МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТУСА

КАРПЕНКО КАРИНА АНАТОЛІЇВНА

Допускається до захисту:
в.о. завідувача кафедри
біофізики і фізіології,
кандидат хім. наук, доцент
_____ О. І. Доценко
«___» _____ 2026р.

АНАЛІЗ ФЕНОТИПОВОЇ МІНЛИВОСТІ ФОРМИ ЛИСТКІВ *CARPINUS BETULUS* L. ЗАСОБАМИ ГЕОМЕТРИЧНОЇ МОРФОМЕТРІЇ В УМОВАХ ГРАДІЄНТУ ЗАБРУДНЕННЯ

Спеціальність 101 Екологія

Кваліфікаційна (бакалаврська) робота

Науковий керівник:
А. М. Міщенко,
кандидат біологічних наук,
старший викладач кафедри
біофізики і фізіології
_____

Оцінка: _____ / _____ /
_____

Голова ЕК: _____

Вінниця -- 2026

АНОТАЦІЯ

Карпенко К. А. Аналіз фенотипової мінливості форми листків *Carpinus betulus* L. засобами геометричної морфометрії в умовах градієнту забруднення. Спеціальність 101 «Екологія», Освітня програма «Екологія». Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, 2026.

У кваліфікаційній роботі досліджено фенотипову мінливість форми листків *Carpinus betulus* L. в умовах градієнту транспортного забруднення із застосуванням методів геометричної морфометрії, комп'ютерного зору та статистичного аналізу морфопростору.

Для дослідження було сформовано вибірку цифрових зображень листків, зібраних у середовищах із різним рівнем транспортного навантаження. Автоматичне виділення контуру листкової пластинки здійснювали засобами комп'ютерного зору, а сегментацію центральної жилки — за допомогою згорткової нейронної мережі U-Net. Форму листка описували за допомогою системи з 122 морфометричних маркерів, що включала дві фіксовані ландмарки та 120 напівландмарків.

Для аналізу форми застосовано генералізований прокрустів аналіз (GPA), аналіз головних компонент (PCA), регресійний аналіз та Procrustes MANOVA. Встановлено наявність статистично значущої алометричної залежності між розміром і формою листків. Показано, що алометрія є одним із головних джерел загальної варіації форми листкової пластинки. Після видалення алометричного компоненту між групами листків із різних типів середовищ зберігався невеликий, але статистично значущий морфологічний сигнал.

Результати PCA показали значне перекриття морфопростору груп, проте виявлено систематичний морфологічний зсув, пов'язаний із формою листкової пластинки. Для листків із забруднених ділянок характерними були відносно вужча базальна частина та більш розширена верхня частина листка.

Ключові слова: *Carpinus betulus*, геометрична морфометрія, GPA, PCA, алометрія, листок, морфопростір, транспортне забруднення, ландмарки, напівландмарки.

60 с., 4 табл., 18 рис., 80 джерел.

Karpenko K.A. Analysis of phenotypic variability in *Carpinus betulus* L. leaf shape using geometric morphometrics under a pollution gradient. Specialty 101 "Ecology", Educational programme "Ecology". Vasyl Stus Donetsk National University, Vinnytsia, 2026.

The study investigates phenotypic variation in leaf shape of *Carpinus betulus* L. under a gradient of traffic-related pollution using geometric morphometrics, computer vision, and morphospace statistical analysis.

A dataset of digital leaf images collected from environments with different levels of traffic exposure was assembled. Leaf blade contours were extracted automatically using computer vision techniques, while midrib segmentation was performed using a U-Net convolutional neural network. Leaf shape was represented by a system of 122 morphometric markers consisting of two fixed landmarks and 120 semilandmarks.

Shape analysis included Generalized Procrustes Analysis (GPA), Principal Component Analysis (PCA), regression analysis, and Procrustes MANOVA. A statistically significant allometric relationship between leaf size and shape was detected. Allometry was shown to be one of the major sources of overall shape variation. After removal of the allometric component, a small but statistically significant morphological signal between groups from contrasting environments remained.

PCA results demonstrated substantial overlap between group morphospaces, although a systematic morphological shift associated with environmental conditions was observed. Leaves from polluted sites tended to exhibit a relatively narrower basal region and a more expanded distal part of the lamina.

Keywords: *Carpinus betulus*, geometric morphometrics, GPA, PCA, allometry, leaf shape, morphospace, traffic pollution, landmarks, semilandmarks.

60 p., 4 tabl., 18. fig, 80 bibliography items.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ **2**

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ **5**

ВСТУП **6**

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ **10**

1.1 Геометрична морфометрия 10

1.2 Використання геометричної морфометрії у різних галузях дослідження рослин 13

2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ **25**

2.1 Збір матеріалу 25

2.2 Формування набору даних та попередня обробка зображень . . 25

2.3 Прокрустів аналіз 26

3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ **28**

3.1 Загальний Прокрустів Аналіз 28

3.2 PCA прокрустових координат 32

3.3 Аналіз форми без впливу розміру 46

ВИСНОВКИ **52**

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ЛІТЕРАТУРИ **54**

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Скорочення	Пояснення
ГММ	Геометрична Морфометрия
GPA	Generalized Procrustes Analysis (Узагальнений Прокрустів аналіз).
PCA	Principal Component Analysis (Метод головних компонент).
PC	Principal Component (Головна компонента).
ANOVA	Analysis of Variance (Дисперсійний аналіз).
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance (Багатовимірний дисперсійний аналіз).
CS	Centroid Size (Розмір центроїда).

ВСТУП

Актуальність. Забруднення атмосферного повітря є однією з найважливіших екологічних проблем урбанізованих територій. Викиди автотранспорту та промислових об'єктів містять газоподібні та тверді забруднювачі, які негативно впливають не лише на здоров'я людини, але й на рослинні організми [1, 36]. Рослини є одними з найбільш чутливих компонентів міського середовища, оскільки тривалий час перебувають під дією атмосферних полютантів та безпосередньо контактують із ними через поверхню листків [13, 74].

Листок є одним із найчутливіших органів рослини до впливу забруднення повітря, оскільки саме в ньому відбувається більшість основних фізіологічних процесів, зокрема фотосинтез та газообмін. Полютанти можуть проникати у тканини листка, спричиняючи зміни його анатомічних, фізіологічних та морфологічних характеристик [13, 42]. У зв'язку з цим морфологічні особливості листків розглядаються як перспективні біоіндикаторні ознаки стану довкілля.

Традиційні морфометричні підходи, що базуються на аналізі окремих параметрів листка (довжина, ширина, площа, співвідношення сторін тощо), дозволяють оцінювати лише окремі аспекти форми та часто не відображають складної просторової організації об'єкта. Крім того, такі методи можуть втрачати інформацію про локальні деформації листкової пластинки та є менш чутливими до слабких морфологічних змін. На відміну від параметричної морфометрії, геометрична морфометрія використовує координати ландмарків та напівландмарків, що дозволяє аналізувати форму як цілісну геометричну структуру із збереженням просторових взаємозв'язків між точками [50, 58]. Центральним етапом такого аналізу є генералізований прокрустів аналіз (Generalized Procrustes Analysis, GPA), який усуває вплив масштабу, положення та орієнтації об'єктів і дозволяє досліджувати саме варіацію форми [58].

Сучасний розвиток методів комп'ютерного зору та машинного навчання відкриває можливості для автоматизації морфометричних досліджень. Використання згорткових нейронних мереж для автоматичного виділення морфологічних структур значно зменшує трудомісткість отримання ландмарків та дозволяє працювати з великими вибірками [24]. Це особливо важливо для дослідження внутрішньовидової мінливості, де рівень природної варіабельності є високим, а відмінності між групами можуть бути незначними. Поєднання автома-

тизованого отримання морфометричних даних та методів геометричної морфометрії забезпечує високу точність аналізу та підвищує можливість виявлення слабких, але статистично значущих змін форми листків.

Незважаючи на активне використання геометричної морфометрії у зоологічних дослідженнях, її застосування у ботаніці, зокрема для аналізу фенотипової мінливості листків деревних рослин в умовах урбанізованого середовища, залишається відносно обмеженим. Для *Carpinus betulus* L. дослідження форми листків із використанням генералізованого прокрустового аналізу та системи напівландмарків практично відсутні, що визначає актуальність даної роботи.

Об'єкт дослідження. Листки *Carpinus betulus* L., зібрані в умовах різного рівня транспортного забруднення урбанізованого середовища.

Предмет дослідження. Фенотипова мінливість форми листкової пластинки *Carpinus betulus* L. та її статистично значущі відмінності між групами рослин, що зростають в умовах різного антропогенного навантаження.

Мета дослідження. Метою роботи є аналіз фенотипової мінливості форми листків Carpinus betulus L. в умовах градієнту транспортного забруднення із застосуванням методів геометричної морфометрії та статистичного аналізу морфопростору.

Завдання. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Сформувати вибірку цифрових зображень листків *Carpinus betulus* L., зібраних у середовищах із різним рівнем транспортного навантаження, та провести автоматизоване виділення морфологічних структур листка.
2. Отримати систему морфометричних маркерів (ландмарків та напівландмарків), придатну для геометричного опису форми листкової пластинки.
3. Провести генералізований прокрустів аналіз (GPA) для усунення впливу положення, масштабу та орієнтації об’єктів і дослідити характер деформацій середніх форм.
4. Дослідити структуру морфологічної мінливості листків методом аналізу головних компонент (PCA) та оцінити характер змін форми листкової пластинки в умовах транспортного забруднення.
5. Оцінити наявність алометричної залежності між розміром і формою листків та виконати корекцію форми відносно розміру.

6. Порівняти групи листків із різних екологічних умов за допомогою статистичних методів геометричної морфометрії після усунення алометричного компоненту варіації.

Методи дослідження. У роботі використано методи геометричної морфометрії, комп'ютерного аналізу зображень та математичної статистики. Виділення контурів листків здійснювали засобами комп'ютерного зору з використанням бібліотеки OpenCV. Сегментацію центральної жилки проводили за допомогою згорткової нейронної мережі архітектури U-Net. Для опису форми листків використовували систему фіксованих ландмарків та ковзних напівландмарків.

Вирівнювання морфометричних конфігурацій здійснювали методом генералізованого прокрустового аналізу (GPA). Для оцінки основних напрямків варіації форми застосовували аналіз головних компонент (PCA). Алометричні залежності між розміром і формою оцінювали за допомогою прокрустового дисперсійного аналізу (Procrustes ANOVA) та регресійного аналізу. Порівняння груп листків виконували із застосуванням пермутаційних статистичних тестів та методів аналізу морфопростору.

Наукова новизна. У роботі вперше для аналізу фенотипової мінливості форми листків *Carpinus betulus* L. в умовах градієнту транспортного забруднення застосовано комплексний підхід, що поєднує методи комп'ютерного зору, згорткові нейронні мережі та геометричну морфометрію.

Вперше для даного виду реалізовано автоматизоване отримання системи ландмарків і напівландмарків на основі сегментації центральної жилки листка за допомогою нейромережевої моделі U-Net. Це дозволило сформувати велику морфометричну вибірку та мінімізувати суб'єктивність ручного маркування.

Встановлено статистично значущі відмінності форми листків між групами рослин, що зростають у середовищах із різним рівнем транспортного навантаження. Показано, що найбільш виражені зміни форми локалізуються у дистальній частині листкової пластинки. Також продемонстровано, що виявлені відмінності зберігаються після усунення алометричного компоненту варіації.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати розширюють уявлення про фенотипову мінливість листків деревних рослин в умовах антропогенного навантаження та можуть бути використані у дослідженнях екологічної морфології, урбоекології та біоіндикації стану довкілля.

Запропонований підхід автоматизованого отримання морфометричних

ознак із використанням нейронних мереж може бути застосований для аналізу великих масивів зображень рослинних об’єктів та адаптований для інших видів рослин.

Методика геометричної морфометрії, використана у роботі, може бути впроваджена у навчальний процес при викладанні дисциплін, пов’язаних із комп’ютерною біологією, біостатистикою, екологією та сучасними методами морфометричного аналізу.

Апробація результатів дослідження. Результати роботи були апробовані на на XXII Міжнародній науковій конференції «Молодь і поступ біології», 15–17 квітня 2026 року. Опубліковані тези: Karpenko, K., & Mischenko, A. (2026, April 15–17). Leaf shape variation in Carpinus betulus l. across contrasting urban pollution conditions: a geometric morphometric analysis [Conference presentation abstract]. XXII International Scientific Conference of Students and PhD Students "Youth and Progress of Biology", Lviv, Ukraine. p. 155.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Геометрична морфометрия

Морфометрія — це кількісний опис, аналіз та інтерпретація форми та її варіацій [47]. У біології ця дисципліна викликає дедалі більший інтерес у дослідженні анатомічних структур як тварин, так і рослин. У галузі біології тварин морфометрія дає змогу дослідникам вивчати вплив екологічних факторів на онтогенез та форму органів і тканин, що є важливим для розуміння еволюції видів та екології [16, 22, 59]. Аналогічно, у біології рослин ця дисципліна дає змогу аналізувати, як фактори навколишнього середовища, такі як світло, температура та доступність поживних речовин, впливають на морфологію листя, квітів, плодів та інших структур, надаючи інструменти для розуміння функціональних та екологічних адаптацій у рослинному світі [63].

Традиційна морфометрія. Традиційна морфометрія враховує довжини, ширини, маси, кути, співвідношення та площі для аналізу форми [38]. Однак цей підхід має низку обмежень, головними з яких є висока автокореляція вимірювань та складнощі з визначенням причин, що лежать в основі варіації форми в межах досліджуваної структури [43]. Зокрема, традиційні морфометричні змінні часто мають високу кореляцію, що ускладнює визначення того, чи відображають спостережувані відмінності справжні біологічні варіації, чи є лише артефактами надмірності вимірювань. Крім того, цей метод значною мірою покладається на лінійні відстані та співвідношення, що може не дозволити ефективно відобразити складні відмінності у формі, особливо у структурах із високою варіативністю, таких як листя, квіти та насіння. Іншим критичним недоліком є відсутність просторової інформації: традиційна морфометрія не зберігає відносні положення вимірюваних точок, що робить її непридатною для вивчення морфологічних закономірностей, які залежать від геометричних відносин. Ці та інші обмеження спричинили революцію в техніках морфометричних досліджень протягом останніх десятиліть, починаючи з початку 1980-х років [43, 48].

Геометрична морфометрія. Страус і Букштейн [61] визнали обмеження традиційних морфометричних підходів, підкресливши, що вони надають дуже обмежену та надлишкову інформацію про форму певної структури. Вони

наголосили на необхідності враховувати геометричні взаємозв'язки між досліджуваними змінними та підкреслили, що їхній вибір повинен ґрунтуватися на онтогенетичних моделях [61]. Як випливає з назви, геометрична морфометрія (ГММ) зосереджується на геометричних взаємозв'язках набору гомологічних точок, які називаються ландмарками (орієнтирами). Було розроблено численні методи, що враховують (та виключають з аналізу) варіації, не пов'язані з формою, такі як розмір, орієнтація та зсув, щоб мінімізувати їхній вплив на аналіз форми та забезпечити більш надійні результати порівняно з традиційною морфометрією [47, 49].

За останні десятиліття використання геометричної морфометрії в біологічних науках значно зросло Застосування цієї методики є різноманітним: від досліджень внутрішньовидової та міжвидової мінливості та філогеографії до вивчення типів та ступенів асиметрії в біологічних структурах — ймовірних індикаторів внутрішніх або зовнішніх порушень у процесі онтогенезу. Такі порушення можуть призвести до того, що природно симетричні структури розвиватимуть різний ступінь асиметрії [65]. Відповідно до цієї парадигми, декілька авторів висунули гіпотезу, що коливальна асиметрія може слугувати проксі-показником екологічного або генетичного стресу [44, 65]. На відміну від інших відомих форм асиметрії, які вважаються адаптивними — таких як спрямована асиметрія та антисиметрія — коливна асиметрія, чи то на популяційному рівні (у її первинному розумінні), чи то на індивідуальному рівні, не надає адаптивних переваг. Геометрична морфометрія особливо добре підходить для таких застосувань, оскільки вона дозволяє кількісно оцінювати навіть мінімальні варіації та відмінності у формі з більшою точністю, ніж традиційні морфометричні підходи [30].

Для аналізу геометричних змінних у двох і трьох вимірах доступні різні інструменти. Усі методи використовують як змінні декартові координати порівнянних елементів досліджуваної структури — ландмарків, кривих і контурів [31]. Більшість методів перетворюють точки, криві та контури на координати форми — похідні змінні, які можна аналізувати за допомогою класичних інструментів багатовимірної статистики. Інші підходи перетворюють дані на матрицю відстаней між змінними, що представляють інтерес, наприклад, аналіз матриці евклідових відстаней (EDMA), який більш тісно узгоджується з традиційними методами [31].

Найпоширеніші інструменти геометричної морфометрії для аналізу форми на основі орієнтирів використовують накладення Прокруста [23, 49, 57]. Цей метод обертає, переносить та масштабує досліджувані структури (на основі положень орієнтирів) для досягнення гомологічної орієнтації та розміру, мінімізуючи середньоквадратичні відхилення між гомологічними орієнтирами. Усунення відмінностей в орієнтації, положенні та розмірі дозволяє аналізувати чисту форму [49].

Існують також різні методи аналізу кривих і контурів. Їх часто досліджують за допомогою напіворієнтирів — точок, розміщених через певні проміжки вздовж кривих та між двома орієнтирами [8, 9]. Напіворієнтири також накладаються за допомогою методу Прокруста, подібно до звичайних орієнтирів, хоча їх вважають «недосконалими», оскільки їх розміщення не ґрунтується на ідентифікації онтогенетично збережених ознак на досліджуваній структурі [7]. Іншим методом аналізу контурів є аналіз Фур'є, одна з найдавніших морфометричних методик. Цей метод використовує синусоїдальні та косинусоїдальні гармонічні функції для опису положення координат контурів [76]. Аналіз власних форм є третім методом аналізу контурів та кривих [34, 35], який перетворює координати вздовж кривої або контуру на функцію φ, що по суті є переліком кутів від однієї точки до наступної у досліджуваній серії. Незважаючи на різноманітність доступних методів, аналіз контурів часто критикують за згадані раніше проблеми, а саме те, що окремі координатні точки не є біологічно гомологічними [78].

Після отримання координат форми — що представляють скорочений набір змінних, отриманих з орієнтирів, які сукупно описують варіацію форми — можна застосовувати будь-який тип багатовимірного статистичного аналізу з використанням раніше згаданих методів [7, 77].

