

## Содержание

Введение .....	3
1. Обзор литературы .....	5
1.1 Флуктуирующая асимметрия как биоиндикационный параметр .....	7
1.1.1 Явление флуктуирующей асимметрии как один из типов асимметрии .....	7
1.2 Понятие симметрии и асимметрии .....	8
1.3 История исследований случайной изменчивости .....	10
1.4 Характеристика флуктуирующей асимметрии как общебиологическое явление .....	15
1.4.1 Влияние различных факторов на уровень флуктуирующей асимметрии .....	19
1.4.2 Флуктуирующая асимметрия как показатель стабильности развития .....	21
1.5 Практическое использование флуктуирующей асимметрии для целей биоиндикации .....	22
1.5.1 Применение оценки уровня флуктуирующей асимметрии как индикатора различных антропогенных воздействий .....	25
1.5.2 Комплексный подход к оценке воздействия антропогенных факторов на стабильность развития живых организмов различных систематических групп .....	28
1.6 «Удостоверение» флуктуирующей асимметрии .....	29
1.7 Ботаническое описание вида-Береза повислая ( <i>Betula pendula</i> Roth) .....	31
1.8 Проведение измерений изучения флуктуирующей асимметрии листа .....	31
2. Материалы и методы .....	34
2.1 Метод учета степени флуктуирующей асимметрии .....	34
3. Результаты и их обсуждение .....	37
Выводы .....	41
Список литературы .....	42

## Введение

Критический анализ работ, посвященных изучению флуктуирующей асимметрии (ФА) листьев растений и опубликованных в России за последние годы, показал, что большинство исследований основывается на недостаточно обоснованных предположениях, выполнено на низком методическом уровне и не содержит необходимой информации для использования полученных результатов в последующих теоретических обобщениях. Вопреки широко распространенной точке зрения, не существует достаточных оснований для практического использования ФА в целях биоиндикации. Для обоснования биоиндикационной значимости ФА необходимо исследование причинно-следственных связей между ФА и действием на растения различных стрессоров в условиях контролируемого эксперимента. Получение корректных оценок ФА требует высокой точности измерений, повторных замеров каждого объекта и проведения замеров "вслепую". Обсуждаются перспективные направления исследований по ФА растений; даны рекомендации по планированию исследований, статистическому анализу данных и представлению результатов в научных публикациях.

Флуктуирующая асимметрия (ФА) формообразующих количественных характеристик у билатерально симметричных листьев растений (включая березу) широко используется для биоиндикации существующего отрицательного влияния на организм растения биотических и абиотических факторов. С помощью разработанных разными авторами шкал количественные показатели ФА листа березы позволяют оценить относительное качество окружающей среды. Для оценки асимметрии листа требуется проведение трудоемких измерений многих размерных показателей на левой и правой частях листа, количество промеренных листьев должно быть достаточным для последующего статистического анализа, обычно от пятидесяти до ста штук.

**Целью данного исследования** было совершенствование метода оценки состояния окружающей среды основе регистрации параметров флуктуирующей асимметрии применительно к листу березы.

**Задачи исследования:**

- Увеличить точность измерений измерения параметров для расчета флуктуирующей асимметрии правой и левой половинки листа.

- Использовать для расчета параметров цифровые изображения с последующим определением линейных морфологических показателей на основе предложенного алгоритма.

- Предложить алгоритм для метода расчета коэффициентов флуктуирующей асимметрии листа березы на основе анализа цифрового изображения с применением аналитической геометрии.

## 1 Обзор литературы

Основным индикатором устойчивого развития, в конечном итоге, является качество среды обитания. Для объективного заключения о качестве среды необходима интегральная характеристика ее состояния, т.е. оценка всего комплекса воздействий всех факторов в их взаимодействии, взаимовлиянии и суммарном влиянии на природные объекты.

Возможность интегральной характеристики качества среды, находящейся под воздействием всего многообразия физических, химических и других факторов, дает только биологическая оценка. Поэтому на современном этапе обращает на себя внимание бурное развитие методов биомониторинга как единственного подхода адекватной оценки состояния биологических и экологических систем (Егорова, Белолипецкая, 2000; Евсева, Гераськин, 2000).

Опасность антропогенных стрессоров состоит, прежде всего, в том, что биологические системы (будь то организмы, популяции или биогеоценозы) недостаточно к ним адаптированы. Антропогенные стрессоры создаются с такой скоростью, что эти системы часто не успевают активизировать соответствующие адаптационные процессы. Многие антропогенные факторы среды потому и становятся опасными для живого, что крайне отличны по величине, интенсивности, продолжительности и моменту воздействия от той обычно существующей в природе нормы, к которой адаптированы биологические системы. Кроме того, в городе на организм воздействует не один стрессор, а всегда наблюдается целый комплекс нарушающих равновесие факторов.

Докладом Б.А. Ревича «Горячие точки» химического загрязнения окружающей среды и здоровье населения России», сделанном в Общественной палате РФ, Красноярский край признан территорией находящейся в зоне влияния выбросов токсичных веществ, которая привела к высокому уровню загрязнения атмосферного воздуха (Ревич, 2007).

Таким образом, продолжающийся мониторинг качества среды Красноярска и других территорий края представляется достаточно актуальным. Известно, что различные районы такого города, каким является Красноярск, могут существенно отличаться по показателям качества среды. Поэтому мониторинг необходимо проводить в различных районах города. Обычно это очень дорогие, энергозатратные исследования с созданием диагностических лабораторий, требующие постоянного наблюдения, чтобы выявить динамику изменения экосистемы. Однако в последние годы интенсивно развивается новое научное направление - биоиндикация. Одной из ее составляющих является фитоиндикация, в частности - дендроиндикация, т.е. оценка воздействия антропогенных факторов на экосистему осуществляется по изменению морфологических параметров ассимиляционного аппарата — листа древесных и кустарниковых пород.

Важность оценки состояния природных популяций растений состоит в том, что именно растения являются основными продуцентами, их роль в экосистемах трудно переоценить (Захаров и др., 2001). Являясь доминирующим компонентом биосферы, растения постоянно входят в прямой и опосредованный контакт со всем многообразием мутагенов (Илькун, 1978; Кряжева и др., 1996; Чистякова, Кряжева, 2001).

Особенностью подобной методологии, названной Захаровым и соавторами БИОТЕСТ (Захаров и др., 2000) является то, что исследуются организмы разных таксономических групп, а интегральным показателем их благополучия предлагается считать эффективность физиологических процессов, обеспечивающих нормальное развитие организма. Одним из методов морфологического подхода БИОТЕСТА является оценка уровня флуктуирующей асимметрии (ФА) билатеральных морфологических признаков растений и животных (Гелашвили и др., 2008; Захаров и др., 2000).

Стабильность развития, т.е. способность организма функционировать без отклонений от нормы, является чувствительным показателем состояния

природных популяций. В свою очередь, оценка флуктуирующей асимметрии (ФА) представляет собой и способ формализации степени этих отклонений.

## **1.1 Флуктуирующая асимметрия как биоиндикационный параметр**

### **1.1.1 Явление флуктуирующей асимметрии как один из типов асимметрии**

Как писал Г. Вейль в 20 веке в своей книге «Этюды о симметрии», симметричное означает нечто, обладающее хорошим соотношением пропорций, а симметрия - тот вид согласованности отдельных частей, который объединяет их в целое. Красота тесно связана с симметрией, свойственное неживой и живой материи на разных уровнях организации, он ссылается при этом не только на пространственные соотношения, т. е. геометрическую симметрию. Разновидностью симметрии он считает гармонию музыки, указывающую на акустические приложения симметрии (Вейль, 1968).

Анализу этого явления в живом мире посвящено большое количество работ, затрагивающих разные аспекты: философский (Урманцев, 1974; Готт, Хоменко, 1977; Никонов, 1977; Петухов, 1981, Толстопятенко, 1993, 1994), общебиологический (Ludwig, 1932; Гаузе, 1940; Касинов, 1973; Neville, 1976), конкретные проявления у различных организмов (Danforth, 1924; Colyer, 1951; Yamaguchi, 1977; Vermeij, 1977; Dunham, 1981; Govind, 1984) и т.д.

Ввиду того, что данная работа посвящена анализу листовой пластинки березы повислой (*Betula pendula* Roth.), ограничим рассмотрение симметрии билатеральным типом этого явления, характерным для подавляющего большинства листовых пластинок растений (Урманцев, 1960; Урманцев, 1961). Подобная ограниченность форм симметрии листьев растений ярко демонстрирует принцип, сформулированный П.Кюри: рост наклонно и по горизонтали порождает единственную плоскость симметрии (Curie, 1908).

Ввиду различных причин (эволюционные приспособления, особенности онтогенетического развития) в строении живых тел возникают различные отклонения от строгой билатеральной симметрии – называемые асимметрией.

