

ние жилкования либо имеется, либо отсутствует) (Smith et al., 1997; Łopuch, Tofilski, 2016; Солонкин и др., 2017; Gülmez, 2019). Часто в основе дискретного варьирования таких признаков лежит скрытая количественная изменчивость некоторых параметров морфогенеза (например, сигнальных веществ): если величины этих параметров достигают порога, то в фенотипе проявляется одно из альтернативных состояний признака, а если не достигают – другое (Васильев, 1988, 2005; Halgrímsson et al., 2005; Palmer, 2012). В рамках эпигенетической концепции фенетики, которая восходит к эпигенетическим представлениям К. Х. Уоддингтона (1970) и М. А. Шишкина (1984), дискретные устойчивые состояния пороговых неметрических признаков называются фенами (Berry, Searle, 1963; Васильев, 1988, 2005). Фены в данном понимании могут рассматриваться как проявление в фенотипе альтернативных путей морфогенеза. Считается, что частоты встречаемости фенов позволяют охарактеризовать набор потенциальных путей развития какой-либо морфоструктуры и вероятности их реализации, т. е. эпигенетический ландшафт популяции (Васильев, 1988; 2005). Косвенными критериями для отнесения дискретного фенотипического признака к пороговым служат, во-первых, наличие 4 типов билатеральных композиций (+/+; -/-; +/-; -/+; где «+» и «-» обозначают разные состояния признака), и, во-вторых, количественное варьирование степени выраженности признака, если он проявился в фенотипе (Васильев, 2005).

В фенетических исследованиях важно различать устойчивые дискретные состояния порогового признака (фены) и устойчивые сочетания состояний разных признаков (композиции фенов) (Васильев, 1988, 2005; Sereno, 2007). При изучении нарушений жилкования крыльев одна жилка рассматривается в качестве одного признака, и нарушения, расположенные в пределах одной жилки, считаются одинаковыми (Akahira, Sakagami, 1959; Porporato et al., 2014; Солонкин и др., 2017; Eligül et al., 2017). Однако жилки насекомых обладают значительной протяженностью, и нарушения жилкования могут формироваться в разных местах одной и той же жилки. Возникает вопрос, должны ли такие нарушения жилкования рассматриваться как один фен или как разные. Согласно представлениям о выделении и разграничении морфологических признаков (Sereno, 2007; Васильев, Васильева, 2009), если на разных участках одной и той же жилки могут совместно встречаться одинаковые или разные нарушения, то эти участки способны к независимому варьированию и поэтому должны считаться разными признаками.

Нарушения жилкования крыльев насекомых часто рассматриваются как случайные ошибки развития, в связи с чем частоты их встречаемости используются в качестве дополнительной меры уровня нестабильности развития особей в популяциях наряду с величиной флуктуирующей асимметрии (Ross, Robertson, 1990; Clarke, 1993; Smith et al., 1997; Padró et al., 2014; Łopuch, Tofilski, 2016). Однако возможность применения частот встречаемости редких состояний неметрических признаков (фенодевиаций) для оценки уровня нестабильности развития особей остается под вопросом. Теоретическое обоснование корректности использования данного метода в известной нам литературе отсутствует. Ряд авторов отрицает возможность применения какой-либо другой меры нестабильности развития, кроме флуктуирующей асимметрии (Debat, David, 2001; Willmore et al., 2007; Takahashi, 2019).

Под стабильностью индивидуального развития понимают устойчивость к случайным нарушениям морфогенеза (онтогенетический шум), способность реализовывать фенотипическую норму при данном генотипе и в одних и тех же условиях среды.

Стабильность развития привлекает внимание исследователей как возможный показатель «качества» особей в популяции и «качества» среды, в которой они обитают. Предполагается, что наиболее приспособленные особи характеризуются наиболее стабильным онтогенезом (Захаров, 1987; Dongen, 2006; Klinbergen, 2019). Известно, что вероятность реализации в фенотипе редкого состояния неметрического признака зависит от генотипа особи, условий окружающей среды во время развития, чувствительности морфогенеза к этим факторам и степени его нестабильности (Debat, David, 2001; Hallgrímsson et al., 2005; Willmore et al., 2007; Takahashi, 2019). Нарушения жилкования крыльев насекомых могут рассматриваться как маркеры нестабильности развития только в том случае, если их возникновение обусловлено случайными ошибками морфогенеза и не зависит от генотипа и условий окружающей среды.

Насколько нам известно, не существует метода, который бы позволил на материале из природных популяций прямо определить вклад разных факторов в развитие фенотипического отклонения. Для косвенной оценки может быть использован анализ закономерностей антимерного проявления фенодевииций, разработанный Б. Л. Астауровым (1974). Если все особи обладают одинаковой предрасположенностью (генетической или индуцированной факторами внешней среды) к развитию данной фенодевииции, то ее проявление у конкретных особей будет зависеть только от случайных ошибок морфогенеза. При этом если фенодевииция на разных сторонах тела развивается независимо, то вероятность ее асимметричного проявления (p_{asymm}) будет равна:

$$p_{asymm} = p_a * (1 - p_b) + p_b * (1 - p_a) \quad (1),$$

а вероятность симметричного проявления (p_{symm}):

$$p_{symm} = p_a * p_b, \quad (2),$$

где p_a и p_b – вероятности возникновения фенодевииции соответственно на правой и левой сторонах тела (Астауров, 1974; Васильев, 2005; Palmer, 2012). Фенодевииции, эмпирические частоты встречаемости которых значимо не отличаются от ожидаемых в случае их случайного и независимого проявления на разных сторонах тела особи, можно рассматривать в качестве маркеров, характеризующих нестабильность развития в исследуемой популяции. Этот вывод справедлив только для конкретной анализируемой группы. Отличия групп по частоте встречаемости фенодевииции могут быть обусловлены не только различиями в уровне нестабильности развития, но и генетическими или экологическими факторами, поэтому для сравнения уровня нестабильности развития в разных группах целесообразно использовать редкие состояния не одного, а нескольких независимых друг от друга неметрических признаков. Согласованное изменение частот встречаемости редких состояний ряда таких признаков, вероятнее всего, будет свидетельствовать об изменении уровня стабильности развития.

В данной работе предпринята попытка на примере нарушений жилкования крыльев боярышницы рассмотреть следующие вопросы: 1) являются ли нарушения жилкования крыльев пороговыми признаками со скрытой количественной природой варьирования? 2) могут ли разветвления, возникшие в разных местах одной жилки, считаться гомологичными? 3) проявляются ли нарушения жилкования независимо друг от друга? 4) могут ли частоты встречаемости нарушений жилкования крыльев насекомых

использоваться в качестве меры уровня нестабильности развития особей в популяциях?

