**УДК575.21:591:492**

# ФАКТОРЫ СРЕДЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА АСИММЕТРИЮ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИН КЛЕНА ОСТРОЛИСТНОГО (*ACERPLATANOIDES*)

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

*[1]ФГБОУ ВПО Владимирский Государственный Университет им. А.Г. и Н.Г Столетовых. Владимир, Россия (600000, г. Владимир, ул. Горького, 87), bar.serg58@gmail.com;*
*[2]ГОУ ВОМосковский государственный областной гуманитарный институт. Орехово-Зуево, Россия (Орехово-Зуево, 142611, ул. Зеленая, 22), zykov-oz@yandex.ru, fedorova-oz@yandex.ru*

**Величины направленной асимметрии и флуктуирующей асимметрии (ФА) находились в двухфакторном дисперсионном Прокрустовом анализе. Для этого на изображение пластин наносилось 22 метки (по 10 на билатеральных сторонах и 2 на оси симметрии) и выполнялся Прокрустов дисперсионный анализ в среде программы SAGE. Присутствие ФА определялось по значимости произведения средних квадратов величин факторов «сторона» и «образец», а направленной асимметрии – по значимости среднего квадрата величины фактора «сторона». Получена корреляция между двумя индексами асимметрии (Spearman'sr = 0,78; p< 0,000). Для определения значимости факторов, влияющих на ФА, проводился регрессионный анализ с использованием функции желательности. На уровень ФА оказывали влияние следующие факторы в порядке убывания значимости: а) высота рельефа, б) совместное действие высоты рельефа и индустриального стресса (выбросы в атмосферу), в) индустриальный стресс.**

Ключевые слова: морфогеометрический анализ флуктуирующей асимметрии, направленная асимметрия, клен остролистный

# ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING ASYMMETRY MAPLE LEAF PLATES

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

*[1] Vladimir State University (VlSU) Vladimir, Russia (600000, Vladimir street Gorkogo, 87), bar.serg58@gmail.com;*
*[2]Moscow Region State Institute of Humanities (MGOGI) Orekhovo-Zuevo, Russia (142611, Orekhovo-Zuevo, street Zelenaya, 22), zykov-oz@yandex.ru,fedorova-oz@yandex.ru*

**The value of fluctuating asymmetry (FA) and directional asymmetry (DA) was calculated in two way Procrustes analyses of variance with finding value of mean square of factors «individual × side» (FA) and «side» (DA). For those purposes 10 paired landmarks were labeled on each leaf plate, two landmarks were labeled on the midrib. Procrustes analysis was performed using SAGE.The correlation (Spearman's r = 0.78; p < 0.000) was found between indices fluctuating asymmetry and directional asymmetry. The regression analysis was performed using desirability function for the findingfactors significantlyeffecting FA. The following factors affected the FA level in order of importance's decrease: a) the height of the relief, b) the combined effect of the height of the relief and of industrial stress emissions, c) industrial stress.**

Keywords: morphogeometricanalysis of fluctuating symmetry, directional asymmetry, Acer platanoides

Клен остролистный – листопадное дерево, широко распространенное в европейской части России. Это типичный представитель смешанных широколиственных, в том числе и припойменных лесов, часть урбанистических и культурных ландшафтов. Клен остролистный — факультативный гелиофит, который более требователен к почве и другим условиям по сравнению с липой мелколистной и березой бородавчатой.

Несмотря на то что клен остролистный используется как биоиндикатор в меньшей степени, чем другие древесные виды, морфологическая изменчивость его листовых пластин становится все более привлекательной для биоиндикационных исследований [1, 4, 7, 9].

