

УДК 63:674.031.795.2

## СТАНДАРТНЫЕ ОШИБКИ ИЗМЕРЕНИЯ, ВИДЫ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВЫБОРОЧНЫХ ДАННЫХ И ТИПЫ АСИММЕТРИИ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИН ЧЕРЕМУХИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PRUNUS PADUS* L.)

<sup>1</sup>Зыков И.Е., <sup>2</sup>Баранов С.Г., <sup>1</sup>Прокопенко А.Д.

<sup>1</sup>Государственный гуманитарно-технологический университет, Орехово-Зуево,  
e-mail: zikov-oz@yandex.ru;

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

Для тестирования уровня стабильности развития растений часто используют степень асимметрии их листовых пластин. Возникающие при этом систематические аддитивные и мультипликативные ошибки зависят от характера распределения выборочных данных. Статистические анализы выполнены в среде STATISTICA 10 (Stat.Ink). На примере листовых пластин черемухи обыкновенной (*Prunus padus* L.) продемонстрированы два вида распределения выборочных данных – нормальное и экспоненциальное. Экспоненциальный вид распределения, близкий к логнормальному, не позволяет получить среднее значение выборки. Нормализующее преобразование выборки способствует получению среднего значения и нахождению относительного уровня стабильности развития популяции. В мурманской популяции (Апатиты) выявлена изменчивость листовых пластин, но, несмотря на значительную степень асимметричности, полученную в формуле нормирующей разности, она не обладает статистически значимой флуктуирующей асимметрией (ФА). Для выборки из владимирской популяции (Владимир) с наибольшим уровнем ФА характерны высокие значения эксцесса, скоса распределения и дисперсии ( $0,018 \pm 0,004$ ), что подтверждает двухфакторный дисперсионный анализ ( $p < 0,05$ ). Максимальная изменчивость формы листовых пластин в мурманской популяции сопряжена с малой асимметричностью, в московской (Электросталь) и владимирской популяциях выявлен высокий уровень асимметричности. Авторы рекомендуют обращать внимание на характер распределения разности между левой и правой величинами признака и использовать двухфакторный дисперсионный анализ для окончательного определения величины ФА.

**Ключевые слова:** черемуха обыкновенная, метод нормирующей разности, частотное распределение, стандартная ошибка, флуктуирующая асимметрия

## STANDARD MEASUREMENT ERRORS, TYPES OF DISTRIBUTION OF SAMPLE DATA AND TYPES OF ASYMMETRY OF LEAF PLATES OF COMMON CHERRY (*PRUNUS PADUS* L.)

<sup>1</sup>Zykov I.E., <sup>2</sup>Baranov S.G., <sup>1</sup>Prokopenko A.D.

<sup>1</sup>State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuyevo, e-mail: zikov-oz@yandex.ru;

<sup>2</sup>FGBOU TO Vladimir State University named after A.G. and N.G. Stoletov, Vladimir,  
e-mail: bar.serg58@gmail.com

To test the level of stability of plant development, the degree of asymmetry of their leaf plates is often used. The resulting systematic additive and multiplicative errors depend on the nature of the distribution of sample data. Statistical analyses performed in the STATISTICA 10 (Stat. Ink) environment. Two types of distribution of sample data – normal and exponential – demonstrated using the example of leaf plates of common cherry (*Prunus padus* L.). The exponential type of distribution, close to the lognormal, does not allow to obtain the average value of the sample. The normalizing transformation of the sample contributes to obtaining an average value and finding a relative level of stability in the development of the population. In the Murmansk population (Apatites) the variability of leaf plates is revealed, but despite the significant degree of asymmetry obtained in the normalizing difference formula, it does not have a statistically significant fluctuating asymmetry (FA). The sample from the Vladimir population (Vladimir) with the highest FA level is characterized by high values of kurtosis, distribution bias and variance ( $0,018 \pm 0,004$ ), which is confirmed by two-factor analysis of variance ( $p < 0,05$ ). The maximum variability of the shape of leaf plates in the Murmansk population is associated with low asymmetry, in the Moscow (Elektrostal) and Vladimir populations a high level of asymmetry was revealed. The authors recommend paying attention to the nature of the distribution of the difference between the left and right values of the trait, and using a two-factor analysis of variance to finally determine the value of FA.