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использованы выборки имаго боярышницы *Aporia crataegi* L. (3804 самца и 3119 самок), сделанные в 2013–2019 гг. в окрестностях дер. Фомино на базе биологической станции Уральского федерального университета (Свердловская обл., Сысертский р-н, 56°36' с. ш., 61°03' в. д.). Материал хранится в Музее Института экологии растений и животных УрО РАН (Екатеринбург). Поиск нарушений жилкования вели, просматривая отпрепарированные крылья с вентральной стороны под бинокулярным микроскопом МБС-10. Нарушения жилкования учитывали отдельно на каждом участке жилок и в каждой ячейке крыла, схема деления жилок крыла на участки приведена на рис. 1. Особей без части крыла не учитывали при анализе нарушений жилкования на поврежденном участке, но использовали для анализа остальных участков крыльев, поэтому объемы выборок по разным жилкам не совпадают (табл. 1).

В работе рассматриваются нарушения жилкования пяти типов (рис. 2): дополнительные разветвления жилок (I); дополнительные продольные жилки, расположенные в ячейках крыла (II); случаи редукции присутствующих в норме жилок (III); слияние присутствующих в норме жилок (IV) и полное разделение одной жилки на две, расположенные параллельно (тип V). Методика учета и классификации нарушений жилкования подробно описана в работе И. А. Солонкина с соавт. (Солонкин и др., 2017), для данного исследования она была незначительно модифицирована. В частности, в анализ добавлены некоторые участки жилок ($M_2-M_1 + R_{4+5}$, R_1-R_{2+3} , $M_1 + R_{4+5}$, M_2 на переднем крыле), которые в предыдущей работе были исключены.

Для анализа изменчивости степени проявления нарушений жилкования крыльев и местоположения нарушений на жилках были выбраны два наиболее часто встречающихся дополнительных разветвления: жилки Si_1 переднего крыла и M_2 заднего крыла. Всего были проанализированы морфометрические параметры 149 разветвлений жилки Si_1 и 350 разветвлений жилки M_2 . Измерения проводили под бинокулярным микроскопом МБС-10 с помощью окуляр-микрометра. Схема промеров приведена на рис. 3. Параметр 1 характеризует общую протяженность жилки от точки ее ответвления до конца основной ветви, параметр 2 – расстояние от точки дополнительного ответвления до края крыла, и параметр 3 – длину дополнительного ветви разветвления. Если обе ветви были выражены полностью, то параметр 3 не измерялся. Верхняя ветвь жилки Si_1 практически всегда (в 96 % случаев) была выражена полностью, а нижняя часто (в 69 % случаев) была выражена слабо, поэтому верхняя ветвь рассматривалась в качестве основной, а нижняя – в качестве дополнительной. Для разветвления жилки M_2 характерна обратная картина: верхняя ветвь часто (в 85 % случаев) была слабо выражена, а нижняя – практически всегда (в 98 % случаев) была выражена полностью. В связи с этим у разветвления жилки M_2 нижняя ветвь считалась основной, а верхняя – дополнительной.

Для характеристики местоположения нарушения на жилке использовали индекс 1, рассчитанный по формуле: (параметр 2 / параметр 1). Для характеристики степени выраженности дополнительной ветви разветвлений использовали индекс 2, рассчитанный по формуле: (параметр 3 / параметр 2). Медианы индексов, рассчитанных для разных разветвлений, сравнивали с помощью критерия Манна–Уитни (U), а распределения индексов – с помощью критерия Колмогорова–Смирнова (d).

Взаимосвязь проявления различных нарушений жилкования между собой оценили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R_s). Для корреляционного анализа были отобраны нарушения, встретившиеся более 10 раз в общей выборке имаго одного пола. В результате были рассчитаны корреляции между 39 нарушениями жилкования у самцов и 33 – у самок. Полученные корреляционные матрицы были обработаны методом метрического многомерного шкалирования (главных координат, PCO). Затем провели кластерный анализ методом Уорда, для

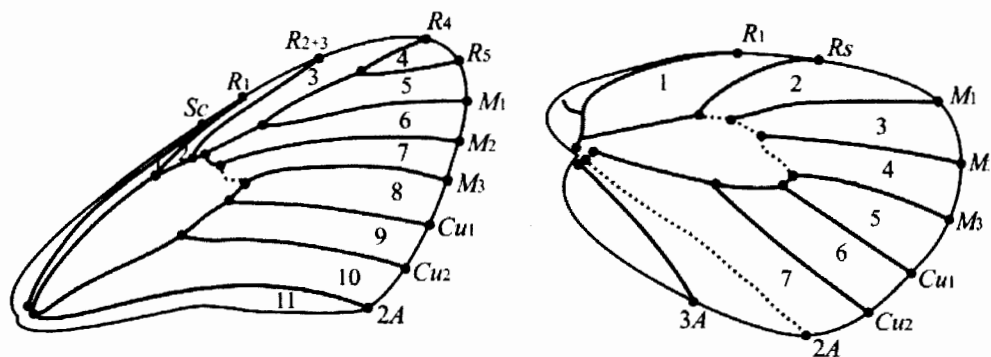


Рис. 1. Схема нормального жилкования крыльев *Aporia crataegi* L. Точками обозначены границы анализируемых участков жилок, прерывистой линией выделены участки жилок, исключенные из анализа. Цифрами указаны номера ячеек крыла.

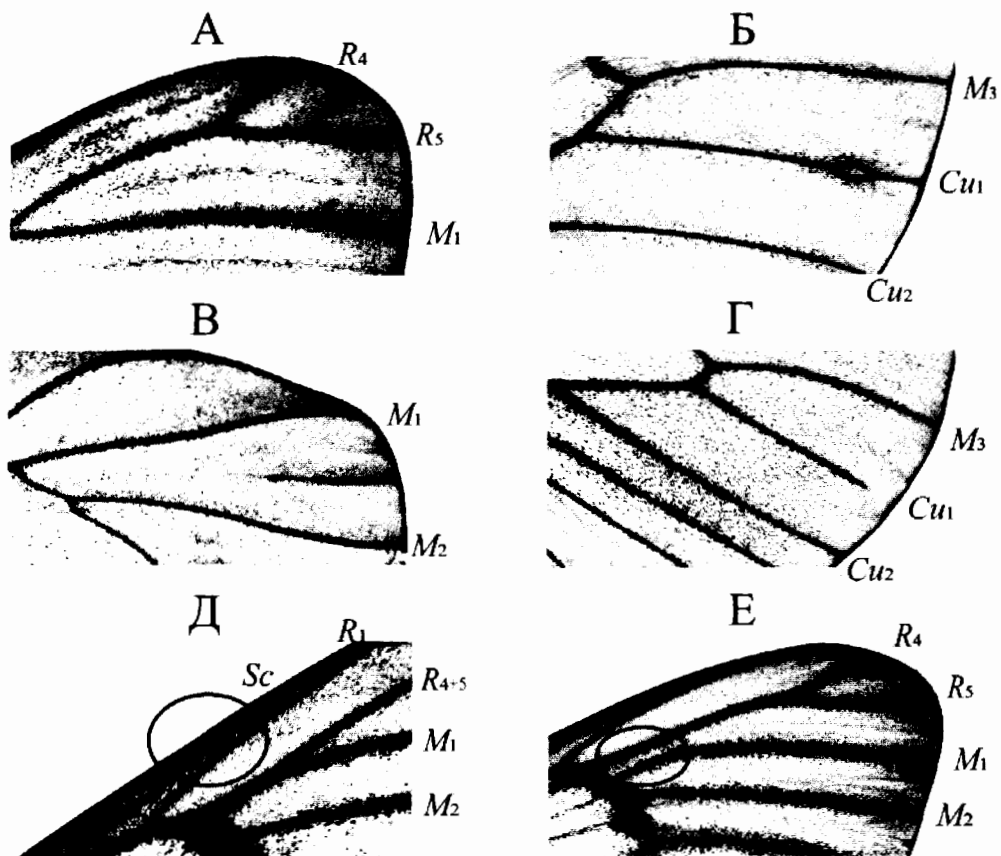


Рис. 2. Анализируемые типы нарушений жилкования крыльев *Aporia crataegi* L.

