

УДК 575.21:591:492

**АСИММЕТРИЯ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИНОК
КЛЕНА ОСТРОЛИСТНОГО (ACER PLATANOIDES):
ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ**

¹Баранов С.Г., ²Зыков И.Е., ²Федорова Л.В.

¹ФГБОУ ВПО «Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых»,
Владимир, e-mail: bar.serg58@gmail.com;

²ГОУ ВО «Московский государственный областной гуманитарный институт»,
Орехово-Зуево, e-mail: zikov-oz@yandex.ru, fedorova-oz@yandex.ru

Генотипическая изменчивость листовых пластинок клена остролистного определялась по величине направленной асимметрии и антисимметрии. Величина направленной асимметрии находилась в двухфакторном дисперсионном Прокрустовом анализе по величине среднего квадрата фактора «сторона». Присутствие антисимметрии определялось с помощью парного *t*-теста значений эксцесса распределения разности величин правого и левого билатеральных симметричных признаков. Фенотипическая изменчивость определялась по величине флуктуирующей асимметрии в двухфакторном Прокрустовом анализе. Между величинами индексов флуктуирующей асимметрии и направленной асимметрии, полученных морфogeометрическим методом, установлена корреляционная зависимость (Spearman's $r = 0,78$; $p < 0,000$). Сделан вывод о высокой доле генотипической изменчивости в асимметрии листовых пластинок *Acer platanoides* и высокой зависимости фенотипической изменчивости от свойств генотипа.

Ключевые слова: морфogeометрический анализ, флуктуирующая асимметрия, направленная асимметрия, антисимметрия, клен остролистный

**ACER PLATANOIDES LEAF PLATES ASYMMETRY:
GENOTYPIC AND PHENOTYPIC VARIABILITY**

¹Baranov S.G., ²Zykov I.E., ²Fedorova L.V.

¹Vladimir State University, Vladimir, e-mail: bar.serg58@gmail.com;

²Moscow Region State Institute of Humanities, Orekhovo-Zuevo,
e-mail: zikov-oz@yandex.ru, fedorova-oz@yandex.ru

Genotypic variety has been studied on the value of directional asymmetry and antisymmetry in leaves of *Acer platanoides*. The value of directional asymmetry was calculated in two way Procrustes analyse of variance with finding value of mean square interaction of factors "individual" and "side". Antisymmetry presence was detected with t-test of value kurtosis distribution difference between right and left value bilateral asymmetric traits. Phenotypic variety was detected on the fluctuating asymmetry value in two way Procrustes analyse of variance. The correlation (Spearman's $r = 0,78$; $p < 0,000$) was found between indices value fluctuating asymmetry and directional asymmetry detected in morphogeometric method. The high portion of leaf *Acer platanoides* genotypic variety in asymmetry and dependency phenotypic variety from genotypic properties was concluded.

Keywords: morphogeometric analyse, fluctuating asymmetry, directional asymmetry, antisymmetry, *Acer platanoides*

Клен остролистный – листопадное дерево, широко распространенное в европейской части России, типичный представитель смешанных широколиственных, в том числе и припойменных лесов, урбанизированных и культурных ландшафтов. Это более требовательный к почве и иным условиям факультативный гелиофит по сравнению с липой мелколистной и березой бородавчатой. Несмотря на то, что клен остролистный используется как биоиндикатор реже других древесных пород, морфологическая изменчивость его листовых пластинок становится все более привлекательной для биоиндикационных исследований [2, 8, 11]. В настоящее время для оценки антропогенного стресса часто используется флуктуи-

рующая асимметрия (ФА). ФА – это незначительные ненаправленные отклонения от идеальной симметрии, величина которых может указывать на уровень стабильности развития. Частотная гистограмма величины ФА представляет собой нормальное распределение встречаемости величин разностей между размерами правого и левого признаков ($R - L$). Направленная асимметрия (НА) и антисимметрия (АнС) в целях биоиндикации используются меньше, т.к. они проявляют свойства, определяемые генотипом. Направленная асимметрия имеет нормальное частотное распределение величин ($R - L$), но оно сдвинуто в левую или правую от нуля сторону, т.е. $R \neq L$. Антисимметрия встречается при отклонении от нормального

