

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»

С. Г. БАРАНОВ
Н. Е. БУРДАКОВА

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

Учебное пособие



Владимир 2015

УДК 574:575.2

ББК 29.081

Б24

Рецензенты:

Кандидат биологических наук, доцент
зав. кафедрой технологии сельскохозяйственного производства
Владимирского филиала Российского государственного
аграрного заочного университета

Т. С. Бибик

Кандидат биологических наук, доцент
зав. кафедрой биологического образования
Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых

Е. П. Грачева

Печатается по решению редакционно-издательского совета ВлГУ

Баранов, С. Г.

Оценка стабильности развития. Методические подходы :
Б24 учеб. пособие / С. Г. Баранов, Н. Е. Бурдакова ; Владим. гос.
ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ,
2015. – 72 с. – ISBN 978-5-9984-0556-3.

Содержит практические работы и приложения, предусматривающие освоение теоретических и практических методик с целью изучения экологии популяций.

Предназначено для студентов, изучающих экологию, всех форм обучения и составлено в соответствии с общеобразовательным стандартом.

Рекомендовано для формирования профессиональных компетенций в соответствии с ФГОС 3-го поколения.

Ил. 9. Табл. 12. Библиогр.: 7 назв.

УДК 574:575.2

ББК 29.081

ISBN 978-5-9984-0556-3

© ВлГУ, 2015

*Великая книга природы написана
математическими символами.*

Г. Галилей

Предисловие

Первый вопрос, с которым встречается молодой исследователь, начинающий научную работу: насколько достоверны полученные данные? Обычный распространенный вид затруднения связан с ответом на вопрос: а сколько надо поставить опытов, провести наблюдений, чтобы получить достаточно достоверные результаты? Данные, полученные на основе критерия Стьюдента, к которым так стремятся многие начинающие исследователи, сразу вызывают дополнительные вопросы. Реже проводится проверка статистических гипотез, связанных с характером распределения значений в выборке или с определением достоверности доверительных интервалов. Еще реже используются методы непараметрического анализа. В настоящем учебном пособии приведены этапы определения различий в величине правых и левых гомологичных структур, характерных почти для любого биологического объекта. Описаны примеры использования критериев Стьюдента и Фишера при параметрическом распределении значений и непараметрические тесты. Рассмотрены понятия дисперсионного анализа как основного вида анализа нескольких выборок. Помимо традиционного дисперсионного анализа описан Прокрустов дисперсионный анализ, основанный на различии в дисперсии координат точек в двухмерном пространстве.

Проблема асимметрии биологических объектов является одной из фундаментальных в современной биологии. Само определение симметрии вызывает трудность. Один объект может быть симметричным по одному признаку, но не симметричным по другому (другим). Изучение билатеральной асимметрии в последнее время направлено от изучения отдельных признаков к комплексному описанию всего

контура той фигуры, которая описывает листовую пластину (у высших растений) или форму рыб, пресмыкающихся, земноводных, насекомых или их органов, например черепа, плавников.

Предлагаемое пособие содержит теоретический и практический разделы, помогающие определить уровень стабильности развития по величине флуктуирующей асимметрии. В настоящее время этот вид асимметрии является основным способом определения стабильности развития.

Авторы благодарят члена-корреспондента РАН В. М. Захарова за использованные материалы в приложении и других исследователей, без вклада которых в теорию и практику стабильности развития работа не была бы подготовлена: А. А. Колонцова, Д. Е. Гаврикова, Д. Б. Гелашвили, Н. В. Глотова, А. Г. Васильева, С. Клингенберга и многих других.

Введение

Стабильность развития является онтогенетической характеристикой организма. Онтогенетические свойства способны изменяться при различных видах стресса. Популяции могут обладать пониженной, средней и повышенной стабильностью развития. Изменения в стабильности развития очень незначительные, но они могут быть измерены с помощью приемов статистической биологии. Организмы способны нейтрализовать нарушения своего развития. Нарушения в стабильности развития могут быть как на фенотипическом уровне, так и на генотипическом. Размер нарушений зависит от генотипической характеристики, т.е. от нормы реакции организма.

Генотипы проявляют различную стабильность развития при одинаковом средовом воздействии, а идентичные генотипы выражают различные уровни стабильности развития при варьировании средового воздействия.

Современные ГИС-технологии открывают перспективу долгосрочного мониторинга биоты, включая мониторинг уровня стабильности развития элементов флоры как основного компонента экосистем городов, урбанизированных ландшафтов и особо охраняемых территорий. Таким образом, мониторинг стабильности развития становится неотъемлемым компонентом биоиндикации.

Совершенствование методов, включая мета-анализ, передовые критериальные оценки способствуют преодолению трудностей интерпретации стабильности развития как проявления случайной формы изменчивости.

Раздел 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

ФЕНОТИП, ГЕНОТИП, СТАБИЛЬНОСТЬ РАЗВИТИЯ

Впервые связь между генотипическими и фенотипическими признаками начал изучать советский цитогенетик Н. В. Тимофеев-Рессовский. Николай Владимирович фактически установил, что, во-первых, нет жесткой связи между генотипом и формирующимся на его основе фенотипом, а во-вторых, фенотипическая изменчивость обусловлена регуляторными механизмами развития, поэтому в фенотипе проявляется далеко не все, что может проявиться. В своих исследованиях оставался на точке зрения, что при формировании организма существуют неизвестные эндогенные механизмы, которые проявляются случайно (стохастически). Академик Б. Л. Астауров, работая с дрозофилами, изучал билатерально симметричные признаки. Он и является создателем теории флуктуирующей асимметрии билатеральных симметричных признаков.

Под феногенетической изменчивостью понимают изменчивость в структуре закладывающихся в эмбриогенезе и постэмбриональном развитии билатерально симметричных органов – метамеров.

Например, правые и левые лопасти с жилками листовой пластины клена представляют левые и правые метамеры. Зарождающиеся в эмбриогенезе правые и левые конечности млекопитающих также являются метамерами.

Флуктуирующая асимметрия (ФА) представляет элемент феногенетической изменчивости как случайное проявление её. Как правило, ФА невелика и составляет не более 1 % от величины признака. Величина измеряется чаще в долях и равна разности по абсолютному знаку, отнесенной к сумме величин признаков. ФА не имеет направленности. Это колеблющаяся около нуля величина. Согласно теории Б. Л. Астаурова свойствами флуктуирующей асимметрии являются независимость и случайность. То есть одна половина организма проявляет изменчивость независимо от другой.

Под случайностью понималась независимость от внешних и внутренних факторов. Спустя полвека ученые обратили внимание на

этот вид случайной изменчивости в связи с изучением биоиндикационных свойств и придали ФА биоиндикационные свойства, отражающие изменение среды.

Другим проявлением фенотипической изменчивости является изменчивость в виде фенотипов. Фенотип – это единичный качественный признак, например, рисунок на карапаксе у насекомых или на коже у амфибий. Рисунки различаются индивидуально, как и величина флуктуирующей асимметрии. Иногда можно определить и межпопуляционные отличия. По представлениям академика Яблокова, фенотипы отражают генотипическую конституцию особи, а частота их встречаемости отражает генетические особенности группы особей. Следовательно, изредка встречающиеся особи клевера с 4 рассеченными долями листовой пластинки свидетельствуют о генетическом характере этого проявления. Превышение процента выше порогового (допустимого) говорит о серьезном отклонении в стабильности развития популяции клевера. Однако до сих пор не известны причины и следствия таких отклонений.

Популяционная морфология – это сравнительно молодое направление в биологии, развиваемое академиком Яблоковым. Основное содержание и задачи этой отрасли представляются как синтез теории Дарвина, генетики, эмбриологии и морфологической фенотипической генетики.

Каким образом происходят контроль и регуляция фенотипических проявлений? Регуляция таких процессов не может объясняться только функционированием ДНК, которые отвечают за функционирование и проявление отдельных признаков. Регулируют и направляют проявления фенотипической изменчивости, включая случайную изменчивость в виде ФА, внеядерные или цитоплазматические РНК, занимающие около 2 % всего количества РНК. Такой тип регуляции фенотипической изменчивости носит название эпигенетического механизма.

Есть предположение о существовании эпигенетического механизма «наследования приобретенных признаков». Системы эпигенетической наследственности существенно отличаются от генетических. Во-первых, многие изменения системы эпигенетической наследственности являются направленными и предсказуемыми, поскольку связаны с изменениями условий среды, во-вторых, это часто адаптив-

ные изменения, в-третьих, частота таких изменений может широко варьироваться от 0 до 100 %.

Флуктуирующая асимметрия является удобным инструментом для изучения несовершенства эпигенетических процессов.

Больше всего изучаются насекомые, дрозофилы и другие двукрылые, сетчатокрылые, перепончатокрылые, меньше – млекопитающие и растения. Изучается как количественный набор признаков, так и мерные характеристики (длина, размер углов между элементами органов и т.д.). Как правило, ФА как популяционно-генетическая характеристика изучается, когда используются особи из различных популяционных, а также внутривидовых групп: разновозрастных или разнополых.

Под понятием “канализация” принято понимать тенденцию к достижению определенного, генетически обусловленного конечного состояния, иного по сравнению с изменчивостью в начале развития. Одновременно академик Шмальгаузен подразумевал под канализацией способность организма производить один и тот же фенотип в различных средах. Канализованный отбор представлялся им как элиминация особей, чувствительных к действию изменяющихся факторов среды. Параллельно с работами Шмальгаузена Уоддингтоном было введено понятие “гомеорез” как способность к поддержанию постоянства развития.

Организм как биологическая система способен исправлять внешние и внутренние воздействия. Увеличение стабильности развития ведёт к симметричному соответствию билатеральных регуляторных механизмов и снижению ФА.

Стабильность развития определяется организацией и принципами, присущими как фенотипу, так и генотипу, что с точки зрения физики соответствует минимуму затраты энергии или максимуму энтропии при совместной реализации фенотипа и генотипа. По Уоддингтону, ненаправленную асимметрию признака можно представить в виде стабилизированного потока (креода), или траектории онтогенетического развития. В настоящее время флуктуирующая асимметрия рассматривается как ненаправленная асимметрия, зависящая от состояния среды (давления среды) (рис. 1).

Стабильность развития характеризует не только морфогенетические процессы, но и биохимические параметры. Например, стабиль-

ность развития березы повислой, определяемая по величине ΦA , коррелировала с интенсивностью фотосинтетических процессов.

Наибольшее количество работ по ΦA растений выполнено на основе листовых пластин. Высокий уровень фитотаксиса, в частности, его разновидности – филлотаксиса – дает серьёзные помехи для определения ΦA . Мягкость механических тканей и их деформация под действием физических факторов также вносят определённые трудности в определение ΦA , как и выбор размерных и счетных признаков, служащих для анализа.

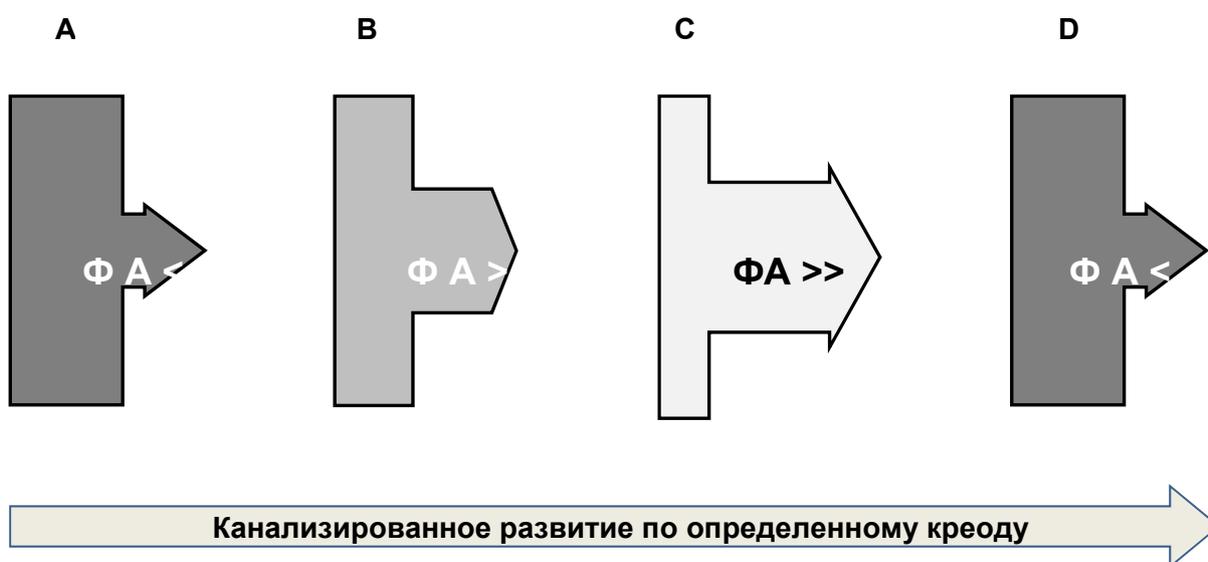


Рис. 1. Схематическое объяснение четырех этапов микроэволюционного преобразования: А – высокий уровень стабильности развития; В – отклонение от симметрии, снижение стабильности развития; С – последующее снижение стабильности развития и увеличение асимметрии; D – восстановление стабильности развития и низкого уровня асимметрии

При изучении разных видов стресса исследователи Hochwender и Fritz выявили высокое влияние гибридизации на увеличение ΦA , более существенное по сравнению с недостатком воды, воздействием насекомых или конкурентной борьбой в экосистеме.

Флуктуирующая асимметрия как форма изменчивости проявляется на различных уровнях и некоторыми авторами представляется как форма внутри индивидуальной изменчивости. Например, ΦA цветка и листовых пластин отражает внутрииндивидуальную изменчивость растения. Однако определение уровня ΦA оказывается практически полезным в основном на наиндивидуальном уровне, напри-

мер на уровне групп или особей. Саму флуктуирующую асимметрию как феномен целесообразно рассматривать как вариант случайной фенотипической изменчивости (рис. 2).

По данным ряда исследователей, при раннем онтогенезе организмов, включая растения, действие стресс-факторов оказывает наиболее сильное влияние на проявление ФА.



Рис. 2. Классификация флуктуирующей асимметрии как проявление изменчивости

Материальной основой наследственной изменчивости билатеральных признаков может служить явление резких нарушений генной экспрессии. Полное или частичное ингибирование ферментов, отвечающих за экспрессию, нарушение контроля экспрессии генов на ранних этапах онтогенеза билатеральных структур предположительно являются причинами отклонения от идеальной асимметрии. Как было сказано, малые внеядерные РНК играют в контроле (ингибировании, активировании) не последнюю роль. Многие исследователи полагают, что флуктуирующую асимметрию закономерно рассматривать как индикатор ранней биодиагностики состояния популяции при относительно низком уровне средовых нарушений, которые еще не связаны с необратимыми изменениями в популяциях.

Для молодых растений (ювенальные стадии) ФА проявляется более выражено. Контроль размеров признаков имеет важное значе-

ние, так как ошибка измерения в абсолютном значении увеличивается у крупных форм и вносит серьезное отклонение в результаты тестирования ФА. При отсутствии положительной корреляционной связи говорят об отсутствии влияния размера на величину флуктуирующей асимметрии. Как правило, изначально собранный гербарный материал должен включать листовые пластины заведомо одного размера. Таким образом, флуктуирующая асимметрия как разновидность случайной фенотипической изменчивости теоретически считается удобным инструментом для тестирования стабильности развития и экологического состояния организма в онтогенезе.

Исследователями в разное время описаны три формы билатеральной асимметрии.

Флуктуирующая асимметрия присутствует при нормальном распределении ($R - L$) со средним значением, равным нулю. При постановке t -теста с нулевой гипотезой о равенстве R и L вероятность обратной гипотезы о неравенстве разности ($R - L$) нулю мала ($p < 0,05$).

Направленная асимметрия (НА) – это явление право- или левосторонней асимметричности при значительном отклонении значения ($R - L$) от нуля. Асимметрия как одна из характеристик описательной статистики указывает на наличие НА. Асимметрия стандартного нормального распределения равна нулю и обычно принимает значения от -1 до 1 . Если форма гистограммы ($R - L$) скошена влево, то значение асимметрии отрицательно, в случае если форма (профиль) гистограммы скошена вправо, значение асимметрии положительно.

Антисимметрия (АнС) – это третий вид асимметрии. При антисимметрии асимметрия проявления признака является нормой. Говоря простым языком, половина популяции имеет правостороннее проявление асимметрии, а половина – левостороннее. Статистически это выражается в том, что различия ($R - L$) распределены вокруг нуля, но частоты распределения отклоняются от нормальности в сторону отрицательного эксцесса, или бимодальности. Характерный пример – величина крупной клешни у манящего краба – наблюдается одинаково как у правосторонних особей, так и у левосторонних.

Праворукость у человека следует относить к феномену направленной асимметрии (значительный скос гистограммы распределения ($R - L$) в левую сторону).

МЕТОДЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ОБРАБОТКЕ СТАТИСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Билатеральные признаки, которые используются для анализа флуктуирующей асимметрии, делят на меристические (счетные) и метрические (измеряемые по величине).

Примером счетных признаков может быть количество зубчиков на листовых пластинках земляники. В качестве мерных признаков чаще используются размеры жилок или отдельные части дентально-венальных элементов (совокупностей зубчиков и жилок).