А, Б – дополнительные разветвления жилок (тип I), В – дополнительная жилка в ячейке крыла (тип II), Г – редукция жилки (тип III), Д – слияние присутствующих в норме жилок (тип IV), Е – полное разделение присутствующей в норме жилки на две (тип V). По: Солонкин и др., 2017, с изменениями.

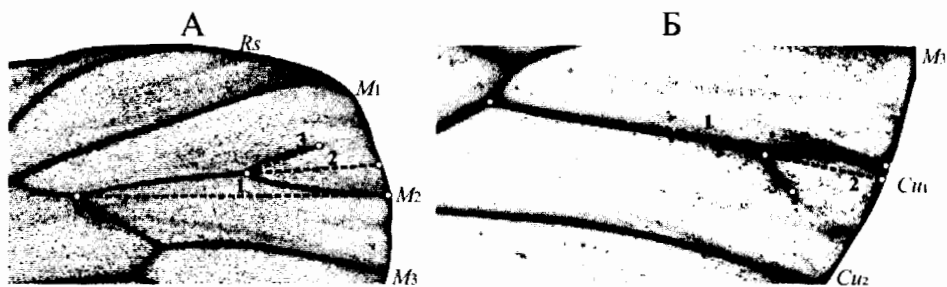


Рис. 3. Схема промеров дополнительных разветвлений жилок M_2 заднего крыла (А) и Cu_1 переднего крыла (Б) *Aporia crataegi* L.

1 – длина жилки от точки ее ответвления до конца основной ветви, 2 – расстояние от точки дополнительного разветвления до края крыла, 3 – длина дополнительной ветви разветвления.

которого были отобраны главные координаты признаков, каждая из которых объясняла не менее 2 % общей изменчивости (первые 26 координат у самцов и 24 – у самок).

Для анализа закономерностей антимерного проявления были отобраны нарушения жилкования, встретившиеся более 10 раз. В данном случае учетной единицей считали сторону тела особи. Если на одной и той же жилке обнаруживали несколько одинаковых нарушений, то такая сторона тела учитывалась один раз как сторона с нарушением данной жилки. В результате закономерности антимерного проявления были проанализированы для 39 нарушений у самцов и 32 у самок. Для каждого нарушения жилкования были рассчитаны частота его встречаемости на правой и левой сторонах тела (p_a и p_b соответственно) и количество особей с асимметричным и симметричным проявлением данного нарушения. С целью выявления направленной асимметрии сравнивали частоту встречаемости каждого нарушения жилкования на разных сторонах тела с помощью точного критерия Фишера. Затем вычисляли ожидаемые частоты встречаемости особей с асимметричным и симметричным проявлением каждого нарушения при условии его случайного и независимого возникновения на разных сторонах тела по формулам (1) и (2). Эмпирические и ожидаемые частоты встречаемости особей с асимметричным и симметричным проявлением каждого нарушения сравнивали с помощью точного критерия Фишера, затем вычисляли долю особей с асимметричным проявлением нарушения от общего числа особей, имеющих данное нарушение жилкования (долю асимметричного проявления). В качестве показателя величины отклонения наблюдаемых частот встречаемости особей с симметричным проявлением нарушения от ожидаемых использовали величину разности между наблюдаемой и ожидаемой долей асимметричного проявления данного нарушения (D). Изменчивость D в зависимости от пола имаго и группы нарушений проанализировали путем двухфакторного робастного дисперсионного анализа. Во всех случаях множественных сравнений уровни значимости корректировали по методу Бенджамини–Хохберга. Для характеристики мер центральной тенденции использовали медиану (Me). Все процедуры статистического анализа были выполнены в программе PAST 3.26 (Hammer et al., 2001) и в среде R (R Core Team, 2019).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Степень проявления добавочной ветви разветвлений жилок Cu_1 переднего крыла и M_2 заднего крыла варьирует в широком диапазоне, причем наиболее часто встречаются разветвления со слабо выраженной добавочной ветвью (рис. 4). Степень проявления добавочной ветви у разветвлений Cu_1 и M_2 не отличается ни по медиане ($U = 9920$; $p = 0.11$), ни по распределению в целом ($d = 0.14$; $p = 0.16$). Непрерывная количествен-

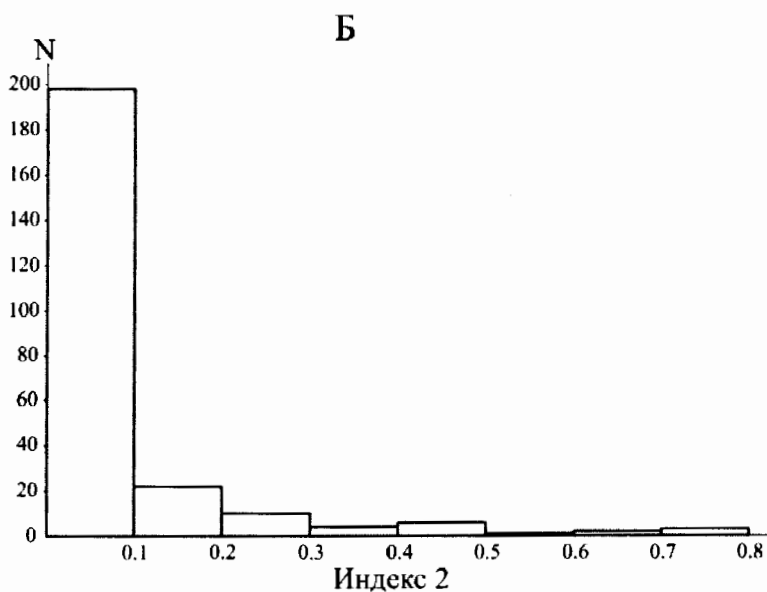
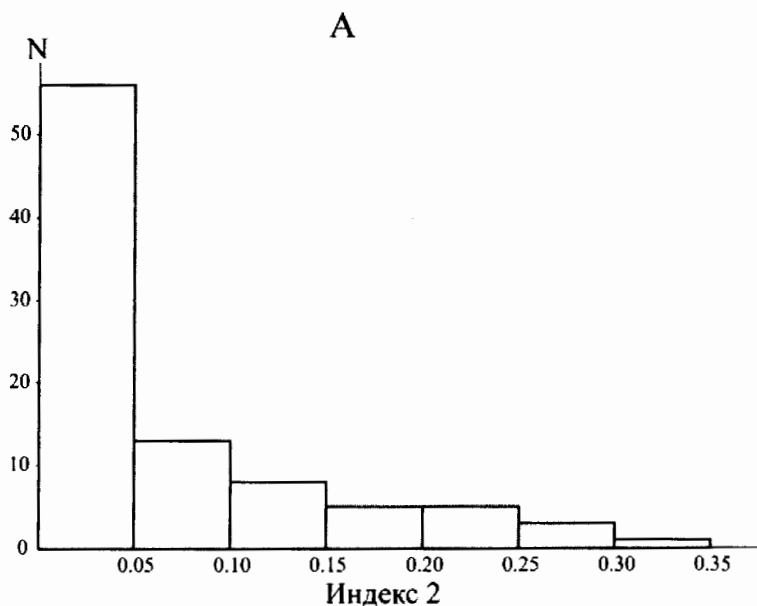