распределения значений ($R - L$), и ее частотная гистограмма имеет плосковершинную или бимодальную форму. Смесь разных видов асимметрии – обычное явление среди листовых пластинок древесных растений [6]. Помимо нормирующей разности, с использованием величины ($R - L$) существуют другие интегральные методы. Одним из них является метод геометрической морфометрии, при котором наносятся метки по краю всей листовой пластинки, находится их смещение в двухмерном пространстве в зависимости от усредненных положений эталонной фигуры с выровненными координатами выбранных точек [3, 4].

Цель данной работы заключалась в тестировании проявления фено- и генотипических свойств клена остролистного на основе билатеральной асимметрии его листовых пластинок. Задачи работы включали определение реакции асимметричных признаков в ответ на факторы среды, выяснение возможности использования этого вида в качестве биоиндикатора стабильности развития. Для достижения цели проведено определение величины ФА (фенотипический признак), антисимметрии и направленной асимметрии (генотипические признаки) двумя методами: нормирующим (НМ) и морфогеометрическим (МГ), изучено влияние антропогенного стресса и высоты над уровнем моря на изменчивость этих величин.

Материалы и методы исследования

Сбор материала. Нормирующий метод (НМ)

Сбор листовых пластинок клена остролистного проводился в семи регионах Владимирской

области в 2013–2014 гг. Было использовано 25 популяций. В каждой популяции с 10-ти деревьев собиралось по 100 листовых пластинок шириной 6,5–7,5 см с пятью выраженными лопастями. Листья отбирались с края кроны, на высоте 1,5–2 м, на расстоянии 100–300 м от крупных автомагистралей.

Антропогенный стресс оценивался по уровню выбросов токсичных веществ от автотранспорта. По данным администрации области в 2014 г. наибольший объем выбросов отмечен в г. Владимире (34,7 тыс. т), наименьший в Гороховецком районе (1,8 тыс. т) [1]. Измерение билатеральных признаков листовых пластинок проводилось по шести показателям (рисунок) [5]: 1 – расстояние от вершины максимальной лопасти до средней жилки; 2 – расстояние от верхней впадины максимальной лопасти до средней жилки; 3 – длина максимальной лопасти; 4 – расстояние между верхней и нижней впадинами максимальной лопасти; 5 – расстояние от нижней впадины максимальной лопасти до средней жилки; 6 – угол между главной жилкой (центральной) и основной жилкой максимальной лопасти.

Нахождение индекса ФА проводилось по формуле [8]:

$$FA_2 = |R - L| / (R + L),$$

где R и L – величины правого и левого признаков.

Под выборкой подразумевался ряд значений FA_2 по каждому из 6-ти признаков (всего: 25 популяций \times 6 признаков = 150 выборок). Каждая выборка проверялась на наличие направленной асимметрии. При этом ставился t -тест на наличие или отсутствие различия между величинами R и L . Двухвыборочный t -тест с одинаковыми дисперсиями использовался, если тест Фишера показывал отсутствие различия в дисперсиях ($p > 0,05$), что было характерно для 90% выборок. Аналогичный t -тест, но с разными дисперсиями использовался, если тест Фишера показывал различия в дисперсиях между величинами R и L . Присутствие антисимметрии (косвенно) определялось нахождением выборочной величины эксцесса разности ($R - L$).