Наиболее распространенной и часто используемой в настоящее время является классификация Ван Валена (VanValen, 1962), предложившего все многообразие проявлений асимметрии разделить на три основных типа:

1. Направленная асимметрия, охватывающая круг явлений, когда в норме какая-то структура развита на одной определенной стороне больше чем на другой.

2. Антисимметрия, характеризуемая большим развитием структуры то на другой стороне тела, соответствует отрицательной связи между сторонами.

3. Флуктуирующая асимметрия являющиеся результатом неспособности организмов развиваться по точно определенным путям, которая может быть определена по нормальному распределению относительно нуля различий между сторонами, взятых со знаком.

## 1.2 Понятие симметрии и асимметрии

Симметрия (греч. *συμμετρία* «соразмерность») в биологии - это закономерное расположение подобных (одинаковых, равных по размеру) частей тела или форм живого организма, совокупности живых организмов относительно центра или оси симметрии.

Асимметрия (греч. *ασυμμετρία*) - отсутствие симметрии. Иногда этот термин используется для описания организмов, лишённых симметрии первично, в противоположность диссимметрии - вторичной утрате симметрии или отдельных её элементов.

Понятия симметрии и асимметрии альтернативны. Чем более симметричен организм, тем менее он асимметричен и наоборот. Строение тела многих многоклеточных организмов отражает определённые формы

симметрии, радиальную или билатеральную. Небольшое количество организмов полностью асимметричны. При этом следует различать изменчивость формы (например у амёбы) от отсутствия симметрии. В природе и, в частности, в живой природе симметрия не абсолютна и всегда содержит некоторую степень асимметрии. Например, симметричные листья растений при сложении пополам в точности не совпадают.

Среди элементов симметрии различают следующие:

- плоскость симметрии - плоскость, делящая объект на две равные (зеркально симметричные) половины;
- ось симметрии - прямая линия, при повороте вокруг которой на некоторый угол, меньший  $360^\circ$ , объект совпадает сам с собой;
- центр симметрии - точка, делящая пополам все прямые линии, соединяющие подобные точки объекта.

Обычно через центр симметрии проходят оси симметрии, а через ось симметрии - плоскости симметрии. Однако существуют тела и фигуры, у которых при наличии центра симметрии нет ни осей, ни плоскостей симметрии, а при наличии оси симметрии отсутствуют плоскости симметрии.

Кроме этих геометрических элементов симметрии, различают биологические:

- антимеры - симметрично повторяющиеся вокруг главной оси;
- радиус - плоскость симметрия антимера;
- интеррадиус - плоскость, проходящая между соседними антимерами;
- метамеры - повторяющиеся участки, расположенные вдоль продольной оси тела организма.

У биологических объектов встречаются следующие типы симметрии:

- сферическая симметрия - симметричность относительно вращений в трёхмерном пространстве на произвольные углы.
- аксиальная симметрия (радиальная симметрия, симметрия вращения неопределённого порядка) - симметричность относительно поворотов на произвольный угол вокруг какой-либо оси.



- двусторонняя (билатеральная) симметрия - симметричность относительно плоскости симметрии (симметрия зеркального отражения).

- трансляционная симметрия - симметричность относительно сдвигов пространства в каком-либо направлении на некоторое расстояние (её частный случай у животных - метамерия).

- триаксиальная асимметрия - отсутствие симметрии по всем трём пространственным осям (Заренков, 2009).

### **1.3 История исследований случайной изменчивости**

Принято считать, что ФА возникает в результате ослабления способности организма контролировать развитие в условиях генетического или экологического стресса (Palmer, Strobeck, 1986; Захаров, 1987; Møller, Swaddle, 1997).

История исследования более подробно рассмотрена в работе Д. Л. Лайуса с соавт. (2009). Он писал, что большинство исследователей, изучающих ФА, в качестве первых исследований цитируют несколько публикаций конца 1950-х — начала 1960-х годов (Beadmore, 1960; Reeve, 1960; Thoday, 1958.).

Однако, изучение случайной изменчивости началось гораздо раньше — более века назад — с работ Карла Пирсона, которого она интересовала в первую очередь в контексте общих проблем наследственности (Лайус, 2003). Что же касается популяционного направления исследований ФА, то они начались в 20-х годах XX в. Сьюэл Райт, впоследствии один из основателей синтетической теории эволюции, опубликовал результаты опытов по инбридингу морских свинок (Wright, 1920), где он изучал вклад наследственности и среды в признаки окраски меха. В аутбредных линиях наследственность объясняла 42 % вариации цвета, а среда — всего 1 %. Остальные 57 % Райт объяснил «нерегулярностью развития». Таким образом, Райт первым выделил случайную изменчивость (называя ее «нерегулярностью развития») как самостоятельный источник фенотипической изменчивости.

Практически в то же самое время были проведены первые исследования собственно ФА. Ф. Самнер и Р. Хьюстис обнаружили, что у оленьих мышей (*Peromyscus maniculatus*) асимметрия у животных, выращенных в условиях эксперимента была ниже, чем у диких, а у гибридов первого поколения — ниже, чем у гибридов второго (Sumner, 1921). Кроме того, уровень асимметрии потомства не был связан с уровнем асимметрии родителей. Таким образом, впервые было показано, что стабильность развития зависит как от генетических особенностей организма, так и от внешних условий. При этом авторы не считали, что они имели дело с особым типом фенотипической изменчивости. Они писали: «Мы не считаем, что есть какое-либо существенное различие между этой изменчивостью и той, которая проявляется в различиях в размере или количестве частей» (Sumner, Huestis, 1921). Таким образом, это исследование очень интересное с точки зрения экспериментального дизайна не получило адекватного теоретического обоснования.

В России первое исследование ФА выполнил Н. В. Тимофеев-Ресовский, который изучал проявление изменчивости признака *aradius incompletus* (неполная жилка на крыле) у дрозофилы. Этот признак проявлялся не у всех особей одной и той же линии при одних и тех же условиях, а только у некоторых. Поэтому Тимофеев-Ресовский сделал заключение, что «... как и всякое природное явление, механизм индивидуального развития имеет определенную изменчивость...» (Тимофеев-Ресовский, 1925). Еще больше внимания этой изменчивости уделил Б. Л. Астауров, который использовал для своих исследований, кроме традиционной дрозофилы, на которой он изучал билатеральную асимметрию, также метамерные структуры в гомологичных сегментах (щетинки у полихет и многоножек) и данные по однойцевым близнецам. В результате, Астауров сделал вывод о том, что любой «... процесс формирования организма имеет некоторую независимую изменчивость, которая не может быть сведена ни к генетическим различиям, ни к прямому влиянию среды» (Астауров, 1974).

Позже Астауров писал, что эта изменчивость для биологических явлений имеет значение, едва ли уступающее тому, которое имеют случайности в области физики микромира (Астауров, 1971).

Астауров касался и возможных причин изменений уровня случайной изменчивости. Он отмечал, что у одомашненных животных уровень асимметрии гораздо выше, 100 чем у диких, это он объяснял тем, что «приноровленность свободноживущих животных к определенным условиям существования без сомнения делает необходимым возможно большее постоянство организации в определенных условиях среды и точность в реактивных изменениях этой организации в ответ на любые изменения условий» (Астауров, 1974).

Таким образом, здесь Астауров вплотную подошел к вопросу об использовании случайной изменчивости для оценки состояния популяции, т. е. к проблеме, оказавшейся ключевой для исследователей стабильности развития во второй половине XX в.

Притом, как и все предыдущие исследования, работы Астаурова остались невостребованными современниками. Намного позже, в 1970-х годах Астауров писал: «Порой же работы появлялись как бы в безвоздушном пространстве и повисали в невесомости; их потенциальный заряд оставался нерастраченным. Будучи по существу жизнеспособными, они оставались мертворожденными. Содержавшиеся в них семена дальнейших исследований падали на бесплодную почву и оставались лежать непроросшими. Я надеюсь, однако, что в своем анабиозе они еще сохранили жизнь и, быть может, еще смогут прорасти». (Астауров, 1978).

«Проращение» идей Астаурова шло очень медленно. Бесплодной почвой, о которой он говорил, являлся редуccionизм, который определял главную линию развития зарубежной генетики (Roll-Hansen 1978). В нашей же стране, несомненно, принятию и развитию идей Астаурова помешали в первую очередь события, связанные с лысенковщиной. Позднее интерес к ним действительно возродился (Струнников, Вышинский, 1991). В самые

последние годы намечается очевидный рост интереса к исследованиям случайной изменчивости и в более широком контексте. С. Г. Инге-Вечтомов (Инге-Вечтомов, 2005) пишет о том, что современные исследования, продолжающие направления работ Астаурова, рассматриваются как одно из самых серьезных достижений генетики. Случайной изменчивости, в частности, посвящены относительно недавние публикации в журнале “Nature” (Roll-Hansen, 1978; Blake, Кает, Cantor, Collins, 2003).