К рекомендациям по определению ФА относятся следующие:

- а) Тестирование на отсутствие различия между размерами признаков среди изучаемых популяций.
- б) Проверка распределения и выбраковка данных, содержащих НА.
- в) Определение ошибки измерения с использованием нескольких повторностей измерения.
- г) Проверка на аллометрические свойства (для избегания положительной связи между величиной признака и величиной ФА).

Общей рекомендацией является использование нескольких признаков и нахождение присутствия различия между особями сравниваемых популяций. Это различие должно быть статистически значимым по сравнению с ФА этих же признаков среди особей внутри популяции.

В качестве методов тестирования индекса ФА предлагаются различные статистические анализы. В основе большей их части лежит анализ в различии значений дисперсий между правыми и левыми признаками как счетными, так и мерными. В прикладных статистических программах используются различные вариации дисперсионного анализа, гнездовой, многофакторный, ковариационный и другие, каждый из которых основан на допущениях и поправках.

Для преодоления трудностей учета распределения и нормирования формы распределения среди исследуемых данных применяются различные методы, среди которых морфогеометрический завоевывает все большую популярность.

Основной способ измерения ФА – это тестирование различий частотного распределения разности ($R - L$) или, наоборот, ($L - R$). Форма распределения данных ($R - L$) может быть различной. Это ли-

бо параметрическое распределение, подчиняющееся нормальному закону распределения частот Гаусса, либо непараметрическое с высокими показателями эксцесса и асимметрии распределения.

Нормальное (параметрическое) распределение частот подчиняется функции

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x^2}{2}},$$

где $f(x)$ – плотность распределения непрерывной случайной величины x ; e – основание натурального логарифма.

Можно выделить другие формы распределения, близкие к нормальному: дискретное (выборка, состоящая из чисел, лежащих в определенном интервале) и асимптотическое, т.е. непрерывное.

Особенностью метода свертки функций является то, что он носит нелинейный характер, при этом нормировка производится одновременно со сверткой. Метод зарекомендовал себя при работе с непараметрической формой распределения данных.

Формула для определения ФА этим методом сводится к следующей метрике:

$$\overline{FA} = 1 - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{2 \sum_{j=1}^m L_{ij} \times R_{ij}}{\sum_{j=1}^m (L_{ij}^2 + R_{ij}^2)},$$

где n – число объектов;

m – число признаков;

L_{ij} и R_{ij} – величина левого и правого признака j , объекта i соответственно.

Приведенная формула является логическим продолжением расчета интегрального индекса ФА, предложенного В. М. Захаровым:

$$\overline{FA} = \frac{1}{n \times m} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{|L_{ij} - R_{ij}|}{|L_{ij} + R_{ij}|}.$$

Показатель флуктуирующей асимметрии, основанный на вариации признака (левого и правого) и корреляции его значений, был разработан в Марийском государственном университете. В приведенной

ниже формуле флуктуирующая асимметрия находится как показатель ковариации-корреляции CVR :

$$CVR = CV(1 - \rho^2),$$

где CVR – показатель ковариации-корреляции;

CV – коэффициент ковариации между величиной гомологичных признаков;

ρ – коэффициент корреляции между величиной гомологичных признаков.

Метод удачно сочетает коэффициент вариации (показывает степень изменчивости признака, обусловленную внутренними или внешними по отношению к организму причинами) и коэффициент корреляции, который является мерой структурной взаимосвязи и целостности организма.

Отметим, что существует более 20 индексов для определения значения ФА. Одни из индексов нормируют величину признака, другие – размер выборок. Каждый подход обладает преимуществом в параметрическом или непараметрическом анализе. Большинство индексов оперируют к величине метрических или числу меристических признаков, хотя некоторые индексы основаны на дисперсии отклонения разности ($R - L$) или на коэффициенте корреляции между этими же значениями. Перечисленные методы, однако, нельзя назвать практически удобными или универсальными. Как и предыдущие методы, двухфакторный дисперсионный анализ также оперирует к отдельным признакам. Каждый признак анализируется на характер распределения предварительно. При работе с растениями многие признаки оказываются непригодными ввиду наличия примесей НА или АНС.

Морфометрический (морфогеометрический) метод

Идея этого метода заключается в использовании различия координат точек левых и правых гомологичных органов. Для растений обычно используются крайние точки жилок (лендмарки), а также точки лобных окончаний или пазух лобных долей, например у дуба или клена. Достоинство метода заключается в использовании двухмерного пространства. Следовательно, флуктуирующая асимметрия определяется с учетом формы листовой пластины. Прикладные программы, использу-

емые для этих целей, в основном применяются для анализа формы ископаемых костей, других биологических объектов, например, представителей класса рыб.

Одним из методических подходов является метод Прокрустового выравнивания. При этом методе точки справа и слева выравниваются вокруг начала координат с учетом зеркально-отраженных точек (рис. 3). Для построения усредненного многоугольника используют метод наименьших квадратов.

Преимущество геометрического подхода в том, что метки несут информацию о пространственном расположении гомологичных симметричных структур. Следовательно, принимаются во внимание углы, а не только линейные метрические и счетные признаки.

Преимущество описываемого метода состоит в большем количестве степеней свободы, используемых при постановке двухфакторного анализа (особь \times сторона) по сравнению с тривиальным методом (табл. 1). Критерий Фишера, чувствительный к числу степеней свободы, повышает значимость уровня вероятности при проверке нулевой гипотезы.

Табл. 1. Степени свободы среднего квадрата в двух видах дисперсионного анализа

Компоненты дисперсионного анализа	Прокрустов дисперсионный анализ	Тривиальный дисперсионный анализ
Особь	$(n - 1) (2k - 4)$	$n - 1$
Сторона	$(2k - 4)$	1
Особь \times сторона	$(n - 1) (2k - 4)$	$(n - 1) 1$
Ошибка измерения	$(r - 1) 2x (2k - 4)$	$(r - 1) 2n$

Примечание. k – количество пар меток, n – количество образцов в выборке; r – количество повторных измерений по Klingenberg *et al*, 2002.

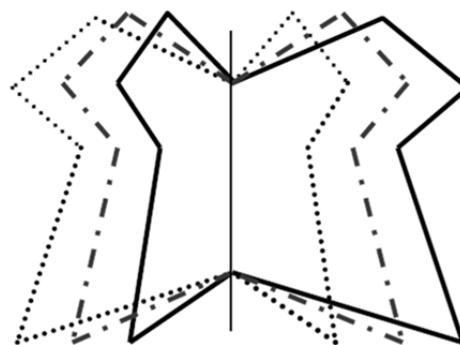


Рис. 3. Отображение исходной фигуры (жирная линия) по принципу Прокрустового выравнивания (по Klingenberg *et al*, 2002). Сначала строится зеркальное отображение каждой половины (пунктир), потом – симметричная фигура (штрихпунктир) повторным зеркальным отражением. ФА находится как различие между координатами меток исходной фигуры и координатами меток повторного (общего) зеркального отражения

Большое количество работ проведено по изучению ФА листовых пластин дуба, липы, рябины, клена и других древесных растений, что объясняется удобством многолетнего мониторинга за этими растениями.

В меньшей степени работы проведены над изучением ФА вяза, ольхи, ивы, осины, туи и других древесных видов.

При тестировании стабильности развития в ответ на действие стресса подбор адекватной пары популяция-контроль играет большое значение. Это обстоятельство, как и подбор экспериментальной единицы (дерева, листа или признака), и определяет результаты статистически достоверного наблюдения. В этом контексте заслуживают внимания работы по изучению многофакторного влияния экологических факторов на флуктуирующую асимметрию различных видов березы, использование трансекты по направлению к источнику загрязнения и контрольной территории представляется также важным в постановке наблюдения.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА ВЕЛИЧИНЫ ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ

Обычный (нормирующий метод)

1. Проверка на присутствие направленной асимметрии. Это первый этап анализа. При этом проводится тест на равенство дисперсий. Используется критерий Фишера (F -тест). Проверяется равенство дисперсий двух выборок R (величины правого признака) и L (величины левого признака). В случае когда F -тест показывает различие в дисперсиях, при проверке на направленную асимметрию проводится двухвыборочный t -тест с различными дисперсиями. Если F -тест не показывает различие в дисперсиях, то используется двухвыборочный t -тест с одинаковыми дисперсиями. NA оценивается по отклонению выборочного среднего $(R - L)$ от нуля.

2. Проверка на бимодальность распределения как проявление антисимметрии. Этот тест проводится с помощью описательной статистики по величине эксцесса. Он может варьировать по величине от отрицательных значений до высокоположительных. В первом случае (если эксцесс γ менее -2) говорят об отклонении от нормального рас-

пределения величин ($R - L$). Это означает присутствие в выборке антисимметрии, что встречается довольно редко. Если эксцесс более 2, то говорят о большом «выбросе» значений, но не о антисимметрии. Выбросы встречаются часто. Такая группа листьев показывает либо высокую морфологическую гетерогенность, либо недостаточно однородные листовые пластины, асимметричные, с неправильной формой или слишком различающиеся по размеру.

3. Выборки по признакам, содержащие НА, либо АнС, либо с высоким эксцессом, не используют при подсчете величины ФА.

4. Таким образом, отсеиваются выборки по признакам, с высоким/низким значением эксцесса и с направленной асимметрией. Остаются выборки с нормальным распределением значения ($R - L$), которые и используются для расчета величины индекса $ФА = |R - L| / (R + L)$.

Пример с объяснением

Для проверки гипотезы о равенстве нулю используют программу Excel. Сначала проверяется равенство дисперсий двухвыборок. Используется критерий Фишера. Проверяется гипотеза о том, что эти выборки по дисперсии совпадают (выбраны из одной генеральной совокупности). В программе Excel предусмотрен двухвыборочный F -тест для дисперсий. Это и есть тест на проверку дисперсий. Опции: сервис, анализ данных, двухвыборочный F -тест для дисперсии. Пакет анализа данных устанавливается в опции: параметры Excel – надстройки – пакет анализа – ОК. Можно пользоваться функцией Ф-тест во вкладке «Функции».

Если мы указываем, что сходства-различия достоверны (статистически значимы) на 5%-ном уровне значимости, то это означает, что вероятность того, что они недостоверны, составляет 0.05 (а доверительная вероятность $0.95 = 1 - 0.05$).

Например, при изучении стабильности развития получены две выборки из генеральной совокупности. Выборка состоит из промеров гомологичного билатерального признака – размера правой и левой сторон листа. Чтобы использовать эти выборки для дальнейшего анализа, надо убедиться, что между ними нет серьезных отличий. Только тогда эти данные можно использовать для определения стабильности

различия. В противном случае при существенном превышении размера одной стороны пластины над другой говорят о присутствии направленной асимметрии, которая не позволяет точно определить величину

Табл. 2. Значения измерений левой и правой сторон листовой пластины (100 образцов)

L	R
2.508	2.505
2.278	2.449
2.609	2.639
2.758	2.623
2.446	2.778
2.487	2.297
2.600	2.657
3.096	2.943
2.145	2.115
2.398	2.669
...	...

ФА. Рассмотрим два ряда значений, полученных при измерении левой и правой сторон листовой пластины (табл. 2).

Есть ли различия между этими значениями? Чтобы ответить на этот вопрос, сначала проверяется равенство дисперсий двух выборок. Используется критерий Фишера: Excel: сервис: анализ данных: двухвыборочный F -тест для дисперсии. Проверяется гипотеза о том, что эти выборки по дисперсии совпадают (выбраны из одной генеральной совокупности).

Табл. 3. Двухвыборочный F -тест для дисперсии

Характеристика	Переменная 1	Переменная R
Среднее	2.532	2.567
Дисперсия	0.069	0.056
Наблюдения	100	100
df	9	9
F	1.224	
P(F<=f) одностороннее	0.384	
F критическое одностороннее	3.179	

Согласно критерию Фишера значение F , найденное экспериментально, меньше значения F критического ($1.22 < 3.17$) при уровне значимости $p > 0.05$ (табл. 3). Это значит, что частное, полученное при делении большей дисперсии на меньшую, не превышает табличное значение при данном количестве измерений. Говоря математическим языком, принимается нулевая гипотеза об отсутствии различия в дисперсиях между двумя выборками. Проверяемая гипотеза отклоне-

на быть не может при уровне значимости 95 %. Вероятность события, подтверждающего нулевую гипотезу H_0 более 95 % . В данном случае p равно 0.384 (38.4 %). Это говорит о том, что вероятность ошибочной гипотезы (о том, что дисперсии не равны) больше 5 %. Если бы p было менее 0.05, то говорилось бы о менее чем 5%-ной вероятности принятия нулевой гипотезы и, следовательно, о различии в дисперсиях. При этом F превышало бы критическое табличное значение.

Следующий шаг статистической обработки – это постановка анализа на сравнение двух выборок по их средним значениям. При этом используется двухвыборочный t -тест с двумя одинаковыми дисперсиями. В случае если F -тест показал бы различие в дисперсиях, то проводился бы двухвыборочный t -тест с различными дисперсиями.

Рассмотрим результаты этого теста (табл. 4).

Табл. 4. Двухвыборочный t -тест с одинаковыми дисперсиями

Характеристика	Переменная 1	Переменная 2
Среднее	2.532	2.567
Дисперсия	0.069	0.056
Наблюдения	100	100
Объединенная дисперсия	0.063	
Гипотетическая разность средних	0	
df	18	
t-статистика	-0,312	
P(T<=t) одностороннее	0.379	
t критическое одностороннее	1.734	
P(T<=t) двухстороннее	0.758	
t критическое двухстороннее	2.101	

Строка "P(T<= t) двухстороннее" сообщает о том, что вероятность реализации нулевой гипотезы H_0 велика: $p = 0.379$, что больше уровня значимости 0.05 ($p > 0.05$). Говорят, что различия между выборками случайные (недостовверные). Например, другая выборка может вновь не показать различий.

Строка "P(T<=t) одностороннее" используется, когда получают две выборки от одного источника, например при повторном измерении одной и той же половины листовой пластины.

Итак, данные выборки могут быть использованы для дальнейшего анализа. Подобная оценка свойств выборок проводится в исслед-

дованиях над другими организмами: земноводными, рептилиями, млекопитающими, насекомыми, птицами.

Корреляционный анализ

Корреляционный анализ показывает связь между изучаемыми признаками. Он также представлен в пакете "Анализ данных". Приведём пример корреляционного анализа коэффициентов стабильности развития для 10 листьев березы повислой по шести признакам (табл. 5).

Табл. 5. Десять листьев с коэффициентами (индексами) ФА по каждому из шести признаков

Номер листовой пластины	Номер признака					
	1-го	2-го	3-го	4-го	5-го	6-го
1	0.047	0.007	0.124	0.112	0.000	0.058
2	0.006	0.047	0.014	0.076	0.012	0.031
3	0.137	0.008	0.214	0.135	0.012	0.101
4	0.018	0.041	0.114	0.019	0.013	0.041
5	0.003	0.023	0.000	0.113	0.047	0.037
6	0.128	0.033	0.224	0.164	0.043	0.118
7	0.051	0.005	0.045	0.024	0.000	0.025
8	0.006	0.021	0.060	0,000	0.013	0.020
9	0.010	0.016	0.134	0.009	0.038	0.041
10	0.033	0.023	0.104	0.000	0.039	0.040

Затем строят таблицу значений коэффициентов корреляции (табл. 6).

Табл. 6. Значения коэффициентов корреляции

Номер признака	Корреляционный коэффициент признака					
	1-го	2-го	3-го	4-го	5-го	6-го
1	1	-0.282	0.822	0.665	-0.020	0.912
2	-0.282	1	-0.191	-0.021	0.259	-0.066
3	0.822	-0.191	1	0.415	0.114	0.868
4	0.665	-0.021	0.415	1	0.131	0.787
5	-0.020	0.259	0.114	0.131	1	0.229
6	0.912	-0.066	0.868	0.787	0.229	1

Выделяем жирным шрифтом те признаки, которые дают коэффициент корреляции 0.7 или более. Это показатели сильной корреля-

ционной связи. У первого и шестого признака наибольшее количество коэффициентов, показывающих высокую корреляционную связь с величинами ФА других признаков. В дальнейшей работе мы используем коэффициенты второго – пятого признаков.

Завершающая проверка статистической значимости найденных различий

После корреляционного анализа проводят сравнение показателя ФА территорий по *t*-критерию. Анализ проводят аналогично тому, как сказано выше. Проверяется нулевая гипотеза об отсутствии различий между выборками. Делается вывод о существенном отличии одной территории от другой по индексу (коэффициенту) стабильности развития.

После получения данных о стабильности развития в баллах их “накладывают” на карту города, района, области. Проводят интегральный анализ, по которому выясняют наиболее неблагополучные районы. Следующий этап – “наложение” на карту данных по химическому загрязнению почв, воды, атмосферного воздуха. Проводится интегрированный анализ (например, многофакторный дисперсионный анализ). В конце работы делают вывод: а) о факторах, прямо влияющих на здоровье среды региона (района, области); б) наиболее неблагополучных районах. Даются рекомендации в административные органы для поддержания и восстановления здоровья среды.

