八种中国新同脉缟蝇亚属翅的几何形态学分析*

秦仕明[1**] 张建设[2] 冯科力[1] 李文亮[1***]

（1. 河南科技大学园艺与植物保护学院，洛阳 471023；2. 河南省伏牛山国家级自然保护区老君山管理局，洛阳 471500）

摘 要 **【目的】** 采用几何形态学标点法对新同脉缟蝇亚属 *Neohomoneura*（双翅目 Diptera 缟蝇科 Lauxaniidae 同脉缟蝇亚科 Homoneurinae 同脉缟蝇属 *Homoneura*）8 种缟蝇雌雄翅的大小和翅脉形态进行差异分析，探讨 8 个种的亲缘关系，为新同脉缟蝇亚属近似种的分类和进化研究提供依据。**【方法】** 首先对新同脉缟蝇亚属 8 种 116 头标本右翅进行标点法标点，每个翅样本选取 14 个同源标点，并通过质心大小（Centriod size，CS）、单因素方差分析（One-way ANOVE）、普氏叠加（Procrustes superimposition）、主成分分析（Principal component analysis，PCA）、典型变量分析（Canonical variate analysis，CVA）、薄板样条分析（Thin-plate spline，TPS）、多变量方差分析（Multivariate analysis of variance，MANOVA）和聚类分析（Cluster analysis）方法进行种间和雌雄间差异以及亲缘关系分析。**【结果】** 8 个近似种的翅大小存在显著性差异（P<0.001），仅有雾斑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *nebulosa* Sasakawa 和广斑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *grandipunctata* Gao et Yang 雌雄翅大小存在显著差异（P<0.05），说明翅的大小可以作为区分新同脉缟蝇亚属近似种的依据，但不能有效地区分雌雄；PCA 结果表明，前 2 个主成分的特征值占总变异量的 78.651%，能够说明不同种类之间的主要差异；CVA 结果表明，通过第一和第二典型变量因子不能有效地将不同种完全分开，马氏距离结果显示，8 种缟蝇的翅形具有显著差异（P<0.05），且雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇翅形态差异最大；TPS 结果表明，C、A_2、CuA_1 和 r-m 是变异度较高的翅脉，在进化中相对不稳定；MANOVA 结果显示，仅有勐仑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *indica* Malloch 和广斑新同脉缟蝇的雌雄翅形状有显著差异（P<0.05）；聚类分析表明，董氏新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *dongae* Li *et* Yang 和宽突新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *latisurstyla* Li *et* Yang 亲缘关系最近，雾斑新同脉缟蝇与其他 7 个种的亲缘关系较远。**【结论】** 几何形态学标点法能较好地进行新同脉缟蝇亚属种级阶元的鉴别，证明了几何形态学方法在新同脉缟蝇亚属种间分类及亲缘关系探讨应用中的可行性。

关键词 新同脉缟蝇亚属；几何形态学；翅脉；质心大小；亲缘关系

Geometric morphometric analysis of the wing of eight Chinese species in the subgenus *Neohomoneura* (Diptera: Lauxaniidae: *Homoneura*)

QIN Shi-Ming[1**] ZHANG Jian-She[2] FENG Ke-Li[1] LI Wen-Liang[1***]

(1. College of Horticulture and Plant Protection, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China;
2. Laojun Mountain Administration, Funiushan National Nature Reserve, Luoyang 471500, China)

Abstract **[Objectives]** To use geometric morphometry to analyze differences in the wing size and wing vein morphology of 8 Chinese species in the subgenus *Neohomoneura*, quantify sexual wing dimorphism of these species and investigate their genetic relationships, thereby providing a basis for further work on the evolution and classification of this taxa. **[Methods]**

*资助项目 Supported projects：河南省高等学校重点科研项目计划支持（20B210002）；国家自然科学基金项目（32070477）；国家科技基础资源调查专项（2018FY100400；2019FY100400）；河南省烟草公司洛阳市公司科技项目（[2021] No. 9, 202140300270044）

**第一作者 First author，E-mail：qsm0102@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：wenliangli@haust.edu.cn

收稿日期 Received：2022-07-08；接受日期 Accepted：2022-10-22

The landmark method was used to label the right wing veins of 116 specimens of the 8 *Neohomoneura* species with 14 landmarks. Differences in the wing size, vein morphology and the genetic relationships of 8 species were analyzed using centroid size (CS), one-way ANOVA, Procrustes superimposition, principal component analysis (PCA), canonical variate analysis (CVA), thin-plate spline analysis (TPS), multivariate analysis of variance (MANOVA) and cluster analysis. **[Results]** There were significant differences in wing size among the eight species (P<0.001). Only *Homoneura* (*Neohomoneura*) *nebulosa* Sasakawa, 2001 and *Homoneura* (*Neohomoneura*) *grandipunctata* Gao et Yang, 2006 displayed significant sexual dimorphism in wing size (P<0.05), indicating that wing size can only be used to distinguish between species, rather than sexes. The PCA results indicate that the eigenvalues of the first two principal components account for 78.651% of the total variation, which explains the main differences among samples. The CVA results indicate that the 8 species cannot be completely separated by CV1 and CV2. Mahalanobis' distance indicates that there are significant differences in wing shape among the eight species (P<0.05), the largest being between *H.* (*N.*) *nebulosa* and *H.* (*N.*) *grandipunctata*. The TPS results indicate that C, A2, CuA_1 and r-m are highly variable wing veins, indicating that they have been relatively unstable in evolution. The MANOVA results indicate significant sexual dimorphism in wing shape in both *Homoneura* (*N.*) *indica* Malloch, 1929 and *H.* (*N.*) *grandipunctata* (P<0.05). Cluster analysis indicates that *Homoneura* (*N.*) *dongae* Li et Yang, 2015 and *Homoneura* (*N.*) *latisurstyla* Li et Yang, 2015 are the most closely related species, whereas *H.* (*N.*) *nebulosi* is the most distantly related to the other 7 species. **[Conclusion]** Landmark methods can readily identify species of *Neohomoneura*, illustrating the benefits of using geometric morphology to resolving the phylogeny of this group.