В настоящее время для оценки антропогенного стресса часто используется флуктуирующая асимметрия (ФА), которая проявляется в незначительных ненаправленных

отклонениях от идеальной асимметрии и может указывать на уровень стабильности развития и использоваться для оценки антропогенного стресса. Частотная гистограмма величины ФА представляет собой нормальное распределение величин разностей между размером правого и левого признаков (R – L). Два других вида асимметрии: направленная (НА) и антисимметрия (АнС) — используются меньше в целях биоиндикации, поскольку эти виды асимметрии проявляют свойства, определяемые генотипом. Помимо нормирующей разности с использованием величины (R – L), существуют другие интегральные методы. Одним из них является метод геометрической морфометрии (морфогеометрический метод, МГ-метод), при котором наносятся метки по краю всей листовой пластины, находится их смещение в двухмерном пространстве в зависимости от усредненных положений эталонной фигуры с выровненными координатами выбранных точек [2, 3].

**Цель** данной работы заключалась в изучении влияния индустриального стресса, уровня выбросов от автотранспорта и уровня поднятия ландшафта на величину ФА листовой пластины и выяснении возможности использования клена остролистного в качестве вида-биоиндикатора стабильности развития.

**Материалы и методы**

*Сбор гербария*

Сбор листовых пластин проводился на территории Владимирской области в 2013–2014 гг. из 10 регионов этой области. Собирались по 100 листовых пластин с каждой из 25 популяций (по 10 деревьев), с 5 выраженными лопастями. Листья отбирались с края кроны, на высоте 1,5–2 м на расстоянии 100–300 м от крупных автомагистралей, в парках, на аллеях, в том числе вдоль крупных автотрасс. Антропогенный стресс оценивался по уровню выбросов токсичных веществ от автотранспорта и от стационарных источников. По данным администрации области в 2014 г. наибольший объем выбросов от автотранспорта был во Владимире (34,7 тыс. т), а наименьший — в Кольчугинском районе (1,5 тыс. т), что превышало выбросы от предприятий соответственно в 1,4 и 7,7 раза [5]. Наименьшая высота ландшафта отмечена в Вязниковском районе (97,6 м), а наибольшая — в Кольчугинском районе (212 м). Высота рельефа измерялась программой Googleearth.

*Морфогеометрический метод*

Листья фотографировались цифровой камерой с мерной линейкой (ГОСТ 427-75) для масштабирования (единица масштаба 1 см соответствовала расстоянию в пикселях между двумя последними метками – 21-й и 22-й). Всего наносилось 12 пар меток, из них 11-я и 12-я лежали на оси симметрии – средней жилке (рис. 2). 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. Подробное описание анализа изложено в свободном доступе, в том числе на сайте www.morphometrics.orgc доступом к компьютерным программам по геометрической морфометрии. Основными этапами тестирования морфогеометрической флуктуирующей асимметрии (MGFA) были: а) нанесение меток в двух повторностях, т.е. создавались по два файла формата TPS для каждой листовой пластины; б) подготовка общего файла TPS; в) подготовка текстовых файлов, содержащих информацию о парных метках и количестве обрабатываемых образцов, т.е. листовых пластин; г) постановка пермутационного теста с размножением массива значений прокрустовых расстояний (1000) для нормализации выборок и избегания примеси антисимметрии.

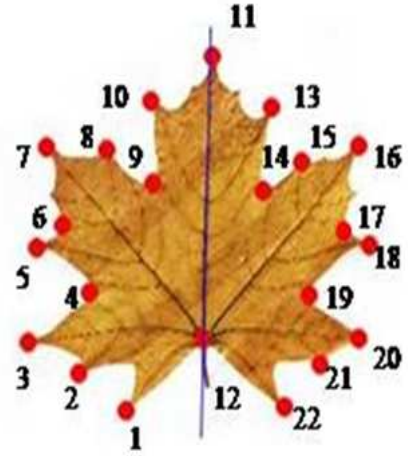


*Рис. 1. Билатерально-симметричные метки, использованные для морфогеометрического анализа флуктуирующей асимметрии клена остролистного (скриншот, программа TPSdig)*

Прокрустов дисперсионный анализ основан на вычислении произведения средних квадратов прокрустовых расстояний двух факторов «сторона» и «особь». Величина ФА, определяемая морфогеометрическим методом, в сантиметрах, определялась по формуле [6, 8]:

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

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

Направленная асимметрия (MGDA) по величине среднего квадрата фактора «сторона». При начальной обработке значений использовалась программа Excel.