Застосування ГММ у ботаніці є широким і різноманітним, охоплюючи такі дисципліни, як таксономія, систематика, екологія, фізіологія рослин, палеоботаніка, а також еволюційна та біологія розвитку. Крістодулу та колеги [12] вперше переглянули поєднання ГММ зі статистичним аналізом та аналізом машинного навчання для класифікації рослин, підкресливши важливість оцінки ефективності за допомогою стандартизованих показників, таких як точність, чутливість та специфічність, а також практичність підходів ГММ для неруйнівної ідентифікації зразків рослин завдяки прогресу у високороздільній візуа-

лізації та обчислювальній потужності настільних комп'ютерів. Від характеристики форм листя для ідентифікації видів до розшифрування морфологічних наслідків екологічних стресогенних факторів для популяцій рослин [54], ГММ пропонує безцінні уявлення про функціональне значення, адаптивні стратегії та еволюційні траєкторії рослин.

1.2 Використання геометричної морфометрії у різних галузях дослідження рослин

Коеволюція рослин і середовища. Інший набір досліджень розширює складний еволюційний зв'язок між морфологією квітки та механізмами запилення у різних видів рослин. Бенітес-Вієйра та ін. [5] досліджували вплив форми квітки на уподобання запилювачів у орхідей, виявивши неочікувані результати, незважаючи на візуальну схожість із самками ос, рис. 1.1. Більбао та ін. [6] виявили значні відмінності у формі пелюсток між видами Erythrina, що запилюються горобцеподібними, та видами Erythrina , що запилюються птахами різних рядів , підкреслюючи корисність комбінацій пелюсток для визначення типів запилювачів. Тим часом Фор та ін. [15] досліджували кореляції між формою віночка у Gesneriaceae Антильських островів та формою дзьоба запилювачів колібрі, виявивши чіткі зв'язки між спеціалістами із запилення та універсалами. Подальші дослідження Гарсії та ін. [18] на Nicotiana glauca (Graham, 1828) показали, як форма та довжина квітки змінюються в різних середовищах запилення. Вони спостерігали, що в регіонах зі спеціалізованими запилювачами квіти мали довші, більш трубчасті форми, тоді як в районах з універсальними запилювачами квіти були коротшими та більш відкритими. Ці варіації демонструють складний зв'язок між морфологією рослин та селективним тиском, що чиниться різними типами запилювачів, підкреслюючи роль морфологічних ознак у сприянні ефективним стратегіям запилення. Крім того, Гомес та ін. [20, 21] виявили негативний зв'язок між інтеграцією форми віночка та кількістю запилювачів у роді Erysimum . Їхні дослідження показали, що види з більш інтегрованими формами віночка, як правило, приваблювали менше запилювачів, що свідчить про те, що високоспеціалізовані форми квіток можуть бути менш ефективними в системах з великою кількістю типів запилювачів. Це спостереження вказує на суперечливий селекційний тиск, коли спеціалізовані форми квіток є кращими в певних середовищах, тоді як більш узагальнені форми можуть краще підходити для ширшої взаємодії запилювачів у різноманітних екосистемах. Будечевич та

ін. [10] досліджували еволюцію ознак квіток у Iris pumila.L., зосереджуючись на різних характеристиках, включаючи колір, розмір, форму та коливальну асиметрію (FA) в органах квітки. У дослідженні спеціально порівнювали ознаки квітів, які були успішно запилені, з тими, які не були. Їхні результати показали, що запилені квіти демонстрували вищу яскравість порівняно з квітами, які не змогли привабити запилювачів. Це свідчить про те, що відбір, опосередкований запилювачами, може сприяти яскравішим квітам, можливо тому, що вони візуально привабливіші для запилювачів. Крім того, дослідження виявило, що запилені квіти також мали довші стебла та більші органи квітки, що могло ще більше покращити їхню видимість та привабливість, що свідчить про те, що ці ознаки разом сприяють успіху запилення. Стрелін та ін. [62] досліджували онтогенетичну алометрію у Calceolaria polyrhiza Cav., виду, який залежить від бджіл, що збирають олію, для запилення. Вони виявили, що неалометрична варіація форми значною мірою сприяє адаптації, особливо у відповідь на зміни розміру запилювачів, що призводить до змін форми, які відбуваються на ранніх стадіях розвитку квітки. Ці дослідження разом збагачують наше розуміння складної взаємодії між ознаками квітів та взаємодією запилювачів, пропонуючи уявлення про еволюційну динаміку, що формує взаємовідносини між рослинами та запилювачами.

Робота Стреліна та ін. [62] є прекрасним прикладом того, як різні теми можуть бути пов'язані одна з одною. Її метою було дослідження адаптивної радіації (тема: коеволюція рослин і середовища) синдромів запилення у Caiophora , зосереджуючись на тому, чи відбувалося це через онтогенетичне масштабування, чи це було відхиленням від базального онтогенетичного патерну (тема: розвиток рослин). Вони використовували геометричні морфометричні змінні для опису форми та розміру квіткових структур, що беруть участь у механізмах запилення. Дослідження показало, що похідні види Caiophora демонстрували дивергентні онтогенетичні патерни від базальних видів, що свідчить про значні зміни в характері розвитку квітів під час адаптивної радіації, таким чином відкидаючи гіпотезу онтогенетичного масштабування, яка постулює, що еволюційні зміни розміру та форми відбуваються через пропорційне масштабування спільної траєкторії розвитку предків [62].

Наступні дослідженя включені до цієї теми, зосереджені на різних аспектах морфологічної еволюції квітів. О'Хенлон та ін. [41] досліджували міме-

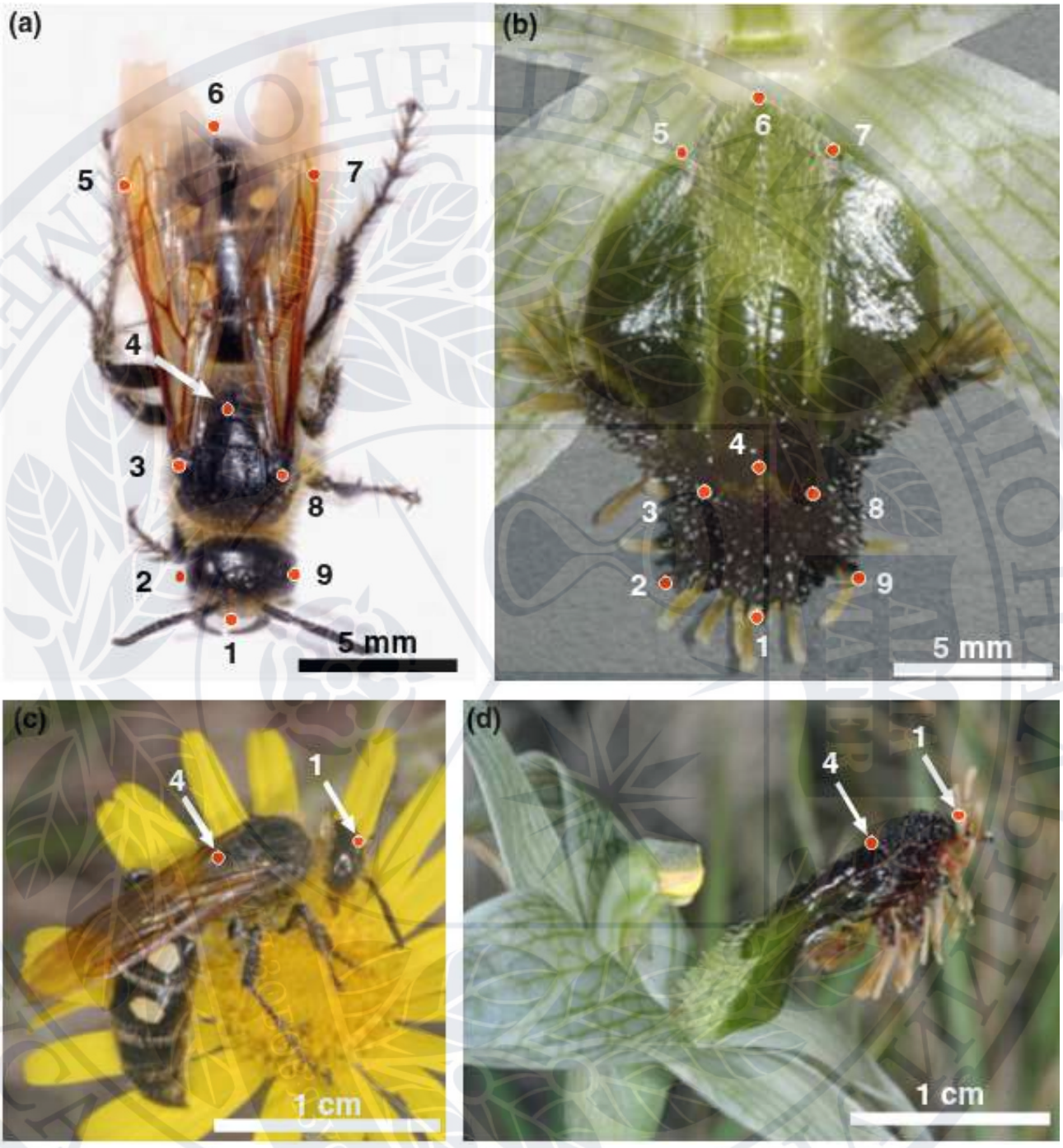

Рис. 1.1. Розташування дев’яти орієнтирів, використаних у геометричному морфометричному аналізі форми тіла Capsomeris bistrimacula (а) та форми губи Geoblasta pennicillata (б). Бічний вигляд C. bistrimacula (в) та G. pennicillata (г), на якому показано розташування орієнтирів 1 і 4. З роботи [5].

тичні зв'язки орхідного богомола з модельними видами квіток у Малайзії, дійшовши висновку, що богомол нагадує середній або узагальнений квіткоподібний стимул, а не імітує конкретний модельний вид. Рубіні Пізано та ін. [52] досліджували фенотипічну варіацію та гібридизацію в популяції Мандевілла , виявивши значну гібридизацію між M. laxa (Ruiz and Pav.) Woodson та M. pentlandiana (DC.) Woodson, що призвело до гібридного рою з трансгресивними фенотипами у летких речовинах квітки та асиметричними показниками зворотного схрещування.

Щодо листових органів рослин, Галлахер та ін. [17] досліджували варіації форми та розміру листя родини Poaceae в різних середовищах існування та кліматичних умовах, виявивши конвергентну еволюцію форми листя трав'янистої рослини до різних оптимумів у підліску лісу, на узліссях та у відкритих середовищах існування, причому варіації розміру листя корелювали з умовами середовища існування, що свідчить про те, що перехідні зони між лісами та луками відігравали вирішальну роль у формуванні морфології листя та середовища існування предків. Цей звіт також можна було б включити до теми адаптації рослин до різних середовищ існування.

Ще одним дослідженим органом була апікальна меристема пагона (SAM) Шнабловою та ін. [56], яких цікавив зв'язок між формами SAM та різними ознаками пагонів у 110 трав'янистих покритонасінних рослин. Вони виявили, що форми SAM були різноманітними в різних лініях, але демонстрували сильний філогенетичний консерватизм, причому варіації форм SAM пов'язані з товщиною стебла, площею листя та облистненістю, що свідчить про геометричну взаємозалежність зон меристеми, що призводить до кореляцій між ознаками органів та вказує на консерватизм у регуляторних процесах, що лежать в основі архітектури рослин. Це дослідження також пов'язане з темою біорізноманіття рослин.

Адаптація рослин до різних середовищ існування. У прикладах робіт, що наведені нижче, ГММ використовувався для вивчення складних взаємодій між морфологією рослин, умовами навколишнього середовища та стабільністю розвитку у різних видів рослин та географічних регіонів. Ці роботи підкреслюють важливість врахування як генетичних, так і екологічних факторів у формуванні морфології листя, а також висвітлюють адаптивну здатність рослин оптимізувати свою продуктивність за різних екологічних умов.

В роботі Чен та ін. [11] досліджували мінливість форми листя Betulaceae Carpinus tientaiensis WCCheng за різних умов освітлення. Рослини демонстрували адаптивну здатність виду оптимізувати ефективність фотосинтезу. Їхні результати підкреслили кореляцію між змінами форми листя та такими факторами навколишнього середовища, як інтенсивність світла, температура та вологість. Гленнон та Крон [19] досліджували зв'язок між морфологією листя та кліматичними нішами у видів Helichrysum (Asteraceae), виявляючи закономірності зміни форми листя, пов'язані з холодним, сухим кліматом. Хоча форма листя не мала суттєвої кореляції з кліматичною нішею у всіх видів, виявилися певні тенденції, особливо у H. odoratissimum (L.) Sweet., де менші, вужчі листки були поширені в прохолодніших, сухіших регіонах. Хоу та ін. [25] розширили ці висновки, досліджуючи варіації форми листя у видів Artemisia в широких кліматичних та ґрунтових градієнтах у Китаї. Їхні висновки підкреслили значну роль видової ідентичності у формуванні морфології листя, а також продемонстрували чутливість форми листя до регіональних градієнтів навколишнього середовища, таких як опади та властивості ґрунту. Нарешті, Йованович та ін. [29] зосередилися на відмінностях у розмірі та формі листя Quercus cerris L. вздовж градієнтів навколишнього середовища в Сербії, виявивши значні варіації, що залежать від типів ґрунту, експозиції та висоти. Їхнє дослідження підкреслило пластичність морфологічних ознак листя у відповідь на відмінності в середовищі існування, причому ґрунти з дефіцитом поживних речовин призводять до меншого розміру листя та вищої аммонійної кислотності (FA). Ще два дослідження щодо варіацій форми та розміру листя були призначені для цієї теми. Обидва дослідження підкреслюють важливість врахування генетичної диференціації та факторів навколишнього середовища у формуванні морфології листя деревних рослин. Лі та ін. [33] досліджували варіації морфології листя у Quercus aquifolioides Редер та Е. Х. Вілсон та виявили значну диференціацію у формі та розмірі листя серед різних ліній, причому генетичні ефекти пояснюють цю варіацію переважно. Ян та ін. [75] порівняли ефективність традиційних морфометричних методів та генетично модифікованих моделей (GMM) у вивченні морфологічних характеристик. Листя Quercus dentata Thunb. походить з трьох різних місць, що демонструє вищу точність класифікації ГММ при аналізі морфологічної варіації листя. Рахмуні та ін. [46] оцінили різні генотипи арганії, Argania spinosa L., у різних середовищах Марокко, виявивши значні відмінності

у формі та розмірі листя між генотипами та місцями зростання, з сильною взаємодією генотип-середовище. Оскільки різні генотипи враховуються, ця робота також може бути зарахована до вивчення біорізноманіття.

Зміна форми рослин у відповідь на зміни навколишнього середовища. Роботи, що розглядаються нижче поглиблюють галузь досліджень фенотипування рослин з використанням методів ГММ як основних інструментів дослідження. Ці дослідження охоплюють різноманітні види та органи рослин, досліджуючи різні аспекти морфології рослин у відповідь на фактори навколишнього середовища, включаючи генетичні варіації та репродуктивні стратегії. Туцич та ін. [64] досліджували вплив сонячної радіації на морфологію квіток Iris pumila, демонструючи ключову роль фенотипової пластичності у формуванні асиметрії квіток, тим самим розширюючи наше розуміння того, як екологічні сигнали формують фенотипи рослин. В іншому екологічному контексті Росас та ін. [51] досліджували внутрішньовидові варіації форми та кольору квіток Mammillaria haageana Pfeiff. використовуючи GMM, підкреслюючи потенціал геометричних морфометричних підходів у розгадуванні складної взаємодії між варіаціями фенотипу квітки та фактором сонячної радіації. Аналогічно, Zhao та Schoen [79] вивчали варіації екотипів Impatiens capensis Meerb., щоб оцінити вплив розслабленого відбору на хазмогамні квіти, порівнюючи сонячні та тінисті популяції. Незважаючи на очікування, геометричний морфометричний аналіз показав мінімальні відмінності у формі чашолистків квітки між екотипами, що свідчить про потенційні плейотропні ефекти мутацій. Однак, затінені популяції екотипів демонстрували значно менші чашолистки, що свідчить про спрямовані мутаційні ефекти у бік зменшення розміру, що може бути невигідним за сонячніших умов, де переважають хазмогамні квіти. Змістивши фокус на фенотипування листя в різних екологічних умовах, Манакорда та Асурменді [37] проаналізували варіації форми на зображеннях розеток Arabidopsis під час процесів вірусної інфекції за допомогою GMM, продемонструвавши ефективність геометричних морфометричних інструментів у кількісній оцінці відмінностей у формі між контрольними та інфікованими рослинами, демонструючи потенціал GMM у покращенні вилучення та обробки фенотипових ознак об'єктивно та відтворювано. Крім того, Стефанович та ін. [60] досліджували морфологію хвої та внутрішньовидову мінливість у популяціях Taxus baccata L. за допомогою GMM, виявивши статевий диморфізм та фенотипічну пластичність у відповідь на різні

біокліматичні фактори. Остання доповідь, в рамках охначеної тематики, стосувалася аналізу ГММ трьох органів рослин: стебла, листка та квітки Teucrium montanum L. [80]. Автори виділили відмінності в розмірі та формі морфологічних ознак у популяціях гірського герандера з різних геологічних субстратів за допомогою ГММ, підкреслюючи значення взаємозв'язку форми та середовища в адаптації рослин (також пов'язано з темою адаптації рослин до різних середовищ існування).

Біорізноманіття рослин. Кілька досліджень, зокрема праці Хуанга та Лю [26] і Віскозі [69], використовували ГММ для виявлення видових відмінностей у формі листя в родах Quercus і Sagittaria. Крім того, ці роботи досліджували зв'язок між варіацією форми листка та архітектурою жилкування. Наприклад, Хуан та Лю [26] спостерігали чіткі відмінності у формі листя між такими видами, як Quercus robur L. та Quercus petraea: перший вид мав більш округле й ширше листя, тоді як другий --- вужче та довше. Аналогічно, у роді Sagittaria Віскозі [69] виявив видові відмінності в морфології листя, зокрема стрілоподібне листя Sagittaria latifolia Willd. порівняно з більш видовженим і лінійним листям Sagittaria pygmaea Miq. Ці відмінності підкреслюють важливість морфології листя та особливостей жилкування для ідентифікації видів і пояснення їхньої адаптації до різних екологічних умов.