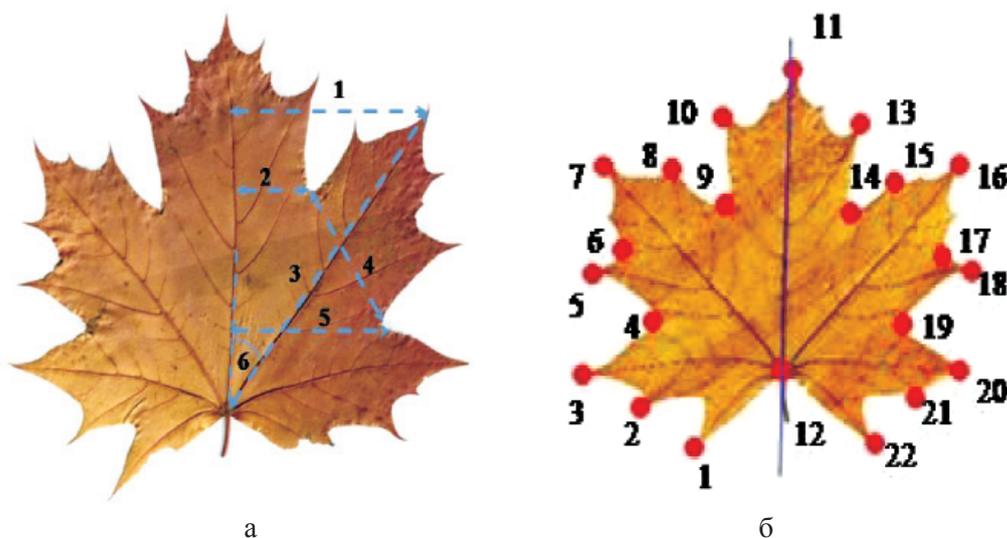


Рис. а – параметры листовой пластинки клена остролистного, использованные для нахождения флуктуирующей асимметрии нормирующим методом (пояснения в тексте); б – парные метки, использованные для морфогеометрического анализа флуктуирующей асимметрии клена остролистного

При определении значимости величин эксцесса использовалась программа FA_Calc.excel, в которую заносились данные описательной статистики, такие как величина признака $(R + L)/2$ и его стандартная ошибка, асимметричность, эксцесс и стандартная ошибка величины $(R - L)$ [7, 8]. Для тестирования значимости эксцесса применялась коррекция Бонферрони на основе распределения Стьюдента. Наиболее значимая величина эксцесса устанавливалась на уровне $\alpha = 0,05$, деленная на количество данных проверяемых значений эксцесса. На этом же уровне значимости (0,05) проверялись все статистические гипотезы. Из шести выборок для нахождения интегрального индекса FA_2 популяции учитывались только выборки, лишённые антисимметрии и направленной асимметрии.

Морфогеометрический метод (МГ)

Листья фотографировались цифровой камерой с мерной линейкой (ГОСТ 427-75) для масштабирования (единица масштаба 1 см соответствовала расстоянию в пикселях между двумя последними метками). Всего наносилось 12 пар точек (меток), из них 11-я и 12-я лежали на оси симметрии – средней жилке (рис. 1). В качестве меток выбирались самые распознаваемые места: окончания жилок, места наибольшей кривизны в межлопастных пазухах. Обработка данных проводилась в пакете программ TPS. Постановка Прокрустова двухфакторного дисперсионного анализа проводилась программой SAGE [9, 10]. Основными этапами тестирования морфогеометрической флуктуирующей асимметрии (MGFA) были:

- а) нанесение меток в двух повторностях, т.е. создание по два TPS файла для каждой листовой пластинки;
- б) подготовка общего файла формата TPS;
- в) подготовка текстовых файлов, содержащих информацию о парных метках и количестве обрабатываемых образцов, т.е. листовых пластинок;
- г) постановка пермутационного теста с размножением массива значений.

Прокрустовых расстояний (1000) для нормализации выборок и избегания примеси антисимметрии. Прокрустов дисперсионный анализ основан на вычислении произведения средних квадратов Прокрустовых расстояний двух факторов «сторона» и «особь». Величина ФА, определяемая морфогеометрическим методом (в сантиметрах), рассчитывалась по формуле [6, 8]:

$$MGFA = 0,798 \sqrt{MS_{is} - MS_{error}}$$

где $MGFA$ – величина морфогеометрического индекса флуктуирующей асимметрии; MS_{is} – средний квадрат взаимодействия факторов «сторона» и «особь»; MS_{error} – средний квадрат ошибки измерения.

