



УДК 575.21:591.492

**ФЕНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ АСИММЕТРИИ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИН
BETULA PENDULA ROTH**

**PHENOGENETIC ASPECT OF ASYMMETRY OF LEAF PLATE OF
BETULA PENDULA ROTH**

**С.Г. Баранов
S.G. Baranov**

Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых, Россия, 600000, г. Владимир, ул. Горького, 87

Vladimir State University named after Alexanser and Nikolay Stoletovs, 87 Gorkogo St, Vladimir, 600000, Russia

E-mail: bar.serg58@gmail.com

Аннотация. В девяти интактных популяциях березы повислой (*Betula pendula* Roth) проводилось тестирование двух видов асимметрии листовых пластин при помощи морфогео-метрического метода. Прокрустов анализ показал присутствие флуктуирующей асимметрии в смеси с направленной асимметрией в шести популяциях. В остальных трех популяциях получена флук-тулирующая асимметрия без примесей. Доля дисперсии направленной асимметрии составляла от 40 до 80 процентов от общей дисперсии.

Метод тонких пластин показал, что в половине случаев направленная асимметрия в смеси с флуктуирующей асимметрией проявлялась на одной из билатеральных сторон в виде деформации, что говорит о генетической и средовой связи фенотипического и генотипического эффектов.

Resumé. Two kinds of bilateral asymmetry was tested by morphogeometric method. Procrustes ANOVA showed the presence of fluctuating asymmetry in mix with the directional asymmetry in six populations. In the other three populations, the pure fluctuating asymmetry was tested. No correlation was detected between mean square and visual picture of directional asymmetry. Coefficient of variation, variance and kurtosis of Procrustes distances showed a strong positive correlation. 40–80% of variance of total asymmetry possessed directional asymmetry. Thin plate spline method showed in half cases directional asymmetry and fluctuating asymmetry expressed on one side in deformation of spline grid. It reveals the correlation of genetic and environmental effects in birch population free of strong stress.

Ключевые слова: Прокрустов анализ, стабильность развития, флуктуирующая асимметрия, направленная асимметрия, береза повислая, феногенетический анализ.

Key words: Procrustes ANOVA, developmental stability, fluctuating asymmetry, directional asymmetry, *Betula pendula*, phenogenetic aspect.

Введение

Феногенетика – это сравнительно молодая область популяционной генетики, предметом которой является изучение связи характеристик генотипа и фенотипа. Молекулярные методы, например, полимеразная цепная реакция – это сравнительно дорогие анализы, позволяющие прочесть последовательность полинуклеотидов нуклеиновой кислоты. Соотношение полученных результатов с выраженностью фенотипических ненаследуемых признаков зачастую представляет проблему, учитывая их высокое разнообразие. Многообразие форм (например, криволинейность, выпуклость, вогнутость, сжатость) является наиболее малоизученной темой в морфологии признаков и характере их наследования. Однако в последнее время с прогрессом в морфометрии появилось возможность статистически обоснованного определения фенетических и фенотипических свойств и обоснования генотипической архитектоники генотипа [Klingenberg, 2002, 2015].

Такое свойство формы как асимметрия, например, билатеральная ненаследуемая флуктуирующая асимметрия (ФА), часто используется для оценки стабильности развития популяций растений и животных.



При превышении ФА определенного значения судят об отклонении от нормы и снижении стабильности развития. Причиной, отклоняющей симметричность от нуля, считают онтогенетический шум, т. е. несовершенство процессов генной экспрессии.

Другой причиной представляется канализованность, т.е. изначальная генетическая особенность вида развиваться по пути с амплитудой отклонения от идеальной симметрии.

Такое «движение» по определенному детерминированному пути характерно для эволюционного, продолжительного во времени развития популяций.

Таким образом, причиной отклонения от строгой билатеральной асимметрии являются как внешние воздействия (используемые в биоиндикации), так и генетически видоспецифичное отклонение в асимметрии, отклоняющее величину разности между размерами билатеральных признаков.

Если флуктуирующая асимметрия – незначительное и ненаправленное отклонение от идеальной симметрии (в том числе под действием факторов среды), то направленная асимметрия (НА) – генетически детерминированное свойство, характеризующееся смещением гистограммы распределения разности ($R-L$) величин правого (R) и левого (L) гомологичных признаков [Palmer, Strobeck, 1986, 2003].

Смесь этих двух видов билатеральной асимметрии в гомологичных признаках обнаружены, как в растениях, так и у животных. J. Graham предложил классифицировать НА в зависимости от характера регрессионной связи между величинами ФА и НА [Graham, 1998].

Соотношение ФА/НА предлагается в качестве фенотипического маркера, с одной стороны характеризующего генетический эффект генной экспрессии, с другой стороны – как эффект со стороны среды, оказывающий влияние на процесс буферизации онтогенетического шума [Васильев, Васильева, 2009; Васильев и др., 2010; Большаков и др., 2015]. Публикаций в области флуктуирующей асимметрии значительно больше, чем в области направленной асимметрии. Несмотря на то, что смесь обоих видов асимметрии очень часто встречающееся явление, публикаций об анализе обоих видов асимметрии не много.