**Keywords:** bird cherry, normalizing difference method, frequency distribution, standard error, fluctuating asymmetry

Флуктуирующая асимметрия (ФА) – это ненаправленное отклонение от нуля величин билатеральных признаков при нормальном распределении их разности. Флуктуационная изменчивость встречается не только среди симметричных признаков, она может характеризовать количе-

ственную изменчивость биомассы, окраски и других параметров генотипической и фенотипической нормы реакции. По величине индекса ФА судят о стабильности развития как отклонении от гомеостаза развития популяции. Стандартная ошибка выборочных данных – обычная характеристика описа-

тельной статистики выборки индекса ФА, зависящая от ее величины и одновременно от ошибки измерения, допускаемой исследователем. Большая ошибка искажает величину с понижением статистической значимости ФА, что часто обусловлено присутствием направленной асимметрии (НА).

Отбор наиболее симметричных листьев позволяет провести измерение и сравнение такого признака, как ширина их половин. Проверка на направленную асимметрию часто показывает ее отсутствие даже при достаточно большом объеме выборки, например 50–100 листьев. При этом высокие показатели эксцесса и асимметричности свидетельствуют о примеси других видов асимметрии, включая антисимметрию [1]. Численно индекс ФА определяют по абсолютному значению отношения разности величин признаков к их сумме. Часто присутствие флуктуирующей асимметрии без примеси НА определяется только по одному признаку.

Метод геометрической морфометрии из-за большого количества меток и случайного увеличения числа выборок повышает число степеней свободы в дисперсионном анализе в несколько сотен раз и нормализует выборку. В итоге исследователь получает направленную асимметрию, часто превышающую флуктуирующую, например по показателям среднего квадрата MS [2]. Такое обескураживающее проявление НА затрудняет поиск уровня стабильности развития, подтверждая множественность проявления асимметричности в выборке.

Увеличение числа промеров, фотографирований и образцов в выборке снижает ошибку измерения. Преимущество Прокрустового (морфогеометрического) анализа с повторными измерениями бесспорно. Остается, тем не менее, нерешенным вопрос, как исключить направленную асимметрию при сравнении двух и более выборок. Исследования видов рода *Padus* Mill. показали чувствительность листовых пластин к автомобильным выбросам [3]. Поиск дополнительных индикаторных признаков [4] для детального анализа экологического состояния окружающей среды продолжается [5].

Сочетание обоих видов асимметрии отмечено в сообществах многих растений, включая популяции липы мелколистной и березы повислой [6, 7]. Ручное или электронное измерение признаков лишь иногда позволяет выделить направленную асимметрию в *t*-тесте. При нормальном распределении разности (L–R) величину НА экстрагируют из разности по формуле  $|L-R|-(L-R)_{av}$ ,

где L и R – величины левого и правого гомологичных признаков, а  $(L-R)_{av}$  – среднее значение выборки  $|L-R|$  по абсолютному значению [8].

Таким образом, для исследователя, не ставящего задачей тестирование особенностей формы листа видов с примесью направленной асимметрии, вполне приемлемы измерение линейных (угловых) признаков и определение «чистой» ФА.

Нам представляется наиболее сложной задачей определение формы распределения выборки. Даже при аккуратном сборе листовых пластин каждая популяция обладает особенностью частотного распределения значений (L–R). Что делать, если из двух выборок одна распределена по гауссовскому нормальному закону, а другая имеет логнормальное, или экспоненциальное распределение?

Исходя из представленной выше проблемы, нами сформулирована цель исследования – определение «чистой» ФА мерных признаков в выборках с отклонением от нормального распределения. Задачей работы является сравнение величин ФА между выборками с частотным распределением разности (L–R), отличающимся от нормального распределения, и составление соответствующих рекомендаций.