При начальной обработке значений использовалась программа Excel, корреляционный и дисперсионный анализы проводились в среде программы STATISTICA 10 (Stat. Soft Inc.).

Результаты исследования и их обсуждение

Нормирующий метод (НМ)

Билатеральные признаки отличались по величине FA_2 и варьировали от 0,003 (Судогда) до 0,13 (Гороховец). Однофакторный анализ показал существенное различие среди признаков ($F = 3,43$; $p = 0,01$). Наиболее высокие средние значения FA_2

имели 2-й ($0,051 \pm 0,005$) и 6-й признаки ($0,046 \pm 0,005$). В абсолютном количестве значимые величины эксцесса были получены в регионе Гороховец (33,3% к числу выборок), наименьшее значение – в регионе Вязники (соответственно 12,5%). Фактически при коррекции Бонферрони только превышение значений эксцесса свыше $\gamma = 3,0 - 3,1$ приводило к его значимому проявлению (уровни статистической вероятности от 10^{-5} и выше). Не было получено статистически значимых низких значений эксцесса. Так, при $\gamma = -0,5$ уровень вероятности эксцесса показывал незначимую величину $p = 0,32$. Следовательно, не было выявлено выборок, содержащих статистически значимую антисимметрию. Высокие положительные значения эксцесса свидетельствовали о гетерогенности формы листовых пластинок.

Направленная асимметрия признаков была обнаружена в 11-ти выборках. Интерес вызвала популяция из п. Энергетик (Владимирский регион), в которой направленная асимметрия встретилась во всех признаках, кроме 6-го (угол между главной и основной жилками). В этой популяции было отмечено высокое значение эксцесса и направленной асимметрии 5-го признака (пик в диапазоне 0,0–0,5; t-тест: $p < 0,000$; значение эксцесса $\gamma = 37,4$).

Морфогеометрический метод (МГ)

Величины морфогеометрических индексов направленной асимметрии (MGDA) и флуктуирующей асимметрии (MGFA) были статистически значимы во всех популяциях. Вариация направленной асимметрии была выше, чем флуктуирующей асимметрии (коэффициенты вариации соответственно 212,3 и 41,6). МГ методом получены величины MGFA от 0,013 (Меленки) до 0,035 (Владимир). Результаты, характеризующие популяции разных регионов, представлены в таблице.

Многомерным дисперсионным анализом (MANOVA) установлено существенное различие в направленной асимметрии среди некоторых пар меток ($p < 0,00$). Так, анализ 4-й пары меток показал наиболее сильную направленную асимметрию в популяциях Владимира. В популяции региона Меленки такой эффект наблюдался в 6-й паре меток. В величине морфогеометрической ФА статистически существенного различия среди пар меток отмечено не было. Практически в каждой популяции присутствовали статистически значимые величины НА и ФА, что дало возможность установить корреляционную зависимость между значениями индексов MGDA и MGFA ($n = 25$; Spearman's $r = 0,78$; $p < 0,000$). Получена значимая

корреляция между числом признаков с повышенным эксцессом и числом признаков, содержащих НА ($n = 9$; Pearson's $r = 0,86$; $p < 0,000$). Регрессионной зависимости между величинами FA_2 , MGFA, MGDA и объемами антропогенных поллютантов и высотой рельефа обнаружено не было.

нагрузки и величиной FA_2 или MGFA. На основании полученных результатов сформулированы следующие выводы:

1 – различия в величине дисперсии величин правых и левых билатерально симметричных признаков листовых пластинок клена остролистного дают возможность

Индексы ФА, полученные в нормирующей формуле (FA_2), морфogeометрические индексы флуктуирующей асимметрии (MGFA) и направленной асимметрии (MGDA)