Гетерогенность дисперсии распределения величин ($R-L$) является показателем, зачастую сигнализирующим о присутствии двух видов асимметрии. Оба вида асимметрии линейных билатерально симметричных признаков тестируются в 2-х факторном смешанном дисперсионном анализе «особь × сторона», где «особь» – рандомный фактор, а «сторона» – фиксированный [Palmer, Strobeck, 1986, 2003].

При фенотипическом мониторинге популяций следует выделять импактные и интактные популяции, а также учитывать генетическую однородность, и пространственную протяженность территории при сборе биологического материала с учётом репликационных повторностей [Hurlbert, 2004; Oksanen, 2004].

В настоящей работе рассматриваются популяции березы повислой на сравнительно небольшой площади (Владимирская область). Использовались популяции в относительно одинаковых условиях по отношению к индустриальной нагрузке, не менее чем в 1–1.5 км от крупных автомагистралей. В тоже время популяции различались по высоте рельефа местности, что определяет степень увлажненности и характер гидрорежима почвы, что для древесного растения является немаловажным фактором.

В предлагаемой работе был использован морфогеометрический подход к определению асимметрии, на основе измерения величин отклонения координат меток, наносимых на гомологичные структуры листовых пластин.

Таким образом, принималась во внимание концепция асимметрии формы, смысл которой в том, что используется свойство многомерного пространства левой и правой стороны листовой пластины. Подразумевается, также, что флуктуирующая асимметрия формы листовой пластины отражает стабильность развития популяции древесного растения. Несмотря на абстрактность термина «асимметрия формы» [Graham et al, 2015] метод морфогеометрического анализа широко применяется в тестировании флуктуирующей асимметрии листовых пластин [Жуков и др., 2011; Войта и др., 2013; Baranov et al, 2014; Баранов и др., 2015]. Морфогеометрические



индексы флуктуирующей асимметрии высчитываются по величине отклонения координат ХУ, выбранных билатерально симметричных точек или структур от усредненного многоугольника (центроида), обладающего билатеральной симметрией.

Целью исследования было определить соотношение компонентов дисперсии асимметричности правой и левой сторон листовой пластины и тестирование величин двух видов асимметрии. Следовательно, предпринята попытка сепарировать два вида эффекта – средовый и генотипический. Рабочей гипотезой служило предположением о том, что величина ФА формы объясняет силу действия средового эффекта в рамках канализированного популяционного развития, а величина направленной асимметрии отражала (показывала) величину генотипического эффекта. Величина направленной асимметрии выражалась в процентах по отношению к общей дисперсии, как доля генотипического эффекта, влияющего на билатеральную асимметричность.

Объекты и методы исследования

Использовались листовые пластины березы повислой (*Betula pendula* Roth) от укороченных побегов. Высота рельефа в исследуемых местах сбора варьировала от 80 до 175 м. Исследуемые популяции (всего девять) выбирались исходя из основного экологического свойства – достаточная пространственная изолированность и однородность видового состава биоценоза с учетом примеси других древесных пород: ели, тополя и ивы. Сбор листовых пластин проводился в 2015 г. по общепринятой методике [Захаров и др., 2000].

Существенным дополнением служило то, что листья (100 образцов из каждой популяции, по 10 с дерева) отбирались с шириной стороны листовых пластинок 2.5–3.5 см в средней части листовой пластины, это снижало аллометрический эффект изменчивости в зависимости от величины листовой пластины.

Береза повислая выбрана, т. к. этот вид является признанным биоиндикационным видом, количество публикаций по асимметрии листовой пластин березы очень велико, в последних работах рассматривались ряд подходов к оценке как ФА, так и морфологических свойств [Зорина, Коросов, 2009; Иванов и др., 2015]. Листовые пластины гербаризировались, через неделю фотографировались с миллиметровой линейкой (ГОСТ 427-75) и файлы сохранялись в цифровом формате JPG.

Для определения обоих видов асимметрии использовался метод Прокрустового анализа (Procrustes ANOVA). Этот анализ – аналог 2-х факторного дисперсионного анализа (образец × сторона), который используется для тестирования флуктуирующей асимметрии мерных и счетных признаков.

Вместо дисперсионных остатков, правых и левых величин гомологичных признаков, использовались разности произведений значений ХУ координат левых и гомологичных им правых меток.

Прокрустово пространство – это область, ограниченная размерами центроида, усреднённой фигуры, образующейся после усреднения меток при прокрустовом выравнивании. Прокрустово выравнивание – это операция зеркального отображения левой и правой сторон, усреднения положения точек и изометрического поворота каждого образца для максимально возможного совмещения образуемых фигур.

Всего использовалось 5 пар меток, которые классифицировались как метки первого типа (гомологичные, билатерально симметричные, определяемые визуально). Две метки наносились на ось симметрии – среднюю жилку. В результате образуется двенадцати сторонний многоугольник, метки (ландмарки) которого проецируются на тангенциальную плоскость, лежащую перпендикулярно оси симметрии.

Образуемая прокрустова дистанция, как тригонометрическая функция от произведений координат меток, и служит для дисперсионного анализа. Прокрустова дистанция как отклонение каждого образца листовой пластины от размера усредненного консенсусного центроида, при использовании 2-х факторного дисперсионного анализа сообщает величину флуктуирующей асимметрии [Palmer, Strobeck, 2003; Klingenberg, 2015].

