

УДК 581.451:58.087

ПОПУЛЯЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИН *PRUNUS PADUS L.*

¹Зыков И.Е., ²Баранов С.Г., ³Полоскова Е.Ю.,

³Липпонен И.Н., ³Гончарова О.А., ¹Прокопенко А.Д.

¹Государственный гуманитарно-технологический университет, Орехово-Зуево,
e-mail: zykov-oz@yandex.ru

²ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых»,
Владимир, e-mail: bar.serg58@gmail.com

³Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина, Анапиты,
e-mail: poloskova_eu@mail.ru

Методом геометрической морфометрии определялась изменчивость формы и асимметрии листовых пластин черемухи обыкновенной (*Prunus padus L.*). Проводилось сравнение популяции из Мурманской области с популяциями средней полосы России – владимирской и московской. Дисперсия координат, наносимых на изображение меток, включала компонент формы (симметричный) и компонент асимметричности, в виде флюктуирующей (ФА) и направленной асимметрии (НА). Использовался аналог двухфакторного дисперсионного анализа с рандомным признаком «лист» и фиксированным – «сторона» (обобщенный прокрустов анализ). Величина ФА и НА определялась по значению F-критерия Гудолла. Предварительные статистические анализы выполнялись в среде Statistica 10 (Stat. Ink). Выборки различались по длине листовых пластин ($F=25,7$; $p<<0,01$), при этом мурманская популяция обладала наименьшими размерами листьев. Величина ФА, полученная мерным способом по формуле нормирующей разности, по ширине половинок листа статистически различалась в трех популяциях ($F=9,85$; $p=10^{-5}$). Высокий эксцесс, скос распределения, высокая дисперсия были характерны для выборки из владимирской популяции с самым высоким значением ФА. Высокая гетерогенность листьев мурманской популяции обуславливала значительные различия в величине центроида ($F=9,462,3$; $p<0,0001$). В популяциях средней полосы России с большей длиной листовых пластин величина центроида была заметно ниже. Направленная асимметрия («сторона») присутствовала во всех выборках ($p<0,0001$). ФА отсутствовала в мурманской популяции ($p>0,05$) и проявлялась в двух других популяциях в малой доле, т. е. с низким значением F-критерия Гудолла. Морфогеометрические расстояния Махalanобиса, рассчитанные с учетом эллиптического распределения, показали, что мурманская популяция имела наибольшие отличия от других популяций по форме и асимметричности (НА+ФА). Явная изменчивость формы листовых пластин из мурманской популяции со пряжена со слабо выраженной асимметрией, как направленной, так и флюктуирующей, в двух других географически близких популяциях (владимирской и московской) незначительная изменчивость формы коррелировала с более высоким уровнем асимметричности. Мерный способ определения ФА соответствовал результатам геометрической морфометрии и дополнял сведения, полученные в прокрустовом анализе.

Ключевые слова: геометрическая морфометрия, метод нормирующей разности, черемуха обыкновенная, форма, асимметрия.

POPULATION VARIABILITY OF PRUNUS PADUS L. LEAF PLATES

¹Zykov I.E., ²Baranov S.G., ³Poloskova E.Yu.,

³Lipponen I.N., ³Goncharova O.A., ¹Prokopenko A.D.

¹State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuyevo, e-mail: zykov-oz@yandex.ru

²Vladimir State University named after A.G. and N.G. Stoletov, Vladimir, e-mail: bar.serg58@gmail.com

³Polar-Alpine Botanical Garden-Institute named after N.A. Avrorin, Apatity, e-mail: poloskova_eu@mail.ru