Рис. 4. Распределение дополнительных разветвлений жилок Cu_1 переднего крыла (А) и M_2 заднего крыла (Б) *Aporia crataegi* L. по степени выраженности дополнительной ветви.

ная изменчивость степени проявления разветвлений Cu_1 и M_2 позволяет предполагать, что в основе дискретного варьирования жилок лежит количественная изменчивость каких-то параметров морфогенеза крыла и нарушение жилкования проявляется в том случае, когда величины этих параметров оказываются выше (или ниже) определенного порога (Васильев, 2005; Halgrímsson et al., 2005). Согласно нашим наблюдениям, для остальных нарушений жилкования крыльев (разветвлений, дополнительных жи-

лок, редукции жилок), так же, как и для проанализированных здесь разветвлений жилок Cu_1 и M_2 , характерна непрерывная изменчивость степени проявления. Кроме того, нарушения жилкования образуют четыре типа билатеральных композиций (+/+; -/-; +/-; -/+). Следовательно, нарушения жилкования могут рассматриваться как устойчивые состояния пороговых неметрических признаков со скрытой количественной природой изменчивости, т. е. фены (Васильев, 2005). При этом природа факторов, непрерывная количественная изменчивость которых по пороговому механизму обуславливает проявление нарушений жилкования, остается неизвестной. Можно предположить, что частоты встречаемости различных нарушений жилкования отражают спектр возможных путей морфогенеза жилок и вероятности их реализации и, таким образом, позволяют охарактеризовать эпигенетический ландшафт изучаемой популяции.

Остается неясным, следует ли рассматривать одинаковые нарушения, возникающие в разных местах одной и той же жилки, как один фен или как разные. Мы получили противоречивые результаты, которые не позволяют окончательно ответить на этот вопрос. Установлено, что одинаковые нарушения жилкования встречаются совместно у одной особи на жилке Cu_1 в 5 % случаев, а на жилке M_2 – в 3 % случаев. Частота совместной встречаемости разветвлений Cu_1 на одной жилке соответствует ожидаемой при условии их случайного и независимого комбинирования ($p = 0.07$), в то время как разветвления M_2 совместно проявляются значимо реже, чем ожидается при их случайном и независимом комбинировании ($p = 0.006$). Одновременное присутствие одинаковых разветвлений в разных местах одной и той же жилки показывает, что разные части одной жилки могут варьировать независимо друг от друга и, следовательно, должны рассматриваться как разные признаки, а нарушения жилкования, возникающие в разных местах жилки, должны считаться разными фенами (Sereno, 2007; Васильев, Васильева, 2009). С другой стороны, как видно из распределения индекса 1 на рис. 5, разветвления возникают на всем протяжении жилок Cu_1 и M_2 , а не в каких-либо определенных участках. Вероятность формирования разветвлений минимальна вблизи основания обеих изученных жилок и постепенно возрастает по мере приближения к внешнему краю крыла (рис. 5). Местоположение разветвлений на жилках Cu_1 и M_2 не отличается ни по медиане ($U = 26064$; $p = 0.99$), ни по распределению в целом ($d = 0.10$; $p = 0.20$). Таким образом, на основе полученных результатов невозможно разделить изученные жилки на отдельные участки, которые можно было бы анализировать как самостоятельные признаки.

Примечательно, что на разных участках одной жилки у разных особей формируются одни и те же варианты разветвлений. Ранее было показано, что у боярышницы на разных жилках устойчиво реализуются определенные варианты нарушений (Солонкин и др., 2017). С учетом этих данных особенности расположения разветвлений на изученных жилках следует считать доказательством морфогенетического единства одной жилки и существования морфогенетических различий между разными жилками. В настоящее время нарушения жилкования можно рассматривать либо как фены, либо как композиции фенотипов разных признаков.

Независимость проявления нарушений жилкования крыльев оценили с помощью расчета коэффициентов корреляции Спирмена (R_s) между разными нарушениями. Согласно результатам кластерного анализа, все нарушения жилкования разделяются на два обособленных кластера (рис. 6). Кластер признаков № 1 у самцов образуют дополнительные жилки в ячейках № 3, 8 и 9 переднего крыла и в ячейке № 1 заднего крыла.