Достоинство метода в тестировании различия асимметрии формы и в нивелировании различия размера образцов пластин. Практически работа проводилась с выборками $n = 200$, т. к. на изображение каждой пластины метки наносились дважды для определения ошибки измерения. Следует отметить, что каждая прокрустовая дистанция соответствовала одному варианту выборки, т. е. листовой пластине, и была равна сумме квадратов расстояний между гомологичными парными преобразованными метками. Практически прокрустовы дистанции (расстояния) используются для количественной оценки различия в форме. Различие в форме левой и правой сторон определялось также и визуально и позволяло найти право- и левосторонность листовых пластин с помощью векторов, показывающих интегральную миграцию меток. Для этого использовался метод тонких деформационных пластин (TPS).

Гистограмма распределения прокрустовых дистанций может наглядно сообщать о картине билатеральной асимметрии. Смещение пика при высокой гетерогенности дисперсии говорит об отклонении от нуля разности ($R-L$) и, следовательно, о присутствии направленной асимметрии [Palmer, Strobeck, 1986].

Находилось среднее значение величин прокрустовых дистанций и вычиталось из общей их величины. Величина разности, взятая со знаком при значении «минус» свидетельствовала о направленности в левую сторону, со знаком «плюс» – о направленности в правую сторону. Диаграмма распределения величины направленной асимметрии на основе величины прокрустовых дистанций также визуально демонстрировала левую или правую направленность.

Для определения соотношения величин НА и ФА использовалась вариация этих величин, т. е. дисперсия. Дисперсия выборки прокрустовых дистанций обозначалась σ_{total} , и несла смысл общей дисперсии асимметрии формы. Вычитанием среднего значения получали разность, соответствующую дисперсии направленной асимметрии σ_{dir} . Для определения доли направленной асимметрии находилось отношение $\sigma_{dir}/\sigma_{total}$.

На основании значений σ_{dir} и $\sigma_{fa} = \sigma_{total} - \sigma_{dir}$ я делал вывод о присутствии генотипического и средового (фенотипического) эффекта, воздействующего на асимметричность листовых пластин. Достоверность различия в направленной и флуктуирующей асимметрии в выборке проверялась в однофакторном дисперсионном анализе.

Такой подход использовался при работе с асимметрией черепа мышевидных грызунов и жилкованием крыльев дрозофилы [Leamy, Klingenberg, 2005; Stige, 2006; Васильев, 2010; Stige et al, 2013; Kovaleva et al, 2013].

Антисимметрия как третий возможный вид билатеральной асимметрии тестировалась с помощью эксцесса (γ) выборки прокрустовых дистанций. Величина γ менее -2 указывала на присутствие антисимметрии ввиду бимодального непараметрического распределения.

Постановка Прокрустового дисперсионного анализа проводилась в программе SAGE (Marquez, 2004–2012), специально разработанная для определения видов асимметрии морфogeометрическим методом. Индекс ФА оценивался по величине MS_{IS} , вычисляемой со степенями свободы $df = (n - 1) \times (2k - 4)$, где n – число образцов, k – количество пар симметричных меток, l – количество меток по оси симметрии. Направленной асимметрии соответствовало значение MS_s с числом степеней свободы $df = (2k - 4)$. Ошибка измерения включала погрешность изображения и нанесения меток.

Прокрустовы дистанции определялись в программе TPSregr ver 1.43, нанесение меток проводилось в программе TPSdig ver 1.40, для обработки файлов использовалась программа TPSutil ver 1.43. Для проверки статистической гипотезы в Прокрустовом ANOVA использовался критерий F Гудолла (Goodall's F). Использовался уровень значимости $\alpha = 0.05$, как и в других видах дисперсионного и регрессионного анализа. Программа SAGE использовалась для разложения на принципиальные компоненты результатов Прокрустова анализа в виде модели тонкой пластины (thin plate spline).

Вспомогательные статистические анализы проводились в среде STATISTICA 10 и Excel 2007.

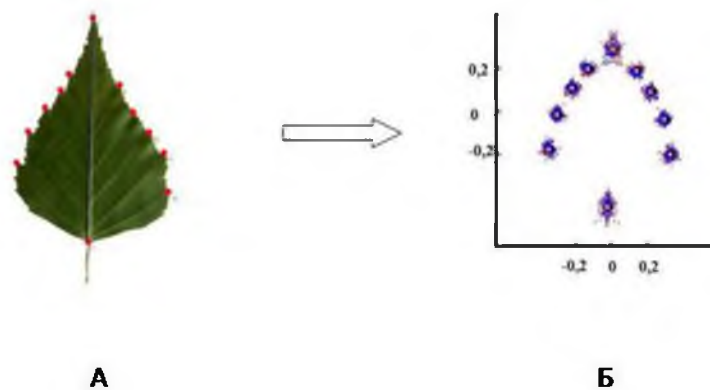


Рис. 1. А – метки, используемые для тестирования ФА морфогеометрическим методом; Б – Прокрустово пространство с метками, преобразованными после прокрустового выравнивания

Fig. 1. A – landmarks, used to testing FA in morphogeometric method; B – Procrustes space with landmarks transformed after Procrustes superimposition

Перед нанесением меток в программе TPSdig выставлялся масштаб (set scale). После двукратного нанесения меток по часовой стрелке создавались файлы формата TPS, содержащие координаты XU нанесенных меток. После создания файлов они объединялись в один файл в программе TPSutil (опция append fails). При установке (setup) файлы расставлялись последовательно в порядке повторностей. Например, t_1_1_1; t_1_1_2 (дерево № 1, лист № 1, повторность № 1; дерево № 1, лист № 1, повторность № 2). Общий файл для популяции состоял из двухсот файлов (100 листовых пластин \times 2-х кратная повторность).

