

**ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕВЕРА ПОЛЗУЧЕГО (*TRIFOLIUM REPENS* L.) ДЛЯ БИОИНДИКАЦИИ АНТРОПОГЕННОГО НАРУШЕНИЯ СРЕДЫ**

© 2012 Т.А. Горшкова

Обнинский институт атомной энергетики  
Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», г. Обнинск

Поступила 03.10.2011

В статье обобщены результаты исследования пригодности клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) для биоиндикации нескольких видов антропогенного нарушения среды.

**Ключевые слова:** *Trifolium repens*, биоиндикация, стабильность развития, стерильность пыльцы.

Биомониторинг в качестве одной из задач включает поиск референтных видов, по изменению структур которых можно судить об изменениях в окружающей среде. При этом интерес могут представлять не только редкие, но и широко распространенные виды. В настоящем исследовании была произведена попытка оценить возможность использования в качестве универсального биоиндикатора различных видов антропогенного нарушения среды клевера ползучего *Trifolium repens* L. – синантропного растения, которое можно встретить повсеместно.

Выбор объекта исследования был обусловлен тем, что клевер ползучий, являясь синантропом, удовлетворяет многим требованиям к идеальному биологическому индикатору [5]: типичное растение во флоре местообитаний, связанных с человеком, имеет высокую численность в исследуемых экотопах, обитает на одной территории многие годы, находится в условиях, удобных для отбора проб, в течение вегетативного сезона быстро проходит смену фаз. В то же время тот факт, что клевер сосуществует с человеком на территориях, подвергшихся значительному антропогенному изменению, свидетельствует о его более высокой устойчивости к разного рода неблагоприятным факторам, чем у типичных лесных или луговых видов растений. Однако данные виды, в противоположность синантропам, не столь часто встречаются в антропогенно измененных условиях. В связи с этим представляет интерес обследование популяций клевера ползучего и поиск закономерностей, свидетельствующих об отклонениях в их развитии в условиях нескольких видов антропогенной нагрузки: рекреационной, автотранспортной, а также под воздействием электромагнитных полей.

Следует отметить, что в задачи настоящего исследования не входило определение зависимостей «доза – эффект», но была произведена попытка оценки формы отклика клевера (специфическая

или неспецифическая) на антропогенное воздействие.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

На участках предварительно выбранных зон был произведен отбор растительного материала и почвенных проб. «Зонами» назывались территории, подверженные определенному виду антропогенного нарушения: зона, подверженная воздействию электромагнитных полей – под высоковольтной линией электропередач (в таблице – «Зона ЭМП»), зона с преобладанием выгнупывания над другими факторами антропогенного влияния – на детских площадках во дворах («Зона В»), зона с интенсивной автотранспортной нагрузкой – на разделительных газонах самых загруженных городских автомобильных дорог (в таблице – «Зона АТН»). В качестве контрольной была выбрана зона, расположенная на удалении от перечисленных трех типов антропогенного воздействия, – территория ИАТЭ НИЯУ МИФИ («Контроль»). На всех исследованных территориях почва была супесчаной, со слоем гумуса до 15 см.

В пределах каждой зоны исследования проводились на 5-6 учетных площадках, расположенных не в непосредственной близости друг от друга. На всех участках проективное покрытие клевера составляло от 60% до 95% учетной площадки, он доминировал в растительных сообществах и находился на территории, не затененной строениями или древесно-кустарниковой растительностью. Весь растительный материал был собран за два дня в июне 2009 г., при этом на всех учетных территориях за три недели до сбора клевера службами городского коммунального хозяйства было произведено кошение травостоя бензокосами.

В настоящем исследовании были произведены измерения средней массы листьев, побегов и соцветий, средней длины черешка листа и цветоноса; определяли размеры, массу соцветий, количество цветков в соцветиях клевера ползучего; подсчитывали число листьев, боковых побегов и соцветий на участке основного побега длиной 10 см; оценивали стабильность развития по показателю

Горшкова Татьяна Александровна, к.б.н., доц., e-mail: tgorshkova@yandex.ru.

