



АНАЛИЗ МЕТОДОВ ФИТОИНДИКАЦИИ И ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ АНТРОПОГЕННОГО НАРУШЕНИЯ СРЕДЫ НА ПРИМЕРЕ МОДЕЛЬНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ

**Т.А. Горшкова, Е.С. Макаренко,
Е.А. Казакова, Н.В. Амосова,
Н.Н. Павлова, Ю.М. Мартиросян**

Обнинский институт атомной
энергетики Национального
исследовательского ядерного универси-
тета «МИФИ», Россия,
249035, г. Обнинск, Студгородок, 1

E-mail: tgorshkova@yandex.ru

На территории двух модельных участков леса, имеющих различия условно в один экологический фактор, проведены исследования по фитоиндикации и фитотестированию с помощью различных растительных объектов трех основных ярусов лесного растительного сообщества. Проанализированы результаты работы по шести выбранным методам, наиболее часто используемым в биологическом мониторинге, отмечены их положительные стороны, недостатки и ограничения в практике полевых исследований.

Ключевые слова: фитоиндикация, фитотестирование, флуктуирующая асимметрия, фертильность пыльцы.

Введение

Современный арсенал методов фитоиндикации и фитотестирования отражает значительное количество различных вариантов регистрации реакций растений на изменение условий их обитания. Но если идет речь об «отработке» того или иного метода на новом объекте, о проверке пригодности и точности данного метода в экспресс-оценке состояния среды, исследователь, как правило, сталкивается с рядом осложняющих обстоятельств. В первую очередь, если дело касается не в чистом виде лабораторного эксперимента, а работы, связанной с полевыми данными, адекватной оценке эффективности того или иного метода биоиндикации, как правило, мешают различия более чем в один действующий экологический фактор. При этом реакция растений на конкретной природной или антропогенно нарушенной территории зачастую является неспецифичной и интегральной в отношении большей совокупности экологических условий, складывающихся в понятие «среда обитания».

В связи с этим представляет интерес поиск вариантов сообществ, которые могли бы являться условно модельными для проведения полевых исследований по биоиндикации конкретного вида антропогенного вмешательства, т. е. «стремились бы» к различию в один фактор. Ранее нами была описана попытка оценки изменения состава и структуры растительных сообществ в градиенте рекреационной нагрузки с использованием таких условно модельных территорий [1]. Настоящее исследование посвящено анализу методов регистрации изменений различных показателей у растительных объектов-индикаторов на территориях растительных сообществ, отличающихся по фактору автотранспортной нагрузки.

Район исследования, материал и методы

Исследование было проведено на территории лесного массива площадью 38 га, находящегося в границах г. Обнинска Калужской области. Поскольку целью исследования не подразумевалось изучение закономерностей реакции растений на разную степень действия выбранного антропогенного фактора, а только на его гарантированное присутствие, в качестве условно модельных было обследовано всего два растительных сообщества. Одно сообщество (опытный участок) находилось на удалении 8 м от прямого участка автодороги с интенсивностью потока машин порядка 1030 ± 154 в «час пик» (по результатам пятикратного подсчета автомашин, идущих в обоих направлениях движения с 8 до 9 утра). Другое сообщество (контрольный участок) находилось на удалении около 90 м от первого в глубине лесного массива. Сообщества принадлежали одной растительной ассоциации – сложному березняку. Видовой состав и структура растительности выбранных пробных площадей, заложенных широкими трансектами 10×60 м вдоль автодороги, принципиальных различий между собой не имели. Общее количество видов – 28, вторая стадия рекреационной дигрессии, в древостое доминируют *Betula pendula* Roth. и *B. alba* L., встречаются *Populus tremula* L., *Tilia cordata* Mill., *Acer platanoides* L., *Picea abies* (L.) Karst. В подлеске – *Corylus avellana* L., *Sorbus aucuparia* L. и *Frangula alnus* Mill. Встречается *Euonymus verrucosus* Scop. Общая сомкнутость крон – до 80%. Общее проективное покрытие травянистого яруса – также до 80%, в слоении яруса значительную роль играют травянистые растения, относящиеся к неморальной флоре: *Carex pilosa*



Scop., *Stellaria holostea* L., *Pulmonaria obscura* Dumort. и др. Почва дерново-подзолистая с мощностью гумусового слоя около 7–10 см.