После этого проводилось выполнение Прокрустово дисперсионного анализа (Procrustes ANOVA). Индивидуальная изменчивость тестировалась двумя категориями факторов: «дерево» и «лист». Одновременно тестировалась величина морфогеометрической флуктуирующей асимметрии как величина среднего квадрата MS_{IS} взаимодействия одного из факторов «дерево» или «лист» (рандомный) на фактор «сторона» (фиксированный). По умолчанию последний фактор принимал только два значения (правое/левое). Определялась величина ФА на уровне истинной репликации – листовой пластины, служившей экспериментальной единицей.

Результаты и их обсуждение

Каждая популяция тестировалась отдельно и показала статистически значимое индивидуальное различие в асимметрии ($p < 0.000$), присутствие или отсутствие направленной асимметрии и статистически значимое различие образцов во флуктуирующей асимметрии ($p < 0.000$).

В таблице представлены результаты Прокрустова анализа для настоящей репликации – листовой пластины. В трех популяциях были получены «чистые» значения ФА (№1–3). В большинстве популяций (№4–9) получено присутствие направленной асимметрии. Известно, что в таких случаях затруднительно определить величину фрагмента асимметрии, относящуюся к ФА, следовательно, и уровень отклонения в стабильности развития.

Индивидуальная изменчивость (F -критерий) коррелировала с величиной флуктуирующей асимметрии, что является предсказуемым и логичным также, как и в случае тривиального 2-х факторного дисперсионного анализа по схеме «образец \times сторона» [Palmer, Strobeck, 2003; Viscosi, Cardini, 2011].



Таблица
 Результаты морфогеометрического дисперсионного анализа (Прокрустова ANOVA)
 Table

Result of Procrustes ANOVA

Популяция #	ФА			НА		
	MS_{IS}	F	%	MS_s	F	%,
1	0.001	11.25***	100	0.000	0.26	-
2	0.002	107.34***	100	0.000	0.35	-
3	0.001	4.18***	100	0.001	1.8	-
4	0.000	131.09***	58	0.5	47.2***	42 (left)
5	0.001	4.41***	60	0.004	2.59*	40 (right)
6	0.001	11.60***	55	0.000	4.45***	45 (right)
7	0.000	5.63***	19	0.001	2.75*	81 (left)
8	0.001	50.21***	50	0.005	7.3***	50 (right)
9	0.003	1.60***	58	0.09	3.28**	42 (right)

Примечание: MS_s – средний квадрат фактора сторона; MS_{IS} – средний квадрат взаимодействия факторов «образец» и «сторона»; F – критерий Гудолла; p – уровень вероятности (***) – $p < 0.0001$; ** – $p < 0.001$; * – $p < 0.01$; right, left – направленность асимметрии (правая или левая).

Анализ на нормальность прокрустовых дистанций для каждой популяции показал, что распределение отличалось от нормального ($K-S$ test, $p < 0.01$).

Этот факт объясним гетерогенностью смеси дисперсии, состоящей из дисперсии ФА и НА, что подтверждали высокие значения эксцесса $\gamma = 1.6-8.6$, и коэффициента вариации ($CV = 66.7-97.0\%$). График гистограммы распределения прокрустовых дистанций показал положительную асимметрию, т. е. скос вправо (рис. 2).

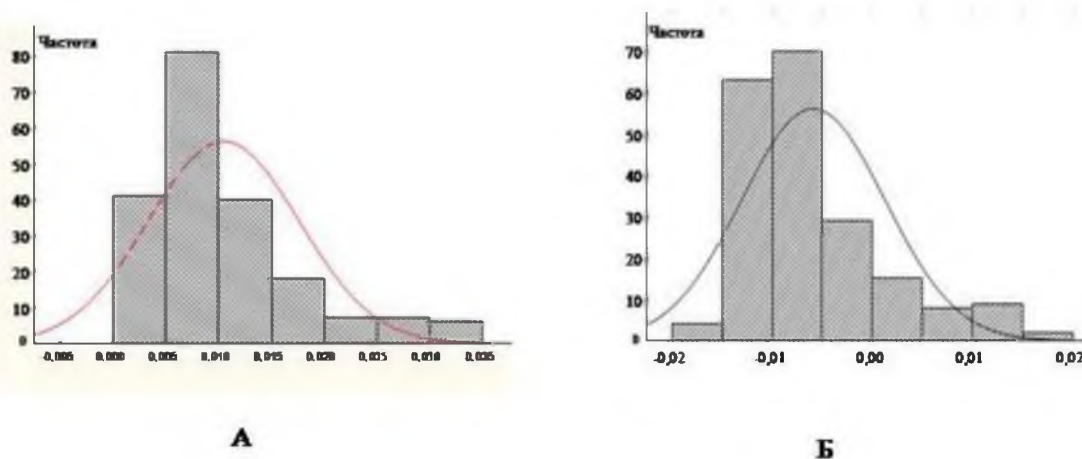


Рис. 2. Гистограммы прокрустовых дистанций одной из популяций (№1):
 А – гистограмма полной выборки; отклонение от нормальности ($K-S$ тест, $p < 0.01$); Б – гистограмма после вычитания среднего, направленная асимметрия, нормальное распределение частот, $K-S$ тест, $p > 0.01$

Fig. 2. Histograms of Procrustes distance of one of the populations (№1):
 А – histogram of the full sample; deviation from normality ($K-S$ test, $p < 0.01$); В – histogram after subtraction of arithmetic mean, normal distribution, $K-S$ test, $p > 0.01$

Фактически три показателя: эксцесс, коэффициент вариации и дисперсия НА имели корреляционную зависимость (Spearman's $r = 0.8-0.99$, $p < 0.05$).



