



基于几何形态测量学的五种稻蝗前后翅的形态变化研究*

温光华** 白 义 周 娟 张 瑞 张秀秀 罗倩芸 许升全***

(陕西师范大学动物研究所, 西安 710062)

摘 要 【目的】 定量分析 5 种常见稻蝗属昆虫前后翅的形态变化规律。【方法】 运用几何形态测量学方法对 5 种稻蝗雄性前、后翅进行量化分析,并结合主成分分析法 (Principal component analysis, PCA) 和薄片样条 (Thin-plate spline, TPS) 分析法探讨稻蝗前后翅的大小和形态变异。【结果】 5 种稻蝗前、后翅的大小和形态差异都比较显著,前、后翅的相似关系和 5 种稻蝗的系统发育关系一致。前翅差异的部位主要在缘前脉域、前缘脉域和臀脉域;后翅的差异主要在亚前缘脉域、前缘脉域及轭脉域。【结论】 稻蝗前、后翅形态变化的几何形态测量学分析结果与稻蝗系统发育关系一致,可用于稻蝗属种的分类。稻蝗前、后翅发生变化的部位是其飞行时的受力部位,这些部位可以作为稻蝗物种分类特征。

关键词 几何形态测量学, 稻蝗属, 翅, 主成分分析, 薄板样条分析

Geometric morphometric analysis of wing shape variation in five *Oxya* spp. grasshoppers

WEN Guang-Hua** BAI Yi ZHOU Juan ZHANG Rui ZHANG Xiu-Xiu
LUO Qian-Yun XU Sheng-Quan***

(Institute of Zoology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract [Objectives] To conduct a quantitative study of wing shape variation in 5 grasshopper species of the genus *Oxya*. [Methods] Geometric morphometric methods, including landmarks, centroid size, principal component analysis, and thin-plate spline, were used to analyze wing shape variation. [Results] Wing size and wing shape were significantly different among the 5 *Oxya* species, and the similarity of the fore and hind wing between different species is consistent with the phylogenetic relationships between them. The variable areas of the fore wing were the Precostal area, Costal area and Anal area, and the variable areas of the hind-wing were the subcostal area, costal area and jugal area. [Conclusion] Wing shape variation in *Oxya* species can be used as taxonomic characters.

Key words geometric morphometrics, *Oxya* Serville, wings, principal component analysis, thin-plate spline

翅是昆虫的飞行器官,其颜色、斑纹、大小和结构是昆虫分类和进化研究的常用特征。但经典分类学采用的都是可以明显区别的离散特征,对连续变化的形态结构往往没法利用。几何形态

测量学 (Geometric morphometrics) 是一种结合统计学和图论的图形定量分析方法。该方法通过在多个图形中设置同源地标点 (Landmarks) 或轮廓线而将图形引入坐标系,以地标点的坐标为

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31370250); 国家基础科学人才培养基金 (J1103511); 2013 年国家大学生创新创业训练创新子项目 (cx13076)

**第一作者 First author, E-mail: 1946119909@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: xushengquan@snnu.edu.cn

收稿日期 Received: 2014-08-22, 接受日期 Accepted: 2014-11-24

基础数据,通过统计的方法研究图形的大小、形态变化规律及图形的相似程度 (Zelditch *et al.*, 2004; 白明和杨星科, 2007; Lawing and Polly, 2010; 闫宝荣和花保祯, 2010; 闻慧和王心丽, 2013; 白明等, 2014)。用几何形态测量学方法对形态稳定,容易拍照进行数字化的昆虫翅进行形态结构的定量研究,能够揭示其形态变化和进化规律并解决近缘种分类、种群划分等许多昆虫分类学问题 (Shevtsova *et al.*, 2011)。目前有代表性的研究有蟋蟀翅的模块性分析 (Klingenberg *et al.*, 2010)、不同种类甲虫后翅差异 (Bai *et al.*, 2011) 以及螟蛾类的前后翅差异等 (Mozaffarian *et al.*, 2007)。Combes 和 Daniel (2003a, 2003b) 对昆虫翅的抗弯曲刚度的研究中认为昆虫翅的抗弯曲刚度从翅的基部到端部显著下降。