Под качеством среды понимается ее состояние, необходимое для обеспечения здоровья человека и других видов живых существ. Степень отклонения среды от нормы определяется по состоянию населяющих ее живых организмов, которое, в свою очередь, определяется по нарушению стабильности развития наиболее массовых (фоновых) видов и оценивается по пятибалльной шкале (табл. 7).

Табл. 7. Пятибалльная оценка качества среды

Стабильность развития, балл	Качество среды
1-й	Условно нормальное
2-й	Начальные (незначительные) отклонения от нормы
3-й	Средний уровень отклонений от нормы
4-й	Существенные (значительные) отклонения от нормы
5-й	Критическое состояние

Стабильность развития как способность организма к нормальному развитию (без нарушений и ошибок) является чувствительным индикатором состояния природных популяций и позволяет оценивать суммарную величину антропогенной нагрузки. Наиболее простым и доступным для широкого использования способом оценки стабильности развития является определение величины флуктуирующей асимметрии билатеральных морфологических признаков. Она представляет собой отклонения от строгой билатеральной симметрии вследствие несовершенства онтогенетических процессов и проявляется в незначительных ненаправленных различиях между сторонами (в пределах нормы реакции организма). Получаемая интегральная оценка качества среды является ответом на вопрос о реакции живого организма на неблагоприятное воздействие, которое имело место в период его развития.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФА МОРФОГЕОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Морфогеометрический метод предполагает трансформацию формы листовой пластины и дальнейший статистический анализ с использованием данных Евклидова пространства в двухмерной системе координат. Математически Евклидово пространство – это про-

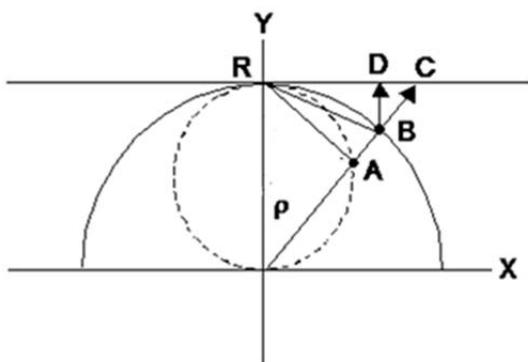


Рис. 4. Объяснение проекции меток на плоскость тангенциального пространства (по: Rohlf, 1999; Slice, 2001; Павлинов, Микешина, 2002, с изменениями)

странство, в котором расстояние между двумя точками равняется квадратному корню из суммы квадратов разностей координат этих точек.

Для определения значения ФА выборки используют точки Прокрустова расстояния, RD, RC (рис. 4) иногда – хордовое расстояние (RB). Фактически флуктуирующая асим-

метрия численно равна разности между правыми и левыми величинами гомологичных билатеральных признаков. Исходя из этого

морфогеометрическая (морфометрическая) флуктуирующая асимметрия (МГФА) определяется разностью величин RD, RC или RB. В нашем случае использовались Прокрустовы дистанции (расстояние RD).

RD – искомое Евклидово расстояние для точки A. Точка (метка) A и угол ρ используются в Кендалловом пространстве (вписанная окружность) для оценки форм образцов. Точка B – проекция точки A на Прокрустово пространство (большая полусфера). Прокрустово пространство используется для определения значения ФА гомологичных точек. Оба пространства находятся в системе декартовых координат. Евклидово пространство находится на тангенциальной плоскости. Тангенциальное пространство лежит на плоскости по касательной к Прокрустовому пространству. Любая точка Прокрустова пространства может быть отображена на ней ортогональным проектированием (точка D) или стереопроектированием (точка C).

В работе для определения ФА популяции используется программа SAGE (Symmetry and Asymmetry in Geometric Data), version 1.05 (Marquez, 2008). При тестировании различия в форме использовалась разность между координатами меток усредненного консенсуса и образца. Эту разность называют Прокрустовым остатком (Procrustes residual). Для каждой метки возможно определять собственную ФА, так называемую относительную деформацию (relative warps). Прокрустов дисперсионный анализ в программе SAGE предусматривает от ста итераций и более для нахождения значения ФА популяции и при нахождении ФА отдельно для каждой пары меток (мультиваративный дисперсионный анализ, MANOVA). В программе предусмотрено нахождение принципиальных компонентов ковариационных матриц по каждой паре меток, а также работа со счетными признаками.

Для оценки статистической значимости в Прокрустовом дисперсионном анализе используется обобщенный F -критерий Гудолла (основан на анализе Прокрустовых расстояний)(Goodall, 1991; Dryden, Mardia, 1998).

В основе работы семейства программ TPS лежит принцип выравнивания координат всех точек, которые интересуют пользователя.

Для нанесения меток наиболее проста и удобна программа TPSdig, 2004, J. Rohlf, Version: 1.46. Она позволяет использовать масштаб, сохранять данные координат меток в файлах формата TPS. Каждая листовая пластина оцифровывается два раза, и данные сохраняются в отдельных файлах.

Программа TPS позволяет находить относительные Прокрустовы остатки каждой исходной точки как дисперсию координат этой точки и её проекции на Прокрустовом пространстве.

Выполняются следующие алгоритмы работы с программой:

а) подготовка TPS-файлов из файлов формата JPEG в сетке координат в двухмерном пространстве путем дигитализации гомологичных точек в дву-, трехкратной повторности.

б) обработка полученных файлов программой TPSUtil. Файлы TPS объединяются попарно как повторности. Затем объединенный файл загружается в программу SAGE (рис. 5).

Пакет программ TPS предусматривает различные другие варианты обработки данных, которые можно рассматривать как альтернативные способы нахождения величины ФА пар меток, листовой пластины или всей популяции. Однако эти способы более длительны и сводятся к усреднению получаемых значений различий гомологичных характеристик, например дисперсий.

Для определения НА используется, как и в двухфакторной смешанной модели дисперсионного анализа, произведение средних квадратов фактора «сторона».

При постановке Прокрустова дисперсионного анализа используется пермутационный тест с числом итераций 100 – 1000. Изначально распределение значений Прокрустовых расстояний оценивается как соответствующее нормальному распределению (Шитиков, 2010).

После постановки теста оценивается статистическая значимость. Как правило, пермутационный тест показывает статистическую значимость для произведения MS_{IS} , иногда (в 10 %) проявляется значимое значение MS_S , что означает присутствие направленной асимметрии.

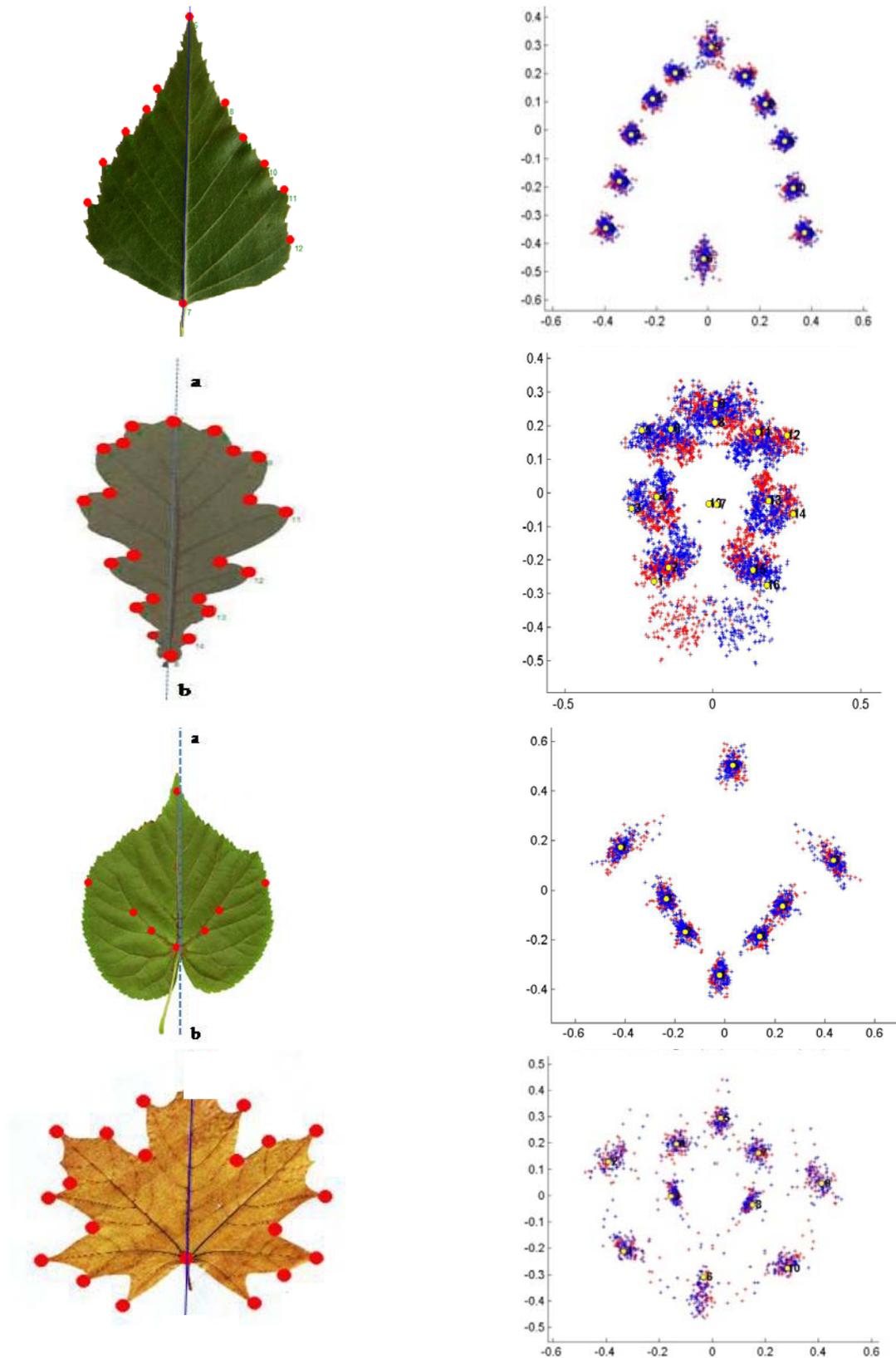


Рис. 5. Листовые пластины с метками: слева: гомологичные точки (метки) на листовой пластине *Betula pendula* Roth., *Quercus robur*, *Tilia cordata* и *Acer platanoides* – скриншоты программы TPSDig; справа – метки после отражения, прозрачные точки – токи консенсуса; ab – ось асимметрии (SAGE)

Поскольку антисимметрия означает отклонение от нормального распределения, отсутствие этого вида асимметрии подразумевает наличие нормального распределения в начальных выборках (без предельных значений выбросов). Определение антисимметрии сводится к определению соответствия формы образца (выборки из популяции) с формой консенсуса – усредненной билатерально симметричной фигуры. В отсутствии различия ($p < 0.05$) принимается гипотеза об отсутствии антисимметрии в образце. При этом выполняется F -тест Гудолла (Goodall's F -test). Описанная критериальная оценка может служить для определения различий в форме, хотя такая задача не всегда входит в цель работы.

Раздел 2. ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Проведение оценки качества среды, ее благоприятности для человека необходимо для определения состояния природных ресурсов, разработки стратегии рационального использования региона, определения предельно допустимых нагрузок для любого региона, выявления зон экологического бедствия, при проведении работ по оценке воздействия на окружающую среду (ОВОС), проектировании, строительстве, реконструкции и перепрофилировании предприятий, оценки эффективности природоохранных мероприятий, создания особо охраняемых природных территорий.

Для оценки качества среды используются наиболее обычные фоновые виды растений и животных. При отсутствии в районе исследования видов, указанных в приложении, возможно использование других видов.

Желательно проводить сравнительный анализ асимметрии у разных видов живых организмов по определенным признакам. Однако признаки, подходящие для анализа, могут по-разному реагировать на изменчивость стабильности развития как в бóльшую, так и в меньшую сторону или не реагировать вообще. Поэтому морфогеометрический анализ представляется более целесообразным в силу своей интегративности.

Определение величины флуктуирующей асимметрии билатеральных морфологических структур при использовании меристического (счетного) признака у каждой особи производится путем подсчета числа определенных структур слева и справа. Популяционная оценка выражается средней арифметической разницей в количестве гомологичных структур слева и справа.

Места сбора материала

Оценку проводят на модельных площадках, которые выбирают в зависимости от целей работы. Для фонового мониторинга исполь-

зуются несколько площадок в разных биотопах, различных по естественным условиям.

Для оценки последствий антропогенного воздействия площадки выбирают из максимально сходных по естественным условиям биотопов с разной степенью антропогенной нагрузки, а также из мест, не подверженных антропогенной нагрузке, для оценки условного фонового уровня. При необходимости изучают факторы, влияющие на стабильность развития. Например, измеряют освещенность с помощью люксметра Ю-116, определяют химический состав почвы, загрязненность атмосферы, в том числе по биоразнообразию лишайников.

Выбор объекта

Оценка качества среды предполагает анализ наиболее обычных фоновых видов (модельных объектов) разных групп животных и растений.

Для характеристики состояния экосистемы рекомендуются следующие критерии отбора модельных объектов, а именно выбор:

- представителей различных систематических групп, занимающих разное место в экосистемах;
- видов, обычные миграции которых не выходят за пределы исследуемых территорий;
- относительно крупных организмов, которые в меньшей степени зависят от микробиотопических условий в пределах исследуемых местообитаний и пригодны для характеристики исследуемой территории в целом;
- фоновых видов для общей характеристики местообитания и возможности сбора необходимого материала на всех исследуемых участках в течение ограниченного промежутка времени;
- объектов для экстраполяции получаемых данных на человека.

В соответствии с этими критериями для оценки состояния наземных экосистем чаще всего используются следующие виды организмов:

- древесные растения – береза повислая, а также другие виды берез, произрастающие на территории России;
- массовые виды мелких млекопитающих, которые в большинстве местообитаний представлены рыжей полевкой или малой мышью, а в условиях с большой антропогенной нагрузкой – полевой мышью.

Для характеристики водных экосистем используют наиболее обычные, массовые виды рыб – плотву, окуня, леща, из класса земноводных – прудовую или озерную лягушку.

Минимальное необходимое и достаточное количество объектов для проведения оценки качества среды – по одному виду от каждой исследуемой группы наземных и водных организмов (растений, млекопитающих и т. д.).

Для этих объектов были разработаны шкалы балльных оценок состояния организма по уровню стабильности развития. В приложении дан список видов и приведено описание признаков, рекомендуемых для проведения такой оценки.

ОТБОР ПРОБ ПОЛЕВОГО МАТЕРИАЛА И ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИССЛЕДОВАНИЙ

Растения

Сбор материала следует проводить после остановки роста листьев (в средней полосе начиная с июля). Каждая выборка должна включать в себя 100 листьев (по 10 листьев с 10 растений). Листья с одного растения хранятся отдельно для того, чтобы в дальнейшем можно было проанализировать полученные результаты индивидуально для каждой особи (собранные с одного дерева листья связывают за черешки). Все листья, собранные для одной выборки, необходимо сложить в полиэтиленовый пакет, туда же вложить этикетку. В этикетке указать номер выборки, место сбора (делая максимально подробную привязку к местности), дату сбора.

При выборе деревьев важно учитывать, во-первых, четкость определения принадлежности растения к исследуемому виду. По данным некоторых авторов, береза повислая способна скрещиваться с другими видами берез, образуя межвидовые гибриды, которые обладают признаками обоих видов. Во избежание ошибок следует выбирать деревья с четко выраженными признаками березы повислой. Во-вторых, листья должны быть собраны с растений, находящихся в сходных экологических условиях (учитывается уровень освещенности, увлажнения и т.д.). Рекомендуется выбирать деревья, растущие на открытых участках (полянах, опушках), так как условия затенения

являются стрессовыми для березы и существенно снижают стабильность развития растений. В-третьих, при сборе материала должно быть учтено возрастное состояние деревьев. Для исследования выбирают деревья, достигшие генеративного возрастного состояния.

Сбор листовых пластин следует проводить после остановки роста листьев (в средней полосе начиная с июля). У березы повислой собирают листья с нижней части кроны дерева с максимального количества доступных веток равномерно вокруг дерева. Тип побега также не должен изменяться в серии сравниваемых выборок. Листья следует собирать только с укороченных побегов. Размер листьев должен быть сходным, средним для данного растения. Поврежденные листья могут быть использованы для анализа, если не затронуты участки, с которых будут снимать измерения. С растения собирают несколько больше листьев, чем требуется, на тот случай, если часть листьев из-за повреждений не сможет быть использована для анализа.

Подготовка и хранение материала. Для непродолжительного хранения собранный материал можно хранить в полиэтиленовом пакете на нижней полке холодильника. Для длительного хранения надо зафиксировать материал в 60%-ном растворе этилового спирта или гербаризировать.

Рыбы

При поимке рыб важно учитывать, что выборки должны состоять из особей сходного возраста. При изучении взрослых рыб полученные оценки уровня флуктуирующей асимметрии отражают воздействие среды на момент формирования исследованных признаков. Оценку ситуации на текущий момент позволит получить анализ выборок сеголеток. Рекомендуемый объем выборки 20 особей.

Для анализа лучше всего использовать свежепойманную рыбу. Хранить материал удобно в замороженном виде. Можно фиксировать рыбу в 4%-ном формалине или 70%-ном этаноле. Следует избегать длительного хранения материала, так как при этом возможно нарушение чешуйчатого покрова и некоторых других структур.