Усредненное значение прокрустовых дистанций оставляет правую половину графика для нахождения дисперсии направленной асимметрии. Удвоенное значение оставляет преимущественно крупные по размеру прокрустовы дистанции листовых пластин поэтому не использовались.

Проверка на нормальность показала нормальное распределение получаемых остатков ($K-S$ test, $p > 0.01$), что характерно для направленной асимметрии.

Резюмируя сказанное, разделение направленной асимметрии и флуктуирующей асимметрии пока не представляется возможным. Описанный метод служит косвенным способом тестирования «скрытой НА» (термин Stig et al.) [Palmer, Strobeck, 1998; Stig et al., 2006; Costa et al., 2015].

Представляется также логичным использование таких статистик как асимметричность выборки, коэффициент вариации с проверкой на нормальность распределения, а при множественном сравнении – Левине тест (Levene test) на гетерогенность дисперсии.

Правосторонность гистограммы логично рассматривать как обычное явление, т. к. крупные экземпляры встречаются реже, чем мелкие, что характерно для популяций или для листовых пластин в кроне дерева из-за конкуренции за освещенность.

Направленная асимметрия встречалась в подавляющем числе случаев. Этот вид асимметрии проявлялся как статистически значимый в шести из девяти популяций (см табл. 3; 4–9-ая строки; $p < 0.01-0.0001$).

Чтобы проследить визуально локализацию НА и ФА в смеси этих видов асимметрии были выбраны листовые пластины популяций №4 с наибольшим содержанием направленной асимметрии (Гудолла $F = 47.2$; $p < 0.0001$) и среднего квадрата фактора «сторона» и проведен канонический ковариационный анализ с воспроизведением тонких деформационных пластин в программе SAGE.

Картина деформации тонкой решетки показывает присутствие по основному принципиальному компоненту, как направленной асимметрии, так и флуктуирующей асимметрии. Характерно, что деформация решетки локализована в одном месте в левой стороне листовой пластины. Такая точечная локализация указывает на весьма тесную связь НА с ФА, фактически картины деформационной решетки неотличимы (рис. 3).

Популяция № 7 с максимальным содержанием направленной асимметрии ($\sigma_{da} > 80\%$) показала левостороннюю направленную асимметрию, но правостороннее искривление во флуктуирующей асимметрии (рис. 4).

Можно выделить четыре случая сочетания НА и ФА. Правостороннее проявление НА и ФА, левостороннее проявление НА и ФА. Третий случай – противоположное транс проявление ФА и ДА, включающий два возможных варианта. Следовательно, рандомное воздействие факторов на интактную популяцию вызывает в половине случаев сочетание двух видов асимметрии.

Картина криволинейного 2-хмерного пространства тонкой решетки показывает присутствие направленной асимметрии, и разложение на принципиальные компоненты дисперсии прокрустовых остатков дает преимущество перед статистическим вероятностным методом, реализованным на определенном уровне значимости.

Усечение прокрустовых дистанций может вызывать сомнения, т. к. направленная асимметрия – это не только популяционный, но и индивидуальный тип асимметрии, что практически и затрудняет точное определение доли направленной асимметрии. Альтернативой может быть использование медианы, т. е. значения, лежащего в середине выборки значений, располагаемых по возрастанию. Основанием этого может служить то, что медиана лежит левее, чем среднее арифметическое. Экстрагирование величины медианы лишь частично способствует нормализации, при этом остаток становится больше, и величина дисперсия доли направленной асимметрии повышается.