Несмотря на то, что Астауров обосновал самостоятельность случайной изменчивости и даже вплотную подошел к идее оценки с ее помощью стабильности развития, современные исследования в этой области берут начало от других работ — от работ известного английского биолога К. Уоддингтона (Waddington, 1940; Waddington, 1957) и российского эволюционного морфолога И. И. Шмальгаузена (Шмальгаузен, 1938; Шмальгаузен, 1968). Уоддингтон занимался генетической регуляцией развития и предложил термины «канализация развития», «гомеостаз развития» и «стабильность развития». Шмальгаузен разработал концепцию стабилизирующего отбора. На концепции Уоддингтона основывал свои эксперименты К. Мазер, опубликовавший работу «Генетический контроль стабильности развития», которую чаще всего цитируют как первое исследование по ФА (Mather, 1953).

Вскоре после этого появилось несколько экспериментальных работ (Beadmore, 1960; Reeve, 1960; Tebb, Thoday, 1954; Thoday, Balance, 1955). Таким образом, как только необходимые теоретические предпосылки были созданы, резко возросло количество эмпирических исследований. И в дальнейшем именно это направление — использование анализа случайной изменчивости для оценки состояния популяции, развивалось наиболее динамично. Д.Л. Лайуса с соавт. (2009).

Первые работы, в результате которых были обнаружены повышенные значения ФА у различных организмов из нарушенных местообитаний, послужили основой для многочисленных рекомендаций использовать ФА для

индикации уровней стресса, испытываемого растениями и животными (Zakharov, 1990; Clarke, 1992; Parsons, 1992; Freemanetal, 1993; Захаров, Кларк, 1993; Захаров и др., 2000; Hume, 2001). В России эти рекомендации получили силу нормативного документа (Методические..., 2003), что достаточно необычно для методик экологических исследований. Насколько нам известно, в других странах подобные официально рекомендованные методики отсутствуют.

Широкая популяризация исследований, основанных на измерении ФА, привела к тому, что (по авторской оценке) к настоящему времени российские ученые опубликовали не менее 500 работ по данной тематике. Электронная библиотека (eLIBRARY.RU) включает 303 статьи, вышедшие на русском языке в 2001–2014 гг. и содержащие словосочетание “флуктуирующая асимметрия”. Активность российских исследователей в этой области быстро растет: в 2010–2014 гг. (по данным eLIBRARY.RU) в среднем за год выходило 45 статей по сравнению с 8 работами в 2001–2009 гг.; при этом примерно половина публикаций посвящена исследованию ФА растений. Однако интенсивное накопление данных не сопровождается их анализом: показательно отсутствие как серьезных обзоров (за исключением Лайус и др., 2009), так и каких-либо теоретических обобщений.

#### 1.4 Характеристика флуктуирующей асимметрии как общебиологическое явление

Флуктуирующая асимметрия крайне широко распространенное явление.

Им охвачены практически все билатеральные структуры у самых разных живых существ. Понятно, что невозможно подвергнуть анализу известные признаки всех билатерально - симметричных структур, но у исследованных флуктуирующая асимметрия регистрировалась (Захаров, 1987). Более того, это явление имеет место даже при иных типах асимметрии, в этом случае она представляет собой отклонения не от строгой симметрии, а от определенной средней симметрии.

По форме выражения она представляет собой незначительные отклонения от строгой билатеральной симметрии, а наблюдаемые отклонения, скорее могут быть отнесены к случайным нарушениям развития, чем к направленным изменениям. Соответственно, эти незначительные отклонения не несут функциональной значимости, и находятся в пределах определенного люфта, допускаемого естественным отбором.

Флуктуирующая асимметрия есть проявление внутри индивидуальной изменчивости, т.е. характеризует различия между гомологичными структурами внутри одного индивида. Подобный тип изменчивости широко распространен у растений, где в пределах одного индивида, можно провести разносторонний анализ метамерных структур, например листьев (они наиболее часто используются для этих целей)(Семериков, Глотов, 1971; Глотов и др., 1975; Семериков, 1975). Но важно отметить, что если уровень флуктуирующей асимметрии является характеристикой индивидуума, а значит, можно оценивать различие разных групп особей по среднему уровню различий между сторонами, то данное явление (флуктуирующая асимметрия) может рассматриваться и с позиции над индивидуальной (популяционной) изменчивости.

С позиций изменчивости как способности к изменению, наблюдаемое при флуктуирующей асимметрии несходство проявления признака между сторонами, не может быть объяснено ни генотипическими, ни средовыми различиями.

Это есть результат случайной изменчивости развития. Представления об этом виде изменчивости были впервые сформулированы Б.Л. Астауровым (Астауров, 1927; Astauroff, 1930), а далее развиты в ряде работ (Mather, 1953; Thoday, 1958; Reeve, 1960). Само выявление этой формы изменчивости связано, в первую очередь, с исследованием именно флуктуирующей асимметрии.

Рассматривая основные черты флуктуирующей асимметрии, можно выделить три основные особенности (по различиям между двумя сторонами тела):

Незначительность – определяется природой этого явления (случайная изменчивость развития), а значит, если эти различия случайны, то они должны быть незначительны. Возникающие существенные различия между сторонами, обычно элиминируются отбором. Если этого не происходит, а появление этих различий постоянно, то можно говорить об их адаптивном характере, и они не могут быть случайны.

Ненаправленность – также следствие причин, описанных в предыдущем абзаце. Эта черта свидетельствует о взаимогашении случайных разнонаправленных различий между сторонами у отдельных особей. В пользу этого свидетельствует факт безуспешной попытки ведения отбора на направленность асимметрии у признаков с флуктуирующей асимметрией проявления на примере *Drosophilamelanogaster* (Левотин, 1978).

Независимость проявления – исходя из случайности нарушений развития признака, зависимость в появлении различий слева или справа должна отсутствовать. Это неизменно имеет место, если все фенотипическое разнообразие в рассматриваемой группе особей является следствием случайных нарушений развития, в достаточно однородных, с точки зрения

генотипа и среды, условиях (Астауров, 1927,1930). Анализ таких гетерогенных группировок, как природные популяции, выявил наличие всех переходов от сильной положительной связи между сторонами до ее полного отсутствия или слабой отрицательной, что является вполне естественным при флуктуирующей асимметрии, так как в общее фенотипическое разнообразие исследуемых признаков происходит вклад других форм изменчивости (Guthrie, 1925; Plunkett, 1926; Timofeeff-Ressovsky,1934; Zakharov, 1981).

Важной характеристикой данного метода, подчеркивающей его универсальность, является возможность его использования в отношении представителей разных групп живых существ. Особенно подкупает простота методики замеров и расчётов флуктуирующей асимметрии. Среди всех биоиндикаторов растения наиболее удобны, т.к. они – основные продуценты, находятся на границе двух сред - почвы и воздуха, ведут прикрепленный образ жизни, доступны и удобны в сборе материала. Для биоиндикационной характеристики больших территорий лучше использовать древесные растения, так как травянистые растения в большей степени отражают микробиотопические условия (Заренков,2009). С точки зрения простоты и эффективности проведения морфологические методы наиболее приемлемы из всего разнообразия методов, применяемых для биологического контроля состояния окружающей среды. При определении состояния деревьев в нарушенных насаждениях рекомендуется использовать морфологический способ как наиболее простой и широкодоступный (Захаров, 2000).

Листовая пластинка – сложное структурное образование растительного организма, отражающее физиологическую пластичность растения в условиях изменяющейся окружающей среды (Захаров, 2000).В России и за рубежом метод биоиндикации, основанный на определении флуктуирующей асимметрии листовой пластинки, широко применяется в популяционных исследованиях (Василевская, Тумарова,2005).

Флуктуирующая асимметрия листьев древесных растений очень широко используется для оценки качества окружающей среды. Часто исследователи в



качестве тест-объекта используют березу повислую (*Betula pendula* Roth.) и березу плосколистную (*B. platyphylla* Sukacz) (Собчак, Афанасьева, Капылов, 2013; Ерещенко, 2013; Шабалина, 2011; Низкий, 2012).

Также в качестве тест-объектов используют и другие лиственные и хвойные деревья, например, тополь бальзамический, тополь пирамидальный, яблоня, черемуха обыкновенная, сосна обыкновенная (Виноградов, 2014; Черных, 2014; Кузнецов, 2008). Методика оценки качества среды по флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков одобренная распоряжением Росэкологии в 2003 году (Методические рекомендации...2003). Однако опубликовано немало результатов исследований, в которых не было обнаружено повышения уровня флуктуирующей асимметрии в условиях техногенного стресса (Зорина, 2007.).

Отсутствие симметрии может быть результатом случайных событий в развитии организма. При нормальных условиях развитие защищено от таких случайностей и асимметрия минимальна. При стрессе эффективность защитных механизмов снижается, что приводит к повышению уровня асимметрии (Захаров 2000).