Земноводные

Для анализа следует брать особей земноводных в возрасте от одного года и старше, так как большинство используемых морфологических признаков формируется к этому возрасту и не подвержено

дальнейшим возрастным изменениям. Использование сеголеток может быть рекомендовано лишь для сравнения с той же возрастной группой, поскольку к этому моменту не все из исследуемых морфологических структур достигли дефинитивного состояния. Сравнимые выборки необходимо подбирать из животных сходного размера. Рекомендуемый объем выборки 20 особей.

Отловленные особи рекомендуется усыплять эфиром. Удобнее всего для анализа использовать свежепойманный материал. При необходимости его можно хранить в замороженном виде или в 4%-ном формалине, или 70%-ном этаноле. Хранение в этаноле предпочтительнее, так как при длительном хранении в формалине окраска лягушек темнеет, что в дальнейшем делает анализ окраски невозможным. Правильно фиксированный материал сохраняет окраску и признаки остеологии на протяжении десятков лет.

Млекопитающие

При сборе млекопитающих при оценке ситуации на текущий момент необходимы выборки молодых особей этого года рождения, в других случаях для анализа пригодны особи разного возраста. Рекомендуемая выборка 20 особей. При сборе материала предпочтительнее использование живоловок или ловчих канавок, так как другие орудия отлова могут повреждать материал, что особенно нежелательно при малой численности животных. При интерпретации результатов необходимо учитывать, что полученные оценки стабильности развития по краниологическим признакам отражают воздействие на момент формирования исследованных признаков (период пренатального онтогенеза и ранние этапы постнатального развития) и не подвержены дальнейшим возрастным изменениям.

Подготовка и хранение материала. Материал до обработки хранят в замороженном виде. При отсутствии такой возможности для фиксации можно использовать этанол или формалин. Для изучения асимметрии у мелких млекопитающих используют черепной материал. Головы отделяют от тушек и вываривают в воде. Время вываривания зависит от способа и времени консервирования, а также возраста и вида животного (для мышевидных грызунов порядка 50 минут) и в каждом конкретном случае определяется опытным путем. Далее удаляют мягкие ткани с костей черепа при помощи глазного пинцета, препаровальных игол, зубной щетки с жесткой щетиной и глазного скальпеля. Качество очистки черепа контролируют под бинокуляром. Костный матери-

ал не требует особых условий хранения. Он может сохраняться длительное время. Материал должен быть снабжен этикеткой с указанием места и времени сбора и при необходимости другой информацией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

Древесные формы. Для этих растений важно иметь стандартные по размеру листовые пластины. Ширина листовой пластины

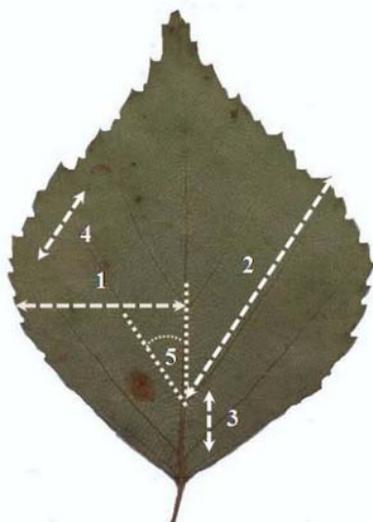


Рис. 6. Схема морфологических признаков, использованных для оценки стабильности развития березы повислой (*Betula pendula*): 1 – ширина левой и правой половинок листа. Для измерения лист складывают пополам, совмещая верхушку с основанием листовой пластинки. Потом разгибают лист и по образовавшейся складке измеряют расстояние от границы центральной жилки до края листа; 2 – длина жилки второго порядка, второй от основания листа; 3 – расстояние между основаниями первой и второй жилок второго порядка; 4 – расстояние между концами этих же жилок; 5 – угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка

должна быть равна, см:

у березы повислой (*Betula pendula* Roth) 2.5 – 3;

клена европейского (*Acer platanoides*) 6.5 – 8;

дуба черешчатого (*Quercus robur*) 3.5 – 4.5;

тополя черного (*Populus nigra*) 2.5 – 3.0;

липы мелколистной (*Tilia cordata* Mill) 3.0 – 4.0.

Береза повислая (*Betula pendula*), ольха черная и серая

При проведении исследований выполняют следующие операции. Для измерения лист березы помещают перед собой брюшной (внутренней) стороной вверх. Брюшной называют сторону листа, обращенную к верхушке побега. С каждого листа снимают показатели по пяти промерам с левой и правой сторон листа (рис. 6).

Для исследований требуются циркуль-измеритель, линейка и транспортир. Промеры 1 – 4 снимают циркулем-измерителем, угол между жилками (признак 5) изме-

ряют транспортиром. Для этого центр основания окошка транспортира совмещают с точкой ответвления второй жилки второго порядка от центральной жилки. Эта точка соответствует вершине угла. Кромку основания транспортира надо совместить с лучом, идущим из вершины угла и проходящим через точку ответвления третьей жилки второго порядка. Вторым лучом, образующим измеряемый угол, получают используя линейку. Этот луч идет из вершины угла и проходит по касательной к внутренней стороне второй жилки второго порядка. Результаты исследований заносят в таблицу.

Для дуба черешчатого (рис. 7) разработана следующая система признаков:

1 – расстояние между окончаниями двеллярных элементов (первой и второй оформленной лопасти);

2 – угол между рахисом и первой латеральной жилкой;

3 – длина жилки первой лопасти;

4 – расстояние между основаниями первой и второй жилок.

Для оценки стабильности развития липы мелколистной используются следующие признаки (рис. 8): 1 – ширина середины листа; 2 – расстояние между основаниями первой жилки первого порядка и второй жилки второго порядка; 3 – расстояние между основаниями второй и третьей жилок второго порядка на первой жилке первого порядка; 4 – расстояние между основаниями

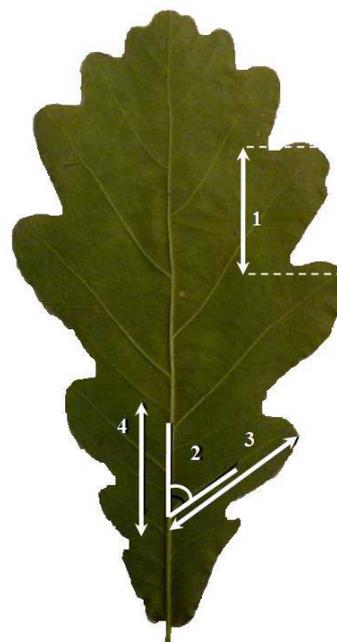


Рис. 7. Схема признаков, использованная для оценки стабильности развития дуба черешчатого

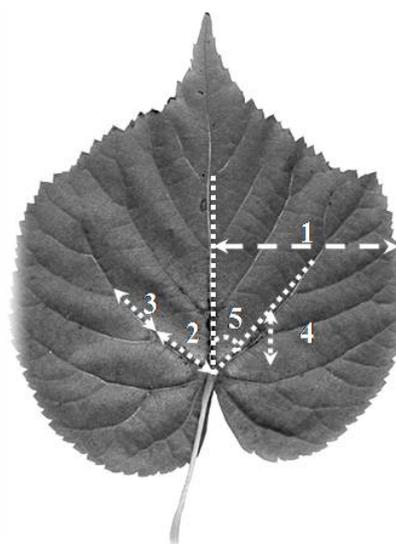


Рис. 8. Схема признаков, использованная для оценки стабильности развития липы мелколистной

первой и второй жилок первого порядка; 5 – угол между центральной и первой жилками.

Сосна обыкновенная (*Pinus silvestris*)

У хвои измеряют один признак: различие между длиной двух игл в паре. При этом длина одной хвоинки принимается за правый признак (независимо какой, большей или меньшей), а длина другой хвоинки – за левый признак. Для обсчёта используют те же таблицы, как и при работе с березой повислой.

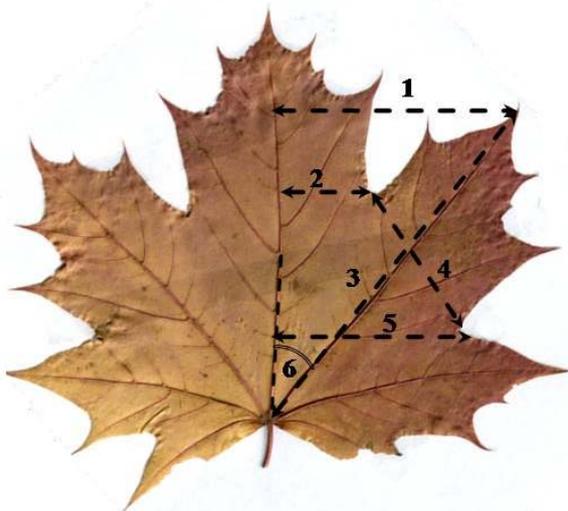


Рис. 9. Схема признаков, использованная для оценки стабильности развития клёна остролистного *Acer platanoides*: 1 – максимальная ширина листа; 2 – расстояние от верхней впадины максимальной лопасти до средней жилки; 3 – длина максимальной лопасти; 4 – ширина максимальной лопасти; 5 – расстояние от нижней впадины максимальной лопасти до средней жилки; 6 – угол между главной жилкой (центральной) и основной жилкой максимальной лопасти

Собираются листья одного размера по 10 штук с 5 кустов. Обсчёт ведут по способу, использованному при обсчете травянистых растений.

Травянистые растения

Виды: клевер ползучий, клевер гибридный.

Измеряют длину центральных жилок боковых листочков слева и справа. Минимальный размер выборки 25 листьев с 25 растений.

Исследуемыми видами являются манжетка лекарственная, подорожник большой, ланцетовидный, малый, одуванчик лекарствен-

Стабильность развития клена остролистного определяется с помощью следующих признаков (рис. 9).

Кустарники

Виды: бузина, крушина, боярышник, ива козья, ива серебристая, ива ушастая, бредина.

Определяют размеры правой и левой сторон листовой пластины. Измерение проводят путем складывания пластинки пополам (основания к вершине) и измерения перпендикуляра к средней жилке с точностью до 0.5 мм.

ный, мать-и-мачеха, земляника лесная, черника, брусника. Анализируемый признак – ширина правой и левой сторон листовой пластины.

При сборе материала для биоиндикационных исследований следует выбирать территории, расположенные близко к жилым домам, животноводческим комплексам, детским лагерям, высоковольтным линиям электропередач, проезжим дорогам (хотя бы к одному из этих факторов). Расстояние до этих объектов должно быть в пределах 25 – 50 м. Рельеф местности должен быть однородным. Необходимо также учесть возможные места складирования удобрений, стоянки скота, остатки строений, бывшие дороги и т.п. Наличие этих объектов и расстояния от них мест выборок отмечаются на этикетках. В качестве контрольных выбирают территории, удаленные на расстояние 50 – 100 м, но не более.

Каждую выборку снабжают этикеткой с указанием даты, места сбора (подробной привязки на местности). Если собранный материал не может быть обработан сразу, то его помещают на нижнюю полку холодильника (максимальный срок хранения неделя). Для длительного хранения используют фиксатор – этанол 70%-ный или 3%-ный формалин.

Для обработки собранного материала необходимы линейка, циркуль-измеритель. Одну выборку обрабатывает один человек.

Определение величины асимметрии

$$\sigma_d^2 = \frac{\sum (d_{l-r} - M_d)^2}{n - 1},$$

где $M_d = \frac{\sum d_{l-r}}{n}$, $d_{l-r} = \frac{2(d_l - d_r)}{d_l + d_r}$,

где σ_d^2 – дисперсия различий между сторонами относительно среднего различия;

d_l – значение признака на левой стороне;

d_r – значение признака на правой стороне;

M_d – среднее различие между сторонами;

n – число промеров (численность выборки).

РАБОТА С РЫБАМИ, ЗЕМНОВОДНЫМИ И МЛЕКОПИТАЮЩИМИ

Для оценки уровня стабильности развития при ихтиологических исследованиях используется 6 – 8 легко учитываемых признаков, таких как число лучей парных плавников, число тычинок на первой жаберной дуге (дополнительно можно учитывать тычинки и на остальных жаберных дугах), число чешуек в боковой линии и др. В приложении приведена система морфологических признаков, используемая для оценки стабильности развития леща и плотвы.

У ряда видов (например, у щуки) учитывают количество хемипор на разных участках головы, а у окуня, кроме того, – число шипов (выростов) на преджаберной крышке. Перечни морфологических признаков, используемых для оценки стабильности развития у золотого и серебряного карася, щуки, окуня, бычка-зеленчака, приведены в приложении. Для учета всех признаков необходим бинокуляр.

Для анализа стабильности развития земноводных используют меристические признаки окраски и скелета (см. приложение). При работе с группой европейских зеленых лягушек – озерной лягушкой (*Rana ridibunda*), прудовой лягушкой (*Rana lessonae*), гибридной формой (*Rana esculenta*) – используются такие признаки, как число полос и пятен на бедре, голени и стопе, число пятен на спине, число белых пятен на плантарной стороне второго, третьего и четвертого пальцев задней конечности, число пор на плантарной стороне четвертого пальца задней конечности, число зубов на межчелюстной кости и сошнике.

При проведении анализа следует учитывать ряд нюансов:

- Не учитывается мелкий крап.
- При работе с признаками 1 – 6 (см. приложение) бывает трудно отличить пятно от полосы. Полосой следует считать тот элемент рисунка, длина которого, по крайней мере, в два раза превышает ширину.
- Пятна спины, расположенные между центральной линией и дорсолатеральной железой, следует учитывать от основания головы до подвздошной кости, так как дальше часто располагается множество мелких пятен, точный учет которых затруднителен.

- Следует учитывать только наиболее крупные поры на плантарной поверхности четвертого пальца. Число таких пор обычно бывает не больше пятнадцати.

- Место соединения межчелюстной и верхнечелюстной костей определить достаточно легко, так как соединение это подвижно.

- При подсчете числа зубов следует помнить, что у амфибий происходит смена зубов, в связи с чем одного или нескольких зубов может не хватать, однако, это довольно легко определить по большому расстоянию между зубами. Такой пропуск в зубном ряду следует учитывать как зуб.

Для учета признаков 8 – 13 необходим бинокляр. Схема морфологических признаков травяной лягушки (*Rana temporaria*) приведена в приложении.

Используя предлагаемый метод возможно проведение прижизненной оценки. При этом следует исключить признаки остеологии (особенностей скелета) (признаки 12, 13-й) и признак 11-й (см. приложение). Для получения достоверных результатов с помощью такой системы признаков минимальный размер анализируемой выборки следует увеличить до 30 особей.

При изучении стабильности развития млекопитающих используются краниологические признаки, а именно число мелких отверстий для нервов и кровеносных сосудов на левой и правой сторонах черепа. Для учета всех признаков млекопитающих, как и при работе с рыбами, необходим бинокляр.

ОБРАБОТКА И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Растения

Для мерных признаков величина асимметрии у растений рассчитывается как различие в промерах слева и справа, отнесенное к сумме промеров на двух сторонах. Интегральным показателем стабильности развития для комплекса мерных признаков является средняя величина относительного различия между сторонами на признак. Этот показатель рассчитывается как среднее арифметическое суммы относитель-

ной величины асимметрии по всем признакам у каждой особи, отнесенное к числу используемых признаков. В табл. 8 – 10 на примере обработки данных по обсчету промеров листа березы приводится расчет средней относительной величины асимметрии на признак для 5 промеров листа у 10 растений.

Табл. 8. *Образец таблицы для обработки данных по оценке стабильности развития с использованием мерных признаков (промеров листа)*

№ п/п	Номер признака									
	1-го		2-го		3-го		4-го		5-го	
	слева	справа	слева	справа	слева	справа	слева	справа	слева	справа
1	18	20	32	33	4	4	12	12	46	50
2	20	19	33	33	3	3	14	13	50	49
3	18	18	31	31	2	3	12	11	50	46
4	18	19	30	32	2	3	10	11	49	49
5	20	20	30	33	6	3	13	14	46	53
6	12	14	22	22	4	4	11	9	39	39
7	14	12	26	25	3	3	11	11	34	40
8	13	14	25	23	3	3	10	8	39	42
9	12	14	24	25	5	5	9	9	40	32
10	14	14	25	25	4	4	9	8	32	32

Этапы работы

1. Сначала для каждого промеренного листа вычисляют относительные величины асимметрии для каждого признака. Для этого модуль разности между промерами слева L и справа R делят на сумму этих же промеров: $|L-R|/|L+R|$.

Например: Лист № 1 (табл. 9), признак 1.

$$|L-R|/|L+R| = |18 - 20|/|18+20| = 2/38 = 0,052.$$

2. Вычисляют показатель асимметрии для каждого листа. Для этого суммируют значения относительных величин асимметрии по каждому признаку и делят на число признаков.

Например, для листа № 1: $(0,052+0,015+0+0+0,042)/5 = 0,022$.

3. На последнем этапе вычисляют интегральный показатель стабильности развития – величину среднего относительного различия между сторонами на признак. Для этого вычисляют среднюю арифметическую всех величин асимметрии для каждого листа. Это значение

округляют до третьего знака после запятой. В нашем случае искомая величина равна 0.042.