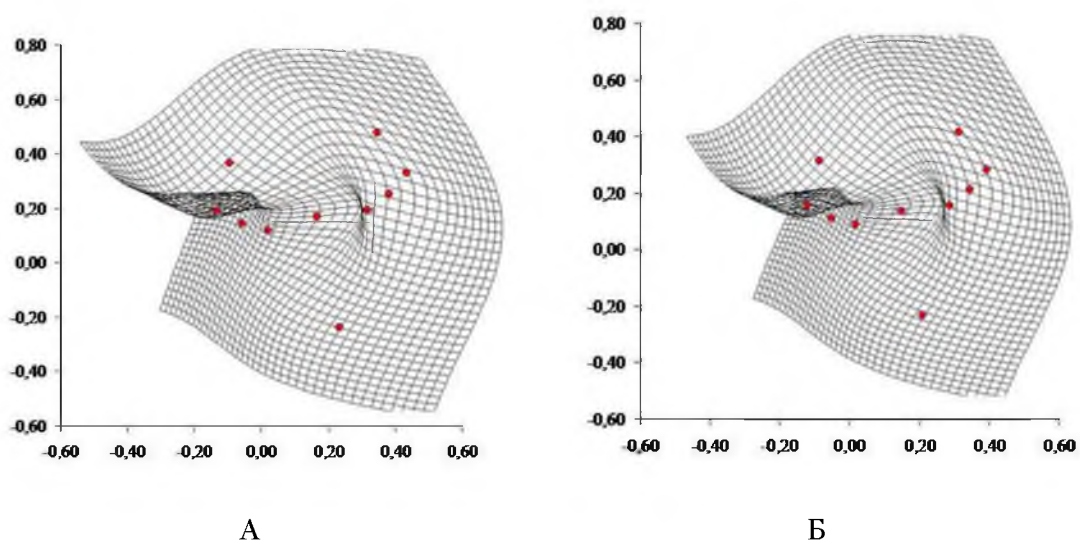


Рис. 3. А – пример левосторонней направленной асимметрии в виде складчатости в двухмерном пространстве на уровне 4–5-ой меток на левой стороне листовой пластины; Б – флуктуирующая асимметрия. В обоих случаях использован первый принципиальный компонент, объясняющий большую часть вариации (более 73%) дисперсии прокрустовых остатков (популяция № 4, см. табл.)

Fig. 3. A – sample of left sided directional asymmetry, viewed in the 2D space folding on the level of 4–5th landmarks on the leaf plate’s left side; B – fluctuating asymmetry. First principal component explaining most part of variety (more 70%) of the variance of Procrustes residuals

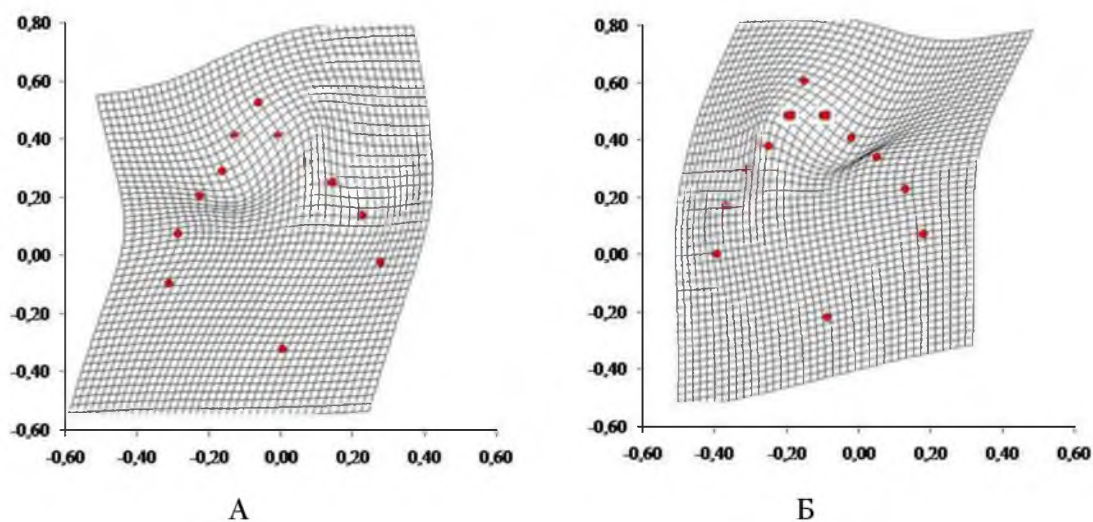


Рис. 4. Пример разностороннего проявления ФА (А) и НА (Б), популяция № 7, первый принципиальный компонент, ковариационный анализ

Fig.4. Sample of different side (trans) effect of FA on the left side (A) and DA on the right side (B), population № 7, first principal component of covariation analyses

Смесь ФА и НА отражает смесь генетического и средового компонентов асимметрии. Сам метод Прокрустова дисперсионного анализа позволяет определять фенетические и генетические свойства популяции качественно иным подходом, что



является объяснимым из-за высокой мощности и точности анализа [Павлинов, Микешина, 2002; Klingenberg, 2002; Savriama, Klingenberg, 2011; Beasley et al., 2013].

Присутствие направленной асимметрии вносит повышение гетерогенности в дисперсию общей асимметрии. Этот факт подтверждают работы, полученные как линейными методами, так и морфогеометрическим методом [Costa et al., 2015]. Изучение направленной асимметрии представляет интерес для феногенетики, учитывая способность к наследованию НА, что является, впрочем, дискуссионным. В настоящей работе было проведено определение доли содержания НА в общей асимметрии. Направленная асимметрия составила до 81% от общей дисперсии асимметрии. Соответственно, ФА как характеристика формы занимала до 58%, что говорит о преимущественном влиянии генотипа в интактных популяциях.

Не было получено четкого соответствия между величиной критерия Гудолла и видимой картины искривления/деформации тонких пластин, в случае смеси НА и ФА. Это может быть следствием смещения (bias) в величине ФА в присутствии направленной асимметрии. Величина критерия F направленной асимметрии, как и средний квадрат MS также имеют не желательные смещения в величине и не позволяют оценить величину и этого типа асимметрии.

