологичных фенотипических признаков осевого черепа и нижней челюсти; в) провести индивидуальную диагностику таксонов-двойников *M. obscurus* и *M. arvalis* по конфигурациям фенограмм на основе дискриминантного анализа прокрустовых координат. Дополнительной задачей было уточнение таксономического статуса географически обособленной южно-украинской формы обыкновенной полёвки.

Особь из выборок симпатрических южно-уральских форм *M. rossiae-meridionalis* и *M. obscurus* были ранее кариотипированы под руководством проф., д.б.н. Э. А. Гилевой. В составе *M. arvalis* из окрестностей г. Липецка, судя по результатам их выборочного кариотипирования, присутствовали только представители данного таксона (устн. сообщ. проф. Н. М. Окуловой). Украинские обыкновенные полёвки из окрестностей г. Одессы не были предварительно кариотипированы, но географически находились в пределах ареала западной номинативной формы.

Поясним, что основная задача этой части раздела была методической, во многом иллюстративной и состояла в том, чтобы продемонстрировать некоторые возможности применения нового метода геометрической фенограмметрии на примере сравниваемых близких форм полёвок. Поэтому здесь представлен лишь фрагмент данной работы. В полной версии результаты проведённого таксономического сравнения группы обыкновенных полёвок *Microtus arvalis* s.l. в ближайшее время будут опубликованы совместно с В. А. Лобковым.

И. А. Васильевой исходно была проведена классификация осевых черепов и нижнечелюстных ветвей по 66 гомологичным фенотипическим признакам у группы обыкновенных полёвок *Microtus arvalis* s.l. В дальнейшем использовали два набора фенотипических признаков: большой набор (66 признаков) и редуцированный малый (25 признаков) — наиболее эффективный при межвидовой диагностике. Здесь мы приводим только схему расположения 25 признаков неметрических признаков на осевом черепе и нижней челюсти восточноевро-

пейской полёвки (рис. 5.11), гомологичных для всех сравниваемых таксонов. При гомологизации признаков и классификации объектов мы применили разработанные ранее подходы и принципы (Васильев, Васильева, 2009).

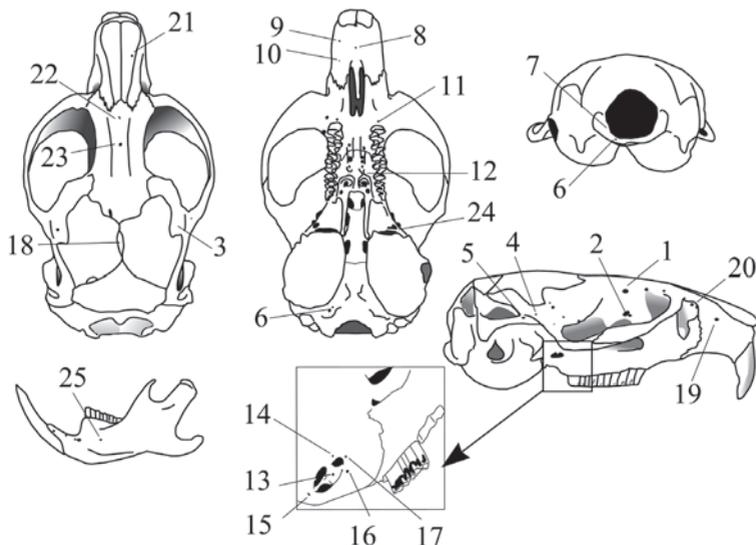


Рис. 5.11. Схема расположения фенотипических признаков (1–25) на осевом черепе и нижней челюсти восточноевропейской полёвки *Microtus rossiaemeridionalis* (номенклатура фенотипических признаков по: Васильева, 2006; Васильев, Васильева, 2009). Фены: 1 – FFr – лобное отверстие; 2 – FEtd – удвоенное решетчатое отверстие; 3 – FTm(–) – отсутствие височного отверстия; 4 – FTmasro – заднее дополнительное височное отверстие; 5 – MeTm – отверстие височного хода; 6 – FHgdu – отверстие подъязычного нерва; 7 – FHgla – боковое подъязычное отверстие; 8 – FPmtero – заднее медиальное предчелюстное отверстие; 9 – FPmlaan – переднее боковое предчелюстное отверстие; 10 – FPmla – боковое предчелюстное отверстие; 11 – FMx – верхнечелюстное отверстие; 12 – MgPlpolc – вырезка заднего края небной пластинки; 13 – FcM – отверстие в основании медиального алисфеноидного столбика с латеральной стороны в общем углублении овального и круглого отверстий; 14 – FRtacsu – дополнительное отверстие над круглым отверстием; 15 – FOvaspo(I) – отверстие позади foramen ovale (I); 16 – FRtacif(II) – отверстие снизу от foramen rotundum (II); 17 – FRtacan – отверстие впереди от foramen rotundum; 18 – OcPa – вставочная косточка в теменном шве; 19 – FProan – переднее предглазничное отверстие; 20 – FPodu – удвоенное предглазничное отверстие; 21 – FNc – парные отверстия в средней части носовой кости; 22 – FFrmean – переднее срединное лобное отверстие; 23 – FFrme – срединное лобное отверстие; 24 – Icve – вырезка вентрального края овального отверстия в медиальном направлении; 25 – FMas – отверстие на массивной площадке нижней челюсти выше linea obliqua.

Итоговые прямоугольные матрицы данных для конкретных выборок, характеризующие индивидуальное проявление фенотипов у особей для разных признаков (в виде 1 — отсутствие и 2 — наличие), конвертировали в соответствующие tps-файлы на основе индивидуальных фенограмм с помощью макроса MS Excel TPScreator. Изменчивость индивидуальных фенограмм внутри- и между таксономическими группами *Microtus arvalis* s.l. анализировали в программах MorphoJ 1.6d (Klingenberg, 2011) и PAST 2.17c (Hammer et al., 2001).

После проведения стандартной процедуры (MorphoJ: Preliminaries -> New Procrustes Fit...), включающей Прокрустов анализ конфигураций ландромов индивидуальных фенограмм, провели корректировку прокрустовых координат с учётом размера центроида — CS, как было описано выше, а затем выполнили канонический анализ (MorphoJ: Comparison -> Canonical Variate Analysis) сравниваемых групп полёвок. В результате канонического анализа межгрупповые различия вдоль всех четырёх канонических переменных оказались статистически достоверными как при большом, так и малом наборе фенотипов (см. выше).

На рис. 5.12 представлены межгрупповые различия астерограмм сравниваемых таксонов для большого набора фенотипов в общем морфопространстве вдоль первых трёх канонических переменных. На графике хорошо видно, что наиболее своеобразной и наиболее удалённой от других является киргизская полёвка (*M. kirgisorum*), а наименее удалены друг от друга в морфопространстве две географические формы обыкновенной полёвки (*M. arvalis*) из окрестностей городов Липецка и Одессы. Если судить по ординатам, характеризующим изменчивость индивидуальных фенограмм, то сравнительно близкой к этим формам, а следовательно, к собственно обыкновенной полёвке является алтайская полёвка *M. obscurus*. Восточноевропейская полёвка *M. rossiaemeridionalis* удалена в морфопространстве от *M. arvalis* и *M. obscurus*, но в меньшей степени, чем киргизская, занимая промежуточное положение между нею и двумя последними таксонами.

Полученные результаты хорошо согласуются с имеющимися в Генбанке (NCBI) молекулярно-генетическими данными по структуре митохондриального гена цитохрома *b* у всех четырёх сравниваемых представителей кариотипически различных таксонов. Мы построили молекулярные филогенетические деревья по наиболее длинным нуклеотидным последовательностям гена цитохрома *b* мтДНК (767–1063 bp) для произвольной серии генотипов сравниваемых форм, которые хранятся в Генбанке.

Расчёты проведены на основе использования программы Mega 5.1 (Tamura et al., 2011) после предварительного выравнивания последователь-

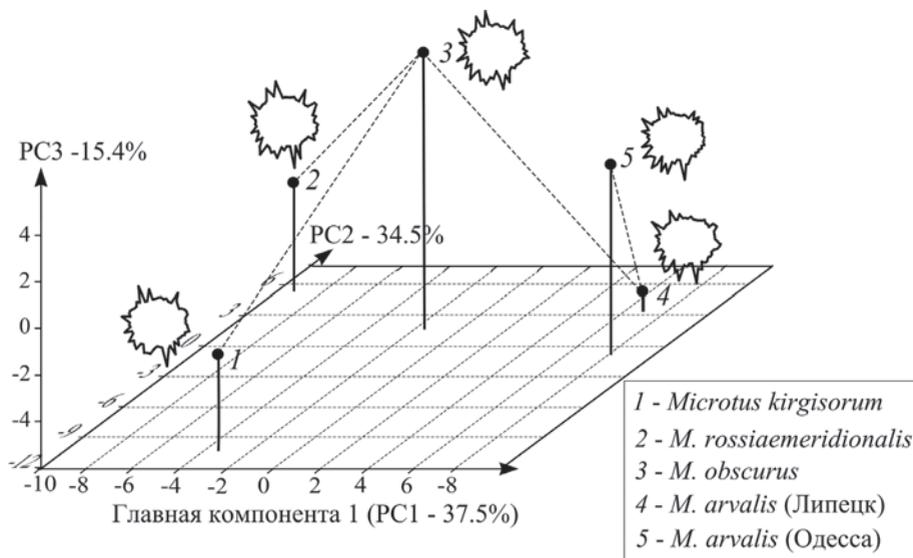


Рис. 5.12. Многомерная ординация астеронов по большому набору фенотипов ( $N = 66$ ) для сравниваемых таксонов (1–5) в общем морфопространстве вдоль первых трёх канонических переменных (CV1–CV3) с наложением дерева минимальных связей (MST – minimum spanning tree).

ностей в программе ClustalX 2.0 (Larkin et al., 2007). Была выбрана наиболее оптимальная модель замен нуклеотидов (HKY – Hasegawa-Kishino-Yano) с минимальными значениями информационных критериев Байеса (BIC) и Акаике (AIC). Модель предусматривала использование дискретного Гамма-распределения (+G) с 5 категориями скоростей для возможности моделирования неоднородности эволюционных скоростей между сайтами, а также предполагала возможность эволюционной инвариантности определённой фракции сайтов (+I). Порядок включения кодонов был принят как 1-й + 2-й + 3-й + не кодирующий. После строгого исключения всех пропусков информации (gaps) компромиссная последовательность составила 703 нуклеотида.

Применили три наиболее известных и часто используемых метода построения филогенетических деревьев по нуклеотидным последовательностям: ME – метод минимальной эволюции, NJ – метод ближайшего соседа и – метод наибольшего правдоподобия – ML. Филогенетическое дерево, построенное с помощью программы MEGA 5.1 методом минимальной эволюции (ME), в детальном виде (без компрессии ветвей гаплотипов) представлено на

рис. 5.13. Хорошо видно, что все ветви гаплотипов строго принадлежат своим собственным видам, включая и наиболее таксономически близкие — обыкновенную и алтайскую полёвок: все их представители чётко диагностируются молекулярными методами. Отсутствие сбоев в отношении видовой принадлежности наблюдается в итоговых кластерах для всех трёх методов построения филогенетических деревьев. Поэтому имеются основания полагать, что, несмотря на возможность гибридизации обыкновенной и алтайской форм полёвок в виварии и в природе, молекулярные различия между ними указывают на высокую степень их эволюционного расхождения.

Сравнение структуры трёх полученных итоговых филетических деревьев, которые приведены на рис. 5.14, позволяет заключить, что все они почти идентичны и указывают на наибольшее своеобразие киргизской полёвки, от которой почти в равной мере удалены три других таксона. Из них наибольшее молекулярное сходство по структуре данного фрагмента гена имеют алтайская и собственно обыкновенная полёвки, тогда как восточноевропейская полёвка на кладограмме занимает по отношению к ним базальное положение.

Матрица парных межвидовых генетических  $p$ -дистанций с учётом стандартных ошибок, вычисленных на основе бутстреппирования с 500 повторными репликами, приведена в табл. 5.1, из которой следует, что различия между алтайской и собственно обыкновенной полёвками нельзя считать небольшими (внутривидовыми), поскольку по своему уровню они сопоставимы с заведомо межвидовыми. Следовательно, предварительный анализ позволяет полагать, что взаимное размещение центроидов выборок сравниваемых четырёх видов в общем морфопространстве в целом согласуется со структурой молекулярно-генетических отношений между таксонами.

Представляло интерес на том же самом материале количественно оценить потенциальный филогенетический сигнал, который содержится в гомологичных структурных признаках и их вариациях — фенах при совмещении морфопространства сравниваемых таксонов с их молекулярно-генетическим филетическим деревом. Структура наиболее правдоподобного (ML) укорененного молекулярного дерева (см. рис. 5.13) была записана нами без учёта относительных длин ветвей в отдельном файле в формате Nexus, который импортировали в программу MorphoJ. Мы полагаем, что данное молекулярное дерево может рассматриваться как прообраз реальной естественной филогении сравниваемых таксонов и служить в качестве наиболее правдоподобной филогенетической гипотезы.

На основе метода квадратично-изменяемой парсимонии — squared-changed parsimony (Maddison, 1991) — в программе MorphoJ провели морфокартирование таксонов относительно их молекулярно-генетической

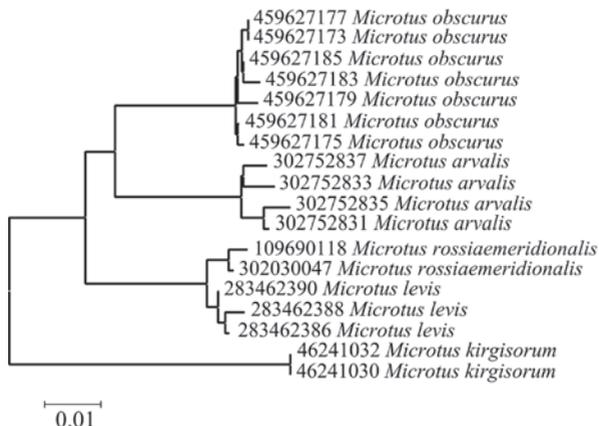


Рис. 5.13. Структура филогенетического дерева для четырёх двойниковых видов рода *Microtus*, построенная методом минимальной эволюции (МЕ) по гаплотипам гена цитохрома *b* мтДНК (номера и латинские синонимические названия видов приведены в соответствии с исходной базой данных Генбанка NCBI).

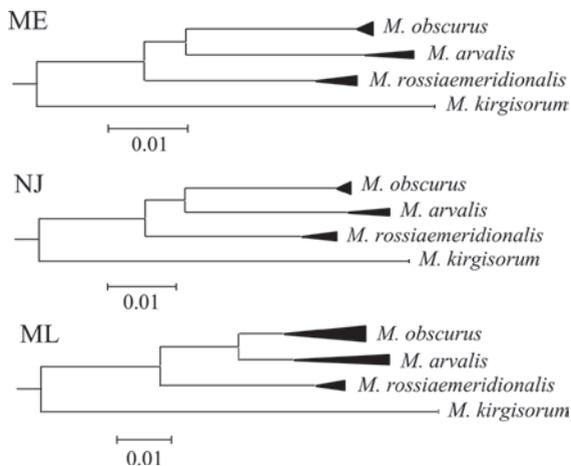


Рис. 5.14. Филогенетические деревья группы двойниковых видов серых полёвок рода *Microtus*: *M. kirgisorum* (= *ilaeus*) – киргизская, *M. rossiaemeridionalis* (= *levis*) – восточноевропейская, *M. obscurus* (= *M. arvalis obscurus*) – алтайская, *M. arvalis* (= *M. arvalis arvalis*) – обыкновенная, построенные по нуклеотидным последовательностям (703 п.н.) гена цитохрома *b* мтДНК методами: МЕ – минимальной эволюции, NJ – ближнего соседа, ML – наибольшего правдоподобия (ветви гаплотипов каждого вида представлены в компрессионной форме).

Таблица 5.1. Генетические **p-дистанции** Тамиру–Неи (MCLM – Maximum Composite Likelihood Method) между четырьмя криптическими таксонами полёвок рода *Microtus* по нуклеотидным последовательностям митохондриального гена цитохрома *b* (верхняя треугольная матрица содержит величины стандартных ошибок дистанций)

Таксон полёвок рода <i>Microtus</i>	<i>1. arvalis</i>	<i>2. obscurus</i>	<i>3. rossiae-meridionalis</i>	<i>4. kirgisorum</i>
1. Обыкновенная	—	0.0078	0.0087	0.0111
2. Алтайская	<b>0.0503</b>	—	0.0078	0.0112
3. Восточноевропейская	<b>0.0607</b>	<b>0.0523</b>	—	0.0107
4. Киргизская	<b>0.0864</b>	<b>0.0828</b>	<b>0.0831</b>	—

филогении, т.е. вписывания морфологических отношений между таксонами по комплексу гомологичных фенотипов в структуру их молекулярной филогении. Дополнительно были построены ещё три варианта вспомогательных филогений, также записанных в Nexus-формате: а) bush-филогения — заведомо наибольшее по длине *кустовое* филетическое дерево, у которого ветвление происходит из одной точки (иногда такое дерево обозначается как star-кладограмма или звездная филогения); б) ME-филогения — наименьшее по длине филетическое дерево, полученное методом минимальной эволюции (ME) в программе Mega 5.1 на основе имеющейся треугольной матрицы прокрустовых дистанций между видами, оцененных по конфигурациям фенограмм; в) wng-филогения — заведомо ошибочная структура филетического дерева. Структура последнего филетического дерева представлена ниже в Nexus-формате:

```
#NEXUS
BEGIN TAXA;
TaxLabels rossi obscur kirgis lipeck odessa;
END;
BEGIN TREES;
Tree
( obscur ( rossi ( kirgis ( lipeck , odessa ) ) ) ) ;
END;
```

Таксоны полёвок обозначены следующим образом: kirgis — киргизская, rossi — восточноевропейская, obscur — алтайская, a lipeck и odessa — внутривидовые сестринские формы обыкновенной полёвки. Видно, что в качестве базальной группы, которую можно воспроизвести по данной записи, включена алтайская полёвка, а не киргизская, которая в свою очередь помещена на её место в структуре дерева. Структура всех включённых в анализ деревьев приведена на рис. 5.15.

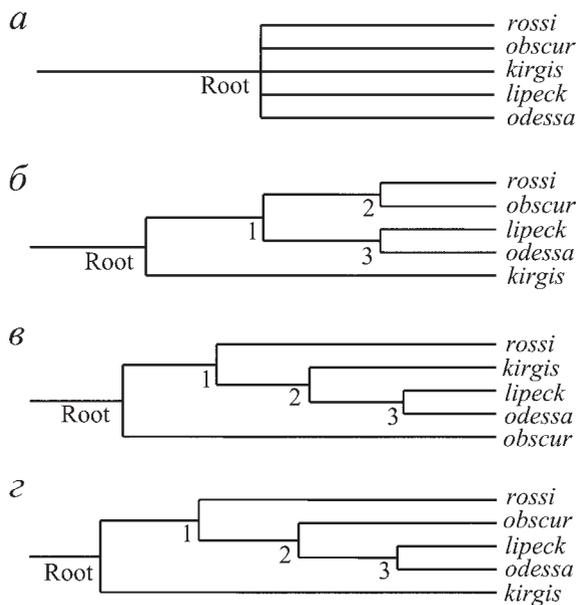


Рис. 5.15. Структура всех филогенетических деревьев, используемых для вычисления и тестирования филогенетического сигнала, содержащегося в изменчивости конфигураций фенограмм: а – bush-филогения, б – ME-филогения, в – wrong-филогения, г – ML-филогения.

При оценке филогенетического сигнала с использованием методов геометрической морфометрии в соответствии с рекомендациями Кристиана Клинденберга и Нелли Гидажевски (Klingenberg, Gidaszewski, 2010) учитывали филогенетические индексы, вычисленные на основе получаемых при морфокартировании длин деревьев (Tree Long – TL). Длину максимального дерева вслед за указанными выше авторами обозначим как  $g$ , минимального –  $m$ , а полученного на основе молекулярной филогении –  $s$ . Необходимые для оценки индексы вычисляли по следующим формулам (Kluge, Farris, 1969; Farris, 1989; Klingenberg, Gidaszewski, 2010):  $CI$  (consistency index – индекс соответствия) =  $m/s$ ;  $RI$  (retention index – индекс удерживания) =  $(g - s)/(g - m)$ . Величина индекса соответствия ( $CI$ ) колеблется от 0 до 1 и указывает на степень гомоплазии в наборе данных: чем выше значение индекса, тем ниже уровень гомоплазии. Для упрощения оценки гомоплазии иногда используют индекс  $H$ , который является обратной величиной к индексу  $CI$ :  $H$  (homoplasy index – индекс гомоплазии) =

( $1 - CI$ ). Индекс удерживания  $RI$  также может изменяться от 0 до 1, а его величина прямо пропорциональна степени синапоморфии в наборе данных. Известен также индекс масштабированного соответствия  $RC$  (rescaled consistency index) =  $CI \times RI$  (Kluge, Farris, 1969; Farris, 1989), позволяющий получать взвешенные оценки для индекса соответствия с учётом величины индекса удерживания: чем выше значение индекса  $RC$ , тем ниже уровень гомоплазии и выше степень синапоморфии в наборе данных. Для оценки значимости достигнутой минимальной длины дерева после морфологического картирования, а также оценки устойчивости проявления филогенетического сигнала использовали перестановочный тест (Permutation test) с 10 000 реплик. Уровень значимости оценивали по величине вероятности найти в процессе случайных перестановок более короткое дерево.

В дальнейшем провели оценку конгруэнтности иерархии морфологических различий таксонов по набору из 25 фенов ранее выявленной молекулярной филогении этой группы с помощью процедуры морфокартирования, которая реализована в программе MorphoJ (Comparison -> Map Onto Phylogeny). В результате морфологического картирования дерева, принятого в виде наиболее правдоподобной молекулярной филогении (см. рис. 5.15г), установлено, что структура его ветвления и взаимное размещение центроидов видовых выборок в общем морфопространстве хорошо согласуются (рис. 5.16). Оказалось, что морфологические межгрупповые различия хорошо соответствуют молекулярно-генетической модели гипотетической филогении, где наиболее своеобразной является *M. kirgisorum*.

Полёвки *M. obscurus* и *M. arvalis*, таксономический статус которых разными авторами рассматривается неодинаково — от дифференцированных внутривидовых форм до полувидов или даже настоящих видов, действительно морфологически несколько ближе друг к другу, чем к *M. rossiaemeridionalis*. Внутривидовые формы обыкновенной полёвки *M. arvalis* (в узком смысле) из Центральной России и Южной Украины морфологически наиболее близки, причём полёвки из окрестностей г. Одессы явно не заслуживают подвидового ранга. На рисунке видно, что центроиды их выборок расположены в морфопространстве близко друг от друга. Ранее на примере большого набора фенов мы также показали (см. рис. 5.12), что центроиды этих выборок наиболее близки в общем морфопространстве. На рис. 5.16 также размещены астероны, соответствующие каждому таксону и корневому узлу (Root).

Полученные в ходе морфокартирования молекулярной ML-филогении реконструкции теневых конфигураций фенограмм, соответствующих промежуточным узлам (nodes) данной кладограммы, представлены на рис. 5.17. В данном случае мы приводим эти теневые конфигурации ландмарк

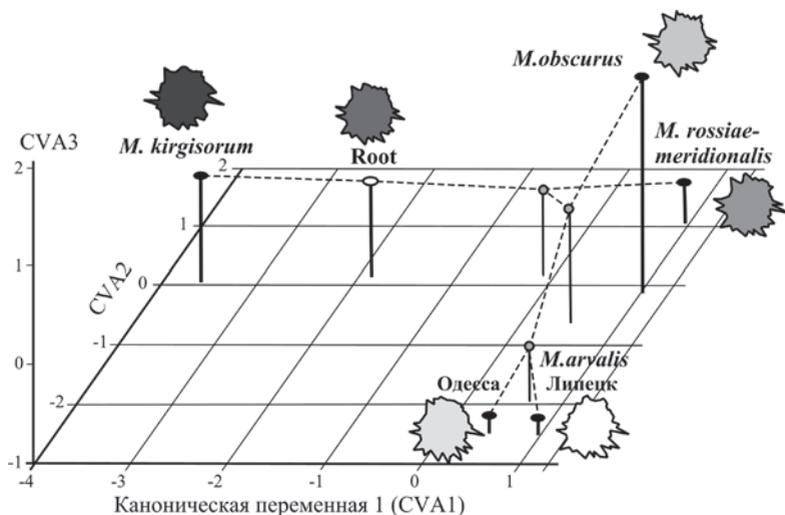


Рис. 5.16. Морфокартирование молекулярной ML-филогении, построенной по нуклеотидной последовательности гена цитохрома *b* мтДНК, на основе результатов канонического анализа разнообразия фенограмм сравниваемых двойниковых видов рода *Microtus* (центроиды выборок и корневой узел (Root) сопровождаются теневыми конфигурациями усреднённых астеронов по 25 фенонам).

исключительно в качестве примера реконструкции формы для промежуточных узлов, которые вычислены, исходя из закономерностей изменения целевых (target) форм относительно корневой Root-конфигурации. Обращаем при этом внимание читателя на то, что в результате канонического анализа, ввиду некоторой взаимной корреляции осей, консенсусные конфигурации ландшафтов несколько деформируются. Тем не менее, структура астеронов вполне интерпретируема и позволяет реконструировать узловы филогенетические этапы структурных фенетических перестроек. Подобная реконструкция, например формы щёчных зубов полёвок для узловых объектов филогении, может быть потенциально полезна не только неонтологам таксономистам, но и палеонтологам.

Для оценки степени проявления филогенетического сигнала, содержащегося в структурной изменчивости фенограмм, использовали данные о длинах деревьев (TL), полученных при морфокартировании тестируемой и дополнительных кладограмм по значениям канонических переменных. В частности, для ME-гипотезы минимальная длина дерева составила TL

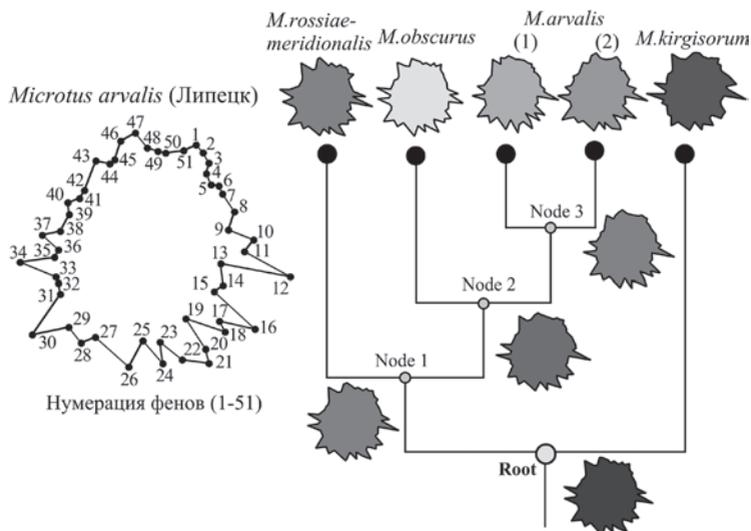


Рис. 5.17. Реконструкция гипотетического процесса морфологической дивергенции на основе процедуры морфокартирования молекулярной ML-филогении, где теневые конфигурации фенограмм — астероны соответствуют корневому, терминальным и промежуточным узлам (nodes) филогенетического дерева.

= 16.769, для тестируемой нами (наиболее правдоподобной) филогенетической гипотезы —  $TL = 17.332$ , а для bush-гипотезы —  $TL = 32.800$ . Подставляя соответствующие величины  $TL$  в приведённые выше формулы, для наиболее правдоподобной филогении получили следующие величины индексов:  $CI = 0.968$ ;  $RI = 0.965$ ;  $H = 0.032$  (с низкой вероятностью  $p = 0.0173$  нахождения ещё более короткого дерева, которая существенно ниже критического уровня, что указывает на статистическую значимость проявления филогенетического сигнала).

Из приведённых выше оценок можно заключить, что получен достаточно сильный филогенетический сигнал для неметрических признаков, если принимать данную молекулярную кладограмму в качестве самой правдоподобной филогенетической гипотезы. Другими словами, феногенетическая изменчивость элементарных гомологичных морфоструктур — фенов и разнообразие астеронов — содержат для сравниваемых представителей клады серых полёвок рода *Microtus* филогенетический сигнал. Степень конгруэнтности морфологической и молекулярной межгрупповой изменчивости оказалась в этом случае

высокой как для большого ( $N = 66$ ), так и для относительно небольшого ( $N = 25$ ) набора гомологичных фенев. При этом величина индекса гомоплазии ( $H$ ) в обоих случаях оказалась крайне мала, поэтому влиянием гомоплазии, как неизбежным шумом, в данном случае можно вполне пренебречь.

Иные результаты были получены при картировании значениями канонических переменных заведомо ложной филогенетической гипотезы в виде «wong»-филограммы: индексы были меньше, чем в предыдущем случае:  $CI = 0.834$ ;  $RI = 0.791$ ;  $H = 0.166$  – при высокой вероятности  $p = 0.169$  достижения ещё более парсимоничного дерева с минимальной длиной  $TL = 20.114$ . Поскольку вероятность оказалась выше первого критического уровня значимости, можно заключить, что проявление филогенетического сигнала в данном случае статистически недостоверно.

При сопоставлении величины масштабированного (взвешенного) индекса соответствия  $RC$  для первой – наиболее правдоподобной и второй – заведомо ошибочной филогенетических гипотез оказалось, что в первом случае индекс был существенно выше ( $RC = 0.933$ ), чем во втором ( $RC = 0.660$ ). Интерпретируя эти результаты, можно заметить, что морфокартирование второй, заведомо ошибочной, кладограммы не выявило значимый филогенетический сигнал в конфигурациях фенограмм, причём длина минимального дерева была больше, величина синапоморфии ниже, уровень гомоплазии выше, а достижение наибольшей парсимонии для данного дерева статистически не подтвердилось.

Представляло интерес сопоставить сравниваемые формы полёвок по структурной сложности фенооблика, используя средний размер центроида ( $CS$ ) как косвенный показатель проявления среднего числа фенев у таксономической группы (см. рис. 5.6). С этой целью мы провели морфокартирование размера центроида в молекулярную филогению для ML-филогенетического дерева. Из рисунка 5.18 следует, что представители обыкновенной полёвки из Центральной России (1) и юга Украины (2) имеют наименьшую структурную сложность фенооблика и близки друг к другу, киргизская полёвка (3) по среднему размеру центроида, т.е. структурной сложности, приближается к обыкновенной полёвке. Алтайская полёвка (5) отличается наибольшей структурной сложностью фенооблика по сравнению со всеми остальными, включая обе выборки обыкновенной полёвки. Восточноевропейская полёвка (4) близка по данному показателю к алтайской, но занимает промежуточное положение между нею и другими таксонами. Следовательно, обыкновенная и алтайская полёвки по среднему проявлению фенев резко различаются, что также косвенно свидетельствует об их эволюционном расхождении, проявляющемся в различиях морфо-

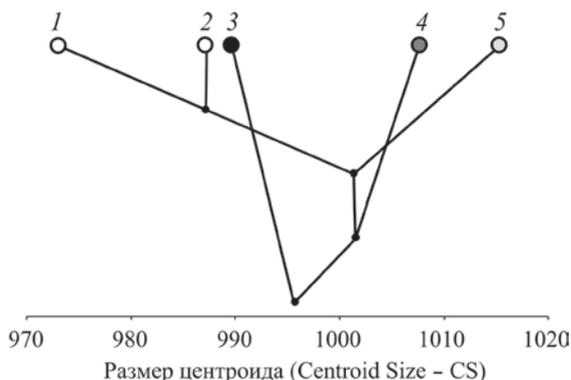


Рис. 5.18. Результаты морфокартирования размера центроида (CS) как косвенного показателя структурной сложности фенооблика в молекулярное ML-филогенетическое дерево для сравниваемых таксономических групп: 1 – *Microtus arvalis* (Липецк), 2 – *M. arvalis* (Одесса); 3 – *M. kirgisorum*; 4 – *M. rossiaemeridionalis*; 5 – *M. obscurus*.

гене́за структур осевого черепа и нижней челюсти. Заметим, однако, что филогенетический сигнал по размеру центроида не проявился ( $p = 0.4590$ ), т.е. структурная сложность фенооблика как таковая не конгруэнтна молекулярной филогении данной группы таксонов.

Для оценки надёжности видовой диагностики обыкновенной и алтайской полёвок по комплексу гомологичных фенотипов мы провели дискриминантный анализ прокрустовых координат, характеризующих форму фенограмм. На рис. 5.19 представлены результаты дискриминантного анализа выборок этих полёвок в виде гистограмм с распределениями значений дискриминантной функции. Обобщённое расстояние Махаланобиса между центроидами сравниваемых таксонов составило  $D^2 = 11.56$ , причём межгрупповые различия оказались высоко значимыми ( $T^2$  Хотеллинга = 658.12;  $p < 0.0001$ ). Корректность классификации объектов, т.е. вероятность безошибочного отнесения особей к своему виду, в данном случае составила 96.12%. Перекрёстный проверочный тест (cross-validation test) показал валидность дискриминации особей, хотя доля ошибочно диагностированных объектов несколько возросла. Выявленный процент корректного разделения особей обоих видов достаточно высок, а также сопоставим или превышает известные величины корректной дискриминации этих форм, полученные другими авторами по промерам черепа (Мейер, Дитятев, 1989; Окулова, Баскевич, 2007) и одонтологическим показателям (Маркова и др., 2003).

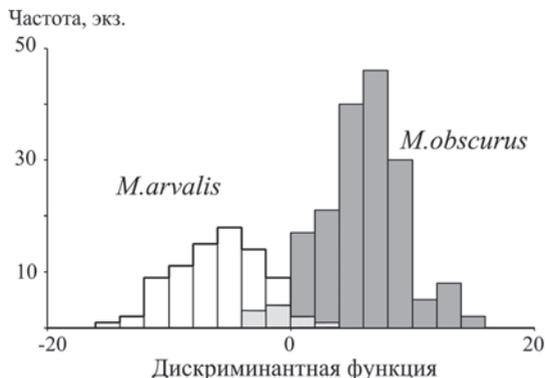


Рис. 5.19. Результаты дискриминантного анализа алтайской (*Microtus obscurus*) и собственно обыкновенной (*M. arvalis*) полёвок в виде совмещённых гистограмм частот особей сравниваемых форм по значениям дискриминантной функции.

Следовательно, используя гомологичные фены неметрических признаков осевого черепа и нижней челюсти, можно вполне надежно оценивать филетические отношения в данной группе серых полёвок, поскольку встречаемость их композиций (в виде фенограмм) содержит высокий филогенетический сигнал. Используя соотношение встречаемости фенотипов неметрических признаков краниальных морфоструктур грызунов, можно приблизиться к получению реальной картины филогенетических связей между ними, по крайней мере, на уровне представителей одного рода или близких родов. Таким образом, можно эффективно применять для целей верификации молекулярных филогенетических деревьев как предложенные нами ранее методы прямого многомерного феногенетического сравнения (Васильев, Васильева, 2009), так и новый метод геометрической фенограмметрии.

В итоге можно заключить, что, поскольку метод геометрической фенограмметрии проявил себя как эффективный инструмент при решении практических задач систематики и эволюционной морфологии грызунов, авторы могут рекомендовать его использовать, по крайней мере, для этой группы животных. Возможно, предложенный нами новый метод геометрической фенограмметрии — окажется полезным и для других групп животных и растений, а также решения иных задач, связанных с многомерной классификацией групп объектов по структурным и даже качественным признакам на основе геометрической морфометрии.

«Изучение формы может быть  
чисто описательным, а может быть  
аналитическим»

Д'Арси-Томпсон

## Глава 6

# НОВЫЕ ПУТИ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ СИСТЕМАТИКИ И ЭВОЛЮЦИОННОЙ ЭКОЛОГИИ МЕТОДАМИ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ: МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ФИЛОГЕНИЙ

Решение проблемы эволюционных изменений формы организмов является основной задачей нескольких ведущих направлений общей биологии, включая палеонтологию, систематику, филогенетику и эволюционистику. Несомненна важность этой проблематики также для эволюционной экологии (Шварц, 1969, 1980; Gould, 1977; Пианка, 1981; Чернов, 1996, 2008; Северцов, 2013) и эволюционной биологии развития, или EvoDevo (Гилберт и др., 1997). Благодаря тандемной связи молекулярной биологии и биологии развития постепенно становится понятным, что фундаментальные эволюционные процессы преобразования морфогенеза основаны не только на молекулярно-генетических изменениях, но и во многом обусловлены эволюционно-экологическими механизмами.

Примат экологических факторов эволюции по отношению к генетическим был отмечен академиком С. С. Шварцем ещё задолго до молекулярно-генетического бума и понимания генетиками важности биологии развития и эмбриологии, в значительной степени игнорируемых ими благодаря Т. Х. Моргану почти весь XX в. при объяснении эволюционных явлений (Гилберт и др., 1997). Напомним в этой связи, что по С. С. Шварцу (1969) «виды не потому виды, что они не скрещиваются, а они потому не скрещиваются, что они виды» (с. 149). Другими словами, не генетические причины первичны в видообразовании, а эволюционно-экологические. Однако при

правильной, с нашей точки зрения, постановке этого вопроса С. С. Шварц, как и многие его современники в те годы расцвета СТЭ, меньше обращал внимание на эволюционные аспекты изменения морфогенеза, чем на аспекты, связанные с экологической физиологией, биохимией и биоэнергетикой. Так или иначе проблема перестройки морфогенеза в эволюционном процессе воспринималась и обсуждалась далеко не всеми биологами того времени, хотя проблема гетерохроний и гетеротопий была сформулирована Э. Геккелем ещё в 1864–1866 гг., а идея эволюционных изменений в онтогенетическом процессе — модусов филэмбриогенеза — в начале прошлого века была чётко изложена А. Н. Северцовым (1921). Наибольший интерес к этой тематике высказывали И. И. Шмальгаузен (1938, 1946, 1983), К. Х. Уоддингтон (1964), Де Бир (de Beer, 1971) и Б. Л. Астауров (1974), а также К. Л. Паавер (1976), С. Гулд (Gould, 1977), Б. Куртен (Kurtén, 1988), А. С. Северцов (1990) и др.

До недавнего времени, буквально до начала XXI века, эту проблематику рассматривали как несколько экзотическое направление. В настоящее время, несмотря на актуальность таких исследований и общую востребованность их эволюционистикой и систематикой, изучение механизмов морфогенеза и его изменения в эволюции только начинает набирать силу, главным образом в русле эволюционной биологии развития, или *EvoDevo*. Геометрическая морфометрия, допускающая морфогенетическую интерпретацию выявляемых различий (Zelditch et al., 2004, 2006), как нам представляется, может быть одним из эффективных инструментов для решения этих проблем.

При видообразовании у новых видов сохраняются и транслируются многие морфологические черты и особенности изменчивости, присущие близким предковым формам (Мейен, 1988; Hansen, Martins, 1996; Blomberg, Garland, 2002; Васильев, 2005; Revell et al., 2008; Васильев, Васильева, 2009). Издавна это явление привлекало многих исследователей и именовалось разными терминами: транзитивный полиморфизм, филогенетическая инерция, филогенетическая корреляция, филогенетический консерватизм, филогенетический эффект (см. Васильев, Васильева, 2009; Krasnov et al., 2011). На рубеже XX–XXI веков появился термин «филогенетический сигнал», который, вероятно, независимо употребили по отношению к этому явлению многие авторы. Нам удалось найти одно из наиболее ранних прямых упоминаний данного термина в названии статьи в работе Кэтлин Гельм-Быховски и Джоэл Кракرافт (Helm-Buchowski, Cragcraft, 1993), где на врановых воробьинообразных птицах сопоставлялись молекулярная филогения и морфология сравниваемых таксонов. В работе П. Мардулина и Дж. Витфилда (Mardulin,

Whitfield, 1999), вышедшей несколько позднее, также применен этот термин. Авторы рассматривали степень ковариации и конгруэнтности молекулярных и морфологических (фенетических) филогений.

В самом начале XXI в., в 2002 г., практически одновременно появились статьи (Blomberg, Garland, 2002; Cole III et al., 2002; MacLeod, 2002; Rohlf, 2002), где филогенетический сигнал используется уже как рабочий термин. Наибольшее внимание обратило на себя исследование С. Бломберга и Т. Гарланда (Blomberg, Garland, 2002), поскольку авторы дали простое определение термина и предложили оригинальный метод вычисления индекса  $K$ , характеризующего меру проявления филогенетического сигнала. Под этим термином они рекомендовали понимать модель сходства между филогенетически близкородственными видами без допущения какого-либо эволюционного механизма или процесса, которые могут являться причиной этого сходства (иными словами, по сравнению со случайным процессом эволюции).

В узком понимании термин филогенетический сигнал означает, что феномы родственных видов имеют тенденцию быть более сходными друг с другом, чем с другими отдалённо связанными с ними видами. Соответственно по этой причине близкие родственные виды должны размещаться ближе в общем морфопространстве, чем более отдалённо связанные с ними таксоны (Klingenberg, Gidaszewski, 2010). Наиболее вероятны подобные эффекты по таким элементам фенома, как структура, форма и в меньшей мере по размерам организма, которые теснее связаны с условиями развития и крайне пластичны. Структура и форма организма теоретически должны быть во времени более инерционными (Васильев, Васильева, 2009). Благодаря инерционности и устойчивости морфогенетических связей организмы могут длительно, из поколения в поколение, сохранять основные черты строения и пропорции, в той или иной степени поддерживать от предкового вида к близкому рецентному виду филогенетический сигнал.

Впоследствии многие авторы, главным образом эволюционисты и экологи, начали применять несколько индексов для оценки филогенетического сигнала, используя работы, в которых этот термин только подразумевался (Pagel, 1994; Abouheif, 1999) или уже был назван (Blomberg, Garland, 2002). Обычно используют от двух до пяти разных показателей, позволяющих оценивать филогенетический сигнал (Krasnov et al., 2011; Rezende, Diniz-Filho, 2012). Первый из них — лямбда-индекс Пагеля (Pagel, 1994) — масштабирующий параметр для оценки корреляций между видами, относительно корреляции, ожидаемой при осуществлении случайной Броуновской эволюции (при отсутствии корреляции между видами — вариант звездных деревьев,

$\lambda = 0$ , а при полной корреляции — максимальный филогенетический сигнал,  $\lambda = 1$ ). Другой показатель — *K*-индекс Бломберга-Гарланда (Blomberg, Garland, 2002; Blomberg et al., 2003), который также позволяет оценить величину филогенетического сигнала через признаки и филетические деревья. Изредка используется и третий показатель — автокорреляция Морана *I*, предложенный Абугейфом (Abouheif, 1999). Поскольку в данной работе мы не применяем эти показатели, подробно здесь их рассматривать не будем, сославшись лишь на одну из недавних публикаций, в которой были детально рассмотрены уже пять показателей для измерения уровня филогенетического сигнала (Diniz-Filho et al., 2012).

Методы оценки филогенетического сигнала, предложенные другими авторами, которые использовали их применительно к геометрической морфометрии (Rohlf, 2001, 2002; Cole III et al., 2002; MacLeod, 2002), не были, по-видимому, в свое время замечены упомянутой группой ученых, поскольку геометрическая морфометрия тогда ещё только начинала укреплять свои позиции, и была мало известна научной общественности. Однако совсем недавно в специальной методической работе Дин Адамс (Adams, 2014) предложил генерализованную *K*-статистику для оценки филогенетического сигнала из формы (*shape*) других высокоразмерных многомерных данных, развив подходы Бломберга-Гарланда (см. выше) и разработав R-программу для вычислений на базе программного комплекса Geomorph (Adams et al., 2013, 2017). В данном случае уже в рамках геометрической морфометрии используется арсенал разработанных ранее показателей для измерения филогенетического сигнала.

Методы морфологического картирования молекулярных и иных филогенетических гипотез, представленных в виде филетических деревьев, отражающих наиболее вероятный филогенез данной группы видов или иных таксономических единиц, возникли сравнительно недавно как возможный путь верификации таких гипотез и поиска филогенетического сигнала для тех или иных морфологических признаков. Во многом этому способствовало развитие методов геометрической морфометрии. Параллельно предлагались способы такого картирования и для обычных морфометрических и иных дистанций (Rohlf, 2001; Stone, 2003; и др.). Подобные попытки, безусловно, осуществляли и раньше, в частности при построении филогений систематиками и палеонтологами, но после всеобщего внедрения кладистических молекулярно-генетических подходов необходимость в морфологической и эволюционно-экологической верификации полученных многочисленных кладограмм постоянно растёт (Klingenberg, Gidaszewski, 2010; Münkemüller et al., 2012; Smith, Hendricks, 2013; Gingras et al., 2013).

Как уже отмечалось, направления и методы количественной морфологической верификации филогений и поиска филогенетического сигнала, содержащегося в тех или иных морфоструктурах, появились в работах Н. Маклеода (MacLeod, 2002), Ф. Дж. Рольфа (Rohlf, 2002) и Т. М. Коле III с соавт. (Cole III et al., 2002) — это была коллективная тематическая монография, посвященная связи геометрической морфометрии и систематики. Общие идеи поиска филогенетического сигнала и путей его оценки обсуждены в главах, написанных Н. Маклеодом, а также Т. М. Коле III с соавт. Наиболее прагматичное решение, как нам представляется, предложил Ф. Дж. Рольф. Он показал возможность применения метода квадратично-изменяемой парсимонии (squared-change parsimony), ранее разработанного В. П. Мэддисоном (Maddison, 1991), в сочетании с методами вычисления ближайшего соседа (NJ) и максимального правдоподобия (ML) для визуализации промежуточных предковых форм, расположенных в узлах (nodes) ветвящегося филетического дерева и степени соответствия разнообразия конфигураций ландмарков в общем морфопространстве структуре данного дерева. Видимо именно эти работы и дали толчок к дальнейшему развитию методов морфологического картирования межгрупповых различий на филогенетические деревья.

Компьютерные средства визуализации изменений формы объектов, «привязанных» к филогенетическому дереву, ранее были разработаны Ф. Дж. Рольфом в пакете TPS (программа tpsTree). Затем К. П. Клиндженбергом был создан пакет программ MorphoJ, в котором блок «Map Onto Phylogeny» дает возможность проведения морфологического картирования импортируемых в программу филогенетических деревьев на основе использования метода квадратично-изменяемой парсимонии В. П. Мэддисона (Maddison, 1991) и перестановочного (permutation) теста. Идея метода состоит в том, что при сопоставлении морфометрических данных со структурой дерева для идеального совмещения необходимо некоторое суммарное количество потенциальных деформаций — изменений формы. Поэтому сумма квадратичных изменений вдоль всех ветвей дерева есть некий критерий, который минимизируется при методе квадратично-изменяемой парсимонии Мэддисона: если филогенетический сигнал велик, т.е. близкородственные таксоны относительно ближе друг к другу в морфопространстве, то сумма квадратичных изменений формы вдоль ветвей должна быть небольшой; если сигнал слаб, то эти таксоны в соответствии с предложенной филогенией не всегда будут близки друг к другу в морфопространстве, что приведёт к увеличению суммы всех квадратичных изменений. Для статистической оценки филогенетического сигнала в данном случае

К. П. Клиндженберг предложил процедуру перестановочного теста, позволяющего оценить долю перестановок, приводящих к возникновению более коротких квадратичных изменений длин дерева, чем наблюдается при его оригинальной исходной структуре (процедура ресэмплинга предполагает в данном случае 10 000 повторных реплик). Данный статистический тест учитывает общее количество квадратичных изменений, суммированных в целом по всем ветвям дерева. Исходно предполагается нулевая гипотеза, при которой филогенетический сигнал отсутствует, т.е. все полученные при перестановках длины деревьев короче длины оригинального дерева. Если вероятность обнаружения таких перестановок меньше, чем, например, 0,01 или 0,001, можно отклонить нулевую гипотезу и принять существование филогенетического сигнала в морфометрических данных.

Напомним, что для молекулярной филогенетики и кладистики ещё в прошлом веке были предложены индексы для оценки устойчивости получаемых деревьев и проявления гомоплазии. Ранее в главе 5 мы уже рассматривали технику получения таких индексов («филогенетических индексов» — Авт.), позволяющих косвенно оценить филогенетический сигнал с использованием методов геометрической морфометрии в соответствии с рекомендациями К. П. Клиндженберга и Н. Гидажевски (Klingenberg, Gidaszewski, 2010). Напомним, что часто при этом рассчитываются индексы консистенции ( $CI$  — consistency index) и индекс удерживания ( $RI$  — retention index) на основе получаемых при морфокартировании длин деревьев (Tree Long — TL). Максимальное по длине дерево ( $g$ ), которое иногда называется звездным (star tree) или кустом (bush), представляет собой пучок ветвей, отходящих от центра, т.е. случайно связывающих объекты (практически их не связывающих) ветвей. Длина реального тестируемого дерева ( $s$ ) вычисляется и строится по молекулярным или иным конкретным данным. Величина минимального дерева ( $m$ ) может быть приблизительно задана по дереву, вычисленному методом минимальной эволюции (ME). Предпочтительнее получать длину минимального дерева для конкретных 2D или 3D координат объектов с помощью программы FindSteinerTree, созданной К. П. Клиндженбергом на основе Стейнеровского алгоритма оптимизации методом ветвей и границ (Branch-and-Bound), разработанного В. Д. Смитом (Smith, 1992).

Программа FindSteinerTree К. П. Клиндженберга содержит возможность расчётов минимального дерева по алгоритму квадратично-изменяемой парсимонии при сравнительно небольшом числе таксонов (Klingenberg, Gidaszewski, 2010). Однако на практике, при числе таксонов больше 12, расчёты с помощью данной программы длятся иногда более 24 ч. Разли-

чия по результатам расчётов методами МЕ и вычисления длины Стейнеровского минимального дерева в программе FindSteinerTree относительно невелики. Например, для 8 таксонов в первом случае нами было получено значение 0.04115, а во втором — 0.03173. Поэтому, как нам представляется, можно воспользоваться относительно более легким, хотя и приближительным методом МЕ. Полученные методом Стейнеровской итерации деревья, как правило, бессмысленны в филогенетическом отношении (Klingenberg, Gidaszewski, 2010), тогда как метод МЕ чаще дает правдоподобные филогенетические деревья. Поэтому, несмотря на некоторое завышение оценки филогенетических индексов, мы приняли варианты расчёта  $m$  с помощью дерева, построенного методом МЕ по значениям главных компонент и канонических переменных. Большое число таксонов, как подчеркивает автор программы FindSteinerTree, требует для вычислений алгоритм, разработанный Г. Прёмелем и А. Стергером (Prömel, Steger, 2002).

Необходимые для оценки филогенетические индексы вычисляли по формулам, упомянутым в главе 5, и предложенным следующими авторами (Kluge, Farris, 1969; Archie, 1989; Farris, 1989; Klingenberg, Gidaszewski, 2010). Величина индекса соответствия, или консистенции ( $CI$ ), колеблется от 0 до 1 и указывает на степень гомоплазии в наборе данных, т.е. параллелизма в морфологической эволюции: чем выше значение индекса, тем ниже уровень гомоплазии. Для упрощения оценки гомоплазии иногда используют индекс  $H$ , который является обратной величиной индекса  $CI$ . Индекс удерживания  $RI$  также может изменяться от 0 до 1, а его величина прямо пропорциональна степени синапоморфии в наборе данных. Индекс масштабированного соответствия  $RC$  (rescaled consistency index) =  $CI \times RI$  (Kluge, Farris, 1969; Farris, 1989) позволяет получать взвешенные оценки для индекса соответствия с учётом величины индекса удерживания. Чем выше значение индекса  $RC$ , тем ниже уровень гомоплазии и выше степень синапоморфии в наборе данных. Для оценки значимости достигнутой минимальной длины дерева после морфологического картирования, а также проявления филогенетического сигнала использовали перестановочный тест (permutation test) с 10 000 реплик. Уровень значимости оценивали по величине вероятности найти в процессе случайных перестановок ветвей более короткое дерево.

Параллельно заметим, что для процедуры геометрической морфометрии может быть использован не только коллекционный материал, полученный из зоологических музеев и в результате собственных полевых сборов, но и опубликованные другими авторами рисунки и изображения биологических объектов. В этой связи при решении проблем систематики

и эволюционной экологии исследователь получает благодаря геометрической морфометрии новые необычные инструментальные возможности. Появляется реальный путь в той или иной степени продолжить исследовательский процесс, начатый другими авторами, дополняя его косвенной морфогенетической интерпретацией данных, которую предоставляет геометрическая морфометрия.

В этой главе мы попытаемся рассмотреть конкретные примеры постановки и решения некоторых общих задач систематики и эволюционной экологии с использованием методов геометрической морфометрии при изучении ранее опубликованных изображений формы клюва и головы у Дарвиновых вьюрков с Галапагосских островов (Лэк, 1949; Grant, Grant, 2008; Skinner et al., 2014), а также формы тела и головы рыб на примере симпатрических представителей флота усачей *Labeobarbus* из высокогорного оз. Тана в Эфиопии (Mina et al., 1996; de Graaf, 2003; de Graaf et al., 2008, 2010). Напомним, что морфометрические исследования Дарвиновых вьюрков проводились ранее как по отдельным признакам (Лэк, 1949), так и с помощью многомерных методов сравнения (Bowman, 1961; Schluter, 1984). В частности, Дольф Шлютер (Schluter, 1984) выявил положительную корреляцию между обычными морфометрическими характеристиками вьюрков и их филогенией. При сравнении формы тела ряда морфотипов усачей оз. Тана методами геометрической морфометрии на основе метода относительных деформаций (Reig et al., 1998) указанные авторы не ставили задачей поиск филогенетического сигнала и морфокартирование молекулярной филогении на разнообразии флота усачей оз. Тана. Поэтому наше исследование правомочно и актуально. В обеих группах животных — как у вьюрков, так и у усачей — на основе опубликованных материалов нам удалось с помощью методов геометрической морфометрии получить некоторую дополнительную информацию, которая допускает и новые версии эволюционно-экологической интерпретации данных, а также отчасти проливает свет на таксономию сравниваемых форм и феномен симпатрического формообразования.

### **6.1. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФОРМЫ ГОЛОВЫ И КЛЮВА У ГАЛАПАГОССКИХ ДАРВИНОВЫХ ВЬЮРКОВ И МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ РАЗНЫХ ВЕРСИЙ ИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФИЛОГЕНИЙ**

После знаменитого исследования Ч. Дарвином изменчивости галапагосских вьюрков, обитающих на разных островах архипелага, они стали классическим примером быстрой морфологической эволюции и адаптивной радиации. Их изучение собственно и натолкнуло Дарвина на идею

адаптивной эволюционной дивергенции видов. Дальнейшим изучением изменчивости, экологии и эволюции вьюрков неоднократно занимались разные исследователи. Среди них наиболее известны монографические работы Д. Лэка (1949), П. Грант и Р. Гранта (Grant, Grant, 2008) в которых имеются замечательные иллюстрации: рисунки и фотографии вьюрков разных видов. Представляло интерес на основе этих иллюстраций провести морфологическое картирование молекулярных и иных филогенетических гипотез в отношении вьюрков, что позволяет попытаться верифицировать предложенные филогении морфологическими данными и оценить филогенетический сигнал, содержащийся в конфигурациях головы и клюва сравниваемых видов птиц. Собственно это и было основной целью данного раздела работы.

Примечательно, что у родственных эндемичных видов вьюрков, заселивших острова Карибского моря, проявляются закономерности становления разнообразия формы клюва, а также пищевой специализации в локальных островных сообществах, аналогичные Дарвиновым вьюркам, обитающим на Галапагосском архипелаге. Для эндемичных вьюрков островов Карибского моря также наблюдаются адаптивная радиация, морфологическая и экологическая специализация. Исследования, проведённые в начале века (Sato et al., 2001; Grant, Grant, 2008), показали, что адаптивная эволюция Дарвиновых вьюрков происходила сравнительно быстро и составила не более 2–3 млн. лет. Иными словами, эволюционные процессы протекали достаточно быстро. По данным Бернса с соавт. (Burns et al., 2002), среди карибских островных родственников и аналогов Дарвиновых вьюрков эволюционное становление разнообразия клюва было таким же быстрым и экстенсивным. Проявление сходных тенденций эволюционных и экологических преобразований у родственных групп вьюрков предоставляет возможность для постановки эволюционно-экологических задач общего характера на одной из моделей — Дарвиновых вьюрках, как наиболее изученной. В частности, представляло интерес оценить соотношение генетического и морфологического разнообразия, а также определить и соотнести уровни морфологического разнообразия самцов и самок при сравнении разных видов Дарвиновых вьюрков.

Кратко напомним историю изучения Галапагосских вьюрков. Галапагосские острова расположены в Тихом океане приблизительно в 1000 км к западу от Эквадора. Поэтому во времена Ч. Дарвина его находка на островах птиц, подобных вьюркам, была своеобразной научной сенсацией. Ясно, что они должны были иметь материковое происхождение, но на ближайшем материке, да и где-либо ещё, такие вьюрки не встречались. Несомненным было и их недавнее происхождение, так как архипелаг по геологическим

меркам в океане возник не очень давно. Сегодня по данным исследователей время появления вулканических островов колеблется от 3 до 5 млн. лет (Sato et al., 2005).

В 1836 г. Ч. Дарвин привез из своей экспедиции на корабле «Бигль» шкурки и черепа птиц в Англию. Так как он не был профессиональным орнитологом, эти материалы в 1837 г. изучил известный орнитолог Джон Гулд и описал 9 новых видов вьюрков четырёх новых родов: *Geospiza*, *Cactospiza*, *Camarhynchus* и *Certhidea*. Позднее, благодаря дальнейшим экспедициям, были описаны ещё пять видов и два новых рода *Platyspiza* и *Pinaroloxias* на Галапагосских островах и изолированном о-ве Кокос, расположенном приблизительно в 700 км к северу от них (Лэк, 1949). Таким образом, всего обнаружили 14 видов вьюрков на Галапагосском архипелаге и один вид — *Pinaroloxias inornata* — на о-ве Кокос. По традиции 14 видов галапагосских вьюрков называют Дарвиновыми вьюрками (Darwin's finches).

С учётом особенностей экологии, морфологии и поведения Дарвиновых вьюрков, их подразделили на три основные группы (Лэк, 1949; Sato et al., 1999). Первая из них — земляные вьюрки — род *Geospiza*, которые названы так за то, что предпочитают питаться семенами на земле, встречаясь в самых сухих участках островов. Шесть видов этого рода по внешнему виду больше всего напоминают материковых вьюрков. Наибольшие различия по размерам тела и в размерах клюва наблюдаются у трёх близкородственных видов: *G. magnirostris* (наиболее крупный с самым большим клювом), *G. fortis* (средний по размерам тела и клюва) и *G. fuliginosa* (минимальные размеры тела и клюва). Три оставшихся вида имеют более продолговатые клювы и совмещают в пище семена, цветы и мягкую pulpу кактусов, в частности большой и малый кактусовые земляные вьюрки — *G. conirostris* и *G. scandens*, а также яйца и кровь других птиц — остроклювый вьюрок — *G. difficilis*. Вторая группа — древесные вьюрки, которые в основном кормятся насекомыми на древесных растениях и лишь изредка встречаются на земле. К этой группе относят представителей трёх родов — *Camarhynchus*, *Cactospiza* и *Platyspiza*, хотя единственный вид последнего рода *Platyspiza crassirostris* — растительноядный и питается не насекомыми, а почками, молодыми листьями, соцветиями и фруктами, пользуясь толстым, коротким, но слегка искривлённым клювом (Лэк, 1949; Sato et al., 1999). Три вида рода *Camarhynchus* различаются по размеру: большой — *C. psittacula*, средний — *C. pauper* и малый *C. parvulus* древесные вьюрки. Они специализированы в трофическом отношении и приспособлены к поеданию встречающихся на деревьях насекомых разного размера в соответствии с собственными размерами. Два вида кактусовых вьюрков рода *Cactospiza* — дятловый (*C. pallida*)

и мангровый (*C. heliobates*) — отличаются способом добычи насекомых. Дятловый выюрок извлекает насекомых с помощью заранее отломленных иголок кактуса или тонких веточек других растений, которые удерживает своим долотовидным клювом. Мангровый выюрок непосредственно использует свой прочный продолговатый клюв, добывая насекомых в мангровых болотцах. Третья группа выюрков небольших размеров с тонкими короткими клювами — певчие выюрки — представлена двумя родами *Certhidea* и *Pinaroloxias*. Род *Certhidea* представлен видами (*C. fusca* и *C. olivacea*), а *Pinaroloxias* — кокосовым выюрком (*P. inornata*), являющимся эндемиком и населяющим изолированный и удалённый от архипелага о-в Кокос. Виды певчих выюрков ориентированы на питание исключительно насекомыми, причём и на деревьях, и на земле.

Виды выюрков, формирующие локальные сообщества, сходны друг с другом по архитектуре гнезд, форме яиц и поведенческим типам ухода за ними, однако различаются по морфологии, окраске оперения и структуре песен, удерживая перекрывающиеся индивидуальные территории (Лэк, 1949; Grant, Grant, 2008).

Дэвид Лэк (1949) построил общее филогенетическое дерево выюрков, которое до сих пор не потеряло своей актуальности (рис. 6.1), однако к настоящему времени произошли некоторые изменения в таксономии выюрков, в частности родовой принадлежности видов и их номенклатуре.

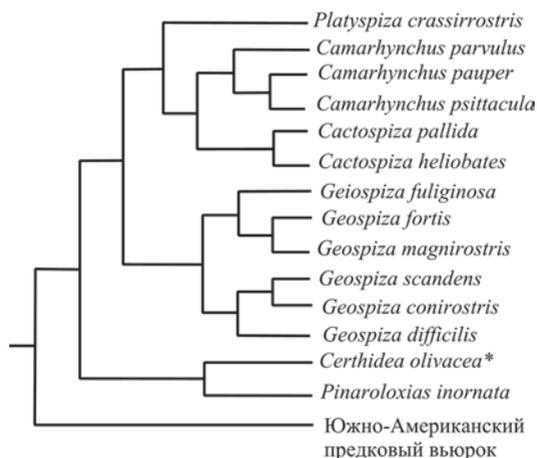


Рис. 6.1. Филогенетическое дерево Дарвиновых выюрков по Д. Лэку (1949), построенное с учётом их морфологии и экологии (\*наряду с *C. olivacea* в настоящее время выделен близкий вид — *C. fusca*).