稻蝗属 *Oxya* Serville (直翅目 Orthoptera: 斑腿蝗科 Catantopidae) 昆虫分布于亚洲的南部,属于半水生昆虫,生活在水塘、稻田及河流两岸的湿地 (郑哲民, 1993; 李鸿昌等, 2006),是目前分类学研究比较多的蝗虫类群之一。近年来分子系统学方法解决了一些物种之间的亲缘关系问题:朱道弘等 (2001) 用随机引物的 PCR 扩增技术对稻蝗属内种间亲缘关系研究表明日本稻蝗 *Oxya japonica* (Thunberg) 与中华稻蝗 *Oxya chinensis* (Thunberg) 亲缘关系较近,与小稻蝗 *Oxya intricata* (Stål) 的亲缘关系较远; 张建珍等 (2003) 采用 DNA 序列和 RAPD 技术研究该属的遗传多样性和分子系统学关系表明,中华稻蝗和无齿稻蝗 *Oxya adentata* Will. 关系密切,日

本稻蝗和山稻蝗 *Oxya agavisa* Tsai 有较近的亲缘关系,小稻蝗与它们的亲缘关系较远; Ren 等 (2004) 应用细胞色素 b 基因的部分序列分析了 9 种稻蝗的系统发育关系并提出物种合并的建议。但目前稻蝗属分类的物种划分中主要依据雄性肛上板、雌性下生殖板以及尾须等结构,这些特征在一些种类中的差异并不显著,常给分类工作带来一定的困难,部分物种的鉴定在分类学界仍存在争议。如 Hollis (1971) 曾提出将中华稻蝗、上海稻蝗、无齿稻蝗三个种合并为一种“中华稻蝗”的主张,国内的分类学的观点是几个物种在重要分类结构上差异明显,仍然分为不同种类 (郑哲民, 1993; 李鸿昌等, 2006)。在其他昆虫类群分类中经常用到的翅的形态结构在稻蝗中还没有应用。

本研究将运用基于地标点的几何形态测量学方法,定量分析稻蝗属 5 种稻蝗前后翅的形态变化规律,为稻蝗的分类和进化研究提供新的形态学证据。

1 材料与方法

1.1 标本整理与图像获取

本研究选择 5 种稻蝗属昆虫雄性成虫标本共 75 头 (表 1)。稻蝗标本软化处理后分别摘取右侧的前后翅,置于两块干净的载玻片间压制成玻片标本。对所得玻片标本进行编号。用 Sony DSC-H5 数码照相机在翻拍架上固定焦距对玻片标本中的前后翅进行微距拍摄,前、后翅分别用

表 1 本研究所用稻蝗标本
Table 1 The specimens of the grasshopper genus *Oxya* used in this study

物种 Species	学名 Scientific name	数量(头) Sample size (individuals)	标本采集地 Collecting site
中华稻蝗	<i>Oxya chinensis</i> (Thunberg)	12	陕西省西安市长安区
无齿稻蝗	<i>Oxya adentata</i> Will.	16	陕西省西安市周至县
日本稻蝗	<i>Oxya japonica</i> (Thunberg)	15	陕西省汉中市勉县
山稻蝗	<i>Oxya agavisa</i> Tsai	16	陕西省汉中市城固县
小稻蝗	<i>Oxya intricata</i> (Stål)	16	陕西省汉中市城固县