Дослідження Вандера Майнсбрюгге [66, 67] підкреслюють важливість морфологічної варіації для розуміння екологічних процесів та адаптації в популяціях рослин. Перше дослідження зосереджене на фенотипічній мінливості листя та асиметрії двох видів Alnus, підкреслюючи їх екологічні наслідки, зокрема, у гібридизації та адаптації до різних середовищ. Друге аналізує Ulmus laevis дерева Палла для виявлення відхилень у природних популяціях з унікальними характеристиками листя. Дослідження показує, що ці відхилення можуть свідчити про еволюцію екотипу, ймовірно, зумовлену ізоляцією та зменшенням розмірів популяцій. Обидва дослідження демонструють корисність ГММ для з'ясування взаємозв'язків між морфологією, генетикою та екологією. Крім того, вони підкреслюють потенціал цих методів у виявленні окремих ознак, на які впливають інтрогресія, дивергенція та тиск навколишнього середовища. Кілька досліджень, таких як дослідження Шмідта та Калена та Віскозі та ін. [69—71], демонструють практичне застосування ГММ у таких галузях, як моделювання рослин та генетичний аналіз. Ці дослідження підкреслюють потенціал ГММ

для інформування про практичне застосування в сільському господарстві, охороні природи та управлінні екосистемами. Дослідження де Мораї та ін., а також Лексера та ін. [32, 39] демонструють силу ГММ у розумінні морфології рослин та її екологічних та еволюційних наслідків. Аналогічно, де Мораїс та ін. [39] використовували ГММ листя для опису варіацій форми листя в популяціях Dalbergia ecastaphyllum (L.) Taub. у Бразилії. Їхній аналіз виявив значні варіації форми листя в різних популяціях, висвітлюючи відмінності в розмірі, формі листя та моделях жилкування. Ці варіації були пов'язані з факторами навколишнього середовища, такими як умови середовища існування та місцевий клімат, демонструючи, як ГММ може бути ефективно використаний для характеристики варіацій морфології листя навіть на рівні популяції. Лексер та ін. [32] зосередилися на гібридній зоні між Populus alba L. та P. tremulaL., демонструючи ефективність ГММ у виявленні окремих ознак, на які впливають інтрогресія та дивергенція. Зокрема, вони виявили відмінності у формі, розмірі листя та довжині черешка, на які вплинув генетичний внесок обох видів. Ці ознаки були ключовими для розрізнення гібридних особин від батьківських видів та для виявлення морфологічних наслідків потоку генів та дивергенції між двома видами. Разом ці дослідження підкреслюють універсальність та значення ГММ у з'ясуванні закономірностей морфологічної мінливості рослин. Надаючи детальний аналіз морфології листя та її екологічних та еволюційних наслідків, вони сприяють нашому розумінню адаптації, гібридизації та еволюції рослин у різних екологічних контекстах. Вергара та ін. [68] досліджували фітохімію, репродуктивні ознаки та кореляції архітектури росту у гібридів канабісу за допомогою методів ГММ, кидаючи виклик традиційній таксономії та припускаючи необхідність нової системи для виявлення мінливості в межах канабісу .

Сакамото та ін. [53] досліджували варіації форми насіння в колекції зародкової плазми сорго (Sorghum bicolor), щоб з'ясувати їх зв'язок з однонуклеотидними поліморфізмами (SNP) загальногеномного рівня за допомогою геномного прогнозування (GP) та досліджень асоціації загальногеномного рівня (GWAS). Вони розглянули різні комбінації методів опису форми та процедур стандартизації, виявивши, що PCA кількісних дескрипторів з різних методів дає подібні результати. Крім того, вони наголосили на важливості врахування методологічних факторів, таких як методи опису форми та процедури стандартизації, під час проведення морфометричного аналізу варіацій форми насіння.

Їхні висновки підкреслюють необхідність ретельного розгляду та стандартизації методологій для забезпечення надійних та надійних результатів у дослідженнях такого характеру.

Зрештою, у дослідженні Неуступи [40] клітини одноклітинних зелених водоростей Micrasterias compereana Neustupa, St'astný та Skaloud, відомих своєю складністю, були досліджені за допомогою різних геометричних морфометричних методів для вивчення їхньої інтеграції та асиметрії. Дослідження показало, що протилежні півклітини демонстрували значну клітинну асиметрію, тоді як друга важлива модель асиметрії включала диференціацію між сусідніми часточками в межах квадрантів. Подальший аналіз показав повну незалежність між протилежними півклітинами, слабку інтеграцію полярних часток із сусідніми бічними частками та значну інтеграцію між двома бічними частками однієї й тієї ж півклітини. Ці результати проливають світло на складну морфологію клітин Micrasterias , що має значення для розуміння клітинного розвитку та адаптації у відповідь на фактори навколишнього середовища.

Антропний вплив на морфологію рослин. Дослідження, включені до цієї теми, проливають світло на те, як різні фактори навколишнього середовища та стресори (наприклад, важкі метали, урбанізація та агрономічні практики), що виникають внаслідок діяльності людини, можуть формувати морфологію рослин та дають уявлення про взаємодію між рослинами та їхнім оточенням. Перші три роботи, присвячені цій темі, зосереджувалися на різних аспектах морфології квітки та впливі забруднюючих речовин. Вуїч та ін. [72] морфологічні стандарти (пелюстки) Iris pumila між забрудненим та незабрудненим середовищем, тоді як Клісарич та ін. [4] досліджували потенціал біомоніторингу індексів асиметрії квітки у одного й того ж виду. У першому дослідженні довжину, ширину, розмір центроїда та форму стандартів I. pumila порівнювали між міською територією міста Белград та незабрудненим природним заповідником Деліблатські піски. Спостерігалися значні відмінності в довжині стандарту, розмірі центроїда та варіаціях форми між двома районами, причому умови мікросередовища сприяли різноманітності в межах клонів. Квіти в забрудненому середовищі демонстрували коротші та ширші пелюстки порівняно з квітами в незабрудненому середовищі, що вказує на морфологічні зміни у відповідь на екологічний стрес. В останньому дослідженні автори використовували природно зростаючі клони з посушливого степового середовища природного заповід-

ника Деліблатські піски. Кілька клонів (n = 197) було пересаджено на забруднену ділянку автомагістралі для оцінки впливу екологічного стресу. Незважаючи на аналіз як радіально, так і двосторонньо симетричних структур квітки та використання сильно забрудненого середовища, лише один індекс асиметрії показав значні відмінності на забрудненій ділянці, що свідчить про обмежену ефективність асиметрії квітки як методу біомоніторингу для I. pumila , але підтверджує, що ГММ є ефективним підходом для параметрів біомоніторингу, на які впливають зміни навколишнього середовища. Фор та ін. [14] порівняли вплив урбанізації з частотою відвідувань запилювачами та дослідили їх вплив на форму квітки Impatiens capensis Meerb. Використовуючи ГММ, вони кількісно оцінили розмір і форму квіток шести популяцій у регіоні Монреаля, Канада, та виявили значну кореляцію між характеристиками квітки та рівнем урбанізації, а також частотою відвідувань запилювачами. Їхні результати свідчать про те, що урбанізація впливає на форму квітки як через абіотичні фактори, так і через зміни в поведінці запилювачів, що підкреслює потенційний вплив міського середовища на морфологію квітки. Остання робота про органи квітки також відповідає темі «Коеволюція рослин і середовища». Однак, вона включено до цього абзацу, оскільки більша частина дослідження зосереджена на результатах кореляційного аналізу між змінними форми та кількома абіотичними стресами. Фактично, у дослідженні Санднера [54] підкреслюється значення симетрії в ознаках тварин та формі квітки, що вказує на нестабільність розвитку через FA. За допомогою GMM симетрія квіток у інбредних та аутбредних Mimulus guttatusБув проведений аналіз рослин Fisch. ex DC., які зазнали різних стресових впливів (наприклад, CuSO4 , зрізання, дефіцит поживних речовин, затоплення та посуха), що показало, що на FA впливали інбридинг та конкуренція, а не абіотичний стрес. Санднер припускає, що вплив інбридингу та конкуренції на FA відрізняється, причому FA зменшується з індивідуальною біомасою, що потенційно впливає на демографію рослин та взаємодію рослин-запилювачів.

Решта звітів, відібраних та призначених до цієї теми, стосувалися морфологічної варіації листя та його реакції на різні стресові фактори навколишнього середовища [27, 28, 45, 55, 73]. Де ла Паса Поллічеллі та ін. [45] вивчали варіації форми листя у лужної водорості Cressa truxillensis Kunth у зв'язку з концентрацією металів у ґрунті, що належить до деяких забруднених ділянок, спостерігаючи зміни форми листя, пов'язані з градієнтами стресу металів. Вони пропо-

нують використовувати форму листя як ранній біомаркер стресу забруднення у болотних рослин і що GMM є корисним інструментом. Два дослідження були проведені на Limonium brasiliense (Boiss.) Kuntze [27, 28] для перевірки варіацій форми листя як біомаркерів рослин у забруднених ґрунтах (або за відомих концентрацій забруднюючих речовин, або вздовж градієнта забруднення ґрунту). Вони виявили значні зміни форми листя, викликані концентраціями свинцю та солі, а також пов'язані з градієнтами металів у ґрунті, що підтверджує використання форми листя як практичного біомаркера стресу в забрудненому середовищі. Інша робота була зосереджена лише на жирових кислотах у листі гірської берези (Betula pubescens ssp. Czerepanovii [Orl.]), що зазнали промислового забруднення та експериментально індукованих стресів (тобто міді та нікелю), і виявила, що жирові кислоти в листі берези не є надійним показником стресу навколишнього середовища [55]. Крім того, Вуїч та його колеги [73] досліджували вплив рекреаційних порушень на форму та розмір листя Mercurialis perennis , спостерігаючи значні варіації, пов'язані з порушеннями як на рівні листя, так і на рівні всієї рослини, але не спостерігали значних статево-специфічних реакцій на порушення характеристик листя.

Узагальненя. Геометрична морфометрія пропонує революційний підхід до вивчення морфології рослин, надаючи потужний інструмент для дослідження різноманітності та складності рослинних форм. У контексті коеволюції рослин і навколишнього середовища важливі результати досліджень свідчать про вплив форми квітки на вподобання запилювачів, а також про відмінності у формі пелюсток, пов’язані з різними типами запилювачів. Адаптація рослин до різних середовищ існування відображається у специфічних змінах форм, розмірів та інших морфологічних ознак органів рослин, особливо листя, що пов’язані з умовами навколишнього середовища. Більше того, рослини зазнають морфологічних змін у відповідь на зміни навколишнього середовища, причому кліматичні зміни та інші екологічні стреси призводять до помітних варіацій у формі та розмірі. Геометрична морфометрія також відіграла важливу роль у вивченні біорізноманіття рослин, виявляючи ступінь морфологічної варіації як всередині видів, так і між ними в різних екосистемах, тим самим сприяючи глибшому розумінню біорізноманіття. Щодо розвитку рослин, дослідження в галузі ГММ зосереджуються переважно на онтогенетичних змінах та процесах розвитку, зокрема на тому, як рослини розвиваються та адаптуються морфологічно про-

тягом свого життєвого циклу. Антропогенні фактори, такі як забруднення та зміни у землекористуванні, суттєво впливають на морфологію рослин, особливо на їхню форму та розмір. Крім того, дослідження також виявили генетичні детермінанти морфології рослин, причому різні приклади демонструють, як генетичні фактори впливають на варіації форми та розміру у різних видів рослин. Цей огляд підкреслює зростаючий інтерес до «коеволюції рослин і навколишнього середовища», яка широко досліджувалася, тоді як «розвиток рослин» залишається недостатньо висвітленою темою з обмеженими дослідженнями в цій галузі. Зокрема, вплив змін навколишнього середовища на морфологію рослин та генетична основа цих адаптацій є напрямками досліджень, що потребують подальшого вивчення. Незважаючи на свої переваги, ГММ також має певні обмеження при застосуванні до біології рослин. Однією з головних проблем є правильна ідентифікація гомологічних орієнтирів, що часто є простішим у тварин, але може бути складним у рослин через безперервний та дуже мінливий характер рослинних структур. Багато органів рослин, таких як листя та пелюстки, не мають чітких гомологічних точок, що вимагає використання напіворієнтирів або підходів на основі контурів, які можуть спричинити додаткову мінливість та потребувати спеціалізованих аналітичних методів. Крім того, ГММ значною мірою залежить від якості зразків та умов зйомки зображень, причому такі фактори, як перспективні спотворення, невідповідності в роздільній здатності та помилки позиціонування, впливають на точність аналізу форми. Цей метод також не враховує функціональні та розвиткові аспекти морфології, що означає, що для повної інтерпретації варіацій форми необхідні додаткові екологічні, генетичні та фізіологічні дані. Нарешті, хоча ГММ забезпечує потужну кількісну оцінку форми, інтеграція його результатів із традиційними морфометричними підходами, геномними даними та екологічним моделюванням залишається сферою, що потребує подальшого методологічного розвитку.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Збір матеріалу

Матеріал відбирали у двох типах локацій, що відрізнялися рівнем антропогенного навантаження. До першої групи належали ділянки поблизу автомобільних доріг з інтенсивним транспортним рухом. У таких випадках дерева розташовувались на відстані приблизно 5–10 м від дороги на краях лісопаркових зон, що безпосередньо межують із транспортними магістралями. Такі умови умовно розглядалися як забруднене середовище. Другу групу становили ділянки, віддалені від доріг щонайменше на 500 м, переважно у центральних частинах лісопаркових масивів. Ці локації умовно відносили до відносно чистого середовища.

Перед отриманням цифрових зображень листки промивали водою для видалення пилу та поверхневих забруднень, після чого висушували при кімнатній температурі. Надалі листки сканували у розпластаному стані для отримання цифрових зображень, придатних для морфометричного аналізу.

2.2 Формування набору даних та попередня обробка зображень

Контури листової пластинки та центральна жилка. Для подальшого аналізу випадковим чином було відібрано по 1000 листків із кожного типу середовища (забрудненого та відносно чистого). Отримані скановані зображення піддавали попередній комп’ютерній обробці.

Контури листкових пластинок отримували методом порогової сегментації (thresholding), реалізованим із використанням бібліотеки OpenCV для мови програмування Python. Після бінаризації виконували виділення контуру листка та формування маски листкової пластинки.

Для сегментації центральної жилки використовували спеціально навчану згорткову нейронну мережу на основі модифікованої архітектури U-Net, розроблену в межах попередніх досліджень. Результатом роботи мережі було бінарне зображення центральної жилки, яке надалі перетворювали у скелетон, що описував її центральну вісь.

Автоматичне визначення точок основи та апекса листкової пластинки. Проведення морфометричного аналізу форми листкової пластинки потребує визначення гомологічних точок, які можуть бути використані як ландмарки

для порівняння різних зразків. Для листків такими орієнтирними точками часто слугують апекс та основа листкової пластинки.

Для автоматичного визначення цих точок використовували алгоритм, вхідними даними для якого були контур листкової пластинки та скелетон центральної жилки. Уздовж центральної жилки для кожної її точки будували два перпендикуляри — праворуч та ліворуч від осі жилки. Кожен із них продовжували до перетину з контуром листкової пластинки. Відстані від центральної жилки до відповідних точок перетину з контуром характеризували локальну напівширину листка.

Залежність цих відстаней від координати вздовж центральної жилки формувала профілі напівширини листкової пластинки. Оскільки перпендикуляри будувалися окремо для правої та лівої сторін, отримували два незалежні профілі — для лівої та правої половини листка. Такий підхід дозволяв враховувати природну асиметрію листків граба.

У зоні переходу черешка в листкову пластинку профіль напівширини характеризується різкою зміною форми. На ділянці черешка ширина залишається відносно стабільною, тоді як у межах листкової пластинки вона швидко збільшується. Для виявлення цієї межі до профілів напівширини застосовували апроксимацію кусково-лінійною функцією. Точка зміни характеру профілю інтерпретувалась як точка переходу між черешком та листковою пластинкою.

Таким способом окремо визначали точки основи для лівої та правої половин листка. У загальному випадку ці координати не збігалися через асиметрію форми листкової пластинки. Остаточну точку основи листка визначали як середню точку на центральній жилці між відповідними лівою та правою точками переходу.

Точку апекса визначали як найбільш дистальну точку центральної жилки, тобто кінцеву точку скелетона у напрямку верхівки листка.

2.3 Прокрустів аналіз

Контур листової пластинки представлявся за допомогою 122 маркерів. 120 з них були напів-ландмарками, два були ланмарками. В якості ланмарок використовувалась точка основи та апекс. 60 напів-лабмарок були розташовані на лівій половині контура і 60 на правій. Нумерація ландмарок та напівландмарок показаніна рис. 2.1.

Для розміщення напів-ландмарок на контурі використовувася наступний

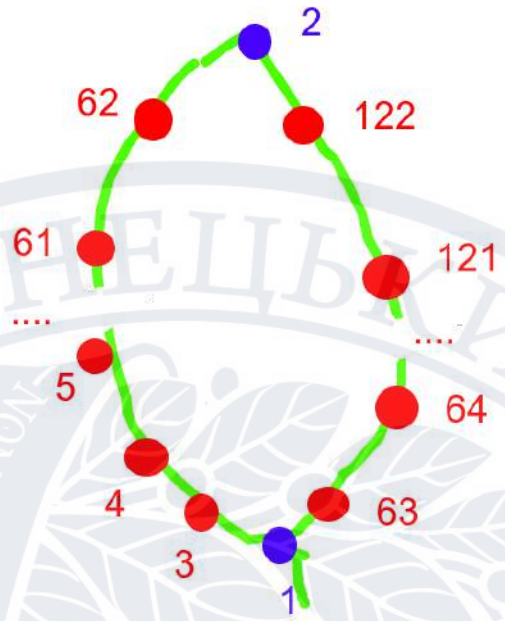

Рис. 2.1. Нумерація ландмарок та напівландмарок в прокрустовому аналізі. Сині маркери - ландмарки, червоні - напів-ландмарки.

метод. Щоб відобразити неперервну кривизну країв листя, вздовж сегментованої середньої жилки було рівномірно розміщено 60 точок. У кожній точці до лівого та правого контурів листя проводилися дві перпендикулярні лінії. Точки перетину фіксувалися як напіворієнтири, що дало 120 напіворієнтирів на одне листя (по 60 з кожного боку). Цей метод перпендикулярної проекції забезпечує гомологічний та біологічно значущий розподіл точок, що дозволяє детально порівняти ширину листя та кривизну країв у всьому наборі зразків.