#### Материалы и методы исследования

Исследованы две популяции черемухи обыкновенной (*Prunus padus* L.) урбанизированных территорий площадью около 2–3 км<sup>2</sup> в Московской области (город Электросталь, 55°48' с. ш., 38°27' в. д.) и городе Владимир (56°08'00" с. ш., 40°25'00" в. д.). Для сравнения использована северная популяция с Кольского полуострова (Мурманская область, город Апатиты, экспериментальный участок ПАБСИ, 67°34' 48" с. ш., 33°18' 10" в. д.).

Листья черемухи, близкие по величине, собраны в августе 2022 года с нижних частей крон деревьев. Методика сбора, сушки листьев и их фотографирования описана в предыдущей работе [9]. Проведено трехкратное измерение в сантиметрах только одного признака – ширины половины листа (экранный дигитайзер Dig2.31; пакет TPS, Rholf, 2017). Результаты перенесены в таблицы Excel, где выполнены первичные статистические анализы, из которых наиболее важными мы считаем характеристику частотного распределения (L–R) и нормированной разности (индекса ФА), определяемой по формуле  $|L-R|/(L+R)$ .

Двухфакторный анализ проведен в программе STATISTICA 10 (Stat. Ink). Использован раздел ANOVA – факторный анализ. В этой же программе проведена подгонка (distribution fitting) с определением типа распределения выборок. Непараметрический анализ Колмогорова–Смирнова (K-S test) служил для определения нормальности распределения, а корреляционный анализ Спирмена – для определения зависимости индекса ФА от величины признака  $(L+R)/2$ . Везде принимался статистический уровень значимости 95%.

### Результаты исследования и их обсуждение

#### Описательная статистика

Стандартная ошибка измерений левого и правого признаков в электростальской популяции была больше, чем во владимирской, и зависела от величины дисперсии и самого размера признака (больше признак – больше дисперсия – больше стандартная ошибка).

Распределения  $(L-R)$  и  $FA=|L-R|/(L+R)$  отличались от нормального (K-S test:  $p<0,05$ ), но в электростальской популяции эти отличия более выражены. Значения эксцесса и асимметричности распределения частот представлены в таблице 1.

Деревья в популяциях не различались по значению ФА ( $F=1,2$ ;  $p>>0,05$ ), а величина признака различалась только в электростальской популяции ( $df=5$ ;  $F=15,5$ ;  $p<<0,01$ ).

Корреляционная статистически значимая зависимость между размером признака и величиной ФА не установлена, за исключением слабо выраженной отрицательной связи между  $(L+R)/2$  и ФА. Это позволило сравнить две популяции с разными по величине листовыми пластинами. Направленная асимметрия не была выявлена ( $t$ -тест нулевой гипотезы  $L=R$ ;  $p>0,05$ ), следовательно, такой мерный признак, как ширина половины листовой пластины, может быть использован для определения ФА (рис. 1).

Таблица 1

Основные показатели описательной статистики листовых пластин

Популяция	n	признак, см	ФА				
			среднее	дисперсия	асимметричность	эксцесс	K-S тест, $p<0,05$
Владимир	69	1,81±0,02	0,018±0,004	0,001	4,79±0,29	27,90±0,57	0,33
Электросталь	65	2,10±0,04	0,012±0,002	0,0002	1,92±0,30	3,80±0,59	0,19