В последние годы выделен ещё один вид певчих вьюрков — *Certhidea fusca*. Тем не менее, виды, описанные Д. Лэком, до сих пор рассматриваются как таковые. Замечательные рисунки вьюрков, представленные в книге, послужили нам соответствующими объектами геометрической морфометрии. Мы анализировали межвидовое разнообразие и изменчивость формы голов и клюва как самцов, так и самок. Другие иллюстрации голов и клювов вьюрков были получены из монографии Б. Грант и П. Гранта (Grant, Grant, 2008), а также статей К. Петрена с соавт. (Petren et al., 1999) и М.К. Скиннера с соавт. (Skinner et al., 2014). В последних случаях использовали изображения только самцов. Изображения вьюрков сканировали. В первом варианте анализа при сравнении самцов и самок 14 таксонов (по Д. Лэку) использовали 9 ландмарок (рис. 6.2), а во втором варианте при сравнении 16 таксонов (только самцы) для описания изменчивости формы головы и клюва применили 13 ландмарок (рис. 6.3).

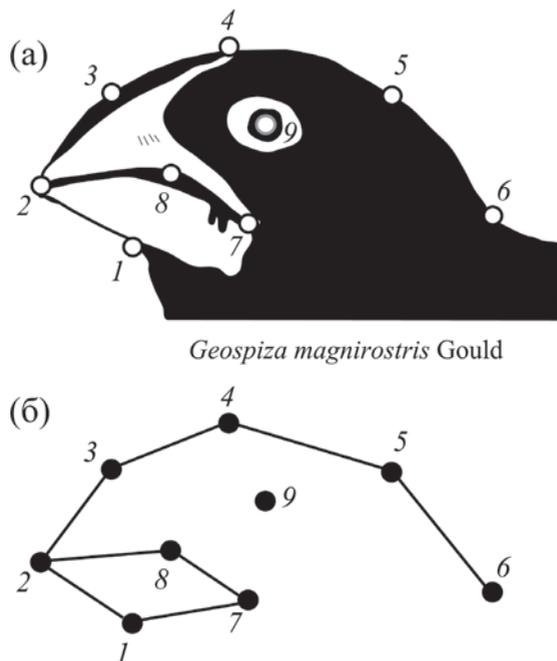


Рис. 6.2. Расположение 9 ландмарок на голове и клюве большого земляного вьюрка *G. magnirostris* (а) и их схематическая конфигурация в виде каркаса ландмарок, соединенных линиями в определенном порядке (б) для визуализации деформаций.

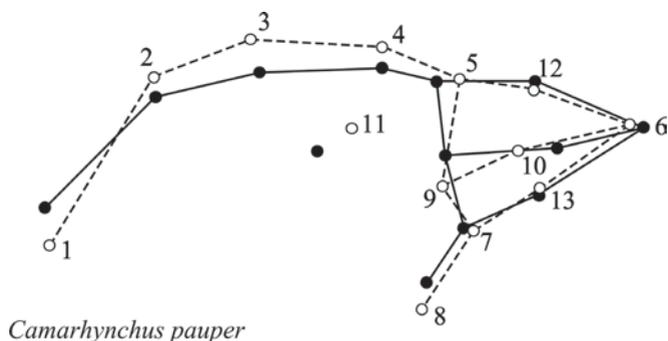


Рис. 6.3. Расположение лан্দмарков (1–13) на голове и клюве самцов Дарвиновых вьюрков и их конфигурация в виде каркаса лан্দмарков, соединённых линиями (залитые метки и сплошная линия — конфигурация головы и клюва среднего древесного вьюрка — *C. pauper*; пустые метки и штриховая линия — консенсусная конфигурация).

Появление новых методов молекулярной генетики дало новый толчок к исследованиям этой группы видов (Petren et al., 1999, 2005; Sato et al., 1999, 2001; Burns et al., 2002). Для выявления филологических отношений между Дарвиновыми вьюрками использовали разные фрагменты генома. В частности, были проанализированы нуклеотидные последовательности гена белка цитохрома *b* митохондриальной ДНК, а также нескольких встроенных в ядерную ДНК фрагментов мтДНК — numts — (Sato et al., 2001). Установлено, что наиболее близким предковым видом может считаться южно-американский певчий вьюрок *Tiaris obscura*. Сейчас идут споры по этому поводу, но мы приняли данную версию. Исследования также показали, что при большом морфологическом и экологическом своеобразии вьюрков их генетическое разнообразие, в частности по строению мтДНК, сравнительно невелико и в молекулярно-генетическом отношении виды, как правило, близки и трудно различимы. Наиболее генетически близкими по структуре нуклеотидной последовательности мтДНК, кодирующей цитохром *b*, являются, по-видимому, *G. scandens* и *G. conirostris*.

Использование в исследовании анализа изменчивости нуклеотидных последовательностей микросателлитов позволило выявить некоторую степень генетических различий, позволяющих формально оценить их молекулярно-генетическую дивергенцию и построить филогенетические деревья. При дальнейших исследованиях многие авторы наиболее часто опираются именно на филогению по микросателлитам на основе 16 локусов (рис. 6.4), которую построили К. Петрен с соавт. (Petren et al., 1999). Новый толчок

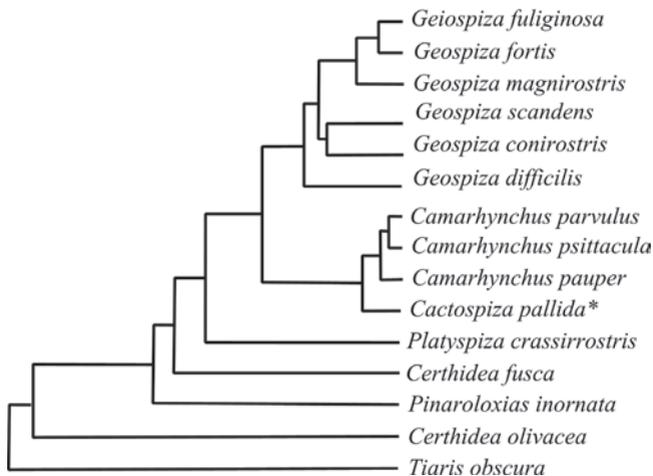


Рис. 6.4. Филогенетическое дерево по К. Петрену с соавт. (Petren et al., 1999), построенное по микросателлитам 16 локусов (\* авторы не включили в сравнение второй вид кактусовых вьюрков — мангрового вьюрка *C. heliobates*).

дальнейшим молекулярным исследованиям был положен недавней работой, в которой сравнивались эпигенетические профили некоторых видов вьюрков, относящихся к разным родам (Skinner et al., 2014). Оказалось, что количество трансгенерационно наследующихся последовательностей метилированных оснований пропорционально филогенетической дивергенции по К. Петрену с соавт., а степень расхождения «видов» и родов хорошо согласуется с филогенетическим деревом Д. Лэка, основанным на морфологии и экологии вьюрков.

К сожалению, молекулярные филогении К. Петрена с соавт. (1999, 2005) и А. Сато с соавт. (Sato et al., 2001) содержат пропуски в два и более вида, а эпигенетическая схема (Skinner et al., 2014) основана всего лишь на нескольких видах, хотя и относящихся к разным родам. Поэтому по данным Генбанка (GenBank «NCBI» — National Center for Biotechnology information, USA) мы попытались вновь построить филогению, основанную на нуклеотидных последовательностях мтДНК для цитохрома *b*, объединяющую все сравниваемые таксоны вьюрков, включая и вероятного предкового представителя южно-американских вьюрков. Ещё раз подчеркнём, что в качестве такового, опираясь на исследования А. Сато с соавт. (2001), мы приняли *Tiaris obscura*.

Длины полученных из Генбанка 41 частично кодированных (partial coding sequence — cds), т.е. не имеющих полноты записи всех необходимых стартовых и финальных нуклеотидных последовательностей (сиквенсов) колебались от 921 до 864 нуклеотидов (полный вариант законченного полного сиквенса (complete cds) составляет 1041). Ниже приведены номера Генбанка для использованных нами в работе сиквенсов: AF108787.1; AF108786.1; AF108785.1; AF108783.1; AF108782.1; AF108778.1; AF108777.1; AF108773.1; AF108772.1; AF108771.1; AF108769.1; AY700039.1; AF108770.1; AY700042.1; AY700043.1; AF108793.1; AF108792.1; AF108804.1; AF108803.1; AF108802.1; AY672065.1; AY672064.1; AY672063.1; AY672051.1; AY672050.1; AY672049.1; AF108806.1; AF108805.1; AF108801.1; AF108800.1; AF108799.1; AF108798.1; AF108795.1; AF108794.1; AF108796.1; AF108797.1; AF108791.1; AF108790.1; AF108789.1; AF108808.1; AF108807.1.

После процедур парного и множественного выравнивания сиквенсов, выполненного в программе Mega 5.1 (Tamura et al., 2011) с помощью программного блока ClustalW, а затем строгого исключения всех имеющихся пропусков (gaps), общая длина последовательностей составила 853 нуклеотида для каждого из 16 взятых таксонов. Уточним, что 16-й таксон — вероятный предковый южно-американский вид *Tiaris obscura* — был взят в качестве внешней группы. В итоге были построены реконструкции гипотетических филогенетических деревьев, отражающих версии происхождения и генетической дивергенции Дарвиновых вьюрков с применением трёх методов, использующих бутстреп-анализ с 500 репликами (рис. 6.5): ML (метод максимального правдоподобия); NJ (ближайших соседей); ME (минимальной эволюции).

Структуры деревьев оказались почти идентичными. Они были первоначально записаны в формате nwk, а затем перекодированы в формате команд языка Nexus, поскольку последний формат используется для импорта филогений программой MorphoJ, с помощью которой и было проведено морфокартирование филогенетических деревьев. В первую очередь мы провели сравнение формы головы и клюва самцов и самок у 14 видов Дарвиновых вьюрков, изображения которых, как уже отмечалось, были получены из книги Д. Лэка (1949). После Прокрустова анализа выполнили анализ главных компонент формы, а также канонический анализ прокрустовых координат, характеризующих межгрупповую изменчивость сравниваемых видов птиц.

Результаты сравнения методом главных компонент межвидовой изменчивости формы головы и клюва вьюрков с учётом их половой принадлеж-

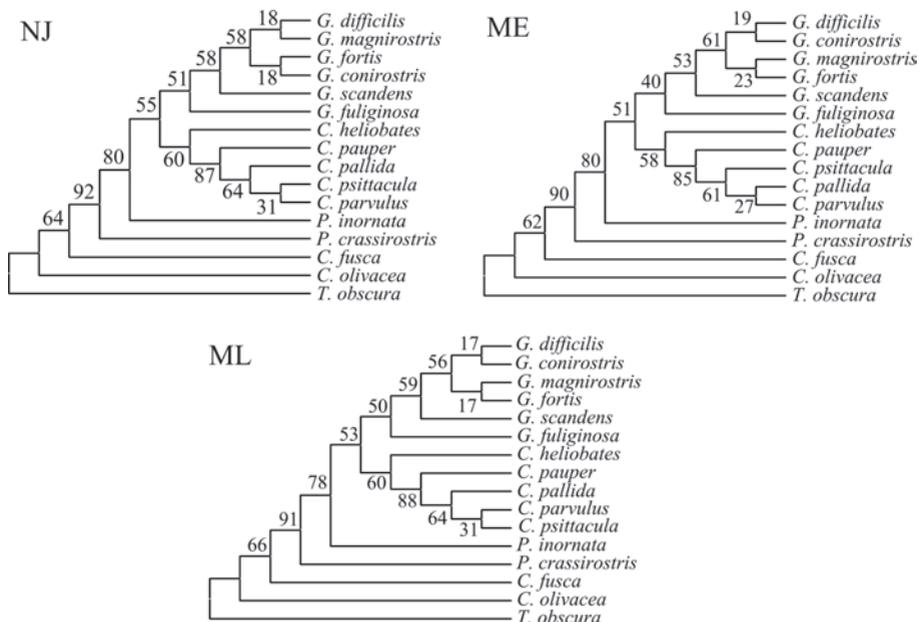


Рис. 6.5. Реконструкции гипотетических филогенетических деревьев, характеризующих генетическую дивергенцию Дарвиновых выюрков по сиквенсам гена цитохрома *b* мтДНК, выполненные тремя методами: ML (метод максимального правдоподобия); NJ (ближайших соседей); ME (минимальной эволюции).

ности представлены на рис. 6.6. Хорошо видно, что полигон изменчивости у самцов больше, чем у самок. Об этом можно судить потому, что первые две главные компоненты характеризуют большую часть дисперсии формы (72.6%), а на третью компоненту приходится лишь 9.8% от общей дисперсии. Другими словами, межвидовая дивергенция и специализация по форме головы и клюва у самцов Дарвиновых выюрков выражены больше, чем у самок.

На этом же материале, но сгруппированном по экологическим группам, провели канонический анализ формы головы и клюва по прокрустовым координатам. Интересно, что в итоге канонического анализа прокрустовых координат самцов и самок видов двух родов *Geospiza* и *Camarhynchus* эта тенденция подтвердилась (рис. 6.7), поскольку разброс ординат самок невелик, а полигоны их изменчивости у представителей разных родов перекрываются.

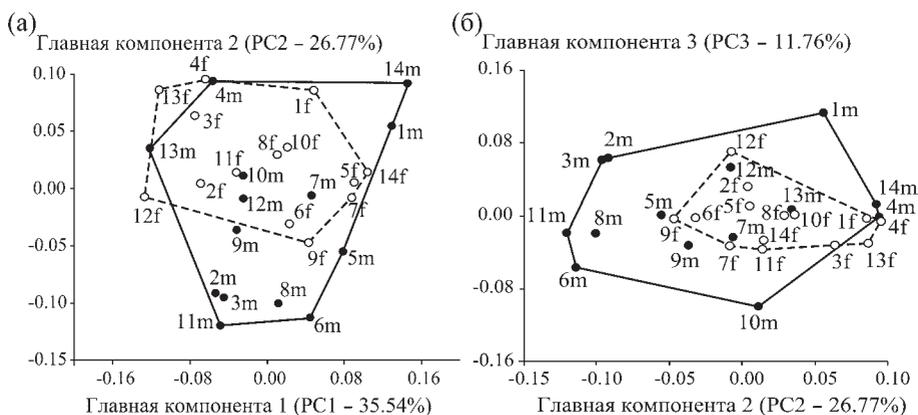


Рис. 6.6. Результаты анализа главных компонент формы головы и клюва самцов — m (черные кружки, сплошная линия) и самок — f (белые кружки, штриховая линия) Дарвиновых вьюрков в пространстве первой и второй (а), второй и третьей (б) осей. Виды вьюрков: 1 — *Geospiza magnirostris*; 2 — *G. fortis*; 3 — *G. fuliginosa*; 4 — *G. difficilis*; 5 — *G. scandens*; 6 — *G. conirostris*; 7 — *Camarhynchus crassirostris*; 8 — *C. psittacula*; 9 — *C. pauper*; 10 — *C. parvulus*; 11 — *Cactospiza pallida*; 12 — *C. heliobates*; 13 — *Certhidea olivacea*; 14 — *Pinaroloxias inornata*.

У самцов земляных и древесных вьюрков, напротив, полигоны изменчивости существенно удалены друг от друга в общем морфопространстве. Наблюдается также ещё один важный аспект: половые различия у видов древесных вьюрков выражены существенно меньше, чем у земляных вьюрков, биотопически приуроченных к наиболее засушливым участкам островов. Заметим, что у одного вида из рода древесных вьюрков — малого древесного вьюрка (*Camarhynchus parvulus*) — половые различия по данным морфологическим признакам почти не выражены. Проявление и усиление полового диморфизма у видов земляных вьюрков, обитающих в малоблагоприятных биотопах, вероятно отражают эффект принципа компенсации Ю. И. Чернова (2005), действующего в сообществе родственных симпатрических видов, т.е. в таксоцене. Усиление полового диморфизма, вероятно, приводит к тому, что потребляемые видом ресурсы могут быть извлечены в более полном объёме.

Поясним эту мысль подробнее. Поскольку каждый вид, входящий в сообщество, представляет собой в эволюционно-экологическом и морфологическом отношениях специализированный «инструмент» по утилизации того или иного ресурса, предоставляемого ему сообществом, его морфо-

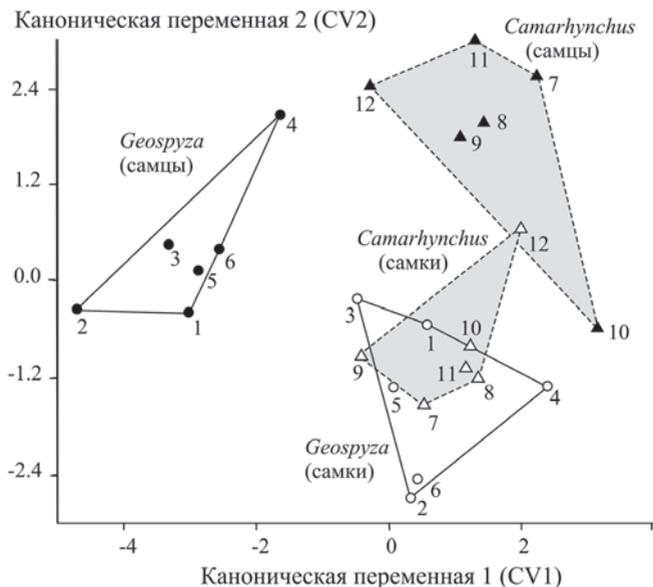


Рис. 6.7. Результаты канонического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы головы и клюва самцов (черная заливка) и самок (белая заливка) земляных (*Geospiza* — кружки, сплошная линия) и древесных (*Camarhynchus* — треугольники, штриховая линия) Дарвиновых вьюрков (нумерация 12 видов та же, что в подписи к рис. 6.6) в соответствии с таксономией по Д. Лэку (1949) отнесли кактусовых вьюрков *C. pallida* и *C. heliobates* к роду *Camarhynchus*.

логия неизбежно отражает специфичность такого инструмента. Поэтому форма клюва и головы вьюрков, непосредственно связана с трофической специализацией вида в сообществе, что является, конечно, банальным утверждением. Нетривиальным, однако, следует считать то, что внутри вида половой диморфизм является дополнительной возможностью иметь два разных морфологических инструментария у самцов и самок (два пола как аналоги видов — две экологически и морфологически специализированные «морфы») и позволяет локальной популяции извлекать больший диапазон доступных ресурсов. При этом как у биотического сообщества, так и у данного вида в этом случае нет особой «необходимости» осуществления процесса дальнейшего видообразования для того, чтобы данный ресурс был извлечен и переработан: достаточно присутствия внутривидового разнообразия. Примечателен пример возникновения дятлового вьюрка (*Cactospiza*

*pallida*), использующего набор изготавливаемых им самим искусственных инструментов (шипы кактуса, тонкие веточки), что позволяет ему особым поведением компенсировать недостатки морфологии клюва при извлечении насекомых. Соответственно это «не требует» дальнейшей интенсивной эволюции формы клюва у данного вида для выживания в новой среде.

Возможно также, что больший размах и уровень морфологической дивергенции самцов по сравнению с самками в рассмотренном выше случае является иллюстрацией известного эмпирического правила В. А. Геодакяна (1981, 1983, 2000) о преобладании размаха изменчивости у самцов, а также его идеи об опережающей эволюции самцов и первоначальной апробации ими новых условий обитания. Если проявление полового диморфизма действительно указывает на необходимость внутривидовой экологической специализации полов, связанной с потенциальной возможностью извлечения и использования новых или неожиданно появившихся в биотическом сообществе ресурсов, то идеи В. А. Геодакяна в таком аспекте оказываются операциональными. Читатель может сам обдумать идею об экологической роли морф в популяции и необходимости поддержания их разнообразия видовой развитийной системой как характерных онтогенетических траекторий — субкреодов (см. Глава 1), а также об эволюционно-экологической возможности на их основе сформировать разные специализированные виды при симпатрическом видообразовании. В следующем разделе главы мы вновь вернёмся к этой проблеме.

По координатам канонических переменных была вычислена симметричная матрица межвидовых дистанций в евклидовой метрике, на основе которой, удалив нулевые диагональные значения, оценили величины морфологического разнообразия (показателя  $MD$  — morphological disparity) у четырёх групп видов, представленных самцами и самками двух родов *Geospiza* и *Camarhynchus*. Напомним, что показатель  $MD$  вычисляли по формуле Фута (Foote, 1993a,b) как сумму квадратов расстояний объектов от генерального среднего, нормированную на число сравниваемых объектов минус 1 (см. раздел 3.2). Данная формула также доступна читателям в книге М. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004), где в качестве меры дистанции выступает квадрат Прокрустовой дистанции.

Результаты расчётов  $MD$  представлены на рис. 6.8. Оказалось, что действительно у самцов земляных вьюрков значимо больший индекс морфологического разнообразия, чем у самцов древесных вьюрков, однако самки обоих родов характеризуются значимо меньшей величиной  $MD$  по сравнению с самцами обоих родов. При этом по уровню морфоразнообразия самки обеих групп сходны друг с другом.

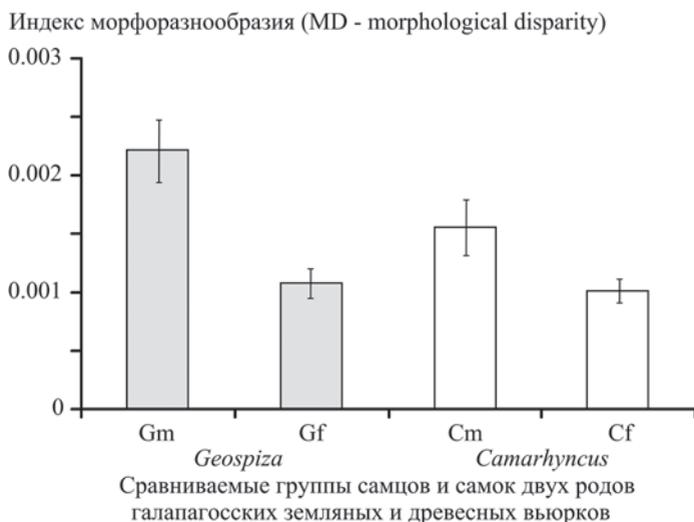


Рис. 6.8. Сравнение величин показателя морфоразнообразия (*MD*) с учётом стандартных ошибок у групп самцов (m) и самок (f) 12 видов вьюрков родов *Geospiza* (G) и *Camarhynchus* (C), вычисленных по значениям канонических переменных в евклидовой метрике.

Во втором варианте сравнения мы использовали изображения головы и клюва самцов 16 таксонов вьюрков, поскольку их видовая морфологическая дивергенция выражена в большей степени, чем у самок. Цель данного сравнения состояла в проведении морфологического картирования на имеющиеся варианты гипотетических молекулярных филогений, построенных А. Сато с соавт. (Sato et al, 2001) по сиквенсам гена цитохрома *b* мтДНК и К. Петреном с соавт. (Petren et al., 1999, 2005) по последовательностям серии микросателлитов, а также трёх вычисленных нами вариантов молекулярных филетических деревьев вьюрков методами ML, NJ и ME по данным Генбанка. Мы также оценили соотношение морфоразнообразия видов с исходной филогенией, предложенной Д. Лэком (1949), и роль экологических аспектов в морфологической эволюции вьюрков, используя иерархические варианты объединений видов в три упомянутые выше экологические группы — клады земляных, древесных и певчих вьюрков. Дополнительно в целях юстировки метода проанализировали заведомо ошибочную гипотезу в виде филогенетического дерева, представляющего собой противоречивую и нереальную смесь ветвей из представителей разных родов вьюрков.

Используя выровненные частные коды сиквенсов (partial cds) гена цитохрома *b* мтДНК по данным Генбанка в программе Mega 5.1, мы вычислили соответствующие генетические *p*-дистанции между видами по числу нуклеотидных замен и соответствующие им величины стандартных ошибок дистанций, полученные при бутстреп-ресэмплинге по 500 повторам (табл. 6.1). В дальнейшем нами были использованы именно *p*-дистанции, поскольку коэффициенты корреляции матрицы этих дистанций с генетическими дистанциями других типов были близки к 1.0. Например, при корреляции данной матрицы с матрицей дистанций, вычисленных методом MCL (Maximum Composite Likelihood), между ними в тесте Мантеля выявлена сила связи  $R = 0.99997$  ( $p = 0.0002$  для 5000 повторных реплик).

На основе полученной матрицы *p*-дистанций провели многомерное неметрическое шкалирование генетических взаимоотношений таксонов, позволившее их ординировать в генетическом пространстве разнообразия последовательностей митохондриального гена цитохрома *b* (рис. 6.9). Ординаты видов каждой из трёх названных выше экологических групп вьюрков оконтурены на графике и связаны линиями минимальной связи, вычисленными методом MST (minimum spanning tree). Хорошо видно, что все три экологические группы занимают свои собственные генетические подпространства, причём земляные и древесные вьюрки генетически ближе друг к другу по сравнению с видами певчих вьюрков.

От всех вьюрков в генетическом отношении наиболее удалён вероятный предковый вид — *Tiaris obscura*, который, тем не менее, ближе всего расположен к группе видов певчих вьюрков и кокосовому вьюрку (*Pinaroloxias inornata*) с изолированного о-ва Кокос. Последнее позволяет предполагать, что раньше всех других видов появились и начали дивергировать певчие виды галапагосских вьюрков рода *Certhidea*, а затем либо с островов Галапагосского архипелага или с ближайшего материка был заселен о-в Кокос, где появились предшественники современного кокосового вьюрка. Если учесть, что заселение островов вьюрками, как полагают (Petren et al., 2005), началось приблизительно 3 млн. лет назад, можно попытаться построить достаточно грубую калибровку молекулярных часов и оценить примерное время видообразования и возникновения родов.

Для этой цели в программе Mega 5.1 на основе вычисленной матрицы генетических *p*-дистанций мы реконструировали молекулярное филогенетическое дерево методом наибольшего правдоподобия ML и построили филограмму с двумя шкалами: одна шкала достаточно грубо характеризовала «молекулярные часы» дивергенции в млн. лет, а другая — калибровку шкалы *p*-дистанций (рис. 6.10). Видно, что появление и дальнейшая диверген-

Таблица 6.1. Оценки эволюционной дивергенции между видами галапагосских вьюрков по нуклеотидным последовательностям гена цитохрома *b* мтДНК: *r*-дистанции\* по числу замещений на сайт (верхняя треугольная матрица — величины стандартных ошибок)

№	Вид	1	2	3	4	5	6	7	8
1	<i>G. difficilis</i>		0.0038	0.0030	0.0029	0.0035	0.0028	0.0036	0.0041
2	<i>G. fuliginosa</i>	0.0129*		0.0029	0.0027	0.0034	0.0026	0.0030	0.0033
3	<i>G. scandens</i>	0.0082	0.0070		0.0016	0.0023	0.0011	0.0026	0.0032
4	<i>G. magnirostris</i>	0.0082	0.0070	0.0023		0.0024	0.0011	0.0025	0.0031
5	<i>G. fortis</i>	0.0106	0.0094	0.0047	0.0047		0.0021	0.0029	0.0034
6	<i>G. conirostris</i>	0.0070	0.0059	0.0012	0.0012	0.0035		0.0023	0.0029
7	<i>C. heliobates</i>	0.0117	0.0082	0.0059	0.0059	0.0082	0.0047		0.0021
8	<i>C. pallida</i>	0.0141	0.0106	0.0082	0.0082	0.0106	0.007	0.0047	
9	<i>P. crassirostris</i>	0.0246	0.0234	0.0164	0.0188	0.0211	0.0176	0.0223	0.0223
10	<i>C. fusca</i>	0.0305	0.0270	0.0223	0.0246	0.027	0.0234	0.0281	0.0281
11	<i>C. olivacea</i>	0.0434	0.0399	0.0352	0.0375	0.0399	0.0363	0.034	0.034
12	<i>C. psittacula</i>	0.0141	0.0106	0.0082	0.0082	0.0106	0.007	0.0047	0.0023
13	<i>C. pauper</i>	0.0211	0.0176	0.0152	0.0152	0.0176	0.0141	0.0117	0.0094
14	<i>C. parvulus</i>	0.0141	0.0106	0.0082	0.0082	0.0106	0.007	0.0047	0.0023
15	<i>P. inornata</i>	0.0246	0.0211	0.0164	0.0188	0.0211	0.0176	0.0176	0.0176
16	<i>T. obscura</i>	0.0516	0.0481	0.0457	0.0457	0.0481	0.0445	0.0445	0.0422
№	Вид	9	10	11	12	13	14	15	16
1	<i>G. difficilis</i>	0.0054	0.0054	0.0072	0.0041	0.0050	0.0041	0.0054	0.0076
2	<i>G. fuliginosa</i>	0.0050	0.0055	0.0068	0.0034	0.0045	0.0033	0.0047	0.0073
3	<i>G. scandens</i>	0.0042	0.0047	0.0065	0.0032	0.0043	0.0031	0.0043	0.0073
4	<i>G. magnirostris</i>	0.0044	0.0050	0.0067	0.0031	0.0043	0.0032	0.0047	0.0072
5	<i>G. fortis</i>	0.0048	0.0053	0.0069	0.0034	0.0046	0.0034	0.0050	0.0072
6	<i>G. conirostris</i>	0.0044	0.0049	0.0067	0.0029	0.0041	0.0029	0.0045	0.0072
7	<i>C. heliobates</i>	0.0050	0.0055	0.0063	0.0022	0.0036	0.0021	0.0045	0.0071
8	<i>C. pallida</i>	0.0051	0.0057	0.0063	0.0016	0.0032	0.0015	0.0045	0.0069
9	<i>P. crassirostris</i>		0.0051	0.0068	0.0050	0.0056	0.0050	0.0053	0.0075
10	<i>C. fusca</i>	0.0293		0.0059	0.0055	0.0063	0.0055	0.0061	0.0077
11	<i>C. olivacea</i>	0.0422	0.034		0.0061	0.0067	0.0062	0.0068	0.0073
12	<i>C. psittacula</i>	0.0223	0.0281	0.0340		0.0032	0.0016	0.0045	0.0068
13	<i>C. pauper</i>	0.0293	0.0352	0.0399	0.0094		0.0032	0.0054	0.0076
14	<i>C. parvulus</i>	0.0223	0.0281	0.0340	0.0023	0.0094		0.0044	0.0067
15	<i>P. inornata</i>	0.0281	0.0363	0.0422	0.0176	0.0246	0.0176		0.0075
16	<i>T. obscura</i>	0.0504	0.0492	0.0504	0.0422	0.0492	0.0422	0.0528	

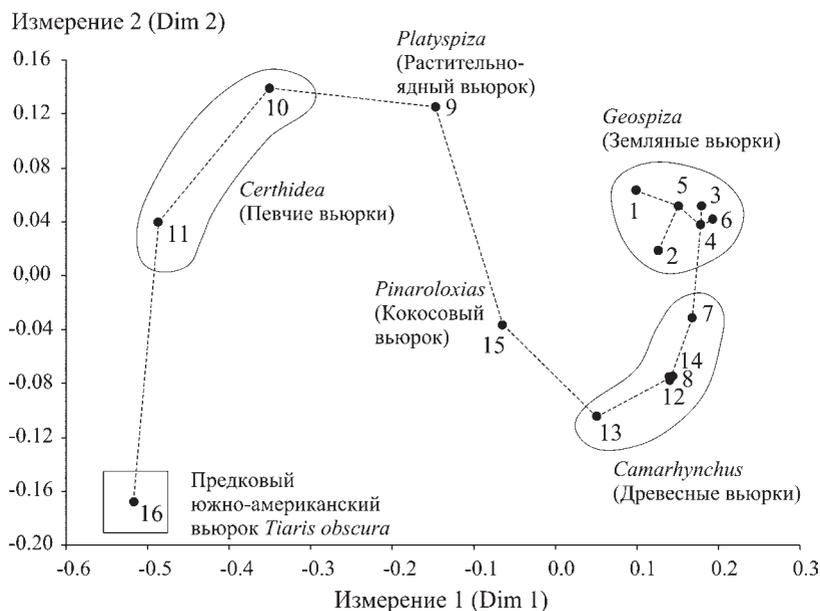


Рис. 6.9. Результаты оценки генетических взаимоотношений 16 видов Дарвиновых вьюрков на основе многомерного неметрического шкалирования матрицы генетических  $p$ -расстояний по сиквенсам гена цитохрома  $b$  мтДНК с наложением дерева минимальных связей — MST (здесь представители рода *Cactospiza* отнесены к роду *Camarhynchus*).

ция видов певчих вьюрков на островах началась приблизительно 2 млн. лет назад, растительноядный вьюрок *Platyspiza crassirostris* возник несколько позднее, приблизительно 1.5 млн. лет назад, а кактусовый вьюрок появился и сформировался на о-ве Кокос приблизительно 1 млн. лет назад. Основной процесс формирования обоих родов — земляных и древесных вьюрков — происходил, вероятно, параллельно, и начался от 700 до 500 тыс. лет назад. Можно согласиться с другими авторами, что это указывает на относительно быструю эволюцию большинства видов вьюрков. Уровень генетических расстояний между видами в пределах каждого из этих родов невелик (см. табл. 6.1), иногда формально соответствует уровню генетической дивергенции, характерному для подвидов и даже дифференцированных популяций (см., например, Айяла, 1984).

Все упомянутые выше варианты гипотетических филогений и экологических клад в виде отдельных Nexus-файлов импортировали в программу MorphoJ вслед за trs-файлом, содержащим координаты ландшафтов, харак-

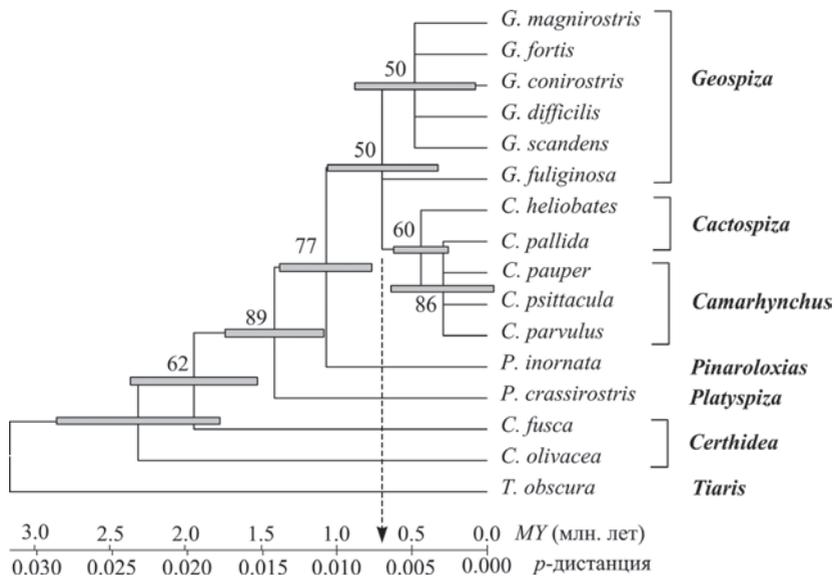


Рис. 6.10. Молекулярная филогения Дарвиновых вьюрков, построенная методом ML на основе матрицы *p*-дистанций и калиброванная по «молекулярным часам» с учётом стандартных ошибок, оцененных бутстреп-методом по 500 повторным репликакам.

теризующих изменчивость формы головы и клюва 16 видов вьюрков. После процедуры Прокрустова анализа были получены прокрустовы координаты, по которым проводили реконструкцию схематических изображений головы и клюва в узлах (nodes) деревьев, характеризующих их наиболее вероятные предковые конфигурации. В частности, при проецировании полученного А. Сато (Sato et al., 2001) дерева молекулярной филогении на матрицу прокрустовых остатков получили картину реконструкции формы головы и клюва предковых форм вьюрков в узлах ветвления (рис. 6.11).

Поясним, что данное дерево мы дополнили включением ветви *Certhidea fusca* в общую кладу с *C. olivacea*. Заметим, что у А. Сато также не был проанализирован и соответственно не включен в филогенетическое дерево кактусовый вьюрок *P. inornata* и вероятный предок — *T. obscura*. Реконструкция, безусловно, не является точной, но и из этой схематической картины видно, что морфологические изменения предковых форм во всех узлах относительно невелики (возможно, данный процесс был действительно не очень долгим). В то же время эволюционные морфологические

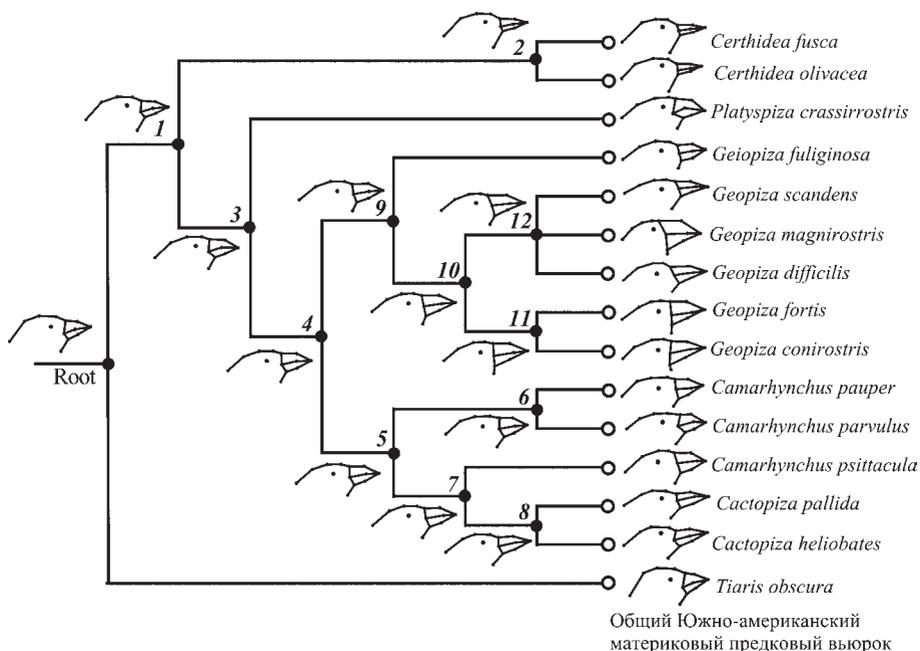


Рис. 6.11. Реконструкция формы головы и клюва предковых форм Дарвиновых выюрков в узлах ветвления дерева молекулярной филогении, полученной А. Сато с соавт. (Sato et al., 2001) по сиквенсам цитохрома *b* мтДНК, в результате морфокартирования данного дерева в пространство прокрустовых координат.

преобразования были существенны на конечных (терминальных) стадиях дивергенции и максимально проявились у представителей рода земляных выюрков, с одной стороны, и видов певчих выюрков, с другой.

Получив ковариационную матрицу по прокрустовым координатам, провели анализ морфопространства, занятого ординатами 16 видов выюрков, с помощью метода главных компонент. Далее по значениям главных компонент осуществили морфокартирование объектов для разных рассмотренных нами выше вариантов филогений. Пример такой графической интерпретации морфологического картирования молекулярной филогении в морфопространстве трёх первых главных компонент приведен на рис. 6.12 для дерева, построенного методом наименьшей эволюции (МЕ) по матрице *p*-дистанций.

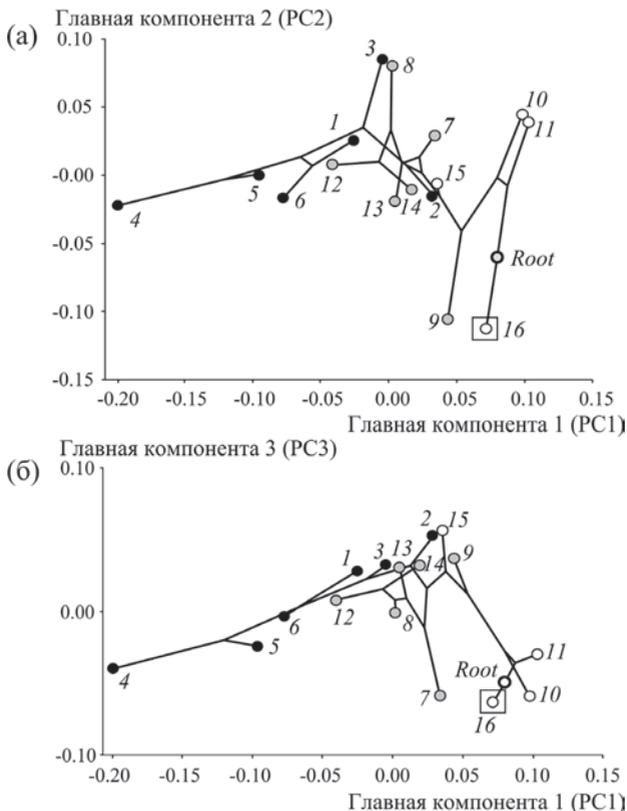


Рис. 6.12. Результаты морфокартирования молекулярной филогении Дарвиновых вьюрков, предложенной А. Сато с соавт. (Sato et al., 2001), в пространстве первой и второй (а) и первой и третьей (б) главных компонент формы головы и клюва. Виды вьюрков: 1 – *Gepspiza difficilis*; 2 – *G. fuliginosa*; 3 – *G. scandens*; 4 – *G. magnirostris*; 5 – *G. fortis*; 6 – *G. conirostris*; 7 – *Cactospiza heliobates*; 8 – *C. pallida*; 9 – *Platyspiza crassirostris*; 10 – *Certhidea fusca*; 11 – *C. olivacea*; 12 – *Camarhynchus psittacula*; 13 – *C. pauper*; 14 – *C. parvulus*; 15 – *Pinaroloxias inornata*; 16 – *Tiaris obscura*. Представители трёх экологических групп обозначены кружками разного цвета: земляные вьюрки – чёрные, древесные – серые, певчие – белые.

Три первые главные компоненты характеризуют в данном случае 69.3% общей дисперсии формы головы и клюва сравниваемых таксонов вьюрков. Вдоль первой главной компоненты межвидовая изменчивость формы составила 38.8%, вдоль второй – 19.3%, а вдоль третьей – 11.2%. В общем мор-

фопространстве выделяются три области, или подпространства, в которых размещены ординаты представителей трёх экологических групп вьюрков. Наибольший разброс характерен для земляных вьюрков (они помечены черными кружками), причём, как и ожидалось, форма головы и клюва у большого земляного вьюрка *G. magnirostris* существенно отличается от всех других представителей рода и специфична в целом по отношению ко всем видам вьюрков. Ордината этого вида, обозначенная номером 4, расположена на самом левом краю графика в области отрицательных значений первой главной компоненты. Все ординаты земляных вьюрков размещены вдоль верхней (маргинальной) части образованного тремя первыми главными компонентами морфопространства. Группа древесных вьюрков (ординаты помечены кружками с серой заливкой) локализована в центральной и нижней областях морфопространства, образуя более компактную группу. Певчие вьюрки (кружки с белой заливкой), как и земляные, тоже занимают краевую область, сближаясь друг с другом по форме головы и клюва. Некоторое своеобразие среди них имеет формально включённый нами в эту группу кокосовый вьюрок (№ 15), который близок по фенотипу как к древесным (например, *C. parvulus* и *P. crassirostris*), так и к одному из наиболее мелких земляных вьюрков — *G. fuliginosa*. Возможно, что наряду с определённой специализацией в форме клюва и головы в отсутствие конкуренции с другими видами вьюрков (напомним, что вид в единственном числе присутствует на изолированном о-ве Кокос), он в большей степени сохранил предковые морфологические черты. Это в какой-то мере может объяснить его промежуточные для всех трёх экологических групп фенотипические черты. Вероятный претендент на предковый вид для всех галапагосских вьюрков — *T. obscura* (№ 16) — действительно занимает в морфопространстве самое крайнее положение, несколько сближаясь с группой певчих вьюрков, которые в генетическом отношении являются наиболее древними и принадлежат базальной группе.

По значениям прокрустовых координат 16 таксонов мы провели канонический анализ трёх экологических групп видов (земляные, древесные и певчие формы вьюрков), а величины полученных канонических переменных использовали для морфокартирования филогений. Последний случай интересен тем, что канонические переменные в первую очередь отражают межгрупповую изменчивость для наименее варьирующих, т.е. наиболее устойчивых характеристик формы, которые потенциально имеют наибольший таксономический вес. Размещение ординат видов и их групповая принадлежность представлены на рис. 6.13. Здесь же показаны схематические конфигурации головы и клюва, соответствующие обобщённым крайним значениям ординат вдоль канонических переменных



Рис. 6.13. Результаты канонического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы головы и клюва трёх экологических групп Дарвиновых выюрков (обозначения те же, что на рис. 6.12). Каркасные конфигурации голов и клювов выюрков соответствуют крайним обобщённым значениям канонических переменных и отражают размах возможных деформаций вдоль осей (в центре консенсусная конфигурация).

(в центре помещена консенсусная конфигурация). Из рисунка следует, что полигоны межвидовой изменчивости формы головы и клюва самцов у представителей земляных и древесных выюрков расположены в морфопространстве первых двух канонических переменных ближе друг к другу, чем полигон группы, представляющей виды певчих выюрков. Данное обстоятельство отражает их сравнительно недавнее происхождение по сравнению с видами певчих форм.

Результаты морфокартирования каноническими ординатами видов их филогении, построенной по алгоритму МЕ на основе матрицы генетических  $p$ -дистанций, представлены на рис. 6.14. По сути это та же система взаимного размещения ординат видов в морфопространстве первых двух канонических переменных, которая показана на предыдущем рисунке. Однако хорошо видно, что в этом случае сами ординаты и добавленные узлы ветвления дерева (nodes) связаны соответствующими ветвями встроеного



Рис. 6.14. Результаты морфокартирования филогенетического дерева Дарвиновских вьюрков, построенного методом минимальной эволюции (МЕ) по матрице генетических  $p$ -дистанций, в пространстве первых двух канонических переменных (обозначения те же, что на рис. 6.12 и 6.13).

филогенетического дерева. Расположение ветвей дерева не является хаотичным и противоречивым, а, напротив, соответствует расположению и родов, и экологических групп в морфопространстве. Можно заключить, что принадлежность видов к экологическим группам внешне не противоречит структуре данного генетического филогенетического дерева.

Другая картина наблюдается при картировании кустовой (bush) или, другими словами, звездной (star) модели дерева, которая, как уже отмечалось, отражает случайную филогению и заведомо является наибольшей по суммарной длине ветвей (рис. 6.15). Длина такого дерева (TL) используется как максимально большая по сравнению со всеми остальными (напомним, что в формуле расчёта индекса  $RJ$  она соответствует параметру  $g$ ).

Минимальную длину дерева ( $m$ ) вычисляли в программе MorphoJ на основе структуры дерева, которую получали заранее по алгоритму минимальной эволюции МЕ в программе Mega 5.1. Поясним особенности получения этого дерева, поскольку метод МЕ использовали и в случае построения молекулярного филогенетического дерева в той же программе. Поэтому подробнее остановимся на технике получения  $m$ -дерева с потенциально минимальной длиной.

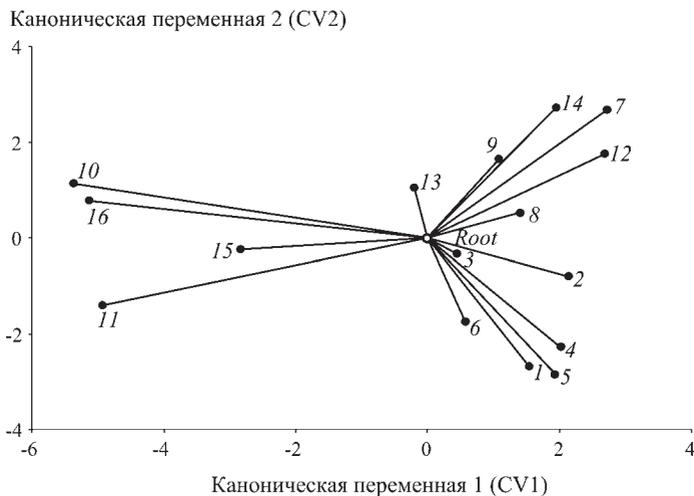


Рис. 6.15. Морфокартирование звездной (случайной) модели филогенетического дерева Дарвиновых выюлков в пространстве первых двух канонических переменных (обозначения видов 1–16 те же, что на рис. 6.12).

Исходные матрицы морфологических дистанций между таксонами — основы для построения  $m$ -дерева — получали по значениям главных компонент или канонических переменных в евклидовой метрике. Отдельно вычисляли матрицу  $m$ -дистанций между таксонами по главным компонентам и каноническим переменным. Далее в формате Nexus импортировали структуру полученного  $m$ -дерева в программу MorphoJ. Вычисленные после этого в программе MorphoJ для данной структуры в пространствах главных компонент или канонических переменных длины деревьев (TL) и рассматривали как минимальные ( $m$ ). Пример морфокартирования такого  $m$ -дерева в пространстве первых двух главных компонент показан на рис. 6.16.

К. Клиндженберг (Klingenberg, 2011; Klingenberg, Gidazhewski, 2010) рекомендует наряду с этим способом использовать для оценки длины минимального дерева главным образом длину так называемого наименьшего Стейнеровского дерева (Steiner tree), однако, как отмечалось выше, программа FindSteinerTree, специально созданная для этого Клиндженбергом, эффективно работает только для 9–12 таксонов. Поэтому в нашем случае мы вынуждены были использовать приближенный расчёт структуры  $m$ -дерева по алгоритму вычисления минимальной эволюции (ME) в программе Mega

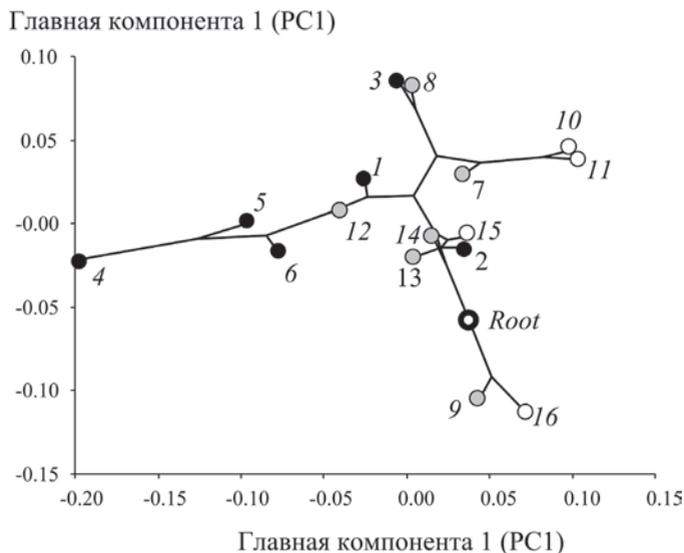


Рис. 6.16. Морфологическое картирование филогенетического  $m$ -дерева, полученного на основе алгоритма минимальной эволюции (МЕ) в пространстве первой и второй главных компонент (номера видов выюрков и условные обозначения те же, что и на рис. 6.12).

5.1 и дальнейшего получения по этой структуре реальной длины  $m$ -дерева с оценкой значимости (устойчивости) в программе MorphoJ.

Структура деревьев каждой из тестируемых филогений позволяла вычислить в программе MorphoJ длину оригинального дерева ( $s$ ). Подставляя соответствующие значения TL в описанные выше формулы, вычисляли значения филогенетических индексов  $CI$ ,  $RI$ ,  $RC$  и  $H$  для каждой тестируемой филогенетической гипотезы. Заметим, что для прокрустовых координат значения длин деревьев получаются те же, что и для главных компонент, поскольку их вычисляют по ковариационной матрице прокрустовых координат.

Используя эти данные, мы попытались оценить проявление филогенетического сигнала во всех анализируемых вариантах гипотетических филогений выюрков. Результаты вычислений длин деревьев и уровня значимости филогенетического сигнала в процессе морфологического картирования филогенетических гипотез в пространстве главных компонент, с одной стороны, и канонических переменных, с другой, приведены в таблице (табл. 6.2).

Таблица 6.2. Длины деревьев (TL) для гипотетических филогений вьюрков, вычисленных на основе невзвешенной квадратично-изменяемой парсимонии Мэддисона, и оценка значимости филогенетического сигнала на основе перестановочного (permutation) теста

Вариант филогении	TL – длина дерева	p – уровень значимости
Расчёт для главных компонент (PC1–PC16):		
Филогения Д. Лэка (1949)	0.10741	0.0008
А. Сато с соавт. (2001) по гену цитохрома <i>b</i> мтДНК	0.10504	0.0015
К. Петрен с соавт. (1999, 2005) по микросателлитам	0.10436	0.0003
ML – расчёт методом максимального правдоподобия	0.10439	0.0007
NJ – расчёт методом ближайшего соседа	0.10798	0.0020
ME – расчёт методом минимальной эволюции	0.10304	0.0002
Заведомо ошибочная филогения	0.13557	0.4728
Иерархия трёх экологических групп вьюрков	0.16234	0.0087
Модель филогении при минимальной эволюции	0.07915	< 0.0001
Модель звездной (случайной) филогении	0.22737	0.9999
Расчёт для канонических переменных (CV1–CV2):		
Филогения Д. Лэка (1949)	42.5938	0.0001
А. Сато с соавт. (2001) по гену цитохрома <i>b</i> мтДНК	32.3495	< 0.0001
К. Петрен с соавт. (1999, 2005) по микросателлитам	38.5474	0.0003
ML – расчёт методом максимального правдоподобия	41.7428	0.0001
NJ – расчёт методом ближайшего соседа	41.2662	< 0.0001
ME – расчёт методом минимальной эволюции	40.2181	0.0001
Заведомо ошибочная филогения	98.7918	0.3214
Иерархия трёх экологических групп вьюрков	49.1467	< 0.0001
Модель филогении при минимальной эволюции	18.3544	< 0.0001
Модель звездной (случайной) филогении	174.3512	0.9042

Из данных таблицы можно заключить, что проявление «филогенетического сигнала» в пространствах главных компонент и канонических переменных достоверно во всех случаях, кроме ситуации, когда взяты либо заведомо ошибочные смешанные филогении, либо звездные (случайные) варианты деревьев. Наименьшие длины деревьев наблюдались при филогенетических гипотезах, где использовали алгоритм минимальной эволюции для матрицы генетических *p*-дистанций, полученных нами по нуклеотидным последовательностям гена цитохрома *b* мтДНК из Генбанка, а также в

варианте филогении К. Петрена с соавт. (Petren et al., 1999, 2005), построенной по сиквенсам микросателлитов.

Два других близких по длине и относительно коротких дерева установлены нами при использовании алгоритма наибольшего правдоподобия ML для той же матрицы  $p$ -дистанций и найдены для филогении А. Сато с соавт., построенной тоже по сиквенсам митохондриального гена цитохрома  $b$  (Sato et al., 1999, 2001). Во всех этих случаях показано, что значимый филогенетический сигнал в морфологических данных присутствует.

В других заведомо искусственных ситуациях, например при расчёте условного дерева, построенного с учётом иерархии трёх экологических групп выюрков, в котором присутствуют веера ветвей, соединяющие представителей всей экологической группы, длина дерева, как и следовало ожидать, оказалась большой. Однако само дерево устойчиво отражало эту иерархию и показало значимый «филогенетический сигнал», т.е. тот факт, что представители каждой экологической группы устойчиво располагались при перетасовке ветвей дерева в своей зоне морфопространства. Безусловно, в данном случае нельзя строго говорить о наличии сильного филогенетического сигнала, но ввиду сравнительно недавней дивергенции видов и их жесткой (на родовом уровне) привязанности к своим экологическим нишам наличие определённого филогенетического сигнала в такой картине дивергенции всё-таки имеется. При этом следует ожидать высокий уровень параллельных изменений фенотипа, т.е. гомоплазию признаков. Используя полученные длины деревьев, вычислили по соответствующим формулам филогенетические индексы (табл. 6.3).

Действительно, в разобранный выше случае иерархическое дерево, объединяющее три экологические группы выюрков, отличается максимальным индексом гомоплазии по значениям главных компонент формы головы и клюва ( $H = 0.513$ ). Из табл. 6.3 следует, что практически все филогенетические гипотезы при морфокартировании соответствующих деревьев содержат высокую степень гомоплазии. По главным компонентам формы головы и клюва уровень гомоплазии меньше, чем при использовании канонических переменных.

Поскольку при каноническом анализе присутствует элемент подразделения видов на экологические группы, это неизбежно приводит к тому же эффекту, который мы рассмотрели на примере иерархического дерева, основанного на группировании выюрков на три экологические группы. В результате выявляются наиболее стабильные черты формы, проявляющие параллелизм изменений у представителей определённой экологической группы. Поэтому результаты морфокартирования филогений на основе

Таблица 6.3. Сравнение гипотетических филогений по величине филогенетических индексов: соответствия или консистенции (CI), удерживания (RI), масштабированного соответствия (RC) и гомоплазии (H)

Вариант филогении	Филогенетические индексы			
	CI	RI	RC	H
Расчёт для главных компонент (PC1–PC16)				
Филогения Д. Лэка (1949)	0.737	0.809	0.596	0.263
А. Сато с соавт. (2001) по гену цитохрома <i>b</i> мтДНК	0.754	0.825	0.622	0.247
К. Петрен с соавт. (1999, 2005) по микросателлитам	0.698	0.769	0.537	0.302
ML – расчёт методом максимального правдоподобия	0.768	0.839	0.644	0.232
NJ – расчёт методом ближайшего соседа	0.733	0.806	0.590	0.267
ME – расчёт методом минимальной эволюции	0.758	0.830	0.629	0.242
Заведомо ошибочная филогения	0.584	0.619	0.362	0.416
Иерархия трёх экологических групп выюрков	0.488	0.439	0.214	0.513
Расчёт для канонических переменных (CV1–CV2):				
Филогения Д. Лэка (1949)	0.431	0.845	0.364	0.569
А. Сато с соавт. (2001) по гену цитохрома <i>b</i> мтДНК	0.567	0.910	0.517	0.433
К. Петрен с соавт. (1999, 2005) по микросателлитам	0.476	0.871	0.415	0.524
ML – расчёт методом максимального правдоподобия	0.440	0.850	0.374	0.560
NJ – расчёт методом ближайшего соседа	0.445	0.853	0.380	0.555
ME – расчёт методом минимальной эволюции	0.456	0.860	0.392	0.544
Заведомо ошибочная филогения	0.186	0.484	0.090	0.814
Иерархия трёх экологических групп выюрков	0.373	0.803	0.300	0.627

канонических переменных отражают, скорее, не филогенетический сигнал, а общие экологические требования к группам выюрков, приводящие к тому, что морфологическая эволюция их представителей проявляется сходным образом, т.е. ведёт к многочисленным параллелизмам и, следовательно, к гомоплазии.

Морфокартирование филогений на основе главных компонент даёт более ясный филогенетический сигнал, на который, тем не менее, накладываётся эффект гомоплазии. Наибольший уровень филогенетического сигнала проявился в двух случаях: для филогении, построенной А. Сато с соавт. (Sato et al., 2001), и в случае выбора алгоритма наибольшего правдоподобия ML при построении филогенетического дерева по нашей матрице *p*-дистанций. Тем не менее, высокий уровень гомоплазии затрудняет прямую интерпретацию эволюционных изменений формы головы и клюва выюрков как свойств

фенотипа, проявивших высокий филогенетический сигнал. Скорее, можно говорить о весьма умеренном филогенетическом сигнале, который опосредован параллельными морфогенетическими перестройками.

В морфологических различиях представителей галапагосских вьюрков отражается не строгая эволюционная летопись, а во многом сходные эволюционно-экологические эффекты, вызванные не аллопатрическими механизмами дивергенции, что усилило бы филогенетический сигнал, а симпатрическими взаимодействиями видов в формирующемся биотическом сообществе. Последнее обстоятельство и структура сообществ (таксоценов) вьюрков на островах архипелага позволяют, хотя и осторожно, предполагать, что морфологическая эволюция галапагосских вьюрков в большей степени обусловлена симпатрическим, а не аллопатрическим формообразованием. По мере увеличения числа видов в составе локальных таксоценов галапагосских вьюрков (встречаются до 10 симпатрических видов на отдельных островах), которые изначально были подвидами и даже отдельными морфами, особую роль должно играть симпатрическое видообразование в близкородственных сообществах.

Половой диморфизм, о котором мы говорили выше, тоже косвенно свидетельствует о разной экологической роли в сообществе самцов и самок, а усиление полового диморфизма по морфофункциональным признакам может снизить вероятность видообразования, поскольку функции потенциальных видов при этом перекадываются на представителей разных полов. В то же время самцы, более морфологически дивергировавшие у разных видов, чем самки, как своеобразные функциональные морфы выполняют в сообществе несколько иные экологические роли (в том числе трофические), чем самки, дивергенция между которыми проявляется в существенно меньшей степени. Наблюдается даже своеобразный морфологический консерватизм самок вьюрков по форме головы и клюва.

Таким образом, у галапагосских вьюрков более вероятны эволюционно-экологические процессы, обусловленные фазой симпатрического формообразования как на ценотическом, так и на внутривидовом уровнях. Необходимо также отметить, что поскольку молекулярно-генетические эволюционные изменения у вьюрков выражены в меньшей степени, чем морфогенетические перестройки, которые тесно связаны со спецификой сформированных видами новых экологических ниш, то в целом эта группа во многом напоминает флоры близкородственных озёрных форм у рыб (Mina et al., 1996; de Graaf, 2003; de Graaf et al., 2010), в возникновении которых основную роль сыграли именно процессы симпатрического формообразования в изолированных сообществах. Поскольку у вьюрков недавно М. К. Скиннер с соавт. (Skinner

et al., 2014) обнаружили эпигенетические различия в профилях метилирования ДНК, почти линейно пропорциональные уровням их филогенетического расхождения на уровне родов, то имеются все основания предполагать возможность быстрого формообразования за счёт эпигенетических перестроек морфогенеза, трансгенерационной передачи этих новоприобретений, а также их дальнейших геномных фиксаций.

Такой трансгенерационный эффект сохранения эпигенетических профилей сравнительно недавно показан как у растений, так и у животных (см. Bonduriansky et al., 2012; Ledón-Rettig, 2013). Поэтому быстрые направленные эпигенетические перестройки морфогенеза, предполагающиеся в соответствии с эпигенетической теорией эволюции (ЭТЭ) М. А. Шишкина (1988, 2006, 2010, 2012), вполне могут объяснять чрезвычайную морфологическую дивергенцию вьюрков при низком уровне их генетической дивергенции. В этой связи следует полагать, что симпатрическое формообразование в локальных изолированных сообществах при высокой конкурентной борьбе за ресурсы может осуществляться именно за счёт быстрых эпигенетических изменений, их трансгенерационного наследования и возможной дальнейшей геномной фиксации. Высокий уровень гомоплазии, указывающий на многочисленные параллелизмы в морфологической эволюции вьюрков, не противоречит нашей гипотезе преобладания симпатрического формообразования. Кроме того заметим, что и на островах Карибского моря морфологическая дивергенция родственных форм вьюрков точно так же сопровождается высокой экологической и соответственно морфологической специализацией, а сами изменения параллельны аналогичным изменениям, наблюдающимся у галапагосских вьюрков (Burns et al., 2002).