标尺矫正照相时的对焦误差。每个个体前翅和后翅图片分别保存为 JPG 文件。

1.2 数据的标准化处理

用 TPSdig2 软件分别对稻蝗的前、后翅图片进行数字化标点(地标点 Landmarks), 前翅标记 13 个地标点(图 1), 后翅标记 10 个地标点(图 2), 所有标点都选择翅脉稳定的交叉点。将获得稻蝗前后翅数据信息分别输入到 IMP 系列软件中的 Coordgen 软件, 依据标尺长度剔除拍照焦距引起的误差; 前翅用以第 1 和第 8 标点作为基准线, 后翅用第 1 和第 4 标点作为基准线。使用广义普氏分析法(Generalized procrustes analysis, GPA)将地标点轮廓叠加, 并使地标点离差最小化, 将稻蝗前后翅的形态信息分别投影

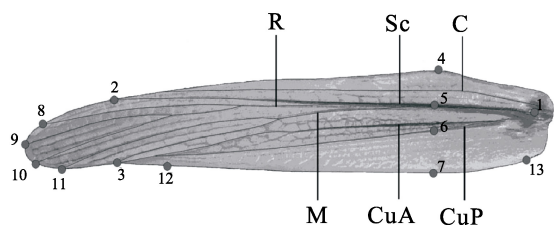


图 1 稻蝗前翅的 13 个地标点

Fig. 1 13 landmarks on the fore wing of *Oxya* spp.

C: 前缘脉; Sc: 亚前缘脉; R: 径脉; M: 中脉; Cu: 肘脉; CuA: 前肘脉; CuP: 后肘脉。下图同。
C: Costa; Sc: Subcosta; R: Radius; M: Media; Cu: Cubitus; CuA: Cubitus anterior; CuP: Cubitus posterior. The same below.

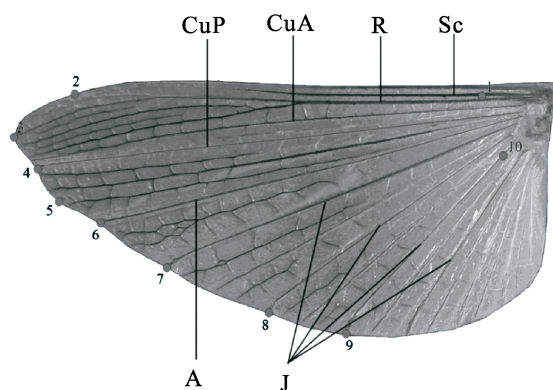


图 2 稻蝗后翅的 10 个地标点

Fig. 2 10 landmarks on the hind wing of *Oxya* spp.

A: 臀脉; J: 轭脉。
A: Anal vein; J: Jugal vein.

到统一坐标系中, 剔除形态分析中非形态信息的影响。并将所有数据转化成二维数据格式。

1.3 统计分析

1.3.1 翅大小变化分析 在 GPA 数据分析过程中, 计算每个标本图形的“中心值(Centroid size, CS 值)”代表翅的大小。CS 值是所有地标点到重心点距离的平方累加值的平方根。利用 SPSS 软件做单因素方差分析(One-way ANOVA), 分析前后翅在稻蝗种间大小差异, 并分别做 5 种稻蝗前翅和后翅大小(CS 值)的箱型图(图 3 和图 4)。

1.3.2 翅形态变化分析 将经过标准化处理的形态信息数据输入 MorphoJ 软件, 运用主成分分析法(Principal component analysis, PCA)分析几种稻蝗形态变化规律。提取前 3 个主成分分别做前翅和后翅的散点图(图 5, 图 6 的散点图)。在 MorphoJ 软件中做薄板样条(Thin-plate spline, TPS)分析, 解析地标点差异, 以可视化图例的方式来展示翅在 3 个主成分上的变异部位(图 5, 图 6 翅的轮廓图)。

2 结果与分析

2.1 翅的大小变化分析

用翅的中心值表示翅大小, 从图 3 和图 4 中可以看到 5 种稻蝗翅大小的排列以及分布区间。结果显示前翅和后翅大小顺序完全一致。从小到大依次为小稻蝗、山稻蝗、无齿稻蝗、日本稻蝗和中华稻蝗。单因素方差分析显示前翅大小的组间差异极显著: $F=33.381$, $P=0.000<0.001$ 。用最小显著极差法(LSD 法)得到的 CS 值大小的同性质子集, 将有显著差异的物种用不同的字母表示, 图 3 表明: 小稻蝗和山稻蝗之间差异不显著, 中华稻蝗和日本稻蝗之间差异不显著, 无齿稻蝗与山稻蝗、中华稻蝗、日本稻蝗和小稻蝗差异显著。