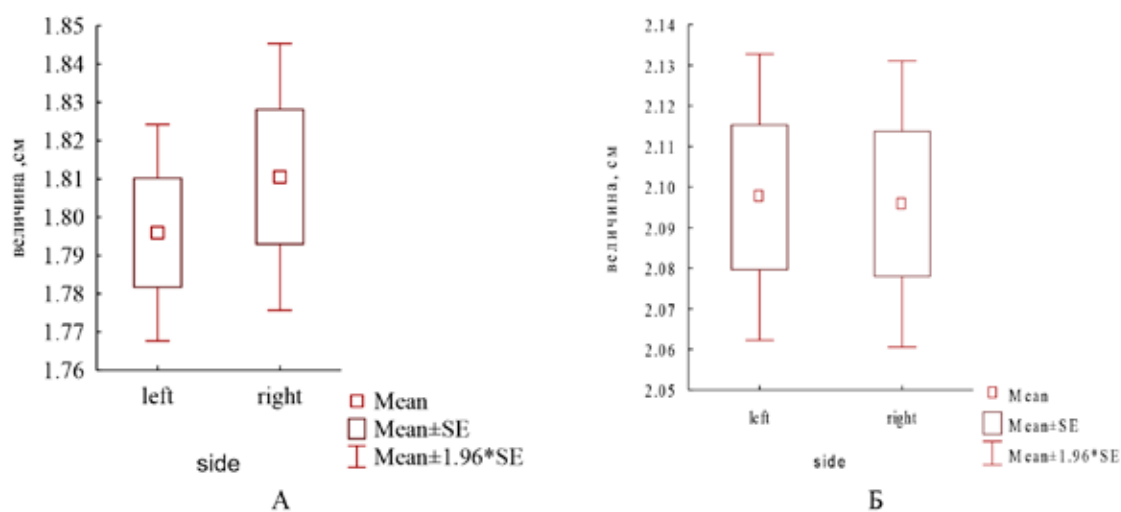


Рис. 1. Средние значения (Mean) и стандартная ошибка (SE) величины левого и правого признаков (А – Владимир, Б – Электросталь) и доверительный интервал среднего значения ( $mean \pm 1,96 * SE$ )

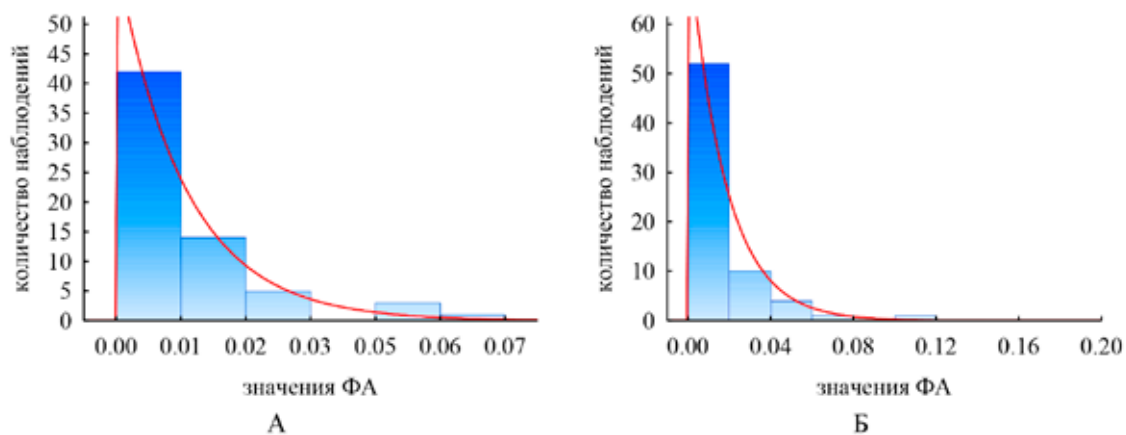


Рис. 2. Экспоненциальная форма распределения значений ФА (А – электростальская и Б – владимирская популяции)

Антисимметрия (как очень редкий тип асимметрии) не обнаружена. Мы считаем наиболее подходящим методом определения антисимметрии нахождение корреляционной связи между выборками L и R. При непараметрическом распределении обычно используют корреляцию Спирмена. Отсутствие значимой отрицательной корреляционной связи указывает на отсутствие антисимметрии. В нашем случае коэффициент  $r$  Спирмена оказался статистически незначимым ( $r=0,03$ ;  $p=0,5$ ).

*Проверка распределения и нормализация выборок*

В современных статистических программных средствах насчитывается более 30 видов (типов) распределения частот в исследуемых выборках. В программе STATISTICA предусмотрено семь основных типов распределения. Нами протестированы выборки  $FA = |L-R|/(L+R)$ , обладавшие непараметрическим распределением, тестом Колмогорова–Смирнова установлено отклонение от нормальности ( $p < 0,01-0,02$ ). Протестирована нулевая гипотеза о том, что исследуемая выборка не отличается по частотному распределению от предсказанной. Выявлен экспоненциальный характер распределения частот ФА с вероятностью не менее 5% ( $p=0,55$  – Электросталь и  $p=0,13$  – Владимир) (рис. 2).