By the method of geometric morphometry, the variability of the shape and asymmetry of the leaf plates of the common cherry (*Prunus padus L.*) was determined. The population from the Murmansk region compared with the populations of the central part of Russia – Vladimir and Moscow. The dispersion of the coordinates of the labels applied to the image included a shape component (symmetrical) and an asymmetry component, in the form of fluctuating (FA) and directional asymmetry (NA). An analogue of two-factor analysis of variance with a random feature “leaf” and a fixed one – “side” (generalized Procrustean analysis) used. The value of FA and NA determined by the F value of the Goodall criterion. Preliminary statistical analyses performed in the STATISTICA 10 environment (Stat. Ink). The samples differed in the length of the leaf plates ($F=25,7$; $p<<0,01$), while the Murmansk population had the smallest leaf sizes. The FA value obtained by the dimensional method according to the normalizing difference formula was statistically different in the width of the leaf halves in three populations ($F=9,85$; $p=10^{-5}$). High kurtosis, skewed distribution, and high variance were characteristic of the sample from the Vladimir population with the highest FA value. The high heterogeneity of the leaves of the Murmansk population caused significant differences in the size of the centroid ($F=9,462,3$; $p<0,0001$). In the populations of the middle zone of Russia with a longer length of leaf plates, the value of the centroid was noticeably lower. Directional asymmetry (“side”) was present in all samples ($p<0,0001$). FA was absent in the Murmansk population ($p>0,05$) and manifested in two other populations in a small fraction, i.e. with a low value of the Goodall criterion F. Morpho-geometric distances of Mahalanobis, calculated taking into account the elliptical distribution, showed that the Murmansk population had the greatest differences from other populations in shape and asymmetry (NA+FA). The apparent variability of the shape of the leaf plates from the Murmansk population is associated with a weakly pronounced asymmetry, both directional and fluctuating, in two other geographically close populations (Vladimir and Moscow), a slight variability in shape correlated with a higher level of asymmetry. The dimensional method of determining FA corresponded to the results of geometric morphometry and complemented the information obtained in the Procrustean analysis.

Keywords: geometric morphometry, normalizing difference method, common bird cherry, shape, asymmetry.

Флуктуирующая асимметрия (ФА) – это ненаправленное отклонение от нулевого значения величин билатеральных признаков при нормальном распределении разности этих признаков. Этот вид асимметрии относится к флуктуационной изменчивости, которая охватывает не только симметричные признаки, но и количественную изменчивость биомассы, окраски, биохимических и других функций как показателей генотипической нормы реакции и экологической толерантности. По величине индекса ФА судят о стабильности развития как отклонении от гомеостаза развития популяции. Однако есть мнение, что отклонение от симметрии, напротив, отражает повышение стабильности развития как усиления адаптации к изменяющимся условиям среды. Такая двойственность суждений заставляет рассматривать стабильность развития в филогенетическом аспекте, например в аспекте эволюции популяций [1].

Не менее 30 семейств высших растений обследовано на предмет поиска эффективных биоиндикаторов состояния окружающей среды [2; 3]. Неоднозначность результатов связана с кажущейся доступностью методик. Растения, особенно гомозиготные формы, удобны для таких исследований, а листовые пластины древесных пород – популярный объект определения стабильности развития [4]. Климатические условия, высотная поясность, антропогенное повышение температуры – наиболее важные факторы, которые принято учитывать при оценке флуктуации величин гомологичных парных признаков [5-7].

Представители рода *Prunus* широко распространены в Европе и за ее пределами. Ранее была изучена вариабельность морфологических признаков (формы и линейных параметров) листовых пластин *Prunus avium* L. [8; 9] и их флуктуирующая асимметрия [3]. На большей части территории России произрастает черемуха обыкновенная (*Prunus padus* L.) – древовидное, не образующее гибридов, тетрапloidное растение, ареал которого простирается на север до Кольского полуострова.

Листовые пластины черемухи имеют слабое дуговидное жилкование, часто с удлиненной правой половиной на абаксиальной поверхности, т. е. ее листья нельзя назвать строго симметричными, как и листья многих других деревьев, например вяза гладкого (*Ulmus laevis* Pall.). Несмотря на то что жилки листовых пластин *P. padus* не имеют четких окончаний, для определе-

ния величины их флуктуирующей асимметрии выбираются те же мерные признаки, что и для тестирования ФА бересклета повислого (*Betula pendula* L.), в частности ширина половинок листа.

Проверка на направленную асимметрию (НА) показывает ее отсутствие при достаточном объеме выборки, например 50-100 листьев. Численно индекс ФА определяют по абсолютной величине отношения разности величин признаков к их сумме. Таким образом, складывается представление о присутствии флуктуирующей асимметрии без примеси НА и стабильность развития популяции определяется только по одному признаку.

В настоящей работе дана апробация метода геометрической морфометрии для относительно несимметричных признаков, проведена оценка изменчивости формы листовых пластин и стабильности развития *P. padus*.