Корреляционный и регрессионный анализы проводились в среде программы STATISTICA 10 (Stat.SoftInc). Статистическая значимость определялась на уровне α = 0,05.

*Регрессионный анализ*

Использовались обобщенная линейная модель (GLM), факториальная регрессия (factorialregression). Критериальной функцией служила функция желательности *D*, величина которой определялась по формуле:

$$D = \sqrt[n]{d_1 \times d_2 \times d_3},$$

где:
*D* – обобщенная функция желательности;
$d_1, d_2, d_3$ – частная функция желательности для трех факторов (высота рельефа, автовыбросы и выбросы стационарных источников);
n – число изучаемых факторов.

Частные функции желательности находились по формуле:

$$d = exp\ (-\exp\{-y\}),$$

где:
y – кодированное значение признака.

Значения факторов кодировались в значениях однотипной шкалы в диапазоне [0,1]. Значения около 1 являлись наиболее желательными в смысле максимального отклика в виде наибольших значений величины ФА. Каждый из трех факторов сообщал о величине ФА при прочих фиксированных значениях. Графически обобщенная функция желательности – это одноплоскостная многозначная функция с нелинейной областью отклика. Она широко используется в экологии в качестве критерия оптимизации.

**Результаты**

*Морфогеометрический метод*

Вариация направленной асимметрии была выше, чем флуктуирующей асимметрии (коэффициенты вариации соответственно 212,3 и 41,6). МГ-метод показал величины MGFA от 0,013 (г. Меленки) до 0,035 (г. Владимир). В таблице 1 приведены результаты анализа влияния трех факторов на величину ФА.

**Таблица 1**

Результаты обобщенного регрессионного анализа влияния трех факторов на величину ФА

| Факторы (источники вариации) | SS | df | MS | F | p |
|---|---|---|---|---|---|
| Автовыбросы (1) | 0,000 | 1 | 0,000 | 12,07 | *** |
| Высота рельефа (2) | 0,001 | 1 | 0,001 | 35,01 | ****** |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Промышленные выбросы (3) | 0,001 | 1 | 0,001 | 20,76 | ***** |
| (1× 2) | 0,001 | 1 | 0,001 | 13,68 | *** |
| (1× 3) | 0,001 | 1 | 0,001 | 12,39 | *** |
| (2× 3) | 0,001 | 1 | 0,001 | 23,27 | ***** |
| (1× 2× 3) | 0,001 | 1 | 0,001 | 14,57 | *** |
| Ошибка | 0,005 | 124 | 0,000 | | |

Обозначения: SS – сумма квадратов; df – степень свободы; MS средний квадрат; F – критерий Фишера; p – вероятностный уровень (*** – < $10^{-4}$; ***** – < $10^{-5}$; ****** – < $10^{-7}$)

Высота рельефа оказывала наиболее сильный эффект на величину флуктуирующей асимметрии (F = 35,01; p < $10^{-7}$). В сочетании с промышленными выбросами этот фактор также показывал серьезное влияние на величину ФА. Индустриальные выбросы в атмосферу и выбросы от автомобилей оказывали меньший эффект (соответственно, F = 20,76; F = 12,07; p =$10^{-5}$ и p = $10^{-4}$).

Не было получено статистически существенного различия в величине ФА среди различных пар меток.