В качестве методов были выбраны: оценка состояния древостоя, определение площади листовой пластинки, определение стабильности развития по изменению индекса флуктуирующей асимметрии (ФА), определение процента фертильных пыльцевых зерен, морфометрия комплекса признаков у хвойных растений, оценка фитотоксичности почвы.

Оценку состояния древостоя производили для всех видов деревьев на учетных территориях с помощью визуальной оценки по пятибалльной шкале, рассчитывали средние значения балла состояния для каждого вида и для всего древесного яруса на обеих учетных территориях [2].

Для расчета индекса флуктуирующей асимметрии (среднего арифметического отношения разности к сумме промеров листа слева и справа, отнесенного к числу признаков) на исследуемых опытном и контрольном участках брали листья из нижней части кроны, обращенной к автодороге, у растений *Betula pendula* и *Acer platanoides* – на высоте около 2 м, а также у *Corylus avellana* – на высоте 1.5 м. В каждом случае брали по 10 листьев с 10 растений одного вида. Расчет индекса ФА для листьев всех растений вели по пяти признакам, измеренным справа и слева [3]: ширина листовой пластинки посередине листа, длина первой и второй жилки, расстояние между первой и второй жилками на уровне отхождения жилок второго порядка, расстояние от верхушки листа до края листа на уровне окончания второй жилки. Измерения проводили при помощи линейки с ценой деления 0,5 мм.

Для листьев *Betula pendula* определяли также площадь листовой пластинки, рассчитывая этот показатель как произведение длины, ширины листовой пластинки и коэффициента, составляющего для берез белой и бородавчатой 0.64 [4]. Полученные ряды значений изменчивости площади листьев березы бородавчатой на двух исследованных участках разбивали на семь классов от самого маленького листа до самого большого с одинаковым шагом между классами. По каждому классу производили определение встречаемости и строили гистограммы.

Для оценки фертильности пыльцы [5] брали по 50 соцветий *Corylus avellana* и 50 цветков *Stellaria holostea* с обеих трансект. Пыльцу стряхивали над предметными стеклами с каплей разведенной водой в пропорции 1:10 аптечной спиртовой настойки йода, выдерживали 3 мин., накрывали покровными стеклами и с помощью видеонасадки на микроскоп при 400-кратном увеличении производили фотографирование полученных препаратов. Опыт проводили в трех повторностях. Обработку данных производили в программе IPWin32. Подсчитывали процент фертильных (нормальных размера, формы и интенсивности окраски) пыльцевых зерен.

Морфометрию комплекса признаков у хвойных проводили для десяти побегов текущего года с пяти примерно одновозрастных деревьев *Picea abies* на каждой трансекте. Оценивали среднюю длину хвоинки, число хвоинок, нормированные к 10 см побега; средние значения длины, диаметра побега и количества боковых побегов; среднее количество, длину и диаметр почек [4]. Длину побега мерили линейкой с ценой деления 0.5 мм, измерения длины и диаметра остальных структур производили с помощью штангенциркуля (цена деления 0.1 мм).

Оценку фитотоксичности почвы производили с помощью стандартного тест-объекта – семян кресс-салата (*Lepidium sativum*), которые раскладывали в количестве 50 штук на сантиметровом слое почвы в чашках Петри, смоченном до насыщения отстоянной водопроводной водой. Пробы почвы брали на глубину до 10 см (только гумусовый слой, без A_0) методом конверта из трех точек с каждой из двух трансект. Наблюдения за развитием проростков проводили при комнатной температуре в течение пяти суток, не допуская подсыхания почвы, строили кривые всхожести [6, 7].

Статистическую обработку данных производили в программе Excel 2003, в качестве отклонения от средних значений учитывали доверительный интервал. Графики строили в программе SigmaPlot 2000.