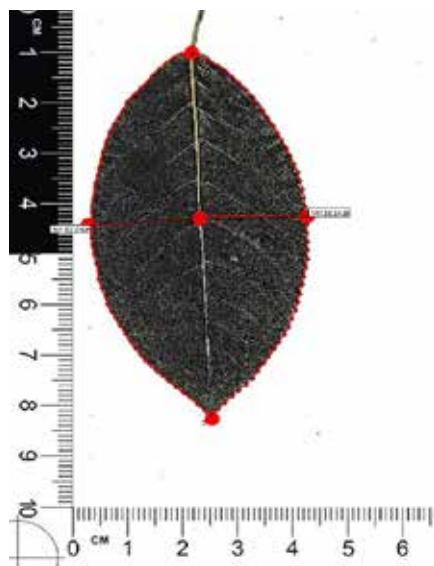
Материалы и методы исследования

Исследовано три популяции черемухи обыкновенной в урбанизированных биотопах площадью не менее 2-3 км². Две из них располагались на расстоянии около 200 км друг от друга: в Московской (г. Электросталь, 55°48' с. ш., 38°27' в. д.) и Владимирской (56°08'00" с. ш., 40°25'00" в. д.) областях, третья была выбрана на Кольском полуострове (Мурманская область, г. Апатиты, экспериментальный участок ПАБСИ, 67°34'48" с. ш., 33°18'10" в. д.).

Листья собирались со всех сторон нижней части кроны, с последующим их отбором по величине. Использовались деревья или группы деревьев высотой от 6 до 15 м. Отбиралось по 7-9 листьев с 7 деревьев. Листья высушивались и через 2-3 дня сканировались вместе с мерной линейкой. Затем измерялась ширина правой и левой половинок листа экранным дигитайзером Dig2 из пакета серии TPS (Rhoff, 2014). Две настоящие метки (true landmarks) выставлялись в основании и на апексе (верхушке) листовой пластины (рис. 1).

Края листовых пластин очерчивались в виде ломаной линии с выставлением 50 полуметок на каждой стороне. Ломаная линия наносилась с помощью 15-20 отметок с последующей разбивкой на равные сегменты. Разметка проводилась дважды на каждой стороне: по часовой стрелке и против нее, и координаты меток на каждой пластине регистрировались в виде файла TPS с координатами 102 меток четырех раза. После этого

файлы объединялись, создавалось единое прокрустово пространство с множествами значений координат и в ковариационном анализе рассчитывались расстояния между ними (дистанции Махalanобиса).



*Рис. 1. Две настоящие метки, левый и правый мерные признаки и 100 полуметок по контуру листовой пластины *Prunus padus* L. (TPSDig2)*

Дисперсия координат наносимых на изображение меток включала компонент формы (симметричный) и компонент асимметричности, в виде флукутирующей (ФА) и направленной асимметрии (НА) для определения объединяющих их различий.

Основным методом был аналог двухфакторного дисперсионного анализа с рандомным признаком «лист» и фиксированным – «сторона» (обобщенный прокрустов анализ, GPA). Величина ФА и НА определялись по индексу F-критерия Гудолла (аналог критерия Фишера). Предварительные статистические анализы выполнялись в среде Statistica 10 (Stat. Ink). GPA и ковариационный анализ выполнялись в программе

MorphoJ (Klingenberg, 2011). Для нормализации выборочных значений использовалось пермутационное размножение значений 10 000 раз, принимался статистический уровень значимости 95%.

Результаты исследования и их обсуждение

Метод нормирующей разности

Деревья различались по размеру листовых пластин ($F=25,7$; $p<<0,01$). Так, в мурманской популяции критерий Фишера в однофакторном дисперсионном анализе составлял $F=12,9$, в то же время в московской и владимирской популяциях он был равен соответственно $F=12,7$ и $F=3,5$ ($p<0,01$), что говорит о наибольшей гетерогенности выборки с Кольского полуострова.

Длина листовых пластин в мурманской популяции была намного меньше, чем в популяциях средней полосы России ($F=9,2$; $p=0,002$). Стандартное отклонение от среднего (SD) в мурманской популяции составило $SD=1,41$; в московской – $SD=0,93$, во владимирской – $SD=1,31$. Результаты описательной статистики значений ФА представлены в таблице 1.

Величина ФА, полученная мерным способом по формуле нормирующей разности, по ширине половинок листа была относительно низкой и статистически различалась в трех популяциях ($F=9,85$; $p=10^{-5}$). Во владимирской популяции высокий эксцесс (kurtosis) и скос (skewness) коррелировали с ростом дисперсии (variance), с высоким коэффициентом вариации (coef. var.), с максимальным значением ФА. В этой же популяции были и самые крупные листовые пластины.