Key words *Neohomoneura*; geometric morphology; wing veins; centroid size; genetic relationship

缟蝇科 Lauxaniidae 属于双翅目 Diptera 短角亚目 Brachycera 无瓣蝇类 Acalyptratae 缟蝇总科 Lauxanioidea，缟蝇成虫经常在落叶、稻草、腐烂的树桩或鸟巢中活动，主要营腐食性和菌食性生活（Hering，1951；Broadhead，1989），在保护生态环境、降解有机质、维持生态平衡方面有十分重要的作用（Shewell，1965；Miller and Foote，1976；Moretti *et al.*，2008）；缟蝇部分属的成虫有访花习性（Papp and Shatalkin，1998；Silva and Mello，2008），对植物传粉有重要作用；因缟蝇对环境变化比较敏感，在欧洲已用做农田生态系统环境变化评价的指示生物，也成为陆生生态系统评价指标的研究热点之一（Reddersen，1995）。缟蝇的传统分类鉴定工作较为繁琐，对分类技能要求较高（戚凌等，2020），不利于基层工作人员等非专业人员的鉴定，而且缟蝇体型较小，身体部位较脆弱，无意中的损害和部分部位的残缺都有可能影响鉴定结果。新同脉缟蝇亚属 *Neohomoneura* 为同脉缟蝇亚科 Homoneurinae 同脉缟蝇属 *Homoneura* 的亚属之一，仅分布于东洋界，世界已知 54 种，我国已知 30 种（Li and Yang，2015）。该亚属体型较大，但翅斑极为相似，许多种类仅能从雄性的阳茎复合体结构进行区分（Li and Yang，2015），给该类群的分类带来了极大的困难。因此，探索新的系统分类途径非常必要。

除了传统的形态学和 DNA 鉴定，几何形态学的使用已被证明是种间鉴别的一个有价值的工具（李玲等，2017；Chaiphongpachara，2018；常琼琼等，2018；甯媛等，2020）。几何形态学是一种基于笛卡尔地标点的形状统计分析方法，它克服了传统形状分析的缺点，重点关注生物形状的地标信息（白明和杨星科，2014），综合应用了普氏叠加、主成分分析（Principal component analysis，PCA）、典型变量分析（Canonical variate analysis，CVA）、薄板样条分析（Thin-plate spline，TPS）和距离矩阵分析等分析方法，对形变加以定量描述，使得到的分析结果更加直观（闫宝荣和花保祯，2010）。近年来，几何形态学分析方法日趋成熟，主要应用于生物学领域，尤其在分类学上具有很大的应用潜力（白明等，2014），特别在膜翅目、双翅目、鳞翅目、鞘翅目、蜻蜓目、半翅目等类群分类中应用广泛（Pretorius，2005；Güler *et al.*，2006；Villemant *et al.*，2007；Bubliy *et al.*，2008；潘鹏亮等，2008；Prieto *et al.*，2009；白义等，2015；邱立飞等，2018；李荣荣

等，2019；Sarikaya *et al.*，2019）。昆虫的翅是平面构造且不易扭曲变形，加之二维图像获取较为容易，所以翅是目前运用几何形态学方法进行昆虫分类和系统发育最为常用的研究材料（闫宝荣和花保祯，2010），翅脉分析也越来越广泛地应用于系统发育分析（Güler *et al.*，2006；Villemant *et al.*，2007）。本研究以新同脉缟蝇亚属中 8 个近似种为研究对象，运用标点法对其翅的质心大小和翅脉形态变化规律进行初步定量分析，探讨几何形态学方法对新同脉缟蝇亚属近似种分类鉴定的准确性，并进行亲缘关系分析，为缟蝇的分类和进化研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 新同脉缟蝇亚属昆虫标本材料

新同脉缟蝇亚属昆虫标本均来自于河南科技大学昆虫标本馆，共 8 种 116 号标本，标本信息详见表 1。

1.2 图片采集及标准化处理

取所收集鉴定好的缟蝇标本，用尖头镊子拔取完整右翅放于干净载玻片上，滴一滴酒精使其完全舒展，盖上盖玻片，使用佳能 EOS 6D 数码单反相机配置镜头（MP-E65mm）对摘下的右翅进行拍摄，所有翅标本图片在采集过程中均保持摆放位置一致，并附以相应的标尺，以特定编号命名。之后使用 TpsUtil 1.64（Rohlf，2013）软件将.jpg 格式文件转换成.tps 格式文件，将转换后的文件导入 TpsDig 2.20（Rohlf，2015）软件中进行同源标点，每个样本均按照同样的位置和顺序进行标注，每张翅图共标注 14 个地标点（图 1），所得数据保存为.tps 格式。本研究选取的标点类型为Ⅰ型地标点：研究对象间其同源性有强烈证据支持的数学点，譬如结构上的交点，昆虫翅脉的交点和端点等（Bookstein，1991）。

翅脉 14 个标点：1. 前缘脉（C）与肩脉（h）交点，2. C 与亚前缘脉（Sc）交点，3. C 与第 1 径脉（R_1）交点，4. 第 2、3 合径脉（R_{2+3}）与 C 交点，5. 第 4、5 合径脉（R_{4+5}）与 C 交点，6. 第 1 中脉（M_1）与 C 交点，7. 第 1 肘臀合脉（CuA_1）与翅缘交点，8. 第 2 臀脉（A_2）末端，9. 第 2 肘臀合脉（A_1+CuA_2）末端，10. 径中横脉（r-m）与 R_{4+5} 交点，11. r-m 与 M_1 交点，12. 中肘

表 1 新同脉缟蝇亚属种类及标本量统计

Table 1 Statistics of species and specimens in subgenus *Neohomoneura*

种类 Species	样本量（雌/雄）Number of specimens（Female/Male）	采集地 Collection sites
董氏新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *dongae* Li *et* Yang, 2015	10（7/3）	云南 Yunnan
叉刺新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *incompleta* Malloch, 1927	26（12/14）	云南 Yunnan，海南 Hainan
缅甸新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *indica* Malloch, 1929	8（4/4）	云南 Yunnan
宽突新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *latisurstyla* Li *et* Yang, 2015	7（3/4）	云南 Yunnan，四川 Sichuan
勐仑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *menglunensis* Li *et* Yang, 2015	10（3/7）	云南 Yunnan
雾斑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *nebulosa* Sasakawa, 2001	35（15/20）	广西 Guangxi
广斑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *grandipunctata* Gao *et* Yang, 2006	10（3/7）	广西 Guangxi
黑基新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *nigribasis* Li *et* Yang, 2015	10（4/6）	广西 Guangxi，海南 Hainan
总计 Total	116（51/65）	

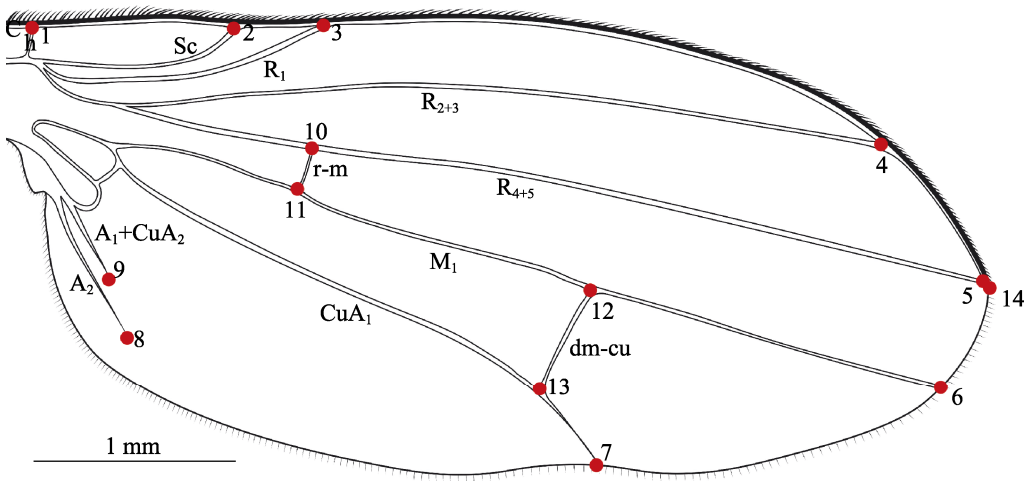

图 1　翅的标点示意图

Fig. 1　Landmarks on the wing of *Neohomoneura*

C：前缘脉；h：肩脉；Sc：亚前缘脉；R_1：第 1 径脉；R_{2+3}：第 2、3 合径脉；R_{4+5}：第 4、5 合径脉；M_1：第 1 中脉；CuA_1：肘脉（Cu）与第 1 臀脉（A_1）的部分段合并而成的第 1 肘臀合脉；A_2：第 2 臀脉；r-m：径中横脉；dm-cu：中肘横脉；A_1+CuA_2：Cu 与第 1、2 臀脉（A_1、A_2）合并而成的第 2 肘臀合脉。