телю флуктуирующей асимметрии (ФА) [7]; проводили подсчет частоты встречаемости фенотипов белого клевера с различными формами седого рисунка на листьях; определяли среднюю площадь листа клевера; исследовали стерильность пыльцы клевера в зависимости от вида антропогенной нагрузки [6, 8]; выявляли изменения всхожести, высоты и массы проростков, а также длины корней у проростков клевера в зависимости от степени загрязнения почвы в сравнении со стандартным объектом биотестирования кресс-салатом [5].

Для морфометрии вегетативных и генеративных структур клевера, расчета индекса ФА, фенетического исследования и учета стерильности пыльцы в каждой зоне было собрано по 100 приблизительно одновозрастных соцветий клевера с цветоносами, 100 побегов длиной 10 см, 200 листьев с черешками. Измерения линейных величин осуществляли с помощью ученической линейки с точностью 0,1 см. Взвешивание побегов, частей побегов и проростков производили на аналитических весах с точностью до 0,01 г. При учете процента стерильных пыльцевых зерен брали пыльцу с 3 цветков каждого из 100 соцветий, окрашивали йодным раствором, под микроскопом при 200-кратном увеличении подсчитывали 100 пылинок для каждого цветка, учитывая среди них стерильные пыльцевые зерна.

Следует отметить, что для полноты картины представлялось перспективным также обследование семенного потомства клевера на изученных территориях. Но, к сожалению, в городских условиях плодоношение клевера ползучего затруднено из-за кошения, и данное растение размножается в основном вегетативно. В данной работе было

проведено исследование всхожести семян и параметров проростков клевера ползучего и стандартного объекта биотестирования – кресс-салата (*Lepidium sativum*) на почвах, взятых с разного расстояния от проезжей части дорог. Для опыта брали семена этих растений, купленные в магазине. Почвенные пробы брали на трех наиболее загруженных автотранспортом городских улицах (на расстоянии 1,5 и 3 м от бордюра проезжей части) и на контрольных территориях, удаленных от дороги на 30 – 35 м. Посев семян производили по 50 штук в чашки Петри (соответственно, по 9 чашек с клевером и кресс-салатом на улицу). Данные по разным улицам усредняли. Подсчет количества проростков и измерение их высоты производили ежедневно, взвешивание и измерение длины корней проростков осуществляли по окончании эксперимента – на четвертые сутки роста.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Excel 2003, графики и диаграммы строили в программе SigmaPlot 2000.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице объединены данные по средним морфометрическим показателям вегетативных и генеративных структур клевера, приведены индекс флуктуирующей асимметрии, относительное количество листьев клевера, имеющих седой рисунок, и данные по проценту стерильности пыльцевых зерен. В качестве отклонения от среднего значения во всех случаях приведен доверительный интервал при уровне значимости 0,05. Данные, статистически значимо отличающиеся от контроля, выделены жирным шрифтом.

**Таблица.** Сводные данные по изменению вегетативных и генеративных структур *Trifolium repens* L. на территориях с различными видами антропогенной нагрузки по сравнению с контролем