Таким образом, наши результаты хорошо согласуются с гипотезой двухстадийной эволюции галапагосских вьюрков по Дэвиду Лэку (1949), состоящей в том, что после относительно короткой первой фазы аллопатрического формообразования вьюрков на стадии заселения архипелага и первоначального стазиса последовала более продолжительная фаза симпатрического видообразования. Эта фаза была сопряжена с конкурентными взаимодействиями новых видов при вторичных контактах и с дальнейшей эволюцией их локальных сообществ. На последней терминальной фазе, как показывают наши результаты, морфологическая дивергенция видов максимально обусловлена именно их экологической специализацией и поэтому не всегда пропорциональна молекулярным филогениям. Наиболее отчетливо это проявляется у рода земляных вьюрков *Geospiza*, но присутствует, хотя и в меньшей степени, также и у рода древесных вьюрков. Если симпатрическое формообразование приводит к таким заметным искажениям

филогенетического сигнала, основой для оценки которого являются молекулярные филогении, в относительно упрощённых островных моделях сообществ, то в более сложных материковых ценотических моделях поиск филогенетического сигнала в морфологических данных должен быть ещё более затруднен. В итоге можно заключить, что применённый нами вслед за К. П. Клиндженбергом и Н. Гидажевски метод морфокартирования молекулярных филогений на основе геометрической морфометрии, скорее, может быть больше полезен для проведения эволюционно-экологических исследований, чем для непосредственных целей систематики. Нам представляется также, что данный метод может быть применен для морфологической реконструкции промежуточных вымерших форм и использован палеонтологами для поиска отсутствующих филетических звеньев и их верификации.

## **6.2. АНАЛИЗ РАЗНОБРАЗИЯ ФОРМЫ ТЕЛА И ГОЛОВЫ СИМПАТРИЧЕСКИХ ЭКОВИДОВ РЫБ В СОСТАВЕ ФЛОКА *LABEOBARBUS* ОЗ. ТАНА В ЭФИОПИИ: ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ МОРФОМЕТРИЯ**

Проблема симпатрического формообразования издавна интересовала многих исследователей (Bowman, 1961; Maynard Smith, 1966; Майр, 1968; Тимофеев-Ресовский и др., 1973; Kondrashov, Mina, 1986; Соупе, Огг, 2004). В качестве характерных примеров симпатрического формообразования часто рассматривают «флоки» или «пучки» морфологических видов у рыб. Существование флоков цихлидовых и карповых рыб известно с конца прошлого века (Мина, 1986; Golubtsov, Krysanov, 1993; Mina et al., 1996; Sibbing et al., 1998). Флок, или, как его ещё называют, пучок видов, представляет собой подобие сообщества морфологически различающихся и специализированных симпатрических *эковидов* (термин принадлежит проф. М. В. Мине), которые в генетическом отношении почти однородны, т.е. в понимании традиционного генетика, вероятно, не являются классическими видами. Однако они по тем или иным причинам ассортативно скрещиваются и устойчиво сохраняют особенности морфогенеза и экологической специализации в чреде поколений, будучи видами с точки зрения морфолога и эколога. Один из таких африканских флоков усачей (*Labeobarbus*), включающий 15 условных видов, был обнаружен в горном оз. Тана в Эфиопии (Mina et al., 1996; de Graaf, 2003; de Graaf et al., 2004, 2008).

Озеро Тана возникло либо раньше, либо после блокирования притока Нила лавовым потоком, который создал стену высотой до 40 м и изолировал озеро от речной сети нижнего Нила (Lamb et al., 2007). Средние глубины озера невелики: в среднем 8 м, но могут достигать 14 м, поэтому

частичные его пересыхания с уменьшением глубин вполне вероятные события. Согласно предложенному М. де Граафом с соавт. (de Graaf et al., 2008, 2010) эволюционному сценарию, флок видов *Labeobarbus* очень молод (не старше 15 000 – 17 000 лет), имеет монофилетическое происхождение от рыб бассейна р. Нил, а его диверсификация обусловлена неоднократно процессами трофической специализации форм в разных биотопах, причём выбор новых биотопов сопровождался изменениями морфологии, связанными с новыми трофическими требованиями. В озеро впадают несколько рек и ручьев, но адаптивная радиация форм данного флора происходила лишь в последние 15 000 лет. Она последовала вслед за резким иссушением озера 17 000 лет назад, что наблюдалось и в оз. Виктория у цихлидовых видов рыб (de Graaf et al., 2010). Часть форм *Labeobarbus* размножается в реках и ручьях, впадающих в озеро, но примерно половина форм нерестится в самом озере, причём по тем или иным причинам размножение, как уже отмечалось, осуществляется ассортативно и существует репродуктивная сегрегация форм (Nagelkerke, Sibbing, 1996; de Graaf, 2003).

Для карповых рыб не характерны хищные формы из-за особого строения челюсти и зубных элементов, но у усачей флора *Labeobarbus* из о. Тана отмечено как много хищных рыбоядных «видов», так и специализированных к питанию макрофитами, зоо- и фитопланктоном, моллюсками и детритом. Морфологически эти морфотипы рыб резко дифференцированы и издавна принимались ихтиологами за обычные виды. Однако после молекулярно-генетических исследований было установлено, что они, по крайней мере, по сиквенсам гена цитохрома *b* мтДНК, почти не различаются, формируя единый комплекс, который в генетическом отношении соответствует обычному политипическому виду (de Graaf et al., 2010). Вероятнее всего, по мнению тех же авторов, исходной при адаптивной радиации флора формой является прибрежный *Labeobarbus intermedius*, который известен как наиболее типичный вид для высокогорных озёр и рек Эфиопии (Banister, 1973).

Фенотипические черты рыб разных полувидов (*semispecies*), или, как мы готовы их определить вслед за М. В. Миной, «эковидов» (*ecospecies*), входящих в состав данного флора, устойчиво сохраняются и из поколения в поколение передаются потомкам. Поэтому мы естественно предположили, что ведущим механизмом наследственной передачи в данном случае может являться так называемое мягкое наследование за счёт трансгенерационной передачи изменённых эпигенетических профилей. Как уже отмечалось в предыдущем разделе главы, подобный вариант мягкого эпигенетического наследования обнаружен и у растений, и у животных (см. Bonduriansky et al., 2012; Ledón-Rettig, 2013; и др.), поэтому он вполне вероятен как некий

эпигенетический механизм быстрых микроэволюционных и эволюционных перестроек морфогенеза (Васильев, Васильева, 2005; Васильев, 2009). Таким образом, усачи *Labeobarbus* оз. Тана представляют собой почти идеальную модель для изучения быстрого симпатрического формообразования в биотическом сообществе, которое фактически является локальным флором и одновременно таксоном, т.е. состоит из близкородственных «эковидов».

Поэтому цель работы состояла в изучении морфологического разнообразия формы тела, а также головы симпатрических представителей флоры *Labeobarbus* и проведении морфологического картирования их молекулярной филогении с помощью методов геометрической морфометрии. Наибольший интерес при этом представляли поиск и оценка филогенетического сигнала и проявлений гомоплазии, содержащихся в формах тела и головы рыб. Другой аспект касался проведения эволюционно-экологического анализа морфологического разнообразия и дифференциации представителей флоры с учётом их экологической специализации в связи с проблемой быстрого симпатрического формообразования.

Материалом для работы послужили ранее опубликованные в статьях де Граафа фотографии рыб, относящихся к 15 известным формам данного флоры, а также их частные кодовые последовательности (partial cds) митохондриального гена цитохрома *b*, хранящиеся в Генбанке (GenBank «NCBI», USA). Дополнительно в качестве внешней группы использовали сиквенс представителя близкого вида — эфиопского усача (*Labeobarbus ethiopicus*). Приводим список номеров 16 сиквенсов представителей *Labeobarbus* из Генбанка: GQ853203.1, GQ853205.1, GQ853208.1, GQ853210.1, GQ853213.1, GQ853214.1, GQ853269.1, GQ853216.1, GQ853219.1, GQ853220.1, GQ853227.1, GQ853229.1, GQ853230.1, GQ853235.1, GQ853225.1, AF180828.1.

Основой для дальнейшего построения филогений послужила матрица *p*-дистанций, вычисленная в программе Mega 5.1 (табл. 6.4) на основании данных Генбанка (см. выше) по числу различий в последовательности оснований на сайт нуклеотидных сиквенсов гена цитохрома *b* мтДНК.

В составе морфологических видов флоры на взятом нами для анализа материале из Генбанка выделяется восемь различающихся «гаплотипов» (в целом для оз. Тана известно около 11 гаплотипов), которым соответствуют от одного до четырёх морфотипов. Например, морфотипы *crassibarbis*, *gorgorensis*, *macrophthalmus* и *surkis*, вероятно, почти идентичны по сиквенсам гена цитохрома *b*, т.е. имеют относительно недавнее происхождение. Сходными в молекулярном отношении являются и морфотипы *megastoma*, *longissimus* и *tsanensis*.

Таблица 6.4. Генетические *p*-дистанции между 16 таксонами эфиопских усачей (*Labeobarbus*) по числу различий в последовательности оснований на сайт по нуклеотидным последовательностям цитохрома *b* мтДНК (расчёт по данным Генбанка)

№	Вид	Порядковый номер вида							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	<i>L. acutirostris</i>		0.0020	0.0016	0.0013	0.0016	0.0018	0.0010	0.0016
2	<i>L. brevicephalus</i>	0.0039		0.0017	0.0019	0.0017	0.002	0.0017	0.0017
3	<i>L. crassibarbis</i>	0.0029	0.0029		0.0021	0	0.0009	0.0019	0
4	<i>L. dainellii</i>	0.0019	0.0039	0.0048		0.0021	0.0023	0.0009	0.0021
5	<i>L. gorgorensis</i>	0.0029	0.0029	0	0.0048		0.0009	0.0019	0
6	<i>L. gorguari</i>	0.0039	0.0039	0.0010	0.0058	0.001		0.0021	0.0009
7	<i>L. longissimus</i>	0.0010	0.0029	0.0039	0.001	0.0039	0.0048		0.0019
8	<i>L. macropthalmus</i>	0.0029	0.0029	0	0.0048	0	0.0010	0.0039	
9	<i>L. megastoma</i>	0.0010	0.0029	0.0039	0.001	0.0039	0.0048	0	0.0039
10	<i>L. nedgia</i>	0.0029	0.0029	0	0.0048	0	0.0010	0.0039	0
11	<i>L. platydorsus</i>	0.0039	0	0.0029	0.0039	0.0029	0.0039	0.0029	0.0029
12	<i>L. surkis</i>	0.0029	0.0029	0	0.0048	0	0.0010	0.0039	0
13	<i>L. truttiformis</i>	0.0019	0.0039	0.0048	0.0019	0.0048	0.0058	0.0010	0.0048
14	<i>L. tsanensis</i>	0.001	0.0029	0.0039	0.0010	0.0039	0.0048	0	0.0039
15	<i>L. intermedius</i>	0.0039	0.0039	0.0048	0.0039	0.0048	0.0058	0.0016	0.0021
16	<i>L. ethiopicus</i>	0.0424	0.0443	0.0414	0.0443	0.0414	0.0424	0.0434	0.0414
№	Вид	9	10	11	12	13	14	15	16
1	<i>L. acutirostris</i>	0.0010	0.0016	0.0020	0.0016	0.0013	0.0010	0.0019	0.0077
2	<i>L. brevicephalus</i>	0.0017	0.0017	0	0.0017	0.0019	0.0017	0.0019	0.0078
3	<i>L. crassibarbis</i>	0.0019	0	0.0017	0	0.0021	0.0019	0.0021	0.0076
4	<i>L. dainellii</i>	0.0009	0.0021	0.0019	0.0021	0.0013	0.0009	0.0019	0.0078
5	<i>L. gorgorensis</i>	0.0019	0	0.0017	0	0.0021	0.0019	0.0021	0.0076
6	<i>L. gorguari</i>	0.0021	0.0009	0.0020	0.0009	0.0023	0.0021	0.0023	0.0076
7	<i>L. longissimus</i>	0	0.0019	0.0017	0.0019	0.0009	0	0.0029	0.0078
8	<i>L. macropthalmus</i>	0.0019	0	0.0017	0	0.0021	0.0019	0.0048	0.0076
9	<i>L. megastoma</i>		0.0019	0.0017	0.0019	0.0009	0	0.0029	0.0078
10	<i>L. nedgia</i>	0.0039		0.0029	0	0.0048	0.0039	0.0048	0.0076
11	<i>L. platydorsus</i>	0.0029	0.0017		0.0017	0.0019	0.0017	0.0039	0.0078
12	<i>L. surkis</i>	0.0039	0	0.0029		0.0021	0.0019	0.0048	0.0076
13	<i>L. truttiformis</i>	0.0010	0.0021	0.0039	0.0048		0.0009	0.0039	0.0079
14	<i>L. tsanensis</i>	0	0.0019	0.0029	0.0039	0.0010		0.0029	0.0078
15	<i>L. intermedius</i>	0.0016	0.0021	0.0019	0.0021	0.0019	0.0016		0.0077
16	<i>L. ethiopicus</i>	0.0434	0.0414	0.0443	0.0414	0.0443	0.0434	0.0424	

Так же, как и в предыдущем разделе, для изучения формы тела и головы усачей оз. Тана мы использовали фотографии, опубликованные в диссертации М. де Граафа (de Graaf, 2003) и его работах с соавторами (de Graaf et al., 2008, 2010). Изображения тела рыб на исходных фотографиях сопровождалась мерными отрезками, которые мы использовали для учёта реального размера центроида (CS — centroid size). Однако на опубликованных фотографиях голов представителей флота усачей мерные отрезки были не у всех видов, поэтому различия в размере центроида в данном случае у них не анализировали.

Расположение 20 ланмарков и двух меток линейки (рулера), использованных для характеристики формы тела и юстировки размера центроида у «эковидов», показаны на примере *Labeobarbus intermedius* на рис. 6.17.

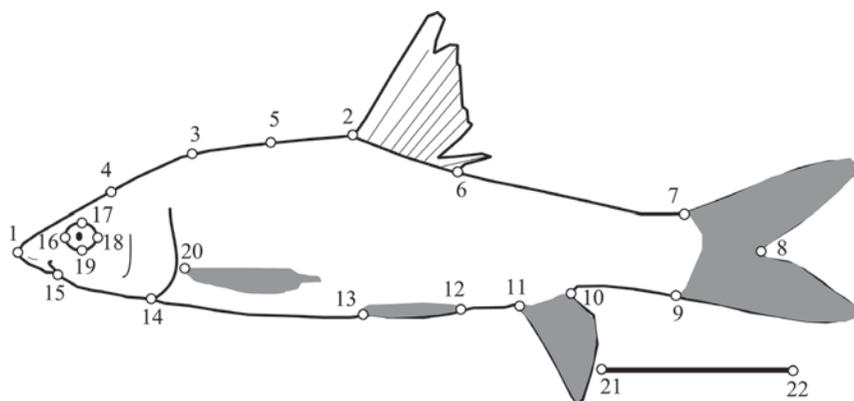


Рис. 6.17. Расположение 20 ланмарков на теле *Labeobarbus intermedius* (21–22 — вспомогательные ланмарки для юстировки размера центроида, CS).

При выборе способа расстановки ланмарков на теле усачей мы во многом опирались на одну из пионерных работ в области геометрической морфометрии, посвященную изучению изменчивости представителей данного флота (Reig et al., 1998).

Для характеристики изменчивости формы головы усачей были взяты 18 ланмарков (рис. 6.18). Выбор для анализа формы головы в качестве объекта наблюдений обусловлен тем, что она крайне изменчива и тесно связана с экологической специализацией представителей флота усачей оз. Тана.

При исследовании применяли те же методы и подходы, что и в предыдущем разделе главы.

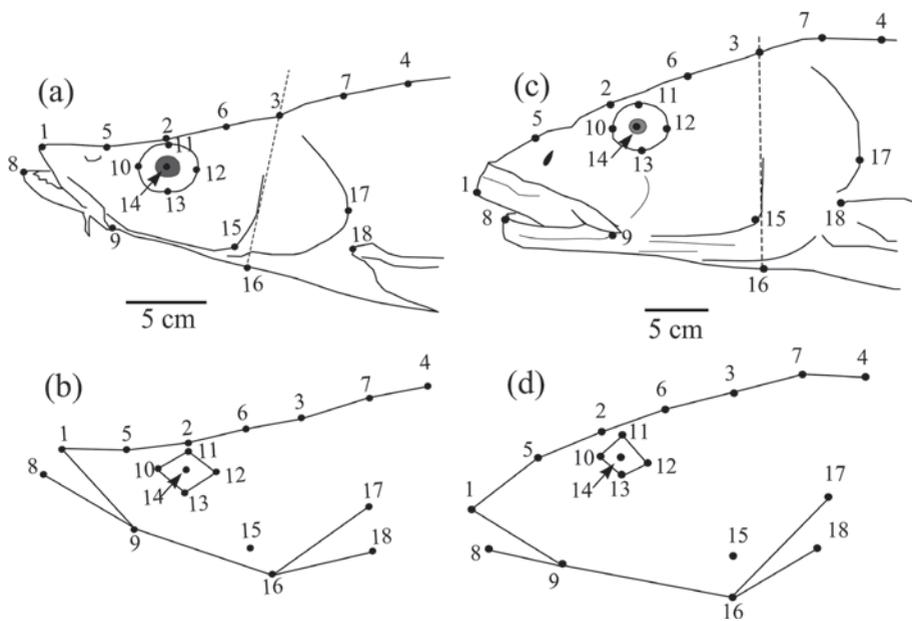


Рис. 6.18. Изображения головы рыбаждных усачей *Labeobarbus acutirostris* (a) и *L. dainellii* (c) со схемами расстановки 18 ланмарок, а также их схематические каркасные конфигурации (соответственно b и d).

После вычисления прокрустовых координат предварительно по каждой ланмарке проанализировали рассеивание видовых ординат у представителей двух экологических групп: рыбаждных и нерыбаждных усачей. На рисунке 6.19 видно, что ланмарки, размещённые в области ротового отверстия, дорзальной части тела, основания заднего края спинного плавника, а также в хвостовом отделе, у обеих экологических групп от вида к виду варьируют больше, чем, например, ланмарки, размещённые по контуру глаза или в основания переднего бокового плавника. Ланмарка № 1, расположенная на передней оконечности рыла, у рыбаждных усачей варьирует меньше, чем у нерыбаждных, тогда как дорзальные ланмарки № 2, 3, 5, 6, напротив, больше варьируют у рыбаждных форм. При этом наблюдается общее смещение этих ланмарок у рыбаждных усачей в вентральном направлении, что отражает большую продольную вытянутость и общую прогонистость формы их тела по сравнению с нерыбаждными. Интересно, что, несмотря на общую высокую топологическую изменчивость, положе-

ние ландшафтов, маркирующих области локализации брюшных и хвостового плавников, в целом мало отличается у рыбадных и нерыбадных видов.

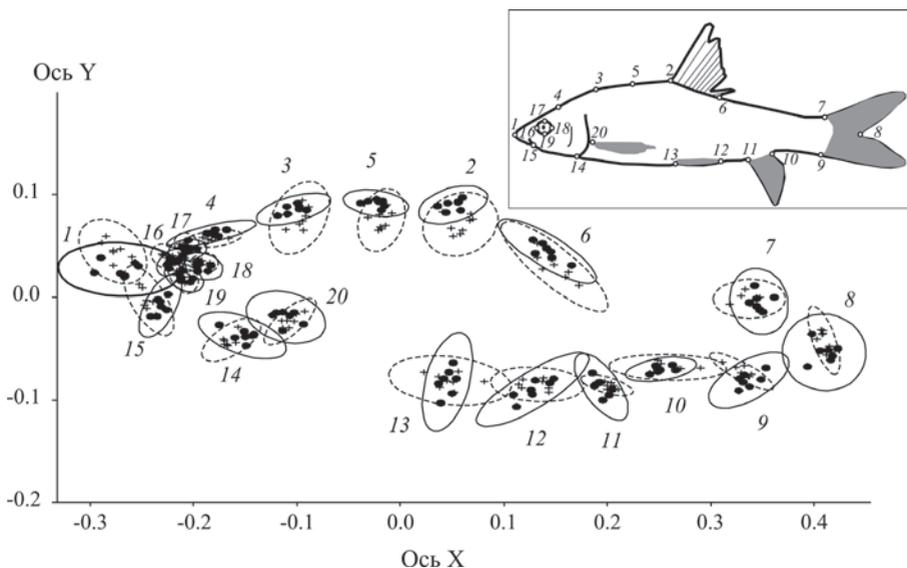


Рис. 6.19. Эллипсы рассеивания ординат эквивидов по каждой из 20 ландшафтов, характеризующих изменчивость формы тела, нерыбадных (черные кружки, сплошная линия) и рыбадных (крестики, штриховая линия) представителей флоры усачей оз. Тана (справа вверху приведена схема расстановки ландшафтов).

Используя аффинные компоненты изменчивости, мы оценили проявление однородных изменений формы тела у рыбадных и нерыбадных видов рыб (рис. 6.20). Из рисунка следует, что рыбадные рыбы по однородным изменениям формы тела проявляют большее морфологическое разнообразие по сравнению с нерыбадными, причём между данными группами видов наблюдаются значимые различия вдоль второй — вертикальной аффинной оси (UnifY): тело нерыбадных видов оказывается чаще более широким, а рыбадных — более узким и прогонистым. Другими словами, нерыбадные рыбы относительно стабильно отличаются более широким телом, тогда как рыбадные могут иметь тело разной ширины, хотя, как правило, и меньшей, чем у нерыбадных. Значимых различий между этими группами вдоль первой — горизонтальной оси (UnifX) — не обнаружено,

т.е. разнообразие по однородным продольным изменениям формы тела у обеих групп проявляет сходный размах.

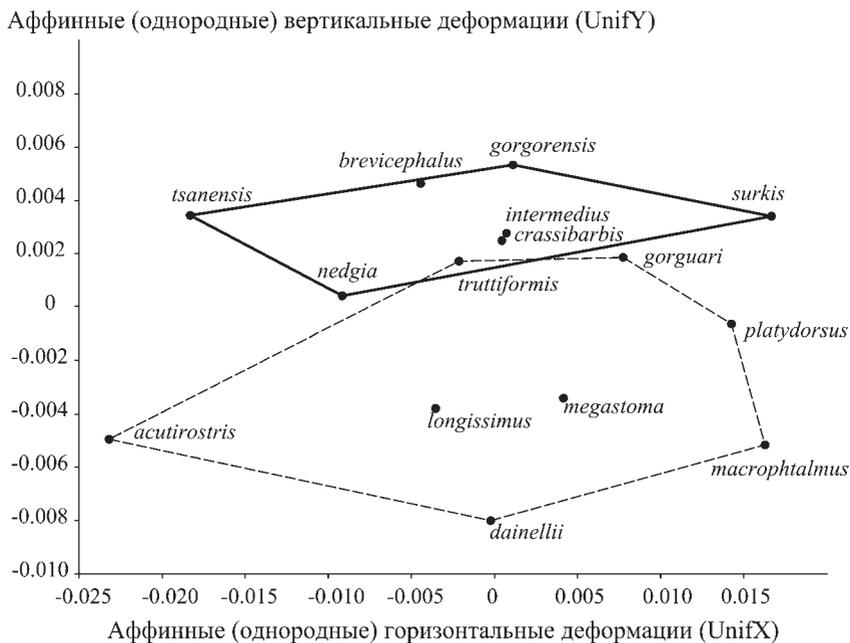


Рис. 6.20. Полигоны изменчивости ординат нерыбоядных (сплошная линия) и рыбоядных (штриховая линия) видов усачей вдоль аффинных осей (UnifX, UnifY), характеризующих однородные изменения формы тела рыб.

Затем по прокрустовым координатам провели анализ главных компонент формы тела рыб. Ординаты эковидов в морфопространстве первых трёх главных компонент представлены на рис. 6.21. Маркировка принадлежности эковидов к двум экологическим группам рыбоядных и нерыбоядных позволила обнаружить, что эти группы занимают два разных подпространства в общем морфопространстве. Наибольшая степень сегрегации групп наблюдается вдоль первой и третьей главных компонент, причём вдоль первой компоненты максимально проявилась дифференциация и внутри группы рыбоядных видов. Вдоль третьей оси различия между рыбоядными усачами также выражены больше, чем между нерыбоядными. Вдоль второй

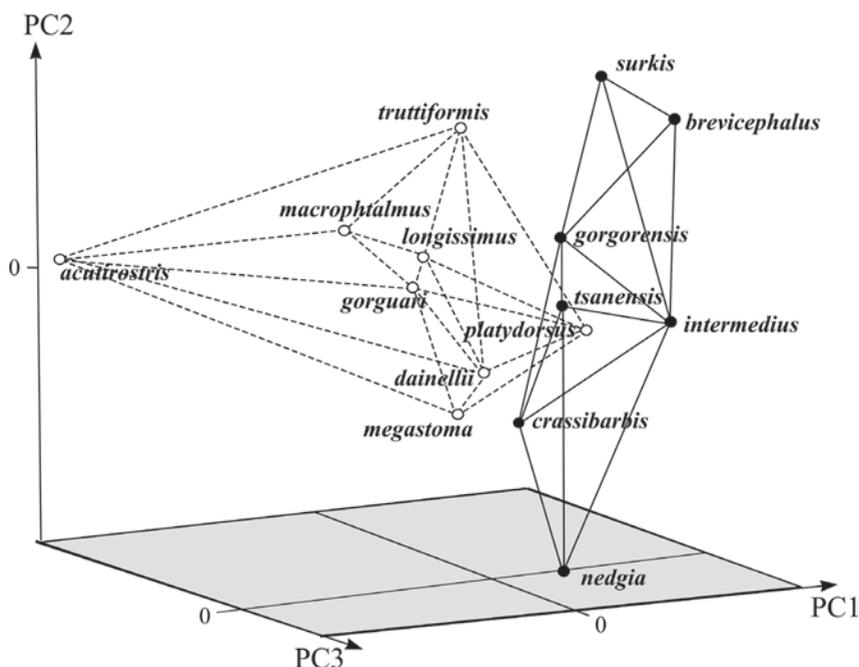


Рис. 6.21. Разнообразие формы тела нерыбоядных (черные кружки, сплошная линия) и рыбоядных (белые кружки, штриховая линия) усачей оз. Тана в морфопространстве, образованном размещением ординат «эковидов» вдоль первых трёх главных компонент (PC1–PC3).

главной компоненты, напротив, в наибольшей степени проявилась дифференциация между видами в группе нерыбоядных усачей.

Уровень внутригруппового морфоразнообразия ( $MD$  – morphological disparity) обеих групп по форме тела, вычисленных на основе гауссовской модели средних ближайших соседних дистанций (mean nearest neighbor distance –  $MNND$ ) в программе IMP DisparityBox6i, значительно отличается ( $t = 2.48; p < 0.01$ ). Для группы нерыбоядных эковидов показатель  $MNND$  составил  $0.054 \pm 0.002$ , а для рыбоядных –  $MNND = 0.061 \pm 0.002$ , т.е. последний значительно превысил таковой у нерыбоядных. Полученные величины в целом соотносятся с итогами визуализации рассеивания ординат внутри каждой из этих двух групп в пространстве трёх первых главных компонент (см. рис. 6.21). Показатель Сэдлера (Strauss, Sadler, 1989) для нерыбоядных составил

$p_{\text{mean}} = -0.0290$  (95% размах значений  $-0.0987-0.0570$ ), а для рыбоядных  $p_{\text{mean}} = 0.0792$  (95% размах значений  $0.0008-0.1572$ ). Это означает, что у нерыбоядных формально проявилась тенденция к слабой внутригрупповой агрегированности ординат. Однако, судя по размаху колебания значений при бутстреп-анализе, эта величина статистически незначима (крайние значения имеют как отрицательный, так и положительный знаки), т.е. рассеивание ординат в данном случае носит случайный характер. А у рыбоядных, напротив, проявилось статистически значимое (оба крайних значения имеют положительный знак, т.е. больше нуля), хотя и слабо выраженное сверхрассеивание (overdispersion) ординат. Следовательно, подводя краткий итог сравнения внутригруппового морфоразнообразия нерыбоядных и рыбоядных эковидов, можно заключить, что у рыбоядных видов морфологическая дифференциация выражена несколько сильнее, чем у нерыбоядных. Гипотетически наибольшие различия между эковидами хищных усачей по форме тела затронули несколько большие перестройки морфогенеза, чем в группе нерыбоядных. Тем не менее, величина наблюдаемых межгрупповых различий относительно мала (формальные оценки разнообразия MD по М. Футу близки — здесь мы не приводим эти данные), поэтому, несмотря на полученные формальные оценки, следует признать, что уровни морфоразнообразия у этих групп рыб в целом сопоставимы по величине, но явно имеют разную направленность в морфопространстве.

Подразделение сравниваемых форм по предпочитаемым глубинам или удалённости от берега, как и по местам нереста: речным или озёрным, не выявило каких-либо видовых агрегаций и иных подпространств в общем морфопространстве.

По значениям видовых ординат вдоль первых трёх главных компонент провели сравнение рыбоядных и нерыбоядных видов, используя многомерный метод однофакторного анализа сходства (ANOSIM) на основе евклидовой метрики и 10 000 повторных перестановок (permutation test). В результате сравнения величина критерия  $R$  оказалась статистически значимой и составила  $0.223$  ( $p = 0.0169$  с учётом поправки Бонферрони). Применение другого теста — многомерного непараметрического однофакторного дисперсионного анализа (NPMANOVA) — подтвердило значимость многомерных различий по форме тела между рыбоядными и нерыбоядными усачами ( $F = 2.939$ ;  $p = 0.0202$  для 10 000 повторных перестановок).

По данным о трофических предпочтениях каждого из 15 эковидов, имеющимся в докторской диссертации М. де Граафа (2003), мы провели методом главных компонент их ординацию. В качестве исходных переменных были взяты данные о долях (%) в общем среднем рационе питания

таких трофических компонент, как рыбы, насекомые (имаго), личинки насекомых, двусторчатые и отдельно брюхоногие моллюски, зоопланктон, фитопланктон, детрит, макрофиты. В плоскости, образованной первыми двумя главными компонентами (около 88% общей дисперсии) в трофическом «экопространстве» выделились две большие агрегации ординат, принадлежащие рыбадным и нерыбадным видам. На основе проведённой ординации по значениям главных компонент была получена симметричная матрица евклидовых «трофических» дистанций между эковидами. После удаления диагонали с нулевыми значениями данные частных трофических дистанций для каждого эковида были использованы при расчёте показателя трофического разнообразия  $ND$  у групп нерыбадных и рыбадных форм (рис. 6.22). Дополнительно оценили различия по величине внутригрупповых дисперсий трофических дистанций между эковидами.

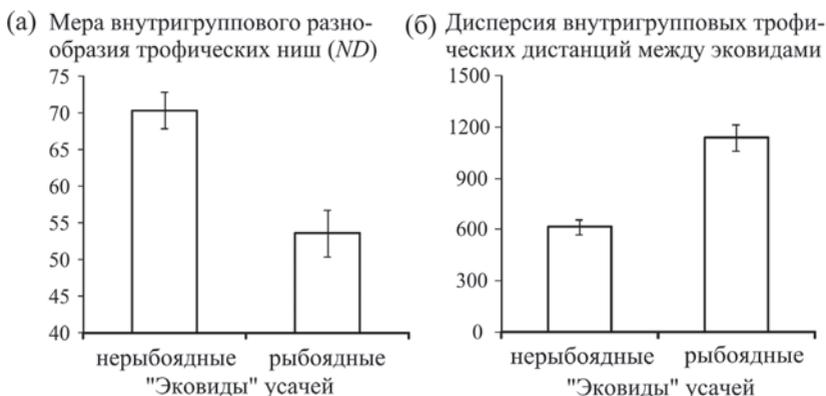


Рис. 6.22. Средние внутригрупповые оценки разнообразия трофических ниш —  $ND$  (а) и внутригрупповые дисперсии дистанций между трофическими нишами (б) у нерыбадных и рыбадных эковидов усачей оз. Тана в Эфиопии (с учётом стандартных ошибок  $\pm SE$ ).

Величина  $ND$  в группе нерыбадных эковидов оказалась значимо больше, чем у рыбадных ( $t = 4.1$ ;  $d.f. = 208$ ;  $p < 0.0001$ ). Заметим, что оценка  $t$ -критерия выполнена по формуле для неравных дисперсий выборок. Полученные результаты указывают на то, что в данном экопространстве среднее расстояние между трофическими нишами нерыбадных эковидов усачей в среднем значимо больше, чем это наблюдается между рыбадными. Ординаты последних агрегированы в экопространстве в большей степени, т.е. хищничество задает большее сходство их трофических ниш. Интересно,

что дисперсия внутригрупповых дистанций между трофическими нишами нерыбоядных и рыбающих усачей различается тоже значимо ( $F = 1.85$ ;  $d.f.1,2 = 112, 98$ ;  $p = 0.002$ ), но в этом случае полярность различий изменяется на противоположную, т.е. у рыбающих дисперсия значимо выше, чем у нерыбоядных. Аналогично различаются и величины коэффициентов вариации внутригрупповых дистанций между трофическими нишами: для нерыбоядных —  $CV = 35.28 \pm 2.52$ , а для рыбающих —  $CV = 62.90 \pm 4.20$  ( $T$ -тест Флигнера-Киллина = 43.26; ожидаемое значение  $E(T) = 94.82$ ;  $z = -5.42$ ;  $p < 0.0001$ ). И в этом случае у нерыбоядных коэффициент вариации существенно меньше, чем у рыбающих. Другими словами, в группе нерыбоядных наблюдается стабильно больший разброс ординат эквивидов: большинство дистанций между трофическими нишами стабильно велики. У рыбающих форм ординаты локализованы в целом ближе друг к другу (более компактно), но, тем не менее, расположены в экопространстве нестабильно — то на относительно большом удалении, то на малом, т.е. ниши рыбающих могут быть и близкими по трофическому спектру, и различными. Таким образом, большие различия по трофическим нишам сопровождаются относительно небольшими различиями в форме тела нерыбоядных эквивидов, но существенно меньшие различия в спектрах кормов у рыбающих сопровождаются относительно большими различиями в форме их тела. Вероятно, специализация рыбающих эквивидов к хищному образу жизни потребовала относительно большей морфологической диверсификации.

Обращает на себя внимание ещё один аспект. В работах М. Ферре с соавт. (Ferré et al., 2015; Ferré, 2016) была продемонстрирована связь обилия (abundance) видов рыб с размещением их в морфопространстве. Мы провели аналогичное сравнение. Если разместить ординаты эквивидов не в экопространстве, а в морфопространстве, используя главные компоненты формы тела, как это было выполнено нами ранее (см. рис. 6.21), но дополнить эту информацию данными об их относительном обилии (abundance), то ординаты, расположенные по краям морфопространства будут принадлежать наиболее обильным в сообществе эквивидам. Соответственно, ординаты, относящиеся к наименее обильным видам, размещены ближе к центру общего морфопространства. Это явление более наглядно представлено в морфопространстве, образованном ординатами эквивидов в плоскости первых двух главных компонент (рис. 6.23). Ординаты в данном случае объединены в сеть наиболее морфологически близких эквивидов, построенную методом дерева минимальных связей — MST (minimum spanning tree).

Следует заметить, что тот же эффект наблюдается и в трёхмерном морфопространстве, образованном первыми тремя главными компонентами

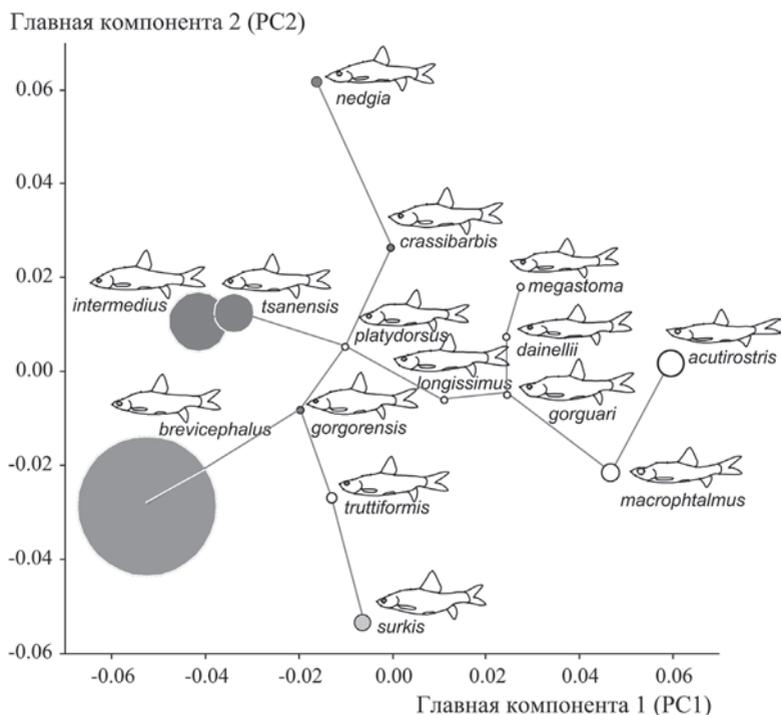


Рис. 6.23. Ординация эковидов усачей (форма тела рыб представлена в виде контурных рисунков — аутлайнов) в морфопространстве первых двух главных компонент с учётом их относительного обилия в сообществе, отображенного кругами разного диаметра (ординаты морфологически наиболее близких видов соединены с помощью дерева минимальных связей — MST).

ми, т.е. краевые эковиды более обильны, чем близкие к центральной части морфопространства (данные мы здесь не приводим). Поскольку М. Ферре (Ferré, 2016) выявил данный феномен в морских сообществах рыб, причём на разных глубинах, а нам удалось это обнаружить в пресноводном озере Тана, можно полагать, что мы имеем дело с общей эволюционно-экологической и экоморфологической закономерностью. Важнейшие для сообщества виды-доминанты, обилие которых наиболее велико, занимают в морфопространстве краевое положение, т.е. существенно дифференцированы друг от друга. Второстепенные и относительно малозначимые для сообщества виды-субдоминанты и редкие виды, имеющие низкое обилие, тяготеют к

центральной части общего морфопространства сообщества и морфологически дифференцированы друг от друга в меньшей степени, чем основные виды-доминанты. Именно так обстоит дело и с симпатрическими эковидами усачей оз. Тана, большинство которых относительно слабо морфологически дифференцированы, но разделение их на группы нерыбоядных и рыбаодных по трофическим нишам сопровождается явной морфологической сегрегацией в соответствии с экологической специализацией, достигающей максимума у доминирующих по численности видов.

Мы также оценили возможное влияние на изменчивость формы тела рыб таких факторов, как место их нереста в условиях озера или реки, степень удалённости основных мест обитания от берега (1 — мелководные прибрежные, 2 — со средними глубинами, 3 — глубоководные биотопы). Экологическую классификацию видов провели по данным, взятым из публикаций М. де Граафа с соавт. (de Graaf, 2003; de Graaf et al., 2008, 2010). С помощью двухфакторной модели многомерного непараметрического дисперсионного анализа (NPMANOVA) оценили влияние факторов рыбаодности с указанными выше дополнительными факторами (табл. 6.5, 6.6).

*Таблица 6.5. Двухфакторный многомерный непараметрический дисперсионный анализ (Two-way NPMANOVA) главных компонент формы тела усачей оз. Тана: оценка влияния факторов рыбаодности, глубоководности и их взаимодействия (при 10000 повторных перестановок)*

Источник изменчивости	Сумма квадратов	Число степеней свободы (d.f.)	Средний квадрат	F – критерий	Уровень значимости (p)
Рыбаодность (P)	0.008699	1	0.008699	1.92680	0.0053
Глубоководность (H)	0.002363	1	0.002363	0.52331	0.5561
Взаимодействие (P x H)	-0.015560	1	-0.015560	-3.44660	0.3017
Остаточная дисперсия	0.049662	11	0.004515		
Общая дисперсия	0.045163	14			

В результате было установлено, что оба дополнительно учтенных фактора: глубоководность основного биотопа и место нереста в реках или озере — не являются значимыми при межвидовом сравнении и не могут рассматриваться как общая причина групповой изменчивости формы тела, тогда как фактор рыбаодности проявляет достоверное влияние в обоих случаях сравнения. Незначимыми оказались также и взаимодействия дополнительно учтенных факторов с рыбаодностью видов.

Таблица 6.6. Двухфакторный многомерный непараметрический дисперсионный анализ (Two-way NPMANOVA) главных компонент формы тела усачей оз. Тана: оценка влияния факторов рыбаюдности, места нереста и их взаимодействия (при 10000 повторных перестановок)

Источник изменчивости	Сумма квадратов	Число степеней свободы (d.f.)	Средний квадрат	F – критерий	Уровень значимости (p)
Рыбаюдность (P)	0.008731	1	0.008731	1.92680	0.0053
Место нереста (L)	0.002672	1	0.002672	0.52331	0.5561
Взаимодействие (P x L)	-0.014010	1	-0.014010	-3.21370	0.8172
Остаточная дисперсия	0.047950	11	0.004359		
Общая дисперсия	0.045343	14			

Таким образом, рыбаюдность как общий групповой фактор проявляется в общих чертах строения тела, что выражается в специфическом смещении спинного плавника, меньшей высоте тела, особом положении и вытянутости рыла у группы рыбаюдных рыб по сравнению с нерыбаюдными. Поскольку данный фактор оказался ведущим при морфологической и экологической диверсификации усачей в оз. Тана, мы учли его в дальнейшем при построении гипотетических моделей параллельной морфогенетической эволюции представителей данного флора.

Аналогичный анализ главных компонент по значениям прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы головы рыб, показал, что и в этом случае морфологическое разнообразие оказалось больше в группе рыбаюдных рыб (рис. 6. 24). Последнее обстоятельство указывает на то, что ведущим фактором нетипичного для карповых рыб эволюционного становления рыбаюдных хищников среди видов флора *Labeobarbus* оз. Тана стала возможность быстрых перестроек не столько в развитии конфигурации тела, а скорее, морфогенеза черепа и головы. Причём как у нерыбаюдных, так и у рыбаюдных представителей флора подобная быстрая дифференциация с эволюционно-экологической точки зрения может быть обусловлена длительным отсутствием в сообществе рыб оз. Тана других типичных рыбаюдных хищников. Кроме веера гексаплоидных форм флора *Labeobarbus*, в оз. Тана присутствуют ещё три близких диплоидных вида: *Barbus humilis*, *B. tanapelagi* и *B. pleurogramma*, а также виды рода *Garra*: *G. dembecha*, *G. microstoma*, *G. tana* и *Oreochromis niloticus*, которые выступают в том числе в качестве основного или потенциального трофического ресурса для больших рыбаюдных усачей (de Graaf et al., 2007, 2008, 2010).

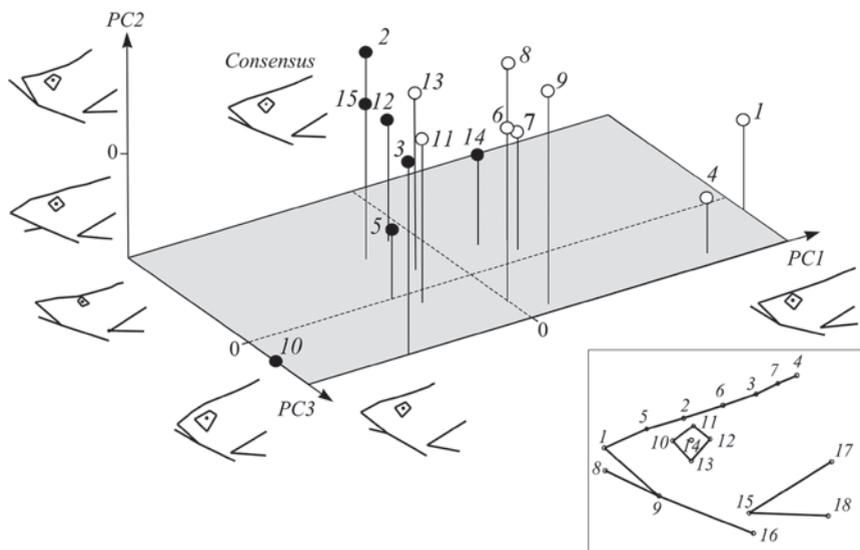


Рис. 6.24. Межвидовая изменчивость формы головы нерыбоядных (черные кружки) и рыбающих (белые кружки) усачей оз. Тана в морфопространстве, образованном ординатами «эковидов» вдоль первых трёх главных компонент (PC1–PC3). Показаны каркасные конфигурации голов, соответствующие крайним значениям вдоль всех трёх главных компонент (внизу справа приведена схема расстановки ландрмарков). Нумерация видов соответствует табл. 6.4.

Мы попытались по нуклеотидным сиквенсам митохондриального гена цитохрома *b* соотнести молекулярно-генетическое разнообразие морфотипов данного флора рыб с уровнем своеобразия ближайшего к ним типичного вида *Labeobarbus ethiopicus* с помощью метода многомерного неметрического шкалирования. На рис. 6.25 хорошо видно, что удаление ординаты типичного вида в молекулярно-генетическом пространстве от любой из ординат, принадлежащих представителям флора гексаплоидных усачей из оз. Тана, значительно превышает любые парные дистанции между последними. Один из видов флора — *L. intermedius* — несколько удален от других его представителей и в молекулярно-генетическом пространстве ближе всего расположен к филогенетически родственному эфиопскому усачу *L. ethiopicus*. На значительно большем материале с привлечением многих других видов усачей М. де Грааф с соавт. (de Graaf et al., 2010) по сиквенсам того же фрагмента мтДНК выявили сходную картину.

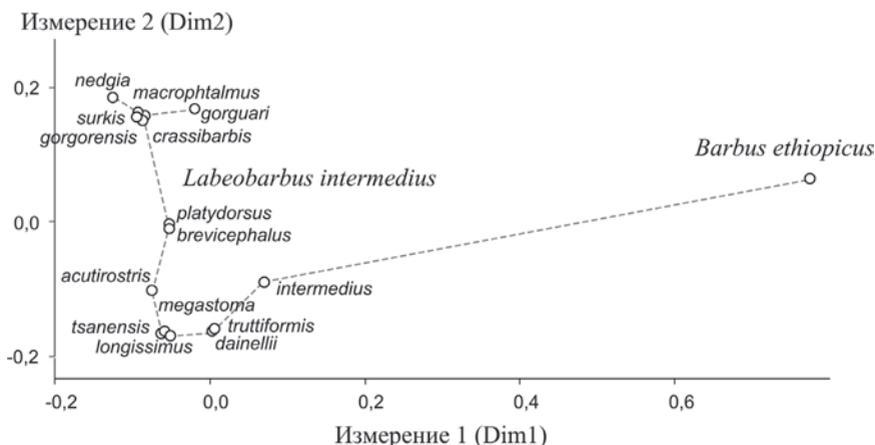


Рис. 6.25. Генетическое разнообразие гаплотипов гена цитохрома *b* мтДНК усачей оз. Тана в пространстве первых двух измерений (Dim1, Dim2), вычисленных методом многомерного неметрического шкалирования (уровень стресса по Дж. Б. Краскелу не выше 3%). Ординаты соединены на основе метода построения дерева минимальных связей Ф. Дж. Рольфа (MST – minimum spanning tree).

Если оценить уровни молекулярного разнообразия всех сравниваемых видов в общем молекулярно-генетическом пространстве (как аналоге морфопространства) с помощью показателя межгруппового разнообразия *MD* (Foote, 1993a, 1994; Zelditch et al., 2004), то практически все представители флора имеют почти на порядок величин меньшее значение *MD*, чем ближайший типичный вид *L. ethiopicus* (рис. 6.26). Таким образом, действительно следует говорить о крайне низком генетическом разнообразии (*disparity*) представителей флора *Labeobarbus* оз. Тана.

Представляло интерес сопоставить морфологическое и генетическое разнообразие видов флора *Labeobarbus* оз. Тана. Для этой цели мы использовали значения главных компонент (PC), характеризующих изменчивость формы головы рыб, по которым вычислили обобщённую матрицу межвидовых дистанций в евклидовой метрике между 15 представителями флора. Аналогичную матрицу дистанций получили по значениям ординат видов на основе трёх осей измерений (Dim1–Dim3) при многомерном неметрическом шкалировании нуклеотидных сиквенсов гена цитохрома *b* мтДНК. Корреляционное сравнение обеих матриц дистанций провели методом Мантеля. Оказалось, что при любых используемых метриках коэффициент

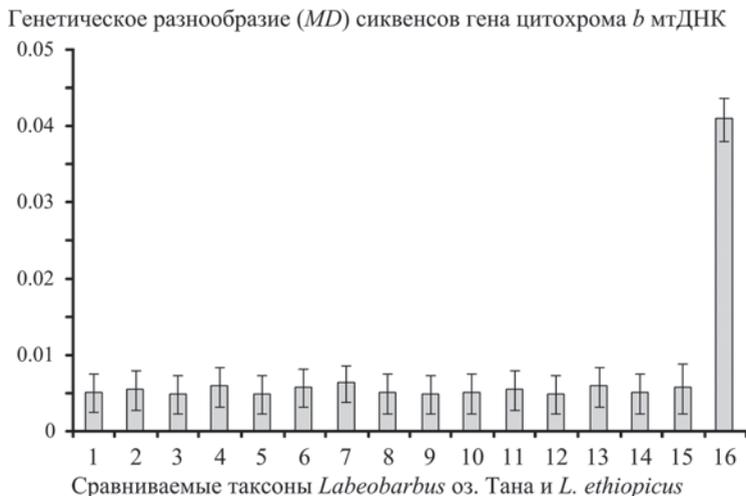


Рис. 6.26. Оценка генетического разнообразия нуклеотидных последовательностей гена цитохрома  $b$  мтДНК видов флота *Labeobarbus* оз. Тана и типичного близкого вида *L. ethiopicus* по  $MD$ -показателю разнообразия М. Фуа (Foote, 1993а, 1994), вычисленному для каждого вида на основе матрицы генетических  $p$ -дистанций.

корреляции  $R$  между матрицами морфологических и молекулярно-генетических дистанций был статистически незначим и близок к нулю (например, в евклидовой метрике  $R = -0.016$ ;  $p = 0.5137$ ).

Таким образом, генетическое разнообразие по нуклеотидным сиквенсам гена цитохрома  $b$  и морфологическое разнообразие по главным компонентам формы головы рыб практически не проявили какой-либо корреляционной связи. Поэтому можно было ожидать, что при морфологическом картировании тех или иных версий молекулярных филогений обнаружение филогенетического сигнала должно быть затруднено или невозможно, однако по этой же причине вполне можно было выявить параллелизмы морфологических эволюционных изменений, т.е. проявление гомоплазии. Следовательно, основной интерес при дальнейшем анализе материала состоит, скорее, даже не в поиске филогенетического сигнала, основанного на «молекулярно-генетической филогении», а в оценке минимального и максимального уровней гомоплазии и параллелизмов морфологической эволюции при симпатрическом формообразовании усачей в пределах оз. Тана, осуществившемся за 15 000–17 000 лет.

Тем не менее, мы попытались выявить филогенетический сигнал с учетом молекулярной филогении у представителей флота усачей оз. Тана в изменчивости формы их тела и отдельно в изменчивости формы головы. Результаты вычислений длин деревьев, уровней значимости филогенетического сигнала и величин филогенетических индексов в процессе морфологического картирования гипотетических филогений в пространстве главных компонент приведены в общей табл. 6.7.

В верхней половине таблицы представлены соответствующие значения филогенетических индексов при морфокартировании деревьев, построенных для морфопространства, характеризующего разнообразие формы тела сравниваемых видов. Две верхние строки являются вспомогательными, поскольку в них приведены минимальная  $m$  и максимальная  $g$  длины деревьев. Из таблицы видно, что для трёх вариантов молекулярных филогений ни в одном случае филогенетический сигнал не является статистически значимым, а величина гомоплазии, как и ожидалось, во всех вариантах сравнения велика и указывает на наличие параллелизма в эволюции формы тела.

Гипотетические филогенетические деревья, построенные методами ML, NJ и ME по нуклеотидным сиквенсам гена цитохрома  $b$  мтДНК, сходны по значениям филогенетических индексов, показывая высокий уровень гомоплазии ( $H$ ) и низкий — синапоморфии (по индексам  $RI$  и  $RC$ ). Мы также построили два варианта деревьев, характеризующих заведомо экологическую иерархию групп: 1 — дерево, учитывающее только экологическую сегрегацию рыбадных и нерыбадных усачей, т.е. различающихся по трофическим нишам (см. выше); 2 — дерево, построенное по матрице экологических дистанций в метрике расстояний Говера по нескольким важным экологическим характеристикам, взятым из работ М. де Граафа с соавт. (de Graaf et al., 2007, 2008, 2010), отражающим главным образом особенности местообитаний эквидов. Напомним, что метрика расстояний Говера позволяет нормировать переменные относительно максимальных значений ряда и делает их сопоставимыми по размерности. Оба экологических дерева получены с помощью алгоритма минимальной эволюции в программе Mega 5.1 на основе симметричных матриц экологических дистанций, построенных по значениям главных компонент.

Отметим, что деревья, основанные на экологических дистанциях между видами, являются своеобразными «филоэкологическими» деревьями. Поскольку эквиды флота формируют подобие таксоцена, то условно варианты экологических деревьев можно назвать также филоценогенетическими. Необходимость построения подобных деревьев вызвана тем, что если морфологическая дивергенция при симпатрическом формообразова-

Таблица 6.7. Длины деревьев (TL) для гипотетических филогений, оценка значимости филогенетического сигнала для формы тела и формы головы усачей оз. Тана на основе перестановочного (permutation) теста и сравнение деревьев по величине индексов

Вариант реконструкции филогенетического дерева по нуклеотидным последовательностям гена цитохрома <i>b</i> мтДНК	TL – длина дерева	<i>p</i> – уровень значимости филогенетического сигнала	Филогенетические индексы			
			CI	RI	RC	H
<b>Форма тела</b>						
Минимальное дерево, построенное методом ME	0.0195	< 0.0001	-	-	-	-
Максимальное (звездное) дерево	0.0465	0.642	-	-	-	-
ML – реконструкция методом максимального правдоподобия	0.0287	0.7471	0.670	0.635	0.425	0.330
NJ – реконструкция методом ближайшего соседа	0.0340	0.9746	0.574	0.465	0.267	0.426
ME – реконструкция методом минимальной эволюции	0.0361	0.9781	0.540	0.385	0.209	0.460
Экологическая сегрегация рыбоядных и нерыбоядных усачей	0.0217	0.0003	0.899	0.919	0.827	0.101
Дерево связей эквидов по их местообитаниям	0.0292	0.3958	0.667	0.640	0.427	0.333
<b>Форма головы</b>						
Минимальное дерево, построенное методом ME	0.0845	< 0.0001	-	-	-	-
Максимальное (звездное) дерево	0.1871	0.5636	-	-	-	-
ML – реконструкция методом максимального правдоподобия	0.1151	0.3838	0.734	0.702	0.515	0.266
NJ – реконструкция методом ближайшего соседа	0.1258	0.5289	0.672	0.597	0.401	0.328
ME – реконструкция методом минимальной эволюции	0.1414	0.9243	0.598	0.445	0.266	0.402
Экологическая сегрегация рыбоядных и нерыбоядных усачей	0.1004	0.0485	0.842	0.845	0.711	0.158
Дерево связей эквидов по их местообитаниям	0.1154	0.2421	0.732	0.699	0.512	0.268

нии будет строго соответствовать становлению иерархической структуры связей в экологическом пространстве видовых ниш, то при картировании этого дерева в морфопространстве будет получен отклик в виде значимого «филогенетического сигнала». Другими словами, эволюция сообщества по формированию и освоению экологических ниш может быть отражена в морфологических особенностях симпатрических видов. Если наше условное дерево, отражающее принадлежность к группам рыбадных и нерыбадных усачей, получит в морфопространстве отклик в виде значимого «филогенетического сигнала», то эволюционное становление рыбадности и соответствующее ей изменение морфогенеза, приводящее к параллельной адаптивной радиации морфотипов флота, можно связать с экологическим давлением сообщества и ценотическим контролем.

Как видно из таблицы 6.7, у первого «экологического» дерева, основанного на различиях трофических ниш эквидов (см. выше), наблюдается самая короткая длина ( $TL = 0.0217$ ) и статистически значимый ( $p = 0.0003$ ) сигнал о хорошем соответствии морфологических различий в форме тела усачей структуре иерархического ветвления данного дерева. Все филогенетические индексы при этом имеют максимальные значения для данной части таблицы, причём величина индекса гомоплазии ( $H$ ) при этом самая низкая и составляет 0.101. Следовательно, наша гипотеза о ведущем экологическом факторе формообразования эквидов усачей, связанном с трофической специализацией, во многом подтвердилась. Сравнительно невысокая величина гомоплазии при этом указывает на то, что параллелизм при экологическом формообразовании проявился лишь отчасти и имеет место высокий уровень экоморфологической специализации. Проявление гомоплазии, вероятно, в основном обусловлено общим разделением усачей озера Тана на группы рыбадных и нерыбадных эквидов.

Во втором варианте при оценке экологических дистанций по особенностям местообитаний учитывали озёрный или речной тип нереста, удалённость основного биотопа от берега, предпочитаемую глубину, рыбадность и обилие в уловах. Затем матрицу экологических дистанций использовали для построения иерархического дерева экологических связей между видами флота, как уже отмечено выше. Итоговое дерево является отражением наиболее вероятной иерархической упорядоченности экологических ниш эквидов данного таксоцена, обусловленных распределением по предпочитаемым местообитаниям. Потенциально можно было ожидать, что в ходе эволюционного процесса, связанного с адаптивной радиацией усачей по разным местообитаниям и глубинам озера и впадающих в него рек, проявится такой же высокий экологический (филоценогенетический) сигнал.

Однако, как видно из таблицы, эта гипотеза не подтверждается. Для дерева, построенного по особенностям местообитаний усачей, сигнал, содержащийся в морфологических особенностях формы тела статистически незначим ( $p = 0.3958$ ), а уровень гомоплазии оказался достаточно высок ( $H = 0.333$ ). Последнее указывает на то, что многие местообитания параллельно или попеременно могут служить разным экотидам, то есть проявляется некий экологический параллелизм у обитателей больших глубин, прибрежной зоны озера или поверхностного слоя воды и т.д. М. де Граф (2003) отмечал, что некоторые экотиды попеременно нерестятся в одном и том же месте, но со сдвигом во времени. При этом такого сильного экологического давления со стороны сообщества рыб, как в случае влияния трофического фактора, в отношении разнокачественности местообитаний не наблюдается.

В данном случае наиболее интересно то, что филогенетический сигнал при морфокартировании молекулярных вариантов филогений практически отсутствует, т.е. молекулярно-генетической фиксации морфологической и экологической диверсификации предкового вида на 15 экотидов за 15 000 — 17 000 лет с момента образования оз. Тана ещё не произошло. Хорошо известно, что рано или поздно мелкие ошибки в нуклеотидных последовательностях накапливаются и позволяют судить о степени эволюционной дивергенции и времени биологической изоляции. Однако это, по-видимому, осуществляется на существенно больших отрезках времени, чем было отведено на диверсификацию усачей в оз. Тана. Таким образом, полученные результаты косвенно указывают на большее соответствие экодерева трофических ниш морфологической диверсификации, а значит, и иерархической структуры связей между экологическими нишами, размещению видов в морфопространстве, чем это обеспечивают молекулярные филогении. Более короткое экологическое дерево формально соответствует принципу наибольшей экономии (парсимонии), т.е. по правилам кладистики может считаться более правдоподобным. По сравнению с молекулярными деревьями, для экологического дерева более высокими оказываются и значения филогенетических индексов  $CI$ ,  $RI$  и  $RC$ . Последнее также указывает на то, что филогения усачей оз. Тана, отраженная в форме их тела, обусловлена в первую очередь общими трофическими и лишь затем специфическими эколого-ценотическими факторами.

Формально более устойчивым является и условное дерево, характеризующее экологическую сегрегацию видов по трофическим нишам. Структура этого дерева экологической сегрегации по рыбаемости ( $s'$ ) в сравнении со структурой минимального ( $m$ ), максимального ( $g$ ) и относительно короткого оригинального ( $s$ ) — ML-молекулярного дерева, представлены на рис. 6.27 в плоскости первых двух главных компонент формы тела рыб.

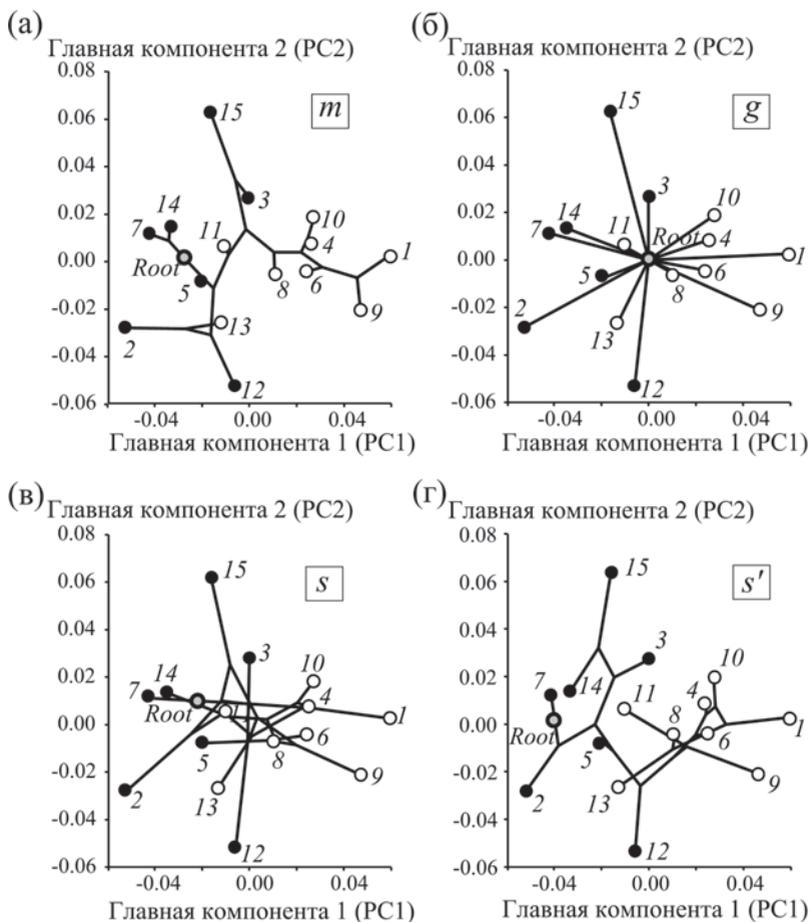


Рис. 6.27. Результаты морфокартирования разных вариантов филогенетических деревьев: (а) минимальное дерево (*m*); (б) максимальное дерево (*g*); (в) оригинальное дерево (*s*), полученное по матрице молекулярных *p*-дистанций методом наибольшего правдоподобия (ML); (г) дерево экологической сегрегации по рыбаюдности (*s'*) в пространстве первых двух главных компонент формы тела, образованном видовыми ординатами флоры усаечей оз. Тана (рыбаюдные помечены белыми кружками).