Табл. 9. *Образец расчета интегрального показателя флуктуирующей асимметрии в выборке (пример заполнения таблицы)*

Номер листа	Номер признака					Величина асимметрии листа
	1-го	2-го	3-го	4-го	5-го	
1	0.052	0.015	0	0	0.042	0.022
2	0.026	0	0	0.037	0.010	0.015
3	0	0	0.2	0.044	0.042	0.057
4	0.027	0.032	0.2	0.048	0	0.061
5	0	0.048	0.33	0.037	0.071	0.098
6	0.077	0	0	0.1	0	0.035
7	0.077	0.019	0	0	0.081	0.036
8	0.037	0.042	0	0.111	0.037	0.045
9	0.077	0.020	0	0	0.111	0.042
10	0	0	0	0.059	0	0.012
Величина асимметрии в выборке						0.042

Статистическая значимость различий между выборками по величине интегрального показателя стабильности развития (величина среднего относительного различия между сторонами на признак) определяется по *t*-критерию Стьюдента.

Для оценки степени выявленных отклонений от нормы, их места в общем диапазоне возможных изменений показателя разработана балльная шкала (табл. 10). Диапазон значений интегрального показателя асимметрии, соответствующий условно нормальному фоновому состоянию, принимается как первый балл (условная норма). Он соответствует данным, полученным в природных популяциях при отсутствии видимых неблагоприятных воздействий (например, на особо охраняемых природных территориях). В этой связи надо иметь в виду, что на практике при оценке качества среды в регионе с повышенной антропогенной нагрузкой фоновый уровень нарушений в выборке растений или животных даже из точки условного контроля не всегда находится в диапазоне значений, соответствующих первому баллу. Диапазон значений, соответствующий критическому состоянию, принимается за пятый балл. Он соответствует тем популяциям, где есть

явное неблагоприятное воздействие и такие изменения состояния организма, которые приводят его к гибели. Весь диапазон между этими пороговыми уровнями ранжируется в порядке возрастания значений показателя.

Табл. 10. Шкала нестабильности развития (антропогенной нагрузки), балл

Балл ста- бильности развития	Значение показателя флуктуирующей асимметрии у растений			Уровень стабильности развития
	Береза повислая, клён остролистный	Дуб черешчатый	Липа мелколистная	
1	< 0.055	< 0.065	< 0.02	Условная норма
2	0.055 – 0.060	0.066 – 0.07	0.02 – 0.045	Слабое отклоне- ние от стабиль- ного развития
3	0.060 – 0.065	0.071 – 0.075	0.045 – 0.065	Нарушение ста- бильности раз- вития
4	0.065 – 0.070	0.076 – 0.083	0.065 – 0.085	Отклонение в стабильности развития
5	> 0.07	> 0.083	> 0.085	Высокое откло- нение в стабиль- ности развития

Рыбы, земноводные и млекопитающие

Для счетных признаков величина асимметрии у каждой особи определяется по различию числа структур слева и справа. Интегральным показателем стабильности развития для комплекса счетных признаков является средняя частота асимметричного проявления на признак. Этот показатель рассчитывается как среднее арифметическое числа асимметричных признаков у каждой особи, отнесенное к числу используемых признаков. В этом случае не учитывается величина различия между сторонами, а лишь сам факт асимметрии. За счет этого устраняется возможное влияние отдельных сильно отклоняющихся вариантов. В табл. 11 дан пример расчета средней частоты асимметричного проявления для 6 счетных признаков у 10 особей.

Табл. 11. Образец таблицы для обработки данных по оценке стабильности развития с использованием счетных признаков

Номер особи	Номер признака												Показатель		
	1-го		2-го		3-го		4-го		5-го		6-го		A*	A/n	
	п	л	п	л	п	л	п	л	п	л	п	л			
1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	0.33
2	2	1	1	0	1	3	1	1	3	2	0	1	1	5	0.83
3	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	0.33
4	1	1	1	1	2	4	1	1	2	3	1	1	1	2	0.33
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0.17
6	1	1	1	1	1	3	0	1	1	1	1	0	1	3	0.50
7	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	0	1	1	3	0.50
8	1	0	0	0	3	2	1	1	0	0	1	1	1	2	0.33
9	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
10	0	1	1	1	3	1	1	1	1	2	2	1	1	4	0.67
Средняя частота асимметричного проявления на признак														0.40±0.07	

Примечание. п, л – значение признака правого и левого соответственно;
*А – число асимметричных признаков; n – число признаков.

Обработку небольших выборок (20 – 30 особей) можно производить вручную, получая при этом обобщенный по всем признакам показатель, удобный для сравнения с другими выборками. Статистическая значимость различий между выборками по величине интегрального показателя стабильности развития (частота асимметричного проявления на признак) определяется по *t*-критерию Стьюдента. Балльная система оценок по величине интегральных показателей стабильности развития разработана на основе симметричных признаков рыб, земноводных и млекопитающих и приводится в соответствующих разделах (табл. 12).

Табл. 12. Пятибалльная шкала оценки стабильности развития для позвоночных

Стабильность развития, балл	Величина показателя стабильности развития		
	рыб	земноводных	млекопитающих
1	<0,30	<0,50	<0,35
2	0.30 – 0.34	0.50 – 0.54	0.35 – 0.39
3	0.35 – 0.39	0.55 – 0.59	0.40 – 0.44
4	0.40 – 0.44	0.60 – 0.64	0.45 – 0.49
5	>0.44	>0.64	>0.49

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕПАРАМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Проверка нормальности распределения количественных признаков проводится с использованием критерия Колмогорова – Смирнова и критерия Шапиро – Уилка. Для этого применяют программу “СТАТИСТИКА”. Проверка на нормальность выборки производится также с использованием статистических гипотез.

Наиболее мощным средством (находящим различия с высоким уровнем значимости) обладает критерий Шапиро – Уилка. Если результаты этого теста показывают величину критерия W , равную 0.81 – 0,82 при уровне значимости $p < 0.05$, то это говорит об непараметрическом распределении выборки.

Следовательно, следующие процедуры по поиску различия между двумя выборками проводятся с использованием непараметрических критериев.

При отклонении выборок от нормального распределения (распределения Гаусса) для проверки различия двух выборок используются следующие непараметрические критерии:

– двухвыборочный критерий U-теста Манна – Уитни (Mann-Witney). Этот критерий предназначен для сравнения распределений переменных в двух группах на основе сравнения рангов. Ранги – это группы переменных, построенные в порядке возрастания. Две группы объединяются, наблюдения упорядочиваются по возрастанию, для каждой выборки находят суммы рангов, с табличной сравнивают меньшую величину. Если она больше, чем табличная, то нулевую гипотезу не отклоняют; если фактическая величина меньше табличной, то нулевая гипотеза отклоняется на принятом уровне значимости и говорят о различии двух выборок.

– критерий серий Вальда – Вольфовица, который представляет альтернативу t -критерию. Нулевая гипотеза представляет собой в этом случае предположение о том, что две выборки выбраны из одной генеральной совокупности.

– двухвыборочный знаково-ранговый парный критерий Т Вилкоксона (Wilcoxon). Этот критерий удобен при работе со знаковыми величинами, при оценке направленной асимметрии. При ранжировании вычисляются отдельно суммы положительных и отрицательных разностей. Меньшую из двух сумм используют в качестве фактиче-

ской и сравнивают с критическим (табличным) значением. Если полученное значение больше табличного, то нулевая гипотеза об отсутствии различий отклоняется.

Описанные критерии реализованы также в различных версиях программы СТАТИСТИКА.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОЛУЧАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценка последствий антропогенного воздействия предполагает сравнение модельных площадок, выделенных на территориях с разной степенью антропогенного воздействия, либо путем сравнения выборок с одной и той же площадки, собранных в разное время для выявления возможного ухудшения или улучшения состояния организма.

Как показывает практика проведения таких оценок, при этом возможно выявление последствий различных видов антропогенных воздействий, а также комплексного воздействия (включая химическое и радиационное). При использовании балльной шкалы возможно выделение территорий по степени отклонения от нормы в состоянии организма в зависимости от антропогенной нагрузки. Важной частью оценки качества среды, расширяющей область применения документа, является организация контроля за экологическими изменениями посредством мониторинга качества среды как системы раннего предупреждения, выявляющей даже начальные изменения в состоянии живых существ разных видов задолго до их исчезновения с рассматриваемой территории. При мониторинге во времени возможно выявление направления и степени отклонения состояния организма от условной нормы в зависимости от нарастания или снижения степени антропогенного воздействия.

При этом оценка может вестись по отдельным видам. Предпочтительной является оценка на уровне сообщества и экосистемы при исследовании представителей разных групп животных и растений.

Контрольные вопросы

1. Чем различаются фенотип, генотип?
2. К какому виду изменчивости относится флуктуирующая асимметрия?
3. Что такое эпигенетическая наследственность?
4. Поясните термины “канализированный отбор” и “гомеорез”.
5. Дайте характеристику четырем этапам микроэволюционного процесса.
6. Дайте характеристику (с примерами) трем видам билатеральной асимметрии.
7. Приведите примеры меристических и метрических билатерально симметричных признаков.
8. Объясните закон нормального распределения частот Гаусса.
9. Приведите одну-две формулы расчета ФА.
10. На чем основан морфogeометрический подход к определению величины ФА и в чем его преимущество?
11. Приведите пример нулевой гипотезы при оценке различия между двумя или несколькими выборками.
12. Приведите пример асимптотического и дискретного распределения.
13. Почему используются некоррелируемые по величине ФА признаки?
14. Как определить освещенность в люксах при помощи фотокамеры?
15. Что такое метрические и меристические признаки?
16. Какие статистические программы используются для морфogeометрического метода анализа?
17. Какие непараметрические тесты используются для проверки нормальности распределения?
18. Каково основное назначение биоиндикационного направления исследования стабильности развития в антропогенно нарушенных территориях?
19. Какие признаки используются для определения индекса ФА у растений, рыб, земноводных, млекопитающих?

Заключение

Определение стабильности развития – это анализ вида фенотипической изменчивости, который позволяет судить и о генетической изменчивости по тестированию присутствия других видов асимметрии. Природа стабильности развития до сих пор представляется недостаточно понятной.

Для детального изучения в настоящее время наблюдается переход от алгебраических форм анализа к геометрическим методам с применением современных компьютерных программных средств.

Стабильность развития играет роль и в изучении эволюционного процесса, хотя прямое наследование изменчивости флуктуирующей асимметрии в большинстве исследований не отмечалось.

Основная задача биоиндикационных исследований – ранняя биодиагностика состояния экосистем. Здесь определение ранних нарушений в стабильности развития имеет особенно перспективное направление.

Данное пособие открывает перспективу молодым исследователям в изучении флуктуирующей асимметрии как основного проявления стабильности развития. Авторы выражают надежду на обсуждение материала, изложенного в пособии, и готовы с благодарностью принять все замечания.

СЛОВАРЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ТЕРМИНОВ

АЛЛОМЕТРИЯ – (от *алло* и греч. *metron* – мера) гетерогония, неравномерный рост частей тела в процессе развития организма.

АНТИСИММЕТРИЯ – имеет место, когда асимметрия проявления признака является нормой. Статистически это выражается в том, что различия (L – R) распределены вокруг нуля, но частоты распределения отклоняются от нормальности в сторону отрицательного эксцесса (плосковершинная или бимодальная частотная гистограмма).

АСИММЕТРИЯ (как элемент описательной статистики). Третий момент распределения частот. Асимметрия – это характеристика формы распределения. Распределение скошено влево, если значение асимметрии отрицательно. Распределение скошено вправо, если асимметрия положительна. Асимметрия стандартного нормального распределения равна нулю. Принимает значения от –1 до 1.

АСИМПТОТИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ – распределение вероятностей, к которому стремится функция результатов наблюдений при объеме выборки, приближающейся к бесконечности.

БРАХИБЛАСТЫ – укороченные побеги.

ВЕРОЯТНОСТЬ – термин, который обычно используют по отношению к событию и определяют числом (от 0 до 1), выражающим степень уверенности в том, что данное событие произойдет. События с вероятностью 0 называют невозможными, а события с вероятностью 1 – достоверными (хотя это уже неслучайные, детерминированные события). В прикладной статистике приходится иметь дело с так называемыми редкими (маловероятными) событиями. К ним принято относить события, значение вероятности которых не превышает определенного уровня, чаще всего 0.05 или 5 %.

ВИРГИЛЬНЫЕ ОСОБИ – это взрослые вегетативные растения с типичными чертами жизненной формы, соответствуют генеративному состоянию, но генеративные органы отсутствуют.

ГОМЕОРЕЗ – термин в 1957 г. впервые предложил английский биолог Конрад Хэл Уоддингтон. Обозначает поддержание постоянства в развивающихся системах. Одновременно представляет эволюционную направленность, канализированность. Существование определенных онтогенетических путей, приводящих к возникновению стандартных фенотипов независимо от внешней среды и генетических воздействий.

ГОМЕОСТАЗ – это способность организма поддерживать основные параметры жизнедеятельности на оптимальном уровне. Важным аспектом гомеостаза организма является стабильность развития (морфогенетический гомеостаз) – способность организма к формированию генетически детерминированного фенотипа при минимальном уровне онтогенетических нарушений.

ДВЕЛЯРНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ – внутрииндивидуальная изменчивость проявления элементов структуры листа, маркируемых зубчиками и концевыми жилками по краю листовой пластинки (двелями), которые в значительной мере определяют форму листа.

ДЕНТАЛЬНО-ВЕНАЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ – билатерально-симметричные зубчики и жилки (первого порядка и более) на листовой пластине высших растений.

ДВУХВЫБОРОЧНЫЙ Т-ТЕСТ. Этот тест, реализованный в программе Excel, проверяет равенство средних значений генеральной совокупности из двух выборок. Три вида этого теста допускают следующие условия: равные дисперсии генерального распределения, дисперсии генеральной совокупности не равны, а также представление двух выборок до и после наблюдения по одному и тому же субъекту. При тестировании направленной асимметрии проверка равенства (R и L) рационально использовать t-тест для двух выборок с равными или неравными дисперсиями. Равенство дисперсий R и L проверяется предварительно тестом Фишера. Из 2 критериев, двустороннего и одностороннего, используют оба. Отдают предпочтение двустороннему, менее жесткому. Он тестирует любое отличие от нуля как в большую сторону, так и в меньшую. Односторонний критерий рационально использовать при поиске направленной асимметрии по отношению к одной из сторон.

ДИСПЕРСИОННЫЙ АНАЛИЗ, ДА (ANOVA/MANOVA) – метод выявления воздействия одной или нескольких независимых переменных

(контролируемых исследователем, рассматриваемых как причины), т.е. факторов, на зависимую переменную – результативный признак. Проверка гипотезы осуществляется на основе анализа вариативностей, которые обусловлены различными факторами, их сочетаниями и случайными воздействиями. В зависимости от количества факторов, градаций фактора, различают разные схемы ДА (однофакторный, двухфакторный и т.д., для связанных выборок, несвязанных и т.д.). Многофакторный ДА, кроме воздействия каждого отдельного фактора, позволяет оценить взаимодействие факторов между собой. Логически ДА содержит общую логику проверки гипотез с помощью критериев, но, как и корреляционный, имеет свою форму представления данных (дисперсионные комплексы) и графическое (наглядное) изображение результатов, которое указывает на направление изменений признака под влиянием фактора и его градаций.

ДИСПЕРСИЯ ВЫБОРКИ, σ – параметр, характеризующий степень разброса элементов выборки относительно среднего значения. Чем больше дисперсия, тем дальше отклоняются значения элементов выборки от среднего значения. Дисперсия вычисляется как сумма квадратов отклонений значений переменной от выборочного среднего, деленная на $n - 1$.

ДОВЕРИТЕЛЬНЫЙ ИНТЕРВАЛ для некоторой величины – это диапазон вокруг значения величины, в котором находится истинное значение этой величины (с определенным уровнем доверия).

ИММАТУРНЫЕ ОСОБИ – переходная форма растений к взрослым вегетативным особям. Молодые генеративные особи – это растения, которые зацветают, но имеют перерывы в цветении, образуют плоды, у них происходит формообразование, сопровождающееся глубокой внутренней биохимической и физиологической перестройкой организма. Средневозрастные генеративные особи – это растения, достигающие наибольшего ежегодного прироста и семенной продуктивности, могут иметь перерывы в цветении. Старые генеративные особи – это растения, характеризующиеся резким снижением репродуктивной функции, процессы отмирания преобладают над процессами новообразования.

ИНТАКТНЫЙ (лат. *intactus* нетронутый) – неповрежденный, например, неповрежденная экосистема, группа особей.

ИНТЕРВАЛЬНОЕ ОЦЕНИВАНИЕ – метод, с помощью которого

можно построить на основе выборочного измерения интервал, содержащий с определенной вероятностью (99, 95, 90 %) некоторый параметр генеральной совокупности.

КАНАЛИЗАЦИЯ (*canalization*), эволюционная направленность – существование определенных онтогенетических путей, приводящих к возникновению стандартных фенотипов независимо от внешней среды и генетических воздействий. Способность организма производить тот же фенотип в других средах. Тенденция к достижению определенного, генетически обусловленного конечного состояния независимо от некоторой изменчивости в начале развития и условий окружающей среды. Строгая К. характерна для диких форм в отличие от мутантов, которые более чувствительны к агентам, вызывающим изменчивость.