Исследуемый признак		Контроль	Зона ЭМП	Зона В	Зона АТН
а	Средняя масса листа, г	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	<b>0,06 ± 0,01</b>	<b>0,06 ± 0,01</b>
б	Средняя масса побега, г	1,27 ± 0,20	1,58 ± 0,18	1,06 ± 0,07	1,00 ± 0,12
в	Средняя площадь листовой пластинки, см <sup>2</sup>	7,41 ± 0,25	7,73 ± 0,20	<b>4,32 ± 0,11</b>	<b>3,50 ± 0,17</b>
г	Средняя длина черешка листа, см	19,02 ± 1,83	21,56 ± 2,02	<b>11,88 ± 0,95</b>	<b>8,74 ± 1,35</b>
д	Средняя высота цветоноса, см	28,64 ± 1,58	28,3 ± 1,77	14,9 ± 0,60	12,0 ± 1,2
е	Среднее количество листьев у побега, шт	4,32 ± 0,30	4,75 ± 0,41	<b>6,54 ± 0,50</b>	<b>6,72 ± 0,43</b>
ж	Среднее количество соцветий у побега, шт	0,75 ± 0,28	1,08 ± 0,18	<b>1,35 ± 0,22</b>	<b>1,36 ± 0,20</b>
з	Среднее количество боковых побегов, шт	1,72 ± 1,01	2,75 ± 1,53	3,53 ± 1,11	<b>4,30 ± 0,84</b>
и	Коэффициент ФА	0,032 ± 0,005	0,033 ± 0,005	<b>0,055 ± 0,004</b>	0,038 ± 0,003
к	Относительное количество листьев с «седым» рисунком, %	17,57 ± 4,08	7,12 ± 4,25	<b>33,83 ± 6,52</b>	<b>48,15 ± 5,63</b>
л	Средняя масса соцветия, г	0,28 ± 0,02	<b>0,22 ± 0,02</b>	<b>0,21 ± 0,01</b>	<b>0,22 ± 0,02</b>
м	Среднее количество цветков в соцветии, шт	57,22 ± 2,40	53,13 ± 1,93	<b>51,04 ± 1,58</b>	52,45 ± 3,02
н	Средний диаметр соцветия, см	2,72 ± 0,10	<b>2,33 ± 0,21</b>	<b>2,05 ± 0,33</b>	<b>2,08 ± 0,22</b>
о	Относительное количество стерильных пыльцевых зерен, %	6,80 ± 1,35	<b>16,40 ± 2,11</b>	<b>10,05 ± 2,05</b>	<b>12,33 ± 2,48</b>

По данным, приведенным в таблице, видно, что такие показатели виталитета растительной популяции, как средняя масса листа (а) и побега (б), площадь листовой пластинки (в), средняя длина черешка листа (г) и цветоноса (д), оказались меньше в зоне с автотранспортной нагрузкой и в зоне, подверженной интенсивному вытаптыванию. Данные по контрольной территории и участку с воздействием электромагнитного поля различаются слабо. Однако следует отметить, что скашивание на разделительных газонах автодорог клевер отрос после повторного кошения, тогда как на остальных территориях – после однократного. Поэтому падение показателей массы и площади листьев, а также длин черешка листа и цветоноса в зоне автотранспортной нагрузки связано, видимо, не с загрязнением почвы и приземного слоя атмосферы, а с фактором более частого кошения. На основании этого данные признаки клевера, произрастающего в городских условиях, по-видимому, не следует рассматривать как биоиндикационные.

Количество листьев у побегов (е) в зонах вытаптывания и с автотранспортной нагрузкой существенно отличаются друг от друга, но значительно больше, чем в контрольной зоне. Это связано с укорочением междоузлий у побега и сближением его боковых структур при ухудшении условий обитания. Та же зависимость, связанная с уменьшением длины междоузлий, прослеживается в отношении числа соцветий у побегов (ж). Количество боковых побегов (з) существенно больше на участках с автотранспортной нагрузкой, а по остальным зонам достоверного различия нет.

Нарушения в стабильности развития [4], оцененные по изменению индекса флуктуирующей асимметрии, были обнаружены в популяциях клевера, подвергающихся интенсивному вытаптыванию, где индекс оказался значительно выше по сравнению с контрольной территорией. На остальных участках статистически значимых различий с контролем не наблюдалось. Таким образом, повышение коэффициента флуктуирующей асимметрии у клевера, по-видимому, можно считать специфическим индикационным признаком в отношении вытаптывания.

Под воздействием антропогенных факторов в популяциях увеличивается частота встречаемости специфических фенотипов у различных видов растений и животных. В частности, форма «седого» рисунка на пластинках листа *Trifolium repens* и частота встречаемости листьев, имеющих рисунок, может использоваться как индикатор загрязнения среды, что было отмечено рядом авторов [8]. В представленном исследовании на участках под ЛЭП и в контроле среднее значение относительного количества листьев с «седым» рисунком (к) не превышало 17%, что считается нормой. На учетных территориях с автотранспортной нагруз-

кой в среднем почти половина куртин клевера имела «седой» рисунок на листьях. Это свидетельствует, по-видимому, о чувствительности данного признака к загрязнению, связанному с действием выхлопных газов и попаданию в почву продуктов сгорания автомобильного топлива. Однако нельзя исключать и возможный вклад в данный высокий показатель фактора более интенсивного механического повреждения – двукратного кошения клевера на этих территориях в противоположность однократному кошению в зоне контроля и под ЛЭП. В пользу такого заключения свидетельствует относительно высокий средний процент листьев с «седым» рисунком (34%) в зоне вытаптывания, где также силен фактор механического воздействия на популяцию, хотя и в иной форме.