Результаты других видов распределения были статистически незначимы. Логарифмированием с трансформацией по Боксу [10] получено нормальное распределение. При этом использована формула  $d = (|LgL - LgR| + 0,00005)^{0,33}$ , где  $d$  – ве-

личина преобразованной флуктуирующей асимметрии. Это преобразование предусматривает логарифмирование разности L–R и возведение в степень.

Трансформированные выборки были проверены на нормальность распределения и подтвердили справедливость гипотезы о его соответствии более чем на 80%. Проверка на логнормальное распределение соответствует гипотезе на 57%. T-тестом не установлены различия средних значений между трансформированными выборками ( $d=0,32$  – Владимир и  $d=0,33$  – Электросталь). Таким образом, распределение ФА после трансформации наиболее близко к логнормальному и нормальному, что свидетельствует о присутствии мультипликативной ошибки, связанной с ростом листовых пластин [8].

*Сравнительный анализ*

Для сравнения ФА использована мурманская популяция. Для нее характерны гетерогенность в размерах листьев ( $F=9,2$ ;  $p < 0,001$ ) и асимметричность на индивидуальном уровне (по отдельным деревьям;  $F=12,9$ ,  $p < 0,001$ ). Распределение ФА характеризовалось как экспоненциальное (33%), и логнормальное (27%), направленная асимметрия отсутствовала. Величина  $FA = |L-R|/(L+R)$ , превышала ФА популяций средней полосы и была равна  $0,024 \pm 0,002$  (Владимир –  $0,018 \pm 0,004$ ; Электросталь –  $0,012 \pm 0,002$ ;  $p < 0,05$ ). Непараметрическим тестом Вилкоксона установлено различие на уровне  $p=0,001$ . Характерным также является присутствие отрицательного эксцесса выборки ФА ( $\gamma=0,85 \pm 0,6$ ),

что может указывать на примесь антисимметрии. Гетерогенность в длине листовых пластин и их индивидуальная изменчивость в условиях севера, на первый взгляд, повышают асимметричность. Как показывают предыдущие исследования методом геометрической морфометрии, форма листовых пластин черемухи мурманской популяции очень изменчива, а их размеры меньше, чем в популяциях средней полосы России [2, 9].

Значительная стандартная ошибка измерения левой и правой половин листовых пластин черемухи (особенно электростальской популяции) объясняется их выраженным компенсаторным ростом. С этим связана высокая вероятность экспоненциального распределения, которое нормализуется даже после простого нахождения разности логарифмов по основанию 10:  $LgL - LgR$ . Такой метод нормализации применим, но не для всех выборок. Если у выборки высокий показатель эксцесса, то применяют нормализацию по Боксу, также не являющуюся панацеей от непараметрического распределения. В таких случаях важно избегать выбросов, дающих «хвост» в распределении значений ФА. Так, владимирская популяция с высокими значениями асимметричности и эксцесса обладает примесью других видов распределения, возможно, дискретных, т.е. прерывистых – Пуассона или Бернулли. При предварительной инспекции данных гербарных материалов важна картина распределения выборочных величин  $L$  и  $R$ . Высокие показатели дисперсии, асимметричности (скоса) и эксцесса значений ФА часто свидетельствуют об отклонении от нормального распределения, когда становится невозможным сравнение по средним арифметическим данным.

В сравнительном аспекте мерный способ определения ФА прост и достаточно надежен. Для окончательного результата мы рекомендуем использовать двухфактор-

ный анализ (особь  $\times$  сторона). Его достоинство состоит в высокой степени свободы при определении ошибки, т.е. доли необъясненной дисперсии. Результаты двухфакторного анализа приведены в таблице 2.