КАНАЛИЗИРОВАННЫЙ ОТБОР (*canalizing selection*) – элиминация (удаление, исключение) из популяции генотипов, которые придают развивающимся организмам чувствительность к изменяющимся факторам окружающей среды.

КАНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПРИЗНАК (*canalized character*) – признак, изменчивость которого ограничена жесткими рамками даже в тех случаях, когда организм подвергается резким изменениям внешних условий или мутирует.

КЕНДАЛЛОВО ПРОСТРАНСТВО – гиперсфера, образуемая после выравнивания суммы форм образцов в выборке.

МЕТОД НАЛОЖЕНИЯ (*superimposition*) – подгонка форм образцов (например, форм листовых пластин с наибольшим совпадением координат одинаковых точек).

МОЩНОСТЬ СТАТИСТИЧЕСКОГО КРИТЕРИЯ – вероятность отвержения нулевой гипотезы, когда она фактически неверна. Мощность критерия является функцией: 1) степени, в которой проявляет себя искомая закономерность ("величина эффекта"); 2) избранного исследователем уровня статистической значимости (альфа, вероятность ошибочного отбрасывания нулевой гипотезы); 3) объема выборки из генеральной совокупности. Под мощностью статистического критерия также понимают вероятность попадания критерия в критическую область при условии, что справедлива альтернативная гипотеза.

НАПРАВЛЕННАЯ АСИММЕТРИЯ – отличается от флуктуирующей тем, что значение признака на одной из сторон в среднем больше, чем

на другой. Статистически это выражается в отличие от нуля среднего различия между сторонами ($R - L$).

НЕПАРАМЕТРИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ – те, которые оперируют с частотами, рангами и т.д. Не учитывают форму распределения выборочных данных и поэтому имеют широкую область применения. Примеры: Н-критерий Крускала-Уоллиса, G-критерий знаков, Т-критерий Вилкоксона и др.

НЕПРЕРЫВНАЯ СЛУЧАЙНАЯ ВЕЛИЧИНА – величина, значения которой заполняют некоторый промежуток. Непрерывные случайные величины Гаусса образуют нормальное распределение.

НУЛЕВАЯ ГИПОТЕЗА – это основное проверяемое предположение, которое обычно формулируется как отсутствие различий, отсутствие влияния фактора, отсутствие эффекта, равенство нулю значений выборочных характеристик и т.п.

ОЦЕНИВАНИЕ ВЫБОРКИ – процедура использования критериев в статистике для описания свойств выборки. Числовые характеристики, рассчитанные по выборке, называются статистиками, или оценками, а соответствующие характеристики генеральной совокупности – параметрами.

ПАРАМЕТРИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ – статистические критерии, включающие в формулу расчета параметры распределения, рассчитанные по выборке; например, средние арифметические (общепринятые обозначения M , x_{cp}), дисперсии (S^2 , σ^2).

ПРОКРУСТОВ ОСТАТОК (*Procrustes residual*) – разность между координатами меток эталона и настоящими координатами метки.

ПОЛИМЕРИЯ – взаимодействие неаллельных множественных генов, однозначно влияющих на развитие одного и того же признака; степень проявления признака зависит от количества генов.

ПРОКРУСТОВО ПРОСТРАНСТВО – гиперполусфера, образуемая как двойная по диаметру сфера Кендаллового пространства.

ПРОКРУСТОВО СОВМЕЩЕНИЕ (*Procrustes fit*) – наложение форм образцов при наибольшей подгонке координат одинаковых точек с помощью метода наименьших квадратов.

РАНДОМНЫЙ – случайный, не подверженный каким-либо опосредованным воздействиям выбор объектов для наблюдения, факторов для анализа и т.д.

РАХИС – осевая жилка листовой пластины.

РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТЬ – соответствие характеристик выборки характеристикам популяции или генеральной совокупности в целом. Репрезентативность определяет, насколько возможно обобщать результаты исследования с привлечением определённой выборки на всю генеральную совокупность, из которой она была собрана.

СРЕДНЕКВАДРАТИЧНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ – наиболее распространённый показатель рассеивания значений случайной величины относительно её математического ожидания.

СТАБИЛЬНОСТЬ РАЗВИТИЯ (*developmental stability*) – способность организма нейтрализовать свое развитие при генотипических фенотипических нарушениях, возникших в ходе проявления генетически предопределенного фенотипа. Различные генотипы проявляют различную стабильность развития при одинаковом средовом воздействии; идентичные генотипы выражают различные уровни стабильности развития при варьировании средового воздействия; также С.Р. – способность организма к нейтрализации внешних и внутренних стрессовых факторов с последующей реализацией генетически предопределенного фенотипа.

СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ – вычисляется как корень квадратный из величины дисперсии.

СТАТИСТИЧЕСКИЕ ГИПОТЕЗЫ – подразделяются на H_0 – нулевые (в самом общем виде это гипотезы об отсутствии отличий в выборках, условиях экспериментов; о равенстве нулю мер связи; сходстве распределений и т.д.) и H_1 – альтернативные (противоположные H_0). Эти гипотезы несовместимы, т.е. если принимается одна, то отклоняется другая. Гипотезы проверяются с помощью статистических критериев (обозначается в общем виде как R).

СТАТИСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ – правило, которое позволяет принимать истинную гипотезу и отклонять ложную с высокой вероятностью или, другими словами, на определенном уровне значимости α , т.е. с указанием ошибки 1-го рода, которая возникает в результате отклонения по результатам выборочного исследования истинной нулевой гипотезы. Принятие истинной гипотезы H_0 характеризуется доверительной вероятностью $1-\alpha$. Ошибка 2-го рода β возникает в результате принятия по результатам выборочного исследования ложной H_0 . Отклонение ложной H_0 характеризуется вероятностью $1-\beta$ и называ-

ется мощностью критерия. Два вида ошибок связаны между собой так же, как и нулевая и альтернативная гипотезы. Математическая статистика позволяет точно указывать только вероятность ошибки 1-го рода. Статистический критерий часто представляет собой формулу, по которой получают некоторое число.

СТЕПЕНИ СВОБОДЫ (df) – математическое понятие, используемое для выражения того факта, что в статистических операциях имеются пределы значений, которые накладывают определенные ограничения на статистическую операцию.

ТАНГЕНЦИАЛЬНОЕ ПРОСТРАНСТВО – гиперплоскость, касательная к Кендаллову и Прокрустову пространствам.

ФЕНОДЕВИАЦИЯ (от фен и лат. *deviatio* – отклонение) – явление отклонения фенотипов от среднего (или нормы) для популяции (или вида) вследствие особого сочетания генов (например, в случае высокой гомозиготности).

ФЛУКТУИРУЮЩАЯ АСИММЕТРИЯ – это форма изменчивости различий между правой и левой сторонами, когда их значения ($R - L$) нормально распределены вокруг нуля. Направленная асимметрия отличается от флуктуирующей тем, что значение признака на одной из сторон в среднем больше, чем на другой. Статистически это выражается в отличие от нуля среднего различия между сторонами ($R - L$). Антисимметрия имеет место, когда различия ($L - R$) распределены вокруг нуля, но частоты распределения отклоняются от нормальности в сторону отрицательного эксцесса или бимодальности (Захаров, 1987; Palmer, Strobeck, 1986; Palmer, Strobeck, 2003).

ЦЕНТРОИД – эталонная фигура, получаемая после усреднения всех форм изучаемых образцов.

TPS-пакет программ – серия программ, используемых в геометрической морфометрии.

TPSdig – экранный дигитайзер, работает с графическими файлами большинства стандартных растровых форматов, содержащих изображения объектов. Позволяет расставлять и редактировать на экране метки и полуметки, сохранять их координаты в файле данных.

TPSpls – программа для анализа канонических корреляций частных деформаций, позволяет оценивать сопряженность изменений как двух форм, так и формы с некоторой линейной переменной.

TPSregr – программа для проведения регрессионного и дисперсионного анализа (как с непрерывными, так и с категориальными значениями).

TPSrelw – программа, которая вычисляет отклонения для выборки, содержащей образцы различной формы. Вычисляет и позволяет сохранить в файлах координаты эталонной конфигурации и образцов после их выравнивания.

TPSsmall – оценивает соответствие распределения точек в Кендалловом и тангенциальном пространствах (т.е. проверяет условие применимости линейных методов) сопоставлением геодезических и евклидовых расстояний.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Табл. 1. Пример оформления таблицы Excel, первый лист. Значения заносят в миллиметрах и градусах (для 5-го признака). В колонку I вносят значения $|R - L| / (R + L)$

СУММ										
=ABS(F3/G3)										
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
Признак 1										
		л	п	л-п	л-п	л+п		л-п/л+п	л	
3	Дерево 1	1	31	34	-3	3	65	32,5	=ABS(F3/G3)	
4		2	36	35	1	1	71	35,5	ABS(число)	19
5		3	35	35	0	0	70	35	0	15
6		4	38	38	0	0	76	38	0	20
7		5	34	34	0	0	68	34	0	17
8		6	32	31	1	1	63	31,5	0,01587	18
9		7	36	37	-1	1	73	36,5	0,0137	20
10		8	33	35	-2	2	68	34	0,02941	19
11		9	30	33	-3	3	63	31,5	0,04762	15
12		10	36	39	-3	3	75	37,5	0,04	20
13						0	0			
14	Дерево 2	1	34	36	-2	2	70	35	0,02857	24
15		2	37	36	1	1	73	36,5	0,0137	17
16		3	31	34	-3	3	65	32,5	0,04615	16
17		4	34	36	-2	2	70	35	0,02857	15
18		5	33	33	0	0	66	33	0	12

Табл. 2. Постановка Т-теста, первый лист, диапазон ячеек $f_x = \text{TTEST}(C3:C111; D3:D111; 2; 1)$, эксцесса, диапазон ячеек $f_x = \text{ЭКСС}(E3:E111)$ и среднего значения (диапазон указан, лист 1)

СРЗНАЧА													
=СРЗНАЧА(I3:I111)													
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	
101					0	0							
102	Дерево 10	1	31	34	-3	3	65	32,5	0,04615		11	16	-5
103		2	34	34	0	0	68	34	0		12	13	-1
104		3	34	33	1	1	67	33,5	0,01493		13	16	-3
105		4	34	35	-1	1	69	34,5	0,01449		18	15	3
106		5	34	29	5	5	63	31,5	0,07937		16	17	-1
107		6	35	34	1	1	69	34,5	0,01449		15	16	-1
108		7	33	33	0	0	66	33	0		15	16	-1
109		8	31	30	1	1	61	30,5	0,01639		11	15	-4
110		9	35	35	0	0	70	35	0		15	15	0
111		10	36	37	-1	1	73	36,5	0,0137		16	17	-1
112													
113													
114		Тест:	0,00038	эксцесс:	0,50246			ср.знач.:	=СРЗНАЧА(I3:I111)	0,4066	эксцесс:	2,1481	
115									СРЗНАЧА(значении1; [значении2]; ...)				

Табл. 3. Результаты F-теста и t-теста (второй лист) по первому признаку. Образец заполнения вкладки «свойства документа»

Вставить | Буфер обмена | Шрифт | Выравнивание | Число | Условия форматирования

Свойства документа

Автор: И.И.ИВАНОВ | Название: ФА_СУДОГДА_КЛЕН | Тема: СТАБИЛЬНОСТЬ РАЗВИТИЯ | Ключевые слова: ФА НА АС | Категория: ЧЕРНОВИК | Состояние: НА РЕЦ

Примечания:
СУДОГДА АЛЛЕЯ В ЦЕНТРЕ ГОРОДА ПРИЗНАКИ: АС: 1-ЫЙ ПРИЗНАК; НА: 4-ЫЙ ПРИЗНАК; ФА=0,062

Р10

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	1ПРИЗНАК			Двухвыборочный F-тест для дисперсий				Двухвыборочный t-тест с одинаковыми дисперсиями					
2	31	34		Переменная 1				Переменная 2					
3	36	35		Среднее				Среднее					
4	35	35		Дисперсия				Дисперсия					
5	38	38		Наблюдения				Наблюдения					
6	34	34		df				Объединенная df					
7	32	31		F				Гипотеза					
8	36	37		P(F<=f) од				df					
9	33	35		F критиче				t-статистика					
10	30	33						P(T<=t) од					
11	36	39						t критиче					
12								P(T<=t) дв					
13	34	36						t критиче					
14	37	36											
15	31	34											
16	34	36											
17	33	33											
18	33	33											

Лист1 | Лист2 | Лист3

Готово

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ МОРФОГЕОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИН НА ПРИМЕРЕ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО

1. **ОЦИФРОВЫВАНИЕ.** Лист располагается строго по вертикальной оси рахиса, нижней стороной вверх. Программа TPSdig: проводят масштабирование (zoom factor), выбирают масштаб так, чтобы пластина полностью умещалась на экране. Опция options – image tools: выбирают размер меток 3 – 4 для удобства. Проводят нанесение меток (digitize landmark). Метки наносят в одном порядке, например, по часовой стрелке: 1, 2, 3, 4, 5 и т.д. По оси симметрии выставляют две метки, одну на верхушке пластины, другую у основания (см. рисунок)

2. **СОХРАНЕНИЕ ФАЙЛА TPS.** Например, 1.1.1.TPS (первая цифра означает дерево, вторая – лист, третья – повторность).

3. **ОБЪЕДИНЕНИЕ ФАЙЛОВ.** Программа TPSutil – присоединить файл (append file) – input – активируется первый файл, например, 1.1.1.TPS – поместить в место хранения (output) – установка (setup): – сортировка, удаление, активирование нужных файлов в парной последовательности.

4. **ПОДГОТОВКА ФАЙЛОВ TXT:** файл с порядковой последовательностью: 1 1 2 2 3 3... . Файл с обозначением парных меток (LM=22):

1 16
2 15
3 14
4 13
5 12
6 11
7 10
8 0
9 0

5. **ЗАГРУЗКА ФАЙЛА С КООРДИНАТАМИ МЕТОК.** Образец фрагмента файла, соответствующего двум измеряемым повторностям для одной листовой пластины:

LM=16
225.00000 3286.00000
234.00000 3252.00000
335.00000 3324.00000
346.00000 3274.00000

451.00000 3324.00000
 461.00000 3277.00000
 557.00000 3284.00000
 551.00000 3193.00000
 70.00000 3215.00000
 524.00000 3081.00000
 408.00000 3095.00000
 399.00000 3040.00000
 277.00000 3103.00000
 244.00000 3092.00000
 173.00000 3139.00000
 146.00000 3137.00000
 IMAGE=IMG_3591.JPG
 LM=16
 223.00000 3283.00000
 234.00000 3252.00000
 333.00000 3323.00000
 342.00000 3224.00000
 451.00000 3324.00000
 462.00000 3272.00000
 557.00000 3284.00000
 553.00000 3195.00000
 70.00000 3215.00000
 525.00000 3085.00000
 405.00000 3095.00000
 399.00000 3045.00000
 275.00000 3103.00000
 244.00000 3095.00000
 175.00000 3138.00000
 146.00000 3134.00000
 IMAGE=IMG_3591.JPG

6. ПОЛУЧЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТА. Выставляется число итераций, проводится Прокрустов двухфакторный дисперсионный анализ. Результат сохраняется в виде рисунков и текстовых файлов.

Табл. 3. Пример определения МГФА (дуб черешчатый, Вязники; $n = 56$; $FA = MS_{IS} - MS_{error} = 0.003$); ***** - $p < 10^{-6}$; $MS_S = 0.003$ – статистически незначимая НА (ns); ошибка измерения (measurement error) = $6.2 \cdot 10^{-5}$

PROCRUSTES ANOVA RESULTS (EFFECT, SS, DF, MS, F, P, SIGNIFICANCE):						
Individuals	4.5477	770	0.0059061	2.1438	0	*****
Sides	0.046622	14	0.0033301	1.2088	0.26318	ns
Individuals x Sides	2.1213	770	0.0027549	44.3262	0	*****
Measurement error	0.097452	1568	6.2151e-005			

Табл. 4. Расшифровка таблицы с результатами Прокрустова анализа

Источник вариации	<i>SS</i>	<i>dF</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Образец	4.55	770	0.0059	2.14	10^{-6}
Сторона	0.47	14	0.0033	0.26	
Образец × сторона	2.12	770	0.0028	44.33	10^{-6}
Ошибка	0.097	1568	0.00006		

Обозначения:

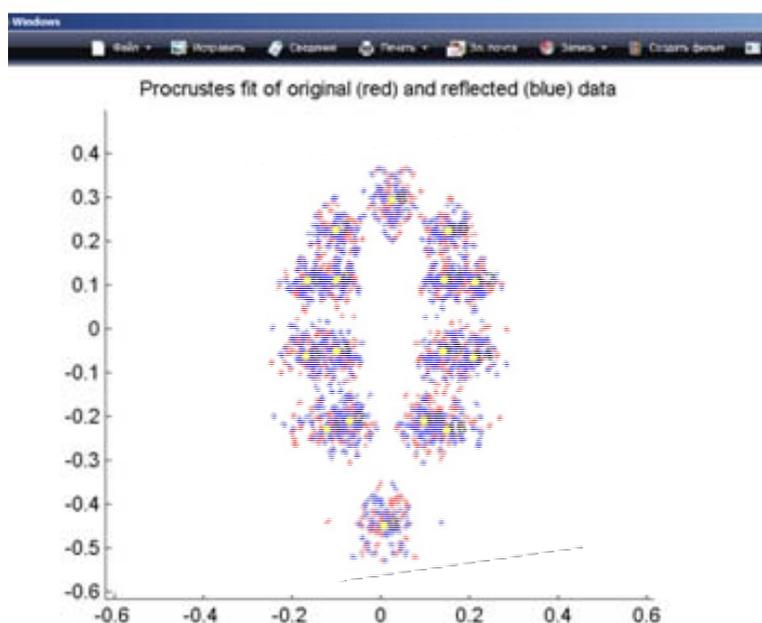
SS – сумма квадратов.

dF – число степеней свободы.