Геометричну морфометрію проводили за допомогою пакету geomorph для R [2, 3]. Процедуру Generalized Procrustes Analysis (GPA) виконували функцією gpagen() на масиві тривимірних координат. Для врахування напів-лендмарків на кривих використовували параметр curves = sliders_matrix, де матриця sliders_matrix визначала послідовність ковзних напів-лендмарків вздовж контурів. Параметр ProcD = FALSE вказує на те, що під час ітеративного ковзання напів-лендмарків застосовувався критерій мінімізування bending energy (енергії вигину), а не Procrustes distances. Такий вибір (ProcD = FALSE) є стандартним у більшості морфометричних досліджень при роботі з кривими, оскільки він забезпечує більш гладке та біологічно інтерпретоване вирівнювання напів-лендмарків відповідно до оригінальної концепції [8].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Загальний Прокрустів Аналіз

Розподіл розміру центроїда в обох досліджуваних групах був близьким до нормального. Медіанні значення розміру центроїда в групах cln (чисте середовище) та pol (забруднене середовище) були майже ідентичними (рис. 3.1). Отримані результати свідчать про відсутність суттєвих відмінностей у загальному розмірі листків між рослинами з чистого та забрудненого середовищ. Така подібність розмірів є сприятливою для подальшого геометрично-морфометричного аналізу, оскільки зменшує потенційний вплив алометрії при порівнянні форми листків між групами за допомогою Generalized Procrustes Analysis (GPA).

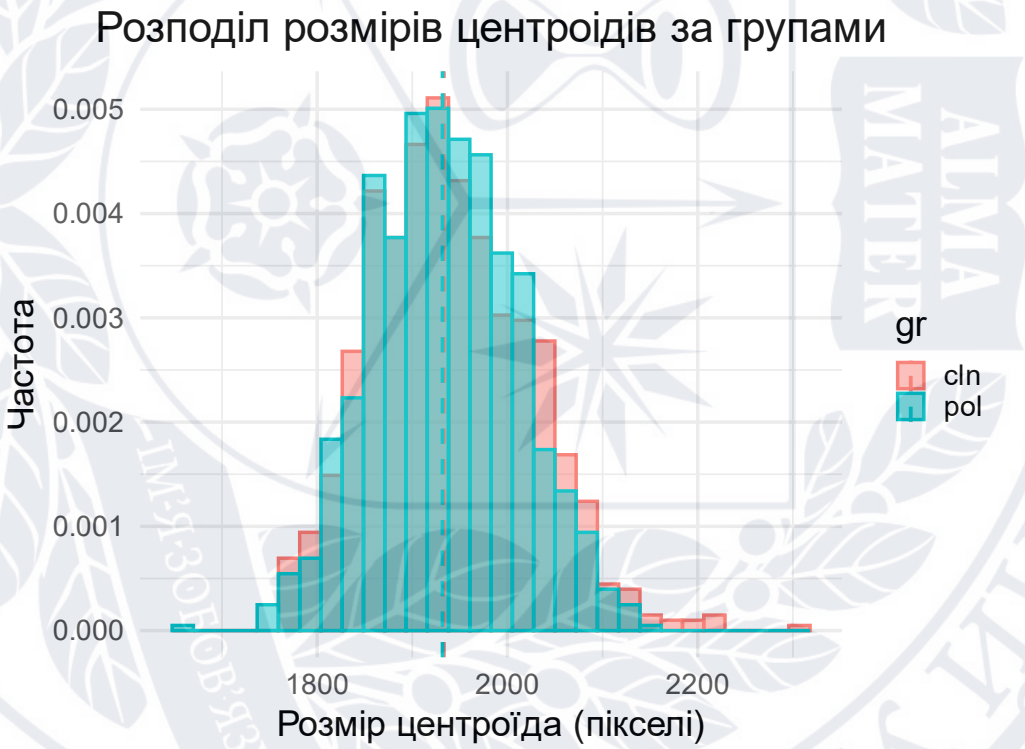

Рис. 3.1. Розподіл розміру центроїда листків у групах cln (чисте середовище) та pol (забруднене середовище). Вертикальними пунктирними лініями позначені медіани розподілів.

В результаті узагальненого прокрустового аналізу (GPA) вихідні координати контурів листових пластин були вирівняні за положенням, масштабом і орієнтацією з використанням напіворієнтирів (sliders), заданих матрицею

sliders_matrix. На рис. 3.2 представлена візуалізація всіх вирівняних прокрустових координат для двох груп (cln та pol) на одній осі. Синім кольором позначено зразки групи cln, червоним – групи pol. Кожна точка відповідає положенню окремого маркера однієї форми. Усі форми візуалізовано без урахування прокрустового суперпозиціювання між групами (лише в межах загального GPA).

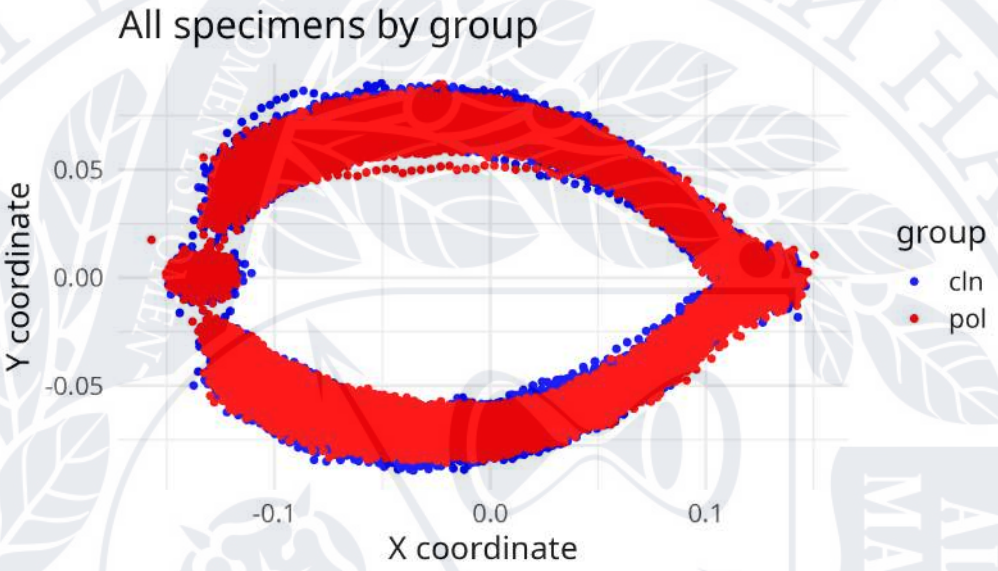

Рис. 3.2. Візуалізація форм двох типів листків (групи cln та pol) після вирівнювання GPA на спільному графіку. Колір маркерів кодує приналежність до групи: синій – група cln, червоний – група pol. Візуальне перекриття кластерів може свідчити про подібність форм між групами, а розділення – про наявність форми-специфічних відмінностей.

Векторні графіки деформацій, побудовані функцією plotRefToTarget пакета geomorph, використовують для наочного відображення відмінностей між двома конфігураціями маркерів після GPA. На таких графіках одна конфігурація задається як еталонна (reference), а інша — як цільова (target). Стрілки показують напрямок і величину зміщення кожного маркера при переході від еталонної форми до цільової. Оскільки реальні відмінності форми часто є дуже малими, деформації зазвичай масштабують у декілька разів для кращої візуалізації. Такі графіки дозволяють оцінити, які ділянки структури роблять найбільший внесок у міжгрупові відмінності форми.

В нашому випадку, векторний аналіз деформацій (рис. 3.3, 3.4, 3.5) пока-

зав чіткі відмінності в середній формі листків між досліджуваними групами. На рис. 3.3 показано векторне поле деформацій при переході від усередненої форми всіх зразків (консенсус) до середньої форми листків групи «cln» (чисте середовище). Масштаб деформацій збільшено у 30 разів. Візуальний аналіз свідчить, що форма листків «cln» суттєво відрізняється від глобального консенсусу. Спостерігається виражене звуження дистальної (верхівкової) частини листкової пластинки, натомість проксимальна (базальна) частина є розширеною. Стрілки на проксимальній частині листка спрямовані всередину (звуження), тоді як біля основи — назовні (розширення). Таким чином, форма листків у чистому середовищі характеризується більш компактною верхньою частиною листкової пластинки.

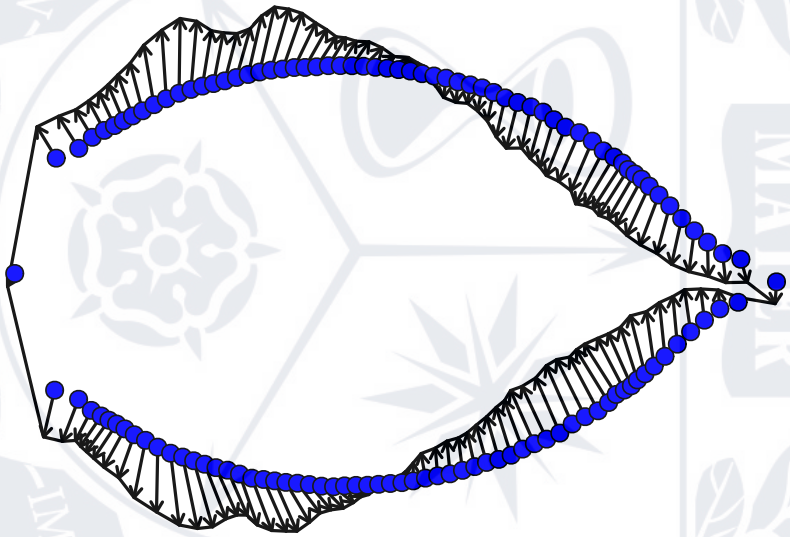

Рис. 3.3. Векторне відображення деформацій форми листків від консенсусної форми (середнє по всій вибірці, синій) до середньої форми групи cln (чисте середовище, чорний). Стрілки показують напрямок і величину зсуву лендмарків. Масштаб деформацій збільшено у 30 разів.

Для групи pol, рис. 3.4, спостерігалася протилежна тенденція. Порівняно із загальним консенсусом, листки цієї групи мали більш розширену дистальну частину та відносно вужчу проксимальну частину. Вектори деформацій демонструють зміщення маркерів у напрямку розширення верхньої частини листкової пластинки. Це свідчить про зміну загальних пропорцій листка в умовах антропогенного навантаження.

Рис. 3.4. Векторне відображення деформацій форми листків від консенсусної форми (синій) до середньої форми групи pol (забруднене середовище, чорний). Масштаб деформацій збільшено у 30 разів.

Пряме порівняння середніх конфігурацій двох груп (рис. 3.5) наочно демонструє, що для перетворення середньої форми cln на середню форму pol необхідно здійснити розтягнення дистальної третини листка та стиснення його проксимальної частини. Така протилежна спрямованість морфологічних змін свідчить про суттєвий вплив екологічних умов на формоутворення листків і вказує на наявність адаптивної пластичності або селективного тиску, що діє в різних напрямках у чистих та забруднених місцезростаннях. Отримані результати є важливими для розуміння механізмів відповіді рослин на антропогенне забруднення середовища.

На наведених вище графіках, середня референтна форма є завжди більш гладкою кривою порівняно з цільовою. Це пов’язане із тим, що plotRefToTarget відображає лише відносні деформації між двома конкретними конфігураціями, а не «абсолютну форму». Наприклад на рис. 3.5 cln виглядає гладкою не тому, що вона «не хвиляста», а тому що саме вона є системою координат для порівняння. Хвилястість з’являється лише у цільової форми, тобто pol, як відображення локальних відхилень від еталонної конфігурації. Крім того, якщо контур листка відображений напівландмарками, то хвилястість може посилюватися через: локальні зміщення сусідніх напівландмарок; ефект ковзання (sliding semilandmarks). Тому хвилястий контур на таких графіках не завжди означає

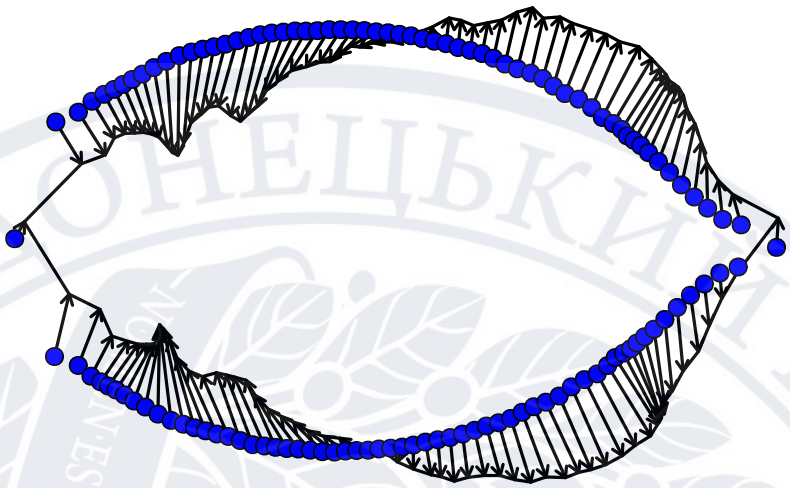

Рис. 3.5. Векторне відображення деформацій форми листків від середньої форми групи cln (синій) до середньої форми групи pol (чорний). Масштаб деформацій збільшено у 20 разів.

реальну «зубчастість» чи біологічно різку зміну форми; часто це лише підсилене відображення дуже малих локальних відмінностей між середніми конфігураціями.

3.2 PCA прокрустових координат

Після проведення GPA усі конфігурації ландмарків переводяться у спільний простір форм шляхом усунення ефектів положення, масштабу та обертання. У результаті кожен листок описується набором прокрустово-вирівняних координат маркерів. У вашому випадку форма кожного листка представлена 244 змінними (122 маркери × 2 координати). Такий опис є надмірно багатовимірним і містить значну корельованість між координатами сусідніх маркерів, особливо напівландмарок контуру. Тому для узагальнення основних напрямків варіації форми результати GPA були піддані аналізу головних компонент (PCA).

У geomorph PCA виконується функцією gm.prcomp, яка працює безпосередньо з прокрустово-вирівняними координатами форм. На відміну від класичного PCA, де аналізується звичайна матриця незалежних змінних, gm.prcomp враховує специфіку морфометричних даних після GPA. Зокрема наступні моменти:

- аналіз проводиться у прокрустовому просторі форм;
- координати маркерів є геометрично пов’язаними між собою;

- використовується прокрустова коваріаційна структура;
- компоненти описують саме варіацію форми, а не варіацію окремих незалежних ознак.

У результаті PCA багатовимірний опис форми зводиться до невеликої кількості нових змінних — головних компонент (PC). Кожна головна компонента є лінійною комбінацією координат усіх маркерів і описує окремий незалежний напрямок варіації форми. Таким чином, складна форма листка може бути представлена одним або кількома числовими значеннями (PC scores), які характеризують положення конкретного зразка вздовж основних морфологічних градієнтів.

Перша головна компонента (PC1) пояснювала близько 51% загальної варіації форми, тоді як друга компонента (PC2) — близько 12%. Разом перші дві компоненти описували понад 63% усієї варіації форми листкової пластинки, що свідчить про домінування кількох основних напрямків морфологічної мінливості.

На рис. 3.6 показана діаграма осипу (scree plot). Вона демонструє різке зменшення частки поясненої дисперсії після перших компонент. Найбільший внесок у варіацію форми забезпечувала PC1, тоді як внесок наступних компонент поступово зменшувався. Такий розподіл свідчить, що основна частина морфологічної мінливості листків може бути описана відносно невеликою кількістю головних компонент. Досягнення порогу накопиченої дисперсії 95% потребувало включення лише частини компонент, що підтверджує ефективність PCA для зниження розмірності морфометричних даних без суттєвої втрати інформації.

Для PCA навантаження (loadings) відображають внесок кожної координати маркера у відповідну головну компоненту. Високі абсолютні значення навантажень означають, що саме ці координати найбільше впливають на формування певного морфологічного градієнта. Додатний або від’ємний знак навантаження показує напрямок зміни координати вздовж компоненти, однак сам знак є відносним і залежить від орієнтації осі PCA.

Аналіз навантажень PC1 показав (рис. 3.7), що найбільший внесок у варіацію форми роблять переважно Y-координати напівландмарок, розташованих у проксимальній частині листкової пластинки зліва та справа від центральної осі. Оскільки вирівняні листки були орієнтовані горизонтально, зміни Y-координат

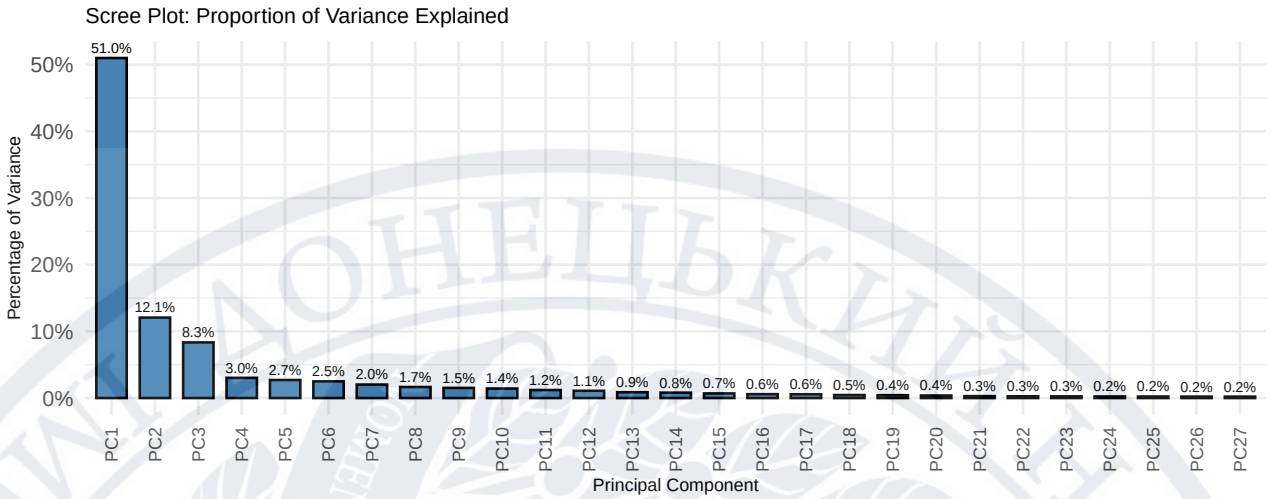

Рис. 3.6. Діаграма осипу для PCA: внесок кожної головної компоненти у загальну дисперсію форми. Показано компоненти до порогу накопиченої дисперсії 95%.