Исследование генеративных структур клевера выявило следующие закономерности. Во всех зонах, кроме контрольной, наблюдалось статистически значимое снижение средней массы соцветий (л). Достоверное отличие среднего количества цветков в соцветии (м) от контрольных значений наблюдали у клевера, растущего в зонах интенсивного вытаптывания. На остальных территориях была заметна тенденция к снижению данного показателя по сравнению с контролем. Средний диаметр соцветий (н) на территориях, подверженных антропогенному воздействию, оказался в целом снижен по сравнению с контролем. Наименьшие значения данного показателя наблюдали в зонах вытаптывания и автотранспортной нагрузки.

Ранее отмечено, что совокупность факторов, сопутствующая антропогенной нагрузке на среду, оказывает влияние на морфологию пыльцы растений [1-3]. По результатам настоящего исследования в зонах, подверженных антропогенному воздействию, происходило статистически значимое увеличение количества стерильной пыльцы у клевера по сравнению с контрольными значениями. Наибольший процент abortивных пыльцевых зерен был зафиксирован у цветков клевера, растущих под высоковольтной линией электропередач.

Было проведено исследование всхожести семян и параметров проростков клевера ползучего по сравнению со стандартным тест-объектом кресс-салатом (*Lepidium sativum*) на почве, взятой на разном расстоянии от проезжей части дорог с интенсивным движением транспорта. Гипотеза настоящего исследования заключалась в том, что, сопоставив полученные данные по клеверу и кресс-салату, можно было бы сделать вывод о возможности использования семян клевера для индикации загрязнения почвы продуктами сгорания топлива и другими веществами, сопутствующими автотранспортной нагрузке. Результаты исследования представлены на рис. 1.

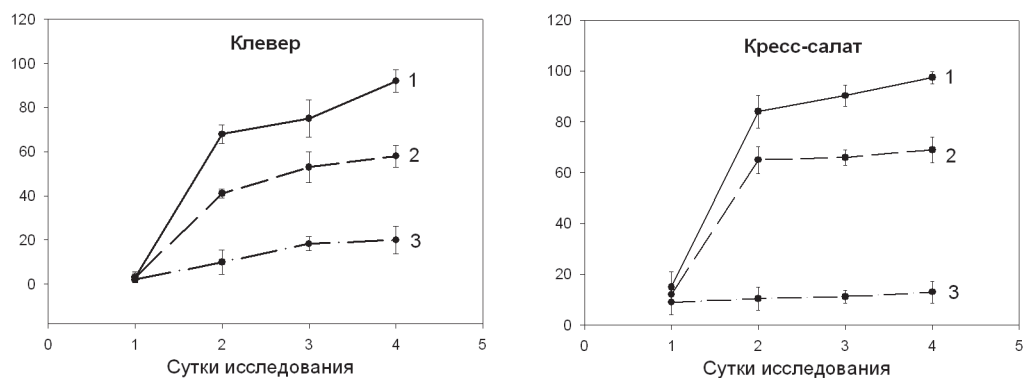


Рис. 1. Динамика всхожести семян клевера и кресс-салата на почвенных пробах с разного удаления от проезжей части дороги, %: 1 – контроль, 2 – 3 м от дороги, 3 – 1,5 м от дороги