图中圆圈表示 14 个地标点，数字表示对应地标点的顺序。图 2、图 4 和图 6 同。

C: Costa; h: Humeral vein; Sc: Subcosta; R_1: First radial vein; R_{2+3}: Eombined vein of second and third radial vein; R_{4+5}: Combined vein of fourth and fifth radial vein; M_1: First medial vein; CuA_1: Combined vein of cubital and first anal vein; A_2: Second anal; r-m: Radial-median crossvein; dm-cu: Median-cubital crossvein; A_1+CuA_2: Combined vein of cubital, first and second anal vein.

The circles represent the 14 landmarks, and the numbers represent the order of the corresponding landmarks. The same as Fig. 2, Fig. 4 and Fig. 6.

横脉（dm-cu）与 M_1 交点，13. dm-cu 与 CuA_1 交点，14. 翅前缘脉黑色短鬃的末端（图 1）。

1.3　数据分析

1.3.1　翅大小　翅的大小通过其质心大小表示（Bookstein，1991），CS 为翅形各地标点到翅中心距离平方和的平方根。使用 PAST 4.04（Hammer *et al.*，2001）软件计算 8 种缟蝇翅的质心值，在 SPSS 20.0 软件（SPSS Inc，IBM company，Chicago）中对样本数据进行显著性分析，比较不同缟蝇种间和雌雄间的翅大小差异是否显著。先进行正态分布测试，所有数据符合正态分布（P>0.05），通过方差齐性检验，进行单方差因素分析（One-way ANOVA），没有通过齐性检验，进行 Welch F 非参数检验。

1.3.2　翅形状　将.tps 格式的文件导入 Morpho J 1.06（Klingenberg，2011）软件中，把笛卡尔坐标进行普式叠加来消除大小、位置和方向的影响（Bookstein，1991）（图 2）。由于每个物种标本数量不一致，分析前先计算每个物种的平均形状，对其进行主成分分析探讨 8 个近似种翅形变化规律，然后使用薄板样条分析展示每个种的形状变异。采用典型变量分析评估近似种之间的翅形差异，并计算出马氏距离及其差异显著性比较展现其结果。之后计算种间的普氏距离，采用基于非加权对组的算术均值（Unweighted pair-group method with arithmetic means，UPGMA）方法在 Ntsyspc 2.11（Rohlf，2000）软件中进行聚类分析，建立表型图。为比较 8 种缟蝇各物种

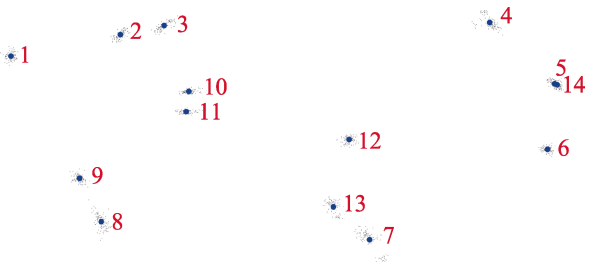

图 2　普式叠加后的地标点

Fig. 2　Landmark positions after Procrustes superimposition

雌雄间翅形状变化差异是否显著，利用主成分分析结果做多变量方差分析（Multivariate analysis of variance，MANOVA），统计分析在 PAST 4.04 中进行。

2 结果与分析

2.1 翅的大小差异

经检测，8 个种的翅质心值没有通过方差齐性检验，通过 Welch F 非参数检验，结果表明 8 种缟蝇的右翅质心大小存在显著性差异（F=205.190，df=33.178，P<0.001）。翅质心值箱线图结果表明，黑基新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *nigribasis* 翅质心值最大，雾斑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *nebulosa* 翅质心值最小（图 3）。8 种缟蝇翅大小顺序如下：黑基新同脉缟蝇>董氏新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *dongae* >勐仑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *menglunensis* > 宽突新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *latisurstyla* > 缅甸新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *indica* > 叉刺新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *incompleta* >广斑新同脉缟蝇 *Homoneura* (*Neohomoneura*) *grandipunctata* > 雾斑新同脉缟蝇。此外，大部分种的质心大小都出现了种内变异，叉刺新同脉缟蝇和雾斑新同脉缟蝇种内差异最为显著。通过塔姆黑尼多重比较结果表明，董氏新同脉缟蝇和勐仑新同脉缟蝇翅大小差异不显著（P>0.05），叉刺新同脉缟蝇和缅甸新同脉缟蝇翅大小差异不显著（P>0.05），雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇翅大小差异不显著（P>0.05）。

经检测，8 个种雌雄的翅质心值均通过方差齐性检验，单因素方差分析结果（表 2）表明，雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇雌雄翅大小有显著差异（P<0.05），且雌虫翅大于雄虫翅，其余 6 个种雌雄间翅大小差异不显著（P>0.05）。

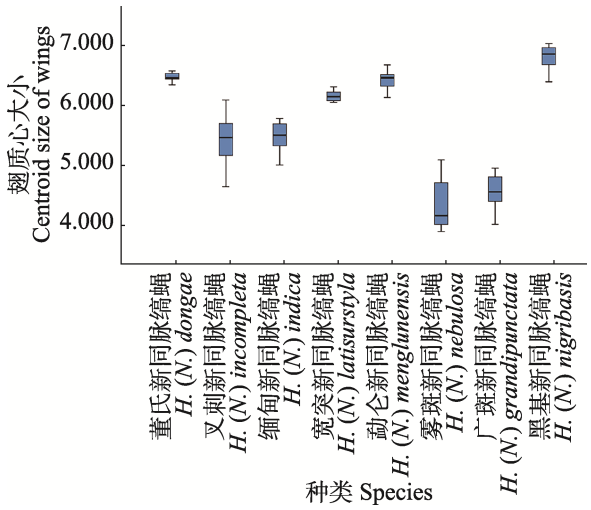

图 3 新同脉缟蝇亚属 8 种缟蝇右翅大小（CS）变化箱型图

Fig. 3 Boxplot of eight species of *Neohomoneura* centroid size (CS) variations in right wings

表 2 新同脉缟蝇亚属雌雄质心大小单因素方差分析

Table 2 One-way ANOVE on the centroid size of male and female in subgenus *Neohomoneura*