відповідають вертикальному зміщенню контуру листка, тобто змінам його ширини. Значні навантаження також спостерігалися у дистальній частині, хоча їх величина була дещо меншою. Це свідчить, що PC1 переважно описує варіацію співвідношення між шириною проксимальної та дистальної частин листкової пластинки.

Таким чином, PC1 можна інтерпретувати як морфологічний градієнт, пов’язаний зі зміною загальних пропорцій листка: від форм із більш розширеною основою та відносно вузькою верхньою частиною до форм із ширшою дистальною частиною листкової пластинки.

Навантаження PC2 (рис. 3.8) також були пов’язані з координатами маркерів проксимальної та дистальної частин листка, однак їх просторовий розподіл відрізнявся від PC1. Це свідчить, що друга компонента описує інший, незалежний напрямок морфологічної мінливості, пов’язаний із локальними змінами контуру та співвідношенням окремих ділянок листкової пластинки.

Стовпчикові діаграми навантажень дозволили локалізувати ділянки листкової пластинки, які найбільше впливають на основні напрямки варіації форми. Найбільші абсолютні значення навантажень спостерігалися переважно для координат напівландмарок контуру, особливо у проксимальній та дистальній частинах листка. Це вказує, що саме зміни ширини та кривизни контуру цих ділянок визначають основні міжіндивідуальні відмінності форми листків граба.

Порівняння груп в морфопросторі PCA. Після аналізу навантажень го-

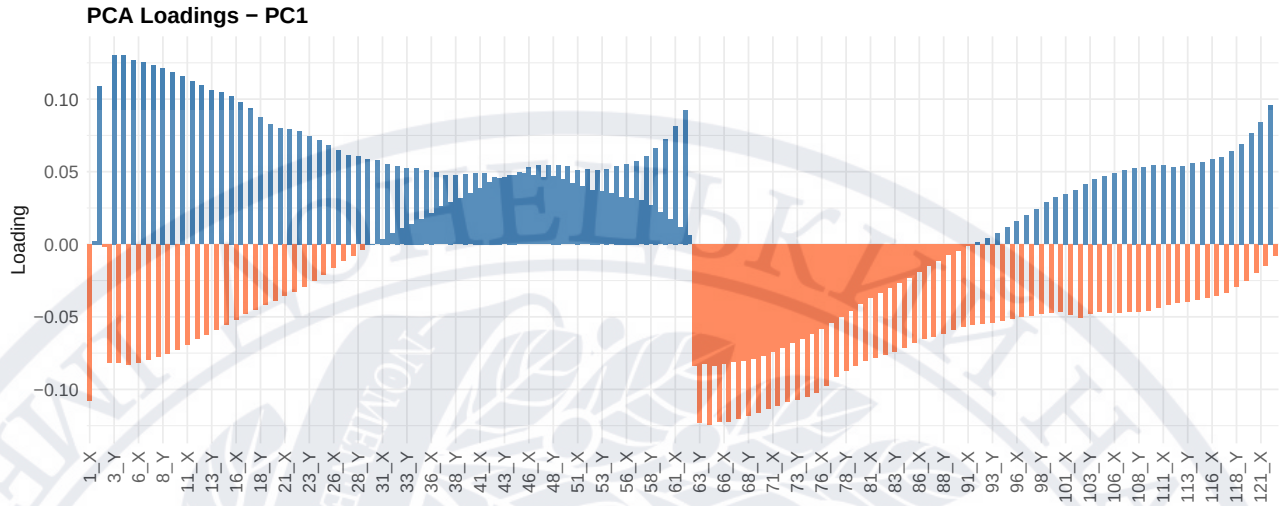

Рис. 3.7. Стовпчикова діаграма навантажень першої головної компоненти (PC1) аналізу головних компонент, проведеного на прокрустово-вирівняних 2D-координатах ландмарків. По осі X – координати (X та Y) кожного ландмарка; по осі Y – значення навантаження. Колір стовпчика вказує на напрямок (синій – додатний, помаранчевий – від'ємний), висота – на величину внеску ознаки у PC1.

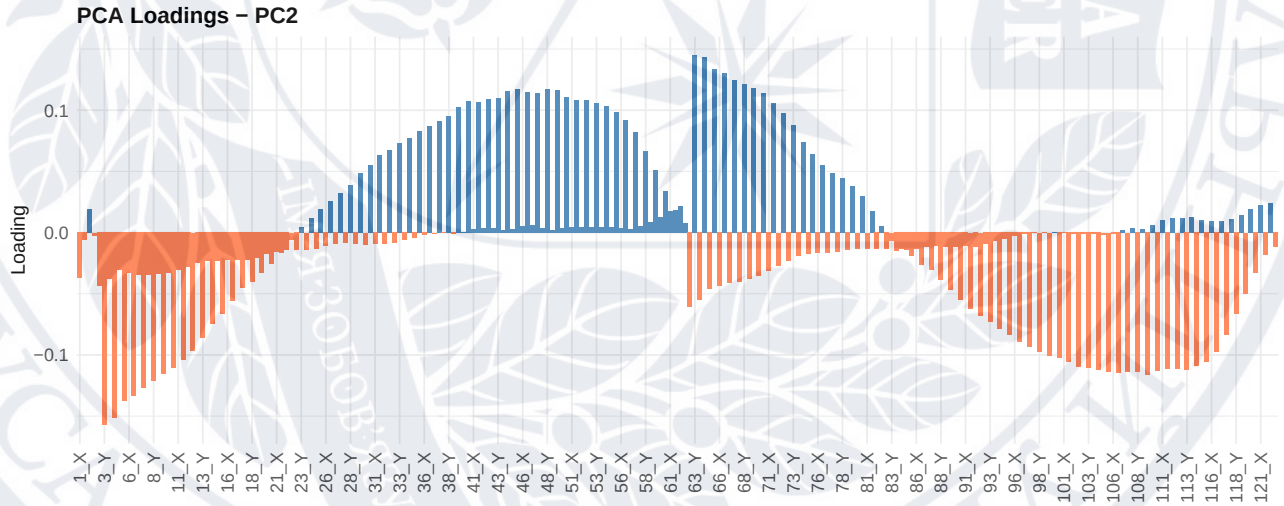

Рис. 3.8. Стовпчикова діаграма навантажень першої головної компоненти (PC2) аналізу головних компонент, проведеного на прокрустово-вирівняних 2D-координатах ландмарків. По осі X – координати (X та Y) кожного ландмарка; по осі Y – значення навантаження. Колір стовпчика вказує на напрямок (синій – додатний, помаранчевий – від'ємний), висота – на величину внеску ознаки у PC2.

ловних компонент доцільним є дослідження розподілу окремих зразків у морфопросторі PCA. Такі графіки дозволяють оцінити ступінь морфологічної подібності або відмінності між групами, структуру внутрішньогрупової варіації та характер перекриття морфопростору.

Діаграма розсіювання PCA є одним із базових інструментів геометричної морфометрії, рис. 3.9. На ній кожен листок представлений окремою точкою, координати якої відповідають значенням головних компонент (PC scores). Таким чином, відстані між точками у морфопросторі відображають ступінь подібності форм: близькі точки відповідають морфологічно подібним листкам, тоді як віддалені — більш відмінним формам.

Накладені 95% еліпси довіри використовуються для узагальненого опису положення та дисперсії груп у просторі PCA, рис. 3.9. Такі еліпси зазвичай будуються на основі коваріаційної матриці координат групи та відображають область, у межах якої очікується знаходження більшості зразків за умови наближено багатовимірного нормального розподілу даних. Вони характеризують: положення центроїда групи; напрямки основної варіації; ступінь внутрішньогрупової мінливості.

Водночас PCA-дані морфометрії не завжди строго відповідають багатовимірній нормальності, особливо для складних біологічних форм. Тому еліпси слід розглядати переважно як описовий інструмент візуалізації структури варіації, а не як строгий статистичний критерій розділення груп.

На відміну від еліпсів довіри, контури ядерної щільності (kernel density estimation, KDE) є непараметричним методом оцінки розподілу даних і не потребують припущення про нормальність, рис. 3.9, 3.10. KDE оцінює локальну щільність розташування точок у морфопросторі шляхом згладжування їх розподілу ядровою функцією. Контури з'єднують області однакової щільності: центральні контури відповідають зонам найбільшої концентрації типових форм; периферійні контури відображають рідкісні або атипові конфігурації.

Такий підхід дозволяє краще виявляти складну структуру розподілу форм, локальні зміщення центрів щільності та неоднорідність морфопростору навіть у випадках, коли групи сильно перекриваються.

Результати PCA показали значне перекриття морфопростору груп cln та pol. 95% еліпси довіри значною мірою накладалися (рис. 3.9), що свідчить про високу подібність загальної структури варіації форми листків у двох середо-

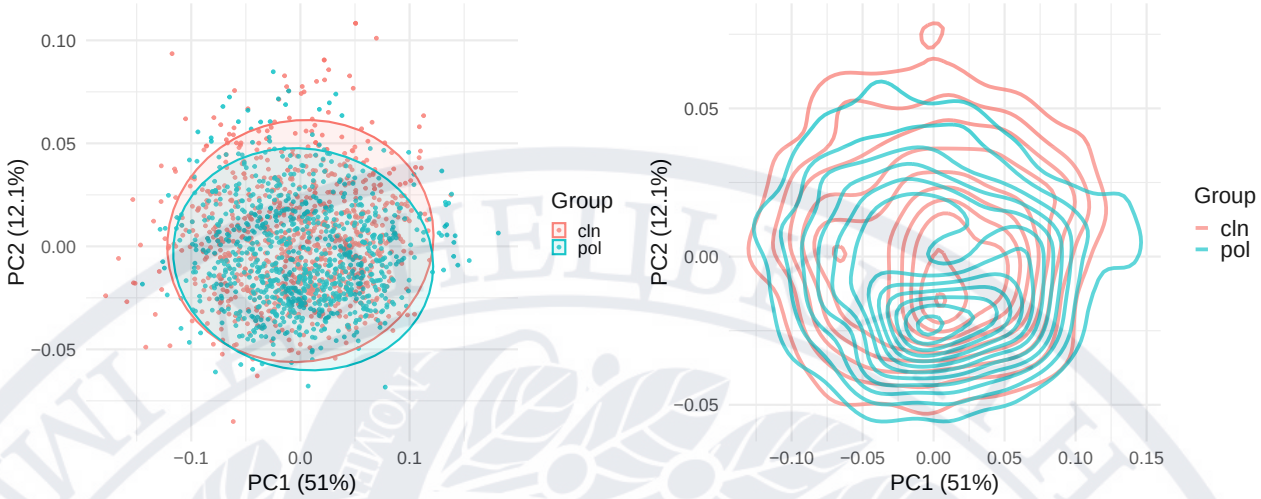

Рис. 3.9. Ліворуч, діаграма розсіювання результатів аналізу головних компонент (PCA) для двох груп форм (cln та pol) з накладеними 95% еліпсами довіри. Відсотки поясненої дисперсії вказано на осях. Праворуч, непараметрична візуалізація зайнятості морфопростору за допомогою контурів ядерної щільності. Кожен контур з'єднує точки з однаковою оцінкою щільності розподілу зразків. Внутрішні контури відповідають ядрам скупчення форм (зона максимальної типовості форми для групи), зовнішні – периферійним областям (рідкісні або атипові форми). Аналіз перекриття контурів між групами дозволяє оцінити ступінь морфологічної дивергенції.

вищах. Водночас спостерігалося певне зміщення центрів еліпсів, що вказує на наявність невеликого, але систематичного морфологічного зсуву між групами, рис. 3.9.

Подібна картина спостерігалася і при аналізі контурів ядерної щільності рис. 3.9. Основні області максимальної щільності розподілу для груп cln та pol розташовувалися близько одна до одної, однак не повністю співпадали. Це свідчить, що найбільш типові форми листків у двох групах дещо відрізняються, незважаючи на значне перекриття загального морфопростору.

Заповнені KDE-контури (рис. 3.10) додатково показали, що морфологічна мінливість у межах кожної групи є значною, а міжгрупові відмінності відносно невеликими порівняно із загальною індивідуальною варіацією форми.

Отже, PCA-візуалізація свідчить, що антропогенне навантаження асоціюється не зі строгим розділенням морфопростору груп, а з незначним зміщенням положення типових форм уздовж основних морфологічних градієнтів. Основна частина варіації форми листків залишається спільною для обох груп і, ймо-

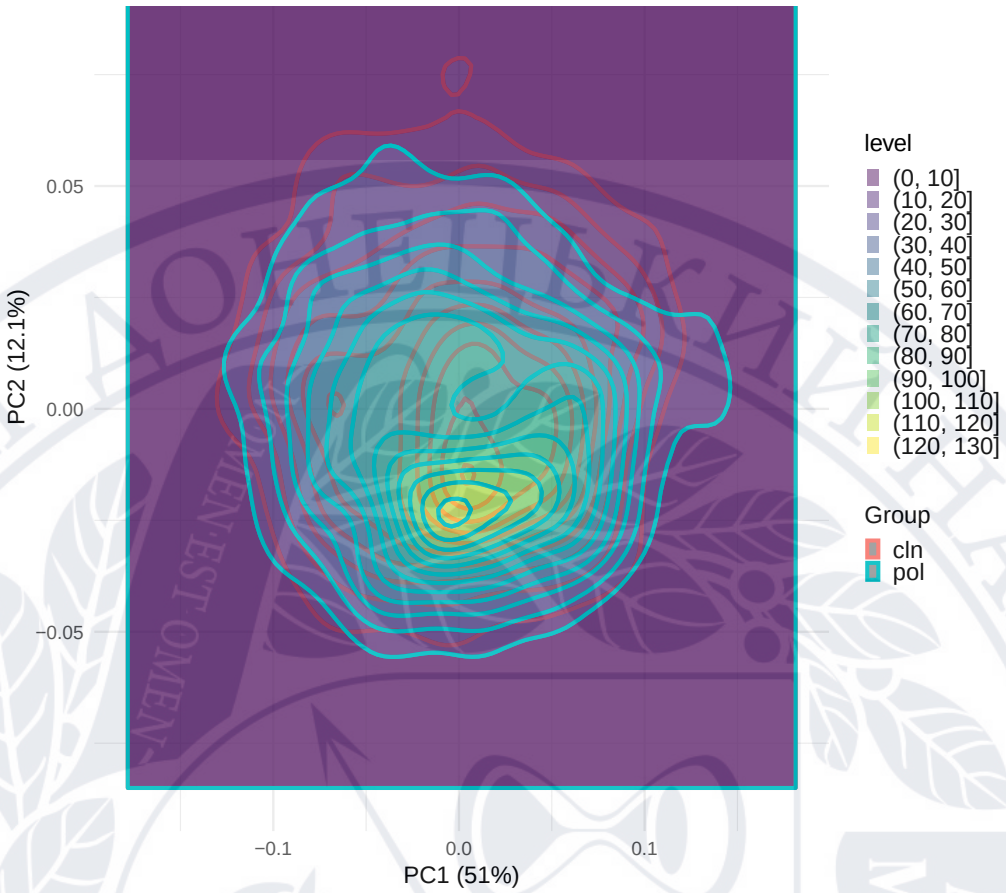

Рис. 3.10. Двовимірна ядерна оцінка щільності розподілу форм груп cln та pol у просторі PCA із заповненими контурами. Колірна гама відображає градієнт щільності: від ядра скупчення (найвища щільність) до периферії (найнижча).

вірно, визначається природною індивідуальною мінливістю та алометричними ефектами.

Однією з переваг PCA у геометричній морфометрії є можливість виконання зворотного перетворення (back-transformation) від координат у просторі головних компонент до конфігурації ландмарків. Оскільки кожна головна компонента є лінійною комбінацією прокрустово-вирівняних координат маркерів, положення будь-якої точки у морфопросторі PCA можна перетворити назад у прогнозовану (predicted) форму.

Таке перетворення дозволяє не лише статистично описати напрямки варіації, а й безпосередньо візуалізувати, як змінюється форма листка при зміщенні вздовж осей PCA. На рис. 3.11, для набору точок, розташованих у вузлах умовної сітки на площині PC1–PC2, були реконструйовані форми. Кожна прогнозована форма відповідає конфігурації ландмарків, очікуваній для заданого поєднання значень PC1 та PC2. Побудова такого графіка має на меті наступне: ін-

терпретувати біологічний зміст головних компонент; встановити, які саме морфологічні зміни відповідають певним напрямкам у морфопросторі; пов’язати статистичне зміщення груп у PCA з конкретними деформаціями форми.