单因素方差分析显示后翅 CS 值的组间的差异极显著: $F=33.394$, $P<0.001$ 。用最小显著极差法(LSD 法)得到的 CS 值大小的同性质子集, 将有显著差异的物种用不同的字母表示, 图 4 表

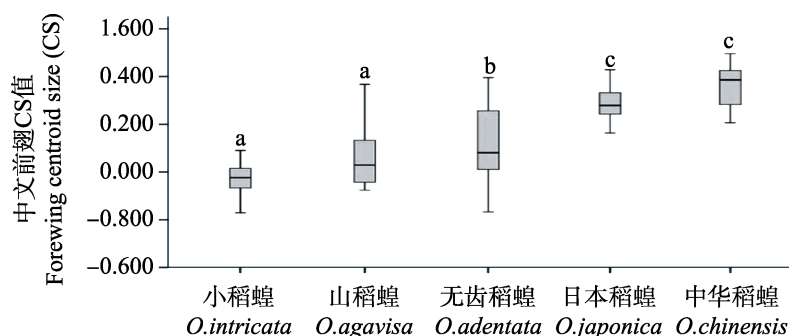


图 3 稻蝗属前翅 CS 值大小图

Fig. 3 *Oxya* Serville centroid size of fore wing

图中相同字母表示差异不显著, 不同字母表示差异极显著 ($P < 0.001$)。图 4 同。

The same letters in the picture indicate no significant difference, different letters indicate extremely significant difference ($P < 0.001$). The same with Fig. 4.

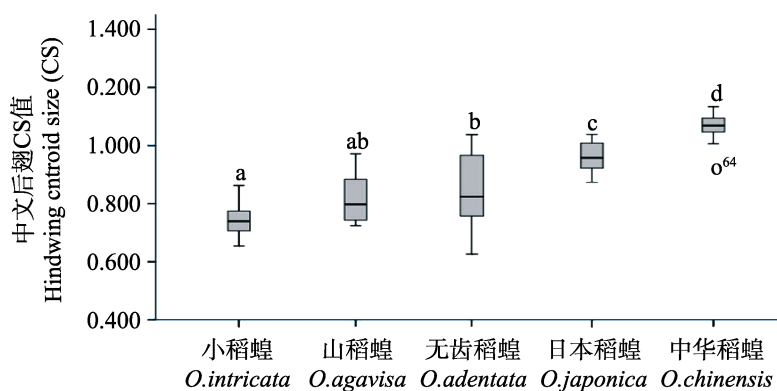


图 4 稻蝗属后翅 CS 值大小图

Fig. 4 *Oxya* Serville centroid size of hind wing

明: 中华稻蝗和日本稻蝗之间差异显著, 小稻蝗和山稻蝗之间差异不显著, 无齿稻蝗与山稻蝗差异不显著, 而与中华稻蝗、日本稻蝗和小稻蝗差异显著。

2.2 5 种稻蝗前翅的形态变化分析

对 5 种稻蝗前翅的主成分分析(表 2)可知, 前翅前 3 个成分的特征值占总变异量的 77.848%, 能够说明几种稻蝗前翅的主要变异规律。对第 1 成分和第 2、3 成分作散点图(图 3), 在 PC1 轴上, 日本稻蝗主要分布在正方向, 山稻蝗主要分布在负方向。结合翅型轮廓图, 在 PC1 轴上, 前翅的变异主要发生在缘前脉域和亚前缘脉域(地标点 2 和 8)、肘脉域(地标点 3 和 6)、臀脉域(地标点 7、12 和 13)。在 PC2 轴上, 小稻蝗位于轴的正方向, 山稻蝗基本位于