种类 Species	组间/组内 Between/Within groups	平方和 Sum of square	自由度 *df*	均方 Mean square	*F* 值 *F*	*P* 值 *P*
董氏新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *dongae*	组间 Between groups	0.009	1	0.009	0.179	0.684
	组内 Within groups	0.410	8	0.051		
叉刺新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *incompleta*	组间 Between groups	0.377	1	0.377	2.898	0.102
	组内 Within groups	3.126	24	0.130		
缅甸新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *indica*	组间 Between groups	0.020	1	0.020	0.240	0.642
	组内 Within groups	0.488	6	0.081		
宽突新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *latisurstyla*	组间 Between groups	0.000	1	0.000	0.026	0.879
	组内 Within groups	0.065	5	0.013		
勐仑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *menglunensis*	组间 Between groups	0.003	1	0.003	0.084	0.779
	组内 Within groups	0.287	8	0.036		

续表 2 (Table 2 continued)

种类 Species	组间/组内 Between/Within groups	平方和 Sum of square	自由度 *df*	均方 Mean square	*F* 值 *F*	*P* 值 *P*
雾斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *nebulosa*	组间 Between groups	0.635	1	0.635	4.780	0.036
	组内 Within groups	4.381	33	0.133		
广斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *grandipunctata*	组间 Between groups	0.515	1	0.515	11.324	0.010
	组内 Within groups	0.364	8	0.046		
黑基新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *nigribasis*	组间 Between groups	0.033	1	0.033	0.762	0.408
	组内 Within groups	0.348	8	0.044		

2.2　翅的形状差异

主成分分析结果显示，在提取的 7 个主成分中，前 2 个主成分（PC1=50.457%和 PC2=28.195%）约占总形状变化的 78.651%，能够说明各样本之间的主要差异（图 4）。

基于主成分分析的线框图（图 4）和薄板样条图（图 4）显示，在 PC1 轴上，翅的变异位点主要发生在前缘脉（C）与亚前缘脉（Sc）交点，C 与第 1 径脉（R_1）的交点、C 与第 2、3 合径脉（R_{2+3}）交点、第 1 肘臀合脉（CuA_1）与翅缘交点以及中肘横脉（dm-cu）与 CuA_1 的交点（标点 2、3、4、7 和 13）上。且标点 2、3、7 和 13 沿翅基部相反的方向移动，标点 4 沿标点 5 和标点 4 连线的延长线方向移动，翅有加宽的趋势；在 PC2 轴上，翅的变异位点主要发生在 C 与 R_{2+3} 交点、第 2 臀脉（A_2）末端、径中横脉（r-m）与第 4、5 合径脉（R_{4+5}）交点以及 r-m 与第 1 中脉（M_1）交点（标点 4、8、10 和 11）上。且标点 4 水平向右移动，标点 8 向翅基部方向移动，

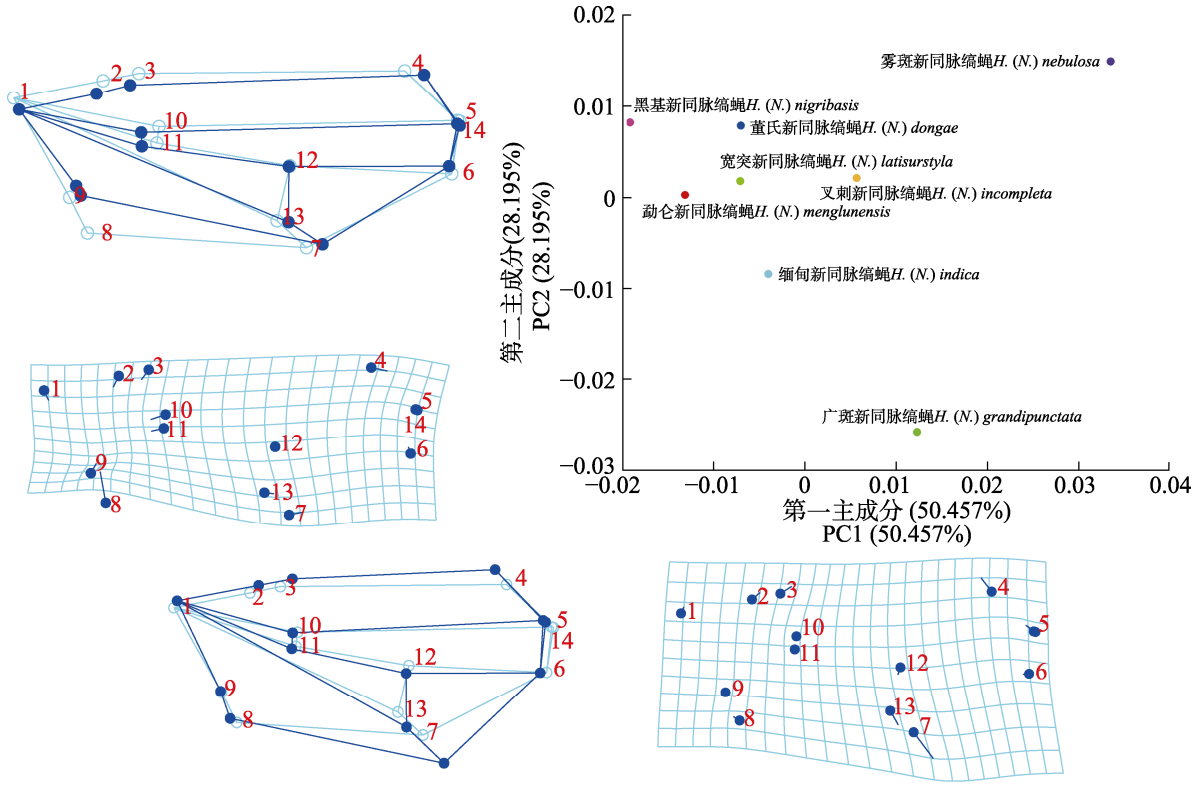

图 4　8 种新同脉缟蝇翅脉主成分分析

Fig. 4　Principal component analysis for the wing veins of eight species of *Neohomoneura*

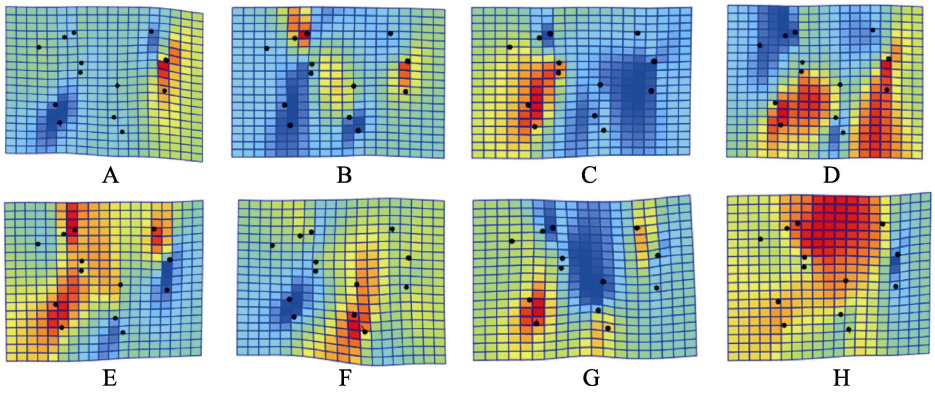

图 5　8 种新同脉缟蝇翅脉 14 个标记点薄板样条分析

Fig. 5　Thin plate spline analysis of eight species of *Neohomoneura* with 14 landmarks