MS – средний квадрат.

F – значение критерия Фишера.

p – уровень значимости.



Зеркально-отраженные усредненные метки

Выполнение теста Гудолла:

Программа TPS util: создание файла (create file) NTS. input – активируется общий файл, например, all.TPS, поместить в место хранения (output).

Открывается программа TPSreg – загружаются файлы формата NTS и all.TPS. Далее последовательно выполняются опции: consensus – partial warps – regression – perm test. Текстовый результат появляется из опции file – view report. Например:

Generalized Goodall F-test: $F = 14.42$, $df = 20, 46$; $P = 0.0000$.

ПРИМЕР ПРОГРАММЫ-СКРИПТА ДЛЯ 12 МЕТОК (LM=12) НА ЯЗЫКЕ PERL

вводимый файл: allTPS.TPS

файл вывода результата: LM=12.TPS

файл корректировки: log.TXT

```
#!/usr/bin/perl
    open(OUTFILE, ">C:/Users/user/Desktop/id/lm=12/LM=12.TPS") ||
die;
    open(OUTFILE2, ">C:/Users/user/Desktop/id/lm=12/log.txt") || die;
    open (INFILE, "C:/Users/user/Desktop/id/lm=12/all.TPS") || die;
    {
    undef local $/;
    $line=<INFILE>;
        }
    @arraystr=split (\n/, $line);
        foreach my $s (@arraystr){ if (($s=~m/SCALE/)==0)
    { if ($s=~m/LM/ ) { if (($s=~m/LM=12/)==0) {print OUTFILE2
"Check id number"," $id","\n";}}
        if ($s=~m/id/ || $s=~m/ID/ || $s=~m/IMAGE/ ||
$s=~m/image/ ) { $k++;
            if ($k % 2!=0) {$stemp=$k+1;$sid=$stemp/2;}
            else { $sid=$stemp/2;}

            $s="id=$sid";
                }

            print OUTFILE $s; print OUTFILE "\n";
                } }
    close INFILE; close OUTFILE; close OUTFILE2;
```

**ПЕРЕЧНИ И СХЕМЫ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ,
ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ**

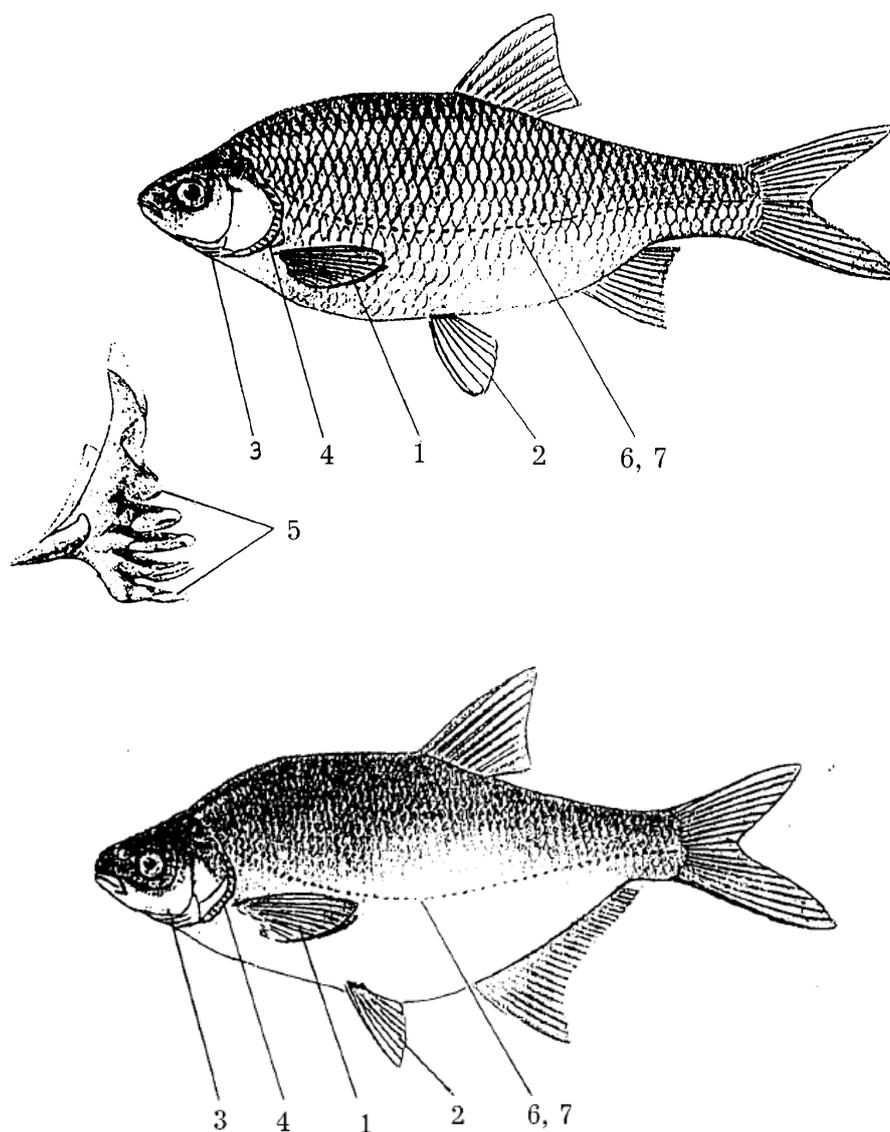


Рис. 1. Схема морфологических признаков леща (*Abramis brama*) и плотвы (внизу) (*Rutilus rutilus*)* для оценки стабильности развития: 1 – 7 – меристические признаки: 1 – число лучей в грудных плавниках; 2 – число лучей в брюшных плавниках; 3 – число лучей в межжаберной перегородке; 4 – число жаберных тычинок на 1-й жаберной дуге; 5 – число глоточных зубов; 6 – число чешуй в боковой линии; 7 – число чешуй боковой линии, прободенных сенсорными канальцами. У плотвы не учитывается признак 5 в связи с направленностью асимметрии этого признака.

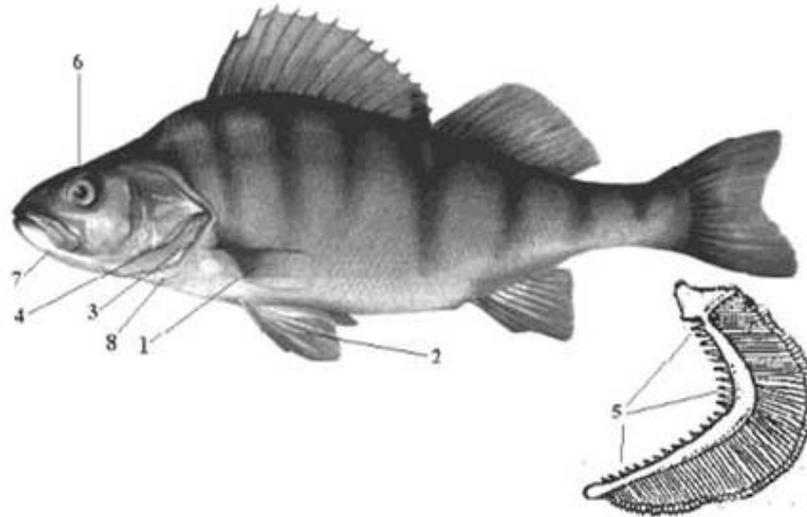


Рис. 2. Схема морфологических признаков речного окуня (*Perca fluviatilis*): 1 – 8 – меристические признаки: 1 – число лучей в грудных плавниках; 2 – число лучей жаберной перепонки; 3 – число жаберных тычинок на первой жаберной дуге; 4 – число зубцов по краю преджаберной крышки; 5 – число шипов на подкрышечной жаберной кости; 6 – число сенсорных пор на верхней части головы; 7 – число сенсорных пор на нижней челюсти; 8 – число лучей в брюшных плавниках

Перечень морфологических признаков для оценки стабильности развития бычка-зеленчака (*Zosterisessor ophiocephalus*).

Меристические признаки:

- число лучей в грудных плавниках;
- число лучей в брюшных плавниках;
- число жаберных лучей;
- число жаберных тычинок на 1-й жаберной дуге;
- число жаберных тычинок на 2-й жаберной дуге;
- число жаберных тычинок на 3-й жаберной дуге;
- число жаберных тычинок на 4-й жаберной дуге.

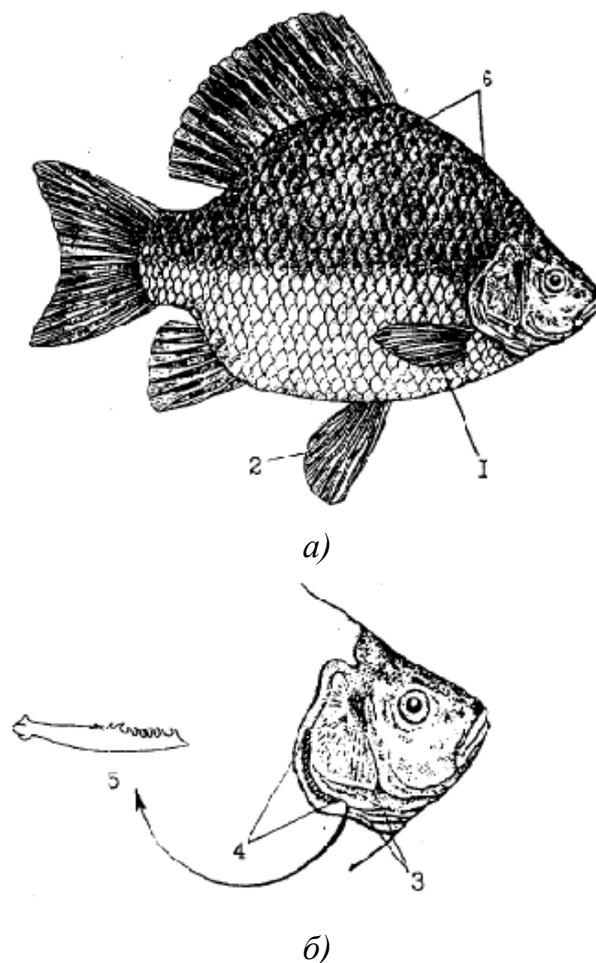


Рис. 3. Схема морфологических признаков для оценки стабильности развития: а – золотого карася (*Carassius auratus*); б – серебряного карася (*Carassius auratus*); 1 – 5 – меристические признаки: 1 – число лучей в грудных плавниках; 2 – число лучей в брюшных плавниках; 3 – число жаберных тычинок; 4 – число глоточных зубов; 5 – число чешуй в боковой линии

Перечень морфологических признаков для оценки стабильности развития щуки (*Esox lucius*). Меристические признаки:

- число лучей в грудных плавниках;
- число лучей в брюшных плавниках;
- число лучей в жаберной перепонке;
- число жаберных тычинок на первой жаберной дуге;
- число надглазничных сенсорных пор;
- число сенсорных пор на нижней челюсти;
- число сенсорных пор на жаберной крышке;
- число подглазничных сенсорных пор.

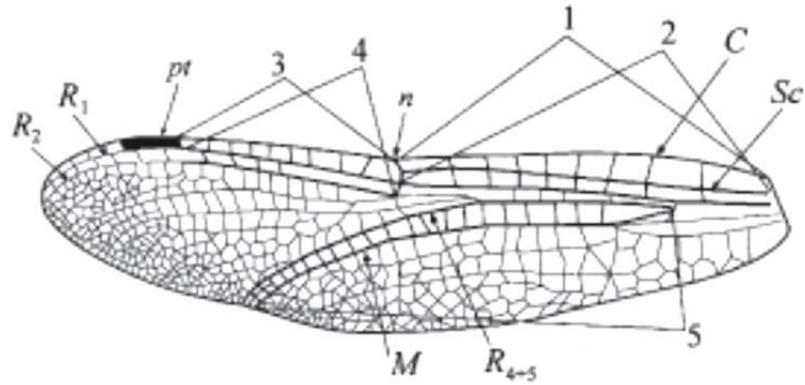


Рис. 4. Схема признаков стрекозы (Бабка зеленая) (*Cordulia aenea aenea*), используемая для оценки стабильности развития: 1 – число ячеек между костальной (C) и субкостальной (Sc) жилками от основания до узелка (n); 2 – число ячеек между субкостальной (Sc) и радиальной 2 (R2) жилками от основания до узелка (n); 3 – число ячеек между костальной (C) и радиальной 1 (R1) жилками от узелка (n) до птеростигмы (pt); 4 – число ячеек между радиальной 1 (R1) и радиальной 2 (R2) жилками от узелка (n) до птеростигмы (pt); 5 – число ячеек в секторе, ограниченном радиальной 4+5 (R4+5) и медиальной (M) жилками

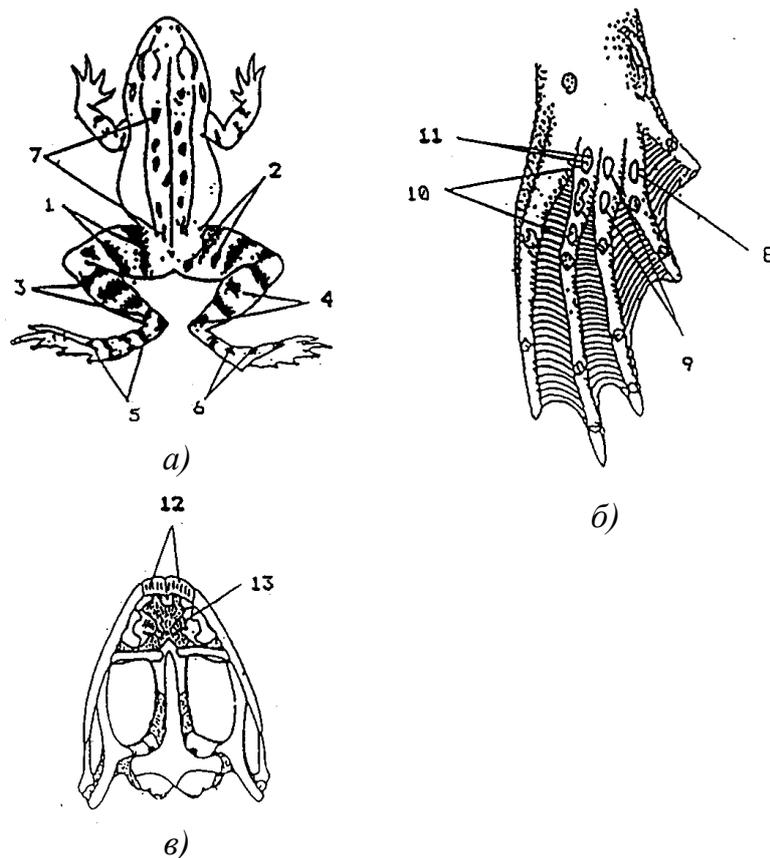


Рис. 5. Схема признаков европейских зеленых лягушек (*Rana esculenta complex*): а – озерная лягушка – *R. ridibunda* Pallas; б – прудовая лягушка – *R. Lessonae* Camerano; в – гибридная форма - *R. esculenta* L; 1 – 13 – меристические признаки: 1 – число полос на дорзальной стороне бедра; 2 – число пятен на дорзальной стороне бедра; 3 – число полос на дорзальной стороне голени; 4 – число пятен на дорзальной стороне голени; 5 – число полос на стопе; 6 – число пятен на стопе; 7 – число пятен на спине; 8 – число белых пятен на плантарной стороне второго пальца задней конечности; 9 – число белых пятен на плантарной стороне третьего пальца задней конечности; 10 – число белых пятен на плантарной стороне четвертого пальца задней конечности; 11 – число пор на плантарной стороне четвертого пальца задней конечности; 12 – число зубов на межчелюстной кости; 13 – число зубов на сошнике

Перечень морфологических признаков для оценки стабильности развития травяной лягушки (*Rana temporaria*):

- число полос на дорзальной стороне бедра;
- число пятен на дорзальной стороне бедра;
- число полос на дорзальной стороне голени;
- число пятен на дорзальной стороне голени;

- число полос на стопе;
- число пятен на стопе;
- число пятен на спине;
- число бугорков на Л-образном пятне спины;
- число зубов на межчелюстной кости;
- число зубов на сошнике.