Наибольшая ошибка (ФА10;  $p > 0,05$ ) была получена для мурманской популяции из-за высокой гетерогенности линейных параметров листовых пластин. В электростальской популяции большая стандартная ошибка выборки и экспоненциальность распределения также привели к росту ошибки взаимодействия особь  $\times$  сторона. И только одна владимирская популяция обладала статистически значимой флуктуирующей асимметрией (индекс ФА10).

Чистую ФА можно получить даже при повышенных значениях эксцесса ( $\gamma = 2-3$ ), но не настолько высоких, чтобы вызвать большую ошибку необъясненной дисперсии. Отклонение от нормальности, которую постоянно необходимо проверять, – это следствие высокого эксцесса, т.е. выбросов отдельных значений (варианс) за пределы доверительного интервала.

Метод геометрической морфометрии подтвердил отсутствие ФА в мурманской популяции, высокая изменчивость формы здесь сопряжена с низким проявлением асимметрии. По нашему мнению, этот факт не говорит о стабильном развитии данной популяции, а лишь характеризует ее гетерогенность в условиях северного региона.

Рекомендации для мерного определения ФА:

- 1) максимально приближать размеры листьев, собираемых в различных локалитетах;
- 2) проверять выборки на нормальность распределения разности ( $L-R$ );
- 3) делать трехкратные измерения для определения стандартной ошибки;
- 4) проверять нормализующий метод оценки ФА в двухфакторном дисперсионном анализе.

Таблица 2

Результаты двухфакторного анализа особь  $\times$  сторона (ФА10)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Владимир	2,093	68	0,031	3,0	0,000
ошибка	2,811	276	0,010		
Электросталь	0,186	59	0,003	1,1	0,306
ошибка	0,688	240	0,003		

Примечание: SS – сумма квадратов;  $df$  – степень свободы; MS – средний квадрат; F – критерий Фишера

**Список литературы**

1. Palmer R.A., Strobeck C. Fluctuating asymmetry: a measurement, analysis, patterns. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1986. V. 17. P. 391-421.
2. Klingenberg C.P. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry*. 2015. T. 7. № 2. P. 843-934.
3. Чернакова О.В., Чудновская Г.В. Влияние автомобильного транспорта на флуктуирующую асимметрию листьев представителей рода *Padus* // *Вестник ИрГСХА*. 2019. № 91. С. 92-100.
4. Лебединский И.А., Мочалова К.Ю. Увеличение эффективности применения показателей флуктуирующей асимметрии листьев при проведении измерений по методике Захарова // *Разработка и перспективы применения инновационных технологий в контексте мирового и регионально-развития*, 2020. С. 14-19.
5. Суслина М.А., Кравченко О.С., Сунцова Л.Н. Черемуха обыкновенная и черемуха Маака как индикаторы экологического состояния окружающей среды г. Красноярска // *Технологии и оборудование садово-паркового и ландшафтного строительства*, 2021. С. 156-158.
6. Зыков И.Е., Баранов С.Г., Липпонен И.Н., Полоскова Е.Ю., Кузнецова Д.Д. Адаптивная изменчивость листовых пластин липы мелколистной (*Tilia cordata* Mill.) // *Успехи современного естествознания*, 2022. № 7. С. 7-13. DOI: 10.1753/use.37849.
7. Баранов С.Г., Бибик Т.С., Ильин Л.И. Точность измерения и направленная асимметрия листовых пластин // *Вестник Казанского ГАУ*. 2017. № 2 (44). С. 14-20.
8. Cowart N.M., Graham J.H. Within-and among-individual variation in fluctuating asymmetry of leaves in the fig (*Ficus carica* L.) *International Journal of Plant Sciences*, 1999. V. 160. № 1. P. 116-121.
9. Зыков И.Е., Баранов С.Г., Полоскова Е.Ю., Липпонен И.Н., Гончарова О.А., Прокопенко А.Д. Популяционная изменчивость листовых пластин *Prunus padus* L. // *Успехи современного естествознания*. 2022. № 4. С. 29-34.
10. Swaddle J.P., Witter M.S., Cuthill I.C. The analysis of fluctuating asymmetry. *Animal Behaviour*. 1994. V. 48. № 4. P. 986-989.