A. 董氏新同脉缟蝇；B. 叉刺新同脉缟蝇；C. 缅甸新同脉缟蝇；D. 宽突新同脉缟蝇；E. 勐仑新同脉缟蝇；F. 雾斑新同脉缟蝇；G. 广斑新同脉缟蝇；H. 黑基新同脉缟蝇。

红色表示与平均轮廓相比某个体在此部位扩大，蓝色表示此部位缩小，绿色表示接近平均轮廓。

A. *H.* (*N.*) *dongae*; B. *H.* (*N.*) *incompleta*; C. *H.* (*N.*) *indica*; D. *H.* (*N.*) *latisurstyla*; E. *H.* (*N.*) *menglunensis*; F. *H.* (*N.*) *nebulosa*; G. *H.* (*N.*) *grandipunctata*; H. *H.* (*N.*) *nigribasis*.

Compared to the average profile, red means the area is expanded, blue means the area is reduced, green means the area is similar to average.

标点 10、11 水平向左移动，翅有变窄的趋势。总体表明，在新同脉缟蝇亚属的进化与变异中，C、A_2、CuA1 和 r-m 是变异度较高的翅脉。将 8 种新同脉缟蝇翅的 14 个标记点的数据平均值进行薄板样条分析，得到相对扭曲图像，从图 5 中可以直观看出 8 种新同脉缟蝇翅形态差异主要发生在标记点 2、3、8 和 9 处：标记点 2 和 3 处叉刺新同脉缟蝇、勐仑新同脉缟蝇和黑基新同脉缟蝇相比平均值明显扩大，而缅甸新同脉缟蝇、宽突新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇此处明显缩小；标记点 8 和 9 处董氏新同脉缟蝇、叉刺新同脉缟蝇和雾斑新同脉缟蝇相比平均值缩小，其余 5 种缟蝇均在此处扩大。

在典型变量分析中，前 2 个典型变量可以分别解释 54.021% 和 20.831%的形状变异，共计 74.852%，能够说明各样本之间的主要差异。散点图（图 6）显示，新同脉缟蝇亚属同种聚集性良好，雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇能够完全分离，其他 6 个种出现了交叉重叠。线框图和薄板样条图（图 6）显示，在 CV1 轴上，翅的变异位点主要发生在 CuA_1 与翅缘交点和 dm-cu 与 CuA_1 的交点（标点 7 和标点 13）上，翅有加宽的趋势；在 CV2 轴上，翅的变异位点主要发生在 C 与 R_{2+3} 交点和 CuA_1 与翅缘交点（标点 4 和标点 7）上，翅有变窄的趋势。总体表明，在新同脉缟蝇亚属的进化与变异中，C 和 CuA_1 是变异度较高的翅脉。种间马氏距离及其 *P* 值比较表明（表 3），8 种新同脉缟蝇的翅形差异具有统计学意义（$P<0.05$），其中雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇的马氏距离最大（12.2625），说明两者的翅形差异最大；董氏新同脉缟蝇、宽突新同脉缟蝇、缅甸新同脉缟蝇、勐仑新同脉缟蝇、叉刺新同脉缟蝇和黑基新同脉缟蝇彼此间的马氏距离都较小（4.5234-6.1874），说明这 6 个种的翅形差异较小。

对 8 种缟蝇雌雄翅形状进行差异分析，分别对 8 种缟蝇雌雄翅形状做主成分分析，根据得到的主成分因子做多变量方差分析（MANOVA），结果如表 4 所示，勐仑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇雌雄翅形状差异显著（$P<0.05$），其余 6 个种雌雄翅形状差异不显著，说明新同脉缟蝇翅形的雌雄两型现象并不普遍。

2.3　翅的聚类分析

基于普式距离的翅脉特征的聚类分析结果（图 7）显示，在距离系数为 0.01 时，董氏新同

脉缟蝇和宽突新同脉缟蝇聚为一支，说明两者的亲缘关系最近；在距离系数为 0.050 时，雾斑新同脉缟蝇才与其他种聚为一支，说明雾斑新同脉缟蝇与其他 7 个种的亲缘关系最远。

3　讨论

本研究使用几何形态学方法对新同脉缟蝇亚属 8 个近似种及其各个种雌雄的翅大小及翅

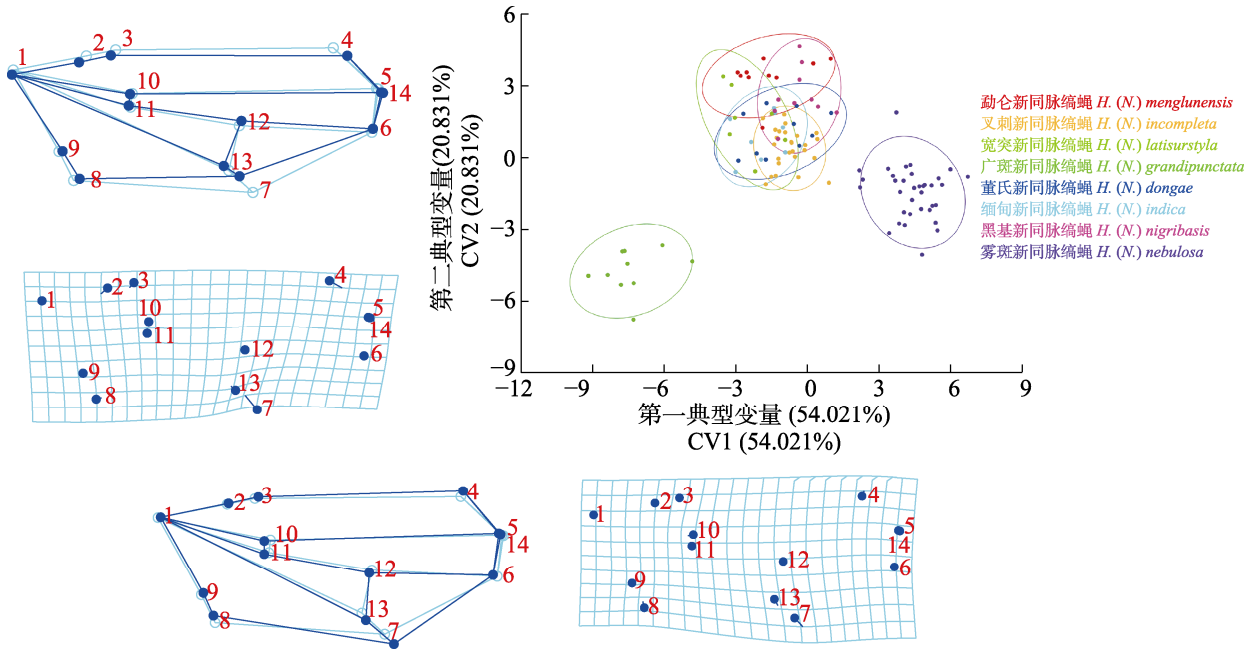

图 6　8 种新同脉缟蝇翅脉典型变量分析

Fig. 6　Canonical variate analysis for the wing veins of eight species of *Neohomoneura*