Скрытая направленная асимметрия была значима в однофакторном дисперсионном анализе ($p < 0.000$; $F = 4.7-150.5$). В этих популяциях величина ФА, естественно, должна быть скорректирована. Вопрос корректировки обсуждался подробно во многих работах, как при традиционном методе линейного определения ФА [Graham, 1998; Vasil'ev et al., 2008], так и в работах по морфогеометрическому определению стабильности развития [Klingenberg, 2002, Costa et al., 2015]. В большинстве случаев определяется лишь доля дисперсии каждого вида асимметрии. В настоящей работе из шести выборок, две показали правостороннюю направленную асимметрию и четыре левостороннюю.

Заключение

Судя по результатам возрастающего числа работ по эпигенетическому (эпигенетический неаддитивный эффект) характеру наследования, адаптации и проявления видов асимметрии, направленная асимметрия представляется как важный фактор воздействующий на стабильность развития на генетическом уровне [Freeman et al., 1993; Leamy, Klingenberg, 2006; Васильев, Васильева, Большаков, 2010].

Несомненным преимуществом Прокрустова анализа является более точное тестирование присутствия направленной асимметрии, скрытого в тривиальном анализе ФА по нормирующей формуле. Сказанное позволяет считать Прокрустов анализ мощным инструментом в феногенетическом анализе популяций древесных растений.

Направленная асимметрия в большой доле случаев являлась спутником ФА, следовательно, подтверждается гипотеза о сопряженности средового и генетического эффекта, что представляет общебиологический интерес. Обследованные популяции следует отнести к интактным, относительно свободным от стресса среды, поэтому будущие работы будут направлены на обследование феногенетической изменчивости импактных популяций древесных растений, испытывающих стресс. В феногенетическом аспекте результаты могут служить основанием использования морфогеометрического метода для поиска феногенетических маркеров в целях анализа качества генотипа и окружающей среды.

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам ВлГУ, оказавшим помощь в сборе коллекционного материала, и коллегам за советы и помощь в области морфогеометрического анализа билатеральной асимметрии.



Список литературы References

1. Баранов С.Г., Зыков И.Е., Федорова Л.В. 2015. Изучение внутривидовой изменчивости липы мелколистной (*Tilia cordata* Mill.) на основе билатеральной асимметрии листовых пластин. Вестник Томского государственного университета. Биология, (2): 134–145.
Baranov S.G., Zykov I.E., Fedorova L.V. 2015. The study of intraspecific variation of linden (*Tilia cordata* Mill.) on the basis of bilateral asymmetry of leaf plates. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologija [Tomsk State University Journal of Biology], (2): 134–145. (in Russian)
2. Большаков В.Н., Васильев А.Г., Васильева И.А., Городилова Ю.В., Чибиряк М.В. 2015. Сопряженная биотопическая изменчивость ценопопуляций симпатрических видов грызунов на южном Урале. Экология, (4): 265–271.
Bol'shakov V.N., Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Gorodilova Ju.V., Chibirjak M.V. 2015. Coupling biotopic cenopopulations variability of sympatric species of rodents in the southern Urals. Jekologija [Russian Journal of Ecology], (4): 265–271. (in Russian)
3. Васильев А.Г., Васильева И.А. 2009. Феногенетический мониторинг импактных популяций растений и животных в условиях антропогенного пресса. Научные ведомости БелГУ. Естественные науки, 8 (3): 5–12.
Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A. 2009. Phenogenetically monitoring of impact populations of plants and animals under conditions of anthropogenic pressure. Nauchnye vedomosti BelGU. Estestvennye nauki [Belgorod State University Scientific Bulletin. Natural sciences], 8 (3): 5–12. (in Russian)
4. Васильев А.Г., Васильева И.А., Большаков В.Н. 2010. Эволюционно-экологический анализ закономерностей феногенетической изменчивости гомологичных морфоструктур: от популяций до экологических рядов видов. Экология, (5): 1–8.
Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Bol'shakov V.N. 2010. Evolutionary ecological analysis of patterns of morphological structures of homologous phenogenetically variability from population to species environmental series. Jekologija [Russian Journal of Ecology], (5): 1–8. (in Russian)
5. Войта Л.Л., Омелько В.Е., Петрова Е.А. 2013. Анализ морфометрической изменчивости и внутривидовой структуры крошечной бурозубки *Sorex minutissimus* Zimmermann, 1780 (lipotyphla: soricidae) на территории России. Труды Зоологического института РАН, 317 (3): 332–351.
Vojta L.L., Omel'ko V.E., Petrova E.A. 2013. Morphometric analysis of intraspecific variability and structure of the tiny shrew *Sorex minutissimus* Zimmermann, 1780 (lipotyphla: soricidae) in Russia. Trudy Zoologicheskogo instituta RAN [Proceedings of the Zoological Institute RAS], 317 (3): 332–351. (in Russian)
6. Жуков А.В., Штирц Ю.А., Жуков С.П. 2011. Оценка методами геометрической морфометрии морфологической изменчивости листовых пластинок *Betula pendula* Roth в экосистемах с различной степенью антропогенной трансформации. Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону, 1 (11):128–134.
Zhukov A.V., Shtirc Ju.A., Zhukov S.P. 2011. Estimation of geometric morphometric methods of morphological variability of lamina *Betula pendula* Roth in ecosystems with varying degrees of anthropogenic transformation. Problemi ekologії ta ohoroni prirodi tehnogennoho regionu, 1 (11): 128–134. (in Russian)
7. Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т. 2000. Здоровье среды: методика оценки. М., Центр экологической политики России, 68.
Zaharov V.M., Baranov A.S., Borisov V.I., Valeckij A.V., Krjazheva N.G., Chistjakova E.K., Chubinishvili A.T. 2000. Zdorov'e sredy: metodika ocenki [Environmental Health: assessment methodology]. Moscow, Centr jekologicheskoy politiki Rossii, 68. (in Russian)
8. Зорина А.А., Коросов А.В. 2009. Изменчивость показателей и индексов асимметрии признаков листа в кроне *Betula pendula* (Betulaceae). Ботанический журнал, 94 (8): 1172–1192.
Zorina A.A., Korosov A.V. 2009. Volatility indicators and indices of asymmetry features leaves in the crown of *Betula pendula* (Betulaceae). Botanicheskij zhurnal, 94 (8): 1172–1192. (in Russian)
9. Иванов В.П., Иванов Ю.В., Марченко С.И., Кузнецов Вл.В. 2015. Использование индексов флуктуирующей асимметрии листа березы повислой для диагностики состояния фитоценозов. Физиология растений, 62 (3): 368–377.
Ivanov V.P., Ivanov Ju.V., Marchenko S.I., Kuznecov Vl.V. 2015. Using indexes of fluctuating asymmetry birch of leaf drooping to diagnose the state of phytocenoses. Fiziologija rastenij, 62 (3): 368–377. (in Russian)