轴的负方向。翅的轮廓图显示, 变异的位点主要发生在缘前脉域和前缘脉域(地标点 2 和 4), 地标点 3 和 12 之间, 即臀脉域。在 PC3 轴上, 中华稻蝗和无齿稻蝗略有分开, 从翅脉轮廓图可知, 主要变异发生在中脉域(地标点 3 和 5)和臀脉域(地标点 3、7 和 12)。

2.3 5 种稻蝗后翅形态变化分析

对 5 种稻蝗后翅的主成分分析(表 3)可知, 后翅前 3 个成分的特征值占总变异量的 78.12%, 能够说明 5 种稻蝗后翅的主要变异规律。对第 1 成分和第 2、3 主成分作散点图(图 5)可知, 在 PC1 轴上, 山稻蝗主要分布在轴的正方向, 而日本稻蝗、小稻蝗、无齿稻蝗和中华稻蝗主要分布在负方向, 结合翅型轮廓图, 在 PC1 轴上, 后翅的变异主要发生在前缘脉域(地标点 2 和 3)

和臀脉域(地标点 4、5 和 6)。在 PC2 轴上,中华稻蝗基本位于轴的负方向,小稻蝗位于轴的负方向。翅型轮廓图显示,变异主要发生在亚前缘脉域(地标点 1 和 2)和轭脉域(地标点 8、9

和 10);在 PC3 轴上,小稻蝗和日本稻蝗主要位于 PC3 轴的正方向,中华稻蝗主要位于 PC3 轴负方向。从翅脉轮廓图可知,主要变异位发生在亚前缘脉和径脉(地标点 1、2 和 3)和轭脉

表 2 5 种稻蝗雄性前翅变异的前 3 个主成分

Table 2 The first three principal components of the shape variation of fore wing of five *Oxya* spp.

主成分 Principle component	特征值 Eigenvalue	占总体变异 (%) Variance (%)	累计总体变异 (%) Cumulative variance (%)
1	0.000689	53.192	53.192
2	0.000199	15.377	68.569
3	0.00012	9.279	77.848

表 3 5 种稻蝗雄性前翅变异的前 3 个主成分

Table 3 The first three principal components of the shape variation of fore wing of five *Oxya* spp.

主成分 Principle component	特征值 Eigenvalue	占总体变异 (%) Variance (%)	累计总体变异 (%) Cumulative variance (%)
1	0.001122	38.550	38.550
2	0.000714	24.525	63.075
3	0.000438	15.045	78.120