表 3　8 种新同脉缟蝇翅形马氏距离及 *P* 检验值列表（基于 10 000 次重复）

Table 3　Mahalanobis distances and *P*-values among eight species of *Neohomoneura* in wing viens (10 000 permutation rounds)

	勐仑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *menglunensis*	叉刺新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *incompleta*	宽突新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *latisurstyla*	广斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *grandipunctata*	缅甸新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *indica*	董氏新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *dongae*	雾斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *nebulosa*
叉刺新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *incompleta*	5.364 2 (<0.000 1)						
宽突新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *latisurstyla*	4.737 2 (<0.000 1)	4.802 4 (<0.000 1)					
广斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *grandipunctata*	10.236 9 (<0.000 1)	8.943 2 (<0.000 1)	8.586 4 (<0.000 1)				
缅甸新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *indica*	4.986 6 (<0.000 1)	4.927 0 (<0.000 1)	5.038 3 (0.000 1)	8.620 6 (<0.000 1)			
董氏新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *dongae*	6.187 4 (<0.000 1)	5.106 8 (<0.000 1)	4.746 0 (<0.000 1)	9.654 8 (<0.000 1)	4.729 3 (<0.000 1)		
雾斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *nebulosa*	8.139 0 (<0.000 1)	6.148 4 (<0.000 1)	8.083 7 (<0.000 1)	12.262 5 (<0.000 1)	7.473 3 (<0.000 1)	7.300 4 (<0.000 1)	
黑基新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *nigribasis*	4.663 9 (0.000 1)	4.523 4 (<0.000 1)	5.063 8 (<0.000 1)	10.457 4 (<0.000 1)	5.380 7 (<0.000 1)	6.009 7 (<0.000 1)	6.900 6 (<0.000 1)

括号内为 *P* 检验值。The *P*-test values are indicated in parentheses.

表 4 8 种新同脉缟蝇雌雄翅脉形状 MANOVA 分析结果

Table 4 MANOVA in wing shapes between male and female among eight species of *Neohomoneura*

种 Species	Wilks'λ	*F*	*P*
董氏新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *dongae*	0.246 1	1.532	0.396 2
叉刺新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *incompleta*	0.180 7	1.432	0.345 8
缅甸新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *indica*	0.425 2	0.541	0.749 6
宽突新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *latisurstyla*	0.226 4	1.708	0.401 6
勐仑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *menglunensis*	0.046 1	10.350	0.041 0
雾斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *nebulosa*	0.546 8	1.520	0.190 4
广斑新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *grandipunctata*	0.007 1	39.720	0.024 8
黑基新同脉缟蝇 *H.* (*N.*) *nigribasis*	0.590 8	0.198	0.956 2

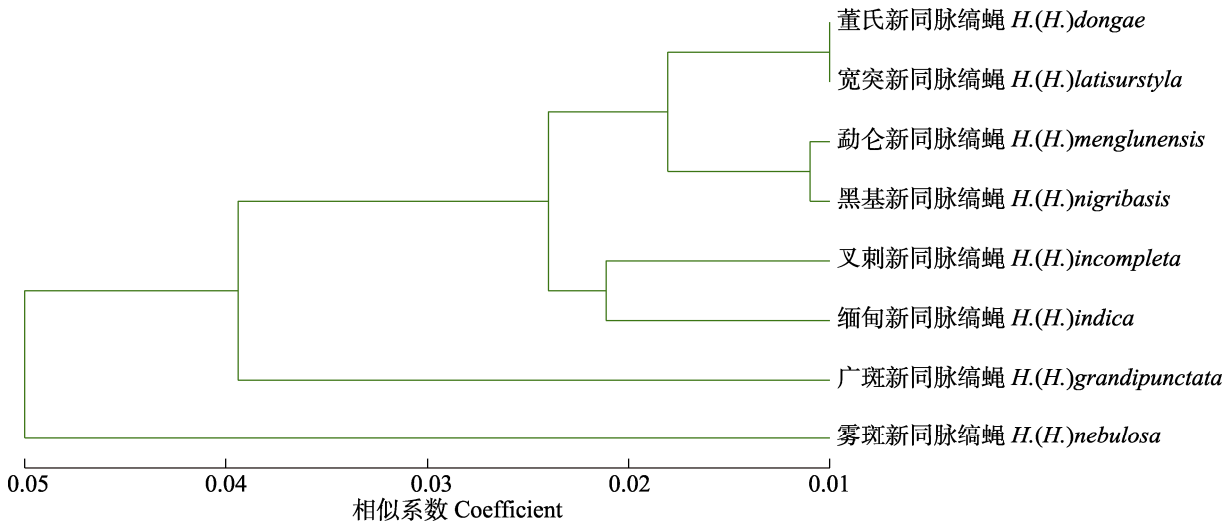

图 7 基于普氏距离的 8 种新同脉缟蝇翅特征聚类分析

Fig. 7 Clustering for Procrustes distances among eight species of *Neohomoneura* in wing

脉形态进行差异分析。通过质心值获得了近似种翅的大小顺序，且种内及种间均具有显著性差异，证明可以通过翅大小来分类鉴别新同脉亚属中的近似种。基于 PCA 和 CVA 的薄板样条分析结果显示，在 PC1 和 CV1 中，翅有着变宽的趋势，在 PC2 和 CV2 中，翅有着变窄的趋势，但长短均无明显变化。C、A_2、CuA_1 和 r-m 是变异度较高的翅脉，在进化中相对较不稳定，可以根据这些翅脉的差异作为形态鉴定的补充，为今后的分类鉴定提供更多可参考的依据。典型变量分析结果显示，8 个近似种种间离散程度较差，仅雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇能完全分离，马氏距离显示种间翅形有显著差异，结果具有统计学意义，雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇翅形差异最大，其他 6 个种翅形差异较小，说明 CVA 不能有效地完全将新同脉缟蝇亚属近似种分离开，但是对于这 8 个种的鉴定来说仍具有一定的参考价值。关于性别二型性、雌性和雄性之间的体型差异在昆虫中是普遍存在的现象，且大部分都表现出雌性体型大于雄性的倾向（Stillwell *et al.*，2010）。在本试验中，从翅的大小来看，仅雾斑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟蝇雌雄翅大小有显著差异，且雌性翅大于雄性翅。较大的翅意味着飞行中能够承担更多的体重，即个体较大，对于雌性来说，繁殖后代需要消耗大量的能量，雌性较大的体型更有利于种群的延续（白义等，2015）。从翅的形状来看，MANOVA 结果显示仅有勐仑新同脉缟蝇和广斑新同脉缟

蝇雌雄翅形状有显著差异。综上表明新同脉缟蝇亚属雌雄两型现象并不普遍。聚类分析表明董氏新同脉缟蝇和宽突新同脉缟蝇亲缘关系最近，雾斑新同脉缟蝇与其他 7 个种的亲缘关系最远。

