

ОЦЕНКА ИЗМЕНЧИВОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ *Trifolium pratense* L. В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ

Т.Н. Светлакова, С.А. Мандрица,
С.В. Боронникова, А.В. Суслонов

ГОУ ВПО «Пермский государственный университет», г. Пермь

Ключевые слова и фразы: нефтяное загрязнение почв; морфологическая изменчивость растений; флуктуирующая асимметрия; *Trifolium pratense* L.

Аннотация: Проведен анализ морфологической изменчивости растений в условиях нефтяного загрязнения почв. Выявлены морфологические признаки, значение которых достоверно ниже у растений, произрастающих на нефтезагрязненной почве. Впервые проведена оценка уровня флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков особей *Trifolium pratense* L. Установлено, что нефтяное загрязнение влияет на развитие и морфологическую изменчивость растений.

Среди современных проблем человечества в последние десятилетия все чаще особое внимание уделяется состоянию окружающей среды. Загрязнение почв нефтью вызывает нарушения динамического равновесия в экосистеме вследствие изменения структуры почвенного покрова, геохимических свойств почв, а также токсического действия на растения [6]. Для индикации загрязняющих веществ в окружающей среде все чаще применяют биологические системы. Опасность нефтяных загрязнений связана с высокой чувствительностью к нему высших растений, так как они занимают ключевое положение практически во всех наземных экосистемах, определяя существование и состав остальных биологических компонентов биогеоценозов. Кроме того, негативное влияние нефтяного загрязнения на растения снижает эффективность их использования при фиторекультивации нефтезагрязненных почв [6].

Проблема симметрии (асимметрии) биологических объектов является одной из фундаментальных в современной биологии. Под флуктуирующей асимметрией (**ФА**) понимают незначительные и случайные (ненаправленные) отклонения от строгой билатеральной симметрии биообъектов [2].

Светлакова Т.Н. – научный сотрудник НИЛ «Молекулярная биология и генетика» естественнонаучного института; Мандрица С.А. – доктор биологических наук, профессор кафедры зоологии позвоночных животных и экологии; Боронникова С.В. – кандидат биологических наук, доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией «Молекулярная биология и генетика» естественнонаучного института; Суслонов А.В. – соискатель, e-mail: Suslonov_a_v@mail.ru, ГОУ ВПО «Пермский государственный университет», г. Пермь.

Флуктуирующую асимметрию предлагают использовать в качестве меры в оценке стабильности развития организма [3]. Уровень морфогенетических отклонений от нормы оказывается минимальным лишь при определенных (оптимальных) условиях среды и неспецифически возрастает при любых стрессовых воздействиях.

Целью данной работы являлось изучение флуктуирующей асимметрии у растений, произрастающих на участках с нефтяным загрязнением и без него на примере *Trifolium pratense* L.

Изучение влияния нефтяного загрязнения на уровень флуктуирующей асимметрии проводилось на опытном стационаре Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (г. Пермь) в д. Ключи Добрянского района в 2006–2009 гг. Экспериментальные площадки размером 1 м² были заложены в дерново-подзолистой почве злаково-разнотравного лугового биоценоза. Площадки в 1985, 1996 и 1999 гг. были перекопаны с уборкой растительности и внесением 24 л/м² нефти [5]. Для исследования случайным образом были избраны по 10 экспериментальных площадок с каждого года загрязнения и 10 контрольных площадок для каждого года загрязнения. Всего было обследовано 60 площадок.

Для анализа морфологической изменчивости каждая выборка (выборки отличаются годом внесения нефти в почву) составила по 30 особей, а общее число проанализированных особей – 180 (исследованы экспериментальные площадки 1985, 1996 и 1999 гг. загрязнения и контрольные площадки). Для проведения оценки флуктуирующей асимметрии все листья исследованных особей *Trifolium pratense* L. были отсканированы при помощи планшетного сканера Mustek 1200 UB Plus. Дальнейшее измерение проводилось в программе Image J.