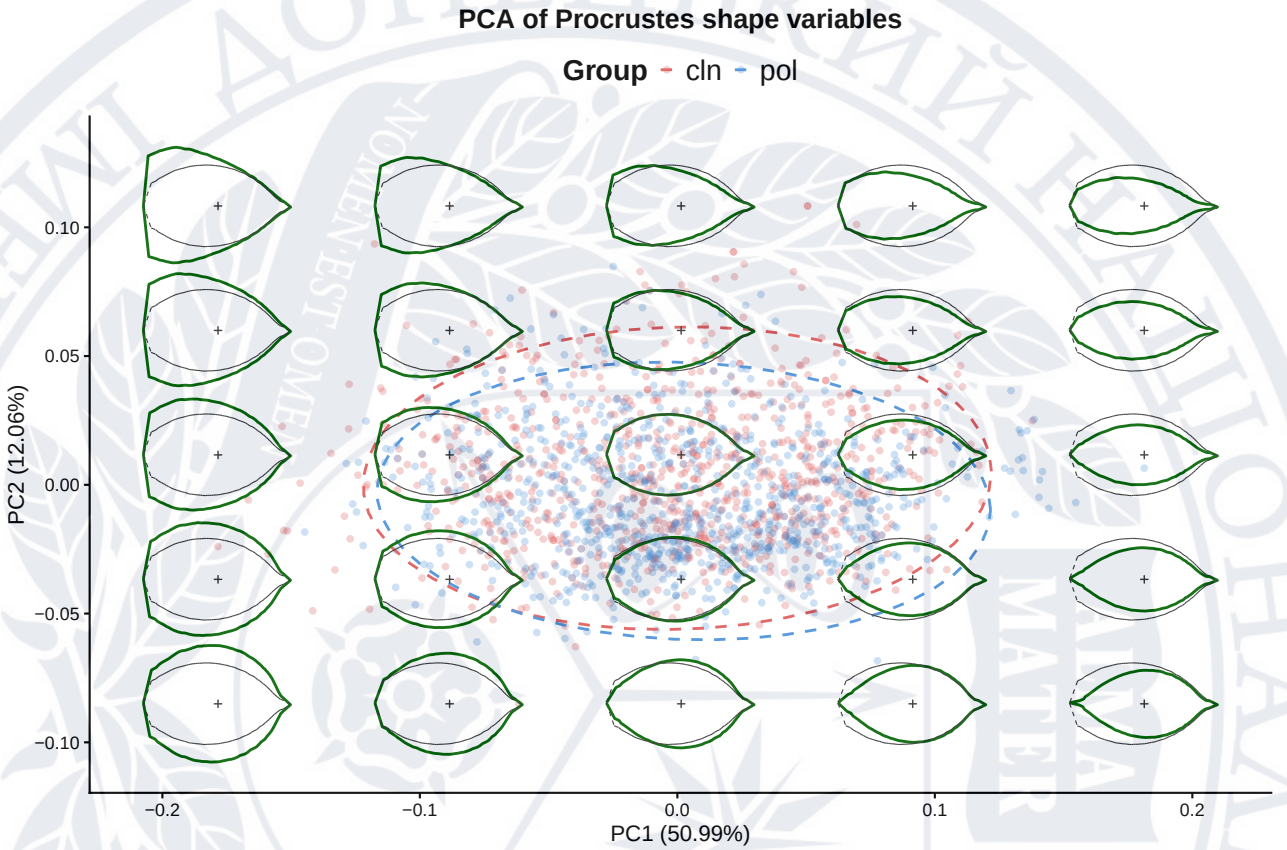

Рис. 3.11. Діаграма розсіювання PCA прокрустово-вирівняних координат форм листків груп cln та pol з накладеними спрогнозованими формами, реконструйованими для вузлів сітки у просторі PC1–PC2. Чорна крива відповідає консенсусній формі, зелені криві — прогнозованим формам для відповідних координат морфопростору. Еліпси відображають 95% довірчі області груп. Візуалізація демонструє поступову зміну пропорцій листкової пластинки вздовж основних напрямків варіації форми.

На рис. 3.11 консенсусна форма (чорна крива) використовується як еталон для порівняння з спрогнозованими формами (зелені криві), реконструйованими для різних ділянок морфопростору. Аналіз реконструйованих форм показав, що у напрямку зміщення групи pol у просторі PCA (вниз та праворуч) відбувається поступова зміна пропорцій листкової пластинки. Зокрема:

- при зміщенні праворуч уздовж PC1 спостерігається звуження проксимальної частини листка порівняно з консенсусом;
- при зміщенні вниз уздовж PC2 відбувається розширення дистальної частини листкової пластинки.

Таким чином, морфологічний зсув групи pol у морфопросторі відповідає переходу до форм із відносно вузькою основою та більш розширеною верхньою частиною листка. Це добре узгоджується з результатами векторної візуалізації деформацій та аналізу навантажень головних компонент.

Попри значне перекриття груп у PCA, реконструкція прогнозованих форм показує, що навіть невелике статистичне зміщення центрів розподілу супроводжується систематичними змінами загальних пропорцій листкової пластинки. Отже, графік дозволяє інтерпретувати морфопростір не лише як абстрактний статистичний простір, а як безперервний градієнт реальних морфологічних трансформацій.

Алометрія. Для оцінки впливу розміру на форму листя у межах досліджуваної групи було проведено регресійний аналіз. Наявність значної алометрії може суттєво ускладнювати інтерпретацію формових відмінностей між групами, оскільки частина варіації форми буде пов’язана не з екологічними факторами, а зі зміною розміру. Перевірка алометрії є важливою розвідкою даних перед основним порівняльним геометрично-морфометричним аналізом. У геометричній морфометрії GPA усуває із даних ізометричний компонент розміру, однак це не означає повного зникнення алометричних ефектів. Якщо зі зміною розміру систематично змінюються пропорції структури, то така залежність зберігається у прокрустово-вирівняних координатах і може бути виявлена через PCA або безпосередню регресію форми на центроїдний розмір.

Оскільки PC1 пояснювала близько 51% усієї варіації форми, регресія PC1 log(CS) використовувалася як спрощений підхід для первинної оцінки того, чи пов’язаний головний напрямок морфологічної мінливості зі зміною розміру листка. Аналіз виконувався у середовищі R за допомогою функції lm(). Залежною змінною виступала перша головна компонента (PC1), отримана в результаті аналізу головних компонент для прокрустових координат цієї групи. Незалежною змінною був центроїдний розмір (CS) — міра розміру об'єкта до процедури генералізованого прокрустового аналізу (GPA). Статистична гіпотеза полягала в тому, що коефіцієнт регресії (β) для CS дорівнює нулю, тобто розмір

Таблиця 3.1 - Результати лінійної регресії між першою головною компонентою форми (PC1) та логарифмом центроїдного розміру (logCS) для груп cln та pol.

	cln	pol
(Intercept)	8.919	9.261
	s.e. = 0.141	s.e. = 0.165
	p = <0.001	p = <0.001
logCS	−1.179	−1.224
	s.e. = 0.019	s.e. = 0.022
	p = <0.001	p = <0.001
Num.Obs.	902	902
R2	0.817	0.779
R2 Adj.	0.817	0.778
AIC	−4186.1	−4052.7
BIC	−4171.7	−4038.3
Log.Lik.	2096.056	2029.358
RMSE	0.02	0.03

не впливає на форму. Результати регресійного аналізу наведено в табл. 3.1 та на рис. 3.12.

Результати регресійного аналізу показали статистично значущий зв'язок між PC1 та логарифмом центроїдного розміру в обох групах ($p < 0.001$), табл. 3.1. Від'ємні коефіцієнти нахилу регресії свідчать, що зі збільшенням розміру листка значення PC1 зменшується. Високі значення коефіцієнта детермінації ($R^2 = 0.817$ для cln та $R^2 = 0.779$ для pol) вказують, що значна частина варіації PC1 пояснюється зміною розміру листка.

Коефіцієнти регресії для обох груп були дуже подібними (-1.179 та -1.224), а графіки залежностей практично накладалися один на одного. Це свідчить, що алометричний тренд у групах cln та pol має подібний напрямок і величину. Отже, вплив розміру на форму листкової пластинки є значно сильнішим за міжгрупові відмінності, пов'язані із середовищем.

На діаграмі розсіювання рис. 3.12 спостерігається чітка лінійна тенденція: зі збільшенням log(CS) значення PC1 поступово зменшуються. Відсутність помітного розходження між лініями регресії груп свідчить про подібність аломе-

тричних траєкторій у чистому та забрудненому середовищах.

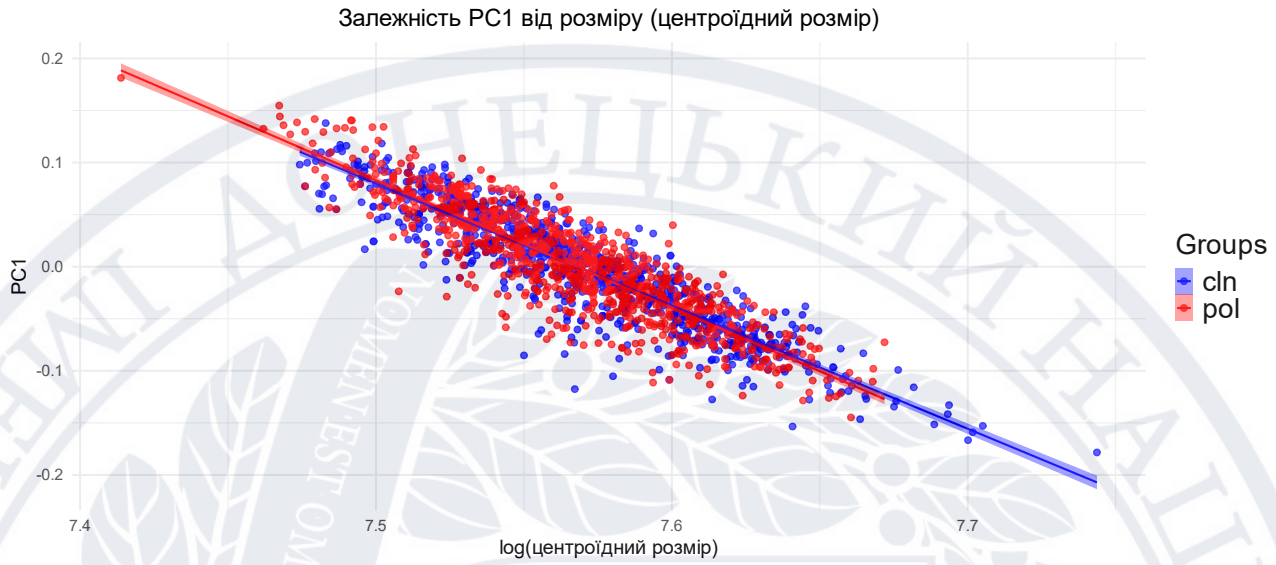

Рис. 3.12. Залежність першої головної компоненти (PC1) від логарифму центроїдного розміру (logCS) у групах cln (чисте середовище) та pol (забруднене середовище). Точки — окремі екземпляри, суцільні лінії — лінії лінійної регресії, затінена область — 95% довірчий інтервал.

Реконструкція прогнозованих форм уздовж регресійної лінії рис. 3.13 дозволила інтерпретувати біологічний зміст цього алометричного градієнта. При зменшенні значень PC1, що відповідає збільшенню розміру листка, форма листкової пластинки поступово розширюється у латеральному напрямку. Найбільш виражені зміни спостерігалися у проксимальній, центральній та дистальній частинах контуру. Водночас положення апекса та базальної точки залишалося майже незмінним, що свідчить про переважання змін ширини листка над змінами його довжини.

Для малих значень центроїдного розміру прогнозовані форми були відносно вужчими за консенсусну форму, тоді як для великих значень — більш розширеними. Таким чином, збільшення розміру листка супроводжується непропорційним збільшенням ширини листкової пластинки, що є проявом алометричної зміни форми.

Є два різні підходи реконструкції форми. У випадку PCA-візуалізації морфопростору: ви задаєте конкретні координати у просторі PCA (наприклад, PC1 = 2, PC2 = -1); усі інші компоненти фіксуються (зазвичай на 0); після цього виконується зворотне PCA-перетворення; отримана форма є реконструкцією для

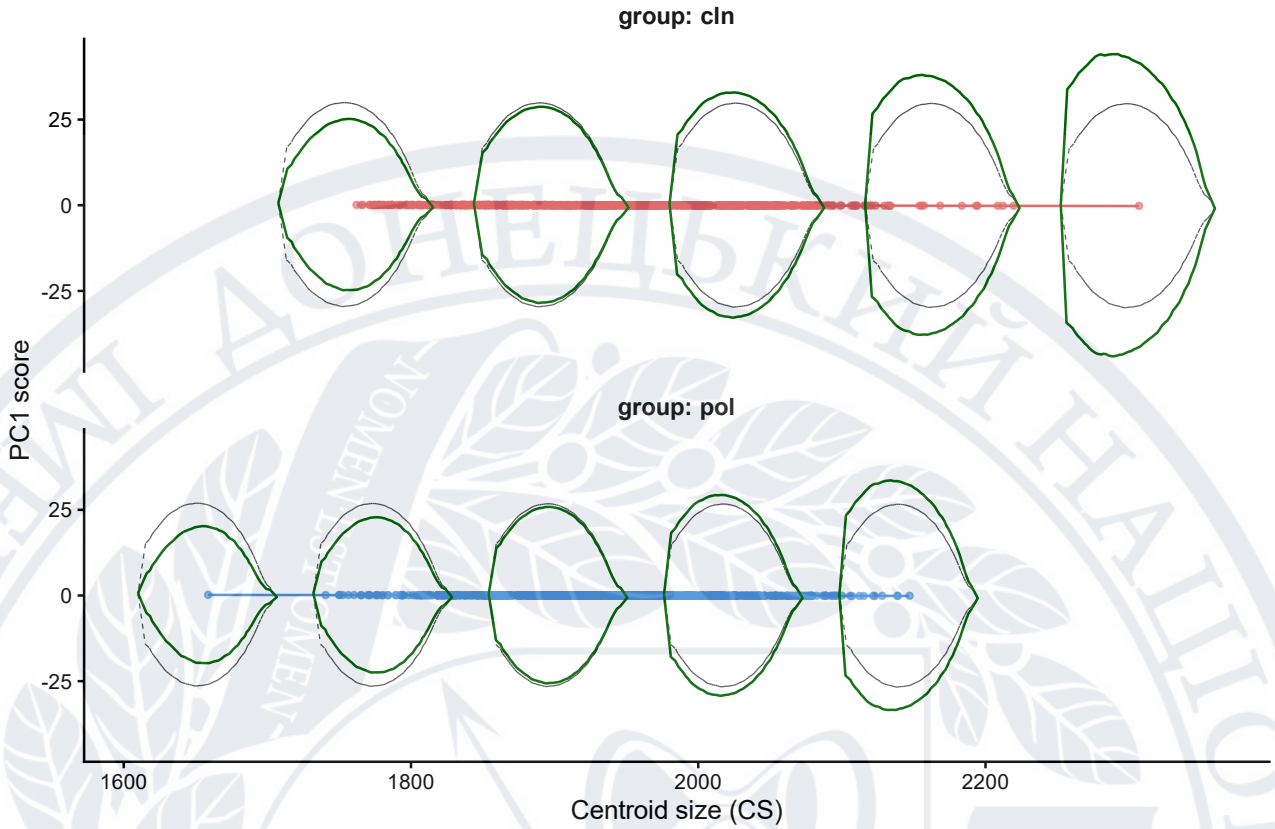

Рис. 3.13. Алометрична варіація форми вздовж PC1 як функція розміру центроїда, показана окремо для кожної групи. Точки позначають окремі екземпляри. Лінія регресії та затінена смуга відображають апроксимацію за методом найменших квадратів ± 95% довірчий інтервал. Схематичні зображення, накладені вздовж лінії регресії, ілюструють прогнозовану форму (суцільна зелена лінія) та загальну консенсусну форму (пунктирна сіра лінія) для 5 рівномірно розподілених значень розміру центроїда, що охоплюють спостережуваний діапазон кожної групи. Прогнозовані форми були оцінені за допомогою функції shape.predictor(), застосованої до координат, вирівняних за методом Прокруста, з PC1 як єдиним лінійним предиктором.

заданої точки морфопростору. Тобто ви безпосередньо керуєте положенням у PCA-просторі. Для візуалізації алометричної компоненти форми на рис. 3.13 ми використовували функцію shape.predictor() пакету geomorph, застосовуючи лише першу головну компоненту (PC1) як єдиний лінійний предиктор. Тут PCA взагалі не є джерелом реконструкції. Функція будує багатовимірну лінійну регресію: shape coordinates ~ PC1. тобто:

- залежною змінною є всі прокрустово-вирівняні координати форми одночасно;

- PC1 використовується як числовий предиктор;
- модель оцінює, як змінюється кожна координата маркера при зміні PC1;
- потім для заданого значення PC1 прогнозуються всі координати форми.

Тому predicted shape у цьому випадку — це не просто «форма для певної точки PCA», а очікувана форма, передбачена регресійною моделлю для конкретного значення PC1.

Фактично PCA тут використовується як спосіб стисло описати головний морфологічний градієнт одним числом. Оскільки PC1 уже є лінійною комбінацією всіх координат форми, вона містить інформацію про узгоджену зміну великої кількості маркерів. Саме тому форму можна досить добре реконструювати навіть на основі лише однієї компоненти, особливо якщо ця компонента пояснює дуже велику частку дисперсії (у нашому випадку — близько 51%).

Такий підхід дозволяє відновити ту частину варіації форми, яка найкраще пояснюється зміною розміру (оскільки PC1 пояснює найбільшу частку загальної варіації після GPA і сильно корелює з logCS). На відміну від цього, якщо фіксувати PC2 і змінювати PC1, ми отримуємо «чисту» алометричну траєкторію, позбавлену впливу другої компоненти. Використання лише однієї компоненти (PC1) як предиктора дає змогу реконструювати найважливішу алометричну зміну форми вздовж градієнта розміру, ігноруючи менш значущі ортогональні напрямки варіації.

Прокрустова багатовимірна ANOVA. Для оцінки відмінностей між групами було проведено багатовимірний прокрустовий дисперсійний аналіз (Прокрустова MANOVA). Метою Прокрустового багатовимірного дисперсійного аналізу було оцінити внесок алометрії (розміру листка) та фактору середовища у загальну варіацію форми листків після GPA-вирівнювання. На відміну від попереднього аналізу PC1 log(CS), який оцінював зв’язок лише з першою головною компонентою, Procrustes MANOVA аналізує одночасно всю багатовимірну конфігурацію форми, тобто всі прокрустово-вирівняні координати маркерів.

Прокрустова MANOVA, реалізована у функції procD.lm пакета geomorph, є багатовимірним аналогом класичного дисперсійного аналізу для морфометричних даних. У класичній ANOVA аналізується одна залежна змінна, тоді як у Procrustes MANOVA залежною змінною є весь набір координат форми. Метод дозволяє одночасно оцінювати вплив кількох предикторів (у даному випадку — log(size) та groups) на всю конфігурацію форми. Це еквівалент лінійної мо-

Таблиця 3.2 - Результати багатовимірного прокрустового дисперсійного аналізу (Procrustes MANCOVA) алометрично скоригованих змінних форми на логарифм центроїдного розміру для оцінки впливу розміру та групи на форму листків.

	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
log(size)	1	1.154	1.154	0.108	219.882	4.579	0.001
groups	1	0.047	0.047	0.004	8.981	3.102	0.001
Residuals	1801	9.450	0.005	0.887			
Total	1803	10.651					

делі в просторі Прокрустових координат. Таким чином ANOVA оцінює варіацію окремої ознаки тоді як MANOVA оцінює одночасну зміну багатьох взаємопов'язаних ознак; Procrustes MANOVA спеціально адаптована до прокрустовировірівняних координат, які мають геометричні обмеження та високу корельованість.

У цьому методі дисперсія форми оцінюється через прокрустові відстані між конфігураціями, а статистична значущість визначається перестановочними тестами (permutation tests), що не потребують строгого припущення про багатовимірну нормальність даних. У вашому випадку значущість ефектів оцінювалася за допомогою 999 випадкових перестановок залишків моделі.