Отклонения в билатеральной симметрии и наличие стресса определены для березы повислой (*Betula pendula* Roth), для березы плосколистной (*Betula platyphylla*) в условиях Якутии, березы Черепанова (*Betula czerepanovii* Orlova) в районе г. Мончегорска (Мурманская обл.), березы повислой в Шелеховском р-не Иркутской обл., в Брянской и Орловской областях, в городских березовых насаждениях г. Кисловодска. Кроме того, флуктуирующая асимметрия изучалась для других лиственных пород, растущих в условиях антропогенного стресса. Так, для липы мелколистной определена степень отклонения от нормы в условиях городов Саратова, Ижевска и Воткинска. Вопрос стабильности развития хвойных пород изучался с помощью данной методики на техногенно-нарушенных территориях Кольского полуострова РФ. В Европе метод флуктуирующей асимметрии используется в промышленной экологии (Kozlov,

Zvereva, Niemela 2001; Valkama., 2001; Klingenberg, Barluenga, Meyer, 2002.; Ludwig, 1932; Palmer, Strobeck, 1986; Valkama, Kozlov, 2001, Van Valen, 1962).

Исследователи показывают в своих работах, что флуктуирующей асимметрии возрастает при действии любых средовых стресс-факторов. В работах часто встречаются классические монотонные зависимости «доза–эффект» (S-образных; экспоненциальных), также немонотонные ответы, к которым, в частности, относятся гормезис. При идентификации билатеральных признаков и верификации их флуктуирующего характера особенно важен правильный подбор объектов исследования, тем более, если они подвергаются исследованию впервые. Таким образом, флуктуирующая асимметрия может быть охарактеризована как одно из наиболее обычных и доступных для анализа проявлений случайной изменчивости развития.

#### **1.4.1 Влияние различных факторов на уровень флуктуирующей асимметрии**

Несмотря на отсутствие генетической детерминированности различий между левой и правой стороной при флуктуирующей асимметрии, выявлена ее чувствительность к общей коадаптированности генома. В эксперименте, при разных типах скрещиваний выявлено, что при близкородственном скрещивании и при отдаленной гибридизации величина флуктуирующей асимметрии возрастает. Если при инбридинге это следствие перехода многих локусов в гомозиготное состояние (Mather, 1953; Lewontin, 1956, 1958), то при скрещивании разных форм, имеют значение межгенные взаимодействия (Dobzhansky, 1950; Dobzhansky, Levene, 1955). Также нарушение общей коадаптированности генома отмечено при накоплении генетических дефектов при таких заболеваниях человека, как заячья губа, волчья пасть, синдром Дауна (Sofaer, 1979; Barden, 1980). Анализ разных генетически детерминированных морф в природной популяции показал их

равноценность по уровню флуктуирующей асимметрии, за исключением тех случаев, когда морфа имеет гибридное происхождение, что также вызывает нарушение коадаптированности генома (Зюганов, 1978; Захаров, Зюганов, 1980).

Выяснение влияния уровня гетерозиготности популяции на уровень флуктуирующей асимметрии показало, что определяющей оказывается не гетерозиготность как таковая по всем локусам, а по тем из них, которые связаны с какой-либо характеристикой (например, быстрым и медленным ростом) опосредованно влияющей на асимметричность (Learyetal, 1983, 1984; Рубан, Захаров, 1984).

Зависимость рассматриваемого показателя от средовых воздействий, говорит о том, что забуференность развития действительно лишь в определенном диапазоне условий и оказывается менее действенной в необычных условиях среды. В серии работ, выполненных на растениях, было показано, что если общая стабильность развития контролируется генотипом, то сами по себе различия между левой и правой половинами листа ненаправлены и независимы, и их нельзя свести ни к генотипическим, ни к средовым различиям (Jinks, Mather, 1955; Kojimaetal, 1955; Paxman, 1956; Sueoka, Mukai, 1956; Roy, 1963; Sakai, Shimamoto, 1965; Grahamet, 1993; Freemanetal, 1994).

Влияние половых различий на уровень флуктуирующей асимметрии не выявлено, даже на фоне существенных половых различий по анализируемым признакам (Staley, Green, 1971; Zakharov, 1981; Learyetal, 1983; Pankakoski, 1985).

Анализ медленно и быстрорастущих группировок особей в популяциях (Поляков, 1975; Mitton, Grant, 1984) выявил существенное различие между ними по уровню флуктуирующей асимметрии. Более высокий уровень асимметрии у медленно растущих индивидуумов, можно рассматривать как следствие пониженной стабильности развития по сравнению с быстро растущими (Рубан, Захаров, 1984).

Популяционная динамика данного показателя во времени (различия между поколениями) оказалась зависимой от стабильности изменений численности особей. У видов с небольшими скачками численности от поколения к поколению показатель флуктуирующей асимметрии является весьма стабильной популяционной характеристикой (при условии, что разные поколения развиваются в неизменных условиях) (Masonetal, 1967; Fox, 1975; Zakharov, 1981). Иная ситуация у видов, численность которых значительно изменяется в течение популяционных циклов. Исследования, проведенные на обыкновенной буроzubке, (*Sorexaraneus*) (динамика численности которой подвержена четкому четырехлетнему циклу, и максимально достигает 70-кратного размера (Шефтель, 1983) показали увеличение уровня флуктуирующей асимметрии у особей, родившихся в год максимальной численности, и уменьшение асимметричности у их потомков при спаде численности (Захаров и др., 1984).

#### **1.4.2 Флуктуирующая асимметрия как показатель стабильности развития**

Индивидуальное развитие организма обеспечивается сложным регуляторным аппаратом, «защищающим нормальное формирование от возможных нарушений, как со стороны уклонений во внутренних факторах, так и со стороны изменений в факторах внешней среды» (Шмальгаузен 1982). Раскрытию механизмов этого регуляторного аппарата и формам его фенотипического проявления посвящен ряд работ (Waddington, 1940, 1942, 1953, 1957; Шмальгаузен, 1940, 1968). Данный механизм фигурирует под несколькими синонимичными названиями: стабильность развития, гомеостаз развития, гомеорез (стабилизированный поток). Т.е., подразумевается, что развитие проходит по определенному пути (креоду), и при высокой стабильности, развитие канализировано, т.е. за счет буферных механизмов протекает одинаково, несмотря на некоторые генетические и средовые

воздействия. Переключение развития на другой креод происходит при достижении порогового уровня генотипического или средового воздействия.

Основными показателями стабильности развития являются нарушения развития и онтогенетический шум. Если собственно нарушения развития, фенотипические отклонения, представляющие собой существенные изменения морфологии, обычно встречаются в природных популяциях с частотой не выше нескольких процентов, то онтогенетический шум оказывается операциональным критерием оценки в природных популяциях (Захаров, 1987). Онтогенетический шум (Waddington, 1957), случайная спонтанная изменчивость развития (Астауров, 1978) или реализационная изменчивость (Струнников, 1991) наиболее четко и просто может быть оценен по флуктуирующей асимметрии билатеральных структур. Преимущество подхода состоит в том, что при этом известна заданная норма, т.е. то, что должно быть при отсутствии воздействий, - симметрия, отклонения от которой в ходе развития и представляют собой онтогенетический шум (Захаров, 2001).

### **1.5 Практическое использование флуктуирующей асимметрии для целей биоиндикации**

Анализ флуктуирующей асимметрии, как показателя одной из наиболее общих характеристик индивидуального развития, крайне перспективный биоиндикационный метод. Принципиальным преимуществом такого онтогенетического подхода является возможность выявления изменений состояния организма при разных видах загрязнения, когда ни по показателям биоразнообразия (на уровне сообществ), ни по популяционным показателям изменения обычно не наблюдаются (Захаров, Крысанов, 1996).

Несмотря на то, что при оценке уровня флуктуирующей асимметрии данный подход использует ограниченное число морфологических признаков, это можно считать вполне оправданным, т.к. нарушение стабильности

развития проявляется в асимметричности различных, даже не скоррелированных между собой признаков (Захаров, 1987). Эта особенность позволяет ограничиться анализом лишь признаков морфологии, что особенно важно в условиях заповедников.

Важной характеристикой данного метода, подчеркивающей его универсальность, является возможность его использования в отношении представителей разных групп живых существ, т.к. причинная обусловленность различий в значении признаков на двух сторонах тела при флуктуирующей асимметрии оказывается принципиально сходной в отношении различных морфологических структур у самых разных видов.

Правда, такая универсальность в выборе объекта не исключает воздействия различных биологических особенностей вида-биоиндикатора на исследуемый показатель, которые необходимо учитывать для получения корректных результатов, отражающих влияние исследуемого воздействия.

Например, необходимо учитывать гибридогенное происхождение вида-индикатора, что сказывается на коадаптированности генома и снижает стабильность развития (Зюганов, 1978; Sofaer, 1979; Barden, 1980; Захаров, Зюганов, 1980).