Результаты и их обсуждение

Обобщенные результаты исследования приведены в табл. Для удобства восприятия данные в графе «Признак» расположены в последовательности упоминания методов исследования в тексте.

Древостой на территории исследованных участков в среднем относится к 1–2 классу состояния. Как в глубине леса, так и вблизи автодороги встречаются как совершенно здоровые деревья, так и деревья различных пород с морозобойными трещинами, пораженные трутовиками, с подсыхающими ветвями и т. п. Четких различий в состоянии деревьев на обеих территориях не выявлено ни для одной породы (березы белая и бородавчатая, осина, клен, липа, ель).



Таблица

**Результаты фитоиндикации и фитотестирования автотранспортной нагрузки
с помощью различных методов и видов растений**

| Растения | Признаки | Опытный участок | Контрольный участок |
|---------------------------|--|-----------------|---------------------|
| Все виды древостоя | Коэффициент состояния древостоя | 1.7±0.3 | 1.6±0.4 |
| <i>Betula pendula</i> | Средняя площадь листа березы, см ² | 1.8±2.8 | 15.6±2.5 |
| | Индекс ФА | 0.56*±0.006 | 0.039±0.006 |
| <i>Acer platanoides</i> | Индекс ФА | 0.057*±0.006 | 0.043±0.007 |
| <i>Corylus avellana</i> | Индекс ФА | 0.079±0.011 | 0.086±0.012 |
| | Фертильность пыльцы, % | 4.3*±1.1 | 1.0±0.2 |
| <i>Stellaria holostea</i> | Фертильность пыльцы, % | 13.5*±4.9 | 2.7±1.2 |
| <i>Picea abies</i> | Средняя длина хвоинки побега ели, мм | 9.4*±0.6 | 11.8±0.9 |
| | Среднее число хвоинок на 10 см побега, шт. | 204.0*±5.6 | 181.1±9.2 |
| | Средняя длина побега ели, см | 9.8±0.9 | 11.4±1.2 |
| | Средняя толщина побега ели, мм | 1.6±0.2 | 1.4±1.1 |
| | Количество боковых побегов, шт. | 2.7±0.6 | 2.9±0.5 |
| | Количество почек, шт. | 3.5±0.8 | 4.7±0.7 |
| | Длина почек, мм | 3.6±0.3 | 3.3±0.4 |
| | Диаметр почек, мм | 2.0±0.3 | 2.0±0.2 |
| <i>Lepidium sativum</i> | Всхожесть семян на почвенных пробах (на 5 сутки исследования), % | 85.8*±2.4 | 97.6±3.2 |

* – статистически значимое отличие от контроля ($p < 0.05$)

Фотосинтез, протекающий в листьях, является главным физиологическим показателем, по которому можно судить о норме реакции на различные условия внешней среды. Одним из индикаторов интенсивности фотосинтеза является площадь листовой пластинки. Ее размер находится в сильной зависимости от освещенности, поэтому при измерении данного параметра следует не только собирать листья с одной по отношению к сторонам света части кроны у разных деревьев (в нашем случае пробоотбор листьев был осуществлен с юго-восточной части крон, обращенной к автодороге). Для адекватности сопоставления результатов важно также учитывать влияющее на освещенность ближайшее окружение каждого из обследуемых растений и (по возможности) каждого отобранного его листа. При соблюдении этих требований общий вид полученных в итоге гистограмм, отражающих встречаемость разных размерных классов листьев, имеет интересные особенности (рис. 1). При этом указанные ранее (см. табл.) средние значения величины листовой пластинки у березы на контрольном и опытном участке статистически значимо не различаются между собой.