Результати аналізу (табл. 3.2) показали, що як розмір листка (log(size)), так і фактор середовища (groups) мають статистично значущий вплив на форму листкової пластинки ($p = 0.001$ для обох факторів).

Найбільший внесок у варіацію форми забезпечувала алометрія. Фактор log(size) пояснював близько 10.8% загальної дисперсії форми (Rsq = 0.10832), характеризувався дуже високим значенням F-статистики (F = 219.882) та найбільшим розміром ефекту (Z = 4.5789). Це свідчить про сильний та систематичний зв'язок між розміром листка і його формою.

Вплив середовища (groups) також був статистично значущим, однак значно слабшим. Фактор групи пояснював лише близько 0.44% загальної дисперсії форми (Rsq = 0.00442), хоча ефект залишався достовірним (F = 8.981, $p = 0.001$). Це означає, що листки з чистого та забрудненого середовища мають певні систематичні відмінності форми, однак їх величина є невеликою порівняно із загальною індивідуальною мінливістю та алометричними змінами.

Близько 88.7% дисперсії залишалося у залишковій варіації (Residuals), що свідчить про значний рівень індивідуальної морфологічної мінливості, не поясненій дослідженими факторами.

Отримані результати добре узгоджуються з попередніми PCA-візуалізаціями. Значне перекриття морфопростору груп та невелике зміщення центрів розподілу відповідають дуже малому внеску фактору середовища у загальну варіацію форми. Водночас сильний алометричний ефект підтверджує, що зміни форми листків значною мірою пов’язані зі зміною їх розміру.

3.3 Аналіз форми без впливу розміру

Оскільки попередні етапи аналізу показали наявність сильного алометричного сигналу (табл. 3.2), подальший аналіз був спрямований на дослідження варіації «чистої» форми, тобто морфологічних відмінностей, не пов’язаних зі зміною розміру листка. Необхідність такого підходу зумовлена тим, що алометрія може маскувати або частково перекривати більш слабкі морфологічні сигнали, пов’язані з впливом середовища. Тому видалення алометричного компонента дозволяє оцінити, чи зберігаються міжгрупові відмінності форми після усунення ефекту розміру.

Для цього було побудовано модель регресії форми на логарифм центроїдного розміру (shape log(size)) за допомогою функції procD.lm() пакета geomorph. Після цього були отримані залишки моделі (residuals), які представляють варіацію форми, не пояснену алометрією. Оскільки залишки є відхиленнями від регресійної поверхні, до них було додано консенсусну конфігурацію, що дозволило реконструювати нові прокрустово-вирівняні координати форм без алометричного сигналу. Саме ці residual Procrustes coordinates були використані для повторного PCA та подальших морфометричних аналізів.

Важливо, що алометрія видалялась не з PCA-компонент безпосередньо, а з вихідних координат форми до проведення PCA. Це принципово важливо, оскільки PCA є лише методом опису структури варіації, тоді як алометричний сигнал міститься у самих координатах форми. Тому після видалення регресійного ефекту log(size) новий PCA вже описує лише залишкову, тобто size-free, варіацію форми.

Регресійний аналіз між PC1 та logCS після видалення алометричного сигналу (рис. 3.14, табл. 3.3) показав різке зменшення сили зв’язку між формою та розміром. Коефіцієнти регресії стали близькими до нуля (-0.031 для cln та

0.030 для pol), а коефіцієнти детермінації знизилися до дуже малих значень (R^2 = 0.014 та 0.020). Хоча через велику кількість спостережень залежності залишались статистично значущими ($p < 0.001$), їх біологічний ефект став мінімальним. Візуально лінії регресії на рис. 3.14 мали майже горизонтальний нахил, що підтверджує ефективне усунення алометричного тренду.

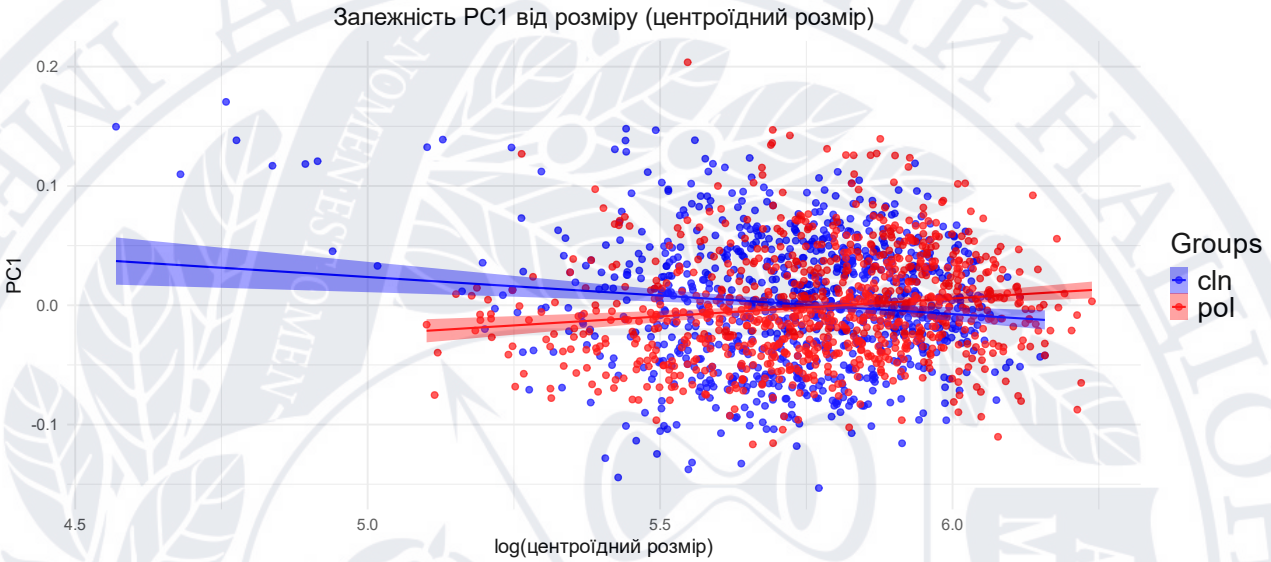

Рис. 3.14. Залежність першої головної компоненти (PC1) від логарифму центроїдного розміру (logCS) у групах cln (чисте середовище) та pol (забруднене середовище). Точки — окремі екземпляри, суцільні лінії — лінії лінійної регресії, затінена область — 95% довірчий інтервал.

PCA residual shape variables (рис. 3.15, рис. 3.16) показав певну зміну структури морфопростору після видалення ефекту розміру. Якщо раніше зміщення групи pol було частково пов’язане з сильним алометричним градієнтом, то після size-correction положення груп стало більш збалансованим відносно головних осей варіації.

На діаграмі розсіювання еліпс групи pol став компактнішим і переважно розташовувався всередині еліпса cln (рис. 3.15), лише частково виходячи за його межі нижнім краєм. Це свідчить, що значна частина попередньо спостережуваного міжгрупового зміщення була пов’язана саме з алометрією. Водночас центри щільності розподілів на KDE-графіках (рис. 3.16) залишилися дещо зміщеними один відносно одного, причому ця відмінність стала візуально чіткішою. Отже, після видалення ефекту розміру між групами зберігається невеликий, але систематичний сигнал відмінностей форми.

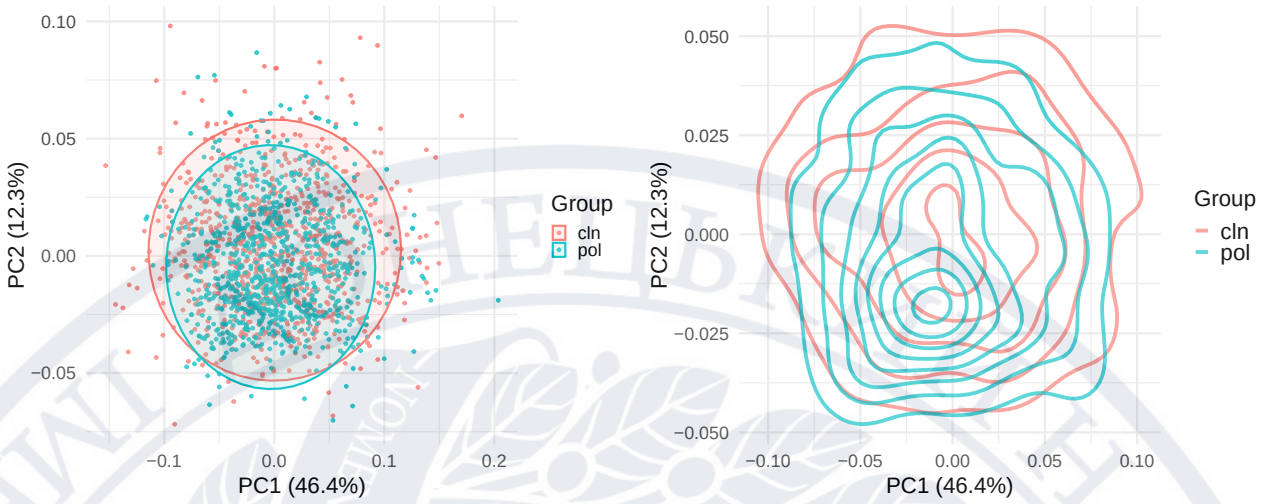

Рис. 3.15. Ліворуч, діаграма розсіювання результатів PCA залишкових координат Прокруста після вилучення алометричного ефекту для двох груп форм (cln та pol) з накладеними 95% еліпсами довіри. Відсотки поясненої дисперсії вказано на осях. Праворуч, непараметрична візуалізація зайнятості морфопростору за допомогою контурів ядерної щільності. Кожен контур з'єднує точки з однаковою оцінкою щільності розподілу зразків. Внутрішні контури відповідають ядрам скупчення форм (зона максимальної типовості форми для групи), зовнішні – периферійним областям (рідкісні або атипові форми). Аналіз перекриття контурів між групами дозволяє оцінити ступінь морфологічної дивергенції.

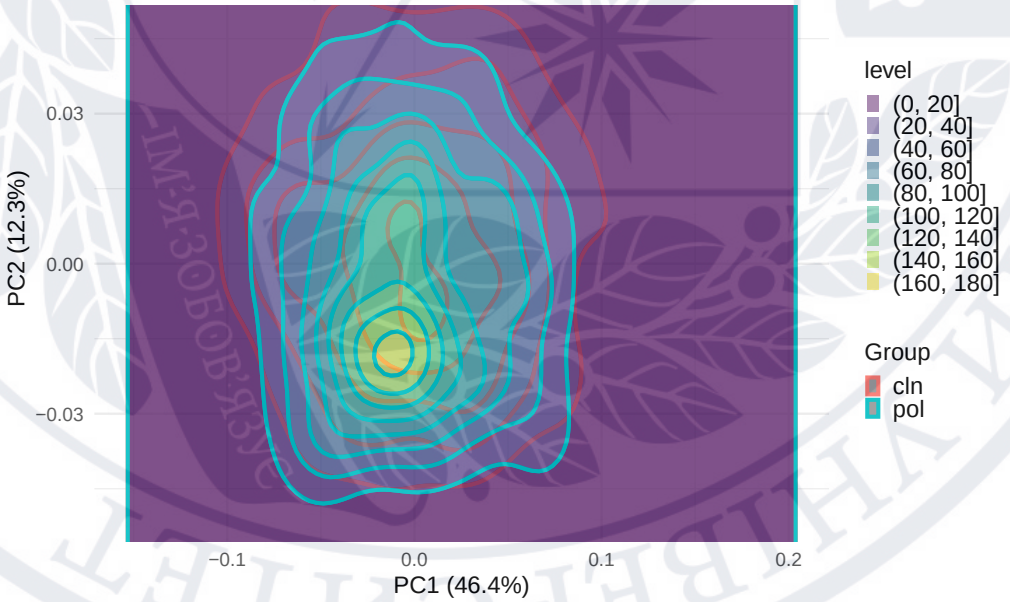

Рис. 3.16. Двовимірна ядерна оцінка щільності розподілу форм груп cln та pol у просторі PCA залишкових координат Прокруста після вилучення алометричного ефекту із заповненими контурами. Колірна гама відображає градієнт щільності: від ядра скупчення (найвища щільність) до периферії (найнижча).

Таблиця 3.3 - Результати лінійної регресії PC1 алометрично скоригованих змінних форми на логарифм центроїдного розміру для груп cln та pol.

	cln	pol
(Intercept)	0.179	−0.175
	s.e. = 0.049	s.e. = 0.040
	p = <0.001	p = <0.001
logCS	−0.031	0.030
	s.e. = 0.009	s.e. = 0.007
	p = <0.001	p = <0.001
Num.Obs.	902	902
R2	0.014	0.020
R2 Adj.	0.013	0.019
AIC	−2735.7	−3038.4
BIC	−2721.2	−3024.0
Log.Lik.	1370.826	1522.183
RMSE	0.05	0.04

Реконструкція predicted shapes у residual PCA-просторі (рис. 3.11) також змінила інтерпретацію основного морфологічного градієнта. До видалення алометрії зміщення групи pol відбувалося переважно у напрямку швидкого звуження проксимальної частини листка при менш вираженому розширенні дистальної. Після усунення size-effect головний напрямок зміни форми став більш симетричним: звуження проксимальної частини супроводжувалося більш збалансованим розширенням дистальної частини листкової пластинки. Це свідчить, що початкова PCA-структура частково відображала алометричну зміну загальних пропорцій листка.

Результати Procrustes MANOVA після видалення алометричного сигналу (табл. 3.4) підтвердили ефективність процедури size-correction. Ефект log(size) повністю зник (Rsq = 0, F = 0, p = 1.000), що свідчить про повне усунення алометричної компоненти з shape variables. Водночас параметри фактору groups практично не змінилися (Rsq = 0.00496, F = 8.981, p = 0.001). Це означає, що міжгрупові відмінності форми не були артефактом алометрії і зберігаються навіть після усунення впливу розміру.

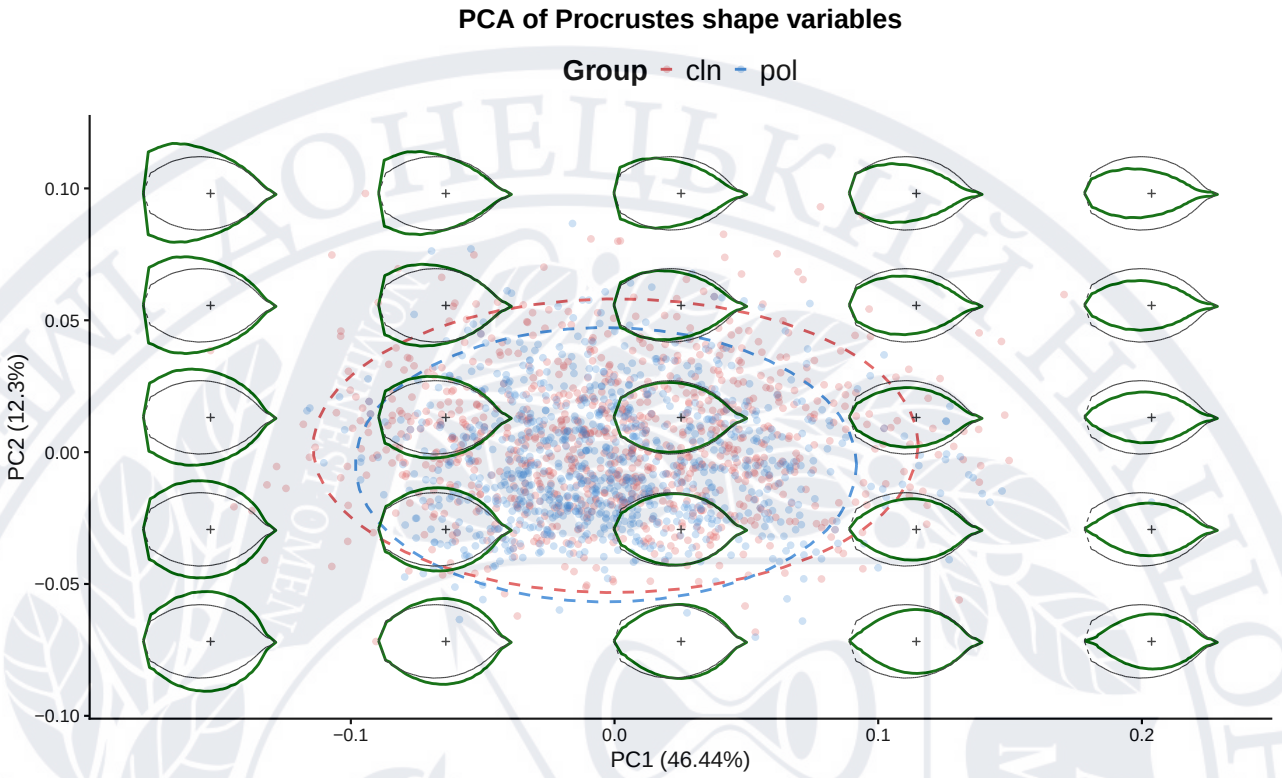

Рис. 3.17. Діаграма розсіювання результатів PCA залишкових координат Прокруста після вилучення алометричного ефекту для форм листків груп cln та pol з накладеними спрогнозованими формами, реконструйованими для вузлів сітки у просторі PC1–PC2. Чорна крива відповідає консенсусній формі, зелені криві — прогнозованим формам для відповідних координат морфопростору. Еліпси відображають 95% довірчі області груп. Візуалізація демонструє поступову зміну пропорцій листкової пластинки вздовж основних напрямків варіації форми.

Таблиця 3.4 - Результати Прокрустового багатовимірного дисперсійного аналізу (Procrustes MANOVA) для оцінки впливу розміру листка (log(size)) та умов середовища (groups) на варіацію форми листкової пластинки.

	Df	SS	MS	Rsq	F	Z	Pr(>F)
log(size)	1	0.000	0.000	0.000	0.000	-28.809	1.000
groups	1	0.047	0.047	0.005	8.981	3.102	0.001
Residuals	1801	9.450	0.005	0.995			
Total	1803	9.498					

Отже, результати size-corrected аналізу показують, що:

- алометрія є одним із головних джерел загальної варіації форми листків;
- значна частина структури PCA до correction відображала саме розмір-залежні зміни пропорцій;
- після видалення алометрії між групами cln та pol все одно зберігається невеликий, але статистично значущий морфологічний сигнал;
- вплив середовища на форму листків є слабким, однак не зводиться лише до непрямих ефектів через зміну розміру листка

.