Несмотря на большую величину дерева экологической сегрегации по рыбаюдности за счёт двух областей, содержащих два веера ветвей, исходящих от группового центра к видовым ординатам своей группы, у данного

дерева при перестановках ветвей возникает устойчивость. Это происходит потому, что ординаты рыбадных и нерыбадных видов тяготеют к разным подпространствам общего морфопространства и при повторных случайных перестановках ветвей общая структура дерева и его длина почти не меняются. Поэтому оба дерева, характеризующих иерархию связей экологических ниш видов, косвенно указывают на то, что ведущим эволюционным фактором при симпатрическом формообразовании является эколого-ценотический фактор, т.е. взаимное экологическое давление членов сообщества, вызывающее как параллельные, так и специфические морфологические изменения у видов соответственно их экологическим нишам.

Дальнейший анализ данных табл. 6.7 для тех же вариантов молекулярных и экологических деревьев, но картированных в морфопространство главных компонент формы головы усачей, показывает сходную картину. И в этом случае экологическое дерево, отражающее иерархию связей экологических ниш видов, является минимальным по сравнению с молекулярными деревьями. Минимальна у него и длина ( $TL = 0.1004$ ), а вероятность обнаружения более короткого дерева в целом существенно меньше, чем для молекулярных деревьев, и формально соответствует первому уровню значимости ( $p = 0.0485$ ). Величина индекса гомоплазии в этом случае, как и для формы тела, является минимальной ( $H = 0.158$ ) среди всех вариантов формальных филогений (значения  $H$  варьируют от 0.266 до 0.402). Второе экологическое дерево, построенное по особенностям предпочитаемых местообитаний, не выявило значимого сигнала по форме головы усачей, как это наблюдалось и по форме их тела. Интересно, что в этом случае для формы головы, как и для формы тела при всех версиях молекулярных филогений характерен наибольший уровень гомоплазии, т.е. формально, в соответствии с традиционными генетическими представлениями, наблюдается параллелизм эволюционных морфогенетических изменений у определённой группы видов.

Таким образом, при симпатрическом формообразовании усачей оз. Тана именно трофический фактор, связанный с необходимостью возникновения в сообществе собственных рыбадных хищных видов, был основным движущим эволюционно-экологическим фактором, который привел к быстрой взаимной диверсификации морфотипов усачей. Симпатрически возникшие за сравнительно короткое время рыбадные и нерыбадные усачи с выбором трофической стратегии в биотическом сообществе приобрели морфогенетические изменения формы головы и тела, что позволило разным морфотипам специализироваться в питании всеми основными ресурсами. Вслед за доступными разным морфотипам ресурсами усачи оз.

Тана пространственно распределились по предпочитаемым биотопам, разойдясь по разным экологическим нишам. Точнее выражаясь, они создали пространство своих экологических ниш за счёт направленных изменений морфогенеза. Среди них, как уже отмечалось, встречаются виды со сходными требованиями к среде, но, как показали исследования М. де Граафа с соавт. (de Graaf et al., 2008, 2010), в разные сезоны и разном возрасте они могут расходиться по биотопам, т.е. их сходные экологические ниши разобщены во времени.

В заключение рассмотрим пример реконструкции морфогенетических изменений на последовательных этапах эволюционных преобразований формы головы усачей, которые сопряжены с узлами (nodes) и терминальными ветвями филогенетического дерева. В качестве такого дерева используем молекулярное филогенетическое дерево флора усачей, построенное по матрице генетических  $p$ -дистанций методом NJ с использованием бутстреп-процедуры (рис. 6.28).

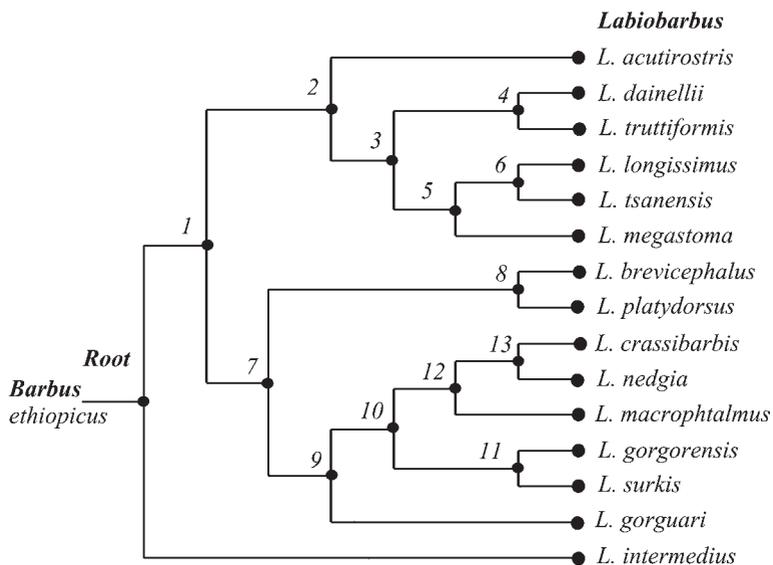


Рис. 6.28. Молекулярное филогенетическое дерево флора усачей, построенное по матрице генетических  $p$ -дистанций методом NJ с использованием бутстреп-процедуры при 500 повторных репликах.

Выше мы уже отмечали, что ни одна из версий молекулярных филогений усачей до настоящего времени не выявила надежные маркеры, позволяющие получить летопись их быстрых эволюционных изменений и филетических связей. Тем не менее, постараемся использовать данное дерево для целей реконструкции последовательных этапов морфологических изменений, опираясь на программный комплекс MorphoJ.

На рис. 6.29 приведена схема изменений каркасных конфигураций головы усачей, построенных с помощью линий, соединяющих между собой отдельные ланدمарки. Внизу рисунка в соответствии со структурой NJ-дерева размещена реконструированная конфигурация головы условной предковой формы, совмещённой с корнем (Root) данного дерева. Далее приведены реконструкции таких конфигураций для последовательной череды узлов дерева (nodes), ведущих к терминальной ветви рецентного морфотипа *L. acutirostris*. Хорошо видно, что от предковой стадии к терминальной фазе эволюционных морфогенетических преобразований происходит постепенное сужение головы и вытягивание рыла данного рыбающего морфотипа. Другой путь морфогенетических перестроек идёт от предковой формы к терминальной ветви рецентного морфотипа *L. intermedius*. Видно, что в этом случае перестройки конфигурации невелики, т.е. данный морфотип близок к фенотипу предковой исходной формы усачей оз. Тана. Действительно, судя по структуре дерева, ветвь данного морфотипа является базальной. Известно также, что в другом близком горном озере Эфиопии встречается только *L. intermedius*. Другие морфотипы флора являются строгими эндемиками оз. Тана.

Используя данный метод геометрической морфометрии для целей реконструкции узловых состояний филогенетического дерева, а также в случае проявления значимого филогенетического сигнала у тех или иных морфоструктур, можно визуализировать пути эволюционных морфогенетических перестроек, отражающих последовательные этапы их морфологической эволюции. Данный подход в русле геометрической морфометрии, как уже отмечалось выше, может быть полезен палеонтологам для реконструкции предковых и узловых (nodes) стадий филогенетического дерева. Сравнение геометрических конфигураций морфологических объектов, принадлежащих соответствующим таксонам, позволяет оценить масштаб морфогенетических изменений, связанных с тем или иным фрагментом филогенетического дерева.

В настоящее время, вероятно, самыми быстрыми процессами формообразования у высших животных можно считать явления перестройки морфогенеза при их domestикации. Напомним, что в итоге исторического

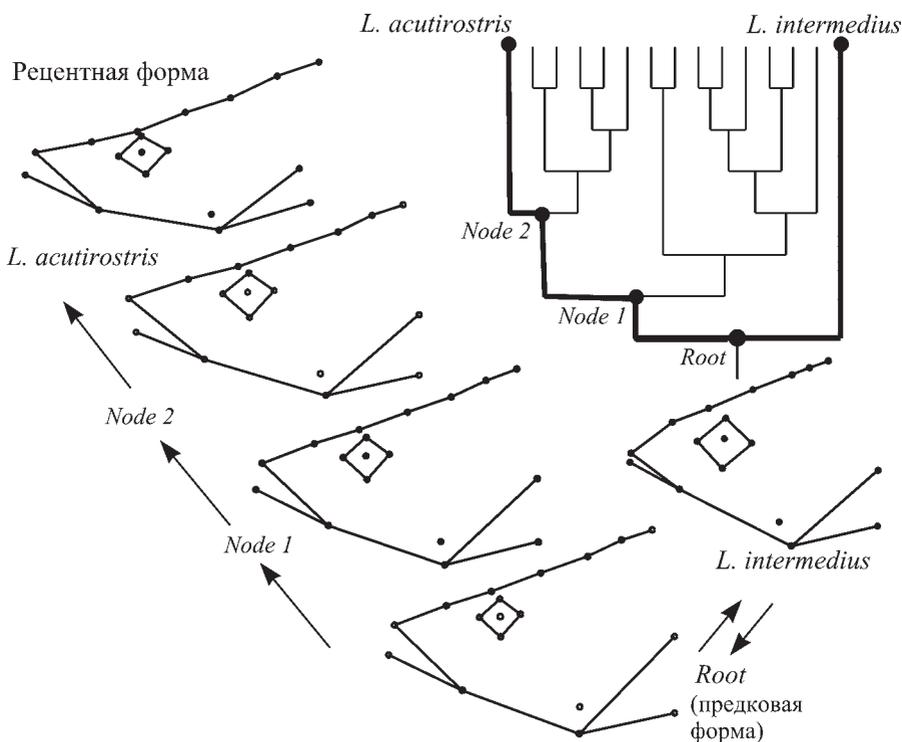


Рис. 6.29. Реконструкция последовательных морфологических изменений конфигурации головы усачей от предкового вида (Root) через этапы, привязанные к узлам (Node) филогенетического дерева, к терминальным рецентным формам: рыбоядному виду *L. acutirostris* и нерыбоядному *L. intermedius*, считающемуся наиболее близким к предковой форме.

процесса domestikации собак и выведении человеком сотен их пород размах морфологических различий между породами по форме осевого черепа оказался сопоставимым с размахом различий между представителями всего отряда хищных млекопитающих (Drake, Klingenberg, 2010). Исследования Абби Дрейк и Кристиана Клиндженберга показали, что потенциал быстрых морфогенетических перестроек животных очень высок. Поэтому при снятии контроля со стороны биотического сообщества и искусственной селективной сегрегации процесса размножения за сравнительно короткие исторические характерные времена можно существенно перестроить морфогенез живот-

ных. Аналогичные эффекты недавно обнаружили у пород скалистого голубя и видов диких голубей на основе сочетания методов геометрической морфометрии и оценки молекулярных филогений (Young et al., 2017).

В нашем случае при сравнении усачей оз. Тана ситуация противоположна по механизму, но во многом аналогична по результату. При симпатрическом формообразовании усачей в оз. Тана происходит дифференциация морфогенетических траекторий, приводящих к появлению новых морфотипов, выполняющих необходимые экологические функции в изначально обедненном по видовому составу и лишённом хищных рыбадных форм сообществе рыб. Биогическое сообщество в данном случае контролирует возникновение группы хищных рыбадных усачей, обеспечивает их разнообразие и возможность с их помощью утилизации тех или иных возобновляемых биотических ресурсов. Морфотипы усачей выступают в роли неких разнообразных и «специально создаваемых» биотическим сообществом «инструментов», используемых для добывания и переработки тех или иных его биоресурсов. На протекание этого эволюционного процесса сообщество рыб оз. Тана «потратило» не более 15 000–17 000 лет, а, скорее всего, значительно меньше (по аналогии со скоростями изменения морфогенеза при доместикации и породообразовании собак (Drake, Klingenberg, 2010), аналогичных процессах у голубей (Young et al., 2017) или при интродукции ондатры (Васильев и др., 2014, 2016)). Невероятно высокая скорость изменений морфогенеза у усачей при формировании флора в оз. Тана, ещё более крупного флора цихлидовых рыб в оз. Виктория (Verheyen et al., 2003), а также у ряда других аналогичных озёрных флор (Rüber et al., 1999; Seegers et al., 1999; Schliewen et al., 2001; Danley, Kocher, 2001) показывает, что симпатрическое формообразование не только имеет место, но и одновременно является своеобразным аварийным способом ускоренной комплектации сообщества необходимыми функциональными «видовыми» компонентами.

Наличие параллелизма морфологических изменений эндемичных флор цихлидовых рыб в африканских озёрах Танганьика и Малави и возникновение в этих изолированных озёрах морфотипов-двойников продемонстрировали Р. Альбертсон и Т. Кочер (Albertson, Kocher, 2006). Мы использовали приведённые этими авторами изображения 12 видов рыб: 6 из них — представители оз. Танганьика, а 6 — оз. Малави, которые считаются парами сходных морфотипов (сходство между ними больше, чем между всеми видами данной трибы в исходных озёрах). Оцифровку и расстановку 37 ланмарок, характеризующих изменчивость формы тела и головы рыб (см. рис. 3.2), проводили так же и с помощью тех же программ, как и в случае с усачами. Результаты сравнения, проведённого методом главных компонент формы, представлены на рис. 6.30.

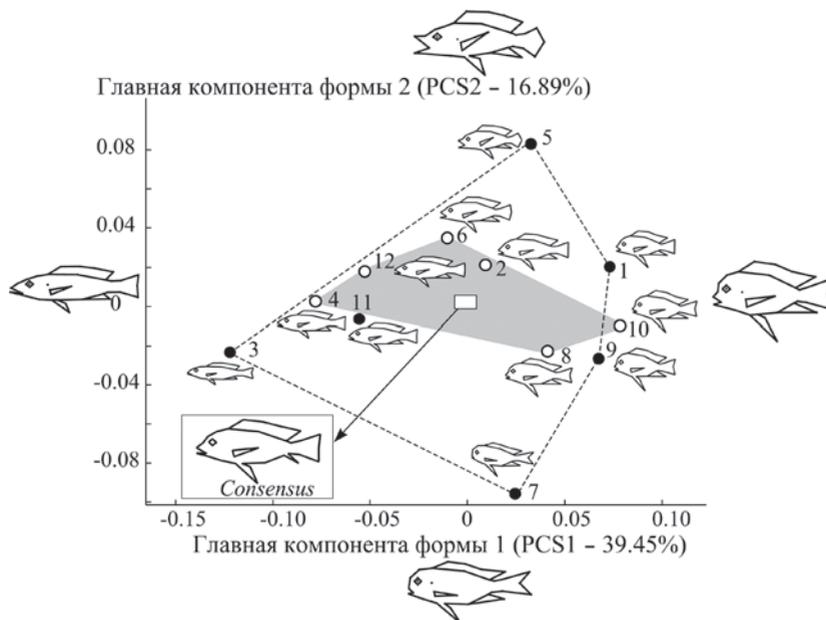


Рис. 6.30. Результаты ординации формы тела цихлидовых рыб трибы *Naplochromine* из флоры видов двух Великих Африканских озёр – Танганьика (черные кружки) и Малави (белые кружки). Ординату каждого вида на графике сопровождает каркасная конфигурация, построенная на основе 37 лан্ডмарков. Краевые увеличенные конфигурации лан্ডмарков рыб соответствуют максимальным и минимальным значениям главных компонент формы. Консенсусная (усреднённая) конфигурация изображена в нижней левой части графика.

Полигоны изменчивости, оконтуривающие в общем морфопространстве ординаты соответствующих видов из разных озёр, различаются по величине: морфоразнообразие представителей цихлидовых рыб оз. Малави (полигон серого цвета) существенно меньше, чем у группы видов из оз. Танганьика. В оз. Малави встречается значительно больше видов цихлидовых, хотя возраст этого озера существенно меньше, чем оз. Танганьика. Возможно, относительно большая диверсификация формы тела и головы цихлидовых в оз. Танганьика обусловлена более длительной историей локального сообщества рыб. С другой стороны, можно предполагать также, что большее видовое разнообразие и специализация видов оз. Малави приводят к обсуждаемому выше эффекту: уменьшению морфоразнообразия при более

полной комплектации сообществ исходя из принципа компенсации Ю. И. Чернова (2005).

Расчёт симметричной матрицы всех парных прокрустовых дистанций между видами позволил провести ещё один вариант подобной ординации методом многомерного неметрического шкалирования (рис. 6.31). Размещение видовых ординат в морфопространстве первых двух неметрических измерений (Dim1, Dim2) во многом совпадает с результатом предыдущей ординации морфотипов рыб методом главных компонент, но проекция всех ординат видов повернута слева-направо и сверху-вниз.

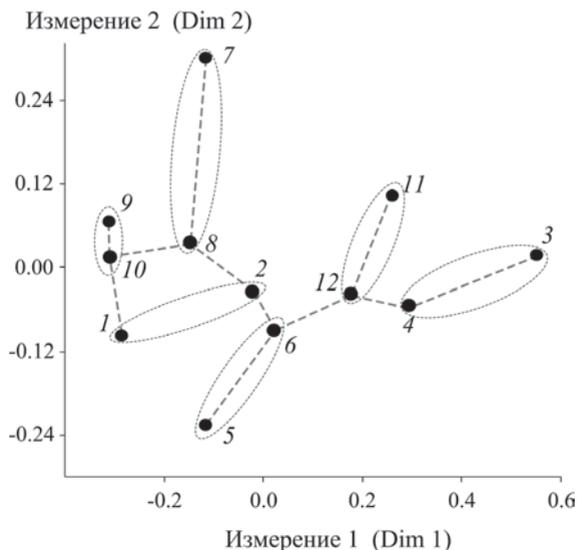


Рис. 6.31. Результаты ординации матрицы парных прокрустовых дистанций между 12 видами цихлидовых рыб из флоры озёр Танганьика и Малави. Ординаты видов соединены дендритом, построенным с использованием метода построения дерева минимальных связей (MST). Эллипсы объединяют номера морфотипически сходных видов из разных озёр (нечётные номера — виды оз. Танганьика, чётные — оз. Малави).

Использование дерева минимальных расстояний Рольфа, полученного методом дерева минимальных связей — MST (minimum spanning tree), позволило выявить минимальные связи именно между теми парами видов, которые имеют морфотипическое сходство в разных озёрах. Нечётные номера на рисунке — означают последовательность видов оз. Танганьика,

а чётные – оз. Малави, соответственно номера 1 и 2 – сходные морфотипы рыб из разных озёр. Сходные морфотипы из разных озёр объединены эллипсами (штриховая линия). Хорошо видно, что эллипсы объединяют именно те виды, которые уже были соединены как наиболее морфологически близкие методом MST, но имеется лишь одно исключение для пары видов с номерами 1 и 2. Тем не менее, ординаты и этих видов достаточно близки в морфопространстве. Поэтому можно заключить, что визуальное выделение пар морфологически сходных видов, выполненное Р. Альбертсоном и Т. Кочер (Albertson, Kocher, 2006), которое указывает на параллелизм морфологической эволюции в изолированных озёрах, наблюдается и при использовании формальных методов ординации на основе геометрической морфометрии. Следовательно, параллелизм морфологических изменений видов в составах флор цихлидовых рыб при эволюции в разных Великих Африканских озёрах прямо указывает на то, что существуют общие требования со стороны локальных сообществ, которые задают сходные направления быстрой морфологической диверсификации формирующихся новых видов. При этом существует точка зрения П. Брэкфилда (Brakefield, 2006) о том, что в данном случае морфологического параллелизма у флор цихлидовых рыб из озёр Танганьика и Малави проявляется система общих развитийных ограничений, понимаемых им в русле Evo-Devo, которая направляет эволюцию видов. Мы в целом согласны с этой версией как базовой причиной почти равного потенциала видовой дивергенции. Однако ведущей причиной параллельной морфологической диверсификации цихлидовых в этом примере считаем возникающие в сообществе (таксоцене) рыб трофические, территориальные и иные взаимодействия, закономерно приводящие к появлению тех, а не иных морфотипов рыб, т.е. направленной симпатрической морфологической эволюции под давлением самоорганизующегося сообщества. Проявляется своеобразный ценотический номогенез.

Как уже отмечалось выше, реальным механизмом быстрых эволюционных перестроек морфогенеза при симпатрическом формообразовании могут быть вызванные средовыми стрессами эпигенетические изменения. Для Дарвиновых вьюрков описаны особые стрессовые изменения среды обитания на Галапагосских островах при изредка возникающих явлениях Эль-Ниньо, связанных с длительным катастрофическим климатическим воздействием на биоту (Grant, Grant, 1993). Для усачей мелководного оз. Тана известны резкие колебания водности вплоть до пересыхания значительной части водоема. После одного из таких пересыханий приблизительно 15 000 лет назад и началось формирование флоры усачей (de Graaf et al., 2010). При резких изменениях условий обитания могут происходить пере-

стройки эпигенетических профилей метилирования ДНК, влияющие на активность тех или иных генов. Подобные эпигенетические перестройки способны трансгенерационно наследоваться (Richards, 2006; Jablonka, Raz, 2009; Bondurianski et al., 2012). Могут наблюдаться и транспозиции мобильных элементов, изменяющие функционирование генов или вызывающие реактивацию псевдогенов (Kidwell, Lisch, 1997; Slotkin, Martienssen, 2007). Такие быстрые эпигенетические изменения, которые в той или иной мере корректируют процесс морфогенеза, теоретически могут подхватываться направленным отбором и впоследствии фиксироваться в геноме стабилизирующим отбором (Васильев, Васильева, 2005; Васильев, 2009).

Завершая эволюционно-экологический анализ двух, во многом аналогичных процессов быстрого симпатрического формообразования — у га-лапагосских Дарвиновых вьюрков и у флота усачей оз. Тана в Эфиопии, следует заключить, что в обоих случаях ведущими эволюционными факторами являются не столько конкурентные отношения, сколько селективные ценотические требования к созданию новых видовых компонентов сообщества. Направленные морфологические изменения формы клюва Дарвиновых вьюрков и формы головы и зубных элементов у представителей флота усачей позволили в обоих случаях в изолированных экосистемах создать подобие набора специализированных видов-«инструментов», способных добывать, перерабатывать и утилизировать те или иные биотические ресурсы. В обоих случаях симпатрическое формообразование начиналось с одного предкового вида, который был способен в контрастных биотопах сначала создавать и поддерживать подобие внутривидовых морф или морфотипов. Веер этих морфотипов, вероятно, сначала эпигенетически наследовался как веер дискретных морфогенетических траекторий, возникновение и поддержание которых обусловлено эпигенетическими пороговыми явлениями аналогично появлению тех или иных дискретных морфозов. Дальнейшая шлифовка и геномная фиксация отбором этих эпигенетических по своей природе морфологических изменений могла привести к диверсификации морфогенеза в соответствии с «требованиями» других членов эквидового сообщества (таксоцена). Преимущество таких эпигенетических перестроек в том, что они основаны на возможности их массовых пороговых проявлений в ответ на определённый стрессирующий фактор среды у всех или большинства особей популяции/вида. Примечательно, что в обоих случаях сипатрическое формообразование приводит к существенной экологической и морфофизиологической специализации новых эквидов. Однако, если у Дарвиновых вьюрков за время на два порядка величин более протяженное, чем при формировании флота усачей в оз. Тана, накопились молекуляр-

но-генетические различия в нуклеотидных последовательностях, которые позволяют их дифференцировать на уровне видов и родов, то у усачей молекулярно-генетические различия почти не выражены. Фактически усачи флота *Labeobarbus* по существующим в настоящее время формальным молекулярно-генетическим критериям не вышли за пределы одного вида. В то же время в оз. Тана на основе этого одного вида сформировалось сообщество специализированных эковидов, которые морфологически дифференцированы друг от друга даже больше, чем это наблюдается у Дарвиновых выюров. Если бы не было информации о том, что это генетически один вид, сообщество усачей формально можно было бы подразделить на подобие двух подсемейств нерыбоядных и рыбающих, каждое из которых содержит несколько родов, представители которых крайне специализированы в трофическом отношении и чётко занимают разные ниши.

Исходя из приведённых примеров, поэтому, можно с определённой осторожностью заключить, что симпатрическое формообразование, приводящее к формированию таксоцена — сообщества близкородственных видов, скорее норма, чем исключение. На основе одного вида по законам самосборки вновь возникающих сообществ (которые пока нам неизвестны) при быстрых стрессирующих изменениях ландшафтно-климатических и иных условий среды, вызывающих эпигенетическую перестройку генома, начинают формироваться и апробироваться морфозы как морфотипы или морфы, инструментально выполняющие роль эковидов. Каждый этап закрепления той или иной морфы-эковида приводит к её экологическому взаимодействию с другими уже имеющимися эковидами по известному принципу диффузной коэволюции (Thompson, 1998, 2006). В результате в новом сообществе может возникать необходимость потенциального формирования ещё одного или нескольких эковидов, позволяющих возникающему таксоцену поддерживать численность и присутствие своих компонентов — эковидов и обеспечивать их устойчивый баланс в постоянно изменяющейся и усложняющейся экосистеме.

Эпигенетическая система (эпигенетический ландшафт популяции) во многом является общей для всех особей популяции и во многом преадаптированной к большинству потенциальных экологических пертурбаций среды обитания (Васильев, 2005; Васильев, Васильева, 2009; см. также Глава 1). Дополнительные экологические и функциональные возможности, возникающие за счёт небольших морфологических или поведенческих изменений у симпатрически формирующихся видов, позволяют ускорять и усиливать дальнейшие процессы перестройки морфогенеза. Появление новых видов и их экологические взаимодействия требуют новых морфологических из-

менений для снижения пресса конкурентных отношений и доступа к новым ресурсам. Таким образом, механизм быстрого симпатрического формообразования за счёт эпигенетических перестроек и их дальнейшей фиксации (Bondurianski, 2013; Duncan et al., 2014) вполне реалистичен, обусловлен двухуровневыми популяционно-ценогическими взаимодействиями (Букварёва, Алещенко, 2013; Васильев и др., 2016) и является основой процессов дальнейшей диффузной коэволюции (Janzen, 1980; Thompson, 1994, 1998, 2006) биотических сообществ. Представляется, что при изучении симпатрического формообразования и явлений диффузной коэволюции сообществ геометрическая морфометрия обеспечит новые инструментальные возможности исследований сопряженных морфогенетических перестроек не только близкородственных, но и таксономически разобщенных видов и их ценопопуляций.

«... Вопреки распространённому мифу, ученые — это не те, кто делают «открытия», а те, кто вносят усовершенствования в текущую технологию, в том числе и технологию научной деятельности»

В. В. Корона

## **Глава 7**

# **ПРИНЦИПЫ, МЕТОДЫ И НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОПУЛЯЦИОННОГО И ЦЕНОТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ**

Долговременный экологический мониторинг устойчивости популяций и сообществ животных и растений в постоянно изменяемых человеком природных ландшафтах представляет особую важность ввиду возможного наступления регионального и глобального биоценологических кризисов по мере усиления негативного техногенного или климатического воздействия на биоту (Жерихин, 2003; Чернов, 2005, 2008; Moyné, Neige, 2007; Павлов, Букварёва, 2007; Salamin et al., 2010; Sutherland et al., 2013). Ситуация осложняется ещё и расширением проникновения в аборигенные биотические сообщества чужеродных инвазионных видов, связанным с изменением климата и усилением транспортных коммуникаций во всём мире (Saul, Jeschke, 2010). Опасность быстрой качественной перестройки видовых компонент сообществ обусловлена открытием в последние годы трансгенерационной наследуемой передачи изменённых вследствие экологического стресса эпигенетических профилей, обуславливающих определённые морфогенетические изменения (Jablonka, Raz, 2009; Bonduriansky, 2013). Поэтому актуальной экологической задачей является разработка новых принципов и методов долговременного экологического мониторинга

га, нацеленных на оценку морфогенетической устойчивости форпостных (краевых) популяций и сообществ и выявления признаков наступления регионального биоценотического кризиса (Васильев и др., 2010; Васильев, 2012). Поэтому, важнейшей задачей ближайшего будущего следует считать внедрение популяционных представлений и методов исследований в синэкологию, обеспечивающих переход к популяционной и эволюционной синэкологии (Васильев и др., 2010, 2013, 2017а).

Представляется, что для Уральского региона это особенно актуально, поскольку сочетанное негативное климатическое и техногенное воздействие на биоценозы горных и равнинных ландшафтов здесь носит длительный и хронический характер. Поэтому, не дожидаясь наступления регионального биоценотического кризиса, который может затронуть живую природу на больших территориях, крайне важно, оценить дальнейшие возможные перспективы его возникновения.

Наиболее перспективным подходом к решению данной фундаментальной и одновременно прикладной задачи является двухуровневый популяционно-ценотический анализ проявлений сопряженной морфологической изменчивости симпатрических видов, образующих таксономически близкородственные группы в составе сообществ — таксоцены (Чернов, 2008; Букварёва, Алещенко, 2013; Vasil'ev et al., 2015).

В качестве наиболее адекватных моделей могут быть проанализированы многолетние колебания и изменения морфологического разнообразия, происходящие в локальных ценопопуляциях симпатрических (=синтопических) видов растений, беспозвоночных и позвоночных животных, обитающих в естественных ненарушенных и антропогенно трансформированных ландшафтах. Особое значение такой подход имеет при оценке экологического состояния биотических сообществ наиболее подверженных техногенному и другим формам антропогенного воздействия регионов Урала и Западной Сибири.

В этой связи основное внимание должно быть уделено разработке новых принципов и методов экологического мониторинга, основанного на двухуровневом популяционно-ценотическом подходе к оценке устойчивости форпостных популяций и сообществ (таксоценов) как естественной, так и техногенной природы, с опорой на проявления внутри- и межгрупповой фенотипической пластичности, феногенетической изменчивости и морфологического разнообразия симпатрических видов. В основе создаваемой популяционно-ценотической технологии экологического мониторинга могут лежать методы традиционной и геометрической морфометрии. Принципиальную возможность параллельного анализа изменчивости раз-

ных симпатрических видов в едином морфопространстве дает геометрическая морфометрия. Поэтому, при оценке морфогенетических реакций на изменение абиотической и биотической среды приоритет принадлежит геометрической морфометрии. Ростовые процессы могут оцениваться как прямыми традиционными методами измерений, так и косвенными — на основе использования размера центроида (CS). Новый метод геометрической фенетики — фенограмметрия, предложенный авторами в главе 5, позволяет применять методы геометрической морфометрии и к структурным дискретным вариациям, описывая как индивидуальную, так и межгрупповую изменчивость композиций фенотипов, морфотипов и морф.

Локальные сообщества таксономически близких симпатрических видов, приуроченные к определённой биотопу и пространственно размещённые в пределах фации или урочища, следуя терминологии Г. Е. Хатчинсона, называются таксоценонами, т.е. таксономически близкими видовыми компонентами ценозов, выполняющими в них определённые сходные экологические, главным образом трофические, функции (=таксоцены это филогенетически близкородственные экологические гильдии). Синтопные поселения каждого из симпатрических видов таксоценона, населяющие локальный биотоп для относительно оседлых видов (например, моллюсков или землероек), представляют собой ценопопуляции, которые неизбежно экологически взаимодействуют друг с другом, поскольку обитают на одной и той же территории, а их представители питаются сходными объектами. Термин «ценопопуляция» (Работнов, 1969, Уранов, 1975, Любарский, 1976) широко используется ботаниками, и означает территориальное видовое население (часто временное) того или иного вида, приуроченное к определённому биоценозу и, соответственно, биотопу. В зоологии такие небольшие территориальные группировки вида, потенциально или реально связанные друг с другом через поток мигрантов, т.е. формирующие единую популяцию (=метапопуляцию), обычно предпочитают называть «микропопуляциями» (Шварц, 1980). Однако микропопуляции характеризуют только территориальный фрагмент популяции вида и не привязаны к ценозу. При оперировании выборками из синтопных поселений сразу нескольких симпатрических видов, которые в биотопическом и территориальном отношении совмещены, термин «ценопопуляция» представляется рациональным и адекватным, а применение термина «микропопуляция» теряет смысл. Таким образом, понятие ценопопуляция оправдано не только для растений, но и для видов относительно оседлых животных, которые территориально тесно привязаны к определённым биотопам.

Синхронный внутри- и межгрупповой анализ синтопных ценопопуляций симпатрических видов, входящих в состав таксоценона, позволяет в рус-

ле популяционной синэкологии сопоставить их реакции в виде усиления изменчивости неметрических, морфометрических, морфофизиологических и/или этологических признаков в ответ на неблагоприятные природные ситуации. Дает возможность оценить параллелизм или независимость проявления внутри- и межгрупповой сопряжённой изменчивости морфогенетических, физиологических и поведенческих реакций, т.е. коэволюционный потенциал симпатрических видов (Vasil'ev et al., 2015; Большаков и др., 2015). Противоположные реакции могут указать на антагонизм экологических требований видов. Параллелизм ответов у разных видов будет отражать их высокий коадаптивный потенциал, т.е. исторически выработанную видами общую адаптивную морфогенетическую реакцию.

Анализ внутригруппового разнообразия позволяет оценить устойчивость ценопопуляции конкретного вида к тем или иным констелляциям условий среды в разные сезоны и годы, возникающим в результате природных и техногенных воздействий. Для нескольких синтопных и синхронно оцениваемых ценопопуляций симпатрических видов локального таксоцена тем же способом можно оценить изменение общего таксоценотического разнообразия во времени. В случае параллельного сравнения нескольких таксоценов, включающих ценопопуляции тех же симпатрических видов в географически удалённых локалитетах, т.е. экологически различных условиях, проводится аналогичное сравнение, но в этом случае уже не аллохронных, а аллотопных выборок из ценопопуляций нескольких видов. Наконец, совмещение этих задач, т.е. параллельное сравнение географически удалённых, но синтопных, ценопопуляций нескольких симпатрических видов во времени и в пространстве относится уже к проблематике эволюционной синэкологии и/или эволюционной экологии. При таком комплексном сопряженном анализе изменчивости свойств фенома в его самом широком толковании (от морфологических признаков до особенностей поведения особи на разных этапах онтогенеза) появляется возможность оценить какой из видов-симпатриантов лучше адаптирован к условиям локального биотопа по проявлению изменчивости и разнообразия изученных признаков. Действительно, в неблагоприятных для вида условиях его изменчивость по отдельным признакам или внутригрупповое разнообразие, оцененное по их совокупности, будут возрастать, а в благоприятных, напротив, — уменьшаться.

Феномен увеличения веера изменчивости признаков в неблагоприятной среде, который мы предлагаем назвать «*принцип провокационного фона*» или «*принцип Н.В. Глотова*», был экспериментально установлен и описан Николаем Васильевичем в его докторской диссертации (Глотов, 1983). Используя этот принцип, по морфогенетической реакции повышения уровня рассе-

ивания ординат в многомерном морфопространстве, например, применив методы геометрической морфометрии, можно определить после процедуры рарификации (случайного выравнивания выборок по объёму) у ценопопуляции какого из симпатрических видов локального таксоцена в большей степени проявилось морфоразнообразие (morphological disparity). Соответственно, меньший уровень взаимного рассеивания (дисперсии) ординат и меньший объём морфопространства будут указывать на большую степень морфогенетической устойчивости и экологической толерантности вида.

Методами геометрической морфометрии нами было ранее показано, что морфоразнообразие видов-доминантов значимо меньше, чем у видов-субдоминантов (Васильев и др., 2010, 2016). Было установлено, что при естественном восстановлении сообщества грызунов после весенней неизбежной элиминации, на освобождённой территории у вида, бывшего в контроле малочисленным субдоминантом, летом на импактном участке значимо снизился уровень внутригруппового морфоразнообразия, что отражает снижение стрессированности морфогенеза, а осенью за счёт этого вида на импактном участке произошла смена вида-доминанта в сообществе. Выявлено также снижение морфоразнообразия сообществ при наибольшей возможной полноте состава таксоцена и значимое возрастание этого показателя при его неполноте. Все эти факты указывают на сложные взаимодействия между симпатрическими видами в сообществе, влияющие на процессы морфогенеза и экологию как отдельных ценопопуляций, так и всего таксоцена.

Рассмотрим в данной главе два аспекта: методы и результаты мониторинга ценопопуляций одного вида древесных растений в градиенте техногенного загрязнения и принципы организации популяционно-ценотического мониторинга форпостных группировок животных и растений.

#### **7.1. ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАЗМЕРОВ, ФОРМЫ И СТРУКТУРЫ ЛИСТЬЕВ БЕРЁЗЫ ПОВИСЛОЙ В ЗОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СРЕДНЕ-УРАЛЬСКОГО МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ЗАВОДА: ТЕХНОЛОГИЯ МОНИТОРИНГА**

Геометрическая морфометрия может стать основой для создания новых технологий экологического мониторинга. Цель данного подраздела книги состояла в том, чтобы попытаться продемонстрировать читателям такую возможность на примере широко распространённого вида — берёзы повислой (*Betula pendula* Roth.) в градиенте техногенного загрязнения на Среднем Урале.

В зоне влияния Средне-Уральского медеплавильного завода (СУМЗа) сотрудники ИЭРиЖ УрО РАН ведут многолетние эколого-токсикологиче-

ские исследования на разных биологических объектах (Воробейчик, 2004; Безель, 2006; Воробейчик, Пищулин, 2009; Трубина, Воробейчик, 2013). Цикл этих работ включает выполнение регулярного мониторинга загрязнения среды техногенными поллютантами, а также анализ поступления их в почву, организмы растений и животных (Воробейчик, 2004; Безель, 2006; Воробейчик и др., 2012; Воробейчик и др., 2014). Влияние тяжёлых металлов на рост и морфогенез листьев древесных растений вблизи промышленных предприятий, являющихся источниками техногенных поллютантов, оценивается обычно традиционными морфометрическими методами, характеризующими рост и пропорции листовых пластинок (Коротеева и др., 2015). Оценку стабильности развития тех или иных морфоструктур растений и животных по проявлению их флуктуирующей асимметрии как меру стресса развития одним из первых в нашей стране предложил В. М. Захаров (1982, 1987). В отличие от многих зарубежных и отечественных коллег он отчётливо осознал и представил к обсуждению популяционно-феногенетический аспект изучения флуктуирующей асимметрии.

Нарушения стабильности морфогенеза листьев часто косвенно оценивают с помощью показателей стабильности развития, опираясь на значения индексов флуктуирующей асимметрии: по линейным промерам и угловым величинам (Кряжева и др., 1996; Kozlov et al., 1996; Захаров и др., 2000; Valkama, Kozlov, 2001; Kozlov, 2003; Зорина, 2012; Коротеева и др., 2015). Другой подход связан с оценкой общей, направленной и флуктуирующей форм асимметрии по структурным меристическим характеристикам (числу краевых зубчиков и жилок) или двелем — дентально-венальным элементам (Васильев и др., 2006; Корона, Васильев, 2007; Vasil'ev et al., 2008). Применяя разные методы и признаки, авторы часто получают разные результаты и делают разные выводы о «качестве» среды на участках, где произрастают деревья модельного вида (Palmer, 1994). Поэтому, несмотря на широкое применение этих методов в природоохранной практике, необходимо продолжить разработку новых, более надёжных и корректных подходов.

Собственно форма листьев часто анализируется лишь визуально, что носит субъективный характер и пригодно, скорее, для оценки проявления крупных морфозов. Изредка измеряют контур и площадь листовой пластинки, что позволяет оценить размеры и изрезанность листа (Мигалина, 2011). В то же время необходимо отметить, что листовая пластинка является, как правило, плоским объектом, который хорошо подходит для фотографирования и сканирования и может эффективно использоваться геометрической морфометрией (ГМ) при описании изменчивости формы объекта (см. Глава 2). В этой связи представляет несомненный интерес ис-

пользовать методы ГМ для характеристики изменчивости формы листьев на примере модельных видов деревьев и попытаться оценить возможности этого подхода для выявления морфогенетических изменений и оценки стабильности развития в градиенте техногенного загрязнения среды со стороны крупного промышленного предприятия.

Наша основная цель заключалась в попытке раздельно проанализировать изменчивость размеров, формы и структуры листовых пластинок модельного вида — берёзы повислой (*Betula pendula* Roth) в градиенте загрязнения тяжёлыми металлами территории, прилегающей к Средне-Уральскому медеплавильному заводу (СУМЗ), и сопоставить между собой результаты проведённых сравнений.

Следует отметить, что сбор листьев берёзы повислой для исследований был проведён в 2007 г., когда на СУМЗе ещё не установили качественные фильтры, многократно усилившие улавливание техногенных поллютантов. В настоящее время объём техногенных выбросов на заводе снизился до минимума (приблизительно в 40 раз) и не оказывает того отрицательного воздействия на окружающую древесную растительность, как это было ранее. Поэтому основная задача данной работы заключается в академической отработке методов оценки техногенного воздействия промышленного предприятия на рост и морфогенез листьев модельного вида. Поскольку подобные фильтры установлены далеко не на всех аналогичных предприятиях, результаты сравнения могут быть востребованы. В дальнейшем представляет интерес оценить также вероятный положительный эффект резкого снижения выбросов СУМЗа на состояние древесной растительности. С другой стороны, анализ данного материала может пролить свет на особенности протекания морфогенеза листьев данного модельного вида при разных токсических нагрузках.

Материал для работы представлен июльскими сборами листовых пластинок на побегах модельных деревьев берёзы повислой, произрастающих на трёх участках: импактная (0,5–1 км от завода), буферная (3–5 км от завода) и контрольная (30 км от завода) зоны. Отметим, что эти участки много лет использовались сотрудниками лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ ИЭРиЖ УрО РАН в качестве полигонов для исследований. Количественные оценки токсической нагрузки техногенных поллютантов ранее были проведены указанным выше коллективом ИЭРиЖ УрО РАН, что позволило нам опираться на опубликованные данные (Воробейчик, 2004; Безель, 2006).

В исследование были включены только листья укороченных побегов, являющиеся брахибластами (ауксибласты не использовали). Пробы на

каждом участке исходно брали с 5 деревьев по 5 побегов с каждого. На каждом побеге использовали все листья-брахибласты (от 2 до 4) со второго от его основания укороченного элементарного побега. Повреждённые листья выбраковывали. Соотношение числа изученных листьев в выборках представлено следующим образом: контрольный участок – 71, буферный – 80, импактный – 77 экз. Листья каждого побега гербаризировали отдельно, а затем сканировали с помощью планшетного сканера. При сканировании каждый лист берёзы помещали верхней стороной к источнику света в специальное окно над центральной областью стекла сканера, вырезанное в картонном накладном листе. На изображении листовой пластинки с помощью программы экранного дигитайзера tpsDig2 Ф. Дж. Рольфа (Rohlf, 2017b) на концах зубчиков, в которых заканчиваются жилки второго порядка, и структурных узлах жилок первого и второго порядка размещали 18 ландмарок (рис. 7.1), конфигурация которых характеризует изменчивость формы и отчасти расположения жилок листовой пластинки. Первые две ландмарки (1, 2), характеризующие осевую линию (рахис) листовой пластинки, при анализе флуктуирующей асимметрии не учитывали и в этом варианте расчётов они были вспомогательными. Расстановку меток-ландмарок проводили дважды для того, чтобы оценить случайную компоненту, внесенную оператором, а также индекс флуктуирующей асимметрии и его ошибку при смешанном двухфакторном дисперсионном анализе (Palmer, Strobeck, 1986; Palmer, 1994), где сторона листовой пластинки (Side) являлась фиксированным фактором, а «индивидуальный» лист рассматривали в качестве случайного фактора (Ind.).

Размеры листа берёзы косвенно оценивали по размеру его центроида (CS), а также по площади, вычисленной по полигону «внешних» ландмарок листа.

Расчёты методами геометрической морфометрии, включающие получение прокрустовых координат, выполнили методом генерализованного Прокрустова анализа (GPA), предложенного Ф. Дж. Рольфом (Rohlf, 1990, 1999; Rohlf, Slice, 1990). На основе полученных прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы листьев, в программе MorphoJ 1.6d (Klingenberg, 2011) провели смешанный двухфакторный дисперсионный анализ и канонический анализ. Уровень внутрigrуппового морфoразнообразия оценивали с помощью разработанного Дж. С. Дэвисом (1990) метода анализа паттерна рассеивания ближайших соседних точек (Nearest neighbour point pattern analysis), в пределах полигона изменчивости. Метод реализован К. Хаммером (Hammer, 2009) в программе PAST 2.17c (Hammer et al., 2001).

Оценку внутрigrуппового морфoлогического разнообразия проводили по значениям двух первых канонических переменных, которые были

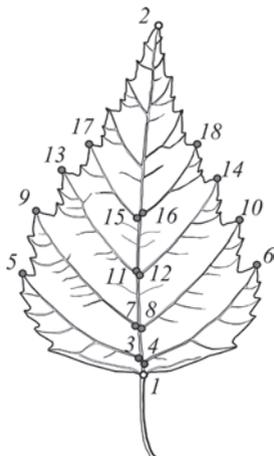


Рис. 7.1. Размещение меток-ландмарок (1–18) на верхней стороне листовой пластинки берёзы повислой (*Betula pendula* Roth.).

вычислены по прокрустовым координатам. В соответствии с этим методом оценивали отношение  $R$  значения наблюдаемой средней дистанции между ближайшими соседними ординатами ( $MNND$  — mean nearest neighbor distance) к величине ожидаемой средней дистанции ( $\mu$ ), полученной для полигона изменчивости на основе распределения Пуассона. Для расчёта показателя  $R$  автор метода предложил следующую формулу:

$$R = \frac{MNND}{\mu} = \frac{2MNND}{\sqrt{A/n}}$$

где —  $A$  — площадь полигона изменчивости (Convex hull),  $n$  — число объектов.

Если игнорируется краевой эффект рассеивания, то ожидаемое расстояние между ближайшими соседними точками можно рассчитать по формуле Дэвиса (1990):

$$\mu = 0.5\sqrt{A/n}.$$

Дисперсия выборки  $\sigma_{\mu}^2 = (4 - \pi)A / (4\pi \cdot n^2)$  после упрощения может быть вычислена по формуле:  $\sigma_{\mu}^2 = 0.06831 A / n^2$ . Соответственно стандартное отклонение среднего расстояния между ближайшими соседними ординатами будет вычисляться по формуле:  $s_{\mu} = 0.26136 / \sqrt{A/n^2}$ .

При условии  $n > 6$ , распределение  $MNND$  нормально (Дэвис, 1990), поэтому можно применить  $Z$ -критерий для проверки гипотезы о том, что на-

блюдаемое  $MNND$  равно значению  $\mu$  для случайного рассеивания точек той же плотности ( $A/n$ ). Критерий вычисляется по формуле:

$$Z = (MNND - \mu) / s_{\mu}$$

В данном случае, как уже отмечалось выше, предполагается, что краевой эффект полностью отсутствует, т.е. ординаты в ограниченном пространстве полигона изменчивости могут распространяться неограниченно во всех направлениях, что заведомо неверно. Наиболее типичным решением этой проблемы является краевая поправка, введённая К. П. Доннелли (Donnelly, 1978):

$$\mu = 0.5 \sqrt{A/n} + \left( 0.514 + 0.412 / \sqrt{n} \right) (p/n)$$

и

$$s_{\mu}^2 \sim 0.070 A/n + 0.035 p \sqrt{A/n^{3/2}}$$

Показатель  $R$  характеризует модель рассеивания ординат: при  $R < 1$  наблюдается кластеризация ординат, при  $R = 1$  случайное пуассоновское рассеивание, а при  $R > 1$  проявляется эффект сверхрассеивания (overdispersion). В последнем случае ( $R > 1$ ) увеличение значения  $MNND$  при анализе изменчивости формы объектов можно интерпретировать как возрастание внутригруппового морфоразнообразия (Hammer, 2009), а в случае использования методов геометрической морфометрии – веера траекторий морфогенеза (Васильев и др., 2013). При расчёте показателя  $MNND$  осуществили процедуру случайного разреживания или рарификации (rarefaction) выборок, приводя все выборки к равному минимальному объёму наблюдений ( $n = 25$ ).

Основатели «нумерической таксономии» П. Снит и Р. Сокэл (Sokal, Sneath, 1963; Sneath, Sokal, 1973) предложили формулы как для качественных, так и для количественных признаков, которые имеют общую метрику, и, хотя были разработаны для совершенно иных таксономических целей, очень хорошо подходят для решения нашей задачи и позволяют вычислить дисперсии общей асимметрии, которую мы обозначили  $TA^2$  и двух её компонент:  $DA^2$  – направленной и  $FA^2$  – флуктуирующей асимметрии. Формулы для подсчёта представляют собой так называемые формулы сравнения «размеров» и «формы» Пенроуза (см. Sneath, Sokal, 1973). Мы предложили использовать эти формулы в качестве нового метода для решения задач популяционно-феногенетического мониторинга (Васильев и др., 2006; Vasil'ev et al., 2008).

Для метрических и меристических признаков обозначим величины промеров или значения числа структурных элементов для признаков левой

стороны буквой  $s$  (от sinister — левый), а для правой —  $d$  (от dexter — правый).

Дисперсию общей асимметрии будем вычислять для каждого листа по формуле:

$$TA^2 = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r (s_i - d_i)^2,$$

где  $r$  — число признаков.

Дисперсия направленной асимметрии — будет вычислена по формуле:

$$DA^2 = \frac{1}{r^2} \left[ \sum_{i=1}^r (s_i - d_i) \right]^2.$$

Дисперсия флуктуирующей асимметрии, исходя из того, что  $TA^2 = DA^2 + FA^2$ , вычисляется следующим образом:  $FA^2 = TA^2 - DA^2$ . Эти формулы мы использовали также и по признакам для получения средних групповых оценок  $TA^2$ ,  $DA^2$  и  $FA^2$ .

Используем прокрустовы координаты для расчёта соответствующих евклидовых расстояний между антимерными ландмарками, которые будут взяты для вычисления дисперсии общей асимметрии формы листа и её компонент. Заметим, что отрицательные значения прокрустовых координат для антимерных ландмарок с чётными номерами (4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18) были взяты по модулю. Это позволяет осуществить процедуру виртуального перегибания листовой пластинки по осевой линии и условно совместить левую и правую половины листа. Поскольку процедура суперимпозиции конфигураций ландмарок, позволяющая получить прокрустовы координаты, включает нормировку по размеру центраида (этим можно избавиться от различий по размерам), появляется возможность оценивать флуктуирующую асимметрию по разности значений признаков на сторонах без дополнительной нормировки по размеру. Разность можно представить как дистанцию между антимерными ландмарками. Рассмотрим пример расчёта одной такой дистанции на примере ландмарок 3 и 4, которые являются первыми антимерными метками. Значения прокрустовых координат  $X_3$ ,  $Y_3$ ,  $X_4$  и  $Y_4$  для произвольно взятого листа подставляются в простую и хорошо известную формулу для вычисления евклидовой дистанции:

$$D = \sqrt{(X_3 - X_4)^2 + (Y_3 - Y_4)^2}$$

Такие дистанции вычисляются для всех пар антимерных ландмарок, с помощью их прокрустовых координат. Полученная дистанция между левой и правой антимерными ландмарками будет эквивалентна разности  $D = (s_i - d_i)$ , приведённой выше в формулах. При вычислении дисперсии общей асим-

метрии  $TA^2$  и её компонент — направленной  $DA^2$  и флуктуирующей  $FA^2$  асимметрии — по отдельным листьям в нашем случае использовали  $g = 8$  признаков — по числу пар билатеральных антимерных ландмарков. Аналогично для выборочной суммы квадратов разностей расчёт производится тоже по 8 признакам.

При расчётах мы подразделили асимметричность листьев на три типа: трансляционную, билатеральную и обобщённую. Трансляционная асимметричность (см. Корона, Васильев, 2007) обусловлена неодинаковым местом ответвления левых и правых жилок первого порядка от осевой жилки (рахиса). Билатеральная асимметричность определяется по степени совмещения ландмарков на наружных концах жилок первого порядка левой и правой половин листа. Обобщённая асимметричность представляет собой суммирование дисперсий трансляционного и билатерального типов асимметричности. Поскольку трансляционная асимметричность характеризует асинхронность закладки жилок первого порядка в морфогенезе листа, этот тип позволяет оценить дестабилизацию развития листа на его ранних стадиях. Билатеральная асимметричность представляет собой в большей мере характеристику поздних стадий морфогенеза и активного роста листовой пластинки. Обобщённая асимметричность даёт суммарную оценку дестабилизации развития по величинам дисперсий общей, направленной и флуктуирующей асимметрии.

Полностью исключить из дисперсии флуктуирующей  $FA^2$  асимметрии компоненту антисимметрии, вероятно, невозможно (Palmer, 1994). В частности, антисимметрия будет нормой при оценке асимметрии формы листа, например, у вяза (*Ulmus glabra* Huds.). Учесть влияние антисимметрии и её присутствие можно разными и не всегда простыми способами, например, с помощью трёхфакторного дисперсионного анализа (см. Palmer, 1994), хотя определить наличие антисимметрии в выборке можно и достаточно простым способом. Можно, например, вычислить половинные обратные значения коэффициентов корреляции по отдельным билатеральным признакам в выборке:  $An = (1 - r)/2$ . В этом случае обратная величина коэффициента корреляции пропорциональна величине флуктуирующей асимметрии. Максимальная величина ФА будет наблюдаться при коэффициенте корреляции пар значений признака левой и правой сторон, равном нулю.

Известно, что коэффициент корреляции не позволяет точно оценить уровень флуктуирующей асимметрии (Захаров, 1987), в то же время отрицательный коэффициент корреляции может указывать на возможность проявления антисимметрии — величина  $An$  будет варьировать от 0 до 1: при коэффициенте корреляции  $r = +1.0$  значение  $An = 0$ , а при  $r = -1.0$  величина

$An = 1$ . Если корреляция между антимерными признаками отсутствует и  $r = 0$ , то соответственно  $An = 0.5$ . Поэтому только при  $An > 0.5$  возникает необходимость оценивать влияние антисимметрии и её значимость.

Вычисления коэффициентов корреляции между антимерными прокрустовыми координатами (например,  $X_3$  и  $X_4$ ,  $Y_3$  и  $Y_4$ ) мы проводили как по отдельным выборкам, так и в целом по обобщённой выборке. В наших расчётах по изученным выборкам листьев берёзы мы не встретили ни одного случая, когда величина  $An$  приблизилась к значению 0.5 или превысила его: она колебалась от 0.02 до 0.38. Таким образом, влиянием антисимметрии в данном случае можно осознанно пренебречь.

Наибольшие размеры центроида листьев берёзы обнаружены на контрольном участке, наименьшие — на импактном, а промежуточные — на буферном участке (рис. 7.2). Сравнение размеров листьев по величине размера центроида CS позволило с помощью однофакторного дисперсионного анализа выявить значимые межгрупповые различия между тремя выборками: контрольной, буферной и импактной ( $F = 43.33$ ; d.f. = 2; 227;  $p < 0.0001$ ). У сравниваемых выборок с помощью теста Левене обнаружено неравенство дисперсий ( $p = 0.0029$ ). Поэтому для получения корректной оценки межгрупповых различий между средними значениями размера центроида (CS) при неравных дисперсиях использовали F-тест Уэлша, который подтвердил значимость возрастания размеров листовой пластинки ( $F = 41.46$ ; d.f. = 145;  $p < 0.0001$ ). Таким образом, предварительно можно сделать вывод о том, что на импактном участке наблюдается существенное подавление роста листьев по сравнению с контрольным.

Поскольку размер центроида иногда положительно связан с изрезанностью формы объекта, мы решили также оценить площадь листа по конфигурации внешних ландмарок, без учёта тех, которые расположены вблизи осевой жилки. В результате для трёх сравниваемых участков получены следующие значения площади листовой пластинки с учётом стандартных ошибок: контрольный —  $39880.2 \pm 1176.1$ ; буферный —  $30436.6 \pm 779.5$ ; импактный —  $24576.8 \pm 664.1$  пикс<sup>2</sup>. Однофакторный дисперсионный анализ и в этом случае выявил значимые межгрупповые различия ( $F = 74.16$ ; d.f. = 2, 463;  $p < 0.0001$ ). Тест Левене показал, что дисперсии выборок неоднородны ( $p < 0.0001$ ). Интересно отметить, что наибольшая дисперсия площади листа наблюдается на контрольном участке, а наименьшая — на импактном (отношение дисперсий при этом составило 2.89). Поскольку дисперсии выборок не равны, мы применили для множественного сравнения средних значений площади листа F-тест Уэлша, который подтвердил высокую значимость различий ( $F = 66.51$ ; d.f. = 284;  $p < 0.0001$ ). Следовательно, площадь

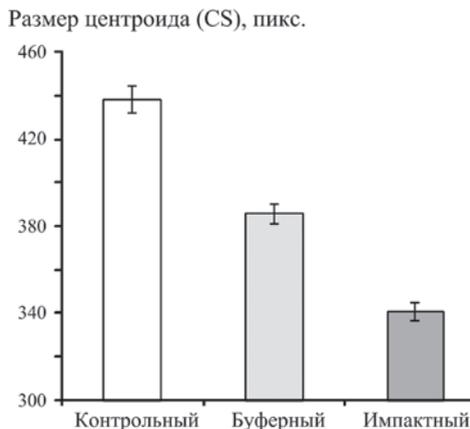


Рис. 7.2. Сравнение размеров центроида ( $CS \pm SE$ ) листьев берёзы повислой в контрольной, буферной и импактной выборках деревьев из зоны техногенного загрязнения СУМЗа.

листа берёзы в направлении увеличения техногенного воздействия от контрольного к импактному участку не только значительно уменьшается, но снижается и её вариабельность. Другими словами, на импактном участке, как и на буферном, где средняя площадь и значение дисперсии близки к таковым для импактного участка, формируются стабильно мелкие листья, а ростовые процессы угнетены.

В первую очередь мы проанализировали с помощью метода главных компонент изменчивость формы листьев по прокрустовым координатам (табл. 7.1). Дисперсия, объясненная первыми тремя главными компонентами, составила 70.9% от общей, т.е. достаточно полно характеризует изменчивость формы листьев, а почти 50% дисперсии объясняет первая главная компонента.

Из таблицы видно, что различия между сравниваемыми выборками проявились по каждой из главных компонент. Выборка листьев контрольного участка по всем трем осям значительно отличается от остальных. Своеобразие формы листьев из выборки импактного участка в наибольшей степени проявляется вдоль первой главной компоненты.

Визуализация направлений изменчивости формы листьев в сравниваемых выборках берёзы вдоль первых трёх главных компонент и взаимное размещение центроидов выборок в общем морфопространстве, образованном этими компонентами, представлены на рис. 7.3. Хорошо видно, что центроиды всех выборок удалены друг от друга в общем морфопространстве и

Таблица 7.1. Результаты сравнения формы листьев берёзы повислой методом главных компонент между выборками контрольного, буферного и импактного участков в зоне влияния СУМЗа

Сравниваемые участки и дисперсии	Главные компоненты		
	PC1	PC2	PC3
Контрольный	0.0238 ± 0.0059	-0.0200 ± 0.0034	0.0135 ± 0.0030
Буферный	0.0125 ± 0.0073	0.0125 ± 0.0034	-0.0041 ± 0.0032
Импактный	-0.0350 ± 0.0070	0.0055 ± 0.0027	-0.0081 ± 0.0031
Собственное число	0.007662	0.001707	0.001554
Доля дисперсии, %	49.7	11.1	10.1
Число листьев	71	80	77

значимо различаются, поскольку стандартные ошибки (*SE*) центроидов взаимно не перекрываются. По схематическим конфигурациям листьев вдоль осей, которые характеризуют экстремумные состояния формы вдоль каждой главной компоненты, можно заключить, что на контрольном участке преобладают листья в виде треугольника с заострённой и вытянутой вершиной. Для импактного участка типичны листья округлой формы с уплощённой верхушкой, а на буферном участке образуются листья промежуточного типа с укороченной верхушкой, но вытянутой базальной частью.

Представляло интерес оценить влияние аллометрии на изменение формы листьев на сравниваемых участках. Для этой цели мы оценили корреляцию логарифма размера центроида и первой главной компоненты формы. Коэффициент корреляции Пирсона оказался невелик, но статистически значим ( $r = 0.22$ ;  $p < 0.0001$ ), поэтому аллометрические эффекты в данном случае присутствуют, и изменения формы отчасти связаны с изменением общих размеров листовой пластинки. Для более точной оценки мы провели расчёт регрессии значений первой главной компоненты с логарифмом размера центроида. В результате расчётов доля дисперсии, предсказывающей изменение формы, составила 5.97% от общей дисперсии. Несмотря на то, что эта доля невелика, перестановочный (permutation) тест опроверг нулевую гипотезу об отсутствии зависимости формы от размеров на высоком уровне значимости ( $p < 0.0001$ ). Таким образом, аллометрическая зависимость формы и размеров листа проявляется, но вносит относительно небольшой вклад в изменчивость формы листьев разных участков.

Мы оценили устойчивые межгрупповые различия по форме листьев на сравниваемых участках как по выборкам листьев, так и по выборкам деревьев. Напомним, что канонический анализ основан на максимизации

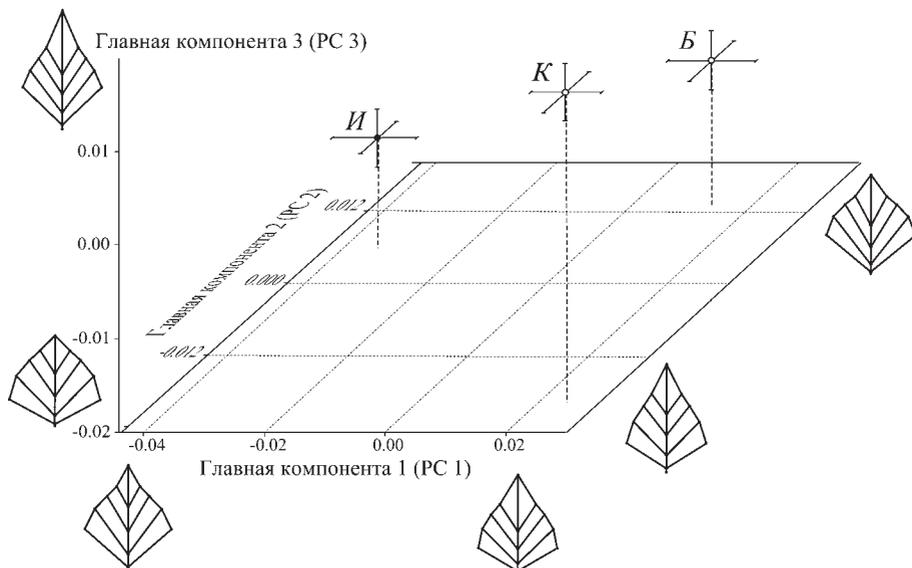


Рис. 7.3. Ординация методом главных компонент центроидов ( $\pm SE$ ) выборок листьев берёзы повислой из трёх сравниваемых участков (*К* – контрольный, *Б* – буферный, *И* – импактный) и схематичные конфигурации листьев, соответствующие экстремумным (минимальным и максимальным) значениям каждой компоненты (PC1–PC3).