При изучении морфологической изменчивости в соответствии с рекомендациями Ю.А. Злобина [4] были определены следующие морфометрические показатели: *Trifolium pratense* L. – высота растения, количество междоузлий, длина каждого междоузлия, длина черешка каждого листа, длина прилистника каждого листа, длина левого бокового листочка каждого тройчатосложного листа, длина правого бокового листочка каждого тройчатосложного листа, длина центрального листочка каждого тройчатосложного листа. Статистическая обработка первичных данных по морфологической изменчивости проведена в соответствии с общепринятыми методами [8] с использованием программы MS Excel. Для определения величины флуктуирующей асимметрии у *Trifolium pratense* L. был взят билатеральный признак – длина боковых листочков тройчатосложного листа. Статистический анализ флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков *Trifolium pratense* L. проведен по методикам А. Палмера и К. Стробека [11], Д.Б. Гелашвили с соавторами [1]. Расчеты проведены с применением пакета STATISTICA 5.0 и SPSS 11.5.

Установлено, что растения, произрастающие на нефтезагрязненных площадках, характеризуются достоверно низкими морфометрическими показателями по таким морфологическим признакам, как высота растения и длина центральных метамеров для особей *Poa pratensis* L. и *Trifolium pratense* L.; длина метелки, число колосков в метелке и число зерновок в колоске для особей *Poa pratensis* L. [9].

Таблица 1

**Результаты теста на значимость коэффициента эксцесса
билатеральных признаков *Trifolium pratense* L.**

Год загрязнения	Лист	<i>N</i>	<i>k</i>	$k_{crit(0,05)}$	Год загрязнения	Лист	<i>N</i>	<i>k</i>	$k_{crit(0,05)}$
1985	2	7	0,2068	3,109	1985	3	15	-0,7970	-1,2800
1996		4	3,2806	–	1996		17	1,2192	1,1300
1999		3	–	–	1999		16	0,5959	1,1300
Контроль		2	–	–	Контроль		21	2,5938	1,1800
1985	4	8	3,1232	2,8990	1985	5	20	3,3970	1,1800
1996		14	0,0099	2,1520	1996		6	0,6984	–
1999		26	4,0428	1,7350	1999		11	-0,2005	-1,4400
Контроль		20	3,3970	1,8690	Контроль		26	1,2922	1,1500
1985	6	13	2,2199	2,4160	1985	7	7	1,1320	0,5500
1996		8	3,4726	2,8990	1996		3	–	–
1999		9	1,0218	2,8290	1999		5	0,2949	–
Контроль		18	6,6850	1,8690	Контроль		13	-0,9805	-1,3600

Примечание: год загрязнения – год загрязнения площадок; *N* – объем выборки; *k* – эмпирическое значение коэффициента эксцесса; $k_{crit(0,05)}$ – критическое значение коэффициента эксцесса для уровня значимости 0,05.

Для определения характера обнаруженной асимметрии у особей *Trifolium pratense* L. проведен тест на значимость эксцесса (табл. 1), так как антисимметрия проявляется в виде отрицательного коэффициента эксцесса распределения различий между сторонами. Тест на значимость эксцесса показал, что ни для одного из признаков не выявлено превышения эмпирического значения коэффициента эксцесса над критическим. При оценке были использованы табулированные критические значения эксцесса [12].

Следовательно, можно считать, что антисимметрия у анализируемых признаков отсутствует. Для выявления направленности асимметрии билатеральных признаков проведено сравнение измерений на правой стороне с соответствующими измерениями на левой с помощью критерия Уилкоксона [1]. Ни в одном из случаев не установлено статистически значимых ($p < 0,05$) различий в величине признака на левой и правой сторонах листочка, то есть статистически значимая направленная асимметрия не выявлена (табл. 2).

Проверялась связь между абсолютными значениями асимметрии и средним размером признака. Обязательное использование непараметрических методов в данном случае обусловлено тем, что один из рядов, связь между которыми проверяется, а именно ряд абсолютных значений асимметрии, заведомо отклоняется от нормальности: он имеет так называемое усеченное нормальное или полунормальное распределение [13]. Результаты корреляционного анализа между абсолютными значениями асимметрии и средним размером признака показывают отсутствие зависимости