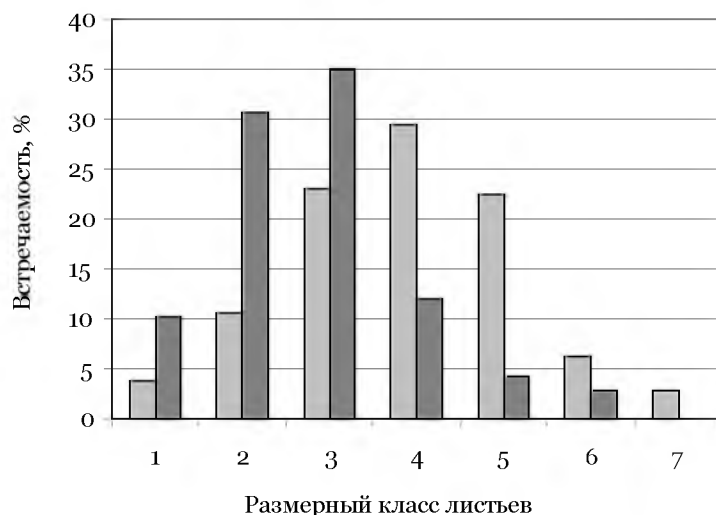


Рис. 1. Вариационные гистограммы встречаемости листьев разных размерных классов на контрольном участке (светло-серый цвет) и вблизи автодороги (темно-серый цвет)

На рисунке 1 видно, что на контрольном участке частотное распределение размерных классов листьев напоминает кривую Гаусса, следовательно, близко к нормальному. В то же время на опытном участке наблюдается тенденция к смещению максимального процента



встречаемости в сторону листьев более мелких размеров. Это свидетельствует о снижении интенсивности процесса фотосинтеза на территории, подверженной автотранспортной нагрузке по сравнению с контролем.

Данный метод довольно прост в исполнении и может быть реализован в полевых условиях. Но расчет площади листовой пластинки по двум ее линейным размерам и коэффициенту, несмотря на свою экспрессность, не может быть точным. В качестве более надежного варианта расчета этого параметра можно рекомендовать программную обработку отсканированных изображений листьев, например, с использованием программы IPWin32.

Одним из наиболее интегральных и часто применяемых на практике биоиндикаторов негативных изменений среды обитания является показатель стабильности развития, оцениваемый по степени асимметрии билатерально симметричных структур, в частности – листьев у растений. Расчет показателя ФА показал статистически значимые различия у листьев березы бородавчатой, взятых около дороги и на удалении от нее. Чуть большая вариативность в контроле, но все-таки близкие и также статистически различающиеся между собой значения индекса ФА были получены для клена остролистного. Следует отметить, что в силу своей величины листовая пластинка у клена оказывается менее удобной для проведения измерений, чем листья березы. И это связано не только с большими линейными размерами, исключающими измерение «на коленке» в полевых условиях, но и с тем, что особо крупные листья клена не всегда являются плоскими, что вынуждает исследователя ограничивать свой выбор листьями средних и мелких размеров и снижает объективность исследования. Кроме указанной особенности для клена можно отметить еще и то, что, в отличие от березы [3], для него пока не разработана система нормирования индекса ФА к классам качества среды.

Листья лещины обыкновенной, по всей видимости, либо не подходят для биоиндикации в силу значительных природных отклонений от строгой билатеральной симметрии, о чем свидетельствуют высокие значения индекса ФА и величины доверительного интервала в контроле, либо лещина (при своей большей по сравнению с другими видами асимметричности) является устойчивым видом к данной величине автотранспортной нагрузки. Возможно асимметричность листовой пластинки у лещины статистически значимо усиливается при более серьезном нарушении среды обитания. Данные предположения, конечно, представляют определенный интерес и нуждаются в уточнении, но для экспресс-оценки состояния территории и многолетних мониторинговых исследований показатель ФА листьев лещины, скорее всего, не подходит.

В отличие от показателя асимметрии листовой пластинки, другой показатель – процент фертильных, т. е. жизнеспособных пыльцевых зерен у лещины является довольно стабильным в контроле и чувствительным к антропогенному нарушению среды параметром. Колеблясь около одного процента на участке в глубине леса, этот показатель при данном уровне автотранспортной нагрузки статистически значимо возрастает в несколько раз.