отношения межгрупповой дисперсии к внутригрупповой, т.е. использует маловарьирующие (устойчивые), но хорошо различающие сравниваемые группы фенотипические черты. Поэтому мы использовали канонический анализ для выявления межгрупповых устойчивых различий по форме листьев, т.е. по их характерным морфогенетическим особенностям. В итоге канонического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы листа, выявлены значимые различия по конфигурации листовой пластинки между всеми сравниваемыми выборками (рис. 7.4).

Следует подчеркнуть, что расчёты проводили по симметричной компоненте изменчивости формы, исключив асимметричную составляющую, используя возможности программы MorphoJ (Klingenberg, 2011). Различия вдоль обеих канонических осей оказались статистически значимыми. Вдоль первой канонической переменной (75.5% межгрупповой дисперсии) выражены отчётливые различия между контрольной и импактной выборками по форме листа. По приведённым на рис. 7.4 схематичным конфигурациям ландмарков, которые соответствуют форме объектов для крайних значений

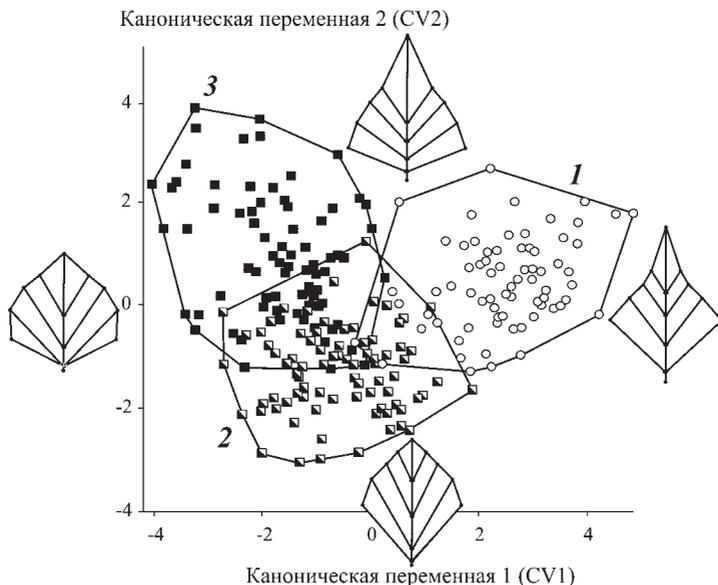


Рис. 7.4. Результаты канонического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы листа берёзы из трёх участков (1 — контрольный, 2 — буферный, 3 — импактный) в зоне влияния СУМЗа. Схематические конфигурации листа соответствуют экстремальным — минимальным и максимальным — значениям канонических переменных (CV1, CV2).

ординат вдоль соответствующих канонических осей, хорошо видно, что листья в контрольной выборке имеют треугольную форму с вытянутой и заострённой верхушкой, а в импактной, напротив, округлую, с уплощённой вершиной. Вдоль второй канонической переменной (23.5% дисперсии) проявилось своеобразие формы листьев из выборки буферного участка. Форма листьев этой выборки близка к таковой у импактной, но отличается вытянутостью базальной части листовой пластинки (см. рис. 7.4).

Полигоны изменчивости формы листьев контрольной и импактной выборок почти разобщены в морфопространстве, частично трансgressируя по ближним краям, а полигон изменчивости выборки из буферного участка занимает промежуточное положение, отчасти перекрывается с двумя другими, но смещён относительно них в направлении отрицательных значений CV2. Поэтому можно заключить, что листья берёзы контрольного, буферного и импактного участков существенно различаются по форме, причём наибольшие различия проявляются между листьями контрольного

и импактного участков. Всё это косвенно указывает на переключение морфогенеза листовых пластинок в зависимости от пороговой величины токсического воздействия.

Также интересно было сравнить изменчивость усреднённой формы листьев для отдельных деревьев в пределах участков. Результаты сравнения средних значений канонических переменных с учётом стандартных ошибок для отдельных деревьев, произрастающих на трёх участках (рис. 7.5), свидетельствуют о том, что разброс центроидов отдельных деревьев по форме листа тесно связан с конкретными выборками: в контрольной группе деревьев межиндивидуальные различия формы минимальны, наибольший разброс проявляется в группе деревьев буферного участка и достаточно высокий уровень рассеивания центроидов деревьев характерен для импактной группы. Это свидетельствует о том, что модификационное переключение морфогенеза листьев на разных по степени токсического воздействия участках происходит также и на уровне локальных групп деревьев.

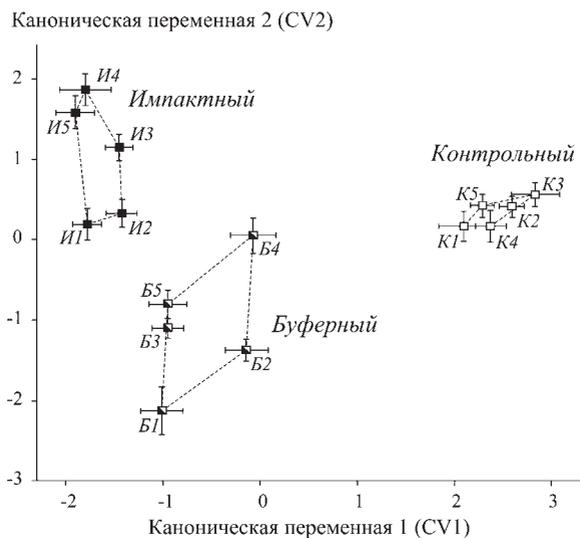


Рис. 7.5. Ординация средних значений канонических переменных с учётом их стандартных ошибок ( $SE$ ) для отдельных деревьев берёзы (1–5), произрастающих на трёх участках;  $K$  – контрольном,  $B$  – буферном,  $I$  – импактном.

Кластерный анализ (UPGMA) средних значений первых двух канонических переменных для серий пяти деревьев на каждом участке представ-

лен на рис. 7.6. Структура кластера показывает, что наиболее своеобразной по форме листа группой деревьев является контрольная, а буферная и импактная группы расположены относительно ближе друг к другу. В пределах каждого субкластера все деревья безошибочно объединяются в группу своего участка произрастания. Последнее косвенно указывает на выработку у деревьев каждого участка специфичной модификации морфогенетической программы для развития листовых пластинок.

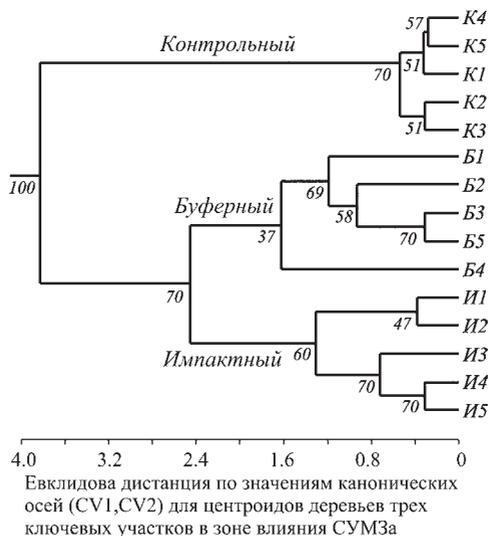


Рис. 7.6. Результаты кластерного анализа (UPGMA) средних значений первых двух канонических переменных для серий пяти деревьев (1–5) берёзы повислой на контрольном (К), буферном (Б) и импактном (И) участках в зоне техногенного воздействия СУМЗа.

В этой связи интересен другой аспект исследования, связанный с оценкой проявления флуктуирующей асимметрии формы листа в сравниваемых группах. Хорошо известно, что воздействие на процесс развития негативных условий среды может приводить к возрастанию индекса флуктуирующей асимметрии, который рассматривается как показатель стабильности развития (Захаров, 1982, 1987; Palmer, Strobeck, 1986; Klingenberg, McIntaire, 1998). Для решения этой задачи в соответствии с рекомендациями Р. Палмера (Palmer, 1994) мы применили смешанный двухфакторный дисперсионный анализ прокрустовых координат, использующий случайную (предиктор «Лист», Ind) и фиксированную (предиктор «Сторона листа», Side) переменные (табл. 7.2).

Таблица 7.2. Результаты смешанного двухфакторного дисперсионного анализа прокрустовых координат, характеризующих форму листа берёзы, для факторов «Лист» (Ind), «Сторона» (Side) и их взаимодействия (Ind x Side), отражающего уровень флуктуирующей асимметрии формы листа на контрольном, буферном и импактном участках в зоне влияния СУМЗа

Источник изменчивости	Сумма квадратов	Число степеней свободы (d.f.)	Средний квадрат	F	Уровень значимости
<i>Контрольный участок</i>					
Лист (Ind)	1.201019	1120	0.001072	3.31	$p < 0.0001$
Сторона (Side)	0.003764	16	0.000236	0.73	$p = 0.7649$
Ind x Side	0.362849	1120	<b>0.000324</b>	56.87	$p < 0.0001$
Ошибка	0.012943	2272	0.000006		
<i>Буферный участок</i>					
Лист (Ind)	1.888963	1264	0.001494	3.49	$p < 0.0001$
Сторона (Side)	0.008287	16	0.000512	1.19	$p = 0.2658$
Ind x Side	0.542005	1264	<b>0.000429</b>	33.56	$p < 0.0001$
Ошибка	0.032711	2560	0.000013		
<i>Импактный участок</i>					
Лист (Ind)	1.558140	1216	0.001281	4.07	$p < 0.0001$
Сторона (Side)	0.002523	16	0.000158	0.50	$p = 0.9480$
Ind x Side	0.383150	1216	<b>0.000315</b>	24.91	$p < 0.0001$
Ошибка	0.031172	2464	0.000013		

Следует пояснить, что в данном случае лист берёзы проявляет билатеральную симметрию как целый объект (object symmetry), а не составной объект (matched object) по терминологии Клиндженберга с соавт. (Klingenberg et al., 2002), что, например, наблюдается при изучении симметрии/асимметрии парных левых и правых крыльев насекомых.

Согласно К. Клиндженбергу и Г. Макинтайпу (Klingenberg, McIntyre, 1998), реализовавшим подход Р. Палмера для геометрической морфометрии, взаимодействие факторов (Ind x Side) представляет меру проявления дисперсии флуктуирующей асимметрии (FA). Р. Палмер (Palmer, 1994) подчеркнул, что, поскольку существуют повторности расстановки ландшафтных маркеров для каждого объекта, которые необходимы для оценки ошибки измерения, дисперсия взаимодействия факторов (Ind x Side) содержит только половину величины флуктуирующей асимметрии (FA/2). Кроме FA/2, взаимодей-

стве факторов может также характеризовать антисимметрию как другую компоненту случайной ненаправленной асимметрии. Антисимметрия представляет собой явление отрицательной корреляции сторон, при которой не проявляется направленная асимметрия. Это явление на практике встречается крайне редко. Только однажды нам удалось выявить значимую отрицательную корреляцию проявления фена «увеличенное лобное отверстие» на левой и правой сторонах черепа большеухой полёвки (*Alticola macrotis*): фен проявлялся либо слева, либо справа и лишь изредка с обеих сторон черепа были нормальные по размеру отверстия.

Фиксированный фактор «Сторона листа» (Side) характеризует величину направленной асимметрии, случайный фактор «Лист» (Ind) отражает меру индивидуальных различий в форме отдельных листьев. Из табл. 7.2 видно, что максимальное значение взаимодействия факторов (Ind x Side) проявилось в выборке из буферного участка, а в выборках из контрольного и импактного участков эти величины оказались близкими. Собственно величина флуктуирующей асимметрии в этих случаях будет равна величине дисперсии взаимодействия, умноженной на 2 (Palmer, 1994).

Значимость флуктуирующей асимметрии (при отсутствии влияния антисимметрии) оценивается отношением среднего квадрата взаимодействия к величине среднего квадрата ошибки измерения. Для оценки значимости других факторов используют величину среднего квадрата их взаимодействия, используя последнюю как стандартную ошибку. В данном случае для всех трёх участков величина FA является значимой, как и дисперсия индивидуальных различий между листьями. Дисперсия направленной асимметрии, соответствующая фиксированному фактору «Сторона листа» (Side), на всех трёх участках статистически незначима. Таким образом, только на буферном участке наблюдается существенное возрастание уровня флуктуирующей асимметрии, который косвенно отражает нестабильность развития листьев берёзы. Тот факт, что на импактном участке такого возрастания FA не наблюдается, противоречит существующим представлениям о тесной связи уровня флуктуирующей асимметрии со степенью влияния техногенных поллютантов на процесс развития (Захаров, 1987; Zakharov, 1992).

Чтобы прояснить природу этого неожиданного явления, мы проанализировали асимметричную компоненту изменчивости прокрустовых координат, используя такую возможность в программе MorphoJ. Канонический анализ, проведённый по асимметричной компоненте изменчивости формы листьев, не выявил существенных различий между участками, т.е. было установлено, что случайные различия формы левой и правой сторон листа не позволяют различить сравниваемые группы.

Схематичные конфигурации листьев, соответствующие экстремумным значениям первой канонической переменной  $CV1$ , приведены в нижней части рис. 7.7. Видно, что это две асимметричные конфигурации листовой пластинки.

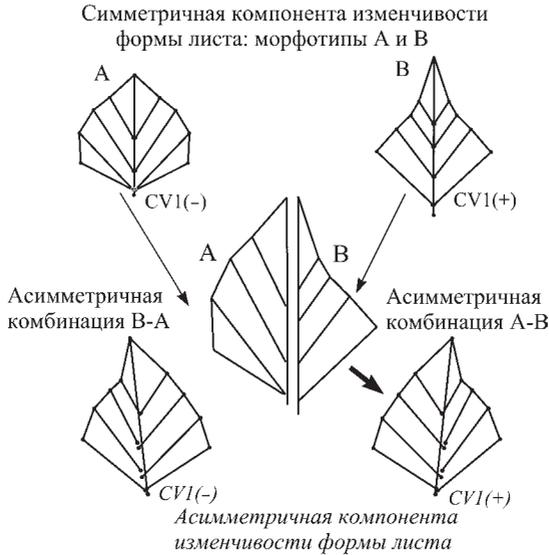


Рис. 7.7. Гипотетическая модель формирования асимметричных конфигураций листовых пластинок берёзы, объясняющая возрастание уровня флуктуирующей асимметрии на буферном участке и стабилизацию развития листьев на контрольном и импактном участках. Вверху размещены морфотипы листовой пластинки берёзы, характерные для контрольного (А) и импактного (В) участков, соответствующие экстремальным значениям первой канонической переменной  $CV1(-)$  и  $CV1(+)$  для симметричной компоненты изменчивости формы; внизу изображены аналогичные конфигурации листа, соответствующие экстремумам первой канонической переменной  $CV1(-)$  и  $CV1(+)$  для асимметричной компоненты изменчивости формы; в центре расположена модель листовой пластинки, представляющая асимметричную комбинацию элементарных морфогенетических траекторий, ведущих к независимой реализации морфотипов А и В на разных сторонах листа; стрелки соединяют исходные морфотипы и одноименные конфигурации левой и правой сторон (половин) модельного листа; жирная стрелка указывает на сходство модельного морфотипа с заведомо асимметричным морфотипом.

В верхней части рисунка изображены две экстремумные конфигурации листа — морфотипы, которые типичны для берёз, произрастающих на импактном (А) и контрольном (В) участках. Поскольку варианты строения

листьев типичны для каждого участка, т.е. отражают особенности протекания их морфогенеза, то конечные состояния формы представляют собой окончания определённых морфогенетических траекторий, приводящих к морфотипам А и В. На рис. 7.7 морфотипы А и В представляют собой конечные состояния, к которым приводят морфогенетические траектории на импактном и контрольном участках. Подчеркнём, что эти изображения были получены при каноническом анализе симметричной компоненты формы (см. рис. 7.4). Кроме того, ещё раз отметим, что листья морфотипа А представляют собой вытянутые кверху треугольники, а листья В имеют округлую форму с укороченной верхушкой листа. Можно условно разделить левую и правую половины листовой пластинки морфотипов А и В как конечные состояния элементарных морфогенетических траекторий, а затем скомбинировать их в виде единого листа в виде морфотипа АВ, как это представлено в центре рис. 7.7. Получившаяся комбинация является асимметричной, представляя собой сочетание конечных элементарных морфогенетических траекторий А и В. Стрелки на рисунке указывают соответствие элементарных морфогенетических траекторий, ведущих к двум состояниям формы листа (А, В): левая половинка формирует половину вытянутого кверху треугольника, а правая имеет округлую форму, что и делает весь модельный лист асимметричным. На рисунке также хорошо видно, что данная конфигурация листа почти идентична форме асимметричной листовой пластинки, которая получена с помощью канонического анализа по асимметричной компоненте изменчивости формы (жирной стрелкой указано соответствие модельного морфотипа АВ данной экстремальной асимметричной форме — CV1(+)).

Исходя из этой модели, можно предположить, что на буферном участке, где уровень техногенного загрязнения ниже, чем на импактном, но значительно выше, чем на контрольном, степень воздействия на морфогенез листа не всегда достигает порогового уровня, приводящего к строгому переключению траектории развития на альтернативную: на одной стороне листа развитие может пойти по пути А, а на другой — в направлении В. Таким образом, флуктуирующая асимметрия формы листа может возрасти, что и наблюдается на практике на буферном участке. Тем не менее, если анализировать только симметричную компоненту изменчивости, такие асимметричные вариации будут «механически» исключены из анализа, и форма листьев на буферном участке будет стремиться к конфигурации, показанной на рис. 7.4 в его нижней части в направлении CV2(-).

В рассмотренной выше модели смешанного двухфакторного дисперсионного анализа при оценке уровня флуктуирующей асимметрии используется

величина дисперсии взаимодействия факторов («Лист» x «Сторона»), которая может содержать не только проявление флуктуирующей асимметрии, но и антисимметрии. Поэтому мы решили оценить компоненты общей, направленной и флуктуирующей асимметрии более строго, используя разработанный нами ранее метод декомпозиции общей асимметрии (Васильев и др., 2006).

Результаты оценок дисперсий общей, направленной и флуктуирующей асимметрии для разных типов асимметричности листа и принадлежности к выборкам берёзы, произрастающей на трёх сравниваемых участках в зоне техногенного влияния СУМЗа (табл. 7.3) показывают, что наибольший уровень дестабилизации развития по величинам дисперсий  $TA^2$ ,  $DA^2$  и  $FA^2$  проявился на буферном участке. Это хорошо согласуется с результатами смешанного двухфакторного дисперсионного анализа, рассмотренными выше, хотя имеется и новая информация: доля дисперсии направленной асимметрии в контрольной и буферной выборках существенно ниже, чем флуктуирующей асимметрии (см. табл. 7.3). Однако в импактной выборке дисперсия направленной асимметрии в несколько раз выше, причём в большей мере это касается компоненты билатеральной асимметричности, где доля  $DA^2$  достигает 30%.

Интересно отметить, что соотношение величин дисперсий  $FA^2$  формы листа для трансляционной и билатеральной асимметричности на импактном участке оказалось противоположным тому, которое наблюдается на контрольном и буферном участках. На последних участках она выше для компоненты билатеральной асимметричности, а в импактном, напротив, дисперсия  $FA^2$  выше для компоненты трансляционной асимметричности. Последнее косвенно указывает на то, что на импактном участке, несмотря на относительно низкий общий уровень асимметрии, который сопоставим с уровнем для контрольного участка, наблюдается нарушение морфогенеза листьев. Это выражается в том, что наблюдаются ранняя дестабилизация развития, связанная с закладкой и отхождением жилок первого порядка от осевой жилки (трансляционная компонента), а также тенденция к проявлению поздней морфогенетической дестабилизации листа, выраженной в многократном возрастании дисперсии направленной асимметрии (билатеральная компонента).

На буферном участке проявляется возрастание общей асимметричности за счёт дисперсии флуктуирующей асимметрии, а не за счёт вклада направленной асимметрии. Причём это проявляется как на раннем, так и на позднем этапах морфогенеза листа.

Оценку внутригруппового морфотипообразования мы провели двумя способами: во-первых, по значениям канонических переменных ( $CV1-CV2$ )

Таблица 7.3. Оценка дисперсий общей, направленной и флуктуирующей асимметрии для разных типов асимметричности формы листа берёзы повислой на контрольном, буферном и импактном участках в зоне техногенного влияния СУМЗа.

Дисперсии асимметрии формы листа и их соотношение	Типы асимметричности формы листа		
	Трансляционная	Билатеральная	Обобщённая
Контрольный участок (n = 71)			
$TA^2$ – общая асимметрия	0.0730 ± 0.0043	0.0808 ± 0.0048	0.1538 ± 0.0091
$DA^2$ – направленная асимметрия	0.0049 ± 0.0003	0.0066 ± 0.0004	0.0115 ± 0.0006
$FA^2$ – флуктуирующая асимметрия	0.0681 ± 0.0039	0.0742 ± 0.0042	0.1423 ± 0.0081
Доля $DA^2$ от общей асимметрии, %	6.72	8.21	7.50
Доля $FA^2$ от общей асимметрии, %	93.28	91.79	92.50
Буферный участок (n = 80)			
$TA^2$ – общая асимметрия	0.1255 ± 0.0074	0.1339 ± 0.0079	0.2594 ± 0.0154
$DA^2$ – направленная асимметрия	0.0083 ± 0.0005	0.0094 ± 0.0005	0.0177 ± 0.0010
$FA^2$ – флуктуирующая асимметрия	0.1172 ± 0.0067	0.1245 ± 0.0071	0.2417 ± 0.0138
Доля $DA^2$ от общей асимметрии, %	6.59	7.01	6.81
Доля $FA^2$ от общей асимметрии, %	93.41	92.99	93.19
Импактный участок (n = 77)			
$TA^2$ – общая асимметрия	0.1092 ± 0.0065	0.0742 ± 0.0044	0.1834 ± 0.0109
$DA^2$ – направленная асимметрия	0.0167 ± 0.0009	0.0226 ± 0.0013	0.0393 ± 0.0022
$FA^2$ – флуктуирующая асимметрия	0.0925 ± 0.0053	0.0516 ± 0.0029	0.1441 ± 0.0082
Доля $DA^2$ от общей асимметрии, %	15.30	30.44	21.42
Доля $FA^2$ от общей асимметрии, %	84.70	69.56	78.58

методом анализа паттерна дистанций между ближайшими соседними точками в пределах полигонов изменчивости (Hammer, 2009); во-вторых, на основе классического метода М. Фута (Foote, 1993a; Zelditch et al., 2004), реализованного в программном модуле DisparityBox7 пакета IMP (Sheets, 2001; Sheets, Zelditch, 2012; Zelditch et al., 2013).

Результаты сравнения средних дистанций между ближайшими соседними ординатами ( $MNND$ ) в пределах каждого из трёх выборочных полигонов изменчивости вдоль первых двух канонических переменных ( $CV1$ ,  $CV2$ ) представлены на рис. 7.8. Для корректной межгрупповой оценки проведена процедура случайной рарификации (rarefaction) или разреживания числа дистанций между ближайшими соседними ординатами выборок ( $NND$ ), после которой все выборки имеют равные минимальные объёмы наблюдений.

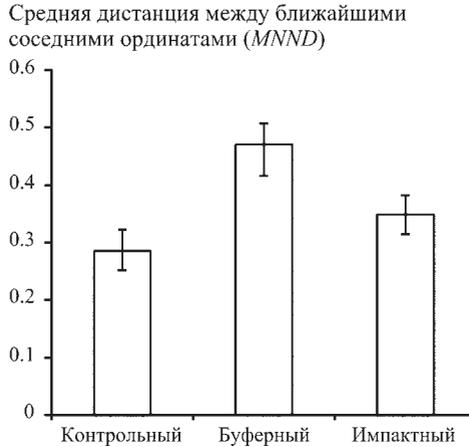


Рис. 7.8. Сравнение средних дистанций ( $MNND \pm SE$ ) между ближайшими соседними ординатами канонических переменных ( $CV1, CV2$ ) в пределах каждого из выборочных полигонов изменчивости формы листьев берёзы повислой.

Из рис. 7.8 отчётливо следует, что наибольшее внутригрупповое морфознообразие, которое оценивается величиной  $MNND$ , проявилось на буферном участке, а на контрольном и импактном участках этот уровень был значительно ниже. Примечательно, что уровни морфознообразия листьев на контрольном и импактном участках близки по величине и статистически не различаются. Увеличение показателя внутригруппового морфознообразия  $MNND$  отражает расширение веера морфогенетических траекторий, приводящих в данной группе к определённым морфологическим состояниям.

В табл. 7.4 приведены необходимые параметры для оценки моделей распределения точек в пределах полигона изменчивости каждой выборки. Следует отметить, что для листьев берёз на всех трёх участках наблюдается тенденция к преобладанию выявленных средних дистанций ( $MNND$ ) между ближайшими соседними ординатами над ожидаемыми ( $\mu$ ) дистанциями при случайном пуассоновском рассеивании, т.е. тенденция к сверхрассеиванию. Однако эффект сверхрассеивания (*overdispersion*) значительно проявился только для буферного участка ( $p = 0.0029$ ) и в виде отчётливой тенденции для импактного ( $p = 0.0309$ ). На контрольном участке рассеивание ординат носит случайный характер. Межгрупповое сравнение, проведённое с помощью однофакторного дисперсионного анализа, выявило значимые различия между выборками по  $MNND$  ( $F = 4.91$ ; d.f. = 2, 72;  $p = 0.01$ ).

Таблица 7.4. Оценка модели распределения ординат первых двух канонических переменных в полигонах изменчивости формы листьев контрольных, буферных и импактных выборок берёзы повислой на основе метода средних дистанций между ближайшими соседними ординатами (MNND) после процедуры рарефакции выборок

Сравниваемый участок	Средняя дистанция MNND	Ожидаемая дистанция $\mu$	R	Z	Уровень значимости
Контрольный (30 км от СУМЗа)	0.288	0.272	1.059	0.56	$p = 0.5744$
Буферный (3–5 км от СУМЗа)	0.473	0.351	1.348	2.98	$p = 0.0029$
Импактный (0.5–1 км от СУМЗа)	0.349	0.278	1.254	2.16	$p = 0.0309$

Примечание: После процедуры рарефакции (rarefaction) объёмы всех выборок – 25 экз.

Другой метод сравнения – оценка средней дистанции, основанная на формуле М. Фута (Foote, 1993a; Zelditch et al., 2004), характеризующей уровень внутригруппового морфоразнообразия (disparity), показал практически такое же соотношение для сравниваемых выборок (рис. 7.9).

В этом варианте сравнения наибольшее внутригрупповое морфоразнообразие также наблюдается у растений буферного участка, а наименьшее – на контрольном. На импактном участке показатель разнообразия близок к таковому у контрольной группы растений.

Таким образом, результаты анализа изменчивости и разнообразия формы листьев берёзы повислой, полученные на основе разных методов и подходов, на сравниваемых участках в градиенте техногенного воздействия СУМЗа свидетельствуют о том, что морфогенез листьев растений на буферном участке протекает нестабильно. При крайне низком техногенном воздействии на контрольном участке и при высоком – на импактном происходит пороговое переключение подпрограмм морфогенеза, ведущих к становлению двух разных морфотипов листьев: один морфотип (А) реализуется при высокой техногенной нагрузке (импактный участок), а второй (В) при низкой (контрольный участок). В буферной зоне при промежуточном уровне техногенного загрязнения среды реализуется веер разных сочетаний этих подпрограмм в морфогенезе листьев: в пределах одного листа на разных его сторонах могут реализоваться два разных морфотипа, а также иные формы листовой пластинки. Это приводит к возрастанию на буферном участке морфоразнообразия листьев и уровня флуктуирующей



Рис. 7.9. Оценка внутригруппового морфозаконообразования (disparity) листьев берёзы повислой по формуле М. Фуга (Foote, 1993b) на основе матрицы евклидовых дистанций между ординатами объектов, полученной по их прокрустовым координатам.

асимметрии его формы. Поэтому можно предположить, что морфогенетические программы развития листа у берёзы повислой отчасти преадаптированы к произрастанию в естественных неблагоприятных условиях среды, аналогичных искусственному техногенному загрязнению. Возможно, такие условия возникают у берёзы на территории естественных геохимических провинций с аномально высоким содержанием тяжёлых металлов. Затем эти исторически сформировавшиеся морфогенетические программы могут в латентной форме наследственно передаваться при скрещиваниях через череду поколений в другие части ареала. В соответствующих условиях развития, как нам представляется, такие программы могут быть активированы за счёт быстрых эпигенетических перестроек.

В заключение рассмотрим результаты анализа изменчивости структурных признаков листа у берёз в тех же выборках из трёх сравниваемых участков вблизи СУМЗа. В этих целях для каждого листа берёзы по каждому из первых четырёх ярусов жилок первого порядка, отходящих от осевой жилки (расчёт номера яруса производили снизу от основания листа к его вершине), выполнили подсчёт краевых жилок и зубчиков (рис. 7.10). Напомним, что по терминологии В. В. Короны (Корона, Васильев, 2007) такие зубчики и жилки называются дентально-венальными элементами, или сокращенно, с учётом правил русской транслитерации, — двелями. Двелярная

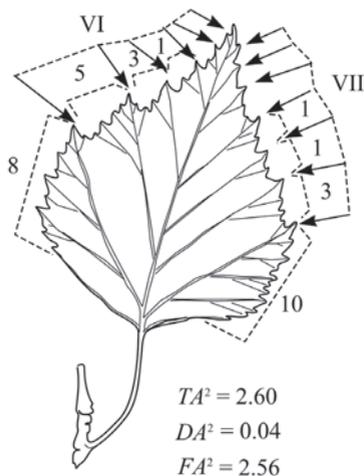


Рис. 7.10. Двелярная структура листа берёзы повислой и пример расчёта индивидуальной дисперсии асимметричности проявления двелов по первым четырём антимерным ярусам жилок. Стрелки — соответствующие антимерные ярусы жилок первого порядка (нумерация ярусов снизу вверх); штриховые линии ограничивают область подсчёта числа двелов второго и третьего порядков, проявившихся на соответствующем ярусе; арабские цифры — числа двелов второго и третьего порядков для первых четырёх ярусов; римские цифры — общее число ярусов жилок на одной стороне листа; внизу указаны величины дисперсии асимметричности двелярной структуры листа:  $TA^2$  — общей асимметричности;  $DA^2$  — направленной асимметрии;  $FA^2$  — флуктуирующей асимметрии.

структура в данном случае включает осевую жилку (рахис), а также жилки первого, второго и третьего порядков, оканчивающиеся соответствующими зубчиками по краю листовой пластинки. Подсчёт двелов вели отдельно для левой и правой сторон листовой пластинки (см. рис. 7.10).

Сначала подсчитывали все зубчики с входящими в них жилками — двелы второго и третьего порядков по нижнему краю листа до вершины первой жилки первого порядка (зубчик, образованный этой жилкой на её вершине, не учитывали). Затем отдельно определяли число двелов в соответствующих промежутках между первой и второй, второй и третьей, третьей и четвёртой жилками первого порядка. В этих случаях концевые двелы жилок первого порядка также не учитывали. На рисунке листовой пластинки (см. рис. 7.10) видно, что слева имеется 6 ярусов (жилок первого порядка), а справа — 7. Для первого яруса слева проявилось 8 двелов, а справа — 10, для второго яруса — слева 5 двелов, а справа — 3. Двелы могут принадлежать разным жилкам. На-

пример, на левой стороне листовой пластинки в указанные 5 двелов второго яруса входят один двел первой жилки (первого порядка) и 4 — второй жилки того же порядка. После подсчёта получаются четыре пары чисел двелов разных ярусов жилок и одна пара — число ярусов слева и справа. В итоге структурная симметрия/асимметрия края листа изучается по 5 признакам. Далее вычисляются разности между соответствующими значениями признаков для левой и правой сторон по каждому листу, а затем разности используются при вычислении индивидуальных величин дисперсий асимметрии. Расчёт дисперсий общей ( $TA^2$ ), направленной ( $DA^2$ ) и флуктуирующей ( $FA^2$ ) асимметрии проводили по приведённым выше формулам.

Мы сопоставили оценки, вычисленные для отдельных листьев (индивидуальных дисперсий) и отдельных признаков (числа ярусов и общего числа двелов для каждого яруса жилок) на примере листьев берёзы повислой в градиенте техногенного загрязнения СУМЗа (табл. 7.5). Видно, что величины дисперсий общей асимметричности ( $TA^2$ ) не различаются при разных способах вычислений. В то же время дисперсия направленной асимметрии по отдельным признакам может быть на один-два порядка меньше, чем при расчёте по листьям. Несколько ниже и величина дисперсии флуктуирующей асимметрии, вычисленной по листьям.

*Таблица 7.5. Сравнение дисперсий общей ( $TA^2$ ), направленной ( $DA^2$ ) и флуктуирующей ( $FA^2$ ) асимметрии чисел ярусов и двелов на листьях берёзы повислой в градиенте техногенной нагрузки СУМЗа по листьям и отдельным признакам*

Дисперсия асимметрии	Сравниваемые участки в зоне влияния СУМЗа					
	Контрольный		Буферный		Импактный	
	Лист	Признак	Лист	Признак	Лист	Признак
$TA^2$	0.4071	0.4071	0.7585	0.7585	1.2187	1.2188
$DA^2$	0.0814	0.0042	0.1790	0.0080	0.2743	0.0053
$FA^2$	0.3257	0.4029	0.5795	0.7505	0.9444	1.2135

Поскольку для нас важен не отдельный элемент структуры листа, а весь лист, можно заключить, что при традиционном подсчёте по отдельным признакам величина дисперсии флуктуирующей асимметрии несколько завышается, а направленной асимметрии существенно занижается. Заметим также, что обычно применяется показатель, отражающий величину общей асимметричности, а компоненты направленной и флуктуирующей асимметрии вообще не определяются и не дифференцируются.

Например, формула расчёта  $TA^2$  соответствует таковой для индекса  $FA5$ , как его обозначили Палмер и Стробек (Palmer, Strobeck, 1986; Palmer, 1994). Рассматривая достоинства и недостатки этого индекса, они замечают, что величина индекса теоретически должна смещаться при наличии направленной асимметрии или антисимметрии. При нашем подходе, дифференцируя вклады направленной и флуктуирующей асимметрии, мы можем оценить реальную величину  $FA$ , заранее зная, что дисперсия общей асимметричности всегда не равна дисперсии флуктуирующей асимметрии.

Поэтому можно ожидать лишь смещения величины  $FA$  за счёт явления антисимметрии — отрицательной корреляции значений на разных сторонах тела. Выше мы уже привели способ оценки проявления антисимметрии в виде формулы, позволяющей вычислять половинные обратные значения коэффициентов корреляции ( $An$ ) по отдельным билатеральным признакам в выборке. Так же, как и по форме листа, в наших расчётах по структурной изменчивости листьев берёзы мы не встретили ни одного случая, когда величина  $An$  приблизилась к значению 0.5 или превысила его: она колебалась от 0.08 до 0.31.

Ещё один важный аспект, который отмечает Дж. Палмер (Palmer, 1994) для индекса  $FA5$  (в нашем случае  $TA^2$ ), — возможность влияния на его величину фактора общих размеров. Однако для меристических признаков это влияние не должно быть сильно выражено. На материале по листьям берёзы повислой мы не обнаружили существенной связи индексов  $TA^2$  и  $FA^2$  с общими размерами листьев. Значения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена колебались для разных выборок от  $-0.19$  до  $0.14$ .

Таким образом, есть все основания использовать среднегрупповые величины дисперсий общей, направленной и флуктуирующей асимметрии ( $TA^2$ ,  $DA^2$  и  $FA^2$ ), вычисленные для листьев, а не отдельных признаков, для получения количественной несмещённой оценки стабильности структурогенеза листьев в градиенте влияния техногенных поллютантов. Как уже отмечалось, преимущество такого подхода состоит не только в вычленении компонент дисперсии флуктуирующей и направленной асимметрии, но и в возможности получить индивидуальные оценки этих компонент (в данном случае для отдельных листьев-метамеров растения). Область применения данного метода не ограничивается только листьями растений, он может быть использован также для меристических и метрических признаков животных.

Сравнение показателей  $FA$  двелярной структуры листьев на модельном примере в градиенте техногенной нагрузки в зоне влияния СУМЗа (см. табл. 7.5) показало, что наблюдается отчётливое возрастание асимметричности двелярной структуры листьев от контрольной выборки к импактной. При этом крайние значения дисперсий  $FA^2$  различаются втроекратно. Бу-

ферная выборка занимает строго промежуточное положение. Полученные нами оценки ФА в целом хорошо согласуются с литературными данными о величинах техногенного загрязнения для территорий, расположенных вблизи СУМЗа (Воробейчик, 2004).

Таким образом, исследования изменчивости размеров, формы и структуры жилкования (двелярной структуры) листовых пластинок берёзы повислой, произрастающей на трёх сравниваемых участках в градиенте техногенного загрязнения СУМЗа, показали, что от контрольного участка к импактному по мере возрастания загрязнения среды тяжёлыми металлами и иными техногенными поллютантами наблюдается статистически значимое угнетение роста листьев. Одновременно изменяется форма листовой пластинки как на уровне выборок листьев, так и по средним характеристикам формы листьев при сравнении на уровне деревьев. На буферном участке установлено значимое возрастание нестабильности морфогенеза, оцениваемого как по уровню флуктуирующей асимметрии, так и по проявлению внутригруппового морфозапнообразия формы листьев. Тем не менее, несмотря на относительно низкий уровень морфозапнообразия и ФА, особенность морфогенеза листьев импактного участка состоит в существенном возрастании доли дисперсии направленной асимметрии ( $DA^2$ ), связанной с асинхронностью закладки и взаимным смещением мест отхождения левых и правых жилок первого порядка от осевой жилки. При этом у растений импактного участка относительно стабильно реализуется определённый морфотип листа, отличный от того, который также стабильно реализуется в контроле. Последнее в совокупности с другими данными указывает на пороговое переключение морфогенетических программ в индивидуальном развитии листьев берёзы.

В то же время по изменчивости структурных признаков жилкования обнаружена иная картина. Дисперсия флуктуирующей асимметрии двелярных структур ( $FA^2$ ) в направлении от контрольного к импактному участку значимо возрастает, а дисперсия направленной асимметрии ( $DA^2$ ) на всех участках по этим признакам остается относительно стабильной: это позволяет отметить несколько важных аспектов.

Во-первых, можно утверждать, что три составляющие морфогенеза листа: размерогенез, морфогенез и структурогенез, как их определял В. В. Корона (Корона, Васильев, 2007), в случае берёзы повислой в градиенте техногенного воздействия СУМЗа отражают разные закономерности внутригрупповой и межгрупповой изменчивости и, по-видимому, слабо зависят друг от друга. Возможно, это обусловлено разными временами структурной закладки жилок, становления формы на левой и правой сторонах листа, а также роста листовой пластинки и её элементов. Во-вторых, структурные

(двелярные) признаки и анализ ростовых процессов, вероятно, наиболее эффективны при выявлении степени негативного воздействия загрязнения среды тяжёлыми металлами на рост и структурогенез листьев берёзы повислой. В-третьих, применение методов геометрической морфометрии позволяет оценить изменения морфогенеза и выявить характерные морфотипы листьев, формирующиеся в градиенте техногенного воздействия. В-четвёртых, следует учитывать возможности рассмотренных нами подходов и осознанно использовать их для достижения соответствующих научных целей. Использование только одного из подходов может дать, как мы это показали, специфичные для него результаты, при интерпретации которых это имеет принципиальное значение. Наконец, в-пятых, как любил говорить Н. В. Тимофеев-Ресовский, сочетание характеристик размерогенеза, морфогенеза и структурогенеза листьев дает наиболее полную картину при экологическом мониторинге состояния популяций берёзы и, вероятно, многих других видов растений в условиях техногенного загрязнения среды.

Таким образом, использование методов геометрической морфометрии для оценки стабильности морфогенеза листьев древесных растений, произрастающих в градиенте техногенного загрязнения, позволяет внести существенный вклад в разработку новой комплексной технологии регионального экологического мониторинга.

## **7.2. ПОПУЛЯЦИОННО-ЦЕНОТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ФОРПОСТНЫХ ГРУППИРОВОК РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ**

Изучение сопряженной изменчивости и/или морфоразнообразия ценопопуляций симпатрических видов, формирующих локальные таксоцены, позволяет, с одной стороны, оценить устойчивость их морфогенеза в разных ландшафтно-экологических и климатических условиях, а с другой, по их морфогенетическим реакциям приблизиться к пониманию организации и функционирования локального сообщества как двухуровневой иерархической системы (Алещенко, Букварёва, 2010). В условиях дополнительных экологических нагрузок, например, при резких эколого-климатических изменениях и/или высоком техногенном загрязнении среды, двухуровневая популяционно-ценотическая система межвидовых отношений должна проявляться более отчётливо. Форпостные группировки, испытывающие предельные для вида экологические нагрузки являются в этом отношении наилучшими моделями. Организация системы двухуровневого иерархического популяционно-ценотического мониторинга форпостных группировок предполагает введение особых методологических принципов. Нами предложены три общих принципа осуществления экологического мони-

торинга состояния локальных и региональных биотических сообществ/таксоценов: 1 — необходимость осуществления синтопного и синхронного анализа форпостных ценопопуляций и сообществ (таксоценов); 2 — обязательность применения популяционно-ценотического подхода, включающего сопряженный анализ изменчивости симпатрических видов; 3 — учёт соотношения внутри- и межгрупповой фенотипической пластичности и морфологического разнообразия (disparity) модельных симпатрических видов. Сочетание этих принципов позволяет количественно оценить степень морфогенетической реакции локальных и региональных ценопопуляций и таксоценов на негативные экологические воздействия, т.е. меру их морфогенетической устойчивости.

Ранее мы определили (Васильев, 2012), что форпостными считаются как периферические (краевые) группировки, так и те, которые формируются и длительно существуют в техногенно нарушенных (загрязнённых, повреждённых и изменённых) природных ландшафтах. Поэтому форпостные группировки (ФГ) следует разделить на три группы: естественные (маргинальные), техногенные (импактные) и смешанные (маргинально-импактные), населяющие граничные для жизни экологические условия, отягчённые влиянием сочетанного антропогенного фактора. Среди них следует выделить факультативные (временные, сезонные) и облигатные (присутствующие постоянно) форпостные группировки (Васильев, 2012; Васильев и др., 2017б).

Особый интерес представляют периодически формирующиеся сезонные форпостные группировки — генерации (когорты) у видов-эфемеров. Форпостными они могут быть названы как представители наиболее ранних и самых поздних сезонных когорт (генераций, поколений), которые сталкиваются с отклоняющимися от нормы экологическими условиями. К такой же категории относятся и «хронопопуляции» (например, генерации ряда насекомых или рыб), представители которых созревают в разные смежные годы и, несмотря на конспецифичность, в значительной мере генеративно изолированы. Сезонные и периодические массовые мигранты (массовые миграции леммингов, сезонная «фаза расселения» водяной полёвки, осёдлая и перелётная фазы у азиатской саранчи и др.), сталкивающиеся с новыми биотопами, также могут быть условно причислены к факультативным форпостным группам.

Если рассматривать структуру ареала видов и её динамику, связанную с комплексом природно-климатических и антропогенных воздействий на биоту, то можно предложить более детальную систему классификации форпостных ценопопуляций. Мы предлагаем форпостные фрагменты ареала вида подразделить на естественные и антропогенные.

Естественные фрагменты населения вида, в свою очередь, подразделяются на маргинальные, пионерные и реликтовые. Маргинальными популяциями являются такие, которые занимают пригодные для жизни вида краевые участки на пределах его распространения. Пионерные популяции могут возникать как временные или постоянные новые популяции за пределами обычного ареала вида (в эксклавах), возникшие относительно недавно благодаря небольшим или существенным изменениям климатической или биотической обстановки. Условный пример формирования естественных форпостных ценопопуляций, обитающих в высокогорьях приведен на рис. 7.11. Например, при длительных трендах изменения климатических условий может возникнуть возможность расширения ареала или отдельных выходов за его пределы. В частности, продвижение границы леса в высокогорье (см. рис. 7.11) и на север при длительном потеплении и увлажнении климата. В такой ситуации ниже по склону горы симпатрические виды сообщества формируют сначала пограничные, а затем габитуальные ценопопуляции, т.е. характерные для данного местообитания.



Рис. 7.11. Гипотетический пример формирования естественных форпостных, а также пограничных с ними и основных габитуальных ценопопуляций в высотном градиенте условий (штриховая линия разделяет форпостные и пограничные ценопопуляции).

Существуют также реликтовые форпостные популяции, обитающие в реликтовых биотических условиях и ландшафтах (анклавах), сохранившихся от прошедших эпох по тем или иным обстоятельствам (высота, особенности экспозиции или крутизна склонов гор). Обычно реликтовые ландшафты сохраняются на небольших территориях после смещения границ природных зон на юг, реже на север.

Антропогенные форпостные фрагменты ареала возникают как реакция вида на ту или иную деятельность человека, главным образом техногенное загрязнение среды. В результате человеческой деятельности могут возникать техногенные пустыни, приводящие к резкому изменению качества условий жизни локальной биоты: далеко не все исходно существовавшие на таких территориях виды способны по-прежнему жить в таких условиях, а также, лишь немногие виды способны внедриться и заселить такие участки территории. Поэтому антропогенные форпостные популяции можно подразделить на импактные, инвазионные и интродукционные. Импактными (рис. 7.12) являются популяции, которые ранее существовали на данной территории, но испытали, например, техногенное воздействие — техногенный удар — *technogenic impact* (от этого и происходит название импактный).

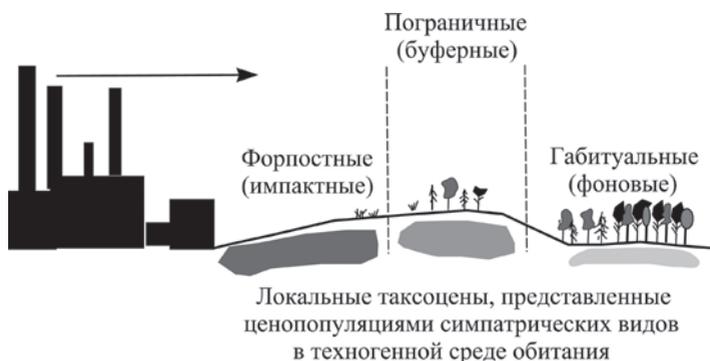


Рис. 7.12. Виртуальный пример формирования антропогенных форпостных — импактных, а также пограничных (буферных) и габитуальных (фоновых) ценопопуляций в составе соответствующих таксоценов в градиенте техногенного загрязнения среды (стрелка — направление от источника техногенного загрязнения среды обитания).

На схеме (см. рис. 7.12) представлен пример формирования антропогенных форпостных, пограничных и габитуальных ценопопуляций симпатрических близкородственных видов и объединяющих их таксоценов, которые также можно назвать импактными, буферными и фоновыми, как это обычно принято в экотоксикологии (Воробейчик и др, 1992; Воробейчик, 2004; Безель, 2006). Габитуальные или регулярные ценопопуляции в данном случае расположены на территориях, которые часто называют контрольными по отношению к импактным в отношении степени техногенного загрязнения тем или иным токсичным поллютантом.

Многие импактные популяции способны жить в измененной техногенной среде, но попадают в новые негативные экологические условия, которые вид в своей истории ещё не испытывал. Поэтому они, фактически, попадают в положение группировок, вышедших за пределы видовой нормы условий обитания, т.е. являются вынужденным аналогом естественных пионерных популяций. Среди антропогенных фрагментов ареала можно рассматривать территории, занятые новыми для данной территории чужеродными видами. Популяции таких внедрившихся на антропогенно измененную территорию видов, следует называть инвазионными форпостными популяциями. Часто такие естественно возникающие форпостные популяции сопряжены с первоначальной человеческой деятельностью по интродукции растений и животных, а затем самостоятельно агрессивно занимают подходящие для них импактные территории, преодолевая сопротивление ослабленных естественных сообществ, и даже вытесняют популяции многих местных видов. Характерны случаи проникновения и расселения отдельных инвазионных видов с помощью транспортных средств, железных и автомобильных дорог, благодаря случайному переносу вегетативных фрагментов — черенков, спор, семян, отдельных животных и т.д. Третьей категорией антропогенных форпостных групп следует считать интродукционные. Такие форпостные популяции связаны с деятельностью человека и формируются при попытках «улучшить» природные или хозяйственные свойства местной биоты за счёт искусственного внедрения привлекательных для человека чужеродных видов. К числу видов-интродуцентов, образовавших многочисленные интродукционные популяции, которые успешно внедрились в естественные сообщества, часто вытесняя из них аборигенных конкурентов, можно отнести: для млекопитающих — ондатру, енотовидную собаку, американскую норку; для рыб — леща, ротана; для растений — элодею, борщевик и др.

Все эти категории форпостных группировок за счёт массового отбора наиболее адекватных для данных условий онтогенетических вариантов, возникающих благодаря проявлению фенотипической пластичности, могут обеспечить постепенное расширение и изменение эволюционно-экологического потенциала не только географических видовых форм, но и ценопопуляций разных видов, формирующих экологически «краевые» сообщества естественной и техногенной природы.

Техногенное воздействие на природные биоценозы приводит к формированию ландшафтно-территориальных локалитетов, уникальных для эволюционной истории биоты. Возникают не только демулационные сукцессионные сдвиги, носящие временный «раневой» характер, но и образуются новые существенно изменённые техногенные ландшафты, например, зоны «техногенных

пустынь» (окрестности г. Карабаш в Челябинской обл. или г. Мончегорска в Карелии, зоны утечек нефти по трассам нефтепроводов в Западной Сибири и др.). С такими масштабами загрязнения обширных территорий необычными и часто токсичными техногенными поллютантами в больших концентрациях локальные биотические сообщества никогда не встречались и, как правило, в таких новых условиях сохраняются лишь их наиболее устойчивые форпостные фрагменты или отдельные толерантные виды.

Скорость внутривидовых фенотипических изменений при отсутствии естественного контроля со стороны природных сообществ может быть очень высокой, что наблюдается при формировании пород домашних животных и сортов культивируемых человеком растений за счёт бессознательного и направленного искусственного отбора (Drake, Klingenberg, 2010). Поэтому в техногенно измененной среде быстрые направленные морфогенетические перестройки импактных форпостных ценопопуляций являются в наши дни вполне реальным явлением (Васильев, Васильева, 2005; Васильев, 2009). Следовательно, при усилении техногенного воздействия изменяется не только видовой состав импактных форпостных сообществ, но, что более существенно, и их качественный состав, представленный быстро изменяющимися импактными форпостными ценопопуляциями видов-компонентов.

Основным подходом к выявлению степени устойчивости таких форпостных популяций и сообществ может быть длительный феногенетический и морфогенетический мониторинг, включающий использование методов популяционной феногенетики и фенетики, а также геометрической морфометрии. В последнем случае, речь действительно идёт об изучении проявлений морфогенетической изменчивости, поскольку применение методов геометрической морфометрии, описывающей варьирование формы объектов, исключая влияние их размеров, допускает по данным ряда авторов прямую морфогенетическую интерпретацию выявляемых различий (Sheets, Zelditch, 2013). При этом сравнение формы производится с приведением объектов к одним и тем же размерам, что дает возможность совмещать изображения морфоструктур разных видов по гомологичным меткам (landmarks) и изучать их изменчивость и морфоразнообразие (disparity) в общем морфопространстве.

Закономерности сопряженной изменчивости одних и тех же гомологичных морфологических структур у разных симпатрических видов, формирующих ценозы, изучены пока ещё недостаточно (Васильев и др., 2010). Данный аспект крайне важен при решении ряда проблем экологии, поскольку позволяет подняться с популяционного уровня изучения на ценотический уровень, т.е. рассматривать популяционно-ценотические проявления изменчивости (Violle et al., 2012; Букварёва, Алещенко, 2013; Vasil'ev et al., 2015).

Система организации популяционно-ценотического мониторинга для оценки состояния ценопопуляций симпатрических видов и локального таксоцена в целом представлена на рис. 7.13.

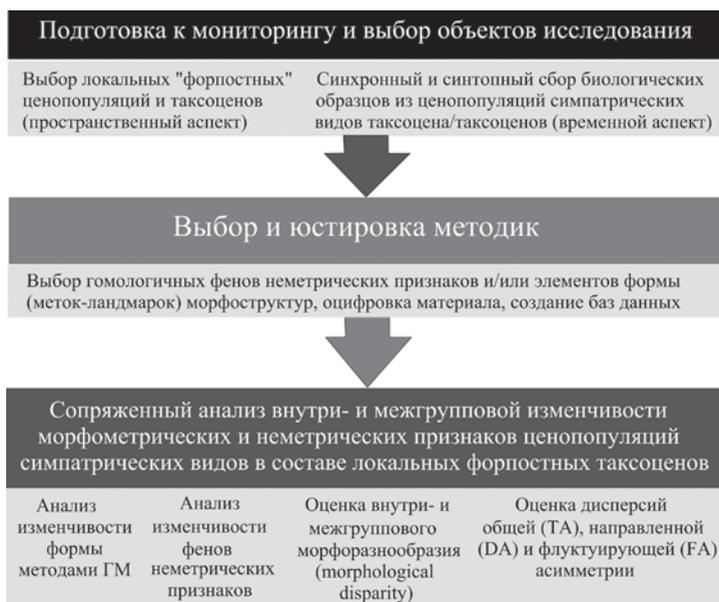


Рис. 7.13. Система популяционно-ценотического мониторинга.

Объектами при этом являются ценопопуляции, входящие в состав локального таксоцена. Более широкий анализ, включающий компоненты всего биотического сообщества, чрезвычайно затруднен, требует привлечения большого числа специалистов и в настоящее время практически неосуществим. Поэтому изучение фенотипической реакции фрагмента сообщества — таксоцена (являющегося его моделью) на длительное обитание в роли форпостной группы, представляет собой эффективный и операциональный подход. Фенотипическая реакция может быть оценена по различным проявлениям фенотипической пластичности.

Явление фенотипической пластичности (Schlichting, 1993; West-Eberhard, 2003, 2005) — разной морфогенетической реакции одного и того же генотипа на разные условия, т.е. проявление индивидуальной модификационной изменчивости, широко обсуждается в последние годы. Такой анализ осуществим, например, на листовых пластинках древесных рас-

тений, которые являются метамерными проявлениями индивидуальной фенотипической пластичности (Корона, Васильев, 2007). Для животных скорее подходят методы изучения флуктуирующей асимметрии, поскольку проявление тех или иных билатеральных признаков размеров, формы и структуры для левой и правой сторон тела также характеризует индивидуальную фенотипическую пластичность (Васильев и др., 2007). Поскольку анализ фенотипической пластичности осуществляется на групповом уровне, требуется получить выборки для каждого симпатрического вида, входящего в таксоцен.

Важным условием получения строгой количественной оценки фенотипической пластичности для ценопопуляций симпатрических видов является проведение синхронных и синтопных (в пределах одного биотопа, фации) сборов объектов для дальнейшего морфологического анализа. Полученные выборки должны быть статистически репрезентативными. Поскольку предполагается многолетнее (не менее 3-х лет) слежение за феногенетической и морфогенетической реакцией компонентов таксоцена, необходимо ежегодное получение данных в тот же сезон (месяц) в чередующихся годах наблюдений. Если важен сезонный аспект сбора данных, то он должен соблюдаться и в разные годы. Прослеживание сезонной и межгодовой феногенетических реакций даст возможность оценить степень относительной устойчивости ценопопуляций разных видов в составе таксоцена, выявить толерантные (феногенетически устойчивые) и наиболее нестабильные в данных условиях обитания форпостные группировки. Для того чтобы можно было оценить в какой мере уклоняются форпостные ценопопуляции и таксоцены от таковых, которые обитают в нормальных (не экстремальных) экологических условиях, необходимо дополнительно и также синхронно (в тот же месяц сезона) получить соответствующие выборки из контрольных ценопопуляций и таксоценов.

Изучение морфологической изменчивости при сопоставлении ценопопуляций разных симпатрических видов следует проводить по гомологичным структурам, элементам формы и промерам. Поскольку эти виды относятся к одному и тому же таксоцену, то гомологизация признаков облегчается.

Сравнение видов по одним и тем же гомологичным признакам лучше всего осуществлять с помощью методов фенетики, используя гомологичные фены неметрических пороговых признаков (см. Васильев, Васильева, 2009), а также применяя методы геометрической морфометрии с использованием гомологичных меток-ландмарок (Павлинов, Микешина, 2002; Zelditch et al., 2004; Klingenberg, 2011, 2013a,b). Гомологичные фены, а также

ландмарки дают возможность проведения как прямого сравнения представителей разных видов, так и получения интегральной оценки таксоцена в целом (Vasil'ev et al., 2015).

Особое место в таких сравнениях на популяционном и ценотическом уровнях организации занимают также и методы оценки морфологического разнообразия (*disparity*), которые позволяют выявить степень морфогенетической реакции как ценопопуляций, так и таксоценов на те, или иные условия обитания (Васильев и др., 2010, 2013). При благоприятных условиях возрастает таксоценотическое (видовое), но снижается морфологическое разнообразие, и напротив, в неблагоприятных условиях, это соотношение изменяется на противоположное. Проследивая в чередке смежных лет тенденции изменений этих двух показателей можно оценить феногенетическую реакцию ценопопуляций и таксоценов на влияние условий среды. Возрастание морфоразнообразия отдельной ценопопуляции может указывать как на неблагоприятный характер экологических условий, так и на проявление дестабилизации морфогенетических процессов. В случае форпостных ценопопуляций и таксоценов, которые в значительно большей степени подвержены длительным экстремальным экологическим воздействиям, чем контрольные, можно изучать механизмы и относительную скорость вероятных феногенетических перестроек, степень их обратимости и общую направленность.

Синхронно сравнивая проявления феногенетической изменчивости, фенотипической пластичности и морфоразнообразия гомологичных признаков в контрольных и форпостных ценопопуляциях и таксоценах можно приблизиться к пониманию механизмов их устойчивости. В то же время можно будет оценить и процессы быстрой морфогенетической перестройки при хроническом воздействии естественных и техногенных средовых факторов, а также их сочетаний (Васильев и др., 2006, 2014, 2016, 2017а).

В качестве примера применения нашего подхода рассмотрим популяционно-ценотический анализ трёх симпатрических видов землероек-бурозубок рода *Sorex* (*araneus* — обыкновенная; *caecutiens* — средняя; *minutus* — малая). Проанализировали материалы по трём таксоценам землероек, локализованным на Северном (окрестности п. Кытлым), Среднем (Висимский заповедник) и Южном (гора Ирмель) Урале с целью выявления закономерностей сопряженной географической изменчивости у трёх совместно обитающих симпатрических видов в широтном направлении (Васильев и др., 2017б).

Материалом послужили краниологические коллекции, включающие 315 экз. В качестве объекта исследований использовали фотографии буккальной стороны правых ветвей нижней челюсти бурозубок (рис. 7.14). Выбор данного объекта обусловлен тем, что ранее нами и другими коллегами

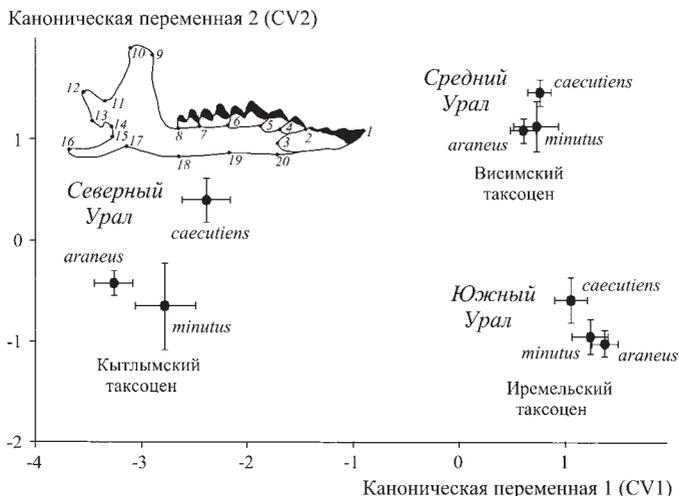


Рис. 7.14. Результаты канонического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы буккальной стороны нижней челюсти на основе 20 меток-ландмарков в трёх географически удалённых локальных таксоценах бурозубок, каждый из которых представлен тремя ценопопуляциями симпатрических видов *Sorex araneus*, *S. caecutiens* и *S. minutus* (центроиды выборок приведены с учётом стандартных ошибок —  $\pm$  SE).

была показана связь формы нижней челюсти с условиями обитания животных. Цифровые фотографии объектов получены с помощью планшетного сканера при разрешении (1200 dpi). Для характеристики изменчивости формы нижней челюсти использовали 20 меток-ландмарков (рис. 7.14).

После процедуры генерализованного Прокрустова анализа по прокрустовым координатам, характеризующим изменчивость формы нижней челюсти, провели канонический анализ 9 ценопопуляций трёх симпатрических видов, с учётом их принадлежности к трём географически удалённым таксоценам (см. рис. 7.14). Наряду с оценкой изменчивости и морфоразнообразия отдельных ценопопуляций симпатрических видов землероек, формирующих локальный таксоцен, рассматривали изменчивость и морфоразнообразие таксоценов как таковых (в последнем случае видовые границы были сняты и изучались объединённые выборки ценопопуляций видов рода *Sorex*).

Из приведённого рисунка следует, что вдоль первой канонической переменной (CV1) проявились географические различия между таксоценами: слева расположены центроиды выборок северного кытлымского таксоцена, справа — наиболее южного иремельского таксоцена, а промежуточное положение занимают выборки ценопопуляций висимского таксоцена. При

этом следует заметить, что вдоль первой оси различия между висимским и иремельским таксоценонами выражены слабо. В то же время вдоль второй канонической переменной (CV2) представители висимского таксоценона существенно удалены в морфопространстве от двух остальных. Наибольший разброс между центроидами ценопопуляций проявился в кытлымском таксоценоне, что отражает повышение морфоразнообразия северных ценопопуляций в общем морфопространстве по сравнению с более южными. Можно связать этот эффект с более суровыми условиями обитания землероек в горах Северного Урала. Наибольшее сходство в форме нижней челюсти проявляется между ценопопуляциями видов из висимского таксоценона, расположенного в низкороме Среднего Урала, где условия обитания землероек, по-видимому, наиболее благоприятны.

Для оценки внутригруппового разнообразия (*MNND*) и характера рассеивания ординат применили описанный ранее в разделе 7.1 метод анализа паттерна ближайших соседних точек в пределах полигона изменчивости (Дэвис, 1990). Оценку внутригруппового морфоразнообразия провели по значениям первых двух канонических переменных. Установлено, что наименьший уровень морфологического разнообразия наблюдается в висимском таксоценоне, а максимальный — в кытлымском (рис. 7.15).