Таблица 2

**Результаты оценки наличия направленности асимметрии
билатеральных признаков *Trifolium pratense L.***

Год загрязнения	Лист	<i>p</i>	Год загрязнения	Лист	<i>p</i>	Год загрязнения	Лист	<i>p</i>
1985	2	0,7353	1985	3	0,0884	1985	4	0,0919
1996		0,7150	1996	3	0,6744	1996		0,5754
1999		1,0000	1999	3	0,7671	1999		0,1771
Контроль		–	Контроль	3	0,5015	Контроль		0,9292
1985	5	0,1044	1985	6	0,1520	1985	7	1,0000
1996		0,7532	1996	6	0,1235	1996		0,2851
1999		0,1095	1999	6	0,1387	1999		0,8927
Контроль		0,8489	Контроль	6	0,5566	Контроль		0,8068

Пр и м е ч а н и е : год загрязнения – год загрязнения опытных площадок; *p* – уровень вероятности нулевой гипотезы по критерию Уилкоксона.

значения асимметрии от размера у всех анализируемых признаков. Таким образом, в последующем анализе можно было использовать абсолютное значение асимметрии, не применяя нормирование размером признака.

Полученные результаты позволяют включить все признаки в систему интегральной оценки ФА.

После завершения анализа индивидуальных признаков проведена интегральная оценка ФА *Trifolium pratense L.* по комплексу признаков. В табл. 3 приведены оценки уровня асимметрии для разных листьев на всех выбранных экспериментальных площадках и средний показатель ФА для выборок. Наибольшие значения асимметрии наблюдаются у четвертого и пятого листьев.

Значения, полученные в результате интегральной оценки уровня ФА по разным признакам, представлены на рис. 1.

Таблица 3

**Значения ФА билатеральных признаков *Trifolium pratense L.*
отдельно по листьям и средние для выборок**

Год загрязнения	2 лист	3 лист	4 лист	5 лист	6 лист	7 лист	ФА _{сред}
1985	1,42	1,35	2,19	1,54	1,25	2,06	1,63
1996	1,06	1,42	2,92	3,67	1,79	1,84	2,12
1999	1,25	1,99	3,67	3,64	2,90	0,91	2,39
Контроль	1,07	1,16	1,59	1,56	1,54	1,65	1,43

Пр и м е ч а н и е : год загрязнения – год загрязнения опытных площадок; ФА_{сред} – среднее значение асимметрии для выборки.

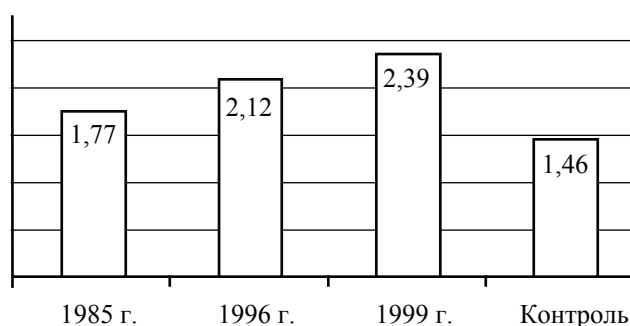


Рис. 1. Уровни флуктуирующей асимметрии разных выборок *Trifolium pratense L.* по интегральной оценке

Таблица 4

Величина вероятности нулевой гипотезы по критерию Манна–Уитни при оценке различий по уровню ФА *Trifolium pratense L.*

Выборки	1985 г.	1996 г.	1999 г.	Контроль
1985 г.	–	0,72118	0,03300	0,05400
1996 г.	0,72118	–	0,16500	0,65600
1999 г.	0,03300	0,16500	–	0,00032
Контроль	0,05400	0,65600	0,00032	–

Сравнение результирующих значений ФА проведено по критерию Манна–Уитни [1], результаты сравнения сведены в табл. 4. Статистически значимо отличаются от контроля величиной ФА, полученной в результате интегральной оценки, особи с площадок 1999 г. загрязнения. Они также отличаются по этому показателю и от особей с экспериментальных площадок 1985 г. загрязнения.

Таким образом, величина ФА особей *Trifolium pratense L.* отражает различия в экологических условиях произрастания, в нашем случае наличие/отсутствие нефтяного загрязнения 24 л/м², но только при условии относительно недавнего загрязнения, то есть не более, чем восьмилетней давности.