ВИСНОВКИ

1. Сформовано морфометричну вибірку листків *Carpinus betulus* L., що включала близько 2000 цифрових зображень із двох типів середовищ — умовно чистого (cln) та забрудненого транспортними викидами (pol). Для кожного зображення автоматично отримано контур листкової пластинки та сегментовано скелетон центральної жилки із використанням методів комп'ютерного зору та нейромережевої сегментації.
2. Розроблено систему геометричного опису форми листка, що включала 122 маркери: дві фіксовані ландмарки (апекс та основа листка) і 120 напівландмарків, рівномірно розташованих уздовж контуру листкової пластинки. Положення ключових ландмарок успішно визначалося автоматично на основі аналізу контуру та центральної жилки листка.
3. Проведений генералізований прокрустів аналіз (GPA) забезпечив коректне вирівнювання конфігурацій за положенням, масштабом та орієнтацією, що дозволило аналізувати саме варіацію форми листків. Векторна візуалізація деформацій показала, що перехід від середньої форми групи cln до групи pol супроводжується відносним розширенням дистальної частини листка та звуженням його проксимальної області.
4. Аналіз головних компонент (PCA) показав, що перші дві компоненти описують основну частину морфологічної мінливості листків: PC1 пояснювала близько 51
5. Реконструкція форм уздовж головних компонент та аналіз деформацій показали, що морфологічний зсув групи pol відповідає переходу до форм із відносно вужчою базальною частиною та більш розширеною верхньою частиною листкової пластинки. Отримані результати узгоджуються з даними векторної візуалізації деформацій.
6. Встановлено наявність статистично значущої алометричної залежності між розміром і формою листків. Результати регресійного аналізу та Procrustes MANOVA показали, що логарифм центроїдного розміру є одним із головних факторів варіації форми та пояснює близько 10.8
7. Після видалення алометричного компоненту варіації сила зв'язку між формою та розміром різко зменшилася, а ефект логарифму розміра у Procrustes MANOVA повністю зник. Це підтвердило ефективність засто-

сованої процедури коррекції на розмір та коректність виділення неалометричної компоненти форми.

8. Статистичний аналіз після усунення алометрії показав, що між групами cln та pol зберігається невеликий, але статистично значущий морфологічний сигнал. Фактор середовища пояснював близько 0.5

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ЛІТЕРАТУРИ

1. S. A. Abbasi та ін. ``Approaches to greenbelt design". В: *Journal of the Institution of Public Health Engineers* 3 (2004), с. 42—49.

2. D. C. Adams та E. Otárola-Castillo. ``geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data". В: *Methods in Ecology and Evolution* 4 (2013), с. 393—399. DOI: 10.1111/2041-210X.12035.

3. Dean Adams, Michael Collyer та Antigoni Kaliontzopoulou. *geomorph: Geometric Morphometric Analyses of 2D and 3D Landmark Data*. R package version 4.x. 2025. URL: https://cran.r-project.org/package=geomorph.

4. Nataša Barišić Klisarić та ін. ``Radial and bilateral fluctuating asymmetry of Iris pumila flowers as indicators of environmental stress". В: *Symmetry* 11.6 (2019), с. 818.

5. S Benitez-Vieyra, AM Medina та Andrea Aristides Cocucci. ``Variable selection patterns on the labellum shape of Geoblasta pennicillata, a sexually deceptive orchid". В: *Journal of Evolutionary Biology* 22.11 (2009), с. 2354—2362.

6. Gonzalo Bilbao, Anne Bruneau та Simon Joly. ``Judge it by its shape: a pollinator-blind approach reveals convergence in petal shape and infers pollination modes in the genus Erythrina". В: *American Journal of Botany* 108.9 (2021), с. 1716—1730.

7. F.L. Bookstein. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press, 1997. ISBN: 9780521383851.

8. Fred L Bookstein. ``Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape". В: *Medical image analysis* 1.3 (1997), с. 225—243.

9. Fred L Bookstein. ``Shape and the information in medical images: A decade of the morphometric synthesis". В: *Computer vision and image understanding* 66.2 (1997), с. 97—118.

10. Sanja Budečević та ін. ``Phenotypic Selection on Flower Traits in Food-Deceptive Plant Iris pumila L.: The Role of Pollinators". В: *Symmetry* 15.6 (2023), с. 1149.

11. Moshun Chen, Zexin Jin та Shisheng Ke. ``Measurement and analysis of leaf shape variation of Carpinus tientaiensis in different light environment". В: *Sci. Silvae Sin* 54 (2018), с. 54—63.

12. Maria D Christodoulou, Jonathan Y Clark та Alastair Culham. ``The Cinderella discipline: morphometrics and their use in botanical classification". В: *Botanical Journal of the Linnean Society* 194.4 (2020), с. 385—396.

13. K. S. Chukwuka та U. N. Uka. ``Effects of Air Pollution on Physiological and Morphology Characteristics of Manihot esculenta Crantz". В: *Pollution Research* 33.4 (2014), с. 13—18.

14. Julie Faure, Valentine Volz та Simon Joly. ``Variation in flower size and shape of Impatiens capensis is correlated with urbanization in Montreal, Canada". В: *Ecology and Evolution* 13.12 (2023), e10826.

15. Julie Faure та ін. ``The level of pollination specialization affects the relationship between the shape of flowers and the bills of their hummingbird pollinators in Antillean Gesneriaceae". В: *International journal of plant sciences* 183.3 (2022), с. 193—204.

16. Bruno Frederich, Dominique Adriaens та Pierre Vandewalle. ``Ontogenetic shape changes in Pomacentridae (Teleostei, Perciformes) and their relationships with feeding strategies: a geometric morphometric approach". В: *Biological Journal of the Linnean Society* 95.1 (2008), с. 92—105.

17. Timothy J Gallaher та ін. ``Leaf shape and size track habitat transitions across forest--grassland boundaries in the grass family (Poaceae)". В: *Evolution* 73.5 (2019), с. 927—946.

18. Macarena García та ін. ``Is variation in flower shape and length among native and non-native populations of Nicotiana glauca a product of pollinator-mediated selection?" В: *Evolutionary Ecology* 34.6 (2020), с. 893—913.

19. Kelsey L Glennon та Glynis V Cron. ``Climate and leaf shape relationships in four Helichrysum species from the Eastern Mountain Region of South Africa". В: *Evolutionary ecology* 29.5 (2015), с. 657—678.

20. José M Gómez та ін. ``The role of pollinators in the evolution of corolla shape variation, disparity and integration in a highly diversified plant family with a conserved floral bauplan". В: *Annals of Botany* 117.5 (2016), с. 889—904.

21. José María Gómez, Francisco Perfectti та Christian Peter Klingenberg. ``The role of pollinator diversity in the evolution of corolla-shape integration in a pollination-generalist plant clade". В: *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369.1649 (2014).

22. Paula N Gonzalez, Benedikt Hallgrímsson та Evelia E Oyhenart. ``Developmental plasticity in covariance structure of the skull: effects of prenatal stress". В: *Journal of Anatomy* 218.2 (2011), с. 243—257.

23. John C Gower. ``Generalized procrustes analysis". В: *Psychometrika* 40.1 (1975), с. 33—51.

24. Fitsum Hailu та ін. ``Investigating Shape Variation Using Generalized Procrustes Analysis and Machine Learning". В: *Applied Sciences* 12.6 (2022), с. 3158. DOI: 10.3390/app12063158.

25. Xinyu Hou та ін. ``Geographical variation of Artemisia leaf morphology along a large environmental gradient in China". В: *Plant Ecology* 224.7 (2023), с. 659—667.

26. Lan-Jie Huang та Yan-Cheng Liu. ``Understanding diversity in leaf shape of Chinese Sagittaria (Alismataceae) by geometric tools". В: *Pak. J. Bot* 46.6 (2014), с. 1927—1934.

27. Yanina L Idaszkin, María de la Paz Pollicelli та Federico Márquez. ``Assessment of halophyte plant phenotypic responses under heavy metals pollution. Implications for monitoring and phytoremediation". В: *Environmental Pollution* 331 (2023), с. 121916.

28. Yanina L Idaszkin та ін. ``Multidimensional approach to evaluate Limonium brasiliense as source of early biomarkers for lead pollution monitoring under different saline conditions". В: *Ecological indicators* 104 (2019), с. 567—575.

29. Marija Jovanović та ін. ``The Effects of Soil Type, Exposure and Elevation on Leaf Size and Shape in Quercus cerris L." В: *South-east European forestry: SEEFOR* 14.1 (2023), с. 27—36.

30. Christian Peter Klingenberg та Grant S McIntyre. ``Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods". В: *Evolution* 52.5 (1998), с. 1363—1375.

31. A Michelle Lawing та P David Polly. ``Geometric morphometrics: recent applications to the study of evolution and development". В: *Journal of Zoology* 280.1 (2010), с. 1—7.

32. Christian Lexer та ін. ``The use of digital image-based morphometrics to study the phenotypic mosaic in taxa with porous genomes". В: *Taxon* 58.2 (2009), с. 349—364.

33. Yuejuan Li та ін. ``Genetic, geographic, and climatic factors jointly shape leaf morphology of an alpine oak, Quercus aquifolioides Rehder & EH Wilson". В: *Annals of Forest Science* 78.3 (2021), с. 64.

34. GP Lohmann. ``Eigenshape analysis of microfossils: a general morphometric procedure for describing changes in shape". В: *Journal of the International Association for Mathematical Geology* 15.6 (1983), с. 659—672.

35. Norman MacLeod. ``Generalizing and extending the eigenshape method of shape space visualization and analysis". В: *Paleobiology* 25.1 (1999), с. 107—138.

36. David Mage та ін. ``Urban air pollution in megacities of the world". В: *Atmospheric Environment* 30.5 (1996), с. 681—686.

37. Carlos A Manacorda та Sebastian Asurmendi. ``Arabidopsis phenotyping through geometric morphometrics". В: *GigaScience* 7.7 (2018), giy073.

38. Leslie F Marcus. ``Traditional morphometrics". В: *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop*. Т. 2. 1990, с. 77—122.

39. Daniel Vieira de Morais та ін. ``Leaf geometric morphometrics among populations of Dalbergia ecastaphyllum (L.) Taub". В: *Biosci. j.(Online)* (2019), с. 1789—1798.

40. Jiří Neustupa. ``Asymmetry and integration of cellular morphology in Micrasterias compereana". В: *BMC Evolutionary Biology* 17.1 (2017), с. 1.

41. JC O'hanlon, GI Holwell та ME Herberstein. ``Predatory pollinator deception: Does the orchid mantis resemble a model species?" В: *Current Zoology* 60.1 (2014), с. 90—103.

42. D. G. Ogunrotimi та ін. ``Urban air pollution control: selection of trees for ecological monitoring using anticipated performance indices in a medium-size urban area in Southwest Nigeria". В: *Environmental Reviews* 18.1 (2017), с. 40—57. DOI: 10.1504/IER.2017.084193.

43. Kevin J Parsons, Beren W Robinson та Tomas Hrbek. ``Getting into shape: an empirical comparison of traditional truss-based morphometric methods with a newer geometric method applied to New World cichlids". В: *Environmental Biology of Fishes* 67.4 (2003), с. 417—431.

44. PA Parsons. ``Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress". В: *Heredity* 68.4 (1992), с. 361—364.

45. Maria de la Paz Pollicelli та ін. ``Leaf shape variation as a potential biomarker of soil pollution". В: *Ecotoxicology and Environmental Safety* 164 (2018), с. 69—74.

46. Ilham Rahmouni та ін. ``Phenotypic plasticity of leaf shape in selected and semi-domesticated genotypes as new tool of Argania spinosa L. Skeels breeding". В: *Acta Fytotech. Zootech* 23 (2020), с. 125—138.

47. F James Rohlf. ``Morphometrics". В: *Annual Review of ecology and Systematics* (1990), с. 299—316.

48. F James Rohlf та Leslie F Marcus. ``A revolution morphometrics". В: *Trends in ecology & evolution* 8.4 (1993), с. 129—132.

49. F James Rohlf та Dennis Slice. ``Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks". В: *Systematic zoology* 39.1 (1990), с. 40—59.

50. F. James Rohlf та Dennis Slice. ``Extensions of the Procrustes Method for the Optimal Superimposition of Landmarks". В: *Systematic Zoology* 39.1 (1990), с. 40—59.

51. Ulises Rosas та ін. ``Evolution of flower allometry and pigmentation in Mammillaria haageana (Cactaceae)". В: *BMC plant biology* 22.1 (2022), с. 52.

52. A Rubini Pisano та ін. ``Breakdown of species boundaries in Mandevilla: floral morphological intermediacy, novel fragrances and asymmetric pollen flow". В: *Plant Biology* 21.2 (2019), с. 206—215.

53. Lisa Sakamoto та ін. ``Comparison of shape quantification methods for genomic prediction, and genome-wide association study of sorghum seed morphology". В: *PloS one* 14.11 (2019), e0224695.

54. Tobias M Sandner. ``Inbreeding and competition, but not abiotic stresses, increase fluctuating asymmetry of Mimulus guttatus flowers". В: *Biological Journal of the Linnean Society* 130.2 (2020), с. 410—418.

55. Tobias M Sandner, Vitali Zverev та Mikhail V Kozlov. ``Can the use of landmarks improve the suitability of fluctuating asymmetry in plant leaves as an indicator of stress?" В: *Ecological indicators* 97 (2019), с. 457—465.

56. Renáta Schnablová та ін. ``Disentangling phylogenetic and functional components of shape variation among shoot apical meristems of a wide range of herbaceous angiosperms". В: *American Journal of Botany* 107.1 (2020), с. 20—30.

57. Andrew F Siegel та Richard H Benson. ``A robust comparison of biological shapes". В: *Biometrics* (1982), с. 341—350.

58. Dennis E. Slice. ``Geometric Morphometrics". В: *Annual Review of Anthropology* 36 (2007), с. 261—281.

59. Michael Soulé. ``Phenetics of natural populations. II. Asymmetry and evolution in a lizard". В: *The American Naturalist* 101.918 (1967), с. 141—160.

60. Milena Stefanović та ін. ``Exploration of sexual dimorphism of Taxus baccata L. needles in natural populations". В: *Trees* 31.5 (2017), с. 1697—1710.

61. Richard E Strauss та Fred L Bookstein. ``The truss: body form reconstructions in morphometrics". В: *Systematic Biology* 31.2 (1982), с. 113—135.

62. Marina M Strelin та ін. ``The role of ontogenetic allometry and nonallometric flower shape variation in species-level adaptive diversification--Calceolaria polyrhiza (Calceolariaceae) as a case study". В: *Evolution & Development* 23.3 (2021), с. 231—243.

63. Pengfei Su та ін. ``Plant morphology, secondary metabolites and chlorophyll fluorescence of Artemisia argyi under different LED environments". В: *Photosynthesis Research* 159.2 (2024), с. 153—164.

64. Branka Tucić та ін. ``Phenotypic plasticity in response to environmental heterogeneity contributes to fluctuating asymmetry in plants: first empirical evidence". В: *Journal of Evolutionary Biology* 31.2 (2018), с. 197—210.

65. Leigh Van Valen. ``A study of fluctuating asymmetry". В: *Evolution* (1962), с. 125—142.

66. Kristine Vander Mijnsbrugge. ``Morphological dissection of leaf, bud and infructescence traits of the interfertile native A. glutinosa and non-native A. incana in Flanders (northern part of Belgium)". В: *Trees* 29.6 (2015), с. 1661—1672.

67. Kristine Vander Mijnsbrugge, Raphaëlle Le Clercq та Boudewijn Michiels. ``Dissection of leaf morphological traits from isolated and declined relict populations of Ulmus laevis reveals putative random ecotype evolution". В: *Plant Systematics and Evolution* 302.2 (2016), с. 219—229.

68. Daniela Vergara та ін. ``Widely assumed phenotypic associations in Cannabis sativa lack a shared genetic basis". В: *PeerJ* 9 (2021), e10672.

69. Vincenzo Viscosi. ``Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (Quercus)". В: *Botanical Journal of the Linnean Society* 179.2 (2015), с. 335—348.

70. Vincenzo Viscosi та ін. ``Leaf morphological analyses in four European oak species (Quercus) and their hybrids: A comparison of traditional and geometric morphometric methods". В: *Plant Biosystems* 143.3 (2009), с. 564—574.

71. Vincenzo Viscosi та ін. ``Leaf shape and size differentiation in white oaks: assessment of allometric relationships among three sympatric species and their hybrids". В: *International Journal of Plant Sciences* 173.8 (2012), с. 875—884.

72. Vukica Vujić та ін. ``The effects of traffic-related air pollution on the flower morphology of Iris pumila-comparison of a polluted city area and the unpolluted Deliblato Sands (nature reserve)". В: *Appl. Ecol. Environ. Res* 13 (2015), с. 405—415.

73. Vukica Vujić та ін. ``Small-scale variations in leaf shape under anthropogenic disturbance in dioecious forest forb Mercurialis perennis: A geometric morphometric examination". В: *Archives of Biological Sciences* 68.4 (2016), с. 705—713.

74. N. D. Wagh та ін. ``Biological monitoring of roadside plants exposed to vehicular pollution in Jalgaon city". В: *Journal of Environmental Biology* 27.2 (2006), с. 419—421.

75. Kaiyu Yang та ін. ``Intraspecific leaf morphological variation in Quercus dentata Thunb.: a comparison of traditional and geometric morphometric methods, a pilot study". В: *Journal of Forestry Research* 33.6 (2022), с. 1751—1764.

76. Jean L Younker та Robert Ehrlich. ``Fourier biometrics: harmonic amplitudes as multivariate shape descriptors". В: *Systematic Biology* 26.3 (1977), с. 336—342.

77. Miriam Zelditch, Donald Swiderski та H David Sheets. *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. academic press, 2012.

78. Miriam Leah Zelditch, William L Fink та Donald L Swiderski. ``Morphometrics, homology, and phylogenetics: quantified characters as synapomorphies". В: *Systematic Biology* 44.2 (1995), с. 179—189.

79. Yi Zhao та Daniel J Schoen. ``Relaxed selection and the evolution of the chasmogamous flower of Impatiens capensis (Balsaminaceae)". В: *Evolutionary Ecology* 36.2 (2022), с. 233—250.

80. Nenad Zlatić, Sanja Budečević та Milan Stanković. ``Geological substrate effects on Teucrium montanum L.(Lamiaceae) morphological traits: geometric morphometrics approach". В: *Plants* 12.12 (2023), с. 2381.