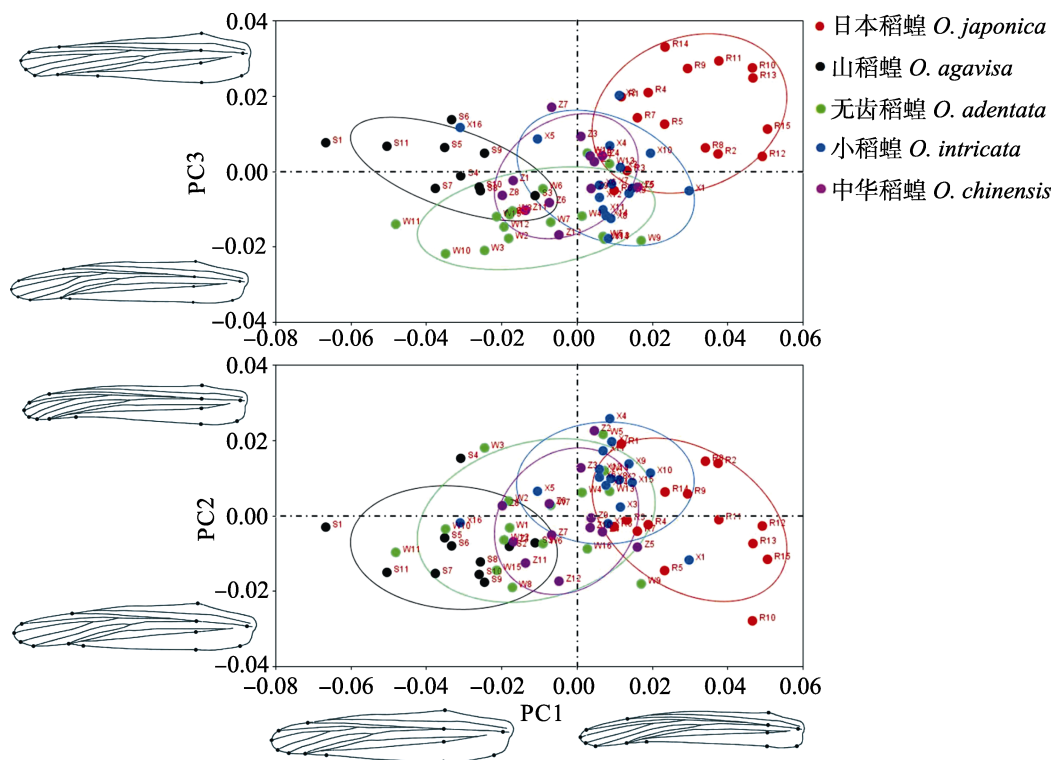


图 5 5 种稻蝗前翅第 1 主成分和第 2、3 主成分的散点图和翅形轮廓分析

Fig. 5 The scatter plots of PC1 and PC2, PC3 for fore wing and outline variation of five *Oxya* species

PC1: 第 1 主成分; PC2: 第 2 主成分; PC3: 第 3 主成分。下图同。

PC1: Principle component1; PC2: Principle component2; PC3: Principle component3. The same below.