Практически в каждой популяции присутствовали статистически значимые величины НА и ФА, поэтому была получена корреляционная связь между значениями индексов MGDA и MGFA (n=25; Spearman’s r=0,78; p<0,000). Не было получено прямой корреляционной зависимости величин асимметрии (MGDA или MGFA) от величины индустриального стресса, выбросов в атмосферу от автотранспорта или от высоты ландшафта.

В трехмерном уровне значений функции желательности повышенная величина ФА была характерна для местности с высокими объемами автотранспортного загрязнения, в местности с пониженным рельефом. Высокая ФА наблюдалась в местах с возвышенным рельефом (более 100 м), хотя и с низким автотранспортным загрязнением (*D*>2,0; рис. 2).

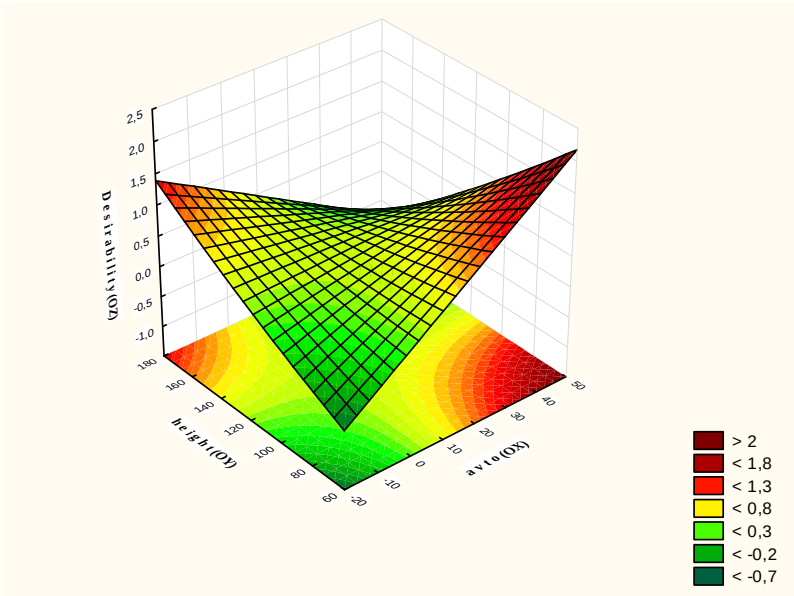

*Рис. 2. Наибольшая величина функции желательности (ось OZ — desirability), соответствующая пониженной стабильности развития (красный участок поверхности отклика, проецируемый также на нижнюю плоскость), характерна в популяциях в местности с высоким рельефом (ось OУ - height), а также в популяциях в местах с высокой плотностью автомобильного движения (ось OX — auto). Справа внизу – шкала величины функции желательности*

На возвышенном рельефе функция желательности принимала высокое значение (D=1,5–1,7) при высоком объеме выбросов со стороны предприятий. Это подтверждает требовательность к почвам как к основному фактору, влияющему как на жизнеспособность популяции, так и на стабильность развития клена. При трехфакторном взаимодействии: автовыбросы × промышленные выбросы × высота рельефа — два первых фактора совместно оказывали значительный эффект на изменчивость ФА и стабильность развития, более значимый, чем рельеф местности (рис. 3). Функция желательности имела наибольшее значение (D=4,5–5,0) при воздействии указанных факторов независимо от высоты рельефа.