翅的几何形态学能够初步用于探讨种间亲缘关系，但由于自然界中存在普遍的协同进化现象，其揭示的可能只是不同研究对象表型上的近似或差异，其结果能否准确地反应物种之间的系统发育关系还需结合分子生物学等多种数据进行综合分析（葛德燕等，2012）。如 Kamimura 等（2020）利用几何形态学和分子学方法探讨了 *Triatoma brasiliensis* 在微地理尺度上的种群划分，结果发现对于某些居群 2 种方法得到的结果具有一致性，但几何形态研究结果更受生态环境的影响，分子学方法研究结果更受地理因素的影响，两个方法相结合会使得结果更加可靠。而翅斑特征和翅的轮廓特征也是比较重要的翅特征，在一定程度上也代表了某些物种的分化程度，如王巾等（2021）利用几何形态学对翅斑进行标点区分了桃蛀螟 *Conogethes punctiferalis* 和松蛀螟 *Conogethes pinicolalis*；Chaiphongpachara 和 Laojun（2019）利用标点法和标点与半标点结合的方法分别对泰国 4 种库蚊翅的轮廓进行分析鉴定，结果表明后者比前者能更好地区分 *Cx. quinquefasciatus* 和 *Cx. sitiens*。新同脉缟蝇亚属内所有种均具有 4 个翅斑，且翅轮廓有较大差异，因此可以更进一步结合缟蝇翅斑或翅轮廓的研究来补充证明翅在分类依据上的重要性。此外，虽然近似种间翅的大小也存在一定的差异，但温度、食物、地形等因素均会影响到昆虫翅的大小（Vargas *et al.*，2010），且本试验测试样本量较低，也会造成分析结果的不稳定，因此接下来可以扩充样本量并结合异速生长对翅大小的影响，使分析结果更加可靠。同时在本试验得到的聚类分析结果中，翅的几何形态学能够初步用于探讨种间亲缘关系，但 8 个近似种的亲缘关系不足以代表整个新同脉缟蝇亚属，下一步可以增加亚属内种的数量，进一步在亚属间或属间等高级阶元进行分析研究，也需结合系统发育学、分子等多种数据进行综合分析。

缟蝇科昆虫的分类目前仍然是以传统形态学分类方法为主，该科昆虫成虫个体极小，种类多而杂，鉴定起来要耗费大量的时间与精力，并且部分近似种的鉴别特征十分接近，难以分辨清楚。与传统的分类方法相比，几何形态学有着成本低、耗时少、可靠性更强的优点，能够更加细致全面而且定量地评价出昆虫形态上的差异（Zelditch *et al.*，1995），而且能以直观的方式输出结果，是一个全新且很有前景的方法，也已经广泛应用于昆虫的分类及系统发育研究中，通过将其形态特征数据化继而进行快速准确的鉴别（刘梅，2015）。目前国内外鲜有此方面的相关研究，仅见戚凌等（2020）以翅脉为研究对象，采用几何形态学标点法对中国缟蝇科的高级阶元进行了初步研究，故而几何形态学分析在缟蝇科的分类鉴定及系统发育研究中尚有很大的应用空间，在未来可能会成为缟蝇科昆虫分类研究的重要工具之一。

参考文献 (References)

Bai M, Yang XK, 2014. A review of three-dimensional (3D) geometric morphometrics and its application in entomology. *Acta Entomologica Sinica*, 57(9): 1105–1111. [白明, 杨星科, 2014. 三维几何形态学概述及其在昆虫学中的应用. 昆虫学报, 57(9): 1105–1111.]

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.]

Bai Y, Dai DF, Bao KO, Qiu AN, Liang RJ, Wang HR, 2015. Using geometric morphometrics to quantify the sexual dimorphism of *Pantala flavescens*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(2): 363–369. [白义, 戴董峰, 包克瓯, 邱安妮, 梁仁杰, 王海瑞, 2015. 基于几何形态测量学的黄蜻翅的雌雄二态性研究. 应用昆虫学报, 52(2): 363–369.]

Bookstein FL, 1991. Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. New York: Cambridge University Press. 5–52.

Broadhead EC, 1989. The species of *Poecilominettia*, *Homoeominettia* and *Floriminettia* (Diptera: Lauxaniidae) in Panama. *Entomology*, 58(2): 185–226.

Bubliy OA, Tcheslavskaia KS, Kulikov AM, Lazebny OE, Mitrofanov

VG, 2008. Variation of wing shape in the *Drosophila virilis* species group (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 46(1): 38–47.

Chaiphongpachara T, 2018. Comparison of landmark- and outline-based geometric morphometrics for discriminating mosquito vectors in ratchaburi province, Thailand. *BioMed Research International*, 2018:1–10.

Chaiphongpachara T, Laojun S, 2019. Effectiveness of landmark- and semi-landmark-based geometric morphometric to identify four species of *Culex mosquitoes* in Thailand. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(3): 278–283.

Chang QQ, Jiang XH, Hou XH, 2018. Geometric morphometric analysis of wing shape variation among three important species of the genus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(2): 288–293. [常琼琼, 蒋晓红, 侯晓晖, 2018. 基于几何形态学的三种库蠓翅的形态变化分析. 应用昆虫学报, 55(2): 288–293.]

Ge DY, Xia L, Lv XF, Huang CM, Yang QS, Huang JH, 2012. Methods in geometric morphometrics and their applications in ontogenetic and evolutionary biology of animals. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 37(2): 296–304. [葛德燕, 夏霖, 吕雪霏, 黄乘明, 杨奇森, 黄建华, 2012. 几何形态学方法及其在动物发育与系统进化研究中的应用. 动物分类学报, 37(2): 296–304.]

Güler Y, Aytekin AM, Cağatay N, 2006. Systematical studies on *Anthidiini* (Hymenoptera: Megachilidae): A geometric morphometric approach. *Acta Entomologica Sinica*, 49(3): 474–483.

Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD, 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 9.

Hering E, 1951. Biology of the Leaf Miners. Netherlands: Drukkerij Hooiberg. 1–420.

Kamimura EH, Viana MC, Lilioso M, Fontes FHM, Pires-Silva D, Valença-Barbosa C, Carbajal-de-la-Fuente AL, Folly-Ramos E, Solferin VN, Thyssen PJ, Costa J, Almeida CE, 2020. Drivers of molecular and morphometric variation in *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Triatominae): The resolution of geometric morphometrics for populational structuring on a microgeographical scale. *Parasites & Vectors*, 13(1): 455.

Klingenberg CP, 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11(2): 353–357.

Li L, Dang HY, Ding SY, Zhan QB, Gao LL, Ma RY, Zhao ZG, Zhang LJ, 2017. A preliminary geometric morphometric analysis of wing shape variation among three important species of the genus *Bactrocera* (Diptere: Tephritidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(1): 84–91. [李玲, 党海燕, 丁三寅, 詹庆斌, 高玲玲, 马瑞燕, 赵志国, 张利军, 2017. 基于几何形态学对三种实蝇翅脉形态分析(Diptere: Tephritidae: *Bactrocera*). 应用昆虫学报, 54(1): 84–91.]