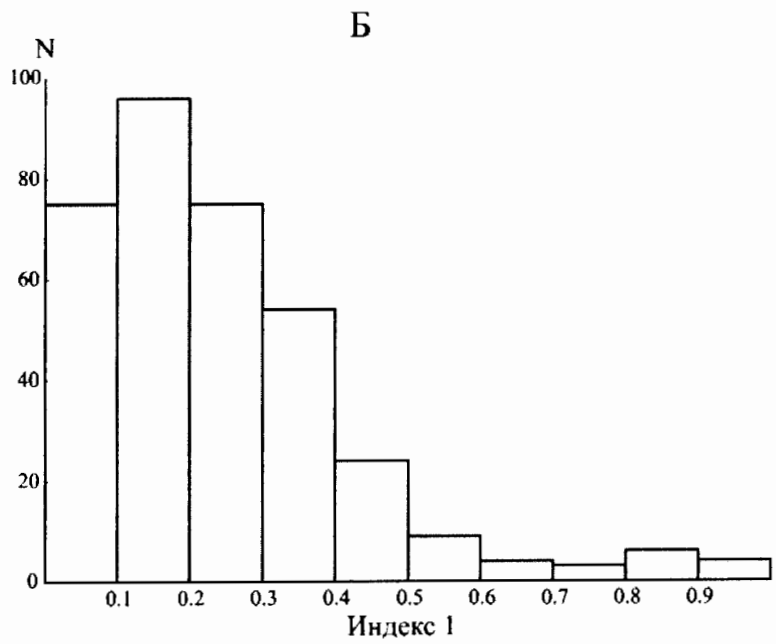
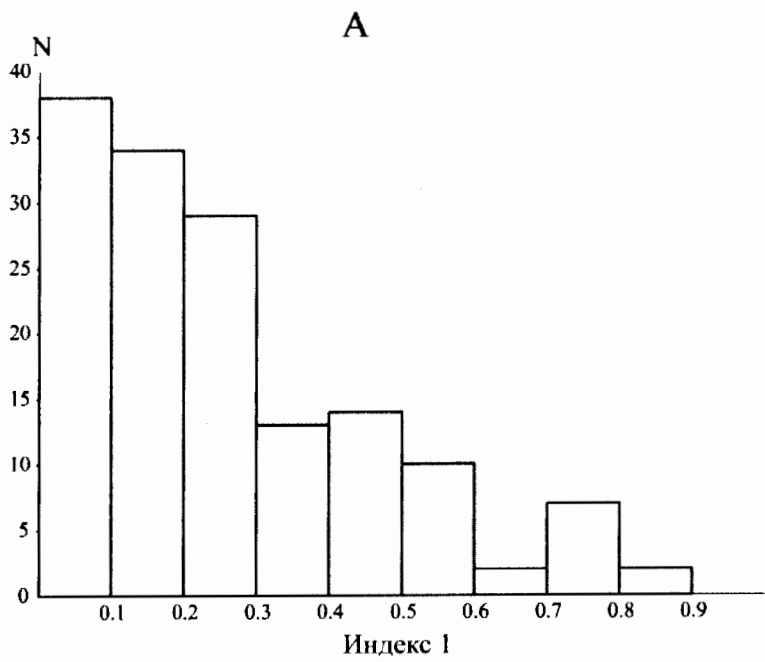


Рис. 5. Распределение дополнительных разветвлений жилок Sc_1 переднего крыла (А) и M_2 заднего крыла (Б) *Aporia crataegi* L. по их местоположению на жилке.

У самок в этот кластер входит тот же набор признаков, и, кроме этого, дополнительные жилки в ячейках № 4–6 переднего крыла. Все остальные анализируемые нарушения жилкования составляют кластер № 2 (см. рис. 6). Этот кластер и у самцов, и у самок отчетливо разделяется на два крупных субкластера. В каждый из этих субкластеров попадают нарушения жилкования, относящиеся к разным типам, расположенные на разных стволах жилок на переднем и заднем крыльях. Таким образом, не удается выявить закономерности, на основании которых выделяются эти два подкластера.

Нарушения жилкования, составляющие кластер № 2, проявляются преимущественно независимо друг от друга (значения коэффициентов корреляции у самок варьируют от -0.16 до 0.19 ; $Me = -0.02$, у самцов – от -0.11 до 0.18 , $Me = -0.01$). При этом у самцов значения коэффициентов корреляции между разными нарушениями одних и тех же жилок значимо выше, чем между нарушениями разных жилок ($Me_1 = 0.08$; $Me_2 = -0.01$; по результатам теста Манна–Уитни, $U = 1185$, $p < 0.001$). Большинство нарушений разных типов, расположенных на одних и тех же жилках у самцов, группируются в общие субкластеры (рис. 6А). Таким образом, если на крыле самца возникает более одного нарушения жилкования, то более вероятно, что они будут расположены на одной жилке, а не на разных.

Для признаков, составляющих кластер № 1, в сравнении с нарушениями жилкования из кластера № 2, характерно более частое совместное проявление у одной и той же особи: значения коэффициентов корреляции между ними варьируют от 0.11 до 0.55 у самок ($Me = 0.31$, $p < 0.05$) и от 0.12 до 0.24 у самцов ($Me = 0.17$, $p < 0.05$). Поскольку нарушения жилкования, входящие в кластер № 2, проявляются независимо друг от друга, то маловероятно, что взаимосвязанное проявление нарушений из кластера № 1 обусловлено скоординированностью процессов морфогенеза в разных ячейках крыла. Скорее всего, совместное проявление нарушений жилкования, принадлежащих к кластеру № 1, обусловлено влиянием некоего фактора (например, генотипа особи или условий среды), который увеличивает предрасположенность к возникновению дополнительных жилок в некоторых ячейках крыла. Таким образом, можно выделить две группы нарушений жилкования крыльев боярышницы. К первой относятся нарушения, входящие в кластер № 1, которые сравнительно часто встречаются совместно у одной особи. Ко второй группе относятся нарушения из кластера № 2, которые проявляются независимо друг от друга.

Направленная асимметрия в проявлении нарушений жилкования крыльев отсутствует (табл. 1.). Величина отклонения наблюдаемой доли асимметричного проявления от ожидаемой (D) у разных нарушений жилкования варьирует от 0 до 35% у самцов ($Me = 7.2\%$) и от 0 до 55% у самок ($Me = 13.6\%$). В 38% случаев у самцов и в 44% случаев у самок это отклонение значимо (см. табл. 1). Таким образом, антимерное проявление разных нарушений жилкования крыльев боярышницы подчиняется разным закономерностям: некоторые нарушения проявляются случайно и независимо на разных сторонах тела, в то время как проявление других в большей или меньшей степени отклоняется в сторону симметрии. Случаев отклонения в сторону повышенной асимметричности проявления (т. е. склонности к антисимметрии) не обнаружено. Это хорошо согласуется с литературными данными: фенотипические отклонения на разных сторонах тела проявляются случайно и независимо друг от друга (Астауров, 1974; Васильев, 2005) или демонстрируют тенденцию к симметричному проявлению (Palmer, 2012).

Таблица 1. Закономерности антимерного проявления нарушений жилкования крыльев у *Aporia crataegi* L.

Крыло	Участок жилки или ячейка крыла	Тип нарушения	N	Число особей с нарушением		Частота встречаемости сторон тела с нарушением, %		p_1	D, %	p_2
				Асимметричные	Симметричные	Правая	Левая			
Самцы										
Переднее	$M_2-M_1+R_{4+5}$	I	3728	85	3	1.26	1.18	1	2.8	0.248
	R_1-R_{2+3}	I	3728	211	59	4.46	4.33	1	19.6	0.000
	R_1	I	3718	12	0	0.16	0.16	1	-0.1	1
		III	3718	72	9	1.23	1.18	1	10.5	0.003
		IV	3718	15	6	0.35	0.37	1	28.4	0.013
	R_{2+3}	I	3706	43	0	0.56	0.59	1	-0.3	1
		III	3706	16	0	0.29	0.13	0.818	-0.1	1
	M_1+R_{4+5}	I	3726	143	52	3.31	3.64	1	24.9	0.000
		V	3726	15	8	0.37	0.45	1	34.6	0.002
	R_{4+5}	I	3717	18	0	0.32	0.16	0.811	-0.1	1
	R_4	I	3698	27	0	0.21	0.51	0.505	-0.2	1
	R_5	I	3674	50	8	1.21	0.56	0.113	13.4	0.006
		III	3674	14	0	0.22	0.16	1	-0.1	1
	M_1	I	3676	22	0	0.32	0.27	1	-0.1	1
		III	3676	17	1	0.22	0.30	1	5.4	1
	M_2	I	3689	22	0	0.30	0.30	1	-0.1	1