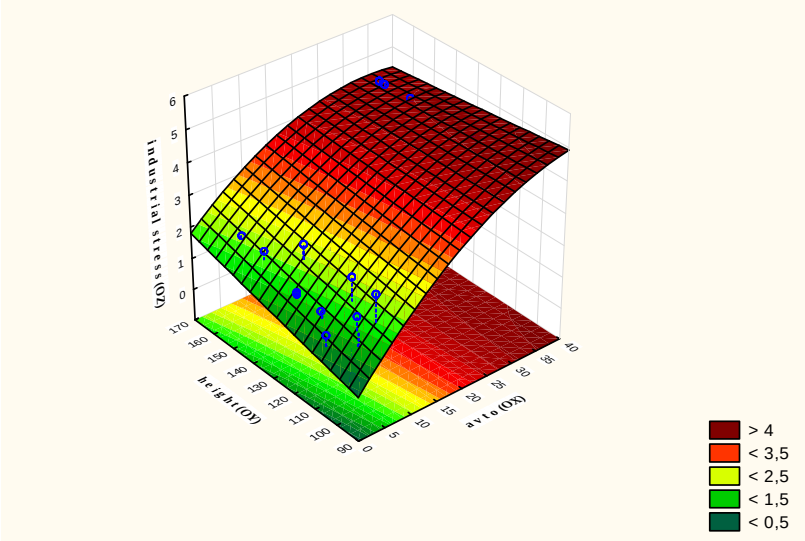


*Рис. 3. Воздействие трех факторов: автовыбросы (ось OX - auto) × промышленные выбросы (OZ — industrialemission) × высота рельефа (OY — height)*

Таким образом, независимо от высоты рельефа местности повышение выбросов от автотранспорта и промышленных предприятий совместно приводило к повышению ФА и, следовательно, к снижению стабильности развития.

**Обсуждение и выводы**

Присутствие направленной асимметрии говорит о высоком различии в форме листовых пластин в двухмерном пространстве. Индивидуальная изменчивость (фактор «образец») была статистически значимой во всех случаях, т.е. пластины существенно отличались в популяциях. Высокий уровень загрязненности автотранспортом (основной

загрязнитель атмосферы в городах Владимирской области) вызывает повышение флуктуирующей асимметрии в пластинах клена остролистного и, следовательно, снижение стабильности развития этой популяции.

Высокая корреляционная связь между двумя видами асимметрии показала взаимообусловленность обеих форм изменчивости: генотипической и фенотипической. Предыдущие аналогичные работы, проведенные с листовыми пластинами популяций липы мелколистной [2] и дуба черешчатого [3], не показали подобной связи и столь явного присутствия направленной асимметрии. На основании полученных результатов проведенная работа позволяет сделать следующие выводы:

1) наиболее значимое влияние на стабильность развития клена оказывает высота рельефа, затем выбросы от промышленных предприятий и автомобильные выбросы;

2) на снижение стабильности развития клена остролистного оказывает совместное (синергетическое) воздействие автомобильных выбросов и общего промышленного загрязнения от предприятий;

3) пониженный рельеф местности при высоких значениях автомобильных выбросов приводит к снижению стабильности развития клена остролистного.

## Список литературы

1. 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.

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

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

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

5. ГОСТ Р 56162-2014 «Выбросы загрязняющих веществ в атмосферу. Метод расчета выбросов от автотранспорта при проведении сводных расчетов для городских населенных пунктов» (утв. приказом Росстандарта от 14 октября 2014 г. № 1320-ст).

6. Bechshøft T.Ø. et al. Fluctuating asymmetry in metric traits; a practical example of calculating asymmetry, measurement error, and repeatability // AnnalesZoologiciFennici. – Finnish Zoological and Botanical Publishing, 2008. – Vol. 45, № 1. – P. 32–38.
7. Graham J.H. et al. Directional asymmetry and the measurement of developmental instability // Biological Journal of the Linnean Society. – 1998. – Vol. 64, № 1. – P. 1–16.
8. Palmer A.R. Fluctuating asymmetry analyses: a primer // Developmental instability: its origins and evolutionary implications. – Springer Netherlands, 1994. – P. 335–364.
9. Zhang H., Wang X. Leaf developmental stability of *Platanusacerifolia* under urban environmental stress and its implication as an environmental indicator // Frontiers of Biology in China. – 2006. – Vol. 1, № 4. – P. 411–417.

**Рецензенты:**

Мудрак Н.С., д.б.н., ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир;

Мищенко Н.В., д.б.н., ФГБО УПО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых», г. Владимир.