Направленная асимметрия не выявлена (t -тест: $p>0,05$). Мерный признак ширины листовой пластины можно использовать для определения ФА, но ввиду того что признак единичный, он может давать приблизительное представление о стабильности развития.

Таблица 1

Описательная статистика листовых пластин

Популяция	Длина листа, см	FA							
		Mean	Variance	Coef. var.	Stand. err.	Skewness	Std. err. skewness	Kurtosis	Kurtosis std. err.
Мурманская	6,62±0,01	0,024	0,0002	63,285	0,002	0,569	0,330	-0,845	0,650
Владимирская	7,9±0,01	0,034	0,0009	87,576	0,004	1,563	0,330	3,736	0,650
Московская	8,18±0,01	0,016	0,0001	62,176	0,001	0,342	0,337	-0,411	0,662

Метод геометрической морфометрии

Обозначенный метод, известный с конца девяностых годов XX века, основан на преобразовании формы биологического объекта путем симметричного отражения билатеральных структур с поворотом меток для усреднения формы и размера образцов в выборке. Консенсусная фигура (центроид) означает усредненную конфигурацию формы и величины образцов. Относительно нее и рассчитываются отклонения в дисперсии координат меток. Прокрустово пространство (Procrustes space), в котором находится центроид, используется для определения расстояний между множествами значений координат, в том числе значений координат, соответствующих билатеральной асимметрии. Антисимметрия – это равномерное доминирование каждой из сторон с отрицательной корреляцией между величинами признаков и отрицательным эксцессом в выборке. В листовых пластинах такой вид асимметрии встречается очень редко. Нор-

мирование большим числом рандомных повторений значений, как правило, сглаживает проявление антисимметрии. Величина центроида – это квадратный корень из суммы отклонений меток от усредненного значения, таким образом, величина центроида не связана прямо с величиной самих листьев.

Размер консенсусного центроида снижается по мере увеличения размеров листовых пластин. Мы объясняем это снижением гетерогенности в выборках из трех популяций от мурманской до владимирской (табл. 2).

В мурманской популяции высокая гетерогенность длины листьев с малым значением среднего вызывала явное различие в величине центроида ($F=9\ 462,3$). Во владимирской популяции, несмотря на большую длину листьев, величина центроида была значительно меньше. Листовые пластины из мурманской популяции сильно различались по длине и, как показал прокрустов анализ, – по форме (табл. 3; первая строка).

Таблица 2

Длина листовых пластин и размер центроидной фигуры

Популяция / длина листа, см	Effect	SS	MS	df	F
Мурманская / 6,62 ±0,01	образец (1)	3605,2	64,4	56,0	9462,3***
	ошибка (2)	0,83	0,01	122,0	
Московская / 8,18 ±0,01	(1)	2679,9	43,22	62,0	1232,8***
	(2)	6,63	0,04	189,0	
Владимирская / 7,9 ±0,01	(1)	16358,8	308,7	53,0	6,7***
	(2)	7347,5	45,92	160,0	

Обозначения: *Effect* – источники вариации; *SS* – сумма квадратов; *MS* – средний квадрат; *df* – степень свободы; *F* – критерий Гудолла; *** – $p<0,0001$.

Таблица 3

Изменчивость формы, направленной асимметрии и ФА в прокрустовом анализе

Популяция	Effect	SS	MS	df	F
Мурманская	образец (1)	3,81	0,00	5600	22,13***
	сторона (2)	0,01	0,00	100	4,32***
	образец×сторона, (1)×(2)	0,17	0,00	5600	0,75ns
	ошибка (3)	1,00	0,00	24400	
Московская	(1)	2,21	0,00	6200	0,44ns
	(2)	3,08	0,03	100	38,17***
	(1)×(2)	5,00	0,00	6200	8,16***
	(3)	3,73	0,00	37800	
Владимирская	(1)	1,90	0,00	5300	0,35ns
	(2)	6,35	0,06	100	61,9***
	(1)×(2)	5,44	0,00	5300	6,15***
	(3)	5,34	0,00	32000	

Обозначения: *Effect* – источники вариации; *SS* – сумма квадратов; *MS* – средний квадрат; *df* – степень свободы; *F* – критерий Гудолла; *** – $p<0,0001$.