Регион	n	Антропогенный стресс, тыс.т/год		Высота местности, м	FA_2 se \pm 0,01	MGFA se \pm 0,002	Число признаков		MGDA se \pm 0,002
		Автоты-бросы	Индустриальные выбросы				с высоким эксцессом	с НА	
Владимир	9	34,7	4,50	144–161	0,034	0,019	12	6	0,004
Ковровский р-н	2	13	1,83	131–134	0,091	0,017	3	1	0,003
Вязниковский р-н	4	6,5	2,68	97,7–130,8	0,027	0,019	5	0	0,003
Судогодский р-н	2	4,1	2,05	144,4–155,5	0,041	0,017	4	3	0,067
Меленковский р-н	4	3,5	1,58	115,2–127,1	0,048	0,027	4	1	0,093
Камешковский р-н	3	2,9	0,26	98,5–100,3	0,045	0,017	4	0	0,002
Гороховецкий р-н	1	1,8	1,26	109,0	0,106	0,015	2	0	0,003

Обозначения: n – объем выборок, se \pm – стандартная ошибка.

Выводы

Отсутствие направленной асимметрии у мерных признаков и присутствие ее по результатам морфogeометрического анализа свидетельствует о высоком различии формы листовых пластинок в двухмерном пространстве. Нормирующая формула удобна лишь для тестирования мерных величин отдельно взятых признаков. Индивидуальная изменчивость (фактор «образец») была статистически значимой во всех случаях, т.е. пластинки сильно отличались в популяциях.

Высокая корреляционная зависимость двух видов асимметрии подтверждает связь между двумя формами изменчивости: генотипической и фенотипической. Результаты предыдущих работ, проведенных с листовыми пластинками липы мелколистной [3] и дуба черешчатого [4], не показали явного присутствия направленной асимметрии. Не было получено прямой связи между уровнем техногенной

установить связь между генотипическими и фенотипическими компонентами;

2 – фенотипическая изменчивость в виде флуктуирующей асимметрии различается в популяциях обследованных регионов, но флуктуирующую асимметрию листовых пластин клена остролистного как вида-биоиндикатора следует изучать при воздействии суммы нескольких факторов;

3 – для популяций клена остролистного характерна высокая доля генотипической изменчивости в виде направленной асимметрии и ассоциированное с ней проявление фенотипической изменчивости в виде флуктуирующей асимметрии.

Список литературы

1. Администрация Владимирской области. Департамент природопользования и охраны окружающей среды. Ежегодный доклад о состоянии окружающей среды и населения Владимирской области. – Владимир, 2014. – URL: <http://dpp.avо.ru/activities/education/63-doklad>.

2. Андреева М.В. Оценка состояния окружающей среды в насаждениях в зонах промышленных выбросов с помощью растений-индикаторов: автореф. дис. ... канд. сельск.-хоз. наук. – СПб., 2007. – 24 с.

3. Баранов С.Г. Использование морфометрического метода для определения флуктуирующей асимметрии липы мелколистной // Биозащита и биобезопасность. – 2014. – Т. VI. № 1 (18). – С. 10–17.

4. Баранов С.Г. Исследование формы и асимметрии листовых пластин дуба черешчатого // Биозащита и биобезопасность. – 2014. – Т. VI. № 4 (21). – С. 16–26.

5. Глухов А.З., Штирц Ю.А., Демкович А.Е., Жуков С.П. Оценка проявления флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков листовой пластинки *Acer pseudo platanus* L. в условиях придорожных экосистем промышленного города (на примере г. Донецка) // Промышленная ботаника. – 2011. – Вып. 11. – С. 90–96.

6. Bechshøft T.Ø. et al. Fluctuating asymmetry in metric traits; a practical example of calculating asymmetry, measurement error, and repeatability // *Annales Zoologici Fennici*. – Finnish Zoological and Botanical Publishing, 2008. – Т. 45. – № 1. – С. 32–38.

7. Graham J.H. et al. Directional asymmetry and the measurement of developmental instability // *Biological Journal of the Linnean Society*. – 1998. – Т. 64. – № 1. – С. 1–16.

8. Palmer A.R. Fluctuating asymmetry analyses: a primer // *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. – Springer Netherlands, 1994. – С. 335–364.

9. The Morphometrics Website [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.morphometrics.org/> (дата обращения 11.07.2015).