Li RR, Li M, Yan J, Zhang HF, Bai M, 2019. Intraspecific variation in *Eysarcoris aeneus* revealed by geometric morphometrics (Hemiptera: Pentatomidae). *Acta Entomologica Sinica*, 62(9): 1081–1089. [李荣荣, 李敏, 闫江, 张虎芳, 白明, 2019. 基于几何形态学的北二星蝽种内形态差异分析(半翅目: 蝽科). 昆虫学报, 62(9): 1081–1089.]

Li WL, Yang D, 2015. Species of the subgenus *Neohomoneura* Malloch from Yunnan, China (Diptera, Lauxaniidae). *Transactions of the American Entomological Society*, 141(1): 27–44.

Liu M, 2015. Morphological variation of *Dicerapanorpa magna* (chou) and phylogeny of *Dicerapanorpa* (Mecoptera: Panorpidae) based on geometric morphometric analysis of wings. Master dissertation. Xianyang: Northwest A&F University. [刘梅, 2015. 基于翅几何形态测量学分析的大双角蝎蛉形态变异及双角蝎蛉属系统发育研究(长翅目: 蝎蛉科). 硕士学位论文. 咸阳: 西北农林科技大学.]

Miller RM, Foote BA, 1976. Biology and immature stages of eight species of Lauxaniidae (Diptera) II. Descriptions of immature stages and discussion of larval feeding habits and morphology. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 78: 16–37.

Moretti TC, Ribeiro OB, Thyssen PJ, Solis DR, 2008. Insects on decomposing carcasses of small rodents in a secondary forest in southeastern Brazil. *European Journal of Entomology*, 105(4): 691–696.

Ning Y, Duan C, Chang QQ, Hou XH, 2020. Geometric morphometric analysis of wing shape variation and the genetic relationships of six species of the subgenus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of Environmental Entomology*, 42(1): 147–151. [甯媛, 段琛, 常琼琼, 侯晓晖, 2020. 库蠓亚属 6 种库蠓翅形变化分析及亲缘关系探讨. 环境昆虫学报, 42(1): 147–151.]

Pan PL, Yang HZ, Shen ZR, Gao LW, Zhang JW, Zhao HQ, Yu XW, 2008. Research on applying vein feature for mathematical morphology in classification and identification of butterflies (Lepidoptera：Rhopalocera). *Entomotaxonomia*, 30(2): 151–160. [潘鹏亮, 杨红珍, 沈佐锐, 高灵旺, 张建伟, 赵汗青, 于新文, 2008. 翅脉的数学形态特征在蝴蝶分类鉴定中的应用研究. 昆虫分类学报, 30(2): 151–160.]

Papp L, Shatalkin AI, 1998. Family Lauxaniidae//Papp L, Darvas B

(eds.). Contributions to a manual of Palaearctic Diptera (With Special Reference to Flies of Economic Importance). Vol. 3: Higher Brachycera. Budapest: Science Herald. 383–400. .

Pretorius E, 2005. Using geometric mophometeric to investigate wing dimorphism in males and females of Hymenoptera-a case study based on the genus *Techysphex* Kohl (Hymenopetra: Sphecidae: Larrinae). *Australian Journal of Entomology*, 44(2): 113–121.

Prieto CG, Munguira ML, Romo H, 2009. Morphometric analysis of genitalia and wing pattern elements in the genus *Cupido* (Lepidoptera, Lycaenidae): ARE *Cupido minimus* and *C. carswelli* different species? *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 56(1): 137–147.

Qi L, He XY, Li WL, 2020. A preliminary study on the geometric morphology of the higher taxa in Chinese Lauxaniidae (Diptera: Lauxanioidea). *Sichuan Journal of Zoology*, 39(3): 301–308. [戚凌, 何向怡, 李文亮, 2020. 中国缟蝇科(双翅目: 缟蝇总科)高级阶元的几何形态学分析. 四川动物, 39(3): 301–308.]

Qiu LF, Wei ZM, Wang JJ, Liu HX, Zhao BX, Zhang Y, Lian ZM, 2018. Geometric analysis of morphological variation in the wing of *Apis cerana cerana* from the Qinling-Daba Mountain Areas. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(3): 503–513. [邱立飞, 魏朝明, 王俊杰, 刘红霞, 赵白雪, 张彧, 廉振民, 2018. 基于几何形态学方法的秦巴山区中华蜜蜂翅形态变异研究. 应用昆虫学报, 55(3): 503–513.]

Reddersen J, 1995. Feeding biology of fungivorous insects from Danish cereal fields. *Pedobiologia*, 39(4): 370–384.

Rohlf FJ, 2000. NTSYS-PC, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System [software version 2.11]. Department of Ecology and Evolution. New York: State University of New York at Stony Brook. http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html

Rohlf FJ, 2013. TpsUtil, File Utility Program [software version 1.64]. Department of Ecology and Evolution. New York: State University of New York at Stony Brook. http:/life.bio.sunysb.edu/morph/

Rohlf FJ, 2015. TpsDig2, Digitize Landmarks and Outlines [software version 2.20]. Department of Ecology and Evolution. New York: State University of New York at Stony Brook. http:/life.bio.sunysb.edu/morph/

Sarikaya AD, Okutaner AY, Sarikaya Z, 2019. Geometric morphometric analysis of pronotum shape in two isolated populations of *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Coleoptera: Cerambycidae) in Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 43(3): 263–270.

Shewell GE, 1965. Family Lauxaniidae//Stone A, Sabrosky CW, Wirth WW, Foote RH, Coulson JR (eds.). A Catalogue of the Diptera of America North of Mexico. United States: United States Department of Agriculture Handbook No. 276. 696–704.

Silva VC, Mello RL, 2008. Occurrence of *Physoclypeus farinosus* Hendel (Diptera: Lauxaniidae) in flowerheads of Asteraceae (Asterales). *Neotropical Entomology*, 37(1): 92–96.

Stillwell RC, Blanckenhorn WU, Teder T, Davidowitz G, Fox CW, 2010. Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. *Annual Review of Entomology*, 55: 227–245.

Vargas REM, Ya-umphan P, Phumala-Morales N, Komalamisra N, Dujardin JP, 2010. Climate associated size and shape changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand. *Infection, Genetics and Evolution*, 10(4): 580–585.

Villemant C, Simbolotti G, Kenis M, 2007. Discrimination of *Eubazus* (Hymenoptera, Braconidae) sibling species using geometric morphometrics analysis of wing venation. *Systematic Entomology*, 32(4): 625–634.

Wang J, Zeng XG, Li WC, 2021. A study of the external morphology and geometric morphometrics of *Conogethes punctiferalis* and *C. pinicolalis*. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 43(4): 792–796. [王巾, 曾雪刚, 李卫春, 2021. 桃蛀螟和松蛀螟的外部形态学和几何形态度量学研究. 江西农业大学学报, 43(4): 792–796.]

Yan BR, Hua BZ, 2010. Geometric morphometrics and its application in the systematics and phylogenetics of insects. *Entomotaxonomia*, 32(4): 131–320. [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): 131–320.]

Zelditch ML, Fink WL, Swiderski DL, 1995. Morphometrics, homology, and phylogenetics: quantified characters as synapomorphies. *Systematic Biology*, 44(2): 179–189.