Поскольку показатель *MNND* отражает внутригрупповой разброс по форме объектов, т.е. характеризует веер реализованных морфогенетических траекторий (Vasil'ev et al., 2015), можно заключить, что наибольшая нестабильность развития наблюдается именно у землероек кытлымского таксоценона. Соответственно в висимском таксоценоне условия развития наиболее благоприятны, поскольку здесь стабильность морфогенетических процессов выше, чем в других таксоценонах. Иремельский южный таксоценон характеризуется промежуточным уровнем *MNND*, т.е. здесь в горах Южного Урала по сравнению с висимским таксоценоном низкоромий Среднего Урала также наблюдается повышение нестабильности развития: в более южном иремельском таксоценоне, обитающем в горах Южного Урала, межвидовое и таксоценоотическое морфоразнообразие выражено в большей степени, чем в низкороме Среднего Урала в висимском таксоценоне.

Ранее авторами совместно с Т. П. Коуровой было показано (Vasil'ev et al., 2015), что представители разных локальных таксоценонов землероек эффективно различаются, независимо от их видовой принадлежности (до 95% корректной дискриминации объектов). Другими словами, по форме нижней челюсти любого представителя из нескольких видов, формирующих таксоценон, с точностью до 95% можно определить его таксоценоотическую принадлежность. Видно, что и в данном случае внутри каждого таксоценона наблюдается высо-

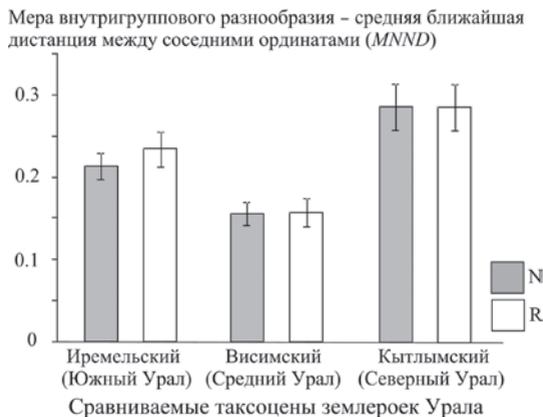


Рис. 7.15. Сравнение уровня внутригруппового морфоразнообразия ( $MNND \pm SE$ ) в трёх таксоценах землероек рода *Sorex* на Южном, Среднем и Северном Урале (N – по реальному числу наблюдений, R – по равному числу наблюдений после процедуры случайной рарафикации выборок).

кое сходство ценопопуляций разных видов, а различия между географически удалёнными таксоценами выражены в значительно большей степени.

Таким образом, используя данный комплекс оценок, можно оценить экологическое состояние таксоценов в целом. Можно заключить, что северный форпостный таксоцен, обитающий в горах Северного Урала, испытывает наибольшее экологическое напряжение. Интересно, что каждый таксоцен проявляет себя как единое целое, поскольку наблюдаются общие тенденции изменений фенооблика животных, характерные для особей всех симпатрических видов – представителей данного фрагмента сообщества.

Рассмотрим другой пример, связанный с изучением отдалённых полувековых морфогенетических последствий интродукции ондатры на север (п-ов Ямал) и юг (Курганская область) Западной Сибири (Васильев и др., 2016). По имеющимся музейным коллекциям проанализировали изменение уровня морфоразнообразия нижней челюсти в обеих популяциях ондатры на двух этапах её интродукции: в середине и в конце XX в. (рис. 7.16).

Результаты расчётов, представленные на рисунке, показывают, что на первом этапе интродукции в северной и южной популяциях показатель внутригруппового морфоразнообразия ( $MNND$ ) достоверно выше, чем на втором. Это означает, что на первом этапе интродукции резкое возрастание веера морфогенетических траекторий в обеих популяциях ондатры косвенно указывает на недостаточную регуляцию развития и, вероятно, недо-

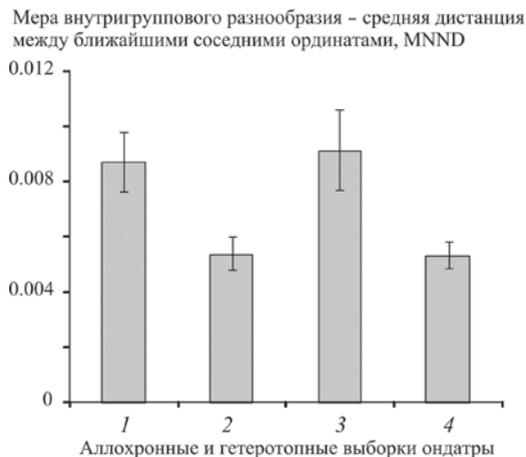


Рис. 7.16. Сравнение средних дистанций между ближайшими соседними ординатами ( $MNND \pm SE$ ), полученных внутри полигонов изменчивости северных (1, 2) и южных (3, 4) популяций ондатры на двух этапах интродукции вида в Западной Сибири (этап 1 – нечётные номера выборок, этап 2 – чётные).

статочную адаптированность животных к локальным условиям. Во всяком случае, судя по возрастанию морфоразнообразия, зверьки обеих популяций исходно испытывали нестабильность (стресс) индивидуального развития.

Поэтому адаптация к локальным условиям, вероятно, возникла на втором этапе, так как морфогенетические процессы при становлении нижней челюсти и на севере, и на юге оказываются в целом зарегулированными в определённом узком диапазоне наблюдаемых дистанций между ближайшими соседними ординатами особей в пределах групповых полигонов изменчивости.

В заключение приведём ещё один пример популяционно-ценотического мониторинга, при параллельном сопоставлении показателей дисперсии общей асимметричности у синтопных ценопопуляций двух симпатрических видов рода *Fragaria*: клубники — *F. viridis* и земляники — *F. vesca* в 6 локалитетах, расположенных в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа и имеющих разный уровень загрязнения радионуклидами (рис. 7.17).

Оценку проводили по меристическим признакам — числу зубчиков (двело — дентально-венальных элементов, по терминологии В. В. Королёва) левого и правого краёв листочков — брахибластов на побеге. Расчёт показателей проведен по формулам Снита и Сокэла (Sneath, Sokal, 1973), которые мы предложили использовать для расчёта дисперсий общей ( $TA^2$ ), направленной ( $DA^2$ ) и флуктуирующей ( $FA^2$ ) асимметрии (Васильев и др.,

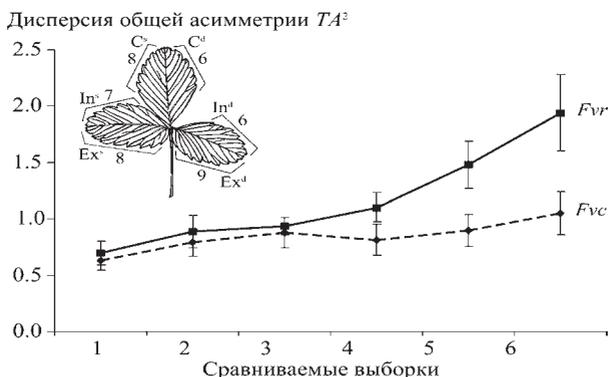


Рис. 7.17. Сравнение величин дисперсии общей асимметричности  $TA^2$  (с учётом стандартных ошибок) двеллярной структуры листьев (схема подсчёта двелов показана слева вверху) в ценопопуляциях клубники ( $F_{vr}$ ) и земляники ( $F_{vc}$ ), произрастающих на контрольных (1 – д. Б. Грязнуха, 2 – д. Пирогово, 3 – п. Метлино) и импактных (4 – оз. Тыгиш, 5 – оз. Б. Игиш, 6 – Лежневка) территориях в зоне влияния ВУРСа (Челябинская область).

2007; Vasil'ev et al., 2008). Здесь мы приводим только результаты сравнения значений дисперсии общей асимметрии  $TA^2$  в 6 локалитетах, расположенных на графике (см. рис. 7.17) в порядке возрастания градиента загрязнения радионуклидами ( $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ).

Из рисунка следует, что у сравниваемых видов наблюдается разная феногенетическая реакция на усиление загрязнения среды радионуклидами. Если у земляники (*F. vesca*) уровень дисперсии общей асимметричности почти не изменяется в градиенте загрязнения, то у клубники (*F. viridis*) на участках с повышенным уровнем загрязнения (оз. Тыгиш, оз. Б. Игиш, Лежневка) дисперсия общей асимметричности листовых пластинок значительно возрастает. Поэтому можно заключить, что клубника по сравнению с земляникой феногенетически более реактивна на загрязнение территории радионуклидами.

Таким образом, используя предложенные нами принципы и методы популяционно-ценотического мониторинга близкородственных симпатрических видов растений и животных, можно получить новую важную информацию об экологическом состоянии сравниваемых представителей таксоценоза, которую нельзя было бы установить при изучении их в отдельности. Появляется также возможность получения с помощью методов геометрической морфометрии интегральной оценки экологического состояния для сравниваемых локальных таксоценозов. Очевидно, что в зависимости от поставленной задачи, при этом можно оценивать и состояние локальных ценопопуляций.

«Лишь кончая писать задуманное сочинение, мы уясняем себе, с чего нам следовало его начать»

Блез Паскаль

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В конце книги принято подводить итоги сказанного выше, но мы стараемся поступить несколько иначе и попытаемся продолжить обсуждение перспективных аспектов применения геометрической морфометрии для решения биологических задач. В большинстве глав мы стремились показать, что геометрическая морфометрия лишь дополняет традиционные методы и является полезным приобретением в исследовательской работе, характеризуя главным образом изменчивость формы объектов. В то же время, используя технику геометрической морфометрии, можно характеризовать также и изменчивость структурных и размерных компонент изменчивости морфоструктур. В этой связи вновь напомним, что согласно идее В. В. Короны (Корона, Васильев, 2000), предлагается рассматривать три разных, дополняющих друг друга морфогенетических аспекта: размерогенез (рост), формогенез (изменение конфигурации в морфогенезе) и структурогенез (возникновение в онтогенезе и варьирование проявления дискретных элементов структуры). Сочетание этих трёх аспектов позволяет в большей мере приблизиться к характеристике индивидуальных и групповых морфогенетических реакций животных и растений из природных популяций. Поэтому, как это было неоднократно показано в книге, возможности геометрической морфометрии действительно позволяют параллельно анализировать и сопоставлять между собой на одних и тех же объектах изменения размера центроида, характеризующиего размерогенез, изменчивость формы, — формогенез (= морфогенез), а с помощью предложенного нами метода геометрической фенетики — фенограмметрии — преобразование морфоструктур, т.е. структурогенез. Тем самым появляется возможность в ещё большей степени приблизиться к максимально возможной морфологической характеристике объектов, если не на уровне всего фенома, то, по крайней мере, на уровне всего мерона (Мейен, 1988) — структурной части

(или модуля) фенома, чем это было возможно при многомерном описании формы объектов в рамках традиционной геометрической морфометрии.

Такой расширенный тройной анализ с применением методов геометрической морфометрии позволяет оценить внутри- и межгрупповую морфогенетическую изменчивость. Напомним при этом о том, что результаты геометрической морфометрии непосредственно допускают морфогенетическую интерпретацию (Debat et al., 2000; Klingenberg, 2003; Klingenberg et al., 2003; Zelditch et al., 2006; Klingenberg, 2008, 2013b; Sheets, Zelditch, 2013). Идя таким путем, мы фактически получаем возможность сравнить как индивидуальные, так и групповые реализации меронов в общем морфогенетическом пространстве. Каждая ордината особи или группового центроида представляет собой некую терминальную точку морфогенетической траектории, а их совокупность отражает веер допустимых морфогенетических траекторий.

Всё это позволяет ввести морфогенетические интерпретации выявляемых различий и преобразований в исследовательскую практику эволюционистов, систематиков и экологов, работающих с природными, а не лабораторными (виварными или тепличными) группировками. Особый интерес представляет то, что изменение размерных характеристик главным образом обусловлено экологическими причинами, изменение формы отражает влияние стрессирующих экологических факторов и наследственных ограничений, а структурные перестройки во многом обусловлены внутренними собственными факторами развития и зависят от эпигенетических и генетических особенностей особей и групп. Поэтому изменения той или иной группы морфогенетических свойств, характеризующих размерогенез, формогенез или структурогенез, позволяют оценить качество и степень наблюдающихся перестроек морфогенеза.

Дополнительные возможности обеспечивает параллельное введение сопряженной цифровой информации по антимерным меронам, т.е. по левым и правым гомологичным фрагментам фенома (например, левая и правая нижнечелюстные ветви, левый и правый одноименные зубы, левые и правые крылья, левая и правая стороны листовой пластинки). Благодаря этому в морфопространстве задаются ординаты антимеров объектов, которые будут характеризовать внутрииндивидуальную, т.е. эпигенетическую изменчивость антимеров меронов и, в частности, позволят оценить внутригрупповые уровни их общей, направленной и флуктуирующей асимметрии (Palmer, 1994; Vasil'ev et al., 2008). Всё это также привносит в морфометрический анализ новые аспекты, позволяющие характеризовать особенности протекания индивидуального и группового морфогенеза, допуская эпигенетическую интерпретацию различий.

В резко изменяющихся условиях обитания на фоне длительных негативных климатических трендов и/или хронических техногенных и иных антропогенных воздействий вынужденные перестройки морфогенеза могут привести в исторические, а не геологические времена, к проявлению быстрых микроэволюционных преобразований (Васильев и др., 2014, 2016). Для выявления подобных эффектов и оценки экологического состояния популяций и сообществ оценка их морфогенетических реакций, возможность которой описана выше, оказывается крайне важной и существенно дополняет традиционные методы популяционной экологии и морфологии (Васильев и др., 2013, 2017а, б).

Ещё один важный аспект, на который следует обратить внимание, связан с тем, что при наличии хороших иллюстраций: фотографий и рисунков, характеризующих серию биологических объектов, интересующих исследователя, можно на основе методов геометрической морфометрии получить дополнительную информацию об изменчивости их формы и морфоразнообразии. Для такого исследования вполне пригодны, например, хорошие рисунки или фотографии объектов, выполненные в одном стиле и ракурсе, которые имеются в определителях, атласах или специальных таксономических сводках. Чтобы эти утверждения не были голословными, сошлёмся на материалы Глав 5 и 6, а также приведём пример подобного изучения серий рисунков, сделанных по фотографиям, характеризующим последовательные фазы движения четырёх видов млекопитающих: медведя, слона, тапира и лошади, опубликованных в монографии «Бег млекопитающих» П. П. Гамбаряна (1972).

Необходимо подчеркнуть, что обычно исследования методами геометрической морфометрии проводят на объектах и морфоструктурах, которые в целом малоизменчивы по форме и имеют, как правило, одинаковую структуру (Klingenberg, 2011, 2013а). Движущийся биологический объект постоянно изменяет свою форму, что обусловлено регулярными изгибами тела и циклирующим смещением конечностей по их положению в пространстве относительно друг друга, тела (корпуса) животного и его головы. При разных аллюрах от шага до галопа амплитуда взаимных смещений разных частей тела, конечностей и головы относительно центра тяжести животного существенно увеличивается, изменяется и характерный набор конфигураций тела, меняющихся при последовательных фазах движения.

Цель данного краткого завершающего сравнения заключалась в попытке выявить возможность применения геометрической морфометрии к изучению элементов поведения животных, при которых во время изменения положения в пространстве и движения существенно изменяется конфигу-

рация тела. Изменение формы тела при движении циклически повторяется и представляет собой замкнутую цепочку её последовательных состояний — замкнутую траекторию в морфопространстве аллюров. Мы полагаем, что потенциально при изучении динамики формы движущегося биологического объекта могут быть выявлены как его характерные индивидуальные, так и видовые особенности, которые могут позволить различать по «походке» и чертам двигательного поведения как отдельных особей, так и представителей разных видов. В этой связи представляло интерес сопоставить изменение формы у одного и того же вида — тапира при разных типах аллюра, а также сравнить движение разных видов в общем морфопространстве аллюров. Поскольку геометрическая морфометрия позволяет избавиться от влияния размера и анализировать только форму, такое морфометрическое сопоставление последовательности фаз движения животных, имеющих разные размеры, становится вполне осуществимым.

Все изображения рисунков фаз движения объектов были получены при их копировании с соответствующих страниц электронной версии указанной выше монографии П. П. Гамбаряна (1972), доступной в Internet по запросу «Библиотека Фауна и флора А. Б. Шипунова». У всех сравниваемых видов выбрали гомологичные позиции для 28 ландмарков, учитывая только правую сторону тела (рис. А).

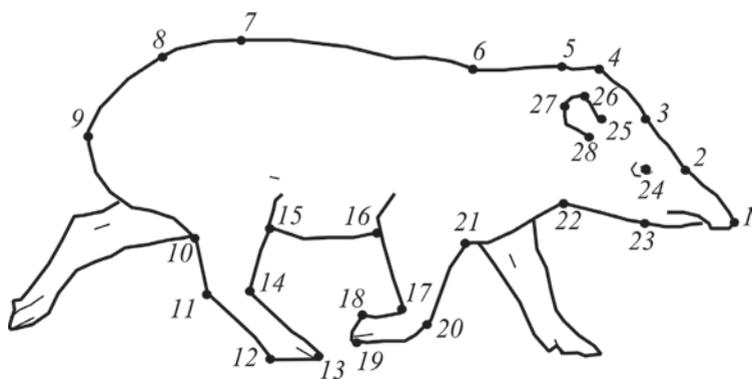


Рис. А. Размещение меток-ландмарков (1–28) на правой боковой проекции тела тапира для характеристики последовательных фаз его движения.

Для тапира взяты две серии рисунков отдельных фаз движения, характеризующие лёгкую рысь ( $n = 20$ ) и тяжёлый галоп ( $n = 20$ ). Для слона использована серия движений при быстром иноходеобразном шаге ( $n = 20$ ). У

лошади анализировали диагональный галоп ( $n = 15$ ). У медведя использовали фазы замедленного латерального галопа ( $n = 20$ ).

Вначале методом главных компонент прокрустовых координат, характеризующих изменение конфигураций тела животных при последовательных фазах движения, провели ординацию траекторий изменения формы тела тапира во время тяжёлого галопа (рис. Б).

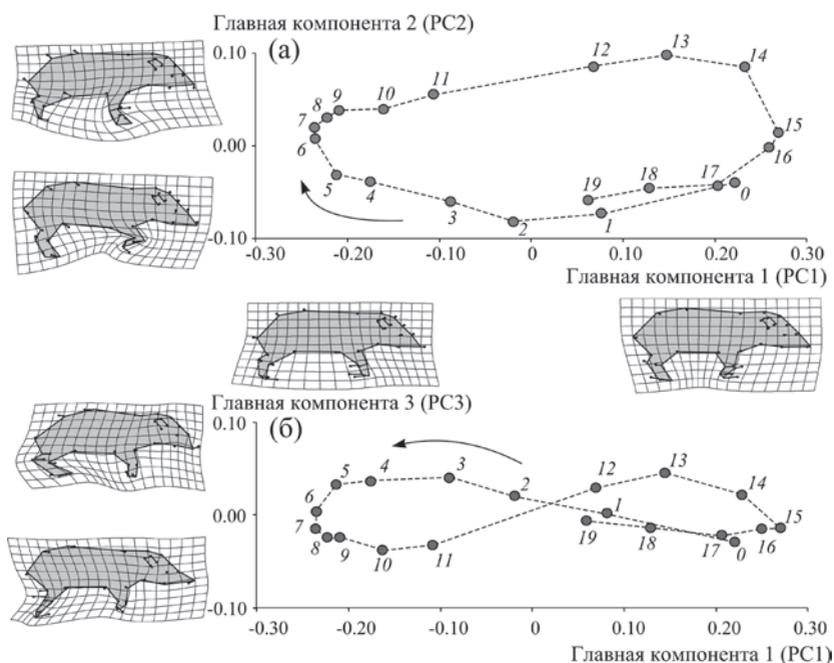


Рис. Б. Результаты ординации фаз движения при тяжёлом галопе тапира в плоскости первой и второй (а) и первой и третьей (б) главных компонент, вычисленных по прокрустовым координатам (по рисункам из монографии П. П. Гамбаряна (1972)). Стрелки — направления последовательной смены фаз движения животных. Контурные конфигурации ландмарков, вписанные в трансформационные решётки, соответствуют минимальным и максимальным значениям ординат вдоль осей главных компонент.

Из рисунка видно, что в плоскости первой и второй ГК последовательные ординаты фаз движения тапира образуют замкнутую траекторию в форме неправильного эллипса. Аналогичные эллипсоидные траектории последовательно расположенных ординат проявляются у всех изученных видов. Представленные на рисунке ординаты 1 и 19, а также 0 и

17 соответствуют одним и тем же фазам движения тапира и показывают, что наблюдается цикличность и повторяемость последовательных фаз соответствующего типа аллюра. По контурным изображениям деформаций боковых проекций тела тапира (см. рис. Б) можно заключить, что вдоль первой ГК наблюдаются в основном горизонтальные сочетанные встречные и противоположные движения передних и задних конечностей в переднем и заднем направлениях. Вдоль второй ГК осуществляются попеременные вертикальные сгибания и разгибания передних и задних конечностей, сопровождающиеся изменением наклона передней и задней частей тела. Вдоль третьей оси в области положительных значений соответственно выражена фаза приземления, при которой происходит касание земли задними конечностями, а в области отрицательных значений — вероятно, представлена фаза полёта после прыжка с приземлением на левую переднюю ногу, которая на рисунке не видна (ландмарки на ней не размещали).

Интересно, что вдоль первой и третьей ГК замкнутая траектория ординат имеет конфигурацию восьмерки или символа беконечности. Сходный эффект смещения траекторий в виде восьмерок вдоль первой и третьей осей отчётливо наблюдался также при анализе легкой рыси тапира, а также обнаружен при диагональном галопе у лошади. У медведя и слона восьмерка вдоль первой и третьей ГК «размыта» и чётко не проявилась.

Представляло интерес сопоставить в общем морфопространстве аллюров траектории фаз движения всех видов. Для этого провели аналогичный анализ главных компонент прокрустовых координат видов при соответствующих типах аллюров. Изменчивость формы вдоль первой главной компоненты составила 42.9%, вдоль второй — 33.0%, вдоль третьей — 8.0%, а на четвёртую компоненту пришлось — 4.6% от общей дисперсии. Таким образом, на четыре первые главные компоненты приходится 88,5% дисперсии, что позволяет достаточно полно описать изменчивость преобразований формы тела животных на разных фазах их движения, а также его видовую специфику и различия типов аллюров. Результаты ординации конфигураций ландмарок для серий последовательных фаз движения всех четырёх видов представлены в пространстве второй и третьей главных компонент (рис. В), на которые приходится 41% дисперсии.

Из рисунка следует, что вдоль второй главной компоненты замкнутая траектория движения слона расположена справа в области положительных значений и удалена в общем морфопространстве от местоположения траекторий остальных видов. Заметим, что и вдоль первой главной компоненты также несколько выделяется траектория движения слона (эти материалы здесь не представлены), но у всех видов проявляется сходная тенденция

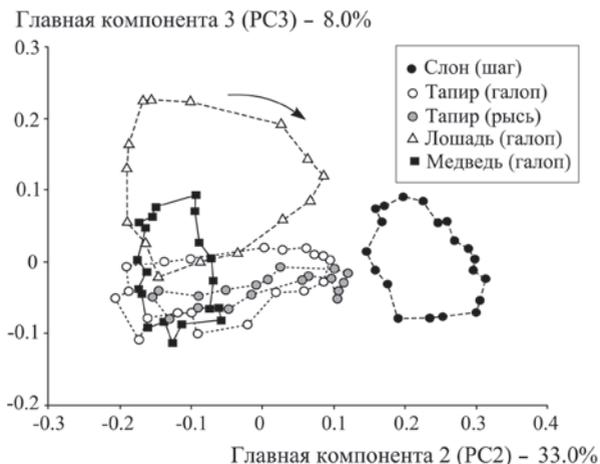


Рис. В. Сравнение ординат фаз движения при быстром шаге слона, при галопе и рыси тапира, галопе лошади и медведя в пространстве второй и третьей главных компонент, вычисленных по прокрустовым координатам, характеризующим изменчивость формы тела животных при смене последовательных фаз видовых аллюров (по Гамбарян, 1972). Стрелка указывает направление последовательной смены фаз движения животных.

наибольших изменений конфигурации частей тела, характеризующих типичные фазы бега млекопитающих. Поскольку вдоль оси первой главной компоненты наблюдаются тривиальные общие черты бега четвероногих животных, мы не будем рассматривать эту компоненту изменчивости формы тела при аллюрах.

Обратим внимание на то, что траектория фаз диагонального галопа лошади смещена на графике (см. рис. В) вверх в область положительных значений вдоль третьей главной компоненты, а обе траектории тапира, характеризующие последовательность его движений во время галопа и перемещения рысью расположены на графике слева внизу. Они сдвинуты главным образом в область отрицательных значений второй и третьей главных компонент. Закрытая траектория фаз замедленного латерального галопа медведя в плоскости второй и третьей компонент частично накладывается на траектории тапира, но вдоль четвертой главной компоненты она смещена в область отрицательных значений, т.е. находится ниже плоскости второй и третьей компонент и на самом деле не перекрывается с фазами движения других видов. Крайнее положение вдоль четвертой оси в области её положительных значений занимает и траектория лошади, а обе траекто-

рии тапира имеют промежуточное центральное положение между траекториями медведя и лошади и частично накладываются друг на друга вдоль четвёртой и всех остальных осей. Следовательно, траектории каждого вида фактически размещены в разных областях морфопространства аллюров. Мы не приводим здесь все проекции главных компонент, так как наиболее характерные межвидовые различия уже представлены на рисунке В.

Канонический анализ прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы тела на разных последовательных элементарных фазах движения животных, провели на тех же выборках. Межгрупповые различия вдоль всех четырёх канонических осей оказались статистически значимы. Первые три канонические оси характеризуют 99.5% дисперсии, т.е. практически полностью описывают межгрупповые различия. Поэтому рассмотрим взаимное расположение ординат фаз движения сравниваемых видов в морфопространстве, образованном первыми тремя каноническими переменными (рис. Г). Вдоль первой канонической переменной проявилось своеобразие фаз движения слона по сравнению с остальными видами. На эту каноническую ось (CV1) приходится 87% межгрупповой дисперсии. Можно полагать, что кроме особенностей движения своеобразие слона объясняется еще и специфическим обликом животного, имеющего хобот, массивный корпус и непропорционально большие уши, что существенно дополняет особенности изменения формы его тела при быстрой ходьбе и обеспечивает 100% дискриминацию и идентификацию особей вида на любом этапе их движения.

Поскольку при каноническом анализе осуществляется максимизация отношения межгрупповой дисперсии к внутригрупповой, в его результате выявляются в первую очередь свойства и их сочетания, которые максимально различают таксоны, но в целом минимально варьируют, т.е. признаки и особенности, имеющие наибольший таксономический вес. Несмотря на существенную изменчивость конфигураций ландмарков, связанную с движением животных, выявляются такие черты формы, которые резко различают сравниваемые виды. На рисунке ординаты каждого вида тесно агрегированы внутри выборок собственных таксонов. У двух выборок тапира, различающихся типом аллюра животных, хотя они и расположены в морфопространстве наиболее близко друг от друга, эллипсоиды рассеивания ординат практически не перекрываются и чётко различаются (100% безошибочного отнесения всех изученных фаз движения к своей собственной группе сохраняется и после проведения перестановочного кросс-валидационного теста). Последнее указывает на то, что не только общие морфологические черты строения разных видов позволяют их различать,

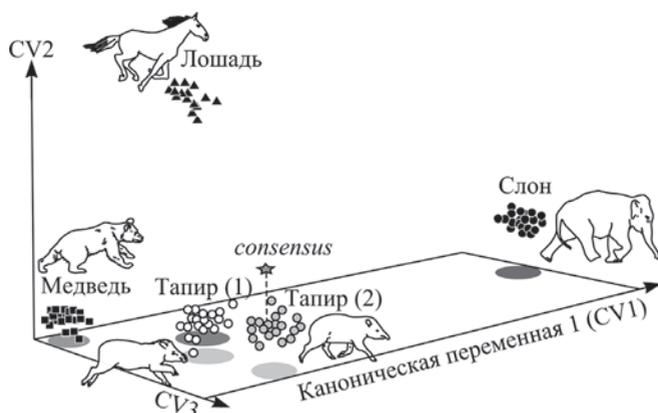


Рис. Г. Результаты канонического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы тела на разных фазах движения слона (быстрый шаг), тапира (1 – галоп, 2 – рысь), лошади (галоп) и медведя (галоп) в морфопространстве аллюров, образованном тремя первыми каноническими переменными (CV1–CV3).

но и характерные особенности двигательной активности и изменения конфигурации тела при движении обеспечивают различия между таксонами в морфопространстве.

Кластерный анализ (UPGMA матрицы квадратов обобщённых расстояний Махаланобиса ( $D^2$ )) выявил иерархию различий между таксонами, в том числе и по особенностям последовательных фаз движений (рис. Д).

Две выборки тапира, воспроизводящие разные типы аллюра, формируют общий кластер, отражающий минимальные различия. Наиболее от других таксонов удален кластер слона, что не удивительно как из-за своеобразной морфологии этого вида, так и из-за типа аллюра – быстрого шага. Все другие виды взяты при передвижении либо галопом, либо рысью. Кластер лошади оказался несколько ближе к кластеру тапира, чем к кластеру медведя.

Особый интерес представляло оценить величины средних объёмов морфопространства, приходящихся на единичное наблюдение (фазу движения) для каждого вида и типа аллюра. Для этой цели нами предложен средний индивидуальный объём морфопространства аллюров – MINVOL (mean individual volume of morphospace).

Поясним выбор нами данного показателя. Все выборки (отдельные фазы движения у каждого вида) равны по объёму, за исключением выборки лошади, где было не 20, а 15 наблюдений (частных рисунков). При равных объёмах выборок можно было бы оценить для каждой сравниваемой

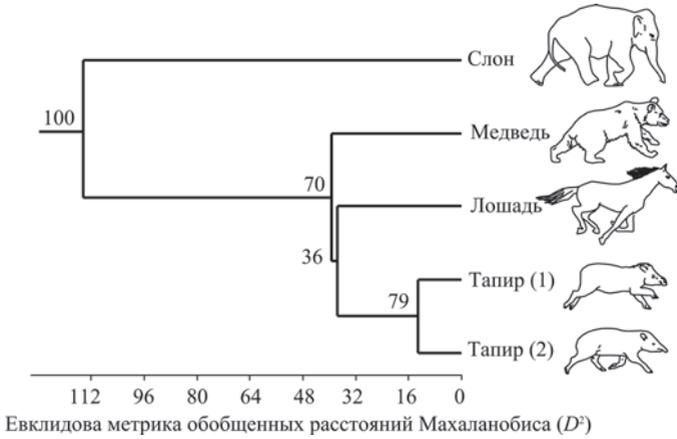


Рис. Д. Результаты кластерного анализа (UPGMA) пяти выборок, принадлежащих четырём видам млекопитающих, на основе евклидовой метрики матрицы обобщённых квадратов расстояний Махаланобиса ( $D^2$ ).

группы только объёмы занимаемого их ординатами морфопространства, но несколько меньший размер выборки лошади требует произвести нормировку объёма морфопространства на единицу наблюдения. Поскольку геометрическая морфометрия исключает влияние размеров и позволяет анализировать форму объектов в чистом виде, средний индивидуальный объём морфопространства будет характеризовать только динамику изменения формы, её деформацию при передвижении особи конкретного таксона тем или иным типом аллюра. Измерение приблизительного общего объёма морфопространства, занятого ординатами особей конкретной выборки вычисляли двумя способами. Первый грубый вариант вычисления провели по формуле расчёта объёма эллипсоида, используя в качестве длин радиусов значения трёх первых главных компонент в пределах эллипсов рассеивания ординат, объединяющих 100% дисперсии, в программе PAST 2.17c. При втором, более точном способе, использовали надстройку (add-in) CalculateVolume (автор А. Г. Курсанов) для Microsoft Office Excel, написанную на основе встроенной функции Matlab convhull, позволяющей вычислить объём выпуклой оболочки конечного множества точек. Для расчёта MINVOL полученные объёмы морфопространства относили к числу фаз движения (числу рисунков) для соответствующей выборки.

Величина среднего «индивидуального» объёма морфопространства у слона при быстром шаге оказалась наименьшей (рис. Е), т.е. его передвиже-

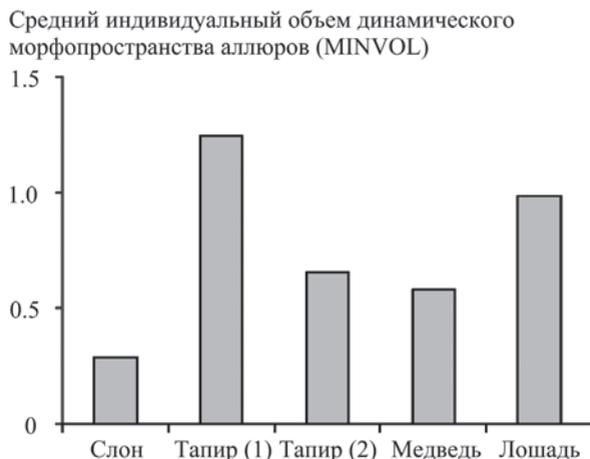


Рис. Е. Сравнение средних индивидуальных объемов морфопространства аллюров (MINVOL) у слона (быстрый шаг), тапира (1 – галоп, 2 – рысь), лошади (галоп) и медведя (галоп).

ние наиболее экономно и не требует существенных изменений формы тела (деформаций тела при движении). Наибольший средний индивидуальный объем морфопространства MINVOL проявился у тапира при тяжёлом галопе. Величина показателя в данном случае в 4 раза больше, чем у слона. Существенно меньше величина этого показателя у тапира при легкой рыси, т.е. почти в два раза меньше, чем при тяжёлом галопе. Очевидно, что животное затрачивает на передвижение легкой рысью существенно меньшие энергозатраты, чем при беге тяжёлым галопом. Поэтому для конкретного вида предложенный нами показатель MINVOL можно использовать в качестве косвенной меры энергетической стоимости типа аллюра.

Возможно, этот показатель также в той или иной степени отражает и энергетическую стоимость движения у разных видов. Если это так, то у медведя латеральный галоп почти кратно энергетически менее затратен, чем диагональный галоп у породистой скаковой лошади. Таким образом, тело медведя и положение его конечностей при беге галопом деформируется существенно меньше, чем у лошади и тапира при таком же типе аллюра. Медведь при относительно более коротких конечностях во время бега перекатывается как большой шар, тогда как тапир, например, резко изгибает тело и подбрасывает поочередно, то передние, то задние пары конечностей во время фаз галопы. Это и приводит к тому, что его средний индивидуаль-

ный объём морфопространства оказывается больше, чем у медведя. Размеры животных в данном случае не влияют на результат сравнения, и все изображения приведены к единичному размеру центроида. Поэтому изменение формы тела у сравниваемых видов производится в одном и том же масштабе, а показатель MINVOL является в таком случае универсальным и вполне пригодным для межвидового сравнения.

Таким образом, мы попытались продемонстрировать на конкретном примере, что геометрическая морфометрия дает возможность получать самые разные количественные оценки при сравнении формы объектов не только, когда они неподвижны, но и во время их движения. Этологи, в частности, смогут использовать данный подход при поиске и выборе дискретных поведенческих состояний — характерных поз, а также оценке их конфигурационной однородности и проведении соответствующей внутригрупповой классификации особей со стандартным и нестандартным поведением и особенностями локомоции.

Возможно, такие методы дистанционного установления личности человека по особенностям его походки уже разработаны криминалистами или спецслужбами, но нам такие работы пока не известны. Вероятно, использование такого подхода может позволить тренерам оценивать и сравнивать спортсменов по стоимости их энергетических затрат во время бега или плавания, опираясь на средний объём морфопространства, занятого ими при деформациях тела во время тренировки или соревнования.

Мы надеемся, что читатель уже понял, что авторы в заключение решили немного пошутить, но в любой шутке есть доля истины. На этом примере мы хотели показать, что геометрическая морфометрия может обеспечить особую легкость при изучении любых форм объектов, дает мощный инструмент для сравнения виртуальных биологических объектов — их фотографий или рисунков, которые могли быть выполнены даже не вами, а были, например, приобретены в книжном магазине или скачаны в Internet. При этом важна сама идея исследования, а любой материал для её реализации вторичен, поскольку может быть легко получен в наше время повального увлечения фотографированием и видеосъёмками. Применяя геометрическую морфометрию можно количественно оценить, кто из художников сделал портрет или рисунок, который наиболее соответствует оригиналу.

Завершая книгу, мы ещё раз хотим подчеркнуть, что геометрическая морфометрия не является панацеей при проведении любых биологических исследований, но представляет собой особый новаторский и революционный подход в современной морфометрии (Adams et al., 2004, 2013), который существенно расширяет наши исследовательские возможности.

Авторы книги надеются на то, что российский читатель после её прочтения (или внимательного перелистывания) вооружится полезными знаниями, овладеет необходимыми навыками работы и методами геометрической морфометрии, поэтому время, потраченное на книгу всеми нами, не будет потеряно зря. Напомним в заключение слова М. Монтеня «... нельзя стать музыкантом, прослушав одну хорошую песню. Этим можно овладеть только после длительного и основательного обучения». Овладение методами геометрической морфометрии требует от исследователя не только затрат определённого времени на ознакомление с их теоретическими основами, но и некоторого опыта в практическом применении к разным объектам и задачам.

Желаем Вам удачи и успешного освоения методов геометрической морфометрии: от теории до практического использования. Не сомневайтесь, у Вас все обязательно получится!

С уважением,  
*А. Г. Васильев, И. А. Васильева, А. О. Шкурихин*

«Задача состоит не столько в том, чтобы увидеть нечто, никем ещё не виданное, как в том, чтобы, видя то, что всякий видит, думать то, что никто не думал»

Л. Фон Бергаланфи

## СЛОВАРЬ ОСНОВНЫХ ПОНЯТИЙ И ТЕРМИНОВ

Представленный здесь краткий словарь основных понятий геометрической морфометрии подготовлен нами на основе словарей, размещённых Ф. Дж. Рольфом на сайте (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet.html>), справочников к программам TPS, IMP, MorphoJ, PAST, SAGE, доступным на этом же сайте. Мы также использовали материалы из лекций Н. Маклеода (MacLeod, N.) в Internet, книги М. Л. Зелдич с соавт. (Zelditch et al., 2004), статьи И. Я. Павлинова и Н. Г. Микешинной (2002) и других авторов. Поскольку здесь изложены итоги нашего видения и понимания основных терминов геометрической морфометрии, в спорных ситуациях предлагаем заинтересованным читателям обратиться к указанным выше источникам. В большинстве случаев русскоязычные версии терминов и словосочетаний дополнены англоязычными, что позволит читателю облегчить чтение англоязычной литературы по геометрической морфометрии. Предложенные нами версии русификации английских терминов не во всех случаях являются общепринятыми, и читатель может решить принимать наш вариант или использовать свою версию. Время совместно с носителями русского языка неизбежно расставит все новые понятия по своим местам.

**Альфа ( $\alpha$ )** — экспонента, используемая для предваряющего масштабирования (взвешивания) частных деформаций (PW) перед вычислением их главных компонент — относительных деформаций (RW). При  $\alpha > 1$  относительные деформации характеризуют наиболее крупные изменения формы объектов (с наименьшей энергией искривления — bending energy), при  $\alpha < 1$  выявляются мелкомасштабные деформации (с наибольшей энергией искривления), а при  $\alpha = 0$  относительные деформации предварительно не

взвешиваются (последняя опция обычно принимается «по умолчанию»). Методы многомерного анализа, инвариантные по отношению к масштабу используемых переменных, к которым, в частности, относится канонический анализ, не зависят от выбора  $\alpha$ .

**Аллометрия (*allometry*)** — любое изменение формы, связанное с изменением размеров. Обусловлена разной относительной скоростью роста разных частей особи или её фрагмента. Описывается отклонением отношения двух переменных (двумерного отношения) от простой функциональной зависимости в формуле  $y/x = c$ , где  $c$  — константа, а  $x$  и  $y$  — количественные измерения размеров, выраженные в одних и тех же единицах. Иногда дается более узкое определение и предлагается конкретная формула  $y = bx^a$ , где  $y$  — размеры какой-либо части тела или органа,  $x$  — размеры другой части или общие размеры тела,  $b$  — константа,  $a$  — аллометрический коэффициент. При  $a = 1$  наблюдается **изометрия**, когда объекты разных размеров имеют одинаковые пропорции, т. е. их форма не изменяется. При  $a < 1$  с увеличением размеров целого размеры части уменьшаются, при  $a > 1$  — напротив, увеличиваются, что в обоих случаях приводит к изменению формы объекта. Различают 3 вида аллометрии: онтогенетическую (изменение формы, связанное с увеличением размеров в процессе онтогенеза), статическую (вариация формы у особей разных размеров на одной стадии развития) и эволюционную (изменение формы, связанное с изменением размеров в процессе эволюции).

**Анализ конечных элементов с масштабированием (*finite element scaling analysis FESA*)** — Без слова «масштабирование» анализ конечных элементов представляет собой систему вычислений в континуальной механике для оценки деформаций (детальных изменений положения всех составных частей объекта — его конечных элементов), являющихся результатом специфического действия сил на объект как механическую систему. В морфометрии **FESA** решает обратную проблему оценки напряжений, представляющих гипотетические силы, которые преобразуют (деформируют) один экземпляр в другой. Эти результаты являются функцией «конечных элементов», на которые подразделяется пространство между ландмарками. **FESA** можно сравнить с тонко-пластинным сплайном (полиномом), заполняющим совокупность координат ландмарок при разных допущениях.

**Анализ матрицы евклидовых дистанций (*Euclidean distance matrix analysis — EDMA*)** — Метод статистического анализа полной матрицы дистанций между всеми ландмарками, вычисляющий отношения средней внутривыборочной дистанции и средней дистанции между выборками. Авторы метода С. Леле и Дж. Ричтсмейер (Lele, Richtsmeier, 1991; Lele, 1993). Про-

ведение расчётов с применением метода возможно с помощью программы WinEDMA (Cole III et al., 2002 — <http://c.faculty.umkc.edu/colet>).

**Анализ Фурье** (*Fourier analysis*) — В морфометрии разложение контура на сумму функций синуса и косинуса с присвоением им определённых весовых коэффициентов. Используется для анализа контуров (аутлайнов). Метод реализован, например, в программе PAST.

**Аутлайны** (*outlines*) — контурные кривые по периметру изображения, формирующие схематичный рисунок объекта и отражающие изменения его конфигурации при визуализации деформаций.

**Аффинная трансформация** (*affine transformation*) — Линейное преобразование формы, при котором параллельные линии остаются параллельными. При этом на плоскости квадраты преобразуются в параллелограммы, а круги в эллипсы. В трёхмерном пространстве кубы превращаются в параллелепипеды, а сферы в эллипсоиды. Аналогично для пространств большей размерности. Эквивалентно понятию «**однородная трансформация**» («*uniform transformation*»). Может не включать изменения формы (shape) как таковой (например, такие как трансляция, ротация и масштабирование), а может и изменять её (например, трансформации сдвига или растяжения/сжатия).

**Базис** (*basis*) — совокупность линейно независимых векторов, образующих полное векторное пространство, а также — наименьший набор векторов, необходимых для «натягивания» пространства. Базис может служить в качестве координатной системы для пространства, поскольку каждый вектор в этом пространстве является уникальной линейной комбинацией базисных векторов. Однако сам базис не уникален, так как любое векторное пространство имеет неопределённо много базисов, которые различаются ориентацией (поворотом). Ортонормальный базис представляет собой набор взаимно ортогональных осей единичной длины. Частные деформации и главные компоненты представляют два обычных ортонормальных базиса, используемых при анализе формы.

**Базовая линия** (*baseline*) — в двумерной координатной системе ландмарков на плоскости линия, соединяющая пару ландмарков, обозначающих две особые, фиксированно локализованные точки конструкции, которым присваиваются координаты (0,0) и (1,0). Термин предложен Ф. Букштейном. При выборе **Б.л.** желательно, чтобы линия совпадала с продольной осью «усреднённой формы» и проходила вблизи её центра.

**Букштейновы координаты** (*Bookstein coordinates*) — координаты меток двумерных объектов, пересчитанные на основе базовой линии как координаты вершин треугольников, основания которых совпадают с этой линией. Также обозначаются как двухточечные координаты (two-point shape coordinates).

**Геодезическая дистанция** (*geodesic distance*) — наикратчайший путь между двумя точками в соответствующем геометрическом пространстве (длина может измеряться «по кривой»). В частности, на сфере оно измеряется по дуге «большого круга».

**Геометрическая морфометрия** (*geometric morphometrics*) — ГМ — совокупность подходов многомерного статистического анализа данных, представленных в форме координат Декартовой системы, обычно (но не всегда) привязанных к точкам, локализованным на объекте — ландмаркам, или меткам. Геометричность в данном случае определяется использованием геометрии Кендаллова пространства форм: оценкой средних форм и описанием выборочной вариации формы объектов с использованием геометрии Прокрустовых дистанций. Многомерная часть расчётов в ГМ обычно выполняется в линейном тангенциальном пространстве, чтобы уйти от неевклидовости пространства форм в окрестностях выборочной средней (усреднённой формы). ГМ — особый класс морфометрических методов, которые сохраняют полную информацию об относительной пространственной упорядоченности данных на протяжении всего анализа. Поэтому данные методы позволяют визуализировать групповые и индивидуальные различия, выборочную вариацию и другие результаты в пространстве исходных объектов.

**Гиперплоскость** (*hyperplane*) —  $k$ -1-мерное подпространство  $k$ -мерного пространства. В типичном случае гиперплоскость характеризуется вектором, к которому она ортогональна.

**Гиперпространство** (*hyperspace*) — Пространство, имеющее более трёх измерений.

**Гиперсфера** (*hypersphere*) — распространённое понятие «сфера» на пространство, имеющее более трёх измерений.

**Гиперобъём** (*hypervolume*) — распространённое понятие «объём» на пространство, имеющее более трёх измерений.

**Главные оси и натяжения** (*principal axes and strains*) — специальные графические оси, количественно характеризующие, например, аффинные преобразования круга в эллипс при характеристике изменчивости элементов формы. Главные оси (*principal axes*) изменений формы — направления диаметров круга, которые совмещаются при его вписывании в эллипс с большей (*major*) и меньшей (*minor*) осями последнего. Главные натяжения (*principal strains*) изменений формы — отношения длин осей эллипса к диаметру круга. Графическая визуализация главных осей и величин главных натяжений возможна в программе PAST.

**Главные деформации** (*principal warps*) эйгенфункции матрицы коэффициентов энергии искривления, интерпретируются как деформирован-

ные поверхности (тонкопластинные сплайны), наложенные на исходную конфигурацию ландмарок. Совокупность главных деформаций соответствует полному разложению (декомпозиции) разнообразия форм относительно эталонной конфигурации. Собственные значения упорядочиваются в возрастающем порядке от наименьшей энергии искривления к наибольшей, что соответствует также возрастанию степени пространственной локализации деформации. Для 2D ландмарок число **Г.д.** определено как  $(p - 3)$ , а для 3D —  $(p - 4)$ . Вместе с однородной (uniform) компонентой образуют ортонормальный базис для тангенциального пространства (относительно Кендаллова пространства форм) в окрестностях усреднённой формы.

**Гомология** (*homology*) — общее понятие для обозначения соответствия и сходства структур, обусловленного общностью их эволюционного происхождения и онтогенетического развития. Данное понятие связывает ГМ с её биологическим и биомеханическим приложениями. В теоретической биологии только явные субъекты (сущности) эволюции или развития, такие как молекулы, органы или ткани могут быть строго гомологичными. Вслед за Д'Арси Томпсоном, специалисты в области морфометрии часто применяют это понятие вместо дискретных геометрических структур к точкам или кривым и далее распространяют его на многомерные дескрипторы (признаки, идентификаторы), например на значения частных деформаций. В этом контексте термин «гомологичный» не имеет другого значения кроме как «одноименный» при сравнении соответствующих частей тела или морфоструктур разных видов или стадий развития. Заявляя о гомологии, мы просто хотим судить о процессах, влияющих на такие структуры, но на практике гомология ограничена. Декларируя интерполяцию, такую как в методе «тонких пластин», «гомология изображения» означает, что мы можем судить о свойствах областей между ландмарками, о которых на самом деле мы не имеем данных.

**Двухточечные координаты формы** (*two-point shape coordinates*) — условная система координат форм, первоначально предложенная Френсисом Гальгоном, позднее переоткрытая Фредом Л. Букштейном. Для двумерного случая координаты меток конфигурации переписываются относительно **базовой линии**, соединяющей первую и вторую ландмарки, которым присваиваются координаты 0.0 и 1.0 соответственно. Синоним термина — **букштейновы координаты**.

**Диляция** (*dilation*) — деформация растяжения. Возрастание (увеличение) длины в определённом направлении или вдоль конкретного «межландмарочного» сегмента.

**Евклидово пространство** (*Euclidean space*) — пространство, где расстояния между двумя точками представляют собой евклидовы дистанции в некоторой системе координат.

**Инвариант** (*invariant*) — в общем случае, неизменное свойство (даже при изменении его формулы). Например, евклидовы дистанции инвариантны относительно трансляции или ротации некоторой координатной системы, а отношения дистанций инвариантны при аффинных трансформациях.

**Изометрия** (*isometry*) — В общем случае отсутствие связи формы с размерами. Понятие, альтернативное **аллометрии**. В ГМ преобразование геометрического пространства, при котором расстояния между точками остаются неизменными. В евклидовом пространстве для евклидовых дистанций между ландмарками трансляция, ротация и рефлексия (зеркальное отражение) являются изометрическими трансформациями. Для прокрустовых дистанций между формами изометричными являются ротации в Кендалловом пространстве форм.

**Кендаллово пространство форм** (*Kendall's shape space*) — фундаментальная геометрическая конструкция, предложенная Дэвидом Кендаллом, составляющая основу геометрической морфометрии. Дает полную геометрическую интерпретацию анализа Прокрустовых дистанций между произвольными совокупностями ландмарок. Каждая точка в этом пространстве представляет форму конфигурации точек в некотором евклидовом пространстве, не зависящую от размеров, положения и ориентации. В пространстве форм рассеивание точек соответствует рассеиванию целой конфигурации ландмарок, а не частным рассеиваниям отдельных меток. Большинство методов ГМ представляет собой линейную комбинацию статистических оценок дистанций и направлений в этом пространстве.

**Консенсусная конфигурация, или консенсус** (*consensus configuration*) — конфигурация ландмарок, представляющая усреднённую форму в исследуемой выборке. Обычно вычисляется для оптимизации некоторой оценки совмещения форм: в частности, при Прокрустовом совмещении с помощью усреднённой формы минимизируется сумма квадратов Прокрустовых дистанций между экземплярами в исследуемой выборке.

**Контурная линия или аутлайн** (*outline*) — математическая кривая, представляющая двумерное изображение вдоль видимой границы объекта. Данные о контурной линии могут быть сохранены в форме регулярной равномерной последовательности координат точек, причём эти точки в отличие от ландмарок вообще не являются гомологичными в морфологическом смысле.

**Координаты форм** (*shape coordinates*) — в ГМ координаты ландмарок после суперимпозиции относительно любого из базисов для тангенциального пространства к Кендаллову пространству форм в окрестностях усреднённой формы (могут использоваться прокрустовы остатки, частные деформации или Букштейновы координаты).

**Координаты частных деформаций** (*partial warp scores*) — количественные значения, характеризующие размещение каждого экземпляра в пространстве частных деформаций. Представляют собой поворот (вращение) прокрустовых остатков относительно усреднённой прокрустовой конфигурации. Для неоднородных частных деформаций коэффициенты вращения представляют собой главные деформации, применённые последовательно сначала к  $x$ - координате прокрустовых остатков, затем к  $y$ - координате, а для трёхмерных данных и к  $z$ -координате. Для однородных (uniform) деформаций коэффициенты рассчитываются по специальным формулам.

**Ландмарка, или метка** (*landmark*) — специфическая точка, размещённая на оцифрованном изображении биологического объекта, выбранная в соответствии с определёнными правилами. Согласно Букштейну размещение ландмарок может производиться по классическим критериям гомологии — тип I или на основании геометрических свойств объекта — типы II и III (см. также **полуметки**).

**Ландмарки I типа** (*Type I landmarks*) — точки на объекте, для которых наиболее строго выполняются биологические (анатомические, гистологические) критерии гомологии (например, критерий «положения» и «специального качества»: жилкование крыльев насекомых, стык трёх костей, отверстия для прохождения определённых нервов и кровеносных сосудов и др.).

**Ландмарки II типа** (*Type II landmarks*) — математические точки, соответствие которых («гомология») определяется скорее на основе геометрических, а не биологических свойств (например, «входящие и выступающие углы на жевательной поверхности щёчных зубов полёвок).

**Ландмарки III типа** (*Type III landmarks*) — наименее строго определяемые точки на объекте, выбираемые по условным критериям, таким как «наибольший диаметр», «дно выемки» и т.д. Надо иметь в виду, что ландмарки этого типа характеризуют более чем одну область формы, и проявлять осторожность при их геометрической или биологической интерпретации.

**Линейная комбинация** (*linear combination*) — сумма величин, каждая из которых умножена на некоторый коэффициент. Может быть выражена в виде скалярного произведения двух векторов: вектора данных и вектора коэффициентов.

**Линейная трансформация** (*linear transformation*) — построение нового набора переменных, являющихся линейными комбинациями исходных. В ГМ одна линейная трансформация использует прокрустовы координаты для вычисления значений частных деформаций, другая использует их для вычисления относительных деформаций. Для матрицы может быть выра-

жена уравнением  $y = Ax$ , где  $y$  — результирующая линейная комбинация столбцового вектора  $x$  и строк  $A$ .

**Нагрузка** (*loading*) — корреляция или ковариация количественной переменной с линейной комбинацией переменных. Нагрузка не тождественна коэффициенту. Коэффициенты вводятся в формулы для вычисления значений координат, в то время как нагрузки используются для биологической интерпретации линейных комбинаций.

**Матрица весовых коэффициентов  $W$**  (*weight matrix* — *W-matrix*) — матрица координат частных деформаций для выборки форм, включая однородные компоненты. Вычисляется как поворот координат прокрустовых остатков. Представляет собой набор координат форм, для которых сумма квадратов различий равна квадрату Прокрустовой дистанции между любыми двумя экземплярами.

**Метрическое пространство** (*metric space*) — пространство, где для каждой пары точек определена функция расстояния.

**Морфометрия** (*morphometrics*) — от греческих слов «морфа» (μορφή) и «метрон» (μετρῶν), что означает «форма» и «измерение» соответственно.

**Наложение или суперимпозиция** (*superimposition*) — трансформация одной или нескольких фигур, позволяющая совместить её (их) с некой другой фигурой. Наложение может осуществляться по двум заранее заданным меткам (**букштейновы координаты**), по небольшому числу меток (резистентное совмещение) или по всем меткам методом наименьших квадратов (Прокрустово совмещение).

**Обобщённая суперимпозиция методом наименьших квадратов** (*Generalized least squares superimposition* — **GLS**) — метод обобщённой суперимпозиции, использующий критерий наименьших квадратов при аппроксимации, т.е., когда параметрами являются оценки минимальной суммы квадратов дистанций для всех ландмарков по всем объектам сравнения. Обычно в геометрической морфометрии **GLS** относят к Прокрустовой суперимпозиции на основе обобщённых наименьших квадратов (*generalized least squares Procrustes superimposition*), т.е. обобщённой суперимпозиции, минимизирующей частные Прокрустовы дистанции для всех форм (*shapes*) в выборке, использующей функцию аппроксимации методом наименьших квадратов. Данный метод наиболее распространён в исследованиях методами геометрической морфометрии.

**Обобщённая суперимпозиция** (*generalized superimposition*) — совмещение набора индивидуальных конфигураций объектов с консенсусом. Процедура может осуществляться с помощью нескольких алгоритмов: нахождением наименьших квадратов, вычислением резистенции. Она мо-

жет быть строго ортогональной или позволять аффинные трансформации. Обобщённая суперимпозиция основана на итеративном подходе, поскольку среднее — консенсус не может быть заранее подсчитан без процедуры суперимпозиции объектов, которая не может осуществиться по отношению к средней перед тем как она будет вычислена. Поэтому процесс повторяется многократно до выполнения критериев минимальной подгонки.

**Однородные компоненты формы** (*uniform shape component*) — часть различий в форме между набором конфигураций, которая может моделироваться аффинными преобразованиями. Вместе с частными деформациями однородная компонента образует ортогональный базис для пространства форм в окрестностях усреднённой формы.

**Ординация, или упорядочивание** (*ordination*) — представление объекта на одной или более координатных осях. Комбинация упорядочивания объектов с ординацией векторов переменных дает «биplot».

**Ортогональная суперимпозиция** (*orthogonal superimposition*) — совмещение конфигураций, основанное на Евклидовом сходстве, т.е. включая трансляцию, ротацию и масштабирование, а возможно и рефлексию (отражение).

**Остаток** (*residual*) — разность между наблюдаемой величиной или вектором и ожидаемой, например различие между наблюдаемой формой и предсказанной на основе аллометрической регрессии, выраженное некоторой совокупностью координат форм.

**Относительные деформации** (*relative warps* — RW) — главные компоненты распределения форм в тангенциальном пространстве. Каждая относительная деформация соответствует некоторому направлению изменения формы относительно эталонной конфигурации, графическим представлением которого может служить деформация тонкой гибкой пластины. В методе относительных деформаций используется параметр  $\alpha$ , который (при  $\alpha \neq 0$ ) «взвешивает» изменения формы обратно пропорционально масштабу изменений. Относительные деформации вычисляются по частным деформациям или по прокрустовым остаткам.

**Переменная формы** (*shape variable*) — любое описание геометрии биологической формы или её оцифрованного образа, инвариантное относительно трансформаций, связанных со смещениями, поворотами и изменениями масштаба. Переменными формы являются углы, отношения и любые совокупности координат, вычисляемые в геометрической морфометрии (прокрустовы остатки, главные, частные и относительные деформации и т.п.).

**Полная Прокрустова дистанция** (*Full Procrustes distance*) — результирующая дистанция между формами: квадратный корень из суммы квадратов различий между координатами соответствующих ландмарков.

**Полуметка** (*semilandmark*) — элемент единой последовательности точек вдоль контурной линии, порождённой единым алгоритмом, а не гомологией, позволяющий построить *аутлайны* (см. выше).

**Прокрустова дистанция** (*Procrustes distance*) — мера различий между формами по координатам меток. Вычисляется как квадратный корень из суммы квадратов разностей между координатами меток после оптимального (методом наименьших квадратов) выравнивания и совмещения объектов по центроидным размерам. Определяет метрику Кендаллова пространства форм (см. также прокрустовы остатки). Прокрустова дистанция — ближайшие точки, лежащие на фиберах гиперсферы ППф.

**Прокрустова средняя** (*Procrustes mean*) — форма, имеющая наименьшую сумму квадратов Прокрустовых дистанций от всех конфигураций в выборке; представляет наилучший выбор эталонной конфигурации для большинства версий морфометрического анализа.

**Прокрустова суперимпозиция** (*Procrustes superimposition*) — выполнение совмещения (наложения) двух форм методом наименьших квадратов, использующее ортогональные или аффинные преобразования.

**Прокрустово рассеивание** (*Procrustes scatter*) — совокупность форм, прошедших процедуру суперимпозиции методом прокрустова совмещения с одной из эталонных конфигураций, в качестве которой выступает прокрустова средняя. Рассеивание всех прокрустовых остатков вокруг центров соответствующих ландмарок прокрустовой средней формы.

**Прокрустово совмещение** (*Procrustes fit*) — набор методов для минимизации различий (наименьших квадратов) между выровненными формами по координатам всех меток за счёт их жесткого «вращения» относительно эталонной конфигурации. Прилагательное «прокрустово» заимствовано из древнегреческой мифологии, где Прокруст — разбойник, который «совмещал» рост жертв со своим ложем, вытягивая или укорачивая их.

**Прокрустовы остатки** (*Procrustes residuals*) — совокупность векторов, связывающих ландмарки данного экземпляра с соответствующими метками эталонной конфигурации после прокрустова совмещения. Сумма квадратов длин этих векторов служит (приближенной) оценкой квадрата Прокрустовой дистанции между данным экземпляром и эталоном в Кендалловом пространстве.

**Пространство** (*space*) — в статистике совокупность объектов или их измерений, представленная в виде точек на плоскости, внутри «объёма», на поверхности сферы или внутри интуитивно представляемой структуры более высокой размерности.

**Пространство предформ** ППф (*preform space*) — соответствует центрированным объектам, т.е. после процедуры трансляции (удаления различий в локализации) при сохранении размеров. Имеет мерность  $k(p-1)$ .

**Пространство предформ как таковых** (*preshape space*) — соответствует центрированным и масштабированным, но не повернутым фигурам (до процедуры ротации). Имеет мерность  $k(p-1)-1$ .

**Пространство фигур** (*figure space*) — координаты объектов как векторов в «исходном» пространстве данных.

**Пространство форм** (*form space*) — пространство фигур при удалении различий в положении и ориентации при сохранении размеров. Оно имеет 2–3 измерения для двумерных координатных данных и 3–6 для трёхмерных.

**Пространство форм как таковых** (*shape space*) — каждая точка в этом пространстве соответствует конфигурации меток, из которой исключены размер, положение и поворотная ориентация, то есть является формой по определению. Распределение точек в пространстве форм соответствует распределению полных целых конфигураций, а не отдельных меток.

**Размер центроида** (*Centroid Size*) — квадратный корень из суммы квадратов дистанций набора ландмарков от их общего центроида или квадратный корень из суммы дисперсий ландмарков вокруг центроида по  $x$ - и  $y$ -направлениям (осям). Используется в качестве условной оценки размера в геометрической морфометрии и для выравнивания конфигурации меток, чтобы их можно было поместить в Кендаллово пространство.

**Резистентное совмещение** (*resistant-fit superimposition*) — метод наложения конфигураций, использующий в качестве оценочных параметров совмещения не наименьшие квадраты, а оценки, базирующиеся на вычислении медианы. Эта процедура менее чувствительна к экстремальным значениям по сравнению с методом наименьших квадратов. Описывает различия в форме, обусловленные изменением положения относительно небольшого числа ландмарков. Вместе с тем, данный метод не имеет хорошо проработанной теории распределения и применяется редко.

**Сжатие** (*contraction*) — Уменьшение длины в определённом направлении или вдоль конкретного «межландмарочного» сегмента. Противоположно **диляции**.

**Сдвиг** (*shear*) — аспект аффинного преобразования формы (скашивание), при котором квадрат преобразуется в параллелограмм с теми же основанием и высотой. При этом сохраняется лишь одна из Декартовых координат.