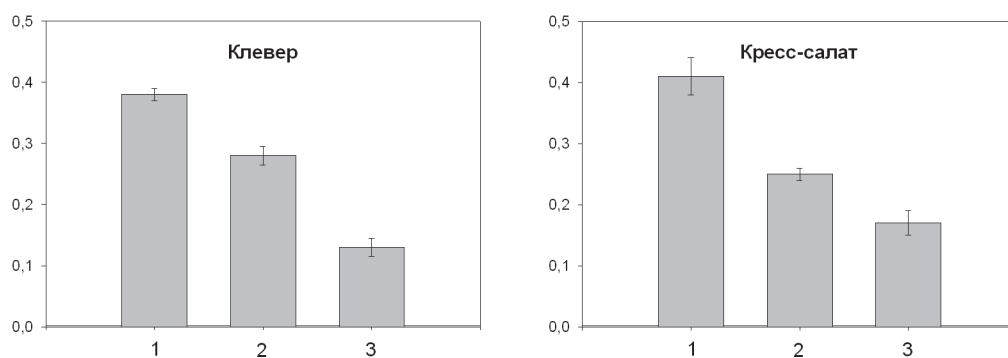


Рис. 2. Средняя масса проростков клевера и кресс-салата на почвенных пробах с разного удаления от проезжей части дороги, г.: 1 – контроль, 2 – 3 м от дороги, 3 – 1,5 м от дороги

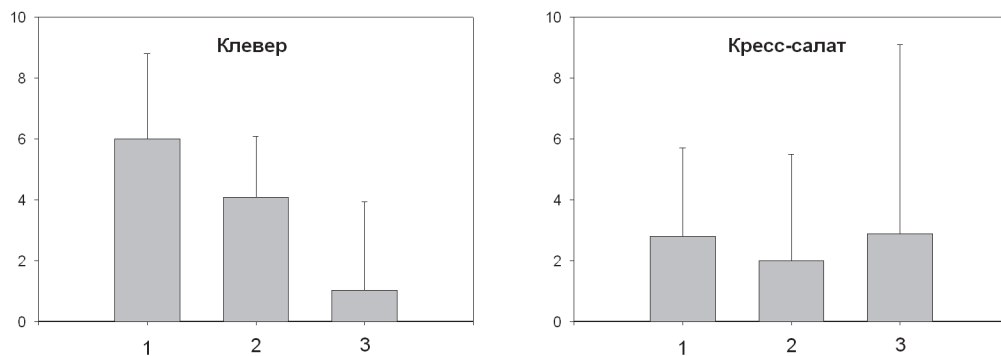


Рис. 3. Средняя длина корней у проростков клевера и кресс-салата на почвенных пробах с разного удаления от проезжей части дороги, мм: 1 – контроль, 2 – 3 м от дороги, 3 – 1,5 м от дороги

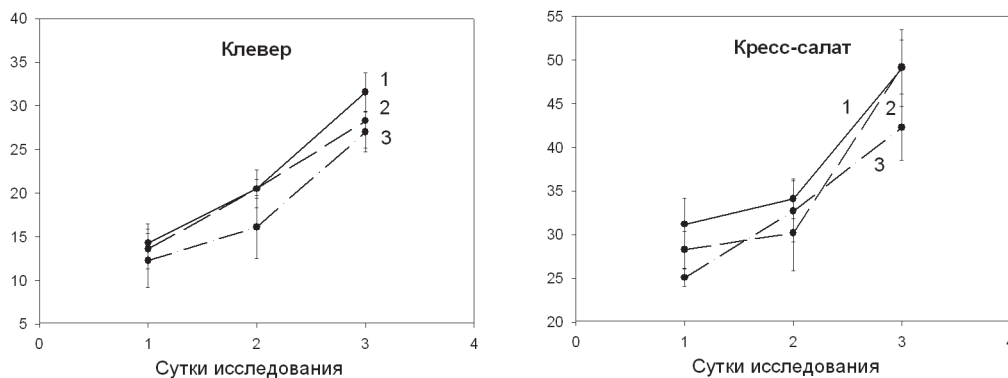


Рис. 4. Высота проростков клевера и кресс-салата на почвенных пробах с разного удаления от проезжей части дороги, мм: 1 – контроль, 2 – 3 м от дороги, 3 – 1,5 м от дороги

По результатам исследования было показано, что динамика всхожести семян у клевера и кресс-салата имеет сходный вид. Корреляция (по Пирсону) динамики всхожести семян этих видов рас-

тений в контроле составляет 0,99, в 3 м от дороги – 0,97, в 1,5 м – 0,93. Кроме того, показатели средней массы проростков клевера и кресс-салата (рис. 2) выглядят аналогичным образом. Коэффициент корреляции между этими данными составляет 0,95.