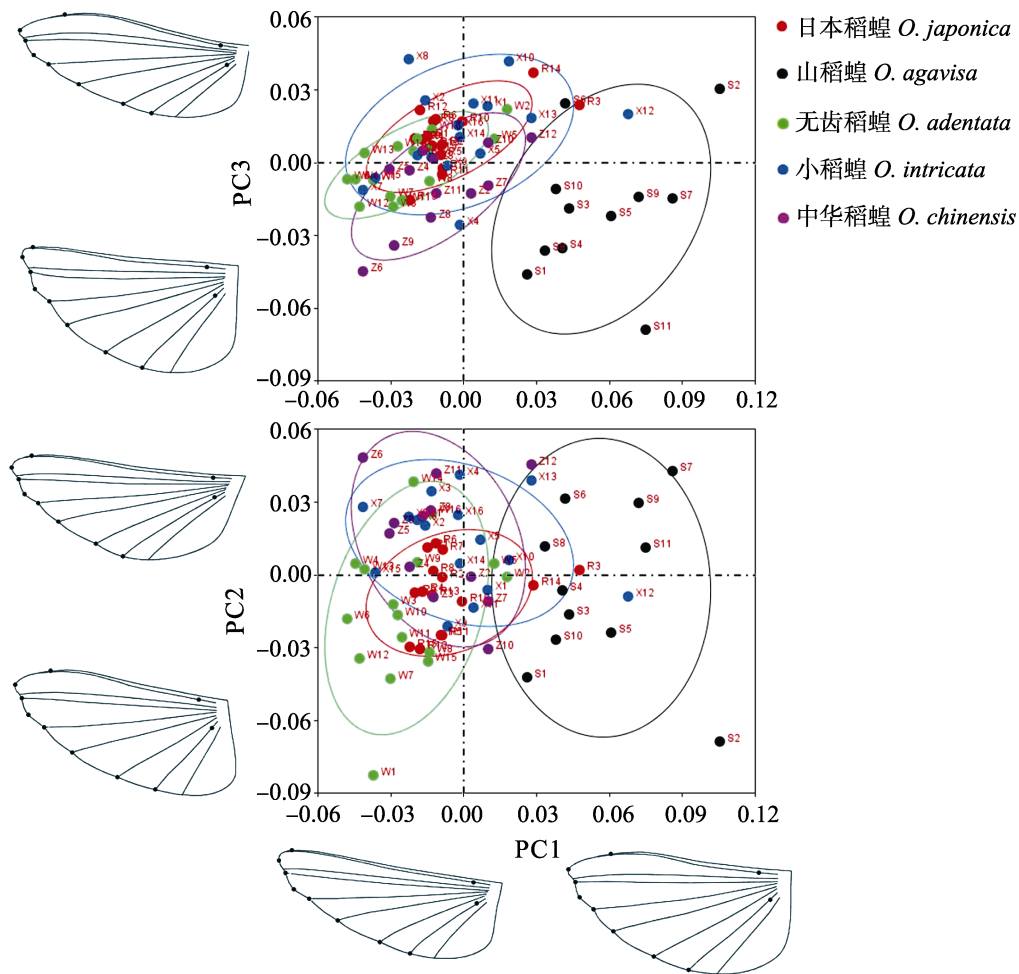


图 6 5 种稻蝗后翅第 1 主成分和第 2、3 主成分的散点图和翅形轮廓分析

Fig. 6 The scatter plots of PC1 and PC2, PC3 for hind wing and outline variation of five *Oxya* species

域 (地标点 7、9 和 10)。

3 讨论

本研究运用几何形态测量学方法对 5 种稻蝗前、后翅的形态变化进行定量分析, 所得结果显示翅的大小和形态在 5 种稻蝗间存在明显差异; 5 种稻蝗前翅的变化规律与后翅变化规律基本一致; 种间翅形态的相似关系也和现有基于分子系统学方法对稻蝗属系统发育关系的研究结果一致。因此, 稻蝗前后翅形态变化可作为种间分类和进化研究的依据。与传统分类方法相比, 几何形态测量学技术能够对昆虫身体结构进行量化分析, 提供更加完整的形态变异信息, 避免了单一结构测量中涵盖形态信息不完整以及统

计模式单一等问题。

从薄板样条分析结果可以看出, 5 种稻蝗前后翅的差异主要在缘前脉域和亚前缘脉域、中脉域、肘脉域和轭脉域, 这些区域可能是蝗虫飞行中的主要受力区域。由于虫体大小和飞行方式方面的差异, 为适应飞行中的平衡以及完成有效飞行, 翅的主要受力区域在长期的进化中发生相应的扭曲。靠近翅缘前脉域至中脉域的区域刚度更高, 靠近臀脉的下边缘刚度较小, 表明翅前缘脉域与中脉是飞行中的主要着力区域, 也成为蝗虫种间差异的主要部位。

对 5 种稻蝗前、后翅的几何形态测量学研究不仅揭示了稻蝗种间翅的形态变化位置是稳定地集中在几个区域, 同时也发现了前、后翅形态的种间变化规律相一致。这种变化规律也与目前

基于分子系统学建立的稻蝗系统发育关系一致。这就提示我们稻蝗前后翅的形态特征不仅能作为其物种的分类特征,而且能反映出物种的系统发育关系。后继如果将形态测量学数据和分子系统学数据、环境数据相结合进行分析,将有助于我们发现稻蝗形态进化的规律。

参考文献 (References)