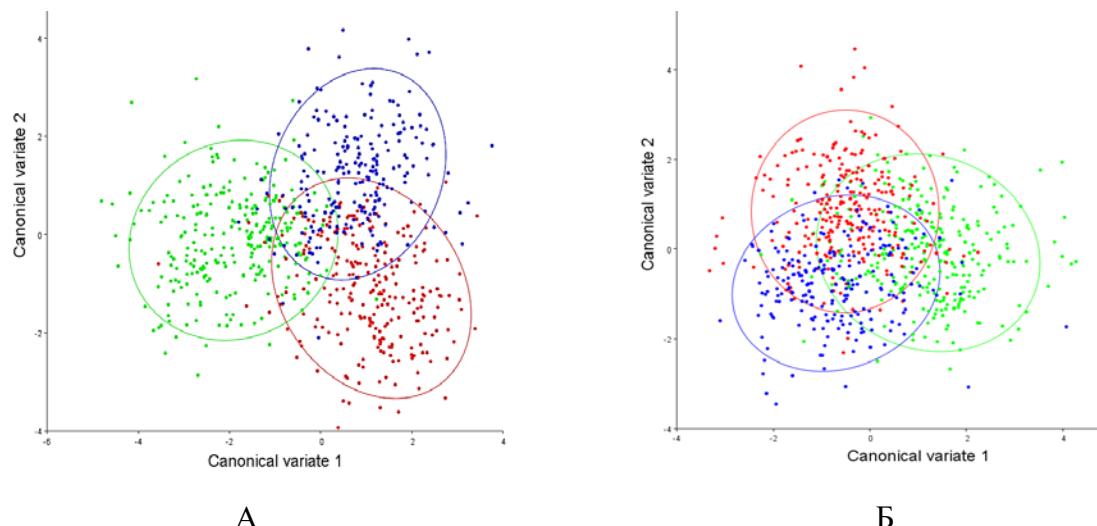


Рис. 2. Ординация компонентов формы (А) и асимметричности (Б) (зеленая – мурманская, синяя – владимирская, красная – московская популяции)

Направленная асимметрия (источник вариации «сторона») присутствовала во всех выборках с одинаковым уровнем значимости ($p<0,0001$). Флуктуирующая асимметрия отсутствовала в мурманской популяции ($p>0,05$) и проявлялась в двух других популяциях в малой доле, т. е. с низким значением F-критерия Гудолла.

Длина листовых пластин и ФА, полученная мерным способом, не коррелировала с изменчивостью формы листа. Например, в московской популяции были самые крупные листья, а во владимирской – самая высокая величина ФА на фоне несущественной изменчивости в форме листовых пластин.

Ковариационный анализ проводился для источника вариации «образец», объединенного в одну общую выборку. Этот анализ включает корреляционный и регрессионный методы и позволяет графически представить множества значений, отражающих как форму, так и асимметричность (НА+ФА) с расчетом прокрустовых расстояний, указывающих на различие между центрами множеств. На осях ОХ и ОУ располагаются канонические коэффициенты (CV1 и CV2). Они играют роль главных компонентов дисперсии и показывают ординацию (расположение) значений форм или асимметричности образцов из трех популяций (рис. 2).

Каждая точка означает образец листовой пластины с соответствующей величиной центроида, характеризующего как

форму, так и асимметричность. Точки, относящиеся к мурманской популяции, лежат в отрицательной четверти коэффициентов (рис. 2А). Это говорит об обратной зависимости переменных формы от ее среднего значения.

На рисунке 2Б эллипсы, соответствующие владимирской и московской популяциям, находятся рядом в связи со сходством по асимметрии листовых пластин, главным образом направленной. Мурманская популяция лежит правее и большей частью в положительной четверти, следовательно, асимметрия здесь представлена положительной связью между дисперсией меток и средним значением асимметрии. Эллипсы формы и асимметрии располагаются в обратном порядке, что свидетельствует об обратной связи между их величинами. Большая изменчивость формы в мурманской популяции сопряжена с малой асимметричностью, тогда как в двух других популяциях низкой изменчивости формы сопутствуют более высокие значения асимметричности (табл. 2).

Морфогеометрические расстояния (дистанции Махаланобиса), рассчитанные с учетом эллиптического распределения, показывают, что по форме листовых пластин мурманская популяция наиболее удалена от других: 3,17 (мурманская-московская) и 3,03 (мурманская-владимирская). Асимметричность мурманской популяции также отличается от популяций средней полосы России, наиболее заметно от владимирской (2,03) (табл. 4).