Впервые проведена оценка уровня ФА билатеральных признаков особей *Trifolium pratense L.*, произрастающих в условиях нефтяного загрязнения, как индикатора нестабильности развития. В результате статистического анализа показателей ФА особей *Trifolium pratense L.* были обнаружены достоверные отличия в интегральных значениях асимметрии особей, произрастающих на экспериментальных площадках 1999 г. загрязнения (самое позднее из изученных в данной работе загрязнение), от особей, произрастающих на контрольных площадках. Более давние нефтяные загрязнения не оказали влияние на уровень этого показателя. Таким образом, доказано, что уровень ФА билатеральных признаков, как показатель

нестабильного развития особи при влиянии негативных факторов, применим при изучении стабильности/нестабильности развития растений при нефтяном загрязнении почв.

Работа выполнена в рамках аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы».

Список литературы

1. Статистический анализ флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков разноцветной ящурки *Eremias arguta* / Д.Б. Гелашвили [и др.] // Актуальные проблемы герпетологии и токсинологии : сб. науч. тр. – Тольятти, 2004. – Вып. 7. – С. 45–59.
2. Захаров, В. М. Асимметрия животных / В.М. Захаров. – М. : Наука, 1987. – 216 с.
3. Захаров, В.М. Онтогенез и популяция (стабильность развития и популяционная изменчивость) / В.М. Захаров // Экология. – 2001. – № 3. – С. 177–191.
4. Злобин, Ю.А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений : учеб.-метод. пособие / Ю.А. Злобин // Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1989. – 146 с.
5. Назаров, А.В. Формирование растительности на экспериментальных нефтезагрязненных площадках / А.В. Назаров, С.А. Иларионов, Э.А. Азизова // Вестн. Перм. ун-та. – 2000. – Вып. 2. – С. 80–84.
6. Назаров, А.В. Влияние нефтяного загрязнения почв на растения / А.В. Назаров // Вестн. Перм. ун-та. – 2007. – Вып. 5(10). – С. 134–139.
7. Нефтезагрязненные биогеоценозы (Процессы образования, научные основы восстановления, медико-экологические проблемы) / А.А. Оборин [и др.]. – Пермь : Изд-во Перм. гос. ун-та. – 2008. – 511 с.
8. Плохинский, Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский. – М. : Изд-во МГУ, 1969. – 368 с.
9. Суслонов, А.В. Морфологическая изменчивость *Poa pratensis* L. при нефтяном загрязнении / А.В. Суслонов, Т.В. Светлакова, С.В. Боронникова // Материалы III Всероссийской научно-практической конференции «Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования». – Нижний Тагил, 2010. – С. 229–231.
10. Урбах, В.Ю. Биометрические методы / В.Ю. Урбах. – М. : Наука. – 1964. – 416 с.
11. Palmer, A.R. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns / A.R. Palmer, C. Strobeck // Ann. Rev. Ecol. Syst. – 1986. – V. 17. – P. 391–421.
12. Palmer, A.R. Fluctuating asymmetry analysis revisited / A.R. Palmer, C. Strobeck // Developmental instability (DI): causes and consequences / M. Polak, ed. – New York, 2003.
13. Whitlock, M. The heritability of fluctuating asymmetry and genetic control of developmental stability / M. Whitlock // Proc. R. Soc. Lond. B. – 1996. – V. 263. – P. 849–854.

**Estimation of *Trifolium pratense* L. Morphological Character
Mobility in Conditions of Oil Contamination of Soil**

**T.N. Svetlakova, S.A. Mandritsa,
S.V. Boronnikova, A.V. Suslonov**

Perm State University, Perm

Key words and phrases: fluctuating asymmetry; morphological mobility of plants; oil contamination; *Trifolium pratense* L.

Abstract: The morphological mobility of plants in conditions of oil contamination is analyzed. It is found out that plants growing in oil contaminated soil have morphological features with lower indexes. The level of fluctuating asymmetry of bilateral features of *Trifolium pratense* L. has been estimated for the first time. It is proved that oil contamination of soil influences the development and morphological mobility of plants.

© Т.Н. Светлакова, С.А. Мандрица,
С.В. Боронникова, А.В. Суслонов, 2010