**Сингулярное разложение (декомпозиция) значений матриц** (*singular value decomposition*) — любая матрица  $\mathbf{X}$  размера  $m \times n$  может быть разложена на три матрицы  $\mathbf{U}$ ,  $\mathbf{D}$ ,  $\mathbf{V}$  (размерностью  $m \times m$ ,  $m \times n$ , и  $n \times n$ , соответственно) в виде  $\mathbf{X}=\mathbf{UDV}^t$ , где  $\mathbf{U}$  и  $\mathbf{V}$  имеют ортогональные столбцы, а  $\mathbf{D}$  является диагональной единичной матрицей. Сингулярное разложение вариационно-ковариационной матрицы  $\mathbf{S}$  описывается как  $\mathbf{S}=\mathbf{ELE}^t$ , где  $\mathbf{L}$  есть диагональная матрица собственных значений, а  $\mathbf{E}$  — матрица собственных векторов.

**Собственные векторы** (*eigenvectors*) — в уравнении, приведённом для определения **собственных значений**, матрица  $\mathbf{E}$  содержит собственные векторы. В общем случае это ортогональная матрица ( $\mathbf{E}^t\mathbf{E}=\mathbf{I}$  и  $\mathbf{E}\mathbf{E}^t=\mathbf{I}$ ). Если она отсортирована в порядке убывания собственных значений, первый собственный вектор представляет собой линейную комбинацию переменных, имеющих наибольшую дисперсию. Следующий (второй) собственный вектор представляет собой линейную комбинацию переменных, имеющих наибольшую дисперсию из комбинаций, ортогональных первому, и т.д.

**Собственные векторы формы** (*eigenshapes*) — главные компоненты при анализе формы с помощью контурных меток. Применяются для анализа контуров кривых (аутлайнов). Анализ начинается с выбора функции расстояния между парами контуров. В итоге вычисляются собственные векторы формы, которые обладают свойствами векторов главных компонент, т.е. не коррелируют друг с другом и описывают выборку в порядке убывания дисперсий. При этом они сами являются контурами, и положение каждого экземпляра в выборке определено координатами вдоль этих векторов. Комбинируя эти координаты, можно прогнозировать и исследовать новые возможные формы, что может быть полезно. **С.в.ф.** при анализе аутлайнов выполняют ту же роль, что относительные деформации при анализе форм, описываемых с помощью ландмарков.

**Собственные значения**  $\lambda_i$  (*eigenvalues*) — диагональные элементы диагональной матрицы при  $\mathbf{SE} = \mathbf{EA}$ . В общем случае  $\mathbf{S}$  — симметричная вариационно-ковариационная матрица, а  $\mathbf{E}$  — матрица собственных векторов. При этом  $\lambda_i \geq 0$ , а  $\sum \lambda_i = \sum s_i^2$ . Порядок столбцов матрицы  $\mathbf{E}$  произволен, но по соглашению они сортируются в порядке убывания собственных значений.

**Сплайн** (*spline*) — это нелинейная кусочно-полиномиальная функция, задающая форму кривых — векторная кривая. В ГМ сплайн напоминает сетку, которая может использоваться для картирования (изображения) деформации или искажения формы от одного объекта к другому (Bookstein, 1991).

**Тангенциальное пространство** (*tangent space*) — линейное пространство (плоскость), касательное к Кендаллову пространству в точке,

соответствующей эталонной конфигурации (обычно это усреднённая конфигурация для исследуемой выборки). Если разнообразие форм невелико, евклидова дистанция в тангенциальном пространстве может использоваться для аппроксимации Прокрустовой дистанции в Кендалловом пространстве. Линейность тангенциального пространства позволяет при сравнении форм использовать многие стандартные методы статистики.

**Тонкопластинный сплайн** (*thin-plate spline*) — в механике сплошных сред эта техника моделирует в виде полиномиального сплайна изменения формы с помощью тонкой гибкой металлической пластинки, ограниченной некоторой комбинацией точек и линий, но способной принимать любую форму соответственно минимальной энергии искривления. В морфометрии даёт уникальную возможность для графической иллюстрации изменений двумерных конфигураций ландмарок аналогично деформационной решётке в моделях предлагавшихся Д'Арсси-Томпсоном.

**Файбер** (*fiber*) — кривая, отслеживающая изменение определённой формы при всех возможных её вращениях вдоль поверхности гипертесеры пространства предформ после центрирования и приведения к единичному размеру центроида. Последовательные предформы вдоль файбера отличаются только ориентацией.

**Фигура** (*figure*) — представление объекта в виде координат конфигурации точек — ландмарок.

**Форма** (*form*) — в морфометрии форма объекта представляется точкой в пространстве переменных формы, которые являются измерениями геометрического объекта, не изменяющимися при его трансляции и ротации. В частности при отражении форма сохраняется, если остаются неизменными все расстояния между ландмарками. Обычно форма представлена одной из фигур в определённом положении и ориентации. При удалении различий в положении и ориентации фигур остается форма.

**Форма как таковая, или собственно форма** (*shape*) — геометрические свойства конфигурации точек, инвариантные к изменениям положения, поворота (ориентации) и масштаба (размеров). В морфометрии форма геометрического объекта выражается точкой в пространстве переменных формы, которые являются его измерениями, остающихся неизменными при выполнении преобразований подобия. Для данных, представленных конфигурацией ландмарок, форма выражается в виде отдельных точек в Кендалловом пространстве, имеющем геометрию, заданную Прокрустовыми дистанциями. Имеются и другие виды форм, например, описывающие контуры, поверхности или функции, относящиеся к пространствам с иными статистическими свойствами.

**Частные деформации** (*partial warps*) — вспомогательный конструкт для описания формы и её изменчивости. Геометрически представляют собой ортонормальный базис для тангенциального пространства; алгебраически — это собственные векторы матрицы коэффициентов энергии искривления, описывающие изменения формы вдоль каждой из координатных осей. За исключением крупномасштабных изменений и однородной компоненты, частные деформации (приблизительно) локализуемы и (приблизительно) шкалируемы. Значения частных деформаций соответствуют проекциям форм на главные деформации, вычисляются по результатам ортогонального вращения полного набора прокрустовых остатков.

**Частные наименьшие квадраты** (*Partial Least Squares*) — метод многомерного статистического анализа, использующийся для оценки отношений между двумя или более наборами переменных, измеряемых на одних и тех же объектах. Метод анализирует ковариацию между переменными, а не оптимизирует линейные комбинации переменных в разных наборах. Их вычисление не требует обращения матриц.

**Частная Прокрустова дистанция** (*Partial Procrustes distance*) — хорда, кратчайшим (минимальным) способом соединяющая целевую и эталонные точки (ближайшие на файберах).

**Энергия искривления = скручивания** (*bending energy*) — воображаемая энергия, которая потребовалась бы для искривления тонкой металлической пластины таким образом, чтобы изменить определённым нужным образом расположение на ней меток-ландмарок. Энергия искривления (**ЭИ**) для аффинной трансформации равна нулю, поскольку соответствует равномерному изменению конфигурации без искривления. Значение энергии искривления, соответствующее определённой главной деформации, обратно пропорционально масштабу последней: крупные простые сгибы пластины имеют наименьшую ЭИ, а формирование на паластине мелкой равномерной ряби — большую **Э.и.** Величину ЭИ нельзя интерпретировать как меру различий (например, как таксономическую дистанцию) между двумя формами.

**Эталонная конфигурация** (*reference configuration*), эталон — конфигурация меток, с которой совмещаются экземпляры при их сравнении. Это может быть другой экземпляр или усреднённая конфигурация. Эталон соответствует точке касания линейного тангенциального пространства к сферическому Кендаллову пространству. Использование усреднённой конфигурации предпочтительнее, поскольку позволяет минимизировать нарушения, связанные с линейной аппроксимацией.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны д.б.н. Игорю Яковлевичу Павлинову, первым открывшему для нас возможности геометрической морфометрии, а также д.б.н., проф. Александру Васильевичу Бородину, без практических рекомендаций которого на самом начальном этапе мы не смогли бы продвинуться дальше. Книга не могла бы появиться без постоянной поддержки и помощи сотрудников лаборатории эволюционной экологии ИЭРиЖ УрО РАН, а также всех наших аспирантов и студентов. Мы благодарим научного сотрудника нашей лаборатории к.б.н. Татьяну Сергеевну Ослину за обсуждение предложенного нами метода геометрической фенетики (фенограмметрии), высказанные ею полезные критические замечания и неоценимую помощь в программировании специального макроса TPSCreator в MS Excel 2010 для создания tps-файлов, а также за помощь в редактировании и корректировании текста книги. Отдельно благодарим Илью Борисовича Головачёва за огромную работу, выполненную им при компьютерной вёрстке книги. Мы благодарим Клавдию Ильиничну Ушакову за высокопрофессиональную научную и литературную редакцию книги. Благодарим всех коллег, материалы которых были упомянуты или частично использованы нами в книге: д.б.н. Л.А. Васильеву, д.б.н., проф. Н.М. Окулову, д.б.н. В.А. Лобкова, к.б.н. Ю.В. Городилову, к.б.н. В.Ю. Баранова, к.б.н. Е.Ю. Захарову, к.б.н. Н.Г. Евдокимова, к.б.н. Н.В. Синеву, к.б.н. М.В. Чибиряка, к.б.н. Е.Л. Щупак, Ю.Ф. Марина и Т.П. Коурову.

Монография подготовлена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН, а также при частичной финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН (проект № 18–4–4–28) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16–04–01831–а).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Айяла Ф. 1984. Введение в популяционную и молекулярную генетику: Пер. с англ. М.: Мир. 232с.
- Алещенко Г.М., Букварёва Е.Н. 2010. Теоретическая биология: двухуровневая иерархическая модель оптимизации биологического разнообразия // Известия РАН. Сер. Биол. №1. С.5–15.
- Антонов А.С. 2000. Основы геносистематики высших растений. М.: Наука / Интерпериодика. 136с.
- Антонов А.С. 2002. Геномика и геносистематика // Генетика. Т.38. №6. С.751–757.
- Астауров Б.Л. 1974. Наследственность и развитие. М.: Наука. 359с.
- Банникова А.А. 2004. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих // Журн. общ. биол. Т.65. №4. С.278–305.
- Безель В.С. 1987. Популяционная экотоксикология млекопитающих. М.: Наука. 129 с.
- Безель В.С. 2006. Экологическая токсикология: популяционный и биоценотический аспекты. Екатеринбург: Изд-во «Голицинский». 280с.
- Беклемишев В.Н. 1994. Методология систематики. М.: КМК Scientific Press Ltd. 250 с.
- Большаков В.Н., Васильев А.Г., Васильева И.А., Городилова Ю.В., Чибиряк М.В. 2015. Сопряженная биотопическая изменчивость ценопопуляций симпатрических видов грызунов на Южном Урале // Экология. №4. С.265–271.
- Букварёва Е.Н., Алещенко Г.М. 2013. Принцип оптимального разнообразия биосистем. М.: Т-во научных изданий КМК. 522с.
- Булатова Н.Ш., Павлова С.В., Романенко С.А. и др. 2013. Молекулярно-цитогенетические маркеры криптических видов и гибридов надвидового комплекса обыкновенных полёвок *Microtus arvalis* s.l. // Цитология. Т.55. №4. С.268–270.
- Васильев А.Г. 1988. Эпигенетическая изменчивость: неметрические пороговые признаки, фены и их композиции // Фенетика природных популяций. М. С.158–169
- Васильев А.Г. 1996. Фенетический анализ биоразнообразия на популяционном уровне. Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. докт. биол. н. Екатеринбург: ИЭРиЖ УрО РАН. 47с.
- Васильев А.Г. 2005. Эпигенетические основы фенетики: на пути к популяционной мерономии. Екатеринбург: Академкнига. 639с.
- Васильев А.Г. 2009. Феногенетическая изменчивость и популяционная мерономия // Журн. общ. биол. Т.70. №3. С.195–209.
- Васильев А.Г. 2012. Проблема устойчивости форпостных популяций и сообществ: от теории к методам оценки // Биологические системы: устойчивость, прин-

- ципы и механизмы функционирования: мат-лы IV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. [Нижний Тагил], 26–29 марта 2012 г. Нижний Тагил: НТГСПА. Ч.1. С.76–80.
- Васильев А.Г., Большаков В.Н., Васильева И.А., Синева Н.В. 2016. Последствия интродукции ондатры в Западной Сибири: морфофункциональный аспект // Российский журн. биол. инвазий. №4. С.2–13.
- Васильев А.Г., Большаков В.Н., Синева Н.В. 2014. Отдалённые морфогенетические последствия акклиматизации ондатры в Западной Сибири // Докл. Академии наук. Т.455. №4. С.478–480.
- Васильев А.Г., Васильева И.А. 2005. Эпигенетические перестройки популяций как вероятный механизм наступления биоценотического кризиса // Вестн. Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. Сер. Биол. Вып.1(9). С.27–38.
- Васильев А.Г., Васильева И.А. 2009. Гомологическая изменчивость морфологических структур и эпигенетическая дивергенция таксонов: Основы популяционной мерономии. М.: Т-во научных изданий КМК. 511с.
- Васильев А.Г., Васильева И.А., Большаков В.Н. 2007. Феногенетическая изменчивость и методы ее изучения. Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та. 279с.
- Васильев А.Г., Васильева И.А., Городилова Ю.В., Чибиряк М.В. 2010. Соотношение морфологического и таксономического разнообразия сообществ грызунов в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа на Южном Урале // Экология. №2. С.119–125.
- Васильев А.Г., Васильева И.А., Городилова Ю.В., Добринский Н.Л. 2017а. Принцип компенсации Ю.И. Чернова и влияние полноты состава сообщества грызунов на изменчивость популяции рыжей полёвки (*Clethrionomys glareolus*) на Среднем Урале // Экология. №2. С.116–125.
- Васильев А.Г., Васильева И.А., Городилова Ю.В., Чибиряк М.В. 2013. Сопряженная техногенная морфологическая изменчивость двух симпатрических видов грызунов в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа // Вопр. радиац. безопасности. №4. С.4–13.
- Васильев А.Г., Васильева И.А., Коурова Т.П. 2017б. Принципы и методы популяционно-ценологического мониторинга // Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования. Сб. ст. V Всерос. науч.-практ. конф., 1–4 марта 2017 г. [г. Нижний Тагил]. Нижний Тагил: НТГСПИ. С.78–87.
- Васильев А.Г., Марин Ю.Ф., Васильева И.А. 2006. Феногенетический мониторинг берёзы повислой (*Betula pendula*): оценка качества среды в Висимском заповеднике и в зоне влияния техногенных поллютантов от предприятий цветной металлургии // Экологические исследования в Висимском биосферном заповеднике. Мат-лы науч. конф. Екатеринбург: Новое время. С.85–93.
- Васильева И.А. 2006. Закономерности гомологической изменчивости морфологических признаков грызунов на разных этапах эволюционной дивергенции. Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. докт. биол. н. Екатеринбург: ИЭРиЖ УрО РАН. 46 с.

- Воробейчик Е.Л. 2004. Экологическое нормирование токсических нагрузок на наземные экосистемы Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. докт. биол. н. Екатеринбург: ИЭРиЖ УрО РАН. 48с.
- Воробейчик Е.Л., Ермаков А.И., Золотарёв М.П., Тунева Т.К. 2012. Изменение разнообразия почвенной мезофауны в градиенте промышленного загрязнения // *Rus. Entomol. J.* Vol.21. №2. P.203–218.
- Воробейчик Е.Л., Пищулин П.Г. 2009. Влияние отдельных деревьев на *pH* и содержание тяжелых металлов в лесной подстилке в условиях промышленного загрязнения // *Почвоведение.* №8. С.927–939.
- Воробейчик Е.Л., Трубина М.Р., Хантемирова Е.В., Бергман И.Е. 2014. Многолетняя динамика лесной растительности в период сокращения выбросов медеплавильного завода // *Экология.* №6. С.448–458.
- Воробьева Э.И. 2005. Филогенетические принципы и критерии на модели *Sarcopterigii* // Эволюционные факторы формирования животного мира. М. С.44–59.
- Гамбарян П.П. 1972. Бег млекопитающих. Приспособительные особенности органов движения. Л.: Изд-во Наука, Ленингр. отд., 334с.
- Геодакян В.А. 1983. Онтогенетическое правило полового диморфизма // *ДАН СССР.* Т.269. №2. С.477–481.
- Геодакян В.А. 1981. Половой диморфизм и «отцовский эффект» // *Журн. общ. биол.* Т.42. №5. С.657–668.
- Геодакян В.А. 2000. Эволюционные хромосомы и эволюционный половой диморфизм // *Известия Акад. наук, Сер. биол.* №2. С.133–148.
- Гилберт С.Ф., Опиц Д.М., Рэф Р.А. 1997. Новый синтез эволюционной биологии и биологии развития // *Онтогенез.* Т.28. №5. С.325–343.
- Глотов Н.В. 1983. Генетическая гетерогенность природных популяций по количественным признакам. Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. докт. биол. н. Ленинград: АН СССР, Ленингр. госуд. университет. 33с.
- Дэвис Д.С. 1990. Статистический анализ данных в геологии. Кн.2. М.: Недра. 427с.
- Ефимов В.М., Ковалева В.Ю. 2008. Многомерный анализ биологических данных. Учебное пособие. Санкт-Петербург: ВИЗР. 85с.
- Жерихин В.В. 2003. Избранные труды по палеоэкологии и филогенетике. М.: Т-во научных изданий КМК. 542с.
- Захаров В.М. 1982. Анализ стабильности индивидуального развития как метод определения оптимальных условий развития // *ДАН СССР.* Т.267. №4. С.1016–1018.
- Захаров В.М. 1987. Асимметрия животных (популяционно-фенетический подход). М.: Наука. 213 с.
- Захаров В.М., Кларк Д.М. 1993. Биотест. Интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов. М.: Моск. отдел. Междунар. фонда «Биотест». 68с.
- Захаров В.М., Чубинишвили А.Т., Дмитриев С.Г., Баранов А.С. Борисов В. И., Валецкий А. В., Крысанов Е. Ю., Кряжева Н. Г., Пронин А. В., Чистякова Е. К. 2000. Здоровье среды: практика оценки. М.: Изд-во Центра экол. политики России. 318с.

- Зорина А.А. 2012. Методы статистического анализа флуктуирующей асимметрии // Принципы экологии. №3. С.24–47
- Корона В.В., Васильев А.Г. 2000. Строение и изменчивость листьев растений: Основы модульной теории. Екатеринбург: Изд-во «Екатеринбург». 224с.
- Корона В.В., Васильев А.Г. 2007. Строение и изменчивость листьев растений: основы модульной теории. 2-е изд., испр. и доп. Екатеринбург: УрО РАН. 280с.
- Коротеева Е.В., Куянцева Н.Б., Весёлкин Д.В., Чащина О.Е. 2015. В градиенте влияния выбросов Карабашского медеплавильного комбината изменяется размер, но не флуктуирующая асимметрия листа берёзы повислой // Докл. Акад. наук. Т.460. №3. С.364–367.
- Кренке Н.Н. 1933–1935. Феногенетическая изменчивость. Т.1. М.: Изд-во Биол. ин-та им. К.А.Тимирязева. 368с.
- Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Захаров В.М. 1996. Анализ стабильности развития берёзы повислой в условиях химического загрязнения // Экология. №6. С.41–444.
- Лэк Д. 1949. Дарвиновы выюрки. М.: Изд-во Иностранной литературы 200 с.
- Любарский Е.Л. 1976. Ценопопуляция и фитоценоз. Казань: Изд-во Казанск. ун-та. 157с.
- Майр Э. 1968. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир. 597с.
- Малыгин В.М. 1983. Систематика обыкновенных полёвок. М.: Наука. 207с.
- Марков А.В., Наймарк Е.Б. 1998. Количественные закономерности макроэволюции. Опыт применения системного подхода к анализу развития надвидовых таксонов. М.: Геос. 318с.
- Маркова Е. А., Бородин А. В., Гилёва Э. А. 2003. Одонтологические признаки обыкновенной (*Microtus arvalis*) и восточно-европейской (*M. rossiaemeridionalis*) полёвок Уральского региона и их диагностическое значение // Зоол. журн. Т.82. №9. С.1086–1094.
- Медников Б.М. 2005. Избранные труды. Организм, геном, язык. М.: Т-во научных изданий КМК. 452с.
- Мейен С.В. 1984. Принципы исторических реконструкций в биологии // Ю.А. Шрейдер (ред.). Системность и эволюция. М.: Наука. С.7–32.
- Мейен С.В. 1988. Проблемы филогенетической классификации организмов // Современная палеонтология: методы, направления, проблемы, практическое приращение. Т.2. Спр. пособ. В 2 т. М. С.497–511.
- Мейер М.Н., Голенищев Ф.Н., Раджабли С.И., Саблина О.В. 1996. Серые полёвки (подрод *Microtus*) флуны России и сопредельных территорий. Санкт-Петербург. 320 с.
- Мейер М.Н., Дитятев А.Э. 1989. Применение линейного дискриминантного анализа в диагностике видов-двойников обыкновенной полёвки (Rodentia, Microtinae) // Зоол. журн. Т.68. Вып.7. С.119–129.
- Мигалина С.В. 2011. Изменение морфологии и структуры листа *Betula pendula* Roth и *Betula pubescens* Ehrh. при адаптации к климату. Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. канд. биол. н. Екатеринбург. 20с.

- Мина М.В. 1986. Микроэволюция рыб. М.: Наука. 207с.
- Новожинов Ю.И. 1980. Полиморфизм и непрерывная изменчивость в популяциях насекомых // Журн. общей биол. Т.41. №. С.668–679.
- Окулова Н.М., Баскевич М.И. 2007. Краниометрическая диагностика трёх близких форм обыкновенной полёвки *Microtus arvalis sensu lato* // Докл. Акад. наук. Т.412. №3. С.427–730.
- Ослина Т. С., Васильев А. Г., Васильева И. А. 2018. TpsCreator – программа конвертации индивидуальной и групповой встречаемости фенотипов в формат файла tps для Microsoft® Office Excel. [URL: <http://www.ipae.uran.ru/lab106/TpsCreator.zip> ]
- Паавер К.Л. 1976. Вопросы синтетического подхода к биоморфологии. Таллин: Валгус. 256с.
- Павлинов И.Я. 2000а. Дополнительные материалы по использованию геометрической морфометрии при анализе изменчивости коренных зубов у полёвок (род *Alticola*, Rodentia, Mammalia) // Зоол. журн. Т.79. №1. С.104–107.
- Павлинов И.Я. 2000б. Геометрическая морфометрия черепа мышевидных грызунов (Mammalia, Rodentia): связь формы черепа с пищевой специализацией // Журн. общ. биол. Т.61. №6. С.583–600.
- Павлинов И.Я. 2004. Анализ изменчивости верхних промежуточных зубов у землероек-бурозубок (Mammalia: Sorex) методами геометрической морфометрии // Зоол. журн. Т.83. №7. С.869–875.
- Павлинов И.Я. 2005. Введение в современную филогенетику. М.: Т-во научных изданий КМК. 391с.
- Павлинов И.Я., Микешина Н.Г. 2002. Принципы и методы геометрической морфометрии // Журн. общ. биол. Т.63. №6. С.473–493.
- Павлинов И.Я., Нанова О.Г. 2008. Геометрическая морфометрия верхних зубных рядов песцов (*Alopex lagopus*; Mammalia: Canidae) Евразии // Зоол. журн. Т.87. №3. С.344–347.
- Павлов Д.С., Букварёва Е.Н. 2007. Биоразнообразие, экосистемные функции и жизнеобеспечение человечества // Вестник РАН. Т.77. №11. С.974–986.
- Пианка Э. 1981. Эволюционная экология. М.: Мир. 399с.
- Поздняков А.А., Литвинов Ю.Н. 1994. Экогеографическая интерпретация морфотипической изменчивости жевательной поверхности коренных зубов полёвки-экономки *Microtus oeconomus* (Rodentia, Cricetidae) // Зоол. журн. Т.73. №2. С.151–157.
- Пузаченко А.Ю. 2013. Инварианты и динамика морфологического разнообразия (на примере черепа млекопитающих). Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. докт. биол. н.н. М.: ФГБУН Институт географии РАН 48с.
- Работнов Т.А. 1969. Некоторые вопросы изучения ценологических популяций // Бюл. Моск. о-ва исп. прир. Отд. биол. Т.74. Вып.1. С.141–149.
- Северцов А.Н. 1921. Этюды по теории эволюции. Индивидуальное развитие и эволюция. Берлин: Гос. изд-во Р.С.Ф.С.Р. 312с.
- Северцов А.С. 1990. Направленность эволюции. М.: Изд-во Моск. ун-та. 272с.

- Северцов А.С. 2013. Эволюционная экология позвоночных животных. М.: Т-во научных изданий КМК. 347с.
- Сергеев В.Е. 2003. Эколого-эволюционные факторы организации сообществ бурозубок Северной Евразии. Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. докт. биол. н. Новосибирск: Институт систематики и экологии СО РАН. 33с.
- Серебровский А.С. 1970. Генетический анализ. М.: Наука. 338с.
- Сингер М., Берг П. 1998. Гены и геномы. В 2-х т. Т.1. М.: Мир. 373с.
- Смирнов Н.Г. Динамика видов и их комплексов как предмет исследований исторической экологии // Экология. 2006. №6. С.452–456.
- Смирнов Н.Г., Большаков В.Н., Бородин А.В. 1986. Плейстоценовые грызуны Севера Западной Сибири. М.: Наука. 144с.
- Струнников В.А., Вышинский И.М. 1991. Реализационная изменчивость у тутового шелкопряда // Проблемы генетики и теории эволюции. Новосибирск: Наука. С.99–114.
- Тимофеев-Ресовский Н.В., Иванов В.И. 1966. Некоторые вопросы фенотипики // Актуальные вопросы современной генетики. М.: Изд-во МГУ. С.114–130.
- Тимофеев-Ресовский Н.В., Яблоков А.В., Глотов Н.В. 1973. Очерк учения о популяции. М.: Наука. 278с.
- Трубина М.Р., Воробейчик Е.Л. 2013. Содержание тяжелых металлов в лекарственных растениях в зоне действия Среднеуральского медеплавильного завода // Растительные ресурсы. Вып.2. С.203–222.
- Уолдингтон К.Х. 1964. Морфогенез и генетика. М.: Мир. 267с.
- Уранов А.А. 1975. Возрастной спектр фитоценопопуляций как функция времени и энергетических волновых процессов // Биол. науки. №2. С.7–34.
- Урманцев Ю.А. 1972а. Опыт аксиоматического построения общей теории систем // Системные исследования. Ежегодник. 1971. М.: Наука. С.128–152.
- Урманцев Ю.А. 1972б. Что должно быть, что может быть, чего быть не может для систем // Развитие концепции структурных уровней в биологии. М.: Наука. С.294–304.
- Филиппченко Ю.А. 1923. Изменчивость и методы ее изучения. Петроград. 240с.
- Филиппченко Ю.А. 1977. Эволюционная идея в биологии. М. 227с.
- Чайковский Ю.В. 1990. Элементы эволюционной диатропики. М.: Наука. 270с.
- Чайковский Ю.В. 2017. Эволюция как идея. М.: Т-во научных изданий КМК. 159с.
- Чернов Ю.И. 1984. Эволюционный процесс и историческое развитие сообществ // Фауногенез и филоценогенез. М.: Наука. С.5–23.
- Чернов Ю.И. 1991. Биологическое разнообразие: сущность и проблемы // Усп. совр. биол. Т.111. Вып.4. С.499–507.
- Чернов Ю.И. 1996. Эволюционная экология — сущность и перспективы // Усп. совр. биол. Т. 116. Вып.3. С.277–291.
- Чернов Ю.И. 2005. Видовое разнообразие и компенсационные явления в сообществах и биотических системах // Зоол. журн. Т.84. №10. С.1221–1238.

- Чернов Ю.И. 2008. Экология и биогеография. Избранные работы. М.: Т-во научных изданий КМК. 580с.
- Шаталкин А.И. 2002. Проблема архетипа и современная биология // Журн. общ. биол. Т.63. №4. С.275–291.
- Шаталкин А.И. 2005. Молекулярная филогения — революционный прорыв в систематике // Эволюционные факторы формирования животного мира. М.: Т-во научных изданий КМК. С.30–43.
- Шварц С.С. 1969. Эволюционная экология животных (Экологические механизмы эволюционного процесса). Свердловск. 198 с. (Тр. Ин-та экол. растений и животных).
- Шварц С.С. 1980. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука. 277с.
- Шипунов А.Б., Балдин Е.М., Волкова П.А., Коробейников А.И. и др. 2014. Наглядная статистика. Используем R! 297 с. [Электронный ресурс Библиотеки А.Б. Шипунова «Флора и фауна»].
- Шишкин М.А. 1984. Индивидуальное развитие и естественный отбор // Онтогенез. Т.15. №2. С.115–136.
- Шишкин М.А. 1988. Эволюция как эпигенетический процесс // Современная палеонтология. Т.2. Ч.7. Общие закономерности эволюции органического мира. М.: Недра. С.142–168.
- Шишкин М.А. 2006. Индивидуальное развитие и уроки эволюционизма // Онтогенез. Т.37. №3. С.119–138.
- Шишкин М.А. 2010. Эволюционная теория и научное мышление // Палеонтол. журн. № 6. С.3–17.
- Шишкин М.А. 2012. Системная обусловленность формообразования и ее проявления в палеонтологической летописи // Палеонтол. журн. № 4. С.3–15.
- Шмальгаузен И.И. 1938. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 144 с.
- Шмальгаузен И.И. 1940. Возникновение и преобразование системы морфогенетических корреляций в процессе эволюции // Журн. общ. биол. Т.1. №3. С.349–370.
- Шмальгаузен И.И. 1946. Факторы эволюции. (Теория стабилизирующего отбора). М.; Л.: Изд-во АН СССР. 396с.
- Шмальгаузен И.И. 1983. Пути и закономерности эволюционного процесса. М.: Наука. 360с.
- Яблоков А.В. 1966. Изменчивость млекопитающих. М.: Наука. 364с.
- Яблоков А.В. 1980. Фенетика. Эволюция, популяция, признак. М.: Наука. 135с.
- Яблоков А.В. 1987. Популяционная биология: Учеб. пос. для биол. спец. вузов. М.: Высш. школа. 303с.
- Яблоков А.В., Ларина Н.И. 1985. Введение в фенетику популяций. М.: Высш. школа. 160с.
- Ялковская Л.Э., Бородин А.В., Фоминых М.А. 2014. Модульный подход к изучению флуктуирующей асимметрии комплексных морфологических структур у

- грызунов на примере нижней челюсти рыжей полёвки (*Clethrionomys glareolus*, Arvicolinae, Rodentia) // Журн. общ. биол. Т.75. №5. С.385–393.
- Abouheif E. 1999. A method for testing the assumption of phylogenetic independence in comparative data // *Evol. Ecol. Res.* Vol.1. P.895–909.
- Adams D.C. 2002. Review of: Morphology, Shape and Phylogeny // *Biometrics.* Vol.58. P.694–695.
- Adams D.C. 2014. A generalized k statistic for estimating phylogenetic signal from shape and other high-dimensional multivariate data // *Syst. Biol.* Vol.63. No.5. P.685–697.
- Adams D.C., Collyer M., Sherratt E. 2016. Geomorph 3.0.1: Software for geometric morphometric analyses. R package version 3.0.1. Available at <http://CRAN.R-project.org/package=geomorph>.
- Adams D.C., Collyer M.L., Kaliontzopoulou A., Sherratt E. 2017. Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 3.0.5. P.1–139. [Электронный ресурс – URL: <https://cran.r-project.org/package=geomorph>].
- Adams D.C., Otárola-Castillo E. 2013. Geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data // *Methods in Ecol. and Evol.* Vol.4. P.393–399.
- Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress after the «revolution» // *Italian J. of Zool.* Vol.71. P.5–16.
- Adams D.C., Rohlf F.J., Slice D.E. 2013. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century // *Hystrix, the Italian J. of Mammalogy.* Vol.24. No.1. P.7–14.
- Albertson R.C., Kocher T.D. 2006. Genetic and developmental basis of cichlid trophic diversity // *Heredity.* Vol.97. P.211–221.
- Archie J.W. 1989. Homoplasy excess ratios: new indices for measuring levels of homoplasy in phylogenetic systematic and critique of the consistency index // *Syst. Zool.* Vol.38. P.253–269.
- Banister K.E. 1973. A revision of the large Barbus (Pisces: Cyprinidae) of East and Central Africa: studies on African Cyprinidae, part 2 // *Bull. Br. Mus. Nat. His.* Vol.26. P.167–180. (цит. по de Graaf et al., 2010)
- Bilder R.M., Sabb F., Cannon T.D., London E.D., Jentsch J.D., Parker D.S., Poldrack R.A., Evans Ch., Freimer N.B. 2009. Phenomics: The systematic study of phenotypes on a genome-wide scale // *Neuroscience.* Vol.164. No.1. P.30–42.
- Blomberg S.P., Garland T. 2002. Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods // *J. Evol. Biol.* Vol.15. P.899–910.
- Blomberg S.P., Garland Th., Ives A.R. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile // *Evolution.* Vol.57. No.4. P.717–745.
- Bonduriansky R. 2012. Rethinking heredity, again // *Trends in Ecol. & Evol.* Vol.27. P.330–336.
- Bonduriansky R. 2013. Nongenetic inheritance for behavioral ecologists // *Behav. Ecol.* Vol.24. P.326–327.

- Bonduriansky R., Crean A.J., Day T. 2012. The implications of nongenetic inheritance for evolution in changing environments // *Evol. Appl.* Vol.5. P.192–201.
- Bookstein F.L. 1986. The elements of latent variable models: a cautionary lecture // M.E. Lamb, A.L. Brown, B. Rogoff (eds). *Advances in developmental psychology.* Hillsdale, NJ: Laurence Erlbaum. Vol.4. P.203–230.
- Bookstein F.L. 1989a. “Size and shape”: a comment on semantics // *Syst. Zool.* Vol.38. No.2. P.173–180.
- Bookstein F.L. 1989b. Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations // *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence.* Vol.11. P.567–585.
- Bookstein F.L. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology.* N.Y.: Cambridge Univ. Press. 435p.
- Bookstein F.L. 1996. Combining the tools of geometric morphometrics // L. Marcus, M. Corti, A. Loy, D.Slice (eds). *Advances in morphometrics.* N.Y.; L.: Plenum Press. P.131–152.
- Bookstein F.L. 1997. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape // *Medical Image Analysis.* Vol.1. P.225–243.
- Bowman R.I. 1961. Morphological differentiation and adaptation in the Galapagos finches // *Univ. Calif. Publ. Zool.* Vol.58. P.1–302.
- Brakefield P.M. 2006. Evo-devo and constraints on selection // *Trends in Ecol. & Evol.* Vol.21. No.7. P.362–368.
- Breuker C.J., Debat V., Klingenberg C.P. 2006. Functional Evo-devo // *Trends in Ecol & Evol.* Vol.21. No.9. P.488–492.
- Burns K.J., Hackett Sh.J., Klein N.K. 2002. Phylogenetic relationships and morphological diversity in Darwin’s finches and their relatives // *Evolution.* Vol.56. No.6. P.1240–1252.
- Cardini A. 2014. Missing the third dimension in geometric morphometrics: how to assess if 2D images really are a good proxy for 3D structures? // *Hystrix. Ital. J. Mammal.* Vol.25. P.73–81.
- Chapman R.E. 1990. Conventional Procrustes approaches // F.J. Rohlf, F.L. Bookstein (eds.). *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop.* University of Michigan Museum of Zool. Ann. Arbor, MI. P.251–267.
- Ciampaglio C.N., Kemp M., McShea D.W. 2001. Detecting changes in morphospace occupation patterns in the fossil record: characterization and analysis of measures of disparity // *Paleobiology.* Vol.27. No.4. P.695–715.
- Claude J. 2008. *Morphometrics with R.* New York: Springer. 316p.
- Cole III Th. M., Lele S., Richtsmeier J.T. 2002. A parametric bootstrap approach to the detection of phylogenetic signals in landmark data // N. MacLeod, P.L. Forey. (eds.). *Morphology, shape and phylogeny.* Syst. Assoc. spec. volume series; 64. N.Y., Lond.: Teilor & Francis Inc. P.194–219.
- Colless D.H. 1985. On ‘character’ and related terms // *Syst. Zool.* Vol.34. P.229–233.

- Corti M. 1993. Geometric morphometrics: An extension of the revolution // *Trends in Ecol. & Evol.* Vol.8. P.302–303.
- Coyne J.A., Orr H.A. 2004. *Speciation*. Sunderland, MA: Sinauer. 545p.
- Danley P.D., Kocher T.D. 2001. Speciation in rapidly diverging systems: lessons from Lake Malawi // *Mol. Ecol.* Vol.10. P.1075–1086.
- de Beer G. 1971. *Homology, an unsolved problem*. Glasgow: Oxford Univ. Press. 16 p.
- de Graaf M. 2003. Lake Tana's piscivorous *Barbus* (Cyprinidae, Ethiopia): Ecology, Evolution, Exploitation: Ph.D. Thesis. Wageningen, the Netherlands: Wageningen University. 249p.
- de Graaf M., Dejen E., Osse J.W.M., Sibbing F.A. 2008. Adaptive radiation of Lake Tana's Labeobarbus species flock (Pisces, Cyprinidae) // *Marine and Freshwater Research*. Vol.59. P.391–407.
- de Graaf M., Megens H.-J., Samallo J., Sibbing F. 2010. Preliminary insight into the age and origin of the Labeobarbus fish species flock from Lake Tana (Ethiopia) using the mtDNA cytochrome b gene // *Molec. Phylogenetics & Evol.* Vol.54. P.336–343.
- de Graaf M., Samallo J., Megens H.J., Sibbing F.A. 2007. Evolutionary origin of Lake Tana's (Ethiopia) small *Barbus* species: indications of rapid ecological divergence and speciation // *Anim. Biol.* Vol.57. P.39–48.
- Debat V., Alibert P., David P., Paradis E., Auffray J.-C. 2000. Independence between developmental stability and canalization in the skull of the house mouse // *Proc. Royal Soc. Lond. Biol.* Vol.267. P.423–430.
- Diniz-Filho J.A.F., Santos Th., Rangel Th.F., Bini L.M. 2012. A comparison of metrics for estimating phylogenetic signal under alternative evolutionary models // *Genetics and Molec. Biol.* Vol.35. No.3. P.673–679.
- Donnelly K.P. 1978. Simulations to determine the variance and edge effect of total nearest neighbor distance // I. Hodder (ed.) *Simulation studies to archeology*. Cambridge: Cambridge Univ. Press. P.91–95.
- Drake A.G., Klingenberg C.P. 2008. The pace of morphological change: historical transformation of skull shape in St Bernard dogs // *Proc. R. Soc. B.* Vol.275. P.71–76.
- Drake A.G., Klingenberg C.P. 2010. Large-scale diversification of skull shape in domestic dogs: disparity and modularity // *Amer. Nat.* Vol.175. No.3. P.289–301.
- Dryden I.L., Mardia K.V. 1998. *Statistical shape analysis*. Chichester: Wiley. 376 p.
- Dryden I. 2012. *Shapes: Statistical shape analysis*. R package version 1.1–10. (program). [URL: <http://cran.r-project.org/package=shapes>].
- Dujardin J.-P. *Collecting Landmarks for Identification and Characterization (CLIC)*. Agropolis. Montpellier. France. 2010 (program).
- Duncan E.J., Gluckman P.D., Dearden P.K. 2014. Epigenetics, plasticity and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? // *J. Exp. Zool. Part B. Molecular and Developmental Evolution*. Vol.322B. P.208–220.
- Falconer D.S. 1960. *Introduction to quantitative genetics* (3rd ed.). N.Y.: Longman. 438 p.

- Farris J.S. 1989. The retention index and the rescaled consistency index // *Cladistics*. Vol.5. P.417–419.
- Foote M. 1993a. Contributions of individual taxa to overall morphological disparity // *Paleobiology*. Vol.19. P.403–419.
- Foote M. 1993b. Discordance and concordance between morphological and taxonomic diversity // *Paleobiology*. Vol.19. P.185–204.
- Foote M. 1994. Morphological disparity in Ordovician-Devonian crinoids and the early saturation of morphological space // *Paleobiology*. Vol.20. P.320–344.
- Foote M. 1997. The evolution of morphological diversity // *Ann. Rev. Ecol. & Syst.* Vol.28. P.129–152.
- Franklin D., Oxnard C.E., O'Higgins P., Dadour I. 2007. Sexual dimorphism in the subadult mandible: quantification using geometric morphometrics // *J. Forensic Sci.* Vol.52. P.6–10.
- Fruciano C. 2016. Measurement error in geometric morphometrics // *Development Genes and Evolution*. Vol. 226. P.139–158.
- Gingras B., Mohandesan E., Boko D., Fitch W.T. 2013. Phylogenetic signal in the acoustic parameters of the advertisement calls of four clades of anurans // *BMC Evolutionary Biology*. Vol.13. P.134–146.
- Golubtsov A.S., Krysanov E.Y. 1993. Karyological study of some cyprinid species from Ethiopia. The ploidy differences between large and small *Barbus* of Africa // *J. Fish Biol.* Vol.42. P.445–455.
- Goodall C. 1991. Procrustes methods in the statistical analysis of shape // *J. R. Stat. Soc. B*. Vol.53. P.285–339.
- Gould S.J. 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press. 501p.
- Gower J.C. 1975. Generalized Procrustes analysis // *Psychometrika*. Vol.40. P.33–51.
- Grant B.R., Grant P.R. 1993. Evolution of Darwin's Finches caused by a rare climatic event // *Proc. Biol. Sci.* Vol.251. Iss.1331. P.111–117.
- Grant P., Grant R. 2008. *How and why species multiply: the radiation of Darwin's finches*. Princeton, NJ: Princeton Univ. Press. 228p.
- Grüneberg H. 1951. The genetics of a tooth defect in the mouse // *Proc. R. Soc. B*. Vol.138. P.437–451.
- Grüneberg H. 1963. *The Pathology of Development*. Oxford: Blackwell. 309p.
- Haecker V. 1918. *Entwicklungsgeschichtliche Eigenschaftsanalyse (Phänogenetik). Gemeinsame Aufgaben und Entwicklungsgeschichte*. Jena: G. Fischer. X + 344S.
- Haecker V. 1925. *Aufgaben und Ergebnisse der Phänogenetik* // J.P. Lotsy, H.N. Kooiman (Hrsg.). *Bibliographia Genetica*. The Hague: Martinus Nijhoff. Bd.1. S.93–314.
- Hall B.K. 2000. Guest editorial: Evo-Devo or Devo-Evo — Does it matter? // *Evol. & Devel.* Vol.2. P.177–178.
- Hall B.K. 2003. Evo-Devo: evolutionary developmental mechanisms // *Int. J. Dev. Biol.* Vol.47. P.491–495.

- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica*. Vol.4. No.1. P.1–9. (program) [URL:[http://palaeoelectronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.html](http://palaeoelectronica.org/2001_1/past/issue1_01.html)].
- Hammer Ø. 2009. New methods for the statistical analysis of point alignments // *Computers and Geosciences*. Vol.35. P.659–666.
- Hansen T.F., Martins E.P. 1996. Translating between microevolutionary process and macroevolutionary patterns: the correlation structure of interspecific data // *Evolution*. Vol.50. P.1404–1417.
- Helm-Bychowski K., Cracraft J. 1993. Recovering phylogenetic signal from DNA sequences: relationships within the corvine assemblage (class Aves) as inferred from complete sequences of the mitochondrial DNA cytochrome-b gene // *Mol. Biol. Evol.* Vol.10(6). P.1196–1214.
- Houle D., Govindaraju D.R., Omholt S. 2010. Phenomics: the next challenge // *Nat. Rev. Genetics*. Vol.11. P.855–866.
- Iwata H., Ukai Y. 2002. SHAPE: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors // *J. Heredity*. Vol.93. P.384–385.
- Iwata H. 2006. SHAPE Ver. 1.3. A software package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. National Agricultural Research Organization. Japan. 29 p. [URL: <http://cse.naro.affrc.go.jp/iwatah/>].
- Jablonka E., Raz G. 2009. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution // *Qvart. Rev. Biol.*, Vol.84. P.131–176.
- Janzen D.H. 1980. When is it coevolution? // *Evolution*. Vol.34. No.3. P.611–612.
- Jobe J.M., Pokojovy M. 2014. A cluster-based outlier detection scheme for multivariate data // *Journal of the American Statistical Association*. Vol.110. P.1543–1551.
- Johannsen W. 1911. The genotype conception of heredity // *Amer. Nat.* Vol.45. P.129–159.
- Johnson L.I., Tricker P.J. 2010. Epigenomic plasticity within populations: its evolutionary significance and potential // *Heredity*. Vol.105. P.113–121.
- Kendall D. 1977. The diffusion of shape // *Advances in Applied Probability*. Vol.9. P.428–430.
- Kendall D.G. 1984. Shape manifolds, procrustean metrics and complex projective spaces // *Bull. Lond. Math. Soc.* Vol.16. P.81–121.
- Kidwell M.G., Lisch D. 1997. Transposable elements as sources of variation in animals and plants // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol.94. P.7704–7711.
- Klingenberg C.P. 2003. Developmental instability as a research tool: using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developmental origins of morphological integration // M. Polak (ed.). *Developmental Instability: Causes and Consequences*. N.Y.: Oxford Univ. Press. P.427–442.
- Klingenberg C. P. 2008. Morphological integration and developmental modularity // *Ann. Rev. Ecol., Evol. & Syst.* Vol.39. P.115–132.

- Klingenberg C.P. 2009. Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: Tools for evaluating a-priori hypotheses // *Evol. & Devel.* Vol.11. P.405–421.
- Klingenberg C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics // *Molec. Ecol. Resources.* Vol.11. P.353–357.
- Klingenberg, C.P. 2013a. Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes // *Hystrix, the Italian J. Mammalogy.* Vol.24..1. P.15–24.
- Klingenberg C.P. 2013b. Cranial integration and modularity: insights into evolution and development from morphometric data // *Hystrix, the Italian J. Mammalogy,* Vol.24. No.1. P.43–58.
- Klingenberg C.P., Barluenga M., Meyer A. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry // *Evolution.* Vol.56. No.10. P.1909–1920.
- Klingenberg C.P., Gidaszewski N.A. 2010. Testing and quantifying phylogenetic signals and homoplasy in morphometric data // *Syst. Biol.* Vol.59. No.3. P.245–261.
- Klingenberg C.P., McIntyre G.S. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods // *Evolution.* Vol.52. P.1363–1375.
- Klingenberg C.H., Mebus K., Auffray J.-C. 2003. Developmental integration in a complex structure: how distinct are modules in the mouse mandible? // *Evol. and Devel.* Vol.5. No.5. P.522–531.
- Klingenberg C.P., Monteiro L.R. 2005. Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications // *Syst. Biol.* Vol.54. No.4. P.678–688.
- Kluge A.G., Farris J.S. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans // *Syst. Zool.* Vol.18. P.1–32.
- Kim J., Kim M. 2001. The mathematical structure of characters and modularity // G.P. Wagner (ed.). *The character concept in evolutionary biology.* San Diego: Acad. Press. P.215–236.
- Kondrashov A.S., Mina M.V. 1986. Sympatric speciation: when is it possible? // *Biol. J. Linn. Soc.* Vol.27. P.201–223.
- Kozlov M.V., Wilsey B.J., Koricheva J., Haukioja E. 1996. Fluctuating asymmetry of birch leaves in-creases under pollution impact // *J. Appl. Ecol.* Vol.33. P.1489–1495.
- Kozlov M.V. 2003. Are fast growing birch leaves more asymmetrical // *Oikos.* Vol.101. No.3. P.654–658.
- Krasnov B.R., Poulin R., Mouillot D. 2011. Scale-dependence of phylogenetic signal in ecological traits of ectoparasites // *Ecography.* Vol.34. P.114–122.
- Kurten B. 1988. *On evolution and fossil mammals.* N.Y.: Columbia Univ. Press. 301 p.
- Lamb H.F., Bates C.R., Coombes P.V., Marshall M.H. Umer M., Davies S.J., Dejen E. 2007. Late Pleistocene desiccation of Lake Tana, source of the Blue Nile // *Quat. Sci. Rev.* Vol.26. P.287–299.

- Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R. et al. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0 // *Bioinformatics. Applications Note*. Vol.23. No.21. P.2947–2948.
- Ledón-Rettig C.C. 2013. Ecological epigenetics: an introduction to the symposium // *Integr. and Compar. Biol.* Vol.53. No.2. P.307–318.
- Lele S. 1993. Euclidean distance matrix analysis (EDMA): estimation of mean form and mean form difference // *Math. Geol.* Vol.25. P.573–602.
- Lele S., Richtsmeier J.T. 1991. Euclidean distance matrix analysis: a coordinate free approach to comparing biological shapes using landmark data // *Amer. J. Physic. Anthropol.* Vol.86. P.415–428.
- MacLeod N. 2002. Phylogenetic signals in morphometric data // N. MacLeod, P.L. Forey (eds). *Morphology, shape and phylogeny* // *Syst. Ass. Spec. Vol. Ser. 64*. London: Taylor & Francis Inc. P.100–138.
- MacLeod N., Krieger J., Jones K.E. 2013. Geometric Morphometric Approaches to Acoustic Signal Analysis in Mammalian Biology // *Hystrix, the Italian J. Mammalogy*. Vol.24. No.1. P.110–125.
- Maddison W.P. 1991. Squared-change parsimony reconstructions of ancestral states for continuous-valued characters on a phylogenetic tree // *Syst. Zool.* Vol.40. P.304–314.
- Marcus L.F., Hingst-Zaher E., Zaher H. 2000. Applications of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals // *Hystrix, the Italian J. Mammalogy*. Vol.11. P.24–48.
- Mardulin P., Whitfield J.B. 1999. Phylogenetic signal in the COI, 16S, and 28S genes for inferring relationships among genera of Microgastrinae (Hymenoptera; Braconidae): evidence of a high diversification rate in this group of parasitoids // *Molec. Phylogen. & Evol.* Vol.12. No.3. P.282–294.
- Márquez E., Cabeen R., Woods R., Houle D. 2012. The measurement of local variation in shape // *Evolutionary Biology*. Vol.39. P.419–439.
- Maynard Smith J. 1966. Sympatric speciation // *Amer. Nat.* Vol.100. P.637–650.
- Mazzio E.A., Soliman K.F.A. 2012. Basic concepts of epigenetics. Impact of environmental signals on gene expression // *Epigenetics*. Vol.7. No.2. P.119–130.
- McArdle B., Rodrigo A.G. 1994. Estimating the ancestral states of a continuous-valued character using squared-change parsimony: an analytical solution // *Syst. Biol.* Vol.43. P.573–578.
- McGhee G.R. Jr. 1991. Theoretical morphology: the concept and its applications // N.L. Gilinsky, P.W. Signor (eds.). *Analytical Paleobiology*. Knoxville, TN: Paleontol. Soc. P.87–102.
- McGhee G.R. 1999. *Theoretical Morphology. The concept and its applications*. N.Y.: Columbia Univ. Press. 316 p.
- McShea D.W., Venit E.P. 2001. What is a part? // G.P. Wagner (ed.). *The character concept in evolutionary biology*. San Diego: Acad. Press. P.259–283.
- Mina M.V., Mironovsky A.N., Dgebuadze Yu.Yu. 1996. Lake Tana large barb: phenetics, growth and diversification // *J. Fish Biol.* Vol.48. P.383–404.

- Mitteroecker P., Gunz P., Bernhard M., Schaefer K., Bookstein F.L. 2004. Comparison of cranial ontogenetic trajectories among great apes and humans // J. Human Evol. Vol.46. P.679–698.
- Monteiro L.R., dos Reis S.F. 2005. Morphological in the mandible of spiny rats, genus *Trinomys* (Rodentia: Echimyidae) // J. Zool. Saug. Berlin: Blackwell Verlag. Vol.43. No.4. P.332–338.
- Moyné S., Neige P. 2007. The space-time relationship of taxonomic diversity and morphological disparity in the Middle Jurassic ammonite radiation // Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. Vol.248. P.82–95.
- Münkemüller T., Lavergne S., Bzeznik B., Dray S., Jombart T., Schiffrers K., Thuiller W. 2012. How to measure and test phylogenetic signal // Methods in Ecol. and Evol. Vol.3. P.743–756.
- Nagelkerke L.A.J., Sibbing F.A. 1996. Reproductive segregation among the large barbs (*Barbus intermedius* complex) of Lake Tana, Ethiopia. An example of intralacustrine speciation? // J. Fish Biol. Vol.49. P.1244–1266.
- Navarro N. 2003. MDA: a MATLAB-based program for morphospace-disparity analysis // Comput. & Geosci. Vol.29. P.655–664.
- O'Higgins P., Jones N. 1998. Facial growth in *Cercocebus torquatus*: an application of three-dimensional geometric morphometric techniques to the study of morphological variation // J. Anat. Vol.193. P.251–272.
- Oslina T.S., Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A. 2018. TpsCreator — the program of conversion of individual and group occurring of phenes in tps-file for Microsoft® Office Excel. (program) [Электронный ресурс. URL: <http://www.ipae.uran.ru/lab106/TpsCreator.zip>].
- Pagel M. 1994. Detecting correlated evolution on phylogenies: a general method for the comparative analysis of discrete characters // Proc. R. Soc. B. Vol.255. P.37–45.
- Palmer A.R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer // T.A. Markow (ed.). Developmental instability: its origins and implications. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer. P.335–364.
- Palmer A.R., Strobeck C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns // Ann. Rev. Ecol. Syst. Vol.17. P.391–421.
- Petren K., Grant B.R., Grant P.R. 1999. A phylogeny of Darwin's finches based on microsatellite DNA length variation // Proc. R. Soc. Lond. B. Vol.266. No.1417. P.321–329.
- Petren K., Grant P.R., Grant B.R., Keller L.F. 2005. Comparative landscape genetics and the adaptive radiation of Darwin's finches: the role of peripheral isolation // Molec. Ecol. Vol.14. P. 943–2957
- Prömel H.J., Steger A. 2002. The Steiner tree problem: a tour through graphs, algorithms, and complexity. Braunschweig (Germany): Vieweg. 86p.
- Raff R.A. 1996. The shape of life: genes, development, and the evolution of animal form. Chicago: Univ. Chicago Press. 520p.
- Reig S., Doadrio I., Mironovsky A.N. 1998. Geometric analysis of size and shape variation in barbel from Lake Tana (Ethiopia) // Folia Zool. Vol.47(Suppl.1). P.35–51.

- Revell L.J., Harmon L.J., Collar D.C. 2008. Phylogenetic signal, evolutionary process, and rate // *Syst. Biol.* Vol.57. P.591–601.
- Rezende E.L., Diniz-Filho J.A.F. 2012. Phylogenetic analyses: comparing species to infer adaptations and physiological mechanisms // *Compreh.Physiol.* Vol.2. P.639–674.
- Richards E.J. 2006. Inherited epigenetic variation – revisiting soft inheritance // *Nat. Rev. Genet.* Vol.7. P.395–401.
- R\_Development\_Core Team R. 2017. A language and environment for statistical computing. An Introduction to R. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria. 99 p.
- Rohlf F.J. 1990. Rotational fit (Procrustes) methods // F.J. Rohlf, F.L. Bookstein Proceedings of the Michigan morphometric workshop. Ann Arbor, Michigan: Univ. Michigans. Zool. Spec. Publ. No.2. P.227–236.
- Rohlf F.J. 1993. Relative warps analysis and example of its application to mosquito wings // L.F. Marcus, E. Bello, A. Garcia-Valdecasas (eds). *Contributions to morphometrics.* Madrid: C.S.C.I. P.131–160.
- Rohlf F.J. 1996. Morphometric spaces, shape components and the effect of linear transformations // L. Marcus, M. Corti, A. Loy, D. Slice (eds). *Advances in morphometrics.* N.Y.; L.: Plenum Press. P.131–152.
- Rohlf F.J. 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny // *Syst. Biol.* Vol.47. P 147–158.
- Rohlf F. J. 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces // *J. Classif.* Vol 16. P.197–223.
- Rohlf F. J. 2000. On the use of shape spaces to compare morphometric methods // *Hystrix, the Italian J. Mammalogy.* Vol.11. P.8–24.
- Rohlf F.J. 2001. Comparative methods for the analysis of continuous variables: geometric interpretations // *Evolution.* Vol.55. P.2143–2160.
- Rohlf F.J. 2002. Geometric morphometrics and phylogeny // N. MacLeod and P.L. Forey (eds). *Morphology, shape and phylogeny (Syst. Assoc. Spec. Vol. Ser. 64).* N.Y., Lond.: Taylor and Francis Inc. P.175–193.
- Rohlf F.J. 2004. *TpsDig.* Version 1.40. N.Y.: State Univ. at Stony Brook (program).
- Rohlf F.J. 2016a. *TpsSuper.* version 2.03. *Ecology & Evolution.* N.Y.: SUNY at Stony Brook (program).
- Rohlf F.J. 2016b. *TpsPLS.* Version 1.23. N.Y.: State Univ. at Stony Brook (program).
- Rohlf F.J. 2017a. *TpsUtil*, file utility program, version 1.74. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook (program).
- Rohlf F.J. 2017b. *TpsDig2*, digitize landmarks and outlines, version 2.30. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, (program)
- Rohlf F.J. 2017c. *TpsRelw* version 1.69. *Ecology & Evolution.* N.Y.: SUNY at Stony Brook, (program).
- Rohlf F.J., Bookstein F.L. 1990. (eds). Proceedings of the Michigan morphometric workshop // Ann Arbor, Michigan: Univ. Michigan Mus. Zool. Spec. publ. No.2. 380 p.

- Rohlf F.J., Bookstein F.L. 2003. Computing the uniform component of shape variation // *Systematic Biology*. Vol.52. P.66–69.
- Rohlf F.J., Marcus L.F. 1993. A revolution in morphometrics // *Trends in Ecol. & Evol.* Vol.8. P.129–132.
- Rohlf F.J., Slice D. 1990. Extension of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks // *Syst. Zool.* Vol.39. No.1. P.40–59.
- Rüber L., Adams D.C. 2001. Evolutionary convergence of body shape and trophic morphology in cichlids from lake Tanganyika // *J. Evol. Biol.* Vol. 4. No.8. P.325–332.
- Rüber L., Verheyen E., Meyer A. 1999. Replicated evolution of trophic specializations in an endemic cichlid fish lineage from Lake Tanganyika // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol.96. P.10230–10235.
- Rudel D., Sommer R.J. 2003. The evolution of developmental mechanisms // *Develop. Biol.* Vol.264. P.15–37.
- Salamin N., Wüest R.O., Lavergne S., et al. 2010. Assessing rapid evolution in a changing environment // *Trends in Ecol. & Evol.* Vol.25. No.12. P.692–698.
- Sato A., O’Huigin C., Figueroa F., Grant P.R., et al. 1999. Phylogeny of Darwin’s finches as revealed by mtDNA sequences // *Proc. Natur. Acad. Sci. USA*. Vol. 96. P.5101–5106.
- Sato A., Tichy H., O’Huigin C., Grant P.R., et al. 2001. On the Origin of Darwin’s Finches // *Mol. Biol. Evol.* Vol.18. No.3. P.299–311.
- Saul W.-C., Jeschke J.M. 2015. Eco-evolutionary experience in novel species interactions // *Ecol. Letters*. Vol.18. P.236–245.
- Schlichting C.D. 2003. Origins of differentiation via phenotypic plasticity // *Evol. & Develop.* Vol.5. No.1. P.98–105.
- Schlichting C.D., Pigliucci M. 1993. Evolution of phenotypic plasticity via regulatory genes // *Am. Nat.* Vol. 142. P. 366–370.
- Schliwen U., Rassman, K., Markmann, M., Markert, J., et al. 2001. Genetic and ecological divergence of a monophyletic cichlid species pair under fully sympatric conditions in Lake Ejagham, Cameroon // *Mol. Ecol.* Vol.10. P.1471–1488.
- Schluter D. 1984. Morphological and phylogenetic relations among the Darwin’s finches // *Evolution*. Vol.38. No.5. P.921–930.
- Seegers L., Sonnenberg R., Yamamoto R. 1999. Molecular analysis of the Alcolapia flock from lakes Natron and Magadi, Tanzania and Kenya (Teleostei: Cichlidae), and implications for their systematics and evolution // *Ichthyol. Explor. Freshwaters*. Vol.10. P.175–199.
- Sheets H.D. 2001. IMP software series. Dept. of Physics, Canisius College, Buffalo, NY, [URL: <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>].
- Sheets H.D., Zelditch M.L. 2012. Integrated Morphometrics Package: DisparityBox7. Dept. of Physics. Canisius College, Buffalo, NY. P.1–19 (program).
- Sheets H.D., Zelditch M.L. 2013. Studying ontogenetic trajectories using resampling methods and landmark data // *Hystrix, the Italian J. Mammalogy*. Vol.24. No.1. P. 7–73.
- Sherratt E. 2014. Geomorph. Quick Guide to Geomorph v.2.1.2. 90 p. [Электронный ресурс: [https://www.academia.edu/7244604/User\\_Guide\\_to\\_Geomorph\\_v2.1](https://www.academia.edu/7244604/User_Guide_to_Geomorph_v2.1)].

- Sibbing F.A., Nagelkerke L.A.J., Stet R.J.M., Osse J.W.M. 1998. Speciation of endemic Lake Tana barbs (Cyprinidae, Ethiopia) driven by trophic resource partitioning; a molecular and ecomorphological approach // *Aquat. Ecol.* Vol.32. P.217–227.
- Sidlauskas B.L. 2008. Continuous and arrested morphological diversification in sister clades of characiform fishes: A phylomorphospace approach // *Evolution.* Vol.62. No.2. P.3135–3156.
- Skelly D.A., Merrihew G.E., Riffle M., Connelly C.F., et al. 2013. Integrative phenomics reveals insight into the structure of phenotypic diversity in budding yeast // *Genome Research.* Vol.23. P.1496–1504.
- Skinner M.K., Gurrero-Bosagna C., Haque M.M., Nilsson E.E., et al. 2014. Epigenetics and the Evolution of Darwin's Finches // *Genome Biol. Evol.* Vol.6. No.8. P.1972–1989.
- Slice D.E., Bookstein F.L., Marcus L.F., Rohlf F.J. 1996. Appendix I: A glossary for geometric morphometrics // L.F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G.J.P. Naylor, D.E. Slice, (eds.). *Advances in morphometrics.* N.Y., L.: Plenum Press. P.531–551.
- Slotkin R.K., Martienssen R. 2007. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome // *Nat. Rev. Genet.* Vol.8. P.272–285.
- Small C.G. 1996. *The Statistical Theory of Shape.* N.Y.: Springer-Verlag. 226p.
- Smith W.D. 1992. How to find Steiner minimal trees in Euclidean d-space // *Algorithmica.* Vol.7. P.137–177
- Smith U.E., Hendricks J.R. 2013. Geometric morphometric character suites as phylogenetic data: extracting phylogenetic signal from Gastropod shells // *Syst. Biol.* Vol.62. No.3. P.366–385.
- Sneath P.H.A., Sokal R.R. 1973. *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification.* San Francisco: W.H. Freeman & Company. 573p.
- Sokal R.R., Sneath P.H.A. 1963. *Principles of Numerical Taxonomy.* San Francisco: W.H. Freeman & Company. 359p.
- Stone J. R. 2003. Mapping cladograms into morphospaces // *Acta Zool. (Stockholm).* Vol.84. P.63–68.
- Strauss D., Sadler P.M. 1989. Classical confidence intervals and Bayesian probability estimates for ends of local taxon ranges // *Mathem. Geol.* Vol.21. P.411–427.
- Sutherland W.J., Freckleton R.P., Godfray H.Ch.J. et al. 2013. Identification of 100 fundamental ecological questions // *J. Ecol.* Vol.101. P.58–67.
- Tamura K., Peterson D., Peterson M., Stecher G., Nei M., Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method // *Molec. Biol. and Evol.* Vol.28. P.731–739.
- Taravati S., Darvish J. 2010. *Geometric Morphometrics Tools Package GMTTP ver. 2.1.* (program).
- Thompson d'Arcy W. 1992. *On growth and form.* N.Y.: Dover Publ. 1116p.
- Thompson J.N. 1994. *The Coevolutionary Process.* Chicago: University of Chicago Press. 376p.
- Thompson J.N. 1998. Rapid evolution as an ecological process // *Trends Ecol. & Evol.* Vol.13. P.329–332.