Таблица 4

Расстояния Махalanобиса,
полученные в каноническом вариационном анализе (CVA, $p < 0,001$)

Форма			Асимметрия		
Популяция	Московская	Мурманская	Популяция	Московская	Мурманская
Мурманская	3,17		Мурманская	1,96	
Владимирская	2,34	3,03	Владимирская	1,62	2,03

Таким образом, по форме и общей асимметричности северная популяция (мурманская) отличается от двух других и характеризуется высокой степенью изменчивости формы и слабо выраженной асимметрией листовых пластин.

Заключение

Широко распространенные виды, такие как черемуха обыкновенная, обладают широким диапазоном экологической валентности и нормы генотипической реакции, что позволяет им адаптироваться к экологическим факторам, включая факторы географической широтности и высотной поясности [3; 8].

Адаптация включает как изменчивость в форме листовых пластин, так и изменчивость асимметрии. На величину усредненного консенсуса и на изменчивость формы влияет гетерогенность длины листовых пластин, наиболее характерная для мурманской популяции. Большая величина центроида и его значительная изменчивость в этой популяции не сопряжена с высокой асимметрией: ни направленной, ни флюктуирующей.

Географически близкие популяции (владимирская и московская) схожи и по форме листовых пластин и по асимметрии и не обладают изменчивостью формы, что можно отнести к влиянию климата средней полосы.

В сравнительном аспекте мерный способ определения ФА прост и относительно надежен, но технически он недостаточно точен из-за формы края листа, когда надо определять точку с максимальной кривизной, а большая ошибка измерения сильно завышает величину ФА.

Использование геометрической морфометрии, по нашему мнению, целесообразнее для листовых пластин, не обладающих вы-

раженной направленной асимметрией, зависящей от активности ауксина в меристемной ткани [10]. В то же время метод удобен для тестирования изменчивости формы и асимметричности, а также для более точного определения флюктуирующей асимметрии.

Список литературы

- Palmer R.A., Strobeck C. Fluctuating asymmetry: a measurement, analysis, patterns. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1986. Vol. 17. P. 391–421.
- Bresson C.C., Vitassee Y., Kremer A., Delzon S. To what extent is altitudinal variation of functional traits driven, by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree Physiol.* 2011. Vol. 31 (11). P. 1164–1174. DOI: 10.1093/treephys/tpr084.
- Lugovskoy A., Gildenskiold S., Krylova T., Fomina N. Environmental quality of marginal territories using comparative analysis of fluctuating asymmetry methods and determining the area of leaf damage. In *E3S Web of Conferences*. 2020. Vol. 210. P. 02009.
- Korotchenko I.S., Pervyshina G.G., Romanova O.V., Alekseeva A.N., Medvedeva V.A. Features of the development stability of tree plantations of large city industrial zones. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019. Vol. 315. No. 2. P. 022012.
- Baranov S.G., Zykov I.E., Poloskova E.Yu., Lipponen I.N., Goncharova O.A., Kuznetsova D.D. Spatial Variability of Small-leaved Linden (*Tilia cordata* Mill.) Leaf Blade. *E3S Web of Conferences*. 2021. Vol. 254. P. 06002. DOI: 10.1051/e3sconf/202125406002.
- Zakharov V.M., Kryazheva N.G., Dmitriev S.G., Trofimov I.E. Assessment of possible changes in the status of populations due to climate change (a case study of the developmental stability of birch). *Usp. Sovrem. Biol.* 2011. Vol. 131. No. 4. P. 425–430.
- Zverev V., Kozlov M.V. Variation in leaf size and fluctuating asymmetry of mountain birch (*Betula pubescens* var. *pumila*) in space and time. Implications for global change research Symmetry. 2020. No. 12 (10). P. 1703.
- Rakonjac V., Mratinic E., Jovkovic R., Fotiric A.M. Analysis of morphological variability in wild cherry (*Prunus avium* L.) genetic resources from Central Serbia. 2014.
- Miljkovic D. et al. Wild cherry (*Prunus avium* L.) Leaf shape and size variations in natural populations at different elevations. *Alpine Botany*. 2019. Vol. 129. No. 2. P. 163–174.
- Chitwood D.H., Headland L.R., Ranjan A., Martinez C.C., Braybrook S.A., Koenig D.P., Kuhlemeier C., Smith R.S., Sinha N.R. Leaf Asymmetry as a Developmental Constraint Imposed by Auxin-Dependent Phyllotactic Patterning. *The Plant Cell*. 2012. Vol. 24. Is. 6. P. 2318–2327. DOI: 10.1105/tpc.112.098798.