Исследуемая территория не должна совпадать с географической или экологической периферией ареала. Снижение стабильности развития является индикатором ухудшения состояния организма в этих условиях. Например, при исследовании прыткой ящерицы (*Lacerta agilis*) нарушение стабильности развития было обнаружено на южной периферии ареала (Захаров, 1987). Важно отметить, что условия экологической периферии ареала могут возникать в разных частях ареала и в силу естественных причин. Особенно ярко это проявляется у растений. Например, для березы повислой (*Betula pendula*) было показано, что в затененных условиях стабильность развития существенно ниже, чем на освещенных участках (Чистякова, 1996).

В некоторых случаях существенным является принадлежность исследуемых особей к разным возрастным группам. Например, существует достаточно сложная связь между календарным возрастом, процессами роста и морфогенеза в постнатальный период, которая должна учитываться при анализе выборок из природных популяций (Шварц, 1980; Zakharov, 1992). Так у полевок ситуация осложняется различиями в скоростях роста зверьков разных когорт и функционально-физиологических группировок (Оленев, 1991). В ряде работ, отмечено уменьшение уровня флуктуирующей асимметрии с возрастом у лабораторных мышей и крыс (Siegelet, 1977; Parker, Leamy, 1991), красной полевки (Васильев и др., 1996), хлопкового хомяка и белохвостого оленя (Novak, 1993), косули (Markowski, 1993). С другой стороны, флуктуирующая асимметрия одонтометрических признаков по мере старения животных может возрастать (Suchentrunk, 1993). А вот у растений, на примере березы повислой (*Betula pendula*), различия между возрастными состояниями по уровню флуктуирующей асимметрии в одном местообитании оказались статистически незначимы (Глотов и др., 2001).

В работах на мышевидных грызунах отмечается также разница в «работоспособности» различных признаков. Состояние природных популяций, подвергающихся антропогенным воздействиям, чаще и успешнее оценивают с помощью не метрических признаков (Parsons, 1992; Захаров, Кларк, 1993), в то время как теоретическому анализу феномена флуктуирующей асимметрии в лабораторных условиях обычно подвергаются мерные показатели (Palmer, 1994).

### 1.5.1 Применение оценки уровня флуктуирующей асимметрии как индикатора различных антропогенных воздействий

К настоящему моменту накоплено много данных, убедительно доказывающих чувствительность уровня флуктуирующей асимметрии к различным по происхождению антропогенным воздействиям.

Одни из самых первых сведений о чувствительности флуктуирующей асимметрии к химическому загрязнению антропогенного происхождения были получены Валентайном с соавторами (Valentine, 1973). Ими анализировались три вида рыб (*Paralabraxnedulifer*, *Leuresthestenuis*, *Amphistichusargenteus*) из разных семейств обитающих вдоль Калифорнийского побережья.

Выборки были взяты для временного и пространственного анализа. В ходе работы выявлено, увеличение асимметрии у южных берегов Калифорнии, наиболее густо населенного и промышленно развитого района, характеризующегося повышенным уровнем загрязнения среды различными митоксикантами. Временной анализ показал большую асимметричность у молодых особей, чем у более старших, что также согласуется с данными о динамике загрязнения. Несмотря на то, что, по мнению самого автора, полученные данные необходимо рассматривать как ориентировочные, в дальнейшем в экспериментальных исследованиях была продемонстрирована четкая зависимость возрастания уровня флуктуирующей асимметрии у рыб при повышении концентрации ДДТ (Valentine, Soule, 1973).

Сравнение выборок большеротого американского черного окуня (*Micropterus salmoides*) из различных водоемов Южной Каролины показало, что максимальные значения асимметрии характеризуют выборку рыб из водоема, имеющего высокий уровень загрязнения ртутью (Ameset, 1979).

У трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus*) проводилось сравнение асимметрии числа боковых пластин из двух рек в Латвии. Эти реки расположены недалеко друг от друга и представляют водоемы одного типа, но



в одну из них производится сток вод целлюлозно-бумажного комбината. Полученные результаты свидетельствуют о многократном возрастании асимметрии в загрязненном водоеме (Захаров, 1981).

В другой работе было проведено сравнение выборок из одной и той же популяции до и после начала интенсивного антропогенного воздействия на примере серого тюленя (*Halichoerus grypus*) Балтийского моря. Были исследованы коллекционные черепа до 1940 года и после 1960 года. По данным шведских исследователей, интенсивное загрязнение Балтийского моря у побережья Швеции началось в 50-х – 60-х годах, что привело к резкому возрастанию уровня таких поллютантов, как ДДТ и ПХБ в теле балтийских тюленей после 1955 г. (Olsson, 1977). По полученным данным и величина дисперсии асимметрии и процент асимметрично выраженных неметрических признаков, среднее число асимметричных признаков существенно выше во второй выборке (Захаров, 1987).

Позже в лабораторных условиях произведена оценка воздействия полихлорбифенилов на американских норок (*Mustelavison*) (Borisov, 1997). Если в контроле стабильность развития у мертворожденных норок была существенно ниже (высокая асимметрия), чем у живорожденных, то в опыте при интоксикации, и те и другие имели сходный уровень нарушений развития. Таким образом, нарушение стабильности развития имеет место при ухудшении состояния организма в силу различных причин, но не является причиной его гибели.

Однако, вероятно успех планируемого исследования может зависеть от вида-биоиндикатора, адекватно отражающего индицируемый вид воздействия.

Так у двух видов грызунов из загрязненного нефтеотходами района Техаса, уровень флуктуирующей асимметрии морфометрических показателей не отличался значимо от контроля (Owen, McVee, 1990).

Крайне интересны работы, посвященные индицированию радиоактивного загрязнения. Например, проводилось изучение флуктуирующей асимметрии восьми краниометрических признаков у

восточноевропейских полевых из двух местностей, находящихся в зоне влияния Тощкого радиоактивного следа, и контрольной популяции. Среднепопуляционные обобщенные показатели были достоверно выше в импактных популяциях, чем в контрольной. Вероятно, нарушения онтогенетического гомеостаза у полевых из зоны радиоактивного следа являются результатом загрязнения радионуклидами (в первую очередь, плутонием), которое привело к облучению многих поколений полевых в течение более чем 40 лет. Полученные результаты дают новые основания для использования флуктуирующей асимметрии мерных признаков млекопитающих в качестве индикатора антропогенного воздействия (Гилева, Нохрин, 2001).

В ряде работ предпринималась попытка индизирования комплексной антропогенной нагрузки без выделения ведущего фактора (Чистякова, 1996; Венгеров, 1997; Константинов, 1997; Чубинишвили, 1998; Мокров, Гелашвили, 1999; Захаров, 2000; Устюжанина, Стрельцов, 2001). Например, сравнивались выборки домового воробья (*Passer domesticus*), собранных в двух точках: центральная усадьба Воронежского заповедника и в Коминтерновском районе города Воронежа (близость крупных предприятий, магистраль с интенсивным движением автотранспорта). В результате, показатель флуктуирующей асимметрии во второй выборке оказался значительно выше по сравнению с заповедником на достоверном уровне (Венгеров, 1997).

### 1.5.2 Комплексный подход к оценке воздействия антропогенных факторов на стабильность развития живых организмов различных систематических групп

Как уже отмечалось, причинная обусловленность различий в значении признаков на двух сторонах тела при флуктуирующей асимметрии оказывается принципиально сходной в отношении различных морфологических структур у самых разных видов. Эта характеристика данного метода, подчеркивающая его универсальность, предоставляет возможность его использования в отношении представителей разных групп живых существ. С этих позиций были бы крайне интересны данные о реакции на один тип воздействия различных видов в природных популяциях. Данной задачей была объединена серия работ по изучению различных антропогенных воздействий (химическое загрязнение, ионизирующее и неионизирующее радиационное загрязнение, комплексное антропогенное воздействие) на стабильность развития нескольких видов-биоиндикаторов (Захаров и др., 2000). Данные исследования проводились в семи административных областях России, где получена сходная картина изменения стабильности развития в зависимости от степени воздействия какого-либо антропогенного фактора.

Например, при рассмотрении результатов оценки воздействия Новгородского производственного объединения «Азот» на уровень стабильности развития живых организмов точки отбора биоиндикационных проб учитывали воздействие предприятия, производящего атмосферные выбросы, сброс биологически очищенных сточных вод и условно чистых стоков в р.Волхов.

При оценке наземных экосистем использовались 4 вида растений: карагана древовидная (*Caragana arborescens*), клен остролистный (*Acer platanoides*), сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria*), кипрей узколистый (*Epilobium angustifolium*); 2 вида беспозвоночных: обыкновенная златоглазка (*Chrysopa peria*); черный садовый муравей (*Lasius niger*); 5 видов

мелких млекопитающих:мышь-малютка (*Micromys minutus*), рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus*), малая мышь (*Apodemus uralensis*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*), обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus*).