Таблица 1 (продолжение)

Крыло	Участок жилки или ячейка крыла	Тип нарушения	N	Число особей с нарушением		Частота встречаемости сторон тела с нарушением, %		P_1	D, %	P_2
				Асимметричные	Симметричные	Правая	Левая			
Переднее	M_3	I	3688	25	2	0.38	0.43	1	7.2	0.419
	Cu_1-M_3	I	3727	16	0	0.29	0.13	0.818	-0.1	1
	Cu_1	I	3687	136	37	2.91	2.82	1	19.9	0.000
	Cu_2	I	3668	16	0	0.13	0.32	0.797	-0.1	1
	2A	I	3644	77	23	1.35	2.00	0.479	22.2	0.000
		III	3644	26	1	0.46	0.30	1	3.5	1
	№ 3	II	3687	107	40	2.50	2.55	1	25.9	0.000
	№ 4	II	3670	26	1	0.22	0.57	0.465	3.5	0.832
	№ 8	II	3665	10	4	0.27	0.22	1	28.5	0.069
	№ 9	II	3651	28	9	0.68	0.57	1	24.0	0.002
№ 10	II	3622	217	55	4.42	4.70	1	17.9	0.000	
Заднее	R_1	I	3693	12	1	0.19	0.19	1	7.6	1
	M_1	I	3661	66	5	1.00	1.05	1	6.5	0.060
		III	3661	42	8	0.73	0.86	1	15.6	0.005
	M_2	I	3656	299	54	5.41	5.70	1	12.4	0.000
	M_3	I	3661	9	1	0.19	0.11	1	9.9	1
	Cu_1-M_3	I	3701	25	2	0.51	0.27	0.797	7.2	0.419
	Cu_1	I	3666	13	0	0.16	0.19	1	-0.1	1

Заднее	3A	III	3666	23	1	0.43	0.27	1	4.0	1
		I	3660	190	21	3.19	3.18	1	8.3	0.000
		III	3660	40	5	0.84	0.51	0.708	10.8	0.054
		№ 1	3673	26	2	0.51	0.32	0.993	6.9	0.419
		№ 3	3633	128	15	2.20	2.14	1	9.4	0.001

Самки

Переднее	M_2-M_1, R_{4+5}	I	3023	37	1	0.49	0.79	1	2.3	1
	R_1-R_{2+3}	I	3023	138	40	3.52	3.69	1	20.6	0.000
	R_1	III	3014	75	7	1.55	1.38	1	7.8	0.014
	R_{2+3}	I	3005	35	2	0.63	0.66	1	5.1	0.354
		III	3006	14	0	0.23	0.23	1	-0.1	1
	M_1, R_{4+5}	I	3026	45	8	1.05	0.99	1	14.6	0.005
	R_{4+5}	I	3017	13	0	0.07	0.36	0.357	-0.1	1
	R_4	I	3010	27	1	0.53	0.43	1	3.3	1
	R_5	I	2993	62	1	0.93	1.19	1	1.1	1
		III	2993	9	2	0.23	0.20	1	18.1	0.348
	M_1	III	2993	5	4	0.20	0.26	1	44.3	0.039
	M_2	I	3003	16	3	0.40	0.33	1	15.6	0.165
	M_3	I	2995	23	1	0.50	0.33	1	4.0	1
	Cu_1	I	2995	86	14	1.95	1.85	1	13.0	0.001
	Cu_2	I	2992	22	1	0.43	0.46	1	4.1	1
	№ 3	II	3001	86	79	4.23	3.92	1	45.8	0.000
	№ 4	II	2989	30	4	0.53	0.73	1	11.5	0.095
	№ 5	II	2974	9	11	0.46	0.56	1	54.7	0.000

Таблица 1 (продолжение)

Крыло	Участок жилки или ячейка крыла	Тип нарушения	N	Число особей с нарушением		Частота встречаемости сторон тела с нарушением, %		p_1	D, %	p_2
				Асимметричные	Симметричные	Правая	Левая			
Переднее	№ 6	II	2980	10	6	0.36	0.36	1	37.3	0.009
	№ 7	II	2991	10	3	0.30	0.26	1	22.9	0.139
	№ 8	II	2980	17	14	0.76	0.73	1	44.8	0.000
	№ 9	II	2971	20	18	0.93	0.96	1	46.9	0.000
	№ 10	II	2954	172	57	4.72	4.90	1	22.4	0.000
Заднее	R_1	I	2992	17	0	0.17	0.40	1	-0.1	1
	M_1	I	2975	33	0	0.43	0.66	1	-0.3	1
		III	2975	7	3	0.23	0.23	1	29.9	0.128
	M_2	I	2966	193	38	5.20	3.89	0.357	14.2	0.000
	Cu_1	III	2972	11	0	0.13	0.23	1	-0.1	1
	$3A$	I	2993	145	17	3.08	2.91	1	9.0	0.001
		III	2993	21	4	0.43	0.53	1	15.8	0.092
	№ 1	II	2980	20	11	0.60	0.83	1	35.1	0.000
№ 3	II	2945	55	2	1.00	1.00	1	3.0	0.354	

Примечания. D – разность между наблюдаемой и ожидаемой долями асимметричного проявления нарушения жилкования, p_1 – значимость различий между частотами встречаемости нарушений справа и слева, p_2 – значимость различий между наблюдаемыми и ожидаемыми частотами встречаемости особей с симметричным и асимметричным проявлением нарушений.

Согласно результатам робастного дисперсионного анализа, величина отклонения от ожидаемой доли асимметричного проявления (D) в значительной мере зависит от того, к какой группе относится нарушение ($p = 0.001$), и в меньшей степени – от пола имаго ($p = 0.026$). У самок проявление нарушений жилкования в целом имеет более симметричный характер, чем у самцов (рис. 7). Нарушения жилкования первой группы у обоих полов проявляются более симметрично в сравнении с другими нарушениями (рис. 7). Таким образом, нарушения жилкования первой группы сравнительно часто проявляются совместно и симметрично у одной особи. Отметим, что все нарушения жилкования, отнесенные к первой группе, представляют собой дополнительные жилки, т. е. результат избыточной и эктопической дифференцировки клеток мембраны крыла в клетки жилок. Возможно, что они возникают в результате реализации одного и того же морфогенетического пути, вероятность осуществления которого зависит от экологических или генетических факторов. Поэтому такие нарушения жилкования не могут рассматриваться в качестве независимых признаков, а частоты их встречаемости не могут быть использованы для характеристики уровня нестабильности развития особей в популяции.