- Thompson J.N. 2006. Mutualistic webs of species. *Science*. Vol. 312. P.372–373.
- Valkama J., Kozlov M.V. 2001. Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area // *J. of Appl. Ecol.* Vol.38. P.665–673.
- Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Marin Yu.F. 2008. Phenogenetic monitoring of the Weeping birch (*Betula pendula* Roth.) in the Middle Urals: Testing a new method for assessing developmental stability in higher plants // *Rus. J. Ecol.* Vol.39. No.7. P.483–489.
- Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Kourova T.P. 2015. Analysis of coupled geographic variation of three shrew species from southern and northern Ural taxocenes // *Rus. J. Ecol.* Vol.46. No.6. P.552–558.
- Verheyen E., Salzburger W., Snoeks J., Meyer A. 2003. Origin of the superflock of cichlid fishes from Lake Victoria East Africa // *Science*. Vol.300. P.325–329.
- Violle C., Enquist B.J., McGill B.J., Jiang L. et al. 2012. The return of the variance: intra-specific variability in community ecology // *Trends in Ecol. & Evol.* Vol.27. No.4. P.244–252.
- West-Eberhard M.J. Developmental plasticity and evolution. Oxford: Oxford University Press, 2003. 816p.
- West-Eberhard M.J. 2005. Phenotypic accommodation: Adaptive innovation due to developmental plasticity // *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*. Vol.304B. P.610–618.
- Young F.W. 2001. ViSta: The Visual Statistics System. Version 6.4.3436-EWU. (program).
- Young N.M., Linde-Medina M., Fondon III J.W., Hallgrímsson B., Marcucio R.S. 2017. Craniofacial diversification in the domestic pigeon and the evolution of the avian skull // *Nature Ecol. & Evol.* Vol.1. P.1–8 (DOI: 10.1038/s41559-017-0095).
- Zakharov V.M. 1992. Population phenogenetics: Analysis of developmental stability in natural populations // *Acta Zool. Fenn.* Vol.191. P.7–30.
- Zelditch M.L., Wood A.R., Bonett R.M. Swiderski D.L. 2008. Modularity of the rodent mandible: integrating bones, muscles, and teeth // *Evolution and Development*. Vol.10. P.756–768.
- Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D. 2012. Geometric morphometrics for biologists: a primer. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier. 478p.
- Zelditch, M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D., Fink W.L. 2004. Geometric morphometrics for biologists: a primer. N.Y.: Elsevier Academic Press. 437p.
- Zelditch M.L., Mezey J., Sheets H.D., et al. 2006. Developmental regulation of skull morphology II: ontogenetic dynamics of covariance // *Evol. & Develop.* Vol.8. No.1. P.46–60.
- Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D. 2013. A practical companion to geometric morphometrics for biologists: running analyses in freely-available software. 233p.
- Zwick M. 2001. Wholes and parts in general systems methodology // G.P. Wagner (ed.). *The character concept in evolutionary biology*. San Diego: Acad. Press. P.237–256.

---

## УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ

- Адамс Д. – 41, 250, 293  
Айяла Ф. – 312  
Алещенко Г.М. – 359, 361, 392, 397  
Альбертсон Р. – 353, 356  
Антонов А.С. – 11  
Астауров Б.Л. – 21, 26, 27, 291  
Балдин Е.М. – 232  
Банникова А.А. – 11  
Баранов А.С. – 365  
Баранов В.Ю. – 433  
Баскевич М.И. – 288  
Безель В.С. – 365, 366, 395  
Беклемишев В.Н. – 9, 15  
Берг Л.С. – 7  
Берг П. – 8  
Бергман И.Е. – 365  
Бломберг С. – 293  
Блэк К. – 232  
Большаков В.Н. – 11, 259, 353, 359, 363, 364, 400, 403, 408  
Бородин А.В. – 11, 22, 288  
Борисов В.И. – 365  
Брэкфилд П. – 356  
Булатова Н.Ш. – 275  
Букварёва Е.Н. – 360, 361, 392, 397  
Букштейн Ф.Л. – 6, 37, 38, 39, 46, 47, 48, 49, 91, 97, 98, 101, 104, 106, 423, 425  
Валецкий А.В. – 365  
Васильев А.Г. – 12, 18, 21, 22, 25, 29, 30, 31, 46, 48, 253, 254, 259, 266, 268, 270, 272, 275, 277, 289, 291, 292, 328, 353, 357, 358, 359, 361, 364, 365, 369, 371, 383, 387, 391, 393, 397, 399, 400, 403, 494, 406, 408  
Васильева И.А. – 12, 18, 21, 25, 31, 46, 253, 254, 259, 266, 268, 272, 275, 276, 277, 289, 291, 292, 328, 353, 357, 358, 359, 361, 364, 365, 369, 383, 393, 397, 399, 400, 403, 404, 408  
Васильева Л.А. – 433  
Весёлкин Д.В. – 365  
Витфилд Дж. – 291  
Волкова П.А. – 232  
Воробейчик Е.Л. – 9, 365, 391, 395  
Воробьёва Э.И. – 11  
Вышинский И.М. – 21, 27  
Гальгон Ф. – 35, 423  
Гамбарян П.П. – 408, 409, 410, 412  
Гарланд Т. – 292, 293  
Гельм-Быховски К. – 291  
Геодакян В.А. – 308  
Гилберт С.Ф. – 8, 9, 11, 26, 290  
Гилёва Э.А. – 288  
Глотов Н.В. – 255, 363  
Голенищев Ф.Н. – 275  
Городилова Ю.В. – 12, 361, 363, 364, 393, 397, 400, 408, 433  
Грант П. – 298, 301  
Грант Р. – 298, 301  
Грюнеберг Г. – 255  
Гудолл К. – 72, 88, 151, 152, 161, 162, 163, 164  
Гулд С. – 291, 299  
Дарвин Ч. – 297, 298, 299  
Дарвиш Дж. – 43  
Д'Арси Томпсон В. – 33, 35, 36, 37, 39, 90, 106, 423  
Де Бир Г. – 291

- де Граф М. – 327, 328, 330, 335, 339, 341, 344, 347, 350
- Джонс Н. – 41, 201
- Дитятев А.Э. – 288
- Дмитриев С.Г. – 365
- Добринский Н.Л. – 361, 400, 408
- Донелли К.П. – 369
- Драйден И.Л. – 71
- Драйден Я. – 41, 234
- Дюжардэн Ж.-П. – 59, 205
- Дюрер А. – 34
- Дэвис Д.С. – 367, 368, 402
- Ермаков А.И. – 365
- Ефимов В.М. – 2, 223
- Жерихин В.В. – 9, 12, 360
- Захаров В.М. – 22, 365, 371, 378, 380
- Зелдич М.Л. – 6, 13, 40, 50, 68, 70, 81, 99, 102, 105, 173, 238, 308, 419
- Золотарёв М.П. – 365
- Зорина А.А. – 365
- Иванов В.И. – 27
- Ивата Х. – 43
- Иоганнсен В. – 26, 255
- Кардини А. – 38
- Кендалл Д. – 37, 66
- Кларк Д.М. – 22
- Клиндженберг К.П. – 42, 106, 107, 100, 109, 110, 112, 116, 172, 213, 223, 227, 283, 295, 319, 326, 352, 379
- Клод Дж. – 6
- Ковалева В.Ю. – 223
- Коле III Т.М. – 294
- Коробейников А.И. – 232, 409
- Корона В.В. – 22, 48, 253, 360, 365, 371, 387, 391, 399, 406
- Корогеева Е.В. – 365
- Кочер Т. – 353, 356
- Кракрафт Дж. – 291
- Краскел Дж.Б. – 342
- Кренке Н.Н. – 18, 21
- Крысанов Е. Ю. – 365
- Кряжева Н.Г. – 365
- Куртен Б. – 291
- Куянцева Н.Б. – 365
- Ларина Н.И. – 270
- Леле С. – 420
- Лой А. – 38
- Лоуинг М. – 235
- Лэк Д. – 297, 298, 299, 300, 301, 303, 304, 307, 309, 321, 323, 325
- Любарский Е.Л. – 362
- Майр Э. – 14, 326
- Макинтайр Г. – 379
- Маклеод Н. – 37, 102, 294
- Малыгин В.М. – 275
- Мардиа К.В. – 71
- Мардулин П. – 291
- Марин Ю.Ф. – 433
- Маркес Э.Дж. – 42, 208
- Марков А.В. – 12
- Маркова Е.А. – 288
- Медников Б.М. – 19
- Мейен С.В. – 9, 10, 22, 23, 291, 406
- Мейер М.Н. – 275, 288
- Мигалина С.В. – 365
- Мина М.В. – 25, 326
- Митгероеккер Ф. – 89
- Морган Т.Х. – 8, 290
- Мэддисон М. – 42, 172, 294, 321
- Наймарк Е.Б. – 12
- Новоженов Ю.И. – 270
- Окулова Н.М. – 288
- Ослина Т.С. – 245
- Отярола-Кастильо Э. – 41
- О'Хиггинс П. – 41, 201
- Паавер К.Л. – 291
- Павлинов И.Я. – 5, 7, 10, 11, 22, 39, 48, 49, 66, 76, 399, 419, 433
- Павлов Д.С. – 360
- Павлова С.В. – 275
- Палмер Р. – 378, 379, 390

- Паскаль Б. – 406  
Пенин К. – 40  
Петрен К. – 301, 302, 309, 321, 322, 323  
Пианка Э. – 290  
Поздняков А.А. – 12, 25  
Полли Д. – 235  
Пузаченко А.Ю. – 12  
Работнов Т.А. – 362  
Райан П.Д. – 192, 367  
Ричтсмейер Дж. – 420  
Рольф Ф.Дж. – 6, 37, 39, 40, 41, 43, 59, 60, 70, 81, 91, 99, 102, 103, 104, 115, 122, 125, 127, 148, 151, 152, 159, 163, 165, 166, 167, 170, 206, 233, 235, 238, 294, 342, 355, 367, 419  
Романенко С.А. – 275  
Рэфф Р. – 22  
Садлер П. – 192  
Сато А. – 273, 276, 277, 282, 284, 303, 309, 313, 314, 315, 321, 322, 323  
Северцов А.Н. – 291  
Северцов А.С. – 291  
Сергеев В.Е. – 12  
Серебровский А.С. – 256, 257  
Свидерски Д.Л. – 40, 173  
Сидлаускас Б. – 28  
Сингер М. – 8  
Скиннер М.К. – 301, 324  
Слайс Д. – 101, 148  
Смирнов Н.Г. – 11  
Смолл К.Г. – 6  
Снит П.Х.А. – 255, 369, 404  
Сокэл Р.Р. – 255, 369, 404  
Страусс Д. – 192  
Стробек С. – 390  
Струнников В.А. – 21, 27  
Сэдлер П.М. – 192  
Таравати С. – 43  
Тимофеев-Ресовский Н.В. – 27, 255, 327, 334, 392  
Трубина М.Р. – 365  
Уоддингтон К.Х. – 291  
Уранов А.А. – 362  
Урманцев Ю.А. – 19  
Фальконер Д.С. – 255  
Филипченко Ю.А. – 16  
Фишер Р. – 121  
Фоминых М.А. – 21  
Фон Бергаланфи Л. – 419  
Фруциано К. – 121  
Фут М. – 187, 188, 308, 335, 343, 384, 386, 387  
Хабер А. – 42  
Халл Б. – 9  
Хаммер К. – 40, 192, 367  
Харпер Д.А.Т. – 192, 367  
Хатчинсон Г.Е. – 362  
Чайковский Ю.В. – 7, 8  
Чапмен Р.Е. – 110  
Чернов Ю.И. – 11, 290, 306, 355, 360, 361  
Чибирик М.В. – 12, 363, 364, 393, 397, 433  
Шаталкин А.И. – 11, 22  
Шерратт Э. – 250  
Шварц С.С. – 290, 291, 362  
Шлагер С. – 41  
Шитс Д. – 13, 40, 173, 174, 233, 234, 235  
Шипунов А.Б. – 232, 409  
Шишкин М.А. – 30, 31, 325  
Шкурихин А.О. – 265, 418  
Шмальгаузен И.И. – 30, 291  
Яблоков А.В. – 16, 29, 326, 254, 255, 270  
Ялковская Л.Э. – 21  
Янг Ф. – 213  
Abouheif E. – 292, 293  
Adams D.C. – 41, 43, 44, 70, 90, 238, 240, 250, 293, 355, 417  
Albertson R.C. – 353, 356  
Archie J.W. – 296  
Banister K.E. – 327  
Bilder R.M. – 28  
Blomberg S.P. – 291, 292, 293

- Bonduriansky R. – 23, 325, 327, 360  
Bookstein F.L. – 6, 7, 38, 39, 46, 68, 93, 94, 95,  
97, 98, 101, 104, 159  
Bowman R.I. – 297, 326  
Brakefield P.M. – 356  
Breuker C.J. – 22  
Burns K.J. – 298, 302, 325  
Cardini A. – 38, 119  
Chapman R.E. – 110  
Ciampaglio C.N. – 12  
Claude J. – 6  
Cole III Th. M. – 292, 294, 293, 421  
Colless D.H. – 24  
Collyer M. – 238, 240, 250, 417  
Corti M. – 37  
Coyne J.A. – 326  
Cracraft J. – 291  
Danley P.D. – 353  
D'Arsi Tompson – 37, 39  
Darvish J. – 43  
de Beer G. – 291  
de Graaf M. – 297, 324, 326, 327, 328, 330,  
339, 340, 341, 344, 350  
Debat V. – 28, 407  
Diniz-Filho J.A.F. – 292, 293  
Dgebuadze Yu.Yu. – 297, 324, 326  
Donnelly K.P. – 369  
dos Reis S.F. – 103, 148  
Drake A.G. – 222, 352, 353, 397  
Dryden I. – 41, 234  
Dryden I.L. – 71, 74  
Dujardin J.-P. – 59, 205  
Duncan E.J. – 359  
Falconer D.S. – 255  
Farris J.S. – 283, 284, 296  
Foote M. – 11, 187, 188, 192, 308, 335, 342,  
343, 384, 386, 387  
Franklin D. – 122  
Fruciano C. – 117, 119  
Garland T. – 291, 292, 293  
Gidaszewski N.A. – 283, 292, 293, 295, 296  
Gingras B. – 293  
Golubtsov A.S. – 326  
Goodall C. – 72, 88, 151, 152, 161, 162, 163,  
164, 165  
Gould S.J. – 291  
Gower J.C. – 68  
Grant B.R. – 298, 301, 302, 303, 309, 310,  
322, 356  
Grant P. – 298, 301  
Grant P.R. – 301, 302, 303, 309, 310, 322,  
356  
Grant R. – 298, 301  
Grüneberg H. – 255  
Haecker V. – 27  
Hall B.K. – 9  
Hammer Ø. – 40, 90, 103, 121, 192, 264, 265,  
364, 367, 369, 384  
Hansen T.F. – 291  
Harper D.A.T. – 40, 90, 103, 121, 192, 264,  
265, 364, 367  
Helm-Bychowski K. – 291  
Hendricks J.R. – 293  
Houle D. – 27, 212  
Jobe J.M. – 120  
Johannsen W. – 26, 255  
Iwata H. – 43  
Jablonka E. – 23, 375, 360  
Janzen D.H. – 359  
Jeschke J.M. – 360  
Jones N. – 41, 201  
Johnson L.I. – 18  
Kendall D. – 37, 66, 106  
Kidwell M.G. – 357  
Klingenberg C.P. – 7, 11, 22, 29, 42, 106, 107,  
108, 110, 113, 116, 121, 172, 213, 222,  
264, 278, 283, 292, 293, 295, 296, 319,  
352, 353, 375, 378, 379, 397, 399, 407,  
408  
Kluge A.G. – 283, 284, 296  
Kim J. – 22

- Kim M. – 22  
Kocher T.D. – 353, 356  
Kondrashov A.S. – 326  
Kourova T.P. – 361, 363, 397, 400, 402  
Kozlov M.V. – 365  
Krasnov B.R. – 291, 292  
Krysanov E.Y. – 326  
Kurtén B. – 291  
Lamb H.F. – 326  
Larkin M.A. – 279  
Lawing A.M. – 235  
Ledón-Rettig C.C. – 23, 325, 327  
Lele S. – 420  
Lisch D. – 357  
Loy A. – 38  
McIntyre G.S. – 21, 379  
MacLeod N. – 37, 254, 258, 292, 293, 294  
Maddison W.P. – 42, 172, 280, 294  
Marcus L.F. – 6, 37, 101  
Mardia K.V. – 71, 74, 98  
Mardulin P. – 291  
Marin Yu.F. – 365, 369  
Márquez E. – 42, 208, 212  
Martins E.P. – 291  
Martienssen R. – 357  
Maynard Smith J. – 326  
Mazzio E.A. – 23  
McArdle B. – 172  
McGhee G.R. Jr. – 12  
McShea D.W. – 19  
Mina M.V. – 297, 324, 326  
Mironovsky A.N. – 297, 324, 326, 330  
Mitteroecker P. – 89  
Monteiro L.R. – 103, 107, 148  
Moyne S. – 12, 360  
Münkemuller T. – 293  
Nagelkerke L.A.J. – 327  
Navarro N. – 12  
Neige P. – 12, 360  
O’Higgins P. – 41, 122, 201  
Orr H.A. – 326  
Oslina T.S. – 275  
Otárola-Castillo E. – 41, 250  
Pagel M. – 292  
Palmer A.R. – 22, 42, 211, 365, 367, 371, 378, 379, 380, 390, 407  
Penin K. – 197  
Petren K. – 301, 302, 303, 309, 310, 322  
Pigliucci M. – 12, 29  
Polly D. – 235  
Pokojoy M – 120  
Prömel H.J. – 296  
Raff R.A. – 22  
Raz G. – 23, 357, 360  
Reig S. – 297, 330  
Revell L.J. – 291  
Rezende E.L. – 292  
R\_Development\_Core\_Team R – 41, 240  
Richards E.J. – 357  
Richtsmeier J.T. – 420 259, 260, 261, 379  
Rodrigo A.G. – 172  
Rohlf F.J. – 6, 7, 37, 40, 43, 49, 59, 68, 69, 70, 94, 98, 99, 102, 103, 104, 105, 115, 136, 143, 144, 148 151, 158, 165, 260, 292, 293 294, 367  
Rüber L. – 44, 353  
Rudel D. – 11  
Ryan P.D. – 40, 90, 103, 121, 192, 264, 265, 364, 367  
Sadler P.M. – 192  
Salamin N. – 360  
Sato A. – 273, 276, 277, 282, 284, 298, 299, 302, 303, 309, 313, 314, 315, 322, 323  
Saul W.-C. – 360  
Schlager S. – 41  
Schlichting C.D. – 12, 29, 398  
Schliwen U. – 353  
Schluter D. – 297  
Seegers L. – 353  
Sheets H.D. – 6, 7, 26, 40, 52, 64, 68, 70, 71, 72, 73, 75, 77, 78, 84. 93, 94, 98,

- 99,101,102, 105, 110, 173, 174, 187,  
238, 265, 291, 308, 342, 384, 386, 397,  
407, 419
- Sherratt E. – 240
- Sibbing F.A. – 326, 327
- Sidlauskas B.L. – 28
- Skelly D.A. – 28
- Skinner M.K. – 297, 301, 303, 326
- Slice D.E. – 68, 69, 101, 136, 143, 148, 151,  
165, 367
- Slotkin R.K. – 357
- Small C.G. – 6
- Smith U.E. – 293
- Smith W.D. – 295
- Sneath P.H.A. – 29, 255, 369, 404
- Sokal R.R. – 29, 255, 369, 404
- Soliman K.F.A. – 23
- Sommer R.J. – 11
- Steger A. – 296
- Stone J.R. – 293
- Strauss D. – 192
- Strobeck C. – 42, 211, 367, 378, 390
- Sutherland W.J. – 29, 360
- Swiderski D.L. – 6, 7, 26, 40, 64, 68, 70,  
71, 72, 73, 75, 77, 78, 84, 93, 94, 98,  
99,101,102, 105, 110, 187, 238, 291,  
308, 342, 384, 386, 397, 407, 419
- Tamura K. – 278, 304
- Taravati S. – 43
- Thompson J.N. – 358
- Tricker P.J. – 18
- Ukai Y. – 43
- Valkama J. – 365
- Vasil'ev A.G. – 275, 351, 363, 365, 369, 397,  
400, 402, 405, 407
- Vasil'eva I.A. – 275, 351, 363, 365, 369, 397,  
400, 402, 405, 407
- Venit E.P. – 19
- Verheyen E. – 353
- Violle C. – 397
- West-Eberhard M.J. – 12, 29
- Whitfield J.B. – 292
- Young F.W. – 213
- Young N.M. – 353
- Zakharov V.M. – 22, 380
- Zelditch M.L. – 6, 7, 26, 40, 64, 68, 70,  
71, 72, 73, 75, 77, 78, 84, 93, 94, 98,  
99,101,102, 105, 110, 187, 238, 291,  
308, 342, 384, 386, 397, 407, 419
- Zwicky M. – 19

---

## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- APS, 6, 40, 197–201  
batch-файл, 154  
CLIC, 42, 59, 205–207  
CoordGen, 65, 173–175, 177, 178, 187  
CorelDraw, 220  
CorelXARA, 220  
CORIANDIS 1.1, 212  
CVAGen, 174, 178, 180–183, 228  
DisparityBox, 174, 186, 187, 189–191, 334, 384  
DisparityBox3D, 174  
EDMA, 420  
Evo-Devo, 9, 290, 291, 356  
FESA, 420  
Fs-критерий Гудолла, 151, 152, 161–164  
geomorph, 6, 41, 57, 59, 62, 66, 112–114, 130, 233, 234, 238, 241, 243, 246, 249, 250, 252, 293  
GPA, 39, 68–70, 90, 132, 137, 140, 143, 149, 151, 156, 175, 179, 232, 367  
IMP, 2, 4, 6, 40, 50, 52, 56, 62, 65, 105, 110, 112, 113, 173–180, 182–184, 187, 192, 209, 212, 228, 265, 334, 384, 419  
Inkscape, 220  
Link-файл, 131, 132, 145–147, 155, 156, 169, 171, 197, 199, 201  
LMEdit7, 174  
Lori 1.01, 212  
Mac OS, 40, 173  
Mace 1.0, 212  
MakeFan, 50, 52, 174, 183–185  
MANOVA, 152, 179, 182, 211  
MatchMaker3D7, 174  
MatchMaker7, 174  
MATLAB, 173, 208, 415  
MCRInstaller, 173, 208  
Mint 1.06, 192  
Morpho, 6, 41, 250–252  
MorphoJ, 6, 42, 43, 105, 107, 110–113, 120–122, 172, 182, 213–216, 218, 219, 221, 224, 226, 230, 231, 264–266, 272, 278, 280, 284, 294, 304, 312, 318–320, 351, 367, 375, 380, 419  
Morphogika<sup>2</sup>, 41, 197, 201, 202  
MS-DOS, 38, 125  
NTSYS-рc, 39, 40, 127, 131, 154, 172  
PAST, 6, 40, 41, 43, 70, 90, 103, 108, 109, 112, 113, 121, 182, 192, 193, 194, 196, 264, 265, 266, 272, 278, 367, 415, 419  
PCAGen, 174, 182  
PLS3D7, 174  
PLSAngle7, 174  
PLSMaker7, 174  
PLS-метод, 165, 268  
Procrustes ANOVA, 122, 211, 231  
Regression7a, 174  
ruler, 52, 56, 62, 64, 65, 174, 175, 209, 210, 247, 248  
R-программа, 41, 59, 130  
SAGE, 6, 42, 208, 209, 210, 211, 212, 231, 419  
Shape, 33, 43, 76, 79, 88–90, 92, 93, 106, 107, 114, 143, 148, 152, 156, 157, 167, 168, 194–196, 201, 204, 212, 222, 227, 228, 265, 293, 421, 423, 424, 427, 429, 431  
shapes, 6, 20, 41, 90, 140, 142, 233–236, 238, 250, 252, 265, 426  
Simple3D, 174  
Standard7, 174, 190  
T<sup>2</sup> Хотеллинга, 288  
ThreeDCVA, 174  
ThreeDPCA, 174  
ThreeDPLS7, 174

- ThreeDRegress7, 174  
 TmorphGen, 176, 190  
 TPS, 2, 4, 6, 39, 40, 43, 46, 50, 52, 60, 61, 63, 65, 90, 93, 99, 125–128, 131, 137, 142, 143, 153–155, 165, 167, 169, 171, 204, 206, 216, 249, 274, 294, 419  
 TpsCreator, 260, 272, 273, 274, 275, 278, 433  
 tpsDig, 59, 61, 125–127, 134, 136, 155, 174, 177, 183–185, 206, 216, 218, 249, 272  
 tpsDig2, 49, 59–61, 125, 126, 133, 134, 155, 184, 219, 238, 249, 260, 272, 367  
 tpsPLS, 125, 165, 166  
 tpsPower, 125, 171  
 tpsRegr, 125, 150, 153–155  
 tpsRelw, 103, 125, 126, 143–145, 147, 182  
 tpsSmall, 125, 148, 150, 151  
 tpsSplin, 91, 125, 132, 133, 169–171  
 tpsSuper, 115, 125, 126, 135, 136, 140, 144, 153  
 tpsTree, 125, 172, 294  
 tpsTri, 81, 125, 172  
 tpsUtil, 46, 49, 51, 59, 60, 61, 122, 125–128, 132, 134, 135, 141, 154, 155, 176, 177, 215, 218, 260, 272  
 tps-файл, 41, 43, 60, 61, 63, 70, 108, 126–129, 132, 133, 134–137, 139–142, 144, 147, 153–155, 169–171, 174–178, 187, 193, 195, 196, 201–203, 206–209, 215, 216, 218, 219, 233–236, 238–241, 247–249, 259–263, 271–275, 278, 312, 433  
 TwoGroup7, 174  
 VecCompare7, 174  
 VecLand7, 174  
 Vis\_Proto7, 174  
 ViSta, 213  
 Windows, 6, 39–41, 125, 156, 173, 192, 204, 212, 213, 220  
 WinEDMA, 420  
 WireMan7, 174  
 Xara Xtreme Pro 5, 220  
 Л-критерий Уилкса, 151, 152, 162, 164, 179  
 аллометрия, 105, 155, 195, 207, 222, 236, 245, 246, 374, 420  
 анализ главных компонент, 42, 44, 71, 90, 101, 104, 105, 144, 201, 203, 207, 218, 236, 244, 266, 268, 304, 306, 314, 335, 340, 353, 355, 373–375, 411  
 антимер, 18, 21, 29, 208, 209, 407  
 антисимметрия, 371, 372, 380, 390  
 астерон, 257, 258, 260, 263–267, 269, 272–274, 278, 279, 285, 286  
 аутлайн, 39, 43, 49, 51, 70, 71, 111, 113, 127–129, 134, 135, 186, 219, 338, 421, 424, 428, 430  
 аффинное преобразование, 34, 421, 422, 424, 427, 429  
 базовая линия, 38, 68, 70, 180, 265, 273, 274, 421, 423  
 биомониторинг, 12, 13  
 биотоп, 306, 327, 339, 346, 350, 357, 362, 363, 393  
 биоценотический кризис, 360, 361  
 биplot, 167, 169, 223, 427  
 Букштейновы координаты, 38, 68, 148, 180, 193, 421, 423, 424, 426  
 визуализация, 8, 28, 41–43, 68, 69, 80, 83, 85, 90, 102, 105–107, 109–116, 120, 127, 128, 131–133, 135, 136, 138, 139, 143–147, 151, 153, 155–157, 168–172, 175, 180–183, 194, 196, 197, 199–201, 207, 211, 212, 214, 217, 219, 220, 238, 244, 256, 258, 259, 266, 268, 271, 272, 275, 294, 301, 334, 373, 421, 422,  
 виртуальная метка, 49  
 внутригрупповая изменчивость, 16, 143, 162, 227, 391  
 внутрииндивидуальная изменчивость, 17, 21, 22, 25  
 возрастная изменчивость, 15  
 вращение, 35, 67, 69, 75–77, 80, 81, 83, 84, 88, 203, 425, 428, 431  
 Генбанк – GenBank «NCBI», 303, 328  
 генная сеть, 23  
 геном, 8, 17, 29, 31, 302, 357  
 геносистематика, 11  
 генотип, 24, 26, 27, 30–32, 278, 398

- геофилетика, 11
- геодезическая дистанция, 422
- геометрическая морфометрия, 5–16, 19–22, 25, 26, 28, 29, 31, 33–35, 37, 38–44, 47, 51, 52, 54, 57–59, 63, 66, 70–72, 74, 88, 91–94, 99, 104–106, 110, 111, 116, 117, 119, 122–124, 127, 172, 173, 178, 182, 187, 188, 192, 193, 197, 205, 206, 212, 213, 216, 232, 252–254, 256, 260, 263, 268, 272, 283, 289, 291, 293–297, 301, 326, 328, 330, 351, 353, 356, 359, 361, 362, 364, 365, 367, 369, 379, 392, 397, 399, 405–409, 415, 417–419, 422, 424, 426, 427, 429
- гиперсфера, 75, 76, 86, 88, 89, 422, 428, 431
- главные деформации, 40, 101, 103, 105, 144, 151, 165, 422, 425, 432
- гомология, 10, 21, 22, 26, 47, 423, 425
- гомологическая изменчивость, 21
- гомологичные фены, 256, 258, 273, 275, 276, 282, 287–289, 399
- гомологичная структура, 17, 18
- Дарвиновы выюрки, 2, 297–300, 302, 304–307, 312–314, 317–319, 356–358
- двел, 365, 387–389, 404, 405
- двелярная структура, 387, 388, 390, 391, 405,
- двухфакторный многомерный непараметрический дисперсионный анализ, 339, 340
- декартовы координаты, 35, 72, 73, 77, 86, 97
- декомпозиция, 383, 423, 430
- дефинитивный рисунок, 19
- дилатция, 423
- диффузная коэволюция, 358, 359
- доза–эффект, 9
- евклидово пространство, 423, 424
- евклидова дистанция, 79, 86, 149, 150, 336, 370, 387, 420, 423, 424, 431
- изменчивость, 8, 9, 12–22, 25–29, 32, 37, 40, 42, 44–46, 53, 69, 89, 90, 97, 99, 103–105, 108–110, 113, 117, 120, 143–145, 147, 152, 154–157, 162, 163, 165, 172, 181, 182, 187, 189, 195, 197, 199–201, 218, 220, 227, 242, 253–255, 263, 268, 272, 278, 283, 285, 286, 291, 297, 301, 302, 304, 305, 307, 308, 313, 315–317, 330–332, 339–342, 344, 353, 354, 361–369, 373–377, 379–382, 384–387, 390–393, 397–402, 404, 406–408, 411–414, 422, 432
- изометрия, 420, 424
- инвариант, 424
- индекс гомоплазии (*H*), 283, 287, 296, 322, 346, 349
- индекс масштабированного соответствия (*RC*), 284, 296
- индекс соответствия (*CI*), 283, 295, 323
- индекс удерживания (*RI*), 283, 284, 295, 296, 323
- канонический анализ, 44, 105, 113, 143, 178, 179, 226–228, 236, 266, 278, 285, 304, 305, 307, 317, 322, 367, 374–376, 380, 382, 401, 413, 414
- квази-ландмарки, 49
- Кендаллово пространство, 37, 38, 79, 80, 85, 86, 88, 89, 106, 148, 172, 422–424, 428–432
- кладистика, 10, 193, 229, 295, 347
- кластерный анализ (UPGMA), 377, 378, 414, 415
- ковариация, 38, 69, 151, 165–168, 207, 223, 224, 226, 292, 426, 432
- консенсус, 76, 139, 146, 165, 168, 170, 171, 178, 180–182, 201, 424, 426, 427
- консенсусная конфигурация, 132, 135, 136, 138–143, 145, 146, 148, 149, 151, 153, 167, 168, 171, 179, 183, 187, 191, 195, 199, 217, 237, 243, 259, 267, 271, 272, 285, 302, 317, 354, 424
- контурный анализ, 71
- конфигурация ландмарок, 13, 68, 69, 71–74, 76, 77, 80, 85, 88–90, 93, 95, 105, 106, 109, 113, 114, 118, 121, 127, 132, 135, 136, 138, 140–148, 151, 153, 156,

- 157, 167, 168, 170, 172, 193, 195, 196, 203, 204, 213, 217–219, 224, 227, 228, 237, 239, 244, 259, 272, 284, 285, 294, 370, 375, 411, 413, 423, 424, 431
- корреляция, 17, 21, 149, 163, 166, 167, 212, 267, 285, 291–293, 297, 310, 372, 380, 390, 426
- коэффициент корреляции  $r$ , 149, 150, 160, 166–168, 195, 310, 343, 371, 372, 374
- коэффициент корреляции  $RV$ , 224–226
- креод, 18, 21
- критерий  $T^2$ , 228, 229,
- ландмарка, 13, 26, 38, 40, 41, 43, 45–53, 56, 58, 59, 61–66, 68–77, 80–86, 88–91, 93–99, 101, 103, 105–116, 118–123, 126–128, 130–148, 151, 153–157, 163, 165, 167, 168, 170, 172, 174–179, 181, 183–186, 190, 193, 195–197, 202–204, 206–214, 216–220, 223, 224, 226–228, 234, 235, 237, 239, 240, 242–244, 247, 248, 256, 259–262, 271, 272, 284, 285, 294, 301, 302, 312, 330–332, 341, 351, 353, 354, 367, 368, 370–372, 375, 379, 399–401, 409, 411, 413, 420–432
- линейная комбинация, 94–96, 98, 100, 166, 167, 223, 421, 424–426, 430, 432
- линейная регрессия, 149, 150, 152
- масштабирование, 35, 37, 65–67, 74, 77, 79, 88, 89, 92, 148, 149, 203, 207, 266, 421
- математическая теория формы, 33
- матрица энергии искривления, 40, 97, 100–102, 144, 151, 165, 170, 422
- межгрупповая изменчивость, 16, 17, 143, 162, 195, 228, 272, 286, 304, 316, 362, 391
- меристический признак, 254, 369, 390, 404
- мерон, 22, 23, 46, 406, 407
- мерономия, 254, 268
- метамер, 16, 18, 21, 29, 44, 262, 390
- метод тонкопластинных сплайнов, 39, 90, 91, 93, 148, 151, 169, 194
- метод квадратично-изменяемой парсимонии, 42, 280, 294, 295, 321
- метод Монте-Карло, 191
- многомерная ординация, 27, 90, 266, 268, 279
- многомерная классификация, 15, 289
- многомерный анализ, 15, 25, 44, 70, 113, 143, 420, 422
- модификация, 29
- модуль, 22
- молекулярная филогенетика, 11
- молекулярная филогеография, 10
- морфогенез, 8–10, 14–16, 18, 19, 21–23, 25, 26, 30, 32, 39, 48, 154, 224, 253, 290, 291, 325, 326, 328, 335, 340, 346, 350–353, 356–358, 364–366, 369, 371, 382, 383, 386, 391, 392, 406–408
- морфогенетическая перестройка, 324, 351, 352, 359, 397, 400
- морфогенетическое поле, 8, 9
- морфогенетическое пространство, 28, 407
- морфогенетическая реакция, 8, 362, 363, 392, 393, 398, 399, 406, 408
- морфогенетическая траектория, 18, 236, 357, 382, 385, 402, 403, 407
- морфоз, 30, 357, 358, 365
- морфокартирование, 2, 28, 230, 231, 265, 283–288, 295, 297, 304, 314–319, 322, 323, 326, 344, 347, 348
- морфологический признак, 8–11, 14, 22, 24, 25, 293, 306
- морфологическая структура, 8, 10, 15, 18, 19, 23, 46, 253, 397
- морфологическое разнообразие, 8, 10, 14, 143, 186–190, 298, 308, 328, 332, 340, 342, 343, 361, 367, 393, 400, 402
- морфологическое картирование филогении, 11, 42, 275, 290, 293, 294, 314, 320, 328
- морфометрия, 6, 43, 44, 45, 46
- морфопространство, 10, 12, 25, 28, 31, 87, 88, 104, 120, 190, 191, 268, 276, 278–280, 284, 292, 294, 314, 316–318, 322, 333–335, 337–339, 341, 344, 346, 347,

- 349, 355, 356, 362, 364, 373, 376, 397, 402, 407, 409, 411, 413–417
- морфотип, 9, 10, 24, 253, 254, 270, 297, 327, 328, 346, 349, 351, 353, 355–358, 362, 381, 382, 386, 391
- морфообразование, 10, 12, 13, 42, 187–190, 207, 250, 309, 334, 335, 354, 364, 367, 369, 383, 385–387, 391, 392, 397, 400–404
- морфоструктура, 10, 11, 14, 15, 19, 21–26, 29, 45, 47, 58, 105, 224, 250, 253–255, 257, 261, 286, 289, 294, 351, 365, 397, 406, 423
- морфотип, 9, 10, 24, 253, 254, 270, 297, 327, 328, 346, 349, 351, 353, 355–358, 362, 381, 382, 386, 391
- мутация, 17, 31, 242, 255
- метод наибольшей экономии (парсимонии), 347
- наименьшие квадраты, 69, 110, 136, 143, 148, 149, 151, 159, 165, 166, 222, 250, 426, 428, 429, 432
- направленная асимметрия, 25, 231, 369–371, 380, 383, 384, 388–391, 404, 407
- наследственная изменчивость, 21, 27, 29
- неаффинные, 35, 36, 40, 66, 67, 92, 93, 97, 102, 150, 157, 165, 171, 254
- неметрический пороговый признак, 254, 277, 399
- числовая таксономия, 255, 369,
- обобщённое расстояние Махаланобиса, 228, 288, 414, 415
- обобщённый Прокрустов анализ, 40, 68, 69, 90, 98, 122, 136, 143, 149, 151, 193, 264, 266, 278, 304, 313, 401
- онтогенез, 9, 14–16, 19, 21, 26, 29, 250, 363, 406, 420
- онтогенетическая траектория, 30, 308
- ординация, 15, 120, 144, 146–148, 167, 178, 201, 203, 259, 266–268, 271, 272, 335, 338, 355, 356, 375, 377, 410, 411, 427
- относительные деформации, 38, 41, 42, 90, 91, 97, 104, 105, 120, 143, 144, 146, 147, 182, 194, 207, 259, 260, 266–268, 271, 272, 297, 419, 425, 427, 430
- перекашивание, 66, 67
- полигон изменчивости, 109, 305, 354, 367–369, 376, 384–386, 402, 404
- полигон А. С. Серебровского, 256, 257, 258, 271
- полиморфизм, 19, 270, 291
- полифенизм, 19
- полная Прокрустова дистанция, 78, 79, 85, 86, 89, 427
- полуландмарка, 49, 51, 52, 132–134, 176–178, 183, 186
- полуметка, 39, 43, 48, 49, 50, 51, 52, 70, 71, 134, 135, 137, 219, 250, 425, 428
- популяция, 9, 10, 12, 16, 18, 23, 25, 27, 30, 32, 71, 87, 109, 143, 187, 235, 255, 256, 260, 268, 307, 308, 312, 357, 358, 361, 362, 366, 392, 394–397, 399, 403, 404, 408
- популяционно-ценотический мониторинг, 392, 398, 404
- признак, 8, 9, 13–16, 22–29, 31, 32, 45, 152, 223, 237, 253–256, 258–266, 268–270, 272–274, 277, 278, 280, 289, 293, 297, 322, 324, 363, 365, 369–372, 387, 389–392, 399, 413, 423
- принцип компенсации Ю.И. Чернова, 306, 355
- программа MS Excel, 127, 158, 193, 217, 219, 256, 260, 261, 263, 264, 270–273, 278
- Прокрустова дистанция, 76–81, 85, 87, 90, 91, 101, 102, 149, 150, 152, 163, 169, 170, 187–189, 191, 228, 229, 264, 282, 308, 355, 424, 426, 428, 431
- Прокрустовы остатки, 90, 424–428, 432
- Прокрустовы координаты, 22, 89, 102, 105, 113, 121, 122, 139, 152, 193, 214, 215, 222, 227, 228, 236, 237, 241, 245, 246, 265, 266, 268, 272, 276, 278, 288, 305, 307, 313, 314, 316, 317, 320, 331, 333, 340, 367, 368, 370, 373, 375, 376, 379, 380, 387, 401, 410–414, 425
- пространство образов, 89, 90
- пространство форм, 77, 80, 83, 85, 86, 88, 106, 203, 429

- пространство предформ, 38, 74, 75, 77, 83, 88, 429
- пространство фигур, 69, 72, 88, 429,
- процедура случайного разреживания или рарефакции (rarefaction), 369, 384, 386
- процессуальная реконструкция, 9
- размер центроида, 42–44, 53, 63–65, 68, 70, 74, 75, 78–80, 83, 86, 88–90, 98, 105, 114, 148, 150, 152, 155, 157, 160, 162, 167, 174, 179, 189, 190, 192–195, 197, 201, 204, 207, 209, 215, 218, 222, 230, 236, 245, 246, 254, 263–265, 268–270, 272, 278, 287, 288, 330, 362, 367, 370, 372, 374, 406, 417, 428, 429, 431
- размерогенез, 48, 253, 391, 392, 406, 407
- разнообразие, 14–16, 25, 186, 286, 297, 301, 302, 333, 334, 341–344, 354, 363
- реализационная изменчивость, 21, 27
- резистентное совмещение, 429
- референсная конфигурация, 69, 76, 86, 90, 91, 93, 95, 97–105, 112, 135, 139, 140, 143, 144, 148–152, 156, 158, 159, 163, 165, 167, 168, 170, 171, 204, 219, 227
- рефрен, 23
- сдвиг, 421, 429
- сжатие, 66, 67, 92, 96, 98, 421, 429
- симпатрическое формообразование, 2, 297, 308, 324–326, 328, 343, 344, 349, 353, 356–359
- синэкология, 361, 363
- систематика, 10, 11, 12, 13, 289–291, 294, 296, 297, 326
- следовый тест Пиллаи, 162
- следовый тест Хотеллинга-Лаулея, 162
- собственные векторы, 100, 101, 102, 203
- собственные значения (числа), 71, 100–102, 146, 159, 162, 170, 171, 179, 196, 203, 228, 374, 423
- сплайн, 41, 93–96, 99, 101, 170, 179, 430
- средний индивидуальный объём морфопространства аллоров – MINVOL (mean individual volume of morphospace), 414–417
- структурогенез, 19, 21, 48, 253, 390–392, 406, 407
- СТЭ, 8, 23, 30, 31, 291
- субкреод, 18, 308
- суперимпозиция, 35, 41, 42, 66, 68–70, 75, 82, 85–90, 92, 93, 106, 108–110, 112, 115, 116, 132, 136, 140–143, 151, 163, 175–180, 183, 197, 199, 233, 236, 242, 259, 260, 264–266, 272, 273, 424, 426–428
- таксон, 11, 12, 16, 17, 21, 23–25, 28, 46, 148, 172, 230, 231, 276–280, 282, 284, 287, 288, 291, 292, 294–296, 301, 303, 304, 309, 310, 315, 316, 319, 329, 351, 413–415
- таксоцен, 306, 328, 344, 346, 356–358, 361–364, 392, 393, 395, 398–403, 405
- тангенциальное пространство, 79–81, 89, 100, 102, 104, 106, 107, 148, 149, 165, 172, 203, 422, 423, 427, 430–432
- тектон, 22, 23
- теория признака, 22
- термокарта, 41, 111, 112, 195, 196
- тест Гудолла, 151, 152, 163, 164
- тип ландмарки, 46, 47, 48
- тонкопластинный сплайн, 40, 90, 91, 93, 105, 127, 143, 148, 151, 165, 167, 195, 196, 423, 431
- трансляция, 35, 37, 66–73, 74, 77, 89, 92, 266, 421, 424, 429, 431
- трансформационная решётка, 35, 36, 105, 106, 111–113, 116, 143, 157, 167, 169, 172, 181, 195, 204, 212, 218, 243, 244, 259, 260, 263, 271, 272, 410
- файбер, 75–77, 80, 88, 428, 431, 432
- фен, 20, 24, 31, 32, 42, 253–262, 265–270, 272–280, 282, 284–289, 362, 380, 399
- фенетика, 28, 253–255, 264, 268, 289, 362, 397, 399, 406
- феногенетическая изменчивость, 18, 21, 25, 29, 361, 400, 407
- феногенетическое морфопространство, 25
- фенограмметрия, 2, 253, 254, 258, 259, 263, 264, 266, 268–271, 275, 289, 362, 406

- фенограмма, 254, 257–262, 265–272, 274–276, 278, 282–289
- фенокомплекс, 268
- фенoм, 27, 28, 29, 31, 292, 363, 406, 407
- феномика, 28
- фенооблик, 287, 288, 403
- фенотип, 8–10, 13, 24, 26–32, 255, 256, 316, 322, 324, 351
- фенотипическая пластичность, 10, 12, 29, 30, 361, 393, 396, 398–400
- фигура, 72, 429, 431
- филетическое дерево, 280–283, 286, 293, 294, 303, 309, 318
- филогенетика, 10, 11, 290, 295
- филогенетическая реконструкция, 11
- филогенетический сигнал, 2, 11, 105, 231, 250, 275, 280, 283, 285–289, 291–298, 320–324, 326, 328, 343–347, 351
- филогения, 2, 11, 28, 229–231, 236, 250, 265, 275, 276, 280, 282–294, 297, 298, 302–304, 309, 312–318, 320–323, 325, 326, 328, 343–345, 347, 349, 353
- филоморфoпространство, 28
- флок, 2, 297, 324, 326–328, 330, 332, 340–344, 346, 350, 351, 353–358
- флуктуирующая асимметрия, 17, 22, 25, 42, 122, 207, 208, 210, 211, 231, 365, 367, 369–371, 378–384, 386, 388–399, 404, 407
- форма, 6–21, 24–26, 28, 29, 31, 33, 35–40, 42–49, 51–55, 57, 63–93, 97–118, 123, 127, 132, 133, 135, 138–155, 157, 165–169, 171, 172, 174, 178–183, 186–191, 193–197, 199–201, 203, 204, 207, 208, 211–213, 215, 217, 218, 220, 222, 223, 227, 236, 242, 243, 245, 246, 250, 253, 254, 256, 261, 263–266, 268–271, 285, 288, 290, 292–294, 297, 298, 301, 304–308, 313–317, 322–324, 326, 328, 330, 332–335, 337–347, 349, 350, 352–354, 357, 364–367, 369–387, 390, 391, 397, 399, 401, 402, 406–413, 415–417, 420–432
- формат Nexus, 172, 229, 230, 280, 282, 304, 319
- форпостная популяция, 361, 393–397, 400
- хэлперная метка, 50, 177
- ценопопуляция, 359, 361–364, 393, 394, 397, 398, 400–405
- центроид, 28, 45, 63, 68, 73–75, 77, 82–84, 135, 181, 231, 271, 272, 280, 284, 285, 288, 373–375, 377, 401, 402, 407, 421, 429
- цитопен, 23
- частная Прокрустова дистанция, 76–81, 84–89, 432
- частные деформации, 38, 41, 42, 90, 91, 97, 99, 101–105, 143, 144, 146, 151, 152, 154, 156, 159, 160, 162, 163, 165–172, 179, 182, 194, 207, 419, 421, 423–427
- эволюционистика, 8, 291
- эволюционная синэкология, 361, 363
- эволюционная экология, 13, 253, 290, 297
- эковид, 326–328, 330, 332–339, 341, 344–347, 357, 358
- экология, 5, 9, 10, 12, 13, 298–300, 303, 397, 408
- экологическая ниша, 324, 346, 349, 350
- экологическая эпигенетика, 23
- эллиптическая трансформация Фурье, 34
- энергия искривления, 40, 90, 91, 93, 94, 97, 100–103, 139, 144, 148, 165, 169–171, 419, 422, 423, 431, 432
- эпигенетическая изменчивость, 21, 29, 407
- эпигенетическая система, 18, 23, 25, 358
- эпигенетический порог, 18, 21, 254
- эпигенетический паттерн, 25
- эпигеном, 18
- эталонная конфигурация, 76, 80, 85–89, 100, 103, 135, 423, 427, 428, 431, 432
- ЭТЭ, 30, 325
- эффект Пиноккио, 69, 110, 120
- эффект сверхрассеивания (overdispersion), 191, 369, 385

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ



*Васильев Алексей Геннадьевич* — д.б.н., проф., зав. лаб. эволюционной экологии ИЭРиЖ УрО РАН (vag@ipae.uran.ru). Окончил в 1974 г. биологический факультет Уральского государственного университета им. А.М. Горького (в настоящее время УрФУ). С 1974 г. работает в Институте экологии растений и животных УрО РАН. В 1981 г. защитил кандидатскую диссертацию «Опыт эколого-морфологического анализа дифференциации популяций с разной степенью пространственной изоляции», а в 1996 г. — докторскую диссертацию

«Фенетический анализ биоразнообразия на популяционном уровне» по специальности экология. С 1997 г. работал в должности ведущего научного сотрудника, а в 1998–1999 гг. — и.о. зам. директора ИЭРиЖ УрО РАН. С 2000 г. заведует лабораторией эволюционной экологии. Автор более 250 научных публикаций, в том числе 12 монографий. Лауреат премии им. А.Н. Северцова Президиума РАН (1999 г.) за серию работ по эволюционной и популяционной морфологии млекопитающих (совместно с акад. РАН В.Н. Большаковым и д.б.н. И.А. Васильевой). Лауреат премии фонда поддержки науки им. акад. В.Е. Соколова (2008). Лауреат премии им. акад. С.С. Шварца (2008).

*Область научных интересов:* эволюционная экология, популяционная морфология, фенетика, популяционная биология развития, фенотипика, эпигенетика, внутривидовая систематика, изменчивость, биоразнообразие, фенотипический мониторинг.



*Васильева Ирина Антоновна* — д.б.н., в.н.с. лаб. эволюционной экологии ИЭРиЖ УрО РАН (via@ipae.uran.ru). Окончила в 1974 г. с отличием биологический факультет Уральского государственного университета им. А.М. Горького (в настоящее время УрФУ). После обучения в аспирантуре в 1978 г. защитила кандидатскую диссертацию «Сравнительное изучение изменчивости краниологических признаков полёвок (Microtinae) при гибридизации форм разной

степени дивергенции» по специальности зоология, а в 2006 г. — докторскую диссертацию «Закономерности гомологической изменчивости морфологических признаков грызунов на разных этапах эволюционной дивергенции» по специальностям экология и зоология. С 1977 г. работает в Институте экологии растений и животных УрО РАН, с 2007 г. — в должности ведущего научного сотрудника в лаборатории эволюционной экологии. Автор более 150 научных публикаций, в том числе 5 монографий. Лауреат премии им. А.Н. Северцова Президиума РАН (1999 г.) за серию работ по эволюционной и популяционной морфологии млекопитающих (совместно с акад. РАН В.Н. Большаковым и д.б.н. А. Г. Васильевым).

*Область научных интересов:* эволюционная экология, проблемы микроэволюции, популяционная морфология и фенетика, систематика, гомологическая изменчивость морфологических признаков, морфологическое разнообразие, проблема вида, биоразнообразие, экомониторинг.



*Шкурихин Алексей Олегович* — к.б.н., н.с. лаб. эволюционной экологии ИЭРиЖ УрО РАН (shkurikhin@ipae.uran.ru). Окончил в 2009 г. биологический факультет Уральского государственного университета им. А.М. Горького (в настоящее время УрФУ). После обучения в аспирантуре в 2012 г. защитил кандидатскую диссертацию «Анализ закономерностей популяционной динамики и сезонной изменчивости симпатрических видов белянок» по специальности экология. С 2009 г. работает в лаб. эволюционной экологии Института экологии растений и животных УрО РАН, с 2013 г. — в должности научного сотрудника. Автор более 30 научных публикаций.

*Область научных интересов:* эволюционная экология, фенотипическая пластичность, сезонная изменчивость, энтомология.

# СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ (А. Г. Васильев, И. А. Васильева, А. О. Шкурихин) .....	5
ВВЕДЕНИЕ (А. Г. Васильев) .....	7
Глава 1. СООТНОШЕНИЕ ПОНЯТИЙ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И РАЗНООБРАЗИЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИЗНАК И МОРФОСТРУКТУРА В ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ (А. Г. Васильев, И. А. Васильева).....	14
1.1. Изменчивость и разнообразие формы .....	14
1.2. Морфологический признак и морфоструктура .....	22
1.3. Фенотип, фенотипическая изменчивость и проблемы классификации .....	26
Глава 2. ВВЕДЕНИЕ В ГЕОМЕТРИЧЕСКУЮ МОРФОМЕТРИЮ: ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ПОДХОДЫ (А. Г. Васильев, А. О. Шкурихин)....	33
2.1. История появления геометрической морфометрии .....	34
2.2. Кратко о специфике традиционной и геометрической морфометрии .....	43
2.3. Типы меток-ландмарок (landmarks) и их комбинирование .....	46
2.4. Два этапа оцифровки изображений объектов .....	53
2.5. Размер центроида и использование линейки .....	63
2.6. Методы суперимпозиции, использующие ауллайны и ландмарки .....	66
2.7. Краткий очерк теории формы.....	71
2.8. Частные и относительные деформации, энергия искривления и метод тонкопластинных сплайнов .....	90
2.9. Визуализации изменений формы в геометрической морфометрии.....	105
2.10. Источники возникновения ошибок в геометрической морфометрии.....	116
Глава 3. ОБЗОР КОМПЬЮТЕРНЫХ ПРОГРАММ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ И ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯМ (А. Г. Васильев, А. О. Шкурихин) .....	124
3.1. Классический пакет программ TPS (Thin-Plate Spline).....	125
3.2. Программный комплекс IMP (Integrated Morphometrics Package) .....	173
3.3. Элементы геометрической морфометрии в программе PAST (PAleontological STatistics) .....	192
3.4. Визуализация изменчивости формы в программе APS (A Procrustes Software) и пакете программ Morphologica <sup>2</sup> .....	197
3.5. Пакет программ CLIC (Collecting Landmarks for Identification and Characterization).....	205

3.6. Оценка флуктуирующей асимметрии формы биологических объектов с помощью программы SAGE (Symmetry and Asymmetry in Geometric Data) .....	208
3.7. Возможности программы MorphoJ .....	213
Глава 4. R-ПРОГРАММЫ ДЛЯ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ (А. Г. Васильев, Т. С. Ослина) .....	232
Глава 5. ФЕНОГРАММЕТРИЯ – НОВЫЙ МЕТОД ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ ФЕНЕТИКИ ДЛЯ АНАЛИЗА ИЗМЕНЧИВОСТИ ДИСКРЕТНЫХ МОРФОСТРУКТУР (А. Г. Васильев, И. А. Васильева) .....	253
Глава 6. НОВЫЕ ПУТИ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ СИСТЕМАТИКИ И ЭВОЛЮЦИОННОЙ ЭКОЛОГИИ МЕТОДАМИ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ: МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ФИЛОГЕНИЙ (А. Г. Васильев, И. А. Васильева) .....	290
6.1. Изменчивость формы головы и клюва у галапагосских Дарвиновых вьюрков и морфологическое картирование разных версий их молекулярных филогений .....	297
6.2. Анализ разнообразия формы тела и головы симпатрических экотипов рыб в составе флота <i>Labeobarbus</i> оз. Тана в Эфиопии: геометрическая морфометрия .....	326
Глава 7. ПРИНЦИПЫ, МЕТОДЫ И НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОПУЛЯЦИОННОГО И ЦЕНОТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ (А. Г. Васильев, И. А. Васильева) .....	360
7.1. Изменчивость размеров, формы и структуры листьев берёзы повислой в зоне воздействия Средне-Уральского медеплавильного завода: технология мониторинга .....	364
7.2. Популяционно-ценотический мониторинг состояния форпостных группировок растений и животных .....	392
ЗАКЛЮЧЕНИЕ (А. Г. Васильев, И. А. Васильева, А. О. Шкурихин) .....	406
СЛОВАРЬ ОСНОВНЫХ ПОНЯТИЙ И ТЕРМИНОВ (И. А. Васильева, А. Г. Васильев) .....	419
БЛАГОДАРНОСТИ .....	433
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	434
УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ .....	453
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ .....	459
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ .....	466

# CONTENTS

FOREWORD (A. G. Vasil'ev, I. A. Vasil'eva, A. O. Schkurikhin).....	5
INTRODUCTION (A. G. Vasil'ev).....	7
Chapter 1. THE RELATIONSHIPS BETWEEN CONCEPTS OF VARIABILITY AND DIVERSITY, AND BETWEEN MORPHOLOGICAL CHARACTER AND MORPHOSTRUCTURE IN GEOMETRIC MORPHOMETRICS (A. G. Vasil'ev, I. A. Vasil'eva) .....	14
1.1. Variability and diversity of shape.....	14
1.2. Morphological character and morphostructure .....	22
1.3. Phenotype, phenotypic variability and problems of classification .....	26
Chapter 2. INTRODUCTION TO GEOMETRIC MORPHOMETRICS: BASIC PRINCIPLES AND APPROACHES (A. G. Vasil'ev, A. O. Schkurikhin).....	33
2.1. The history of geometric morphometrics appearance .....	34
2.2. Short outline of traditional and geometric morphometrics specificity.....	43
2.3. Landmark types and their combining .....	46
2.4. Two stages in images digitizing.....	53
2.5. Centroid size and ruler usage .....	63
2.6. Superimposition methods using outlines and landmarks.....	66
2.7. About the shape theory.....	71
2.8. Partial and relative warps, bending energy and the method of thin-plates splines.....	90
2.9. Visualizations of shape changes in geometric morphometrics .....	105
2.10. Sources of measurement errors in geometric morphometrics.....	116
Chapter 3. OVERVIEW OF SOFTWARE PROGRAMS USING IN GEOMETRIC MORPHOMETRICS AND COMMON SUGGESTIONS FOR USERS (A. G. Vasil'ev, A. O. Schkurikhin).....	124
3.1. TPS (Thin-Plate Spline) — classic program package .....	125
3.2. IMP — Integrated Morphometrics Package.....	173
3.3. The elements of geometric morphometrics in PAST (PALEontological STatistics) .....	192
3.4. Visualization of shape variability in APS (A Procrustes Software) and Morphologica <sup>2</sup> .....	197
3.5. CLIC (Collecting Landmarks for Identification and Characterization).....	205

3.6. Estimation of fluctuating asymmetry in shape of biological units by means of SAGE (Symmetry and Asymmetry in Geometric Data).....	208
3.7. User's options of MorphoJ program .....	213
Chapter 4. R–PROGRAMS FOR GEOMETRIC MORPHOMETRICS (A. G. Vasil'ev, T. S. Oslina) .....	232
Chapter 5. PHENOGRAMMETRY AS A NEW METHOD OF GEOMETRIC PHENETICS TO ANALYSE DISCRETE VARIATIONS OF MORPHOSTRUCTURES (A. G. Vasil'ev, I. A. Vasil'eva).....	253
Chapter 6. NEW WAYS TO DECIDE PROBLEMS IN SYSTEMATICS AND EVOLUTIONARY ECOLOGY BY GEOMETRIC MORPHOMETRICS METHODS: MAPPING MORPHOMETRIC DATA ONTO A PHYLOGENY (A. G. Vasil'ev, I. A. Vasil'eva) .....	290
6.1. Shape variations of head and beak in the Galapagos finches and mapping morphometric data onto different versions their phylogeny .....	297
6.2. Disparity analysis of body and head shapes in the sympatric ecospecies of fishes of <i>Labeobarbus</i> flock from Tana Lake in Ethiopia: geometric morphometrics .....	326
Chapter 7. PRINCIPLES, METHODS AND NEW TECHNOLOGIES OF POPULATION AND COENOTIC MONITORING IN PLANTS AND ANIMALS USING GEOMETRIC MORPHOMETRICS (A. G. Vasil'ev, I. A. Vasil'eva).....	360
7.1. Variations in size, shape and structure of leaves in Weeping Birch ( <i>Betula pendula</i> Roth.) from the impact zone of the Middle-Ural copper plant: biomonitoring technology .....	364
7.2. Population and coenotic monitoring of outpost groups states in plants and animals .....	392
CONCLUSION (A. G. Vasil'ev, I. A. Vasil'eva, A. O. Schkurikhin) .....	406
GLOSSARY OF PRINCIPAL TERMS (I. A. Vasil'eva, A. G. Vasil'ev).....	419
ACKNOWLEDGEMENTS.....	433
REFERENCES .....	434
AUTHOR INDEX .....	453
SUBJECT INDEX.....	459
AUTHORS.....	466

**Васильев А. Г., Васильева И. А., Шкурихин А. О.** Геометрическая морфометрия: от теории к практике. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2018. 471 с.

В монографии представлено описание традиционных и новых методов в области геометрической морфометрии (ГМ). Книга предназначена для биологов, желающих

освоить эти методы самостоятельно, и содержит детальные рекомендации для начинающих по применению наиболее популярных компьютерных программ (TPS, IMP, MorphoJ и др.). Предложен новый подход — фенограмметрия, позволяющий применять методы геометрической морфометрии для решения задач фенетики и популяционной фенетики. Приведены примеры применения ГМ, включая решение задач таксономии, морфокартирования филогений и оценки филогенетического сигнала в морфологических данных у разных групп животных, оценки роли симпатрического формообразования в эволюции Дарвиновых вьюрков и флота африканских усачей (*Labeobarbus*). Изложен опыт разработки технологии экологического мониторинга на примере растений и животных с применением ГМ. Дан словарь понятий и терминов, используемых в ГМ.

Книга представляет интерес для эволюционистов, систематиков, морфологов, экологов, преподавателей, аспирантов и студентов биологических факультетов университетов.