10. The Web Environment at University of Michigan. U-M Personal WWW Server [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www-personal.umich.edu/> (дата обращения 11.07.2015).

11. Zhang H., Wang X. Leaf developmental stability of *Platanus acerifolia* under urban environmental stress and its implication as an environmental indicator // *Frontiers of Biology in China*. – 2006. – Т. 1. – № 4. – С. 411–417.

References

1. Administracija Vladimirskoj oblasti. Departament prirodopol'zovanija i ohrany okružhajushhej sredy. Ezhegodnyj doklad o sostojanii okružhajushhej sredy i naselenija Vladimirskoj oblasti [Vladimir], 2014. URL: <http://dpp.avо.ru/activities/education/63-doklad>. (The administration of the Vladimir region. Department of natural resources and environmental protection. Annual report on the state of the environment and the population of the Vladimir region [Vladimir], 2014. URL: <http://dpp.avо.ru/activities/education/63-doklad>).

2. Andreeva M.V. Otsenka sostoyaniya okružhaushcey sredy v nasazhdeniyach v zonakh promyshlennykh vybro-

sov s pomoschy rastenii-indicatorov: Avtoreferat. diss. ...cand. sel'sko.-khоз. nauk. (Testing environmental condition in green zones under industrial emissions with plant-indicators). Sent-Petersburg, 2007. 24 p.

3. Baranov S.G. Ispolzovanie morfogeometricheskogo metoda dlya opredeleniya fluktuiruyushey asimmetrii lipy melkolistnoy. (Use of Morphogeometric method for testing fluctuating asymmetry in Lime tree). *Bio defense and bio safe*. 2014. V.VI. (18). pp. 10–17.

4. Baranov S.G. Issledovanie formy i asimmetrii listovykh plastin duba chershchatogo. (Study of form and asymmetry of oak leaf plates). *Bio defense and bio safe*. 2014. Vol. VI. no. 4 (21). pp. 16–26.

5. Glukhov A.Z., Shtirz Y.A., Demkovich A.E., Zhukov S.P. Otsenka proyavleniya fluktuiruyushey asimmetrii bilateralnykh priznakov listovoy plastinki *Aser pseudo platanus* L. v usloviyah pridorozhnykh ekosistem promyshlennogo goroda (na primere g. Donetsk). [(Evaluation of fluctuating asymmetry manifestations of bilateral traits of lamina *Aser pseudo platanus* L. in a roadside ecosystem industrial city (for example, in Donetsk)]. *Industrial botani*. 2011. 11. pp. 90–96.

6. Bechshøft T.Ø. et al. Fluctuating asymmetry in metric traits; a practical example of calculating asymmetry, measurement error, and repeatability // *Annales Zoologici Fennici*. Finnish Zoological and Botanical Publishing, 2008. T. 45. no. 1. pp. 32–38.

7. Graham J.H. et al. Directional asymmetry and the measurement of developmental instability // *Biological Journal of the Linnean Society*. 1998. T. 64. no. 1. pp. 1–16.

8. Palmer A.R. Fluctuating asymmetry analyses: a primer // *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. Springer Netherlands, 1994. pp. 335–364.

9. The Morphometrics Website [Electronic resource]. Access mode: <http://www.morphometrics.org/> (accessed 11.07.2015).

10. The Web Environment at University of Michigan. U-M Personal WWW Server [Electronic resource]. Access mode: <http://www-personal.umich.edu/> (accessed 11.07.2015).

11. Zhang H., Wang X. Leaf developmental stability of *Platanus acerifolia* under urban environmental stress and its implication as an environmental indicator // *Frontiers of Biology in China*. 2006. T. 1. no. 4. pp. 411–417.

Рецензенты:

Мищенко Н.В., д.б.н., профессор кафедры биологии и экологии, ФГБОУ ВПО «Владимирский государственный университет имени А.Г. и Н.Г. Столетовых», г. Владимир;

Борисова Е.А., д.б.н., зав. кафедрой общей биологии и физиологии, ФГБОУ ВПО «Ивановский государственный университет», г. Иваново.