Все остальные изученные нарушения жилкования (отнесенные ко второй группе) проявляются независимо друг от друга и, как правило, асимметрично. Однако среди них величина отклонения (D) от ожидаемой доли асимметричного проявления также сильно варьирует. В выборке самцов величина D у нарушений жилкования второй группы зависит от частоты их встречаемости: чем чаще данное нарушение встречается, тем в большей степени его проявление симметрично ($R_s = 0.69$; $p < 0.001$). Таким образом, у самцов редкие нарушения жилкования, как правило, формируются вследствие случайных ошибок морфогенеза, а возникновение относительно часто встречающихся нарушений в большей степени обусловлено генетическими или экологическими факторами. У самок эта закономерность не выражена ($R_s = 0.30$; $p = 0.15$).

В качестве маркера уровня нестабильности развития могут использоваться только нарушения жилкования со статистически незначимой разностью (D) между наблюдаемой и ожидаемой долями асимметричного проявления. Этому критерию удовлетворяет значительная часть изученных признаков: 24 из 39 проанализированных признаков у самцов и 18 из 32 – у самок. Доля этих нарушений жилкования от общего числа обнаруженных нарушений жилкования достигает всего 21 % у самцов и 23 % у самок. Следовательно, большая часть проанализированных нарушений жилкования не может рассматриваться в качестве показателя нестабильности развития. Таким образом, по частоте встречаемости всей совокупности нарушений жилкования крыльев боярышницы невозможно судить об уровне нестабильности развития особей в популяциях.

Полученные нами данные показывают, что нарушения жилкования крыльев боярышницы можно рассматривать как устойчивые состояния пороговых неметрических признаков, т. е. фены. Это согласуется с описанной нами ранее закономерностью: на одних и тех же участках жилок, как правило, возникают одни и те же разновидности нарушений (Солонкин и др., 2017). По-видимому, нарушения жилкования крыльев боярышницы наряду с другими описанными в литературе пороговыми неметрическими признаками можно считать результатами реализации определенных, относительно устойчивых аберрантных путей морфогенеза (Васильев, 1988; 2005).

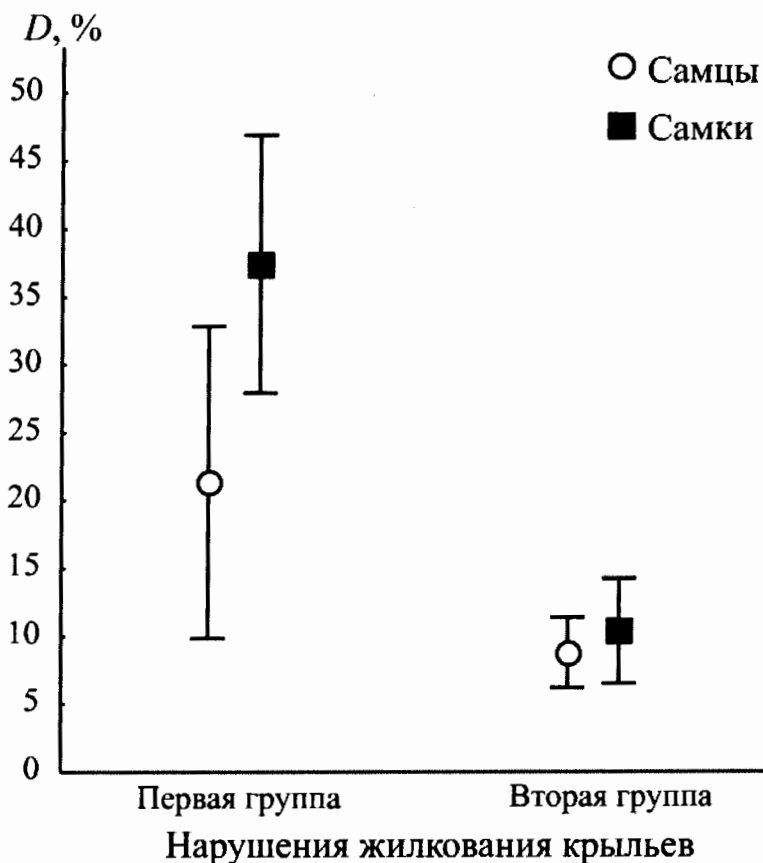


Рис. 7. Разность (D) между наблюдаемой и ожидаемой долями асимметричного проявления нарушений жилкования у самцов и самок *Aporia crataegi* L. Приведены средние значения и доверительные интервалы.

В данной работе установлено, что проявление разных нарушений жилкования подчиняется разным закономерностям. Некоторые нарушения (многие дополнительные жилки в ячейках крыла) проявляются совместно у одной особи с относительно высокой частотой, в то время как другие встречаются независимо друг от друга и не образуют устойчивых фенотипических комбинаций. Одни нарушения жилкования проявляются преимущественно асимметрично, случайно и независимо на разных сторонах тела (например, дополнительные разветвления жилки M_1 заднего крыла, случаи редукции жилок $2A$ переднего крыла и $3A$ заднего крыла), в то время как для других характерна тенденция к симметричному проявлению (в частности, для большинства дополнительных жилок, расположенных в ячейках крыла, и дополнительных разветвлений радиального ствола на участке R_1-R_{2+3}). Только нарушения жилкования, которые про-

являются независимо друг от друга и встречаются случайно и независимо на разных сторонах тела, могут считаться случайными ошибками развития и, следовательно, рассматриваться в качестве маркёров нестабильности развития. Как правило, они встречаются относительно редко и поэтому составляют меньшую часть от общего числа обнаруженных нарушений.

Таким образом, частоты встречаемости нарушений жилкования крыльев, вероятно, можно использовать для характеристики эпигенетического ландшафта популяций насекомых (Васильев, 1988, 2005), однако оценивать с их помощью уровень нестабильности развития особей в популяциях следует с крайней осторожностью. Использованный нами подход может быть применен для анализа закономерностей изменчивости жилкования крыльев других групп насекомых, для которых характерны активный полет и относительная устойчивость видового паттерна жилкования.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам Института экологии растений и животных УрО РАН (Екатеринбург) А. Г. Васильеву и И. А. Васильевой за обсуждение результатов работы, а также нашим коллегам А. В. Иванову, Т. С. Ослиной и П. В. Рудоискателю за помощь в сборе энтомологического материала.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Многолетний сбор полевого материала, камеральная обработка, анализ и интерпретация результатов выполнены в рамках темы государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН № ААААА19-119031890087-7 при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-34-90006).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Астауров Б. Л. 1974. Наследственность и развитие. М.: Наука, 359 с.
- Васильев А. Г. 1988. Эпигенетическая изменчивость: неметрические пороговые признаки, фены и их композиции. В кн.: А. В. Яблоков (ред.). Фенетика природных популяций. М.: Наука, с. 158–169.
- Васильев А. Г. 2005. Эпигенетические основы фенетики: на пути к популяционной мерономии. Екатеринбург: Академкнига, 640 с.
- Васильев А. Г., Васильева И. А. 2009. Гомологическая изменчивость морфологических структур и эпигенетическая дивергенция таксонов: основы популяционной мерономии. М.: Товарищество научных изданий КМК, 511 с.
- Захаров В. М. 1987. Асимметрия животных (популяционно-феногенетический подход). М.: Наука, 216 с.
- Мартынова О. М. 1948. Индивидуальная изменчивость крыльев Месортега. Известия Академии наук СССР. Серия биологическая (2): 193–198.
- Орлов Л. М. 1975. Жилкование крыла златоглазки *Chrysopa adspersa* Wesm. (Chrysopidae, Neuroptera) как модель микроэволюционных исследований. Журнал общей биологии 35 (6): 902–913.
- Солонкин И. А., Захарова Е. Ю., Шкурихин А. О., Ослина Т. С. 2017. Классификация и закономерности проявления нарушений жилкования крыльев белянок (Lepidoptera: Pieridae) на примере боярышницы *Aporia crataegi* L. Евразийский энтомологический журнал 16 (6): 579–589.
- Уоддингтон К. Х. 1970. Основные биологические концепции. В кн.: К. Х. Уоддингтон (ред.). На пути к теоретической биологии. I. Прологомены. М.: Мир, с. 11–46.