При оценке водных экосистем использовались: стрекоза-стрелка (*Coenagrion puella*), золотой карась (*Carassius carassius*), травяная лягушка (*Rana temporaria*).

Несмотря на существенные систематические различия между исследованными видами, принадлежность к разным трофическим уровням, жизненным стратегиям, особенности миграционной активности и т.д., обнаруженный эффект улучшения стабильности развития при отдалении от предприятия прослеживается у всех проанализированных биологических объектов по подавляющему большинству использованных параметров.

### **1.6 «Удостоверение» флуктуирующей асимметрии**

Статистическая характеристика флуктуирующей асимметрии проявляется как нормальное для метрических, и биномиальное для меристических признаков распределение отличия сторон ( $L_{ij} - R_{ij}$ ) с нулевым средним значением ( $M(L_{ij} - R_{ij}) = 0$ ) (рисунок. 1, А). Данный тип асимметрии установлен для многих билатеральных характеристик особей, включая размеры и строение частей скелета и черепа млекопитающих (Leamy, 1992; Захаров, 2001; Гилева и др., 2007) и птиц, признаки ящериц (Гелашвили и др., 2004) и рыб (Методические..., 2003), характеристики крыльев насекомых (Van Valen, 1962; Mason et al., 1967), антенн диптер, губных щупальцев и сифонных сосочков пресноводных моллюсков (Palmer, Strobeck, 1986), признаки вегетативных и генеративных органов сосудистых растений (Sakai, Shimamoto, 1965; Kozlov et al., 1996, 2002) и т. д. (Коросов, 2012).

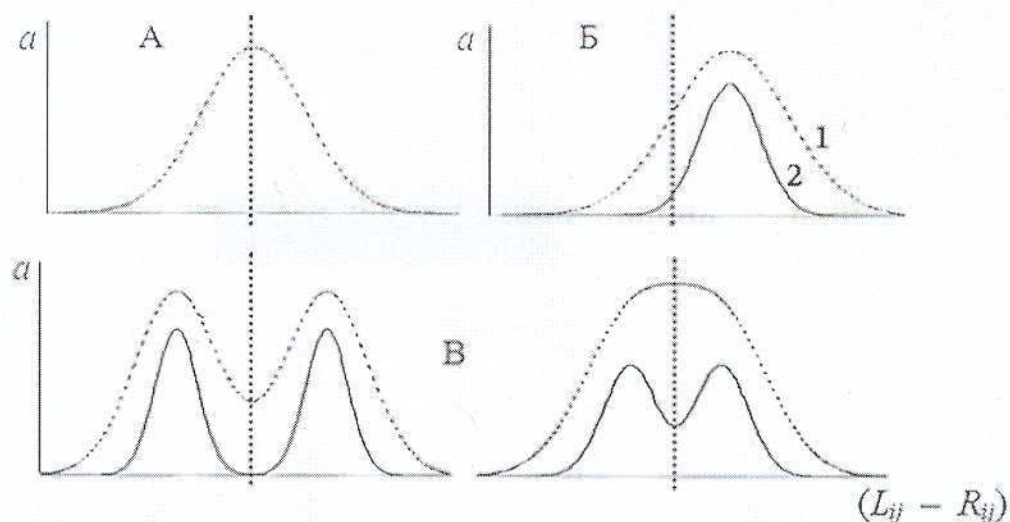


Рисунок 1– Формы билатеральной асимметрии пластических признаков (Palmer,Strobeck, 1992): “А” – флуктуирующая асимметрия, “Б” – направленная асимметрия, “В” – антисимметрия; 1 – проявление фенотипа, 2 – изменчивость генотипа; а – частота.  $(L_{ij} - R_{ij})$  – отличие в величине  $j$ -го признака ( $j = 1, 2... m$ ) на левой ( $L_{ij}$ ) и на правой ( $R_{ij}$ ).

В отличие от флуктуирующей, направленная асимметрия и антисимметрия имеют адаптивное значение и наследственно детерминированы. При направленной асимметрии (преобладание выраженности признака на одной из сторон тела особей в выборке) средняя арифметическая нормального (биномиального) распределения разности сторон  $(L_{ij} - R_{ij})$  не равна нулю ( $M(L_{ij} - R_{ij}) \neq 0$ ; рисунок 1, Б). В качестве образца направленной асимметрии приводят асимметрию расположения сердца млекопитающих, лево- и правостороннюю асимметрию в строении тела камбалообразных, закрученность раковины у брюхоногих моллюсков и т. д. (VanValen, 1962; Soule, 1967). Антисимметрии присуще бимодальное распределение разности сторон или распределение с эксцессом меньше нормального при нулевом среднем значении  $M(L_{ij} - R_{ij}) = 0$  (рисунок 1, В).

## 1.7 Ботаническое описание вида-Береза повислая (*Betula pendula* Roth.)

Русское название: Береза повислая.

Латинское название: *Betula pendula*.

Семейство: Березовые (*Betulaceae*).

Дерево высотой 10–25 м с негустой пирамидальной кроной и повисшими ветвями. Кора гладкая, белая, отслаивается горизонтальными полосами, у старых деревьев основания ствола — черно-серая, с глубокими трещинами. Молодые побеги голые, сглянцем, красно-бурые, густо покрыты смолистыми железками — бородавочками. Листья очередные, длинночерешковые, треугольно-ромбовидные, двояко острозубчатые, с клиновидным основанием, голые. Цветы — в однополых кистях-сережках: тычиночные — на концах ветвей, продолговато-цилиндрической формы, длиной 6–10 см, желтого цвета, собраны по 2–3; пестичные — на укороченных боковых веточках, 2–3 см длиной, цилиндрические, зеленые, направлены вверх. Цветет одновременно с распусканием листьев в апреле-мае. Плоды — крылатые орешки — созревают в августе-сентябре (Wikipedia).

## 1.8 Проведение измерений изучения флуктуирующей асимметрии листа

Многие российские исследователи измеряли 5 характеристик листа в соответствии со схемой, предложенной Н. Г. Кряжевой с соавт. (1996). Обоснование не приводится ни в одной из публикаций для выбора данного набора признаков, в то время как 71% работ зарубежных исследователей основано на измерении единственного признака. К сожалению не один из исследователей не попытался проверить утверждение о том, что оказывается величины ФА рассчитанные на основании каждого из измеряемых признаков слабо коррелируют друг с другом (Кряжева и др, 1996), или сравнить воспроизводимость результатов, получаемых при замерах различных

признаков. Сравнительная оценка изменений индивидуальных признаков листа в ответ на различные типы стрессирующих воздействий также проводилась крайне редко, хотя такой анализ мог бы привести к выбору наиболее чувствительного признака и соответственно к уменьшению трудоёмкости исследований.

Инструменты и методы проведения измерений описаны весьма кратко лишь в четверти статей, опубликованных российскими исследователями. Большинство из них используют линейки, циркули-измерители, штангенциркули и аналогичные приспособления и измеряют непосредственно листья, в то время как зарубежные исследователи обычно проводят замеры сканированных изображений листьев с использованием различных программ для анализа изображений (Kozlov, 2015). При этом точность измерений в российских публикациях, как правило, не приводится. На практике при замерах с помощью линейки точность обычно составляет 1 мм, что совершенно недостаточно для оценки ФА у небольших (20–70 мм) объектов (Зорина, Коросов, 2009). Зарубежные исследователи обычно проводят измерения линейных характеристик листьев с точностью 0.01 мм.

Кроме того, в 94% работ российских исследователей не описано, как именно определялись точки, используемые для проведения замеров (например, середина листовой пластинки), как достигалась перпендикулярность линии замера к срединной жилке листа и принималось ли во внимание положение линии замера относительно зубцов на краю листовой пластинки при определении ширины листа. Хотя исследователи обычно ссылаются на то или иное описание методики проведения измерений (Захаров и др., 2000; Методические..., 2003), но на практике, как оказалось (Kozlov, 2015), вносят в эту методику некоторые изменения, не отражая их в публикациях.

Независимые замеры ФА по изображениям 100 листьев березы, проведенные 30 исследователями, показали крайне низкую (всего 7.4%) воспроизводимость результатов (Kozlov, 2015). В частности, листья, охарактеризованные одними исследователями как абсолютно

симметричные, другие классифицировали их как сильно асимметричные. Таким образом, точность оценок ФА, получаемых с помощью обычно применяемых российскими исследователями методов измерений, крайне низка, в результате чего научная и практическая ценность полученных данных проблематична.



## 2. Материалы и методы

### 2.1 Метод учета степени флуктуирующей асимметрии

Объектом исследования для сравнительного анализа изменчивости флуктуирующей асимметрии у морфологических параметров листа выбрана береза повислая (*Betula pendula*). Этот вид выбран не случайно: он широко распространен в Красноярске и доступен для сбора необходимого материала (листьев).