Сходную картину зависимости количества жизнеспособной пыльцы от удаленности от автодороги продемонстрировало также растение нижнего яруса обследованных участков – звездчатка жестколистная.

Определение процента фертильных пыльцевых зерен – довольно быстрая по времени камеральная методика при наличии необходимого лабораторного оборудования, технического и программного обеспечения процесса. (Визуальный подсчет пыльцевых зерен при обычном микроскопировании, конечно, возможен, но долог и утомителен для зрения.) Однако исследуемый материал (соцветия и цветки растений) быстро портится, поэтому желательно проведение исследования в день пробоотбора. Несмотря на эти сложности, данный метод можно рекомендовать как достаточно надежный и чувствительный.

Известно, что на загрязнение среды наиболее сильно реагируют хвойные древесные растения. Характерными признаками неблагополучия окружающей среды и особенно газового состава атмосферы служат появление разного рода хлорозов и некрозов, уменьшение размеров органов (длины хвои, побегов текущего года и прошлых лет, их толщины, размера шишек, сокращение величины и числа заложенных почек). Последнее является предпосылкой уменьшения ветвления. В представленном исследовании выбранный объект – ель европейская – продемонстрировал довольно высокую вариабельность большинства исследованных признаков на контрольной территории. На опытном участке достоверно отличаются от контроля лишь средняя длина хвоинки у побегов текущего года и количество хвоинок на единице длины побега, оказывающееся выше из-за более медленного роста основного побега на антропогенно измененных территориях.

Статистическая недостоверность различий между опытом и контролем в данном случае, вероятно, объясняется небольшой выборкой (елей сходного возраста на территориях было не так много) и, как и в случае с показателем величины площади листовой пластинки, сильной



зависимостью большинства морфометрических параметров у хвойных от микроэкологических условий, в частности, – от освещенности.

Кроме методов фитоиндикации, связанных с проведением полевых и камеральных работ, для оценки качества среды модельных растительных сообществ была применена методика фитотестирования – проверка фитотоксичности почвы по изменению всхожести семян кресс-салата. Статистически значимо отличающиеся между собой данные по среднему проценту всхожести кресс-салата на почвенных пробах в контроле и опыте представлены ранее (см. табл.), а кривые, отражающие динамику развития проростков, – на рис. 2.

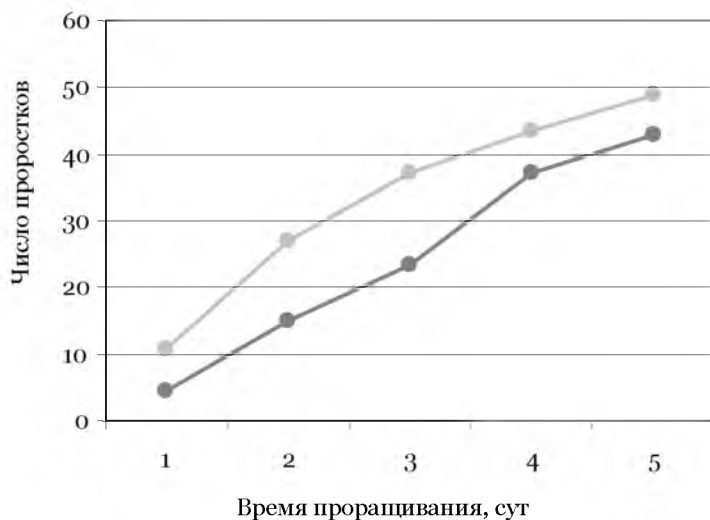


Рис. 2. Динамика роста проростков на почвенных пробах с контрольного (светло-серая кривая) и опытного участков растительного сообщества (темно-серая кривая)

Как видно на графиках, с первых суток проращивания становится заметным отставание в скорости прорастания у растений на пробах почвы, взятых на расстоянии около 10 м от автодороги. В то же время в контроле проростки демонстрируют почти стопроцентную всхожесть на первые сутки исследования. Данный метод оценки антропогенного изменения среды, конечно же, можно считать надежным, но он не всегда работает в том случае, если почвенные пробы различаются по механическому составу, количеству органики и пр., что встречается повсеместно, когда речь идет об удаленных друг от друга точках пробоотбора. В нашем случае почвенные характеристики всех проб были очень похожими, и можно было говорить о различии между опытом и контролем в один фактор.