- Шишкин М. А. 1984. Фенотипические реакции и эволюционный процесс (еще раз об эволюционной роли модификаций). В кн.: Я. М. Галл (ред.). Экология и эволюционная теория. Л.: Наука, с. 196–216.
- Akahira Y., Sakagami S.F. 1959. Observations on the variability of wing venation in the honeybees. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI. Zoology* **14** (2): 175–184.
- Berry R. J., Searle A. G. 1963. Epigenetic polymorphism of the rodent skeleton. *Proceedings of the Zoological Society of London* **140**: 557–615.
- Clarke G. M. 1993. Patterns of developmental stability of *Chrysopa perla* L. (Neuroptera: Chrysopidae) in response to environmental pollution. *Environmental Entomology* **22** (6): 1362–1366. doi: 10.1093/ee/22.6.1362
- Debat V., David P. 2001. Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends in Ecology & Evolution* **16** (10): 555–561. doi: 10.1016/S0169-5347(01)02266-2
- Dongen S. V. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of Evolutionary Biology* **19** (6): 1727–1743. doi: 10.1111/j.1420-9101.2006.01175.x
- Eligül H., Özkan Koca A., Kandemir İ. 2017. Forewing deformations in Turkish honey bee populations. *Uludag Bee Journal* **17** (2): 72–81.
- Gülmez Y. 2019. Teratology in the solitary wasp family Sphecidae (Insecta: Hymenoptera). *Biologia* **74**: 1349–1357. doi: 10.2478/s11756-019-00254-7
- Hallgrímsson B., Donnabhárin B. Ó., Blom D. E., Lozada M. C., Willmore K. T. 2005. Why are rare traits unilaterally expressed?: trait frequency and unilateral expression for cranial nonmetric traits in humans. *American Journal of Physical Anthropology* **128** (1): 14–25. doi: 10.1002/ajpa.20187
- Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. 2001. PAST version 2.17. Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* **4** (1): 1–9.
- Klingenberg C. P. 2019. Phenotypic plasticity, developmental instability, and robustness: the concepts and how they are connected. *Frontiers in Ecology and Evolution* **7**, Article № 56. doi: 10.3389/fevo.2019.00056
- Łopuch S., Tofilski A. 2016. The relationship between asymmetry, size and unusual venation in honey bees (*Apis mellifera*). *Bulletin of Entomological Research* **106** (3): 304–313. doi: 10.1017/S0007485315000784
- Padró J., Carreira V., Corio C., Hasson E., Soto I. M. 2014. Host alkaloids differentially affect developmental stability and wing vein canalization in cactophilic *Drosophila buzzatii*. *Journal of Evolutionary Biology* **27** (12): 2781–2797. doi: 10.1111/jeb.12537
- Palmer A. R. 2012. Developmental origins of normal and anomalous random right–left asymmetry: lateral inhibition versus developmental error in a threshold trait. *Contributions to Zoology* **81** (2): 111–124. doi: 10.1163/18759866-08102006
- Porporato M., Laurino D., Balzola L., Manino A. 2014. Wing venation teratology in *Apis mellifera* L. *Redia* **97**: 157–163.
- R Core Team. [Интернет документ] 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/> (дата обращения 15.11.2019).
- Ross K. G., Robertson J. L. 1990. Developmental stability, heterozygosity, and fitness in two introduced fire ants (*Solenopsis invicta* and *S. richteri*) and their hybrid. *Heredity* **64** (1): 93–103. doi: 10.1038/hdy.1990.12
- Sereno P. C. 2007. Logical basis for morphological characters in phylogenetics. *Cladistics* **23** (6): 565–587. doi: 10.1111/j.1096-0031.2007.00161.x
- Smith D. R., Crespi B. J., Bookstein F. L. 1997. Fluctuating asymmetry in the honey bee, *Apis mellifera*: effects of ploidy and hybridization. *Journal of Evolutionary Biology* **10** (4): 551–574. doi: 10.1046/j.1420-9101.1997.10040551.x
- Sotavalta O. 1964. Studies on the variation of the wing venation of certain tiger moths (Lepidoptera, Arctiidae, subfamilia Arctiinae). *Annales Academiae Scientiarum Fennicae. Series A. IV. Biologica. Helsinki: Suomalainen Tiedekatemia*: 1–42.
- Takahashi K. H. 2019. Multiple modes of canalization: Links between genetic, environmental canalizations and developmental stability, and their trait-specificity. *Seminars in Cell & Developmental biology* **88**: 14–20. doi: 10.1016/j.semdb.2018.05.018
- Willmore K. E., Young N. M., Richtsmeier J. T. 2007. Phenotypic variability: its components, measurement and underlying developmental processes. *Evolutionary Biology* **34** (3–4): 99–120. doi: 10.1007/s11692-007-9008-1

WING VENATION ABNORMALITIES IN THE BLACK-VEINED WHITE
APORIA CRATAEGI L. (LEPIDOPTERA, PIERIDAE):
INSIGHT IN TERMS OF THE MODERN PHENETICS

I. A. Solonkin, E. Yu. Zakharova, A. O. Shkurikhin

Key words: wing venation abnormalities, phenetics, phenotypic variability, phenodeviance, developmental stability, Lepidoptera.

SUMMARY

Patterns of wing venation abnormalities appearance in the black-veined white (*Aporia crataegi* L.) were studied. It was shown that these abnormalities form four types of bilateral compositions and quantitatively vary in their degree of the phenotypic expression. This implies that wing venation abnormalities of the black-veined white butterfly can be considered as stable states of threshold nonmetric traits with hidden quantitative variability, i. e., «phenes». Patterns of various wing venation abnormalities appearance vary. Different abnormalities demonstrate a trend to joint occurrence in one individual or occur independently from each other. Some abnormalities appear mainly asymmetrically, randomly, and independently in different body sides, while others display the trend to symmetrical occurrence. Only the wing venation abnormalities that appear independently from each other, randomly and independently in different body sides can be considered as random developmental errors and as indicators of developmental instability. Such abnormalities are rare and make up less than 20% of the total number of abnormalities.