Материал был собран в березовой роще г. Красноярска, в середине июля за 2014 г. и 2015 г. В каждом году были собраны листья ( $n=111$ ) с пяти концевых веток у различных взрослых деревьев. Цифровое изображение нижней стороны листа получали с помощью сканера (оттенки серого, 300 dpi) (рисунок 2).

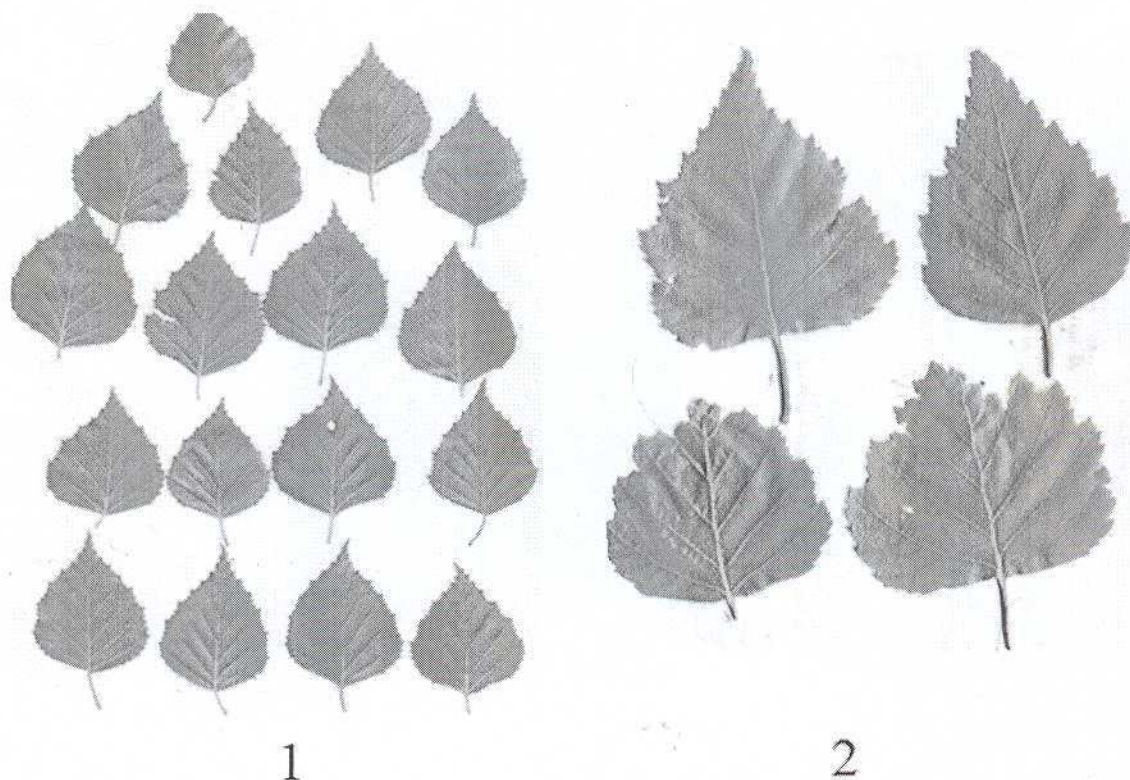


Рисунок 2-Изображение листьев березы (вид снизу): 1-2014 г.; 2-2015 г.

На листовой пластинке выделили 28 точек, как показано на рисунке 3, соответствующие положению начала и конца боковых жилок первого порядка, трех точек в основании листа и конца листа. За точку отчета взята начало основной жилки.

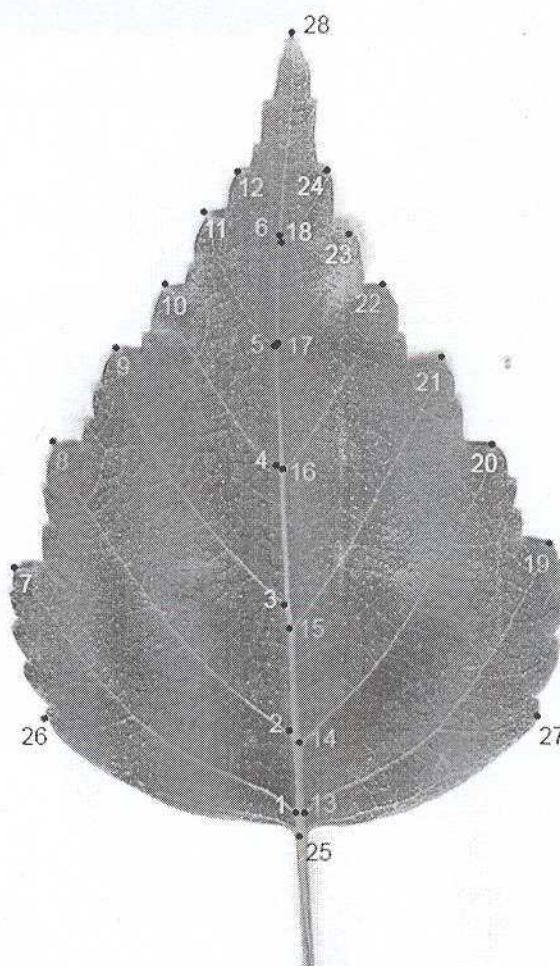


Рисунок 3-Точки для определения параметров листьев

1-12-для определения параметров левой половины листа;

13-24- для определения параметров правой половины листа;

25-28-дополнительные точки для определения общей площади листовой пластины.

Координаты 28 точек определяли с помощью программы «ImageJ 1.42» для Windows как приведено на рисунке 4.

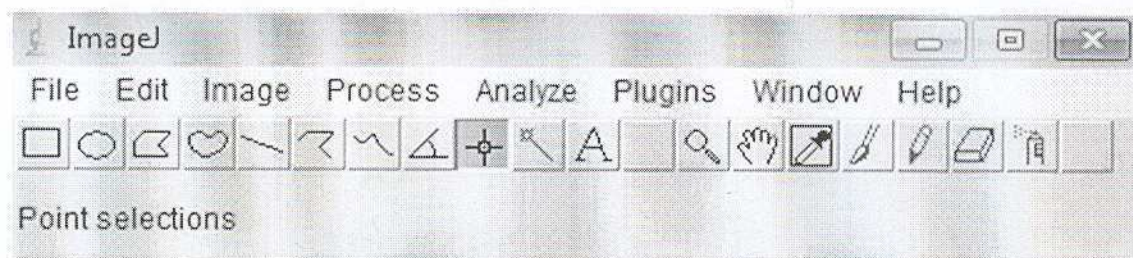


Рисунок 4- Программа ImageJ 1.42 для Windows

На основе координат точек рассчитывали следующие размерные показатели отдельно для левой и правой части листовой пластинки: площадь, расстояние между соседними боковыми жилками в их основании, длину боковых жилок, угол между боковой и центральной жилками.

Уровень ФА определяли по формуле Палмера:  $KFA = 2 \times (L - R) / (L + R)$ , где L и R размеры (величины) симметрично расположенных элементов листа. Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Microsoft Excel и Statistica. Применяли описательную статистику.

## Выводы

1. Проведение замеров сканированных изображений и использование программы для анализа ImageJ 1.42 для Windows позволяет проводить замеры линейных характеристик с точностью измерения 0,1 мм при сканировании изображения сканером 300 dpi, снижение трудоёмкости получено за счет применения метода аналитической геометрии.

2. Предложен алгоритм который позволяет рассчитать 17 коэффициентов флуктуирующей асимметрии для листа березы на основе координат реперных точек (основание, вершины листа, начало и конец боковых жилок)

Алгоритм апробирован на материале (листьях) собранных за 2014-15г. Установлены межгодовые значения абсолютных значений коэффициента ФА одновременно при этом в пределах каждого года, также наблюдались колебания среди коэффициентов ФА. Различия абсолютных одноименных значений коэффициентов флуктуирующей асимметрии у листа березы, за 2015 г. выше чем за 2014, что согласуется с ухудшением погодных условий. Для каждого года показана

Относительные значения в зависимости от выбора варьируются несколько раз, но при этом сохраняют закономерность изменение положения параметра на листе.

3. Величина коэффициента флуктуирующей асимметрии изменяется от положения данного параметра на листовой пластинке, в частности по расстоянию между основанием боковых жилок флуктуирует максимально основанию листа, и минимально в средней части; длина боковых жилок наиболее варьирует в вершине листа; коэффициенты ФА у значения углов между боковыми и центральной жилками варьирует в меньшей степени и имеет промежуточное положение между двумя предыдущими параметрами, в принципе это параметр более стабилен.