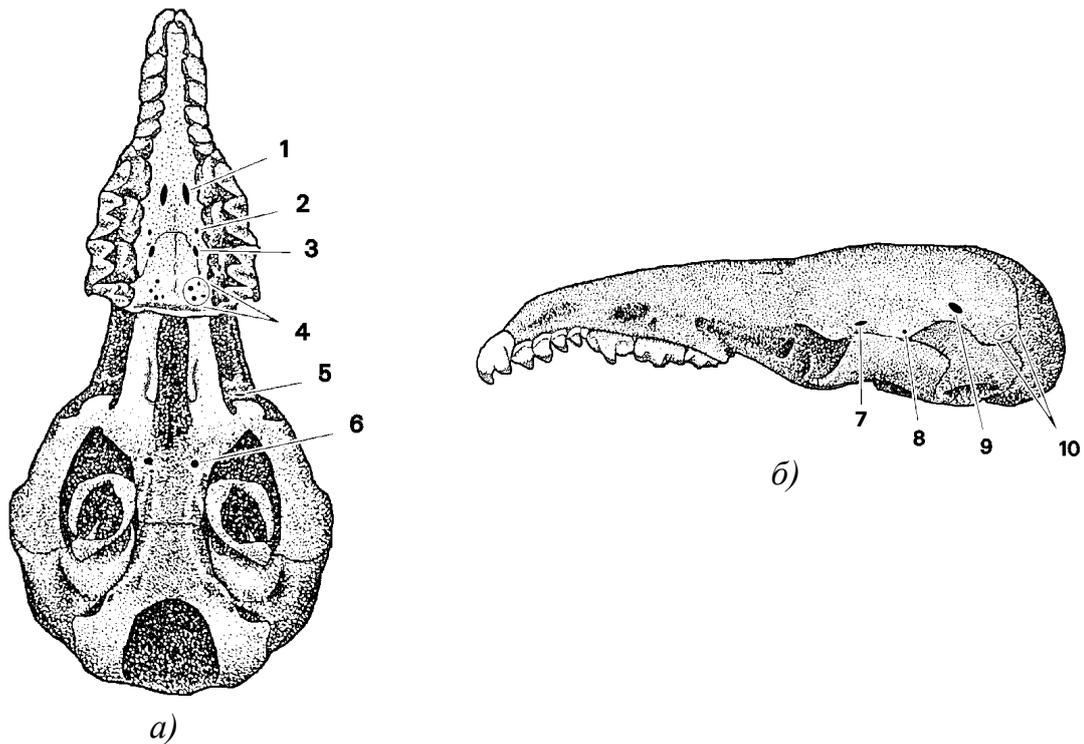


Рис. 6. Схема морфологических признаков обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*), малой белозубки (*Crocidura suaveolens*), средней бурозубки (*Sorex caecutiens*), тундряной бурозубки (*Sorex tundrensis*), бурой бурозубки (*Sorex roboratus*), равнозубой бурозубки (*Sorex isodon*) для оценки стабильности развития: 1 – 10 – меристические признаки: *a* – вид снизу; 1 – число отверстий на верхнечелюстной кости на уровне второго моляра (передне-небные); 2 – число отверстий на верхнечелюстной кости между передне- и задне-небными костями; 3 – число отверстий в шве между небной и верхнечелюстной костями (задне-небные); 4 – число отверстий на пластинке небной кости, в ложбинке позади задне-небного отверстия; 5 – число отверстий на чешуйчатой кости позади верхнего суставного бугорка; 6 – число отверстий на основной сфеноидной кости вокруг входа в птеригоидный канал; *б* – вид сбоку: 7 – число отверстий в передней части теменной кости позади глазницы, перед желобком; 8 – число отверстий в средней части теменной кости в основании желобка; 9 – число отверстий на теменной кости у выхода из желобка; 10 – число отверстий на заднем выступе теменной кости

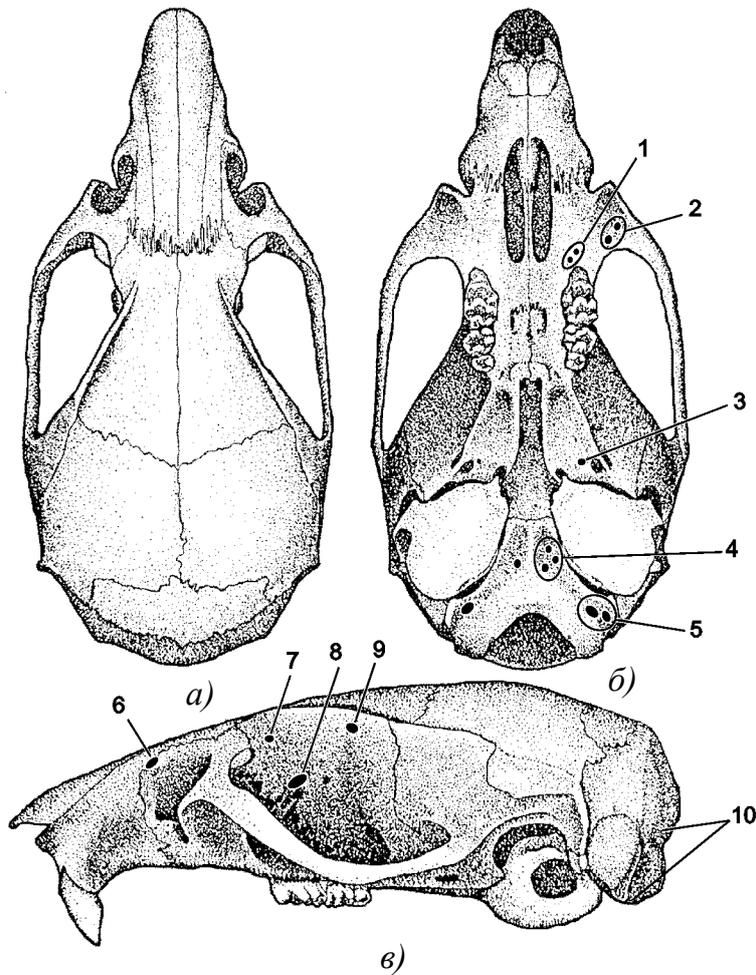


Рис. 7. Схема морфологических признаков для оценки стабильности развития: *a* – полевой мыши (*Apodemus agrarius*); *б* – малой мыши (*Apodemus uralensis*); *в* – желтогорлой мыши (*Apodemus flavicolis*); 1 – 10 – меристические признаки; 1 – число отверстий на верхнечелюстной кости в районе диастемы, перед коренными зубами; 2 – число отверстий на скуловом отростке верхнечелюстной кости; 3 – число отверстий на основной клиновидной кости между непостоянным и овальным отверстиями; 4 – число отверстий на основной затылочной кости; 5 – число отверстий, подъязычное отверстие вместе с дополнительными; 6 – число отверстий на предчелюстной кости (над инфраорбитальным каналом); 7 – число отверстий на латеральной поверхности лобной кости (позади слезной); 8 – число отверстий в нижней части орбитальной поверхности лобной кости (над орбитальной вырезкой); 9 – число отверстий в верхней части мозговой пластинки лобной кости под теменным гребнем; 10 – число отверстий в районе затылочных мышцелков

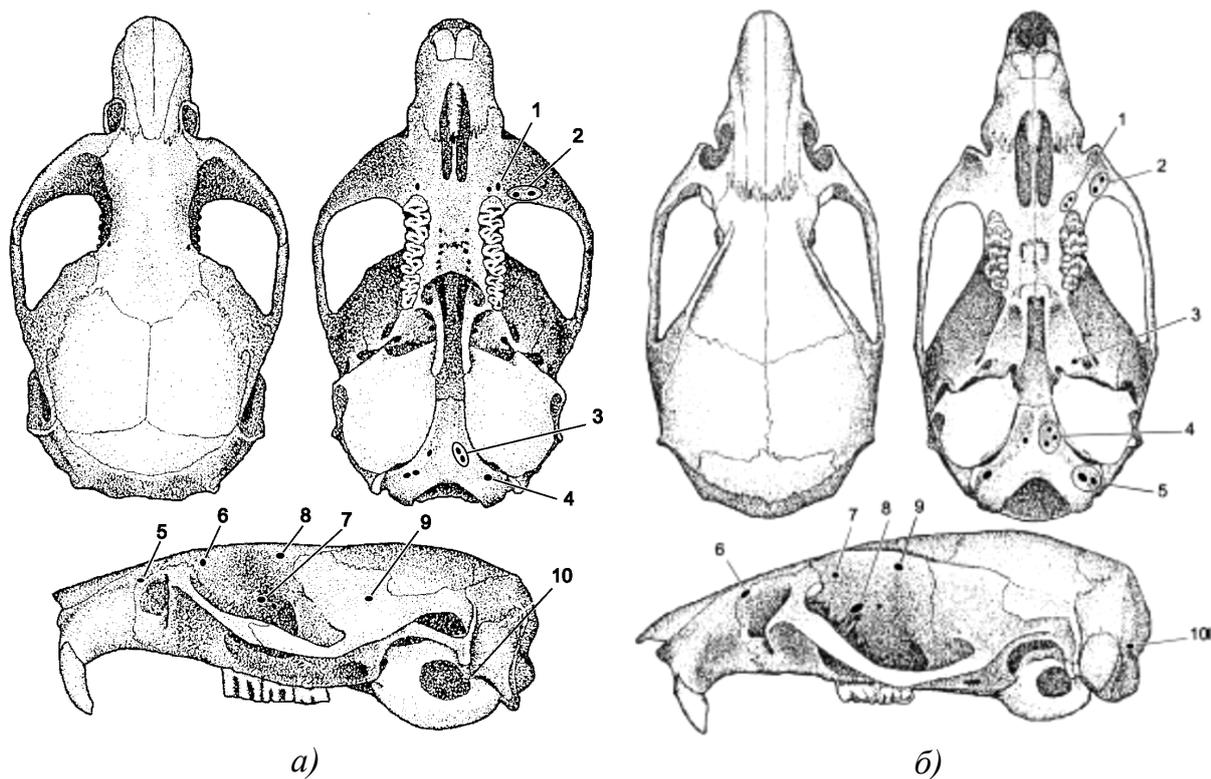


Рис. 8. Схема морфологических признаков для оценки стабильности развития: *а* – рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*); *б* – обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*): 1 – 10 – число мелких отверстий; 1 – на верхнечелюстной кости (в районе диастемы), перед коренными зубами; 2 – на скуловом отростке верхнечелюстной кости; 3 – на основной затылочной кости (перед подъязычным отверстием); 4 – подъязычное отверстие (вместе с дополнительными); 5 – на предчелюстной кости (над инфраорбитальным каналом); 6 – на латеральной поверхности лобной кости (позади слезной); 7 – в нижней части орбитальной поверхности лобной кости (над орбитальной вырезкой); 8 – в верхней части мозговой пластинки лобной кости под теменным гребнем; 9 – на чешуйчатой кости; 10 – на сосцевой части каменной кости

СРЕДСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ

Инструменты:

- микроскоп бинокулярный 50-1350х ТУ 3-3-986, ТУ 3-3-777, ТУ 3-3.1911-89;
- лупа налобная ТУ 25-2015-0001-88;
- линейка на 10 см с ценой деления 1 мм. ГОСТ 427-75;
- транспортир с ценой деления 1 град. ОСТ 6-19-417-80;
- циркуль-измеритель. ТУ 25-7203014-91;
- баня электрическая. ТУ 64-1-2850-80;
- пинцеты глазные. ТУ 34-1-37-78;
- скальпели глазные. ТУ 64-1-17-78;
- набор гистологический. ТУ 64-1-504-74;
- ножницы. ТУ 64-1-3 785-83;
- зубная щетка (бытовая) с жесткой щетиной;
- банки стеклянные для фиксации и хранения проб;
- чашка Петри. ГОСТ 23932-90;
- холодильник (бытовой) для хранения проб.

Реактивы для фиксации:

- формалин 3%-ный водный раствор. ТУ 6-09-3011-73;
- спирт этиловый пищевой 95%-ный. ГОСТ 5963-67;
- спирт этиловый технический. ГОСТ 17299-98;
- спирт этиловый ректифицированный. ГОСТ 18300-87;
- вода дистиллированная. ГОСТ 6709-72.

Рекомендации по технике безопасности в целях охраны окружающей среды

- При выполнении работ рекомендуется соблюдать стандартные требования по технике безопасности.
- Организация обучения работающих безопасности труда (ГОСТ 12.0.004-90).
- Требования техники безопасности при работе с химическими реактивами (ГОСТ 12.1.007-76).
- Электробезопасность при работе с электроустановками обеспечивается (ГОСТ 12.1.019-79).
- Помещение биологической лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности (ГОСТ 12.1.004-91) и иметь средства пожаротушения (ГОСТ 12.4.009-83).

СПИСОК ВИДОВ, РЕКОМЕНДУЕМЫХ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФА И СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ

Растения

- Береза повислая – *Betula pendula* Roth и другие виды берез, произрастающие на территории России.
- Клён остролистный – *Acer platanoides*.
- Дуб черешчатый – *Quercus robur*.
- Липа мелколистная – *Tilia cordata*.
- Сосна обыкновенная – *Pinus silvestris*.

Рыбы

- Лещ – *Abramis brama* Linne, 1758.
- Плотва – *Rutilus rutilus* Linne, 1758.
- Речной окунь – *Perca fluviatilis* Linne, 1758.
- Щука – *Esox lucius* Linne, 1758.
- Карась золотой – *Carassius carassius* Linne, 1758.
- Серебряный карась – *Carassius auratus* Bloch, 1783.
- Бычок-зеленчак – *Zosterisessor ophiocephalus* Pallas (= *Gobius ophiocephalus*), 1811.

Земноводные

- Озерная лягушка – *Rana ridibunda* Pallas, 1771.
- Прудовая лягушка – *Rana lessonae* Camerano, 1882.
- Гибридная форма – *Rana esculenta* Linne, 1758.
- Травяная лягушка – *Rana temporaria* Linne, 1758.

Млекопитающие

- Рыжая полевка – *Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780.
- Красная полевка – *Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779.
- Домовая мышь – *Mus musculus* Linne, 1758.
- Полевая мышь – *Apodemus agrarius* Pallas, 1771.
- Серая полевка – *Microtus arvalis* Pallas, 1778.
- Желтогорлая мышь – *Apodemus flavicollis* (= *Sylvaemus flavicollis* Melchior, 1834).

- Западно-европейская мышь – *Apodemus sylvaticus*, (= *Sylvaemus sylvaticus* Linne, 1758).
- Малая мышь – *Apodemus uralensis* (= *Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811).
- Мышь малютка – *Micromys minutus* Pallas, 1771).
- Малая белозубка – *Crocidura suaveolens* Pallas, 1811.
- Средняя бурозубка – *Sorex caecutiens* Laxmann, 1978.
- Тундряная бурозубка – *Sorex tundrensis* Merriam, 1902.
- Обыкновенная бурозубка – *Sorex araneus* Linne, 1758.
- Буря бурозубка – *Sorex roboratus* Hollister, 1913.
- Равнозубая бурозубка – *Sorex isodon* Turov, 1924.

Библиографический список

1. Стабильность развития растений: теория и методы : метод. указание / сост. С. Г. Баранов. – Саарбрюкен : Lap Lambert Academic Publishing, 2013. – 101 с. – ISBN 978-3-659-44790-7.
2. Здоровье среды: практика оценки : метод. рук. / А. В. Валецкий [и др.]. – М. : Изд-во Центра эколог. политики России, 2000. – 320 с.
3. *Васильев, А. Г.* Феногенетическая изменчивость и методы ее изучения : учеб. пособие / А. Г. Васильев, И. А. Васильева, В. Н. Большаков. – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2007. – 279 с.
4. Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур) / сост. : В. М. Захаров [и др.]. – М. : Изд-во Центра эколог. политики России, 2003. – 68 с.
5. *Захаров, В. М.* Биотест: интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов / В. М. Захаров, Д. М. Кларк. – М. : Моск. отделение МФ «Биотест», 1993. – 68 с.
6. *Захаров, В. М.* Мониторинг здоровья среды на охраняемых природных территориях / В. М. Захаров, А. Т. Чубинишвили. – М. : Изд-во Центра эколог. политики России, 2001. – 78 с.
7. *Шитиков, В. К.* Рандомизация и бутстреп : статистический анализ в биологии и экологии с использованием R / В. К. Шитиков, Г. С. Розенберг. – Тольятти : Кассандра, 2013. – 314 с.

Оглавление

Предисловие.....	3
Введение.....	5
Раздел 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ	6
Фенотип, генотип, стабильность развития.....	6
Методы, используемые при обработке статистического материала	12
Последовательность проведения анализа величины флуктуирующей асимметрии	16
Определение ФА морфogeометрическим методом	22
Раздел 2. ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	27
Общие положения	27
Отбор проб полевого материала и подготовка к выполнению исследований.....	29
Определение стабильности развития растений	32
Работа с рыбами, земноводными и млекопитающими	36
Обработка и оформление результатов исследований	37
Использование непараметрических методов.....	42
Интерпретация получаемых результатов.....	43
Контрольные вопросы.....	44
Заключение	45
Словарь использованных терминов.....	46
Приложение	54
Библиографический список.....	71

Учебное издание

БАРАНОВ Сергей Геннадьевич
БУРДАКОВА Нелли Евгеньевна

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ.
МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

Учебное пособие

Редактор Р. С. Кузина
Технический редактор Н. В. Тупицына
Корректор Е. П. Викулова
Компьютерная верстка Е. А. Кузьминой

Подписано в печать 15.03.15.
Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 4,18. Тираж 50 экз.

Заказ

Издательство

Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых.
600000, Владимир, ул. Горького, 87.