- Bai M, McCullough E, Song KQ, Liu WG, Yang XK, 2011. Evolutionary constraints in hind wing shape in Chinese dung beetles (Coleoptera : Scarabaeinae). *PLoS ONE*, 6(6): e21600. doi:10.1371/journal.pone.0021600.
- Bai M, Yang XK, 2007. Application of geometric morphometrics in biological researches. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(1): 143–147. [白明, 杨星科, 2007. 几何形态测量法在生物形态学研究中的应用. 昆虫知识, 44(1): 143–147.]
- Bai M, Yang XK, Li J, Wang WC, 2014. Geometric Morphometrics, a super scientific computing tool in morphology comparison. *Chinese Science Bulletin*, 59(10): 887–894. [白明, 杨星科, 李静, 王文成, 2014. 几何形态学: 关于形态定量比较的科学计算工具. 科学通报, 59(10): 887–894.]
- Combes SA, Daniel TL, 2003a. Flexural stiffness in insect wings I. scaling and the influence of wing venation. *Journal of Experimental Biology*, 206(17): 2979–2987.
- Combes SA, Daniel TL, 2003b. Flexural stiffness in insect wings II. sSpatial distribution and dynamic wing bending. *Journal of Experimental Biology*, 206(17): 2989–2997.
- Hollis D, 1971. A preliminary revision of the Genus *Oxya* Audient-serville (Orthoptera: Acridodeia). *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology Series*, 26(7): 269–325.
- Klingenberg CP, Debat V, Roff DA, 2010. Quantitative genetics of shape in cricket wings: developmental integration in a functional structure. *Evolution*, 64(10): 2935–2951.
- Lawing AM, Polly PD, 2010. Geometric morphometrics: recent applications to the study of evolution and development. *Journal of Zoology*, 280(1): 1–7.
- Li HC, Xia KL, 2006. Fauna Sinica (Insecta Vol 43 Orthoptera Acridoidea Catantopidae). Beijing: Science Press. 1–736. [李鸿昌, 夏凯龄等, 2006. 中国动物志. 昆虫纲. 第四十三卷. 直翅目. 蝗总科. 斑腿蝗科. 北京: 科学出版社. 1–736.]
- Mozaffarian F, Sarafrazi A, Ganbalani GN, 2007. Host plant-associated population variation in the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: A geometric morphometric analysis suggests a nutritional basis. *Journal of Insect Science*, 7(02): 1–1. (available online: insectscience.org/7.02)
- Ren ZM, Ma EB, Guo YP, Zhong Y, 2004. A molecular phylogeny of *Oxya* (Orthoptera: Acridoidea) in China inferred from partial cytochrome b gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33(2): 516–521.
- Shevtsova E, Hansson C, Janzen DH, 2011. Stable structural color patterns displayed on transparent insect wings. *PNAS*, 108(2): 668–673.
- Wen H, Wang XL, 2013. Advances in the application of outline methods in biological taxonomy. *Chinese Bulletin of Entomology*, 50(5): 1438–1446. [闻慧, 王心丽, 2013. 轮廓形态测量法在生物分类应用中的研究进展. 应用昆虫学报, 50(5): 1438–1446.]
- Yan BR, Hua BZ, 2010. Geometric morphometrics and its application in the systematics and phylogenetics of insects. *Entomotaxonomia*, 32(4): 313–320. [闫宝荣, 花保祯, 2010. 几何形态测量学及其在昆虫分类学和系统发育中的应用. 昆虫分类学报, 32(4): 313–320.]
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD, 2004. Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. New York and London: Elsevier Academic Press. 1–437.
- Zhang JZ, Ma EB, Guo YP, 2003. Molecular phylogenetic relationship among species in *Oxya* Serville (Orthoptera: Catantopidae) based on random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Acta Genetica Sinica*, 30(6): 533–539. [张建珍, 马恩波, 郭亚平, 2003. 稻蝗属部分种类 RAPD 及其分子系统学. 遗传学报, 30(6): 533–539.]
- Zheng ZM, 1993. Acritaxonomy. Xi'an: Shaanxi Normal University Press. 76–82. [郑哲民, 1993. 蝗虫分类学. 西安: 陕西师范大学出版社. 76–82.]
- Zhu DH, Ando Y, Shirota Y, 2001. Studies on the relationships among species in *Oxya* Serville (Orthoptera: Catantopidae) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Acta Entomologica Sinica*, 44(3): 316–320. [朱道弘, 安藤喜一, 城田安幸, 2001. 利用 RAPD 对稻蝗属昆虫亲缘关系的研究. 昆虫学报, 44(3): 316–320.]