## Список литературы

1. Beadmore J. A. Developmental stability in constant and fluctuating temperatures // *Heredity*. 1960. Vol. 14, N 3/4. P. 411–422.
2. Beadmore J. A. Developmental stability in constant and fluctuating temperatures // *Heredity*. 1960. Vol. 14, N 3/4. P. 411–422.
3. Blake W. J., КаерМ., Cantor C. R., Collins J. J. Noise in eukaryotic gene expression // *Nature*. 2003. Vol. 422. P. 633–637
4. Klingenberg C.P., Barluenga M., Meyer A. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry // *Evolution*. 2002. № 56 (10). P. 1909–1920.
5. Kozlov M.V., Zvereva E.L., Niemela P. Shoot fluctuating asymmetry – a new and objective stress index in Norway spruce (*Picea abies*) // *Can. J. For. Res.* 2001. – V. 31. – P. 1289–1291.50
6. Ludwig, W. (1932). *Das Rechts-Links Problem im Tierreich und beim Menschen* (The problem of right–left in the animal kingdom and in humans). Berlin:Springer. Palmer, A. R., & Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry: Measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17, 391–421.
7. Mather K. Genetical control of stability in development // *Heredity*. 1953. Vol. 7, N 3. P. 297–336.
8. Reeve E. C. R. Some genetic tests on asymmetry of sternopleural chaeta number in *Drosophila* // *Genetic Researches*. 1960. Vol. 1, N 1. P. 151–172.
9. Reeve E. C. R. Some genetic tests on asymmetry of sternopleural chaeta number in *Drosophila* // *Genetic Researches*. 1960. Vol. 1, N 1. P. 151–172.
10. Roll-Hansen N. *Drosophila* genetics — a reductionist research program // *J. Hist. Biol.* 1978. Vol. 11, N 1. P. 159 — 210.
11. Roll-Hansen N. *Drosophila* genetics — a reductionist research program // *J. Hist. Biol.* 1978. Vol. 11, N 1. P. 159 — 210
12. Sumner F. B., Huestis R. R. Bilateral Asymmetry and Its Relation to Certain Problems of Genetics // *Genetics*. 1921. Ser. 6(5). P. 4.

13. Tebb G., Thoday J. M. Stability in development and relational balance of X-chromosomes in *Drosophila melanogaster* // *Nature*. 1954. Vol. 174. P. 1109–1110.
14. Thoday J. M. Balance, heterozygosity and developmental stability. *Cold Spring Harbor Symp.* 1955. Vol. XX. P. 318–326.
15. Thoday J. M. Homeostasis in a selection experiment // *Heredity*. 1958. Vol. 12, N 4. P. 401–415.
16. Valkama J., Kozlov M. Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area // *Journal of Applied Ecology*. 2001. № 3. P. 665–673.
17. Valkama J., Kozlov M. Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area // *Journal of Applied Ecology*. 2001. № 3. P. 665–673.
18. Valkama J., Kozlov M.V. Variation in fluctuating asymmetry of mountain birch: is cold spring more stressful than pollution? // *J. Appl. Ecol.* – 2001. – V. 38. – P. 665–667.
19. Valkama J., Kozlov M.V. Variation in fluctuating asymmetry of mountain birch: is cold spring more stressful than pollution // *J. Appl. Ecol.* – 2001. – V. 38. – P. 665–667
20. Van Valen, L. (1962). A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, 16, 125–142.
21. Waddington C. H. *Organisers and Genes*. Cambridge, 1940.
22. Waddington C. H. *The strategy of the genes; a discussion of some aspects of theoretical biology*. London, 1957
23. Wright S. The relative importance of heredity and environment in determining the piebald pattern of guinea-pigs // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1920. Vol. 6. P. 320–332.
24. Астауров Б. Л. *Homosapiensethumanus* — человек с большой буквы и эволюционная генетика человечности (по поводу статьи В. П. Эфроимсона)

об эволюционно-генетических основах этики) // Новый мир. 1971. № 10. С. 214–224.

25. Астауров Б. Л. Исследование наследственных нарушений билатеральной симметрии в связи с изменчивостью одинаковых структур в пределах организма // Наследственность и развитие / под ред. П. Ф. Рокицкого. М., 1974. С. 54–109.. С. 103.

26. Астауров Б. Л. К итогам моей научной деятельности в области генетики // Историко-биологические исследования. М., 1978. Вып. 6. С. 114–160С. 119.

27. Василевская, Н. В., Тумарова Ю. М. Оценка стабильности развития популяции *Pinussylvestris* L. в условиях аэротехногенного загрязнения (Мурманская область) / Н.В. Василевская, Ю.М. Тумарова // Тр. Карельского науч. центра РАН. – Вып. 7.– Биogeография Карелии. – Петрозаводск, 2005. – С. 19 – 23.

28. Виноградов П.М. Оценка качества среды обитания города Воронежа на основе анализа интегрального показателя стабильности развития березы повислой (*Betulapendula*Roth. ) и тополя пирамидального (*Populuspyramidalis*Borkh. ) / П.М. Виноградов // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №6. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/120-16242>.

29. Ерещенко, О.В. Изменение морфометрических параметров листовой пластинки березы повислой *Betulapendula*Roth. в условиях Барнаула / О.В. Ерещенко, Л.П. Хлебова // Биологические науки. – 2013. – № 3. – С. 26 – 30

30. Здоровье среды: методика оценки / Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В. И. и др.– М.: Центр экологической политики России. – 2000. – 66 с.

31. Зорина, А.А. Характеристика флуктуирующей асимметрии листа двух видов берез в Карелии / А.А. Зорина, А.В. Коросов // Тр. Карельского научного центра РАН. – Петрозаводск, 2007. – Вып. 11. – С. 28 – 36

32. Инге-Вечтомов С. Г. Роль генетических процессов в модификационной изменчивости. Пророчество Б. Л. Астаурова // Онтогенез. 2005. Т. 36, № 4. С. 274–279.
33. Кузнецов, М.Н. Сравнительная характеристика особенностей флуктуирующей асимметрии листьев яблони в разных экологических условиях / М.Н. Кузнецов, Л.В. Гольшкин // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 3. – С. 72 – 77.
34. Лайус Д. Л., Лайус Ю. А. Случайная изменчивость как самостоятельный вид фенотипической изменчивости // Эволюционная биология: история и теория / под ред. Э. И. Колчинского. СПб., 2003. С. 23–37
35. Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ: распоряжение Росэкологии от 16 октября 2003 г. № 460 – р. – М., 2003. – 24 с
36. Низкий, С.Е. Флуктуирующая асимметрия листьев березы плосколистной в качестве индикатора экологического состояния селитебной территории / С.Е. Низкий, А.С. Сергеева // Вестник КрасГАУ. – 2012. – № 5. – С. 221 – 223.
37. Собчак, Р.О. Оценка экологического состояния рекреационных зон методом флуктуирующей асимметрии листьев *Betula pendula* Roth./ Р.О. Собчак, Т.Г. Афанасьева, М.А. Капылов // Вестник Томского государственного университета. – 2013. – № 368. – С. 195 – 199.
38. Струнников В. А., Вышинский И. М. Реализационная изменчивость у тутового шелкопряда // Проблемы генетики и теории эволюции. Новосибирск, 1991. С. 98–114
39. Тимофеев-Ресовский Н. В. О фенотипическом проявлении генотипа. Геновариация *radius incompletus* у *Drosophila funebris* // Журн. эксперимент. биол. Сер. А. 1925. Т. 1, № 3–4. С. 93–142.. С. 138
40. Черных, Е.П. Оценка экологического состояния территории Красноярского края методом флуктуирующей асимметрии листьев черемухи



обыкновенной (*Padus Avium* Mill.) / Е.П. Черных, Г.Г. Первышина, О.В. Гоголева // Вестник КрасГАУ. – 2014. – № 2. – С. 84 – 88. 42.

41. Шабалина, О.М. Оценка влияния загрязнения среды и почвенных факторов на показатели флуктуирующей асимметрии листа березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в г. Красноярске / О.М. Шабалина, Т.Н. Демьяненко // Вестник КрасГАУ. – 2011. – № 12. – С. 134 – 138.

42. Шмальгаузен И. И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.; Л., 1938.

43. Шмальгаузен И. И. Факторы эволюции. М., 1968

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Кафедра водных и наземных экосистем»

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

«            »            2017 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 Биология

Сравнительный анализ изменчивости морфологических показателей  
флуктуирующей асимметрии у листа березы повислой (*Betula pendula*)

Руководитель

Лин 26.06.2017

профессор, д.б.н.

Н. А. Гаевский

Выпускник

Кашкина

Л. Л. Кашина

Красноярск 2017

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Кафедра водных и наземных экосистем»

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой

«  » 2017 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 Биология

Сравнительный анализ изменчивости морфологических показателей  
флуктуирующей асимметрии у листа березы повислой (*Betula pendula*)

Руководитель Григорьев 20.06.2017 профессор, д.б.н. Н. А. Гаевский

Выпускник Кашкина Л. Л. Кашина

Красноярск 2017