Заключение

Таким образом, на примере модельных растительных сообществ с условным различием по одному действующему экологическому фактору была продемонстрирована эффективность нескольких доступных в научной и учебно-исследовательской работе методов фитоиндикации и фитотестирования. К перспективным методам и объектам исследования можно отнести оценку состояния среды с помощью расчета индекса флуктуирующей асимметрии у березы бородавчатой и чуть в меньшей степени клена остролистного. Применение же данного метода на листьях лещины обыкновенной приведет, скорее всего, к невразумительным результатам.

Более чувствительной по сравнению с ФА методикой можно считать определение показателя фертильности пыльцевых зерен у цветковых растений на антропогенно нагруженных территориях по сравнению с контролем. (Подобный вывод был сделан нами ранее в работе с *Trifolium repens* [8].)

Среди морфометрических признаков хвойных растений для экспресс-оценки качества среды можно рекомендовать работающие на небольшой выборке показатели – длину хвоинок и количество их на единице побега.

В адекватной оценке качества среды при работе с тест-системами, в нашем случае – с прораставшими на почве семенами кресс-салата, решающее значение имеет сходство почвенных проб. При значительных различиях возможным альтернативным вариантом решения проблемы стандартизации проб может стать исследование с помощью растительных тест-объектов фитотоксичности не почвы, а талой воды из снежных кернов с исследуемых территорий.



Список литературы

1. Анализ изменения состава и структуры лесных растительных ассоциаций в градиенте рекреационной нагрузки / Т.А. Горшкова, Е.С. Хукаленко, Н.Н. Павлова и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2012. – № 3 (122). – Вып. 18. – С. 105–114.
2. Экологический мониторинг: Учебно-методическое пособие. / Под ред. Т.Я. Ашихминой. – М.: Академический Проект, 2005. – С. 91–94.
3. Здоровье среды / А.Б. Стрельцов, Е.Л. Константинов, В.М. Захаров и др. – Калуга: Изд-во КГПУ им. К.Э. Циолковского, 2006. – 40 с.
4. Федорова А.И., Никольская А.Н. Практикум по экологии и охране окружающей среды: учеб. пособие для студ. вузов. М.: ВЛАДОС, 2001. – 288 с.
5. Бессонова В.Н. Состояние пыльцы как показатель загрязнения среды тяжелыми металлами // Экология. – 1992. – № 3. – С. 45–50.
6. 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 15.10.08. URL: <http://www.kgau.ru>
7. Мелехова О.П., Егорова Е.И., Евсеева Т.И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. – М.: Издательский центр «Академия», 2007. – 288 с.
8. Горшкова Т.А. Оценка возможности использования клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) для биоиндикации антропогенного нарушения среды // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т. 14. – № 1 (1). – С. 69–73.

ANALYSIS OF PHYTOINDICATION AND PHYTOTESTING METHODS OF ANTHROPOGENIC ENVIRONMENTAL VIOLATION BY WAY OF PLANT COMMUNITIES EXAMPLE

**T.A. Gorshkova, E.S. Makarenko,
E.A. Kazakova, N.V. Amosova,
N.N. Pavlova, Y.M. Martirosyan**

*Obninsk Institute of Atomic Energy of
National Research Nuclear University
«MIFI», Studgorodok, 1, Obninsk,
249035, Russia*

E-mail: tgorshkova@yandex.ru

On the territory of two model woods differing in one conventional environmental factor phytoindication and phytotesting research has been carried out using various vegetable display objects in three core tiers of forest plant community. The results of the work are analyzed by six chosen methods most commonly used in biological monitoring, their advantages, shortcomings and limitations in field research practice recorded.

Keywords: phytoindication, phytotesting, fluctuating asymmetry, pollen fertility.