10. Павлинов И.Я., Микешина Н.Г. 2002. Принципы и методы геометрической морфометрии. Журнал общей биологии, 63 (6): 473–493.
Pavlinov I.Ja., Mikeshina N.G. 2002. Principles and methods of geometric morphometrics. Zhurnal obshhej biologii [Biology Bulletin Reviews], 63 (6): 473–493. (in Russian)
11. Baranov S.G., Zykov I.E., Fedorova L.V. 2014. Developmental Stability Study of *Quercus Robur*: Industrial and Abiotic Factors Influence. Advances in Environmental Biology, 8 (17): 102–109.
12. Beasley, D.A.E., Bonisoli-Alquati, A., Mousseau, T.A. 2013. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. Ecological Indicators, 30: 218–226.
13. Costa M., Mateus R., Moura M. 2015. Constant fluctuating asymmetry but not directional asymmetry along the geographic distribution of *Drosophila antonietae* (Diptera, Drosophilidae). Revista Brasileira de Entomologia, 59: 337–342.
14. Freeman C.D., Graham J.H., Emlen J.M. 1993. Developmental stability in plants: Symmetries, stress and epigenesis. Genetica, 89 (1): 97–119.
15. Graham J. 1998. Directional asymmetry and the measurement of developmental instability. Biological Journal of Linnean Society, 64: 1–16.
16. Graham J., Mattie J. Whitesell, Mark Fleming II, Hagit Hel-Or, Eviatar Nevo and Shmuel Raz. 2015. Fluctuating Asymmetry of Plant Leaves: Batch Processing with LAMINA and Continuous Symmetry Measures. Symmetry, 7 (1): 255–268.
17. Hurlbert S.H. 2004. On misinterpretations of pseudoreplication and related issues: a reply to Oksanen. Oikos, 104: 591–597.
18. Klingenberg C.P. 2015. Analyzing Fluctuating Asymmetry with Geometric Morphometrics: Concepts, Methods, and Applications. Symmetry, 7: 843–934. DOI:10.3390/sym7020843.
19. Klingenberg C.P. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. Evolution, 56 (10): 1909–1920.
20. Kovaleva Vera Yu., Efimov Vadim M., Litvinov Yuri N. 2013. Directional asymmetry of morphological traits during postnatal ontogeny in root vole *Microtus oeconomus* Pall. (Rodentia, Cricetidae). Journal of Siberian Federal University. Biology, 2 (6): 115–129.
21. Leamy L.J., Klingenberg C. 2005. The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. Annual Review of Ecology and Systematics, 36: 1–21. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152640.
22. Oksanen L. 2004. The devil lies in details: reply to Stuart Hurlbert. Oikos, 104: 598–605.
23. Palmer A.R., Strobeck C. 2003. Fluctuating asymmetry analyses revisited. In: Developmental Instability, Causes and Consequences. Oxford, Oxford University Press: 279–319.
24. Palmer A.R., Strobeck C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. Annual Review of Ecology and Systematics, 17: 391–421.
25. Savriama Y., Klingenberg C. 2011. Beyond bilateral symmetry: geometric morphometric methods for any type of symmetry. BMC Evolutionary Biology, 11: 280.
26. Stige L.C., David B., Alibert P. 2006. On hidden heterogeneity in directional asymmetry – can systematic bias be avoided? Journal of Evolutionary Biology, 19: 492–499.
27. Vasil'ev A.G., Vasil'eva I.A., Marin Yu.F. 2008. Phenogenetic monitoring of the weeping birch (*Betula pendula* Roth.) in the Middle Urals: Testing a new method for assessing developmental instability in higher plants. Russian Journal of Ecology, 39 (7): 483–489.
28. Viscosi V., Cardini A. 2011. Leaf Morphology, Taxonomy and Geometric Morphometrics: A Simplified Protocol for Beginners. PLoS ONE, 6 (10): 25630. DOI:10.1371/journal.pone.0025630.