Наблюдения за характером роста проростков клевера и кресс-салата не выявили значимых различий по средней длине корней (рис. 3) и высоте проростков (рис. 4) на почвах контрольной и загрязненных территорий, что отчасти согласуется с данными похожего исследования О.М. Шабалиной и Т.Н. Демьяненко [9]. Но поскольку в нашем исследовании данные показатели не только у клевера, но и у кресс-салата не выявили реакции этих растений на степень загрязнения почвы, необходимо проведение серии уточняющих экспериментов.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что вегетативные структуры клевера ползучего в целом чувствительны к таким видам антропогенного воздействия, как вытаптывание и автотранспортная нагрузка, вызывающих снижение массы и площади листа, длины черешка листа, увеличение количество листьев, боковых побегов и соцветий на единицу длины основного побега, а также возрастание частоты встречаемости листьев с «седым» рисунком по сравнению с контролем.

Уменьшение среднего диаметра, массы соцветия и количества цветков в соцветии является неспецифической реакцией клевера на антропогенную нагрузку, не зависящей от вида вмешательства в среду обитания.

Максимальное отклонение стабильности развития клевера, оцененное с помощью индекса ФА, наблюдается у клевера в зоне вытаптывания.

Воздействие электромагнитного поля на популяцию клевера, произрастающую под ЛЭП, не вызывает значимых изменений в ее фенетическом составе, а также значимых отклонений морфологических признаков вегетативных структур клевера ползучего. В данной зоне, однако, можно наблюдать наибольшее снижение фертильности

пыльцы клевера в сравнении с контролем, что может быть расценено как специфическая реакция растения на данный вид антропогенного вмешательства в среду обитания.

Семена и проростки клевера ползучего реагируют на загрязнение почвы подобно семенам и проросткам кресс-салата, стандартного объекта фитотестирования.

По результатам проведенного исследования выявлено несколько признаков клевера ползучего, которые возможно использовать в качестве индикаторных признаков в биомониторинге антропогенного изменения среды обитания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессонова В.Н. Состояние пыльцы как показатель загрязнения среды тяжелыми металлами // Экология. 1992. № 3. С. 45–50.
2. Дзюба О.Ф. Состояние репродуктивной сферы *Angelica sylvestris* L. в условиях Ленинградской области в текущем столетии: материалы третьей Междунар. конф. по анатомии и морфологии растений. / СПб., 1997. С. 245–246.
3. Ермакова И.М. Одуванчик лекарственный // Биологическая флора Московской области. М.: Изд-во МГУ, 1990. Вып. 8. С. 210–229.
4. Захаров В.М., Кларк Д.М. Биотест: интегральная оценка экосистем и отдельных видов. М.: Московское отделение междунар. фонда «Биотест», 1993. 230 с.
5. Мелехова О.П., Егорова Е.И., Евсеева Т.И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. М.: Издательский центр «Академия», 2007. 288 с.
6. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1988. 304 с.
7. Стрельцов А.Б., Константинов Е.Л., Захаров В.М. и др. Здоровье среды. Калуга: Изд-во КГПУ им. К.Э. Циолковского, 2006. 40 с.
8. Федорова А.И., Никольская А.Н. Практикум по экологии и охране окружающей среды: учеб. пособие для студ. вузов. М.: ВЛАДОС, 2001. 288 с.
9. Шабалина О.М., Демьяненко Т.Н. Фитотестирование городских почв с помощью салата посевного (*Lactuca sativa*) и клевера белого (*Trifolium repens*). // Проблемы современной аграрной науки: материалы международной заочной научной конференции 15.10.2008. URL: <http://www.kgau.ru>

## EVALUATION OF CAPABILITY OF USE WHITE CLOVER *TRIFOLIUM REPENS* L. FOR BIOINDICATION OF ANTHROPOGENIC DISORDERS OF ENVIRONMENT

© 2012 T.A. Gorshkova

Bninsk Institute of Atomic Energy of National Research nuclear University «MIFI», Obninsk

The paper summarizes the results of the study the suitability of white clover (*Trifolium repens* L.) for bioindication several types of anthropogenic disturbance.

**Key words:** *Trifolium repens*, bioindication, developmental stability, pollen sterility.