

УДК 574.21

**Кузнецова Е.А., Челпанова О.М., Белова Е.Е.,  
Хотулёва О.В., Колонцов А.А.**  
(г. Орехово-Зуево)

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИОНОВ КАДМИЯ  
НА ФЛУКТУИРУЮЩУЮ АСИММЕТРИЮ ЛИСТЬЕВ  
ОГУРЦА ПОСЕВНОГО (*CUCUMIS SATIVUS* L.)

*Аннотация.* В работе произведена оценка воздействия ионов кадмия на флуктуирующую асимметрию мерного и метрических параметров листьев огурца посевного (*Cucumis sativus* L.). В качестве мерного параметра использовали число жилок третьего порядка, отходящих слева и справа от жилки второго порядка настоящего листа, соединяющей черешок и верхушку листа. Метрическими параметрами служили площадь левой и правой половины настоящего листа и длина семядольных листьев. У растений, выращенных в почве, содержащей 5 ориентировочно допустимых концентраций кадмия (10 мг Cd/kg), флуктуирующая асимметрия мерного параметра достоверно превышала флуктуирующую асимметрию этого же параметра у контрольных растений. Не обнаружено влияния ионов кадмия на оцененные метрические параметры семядольных и настоящих листьев огурца.

*Ключевые слова:* флуктуирующая асимметрия, огурец посевной, кадмий.

**E. Kuznetsova, O. Chelpanova, E. Belova,  
O. Khotuljova, A. Kolontsov**  
(Orekhovo-Zuevo)

THE CADMIUM IONS IMPACT ON FLUCTUATING ASYMMETRY  
OF CUCUMBER SEEDLINGS LEAVES (*CUCUMIS SATIVUS* L.)

*Abstract.* The articles presents the results of assessment of the cadmium ions impact on fluctuating asymmetry of measuring and metrical parameters of cucumber seedlings leaves. The measuring parameter was the amount of left and right third order nerves, directed to the right and left from the second order nerve of a true leaf which connects the footstalk and the top of the leaf. The metrical parameter was the area of the left and right halves of a true leaf and the length of cotyledonous leaves. The plants grown in soil containing 5 acceptable concentrations of cadmium (10 mg Cd/kg) the fluctuating asymmetry of measuring parameter significantly exceeded the same parameter of control plants fluctuating asymmetry. The influence of cadmium on the measuring parameters of cotyledonous and true cucumber leaves was not found.

*Key words:* fluctuating asymmetry, cucumber seedlings, cadmium.

Под флуктуирующей асимметрией понимают незначительные и случайные (ненаправленные) отклонения морфологических признаков от идеальной билатеральной (двусторонней, зеркальной) симметрии [12]. Флуктуирующая асимметрия характеризуется нормальным распределением различий вокруг нуля между левой и правой сторонами, причем числовые значения этих различий берутся с учетом знака. Флуктуирующую асимметрию рассматривают в качестве показателя нестабильности развития. Нестабильность развития является следствием взаимодействия шумов развития (случайных событий в процессе развития, связанных с гибелью клеток, неодинаковой скоростью их деления, разных скоростей метаболизма) и стабильностью развития. В свою очередь, стабильность развития заключается в способности организмов точно следовать программе, заложенной в генотипе для данных условий среды, и противостоять генетическим нарушениям и воздействиям окружающей среды во время развития для формирования оптимального фенотипа. Концепция использования флуктуирующей асимметрии как экологического индикатора качества окружающей среды основана на представлении о том, что при стрессе, вызванном факторами окружающей среды, показатели флуктуирующей асимметрии должны увеличиваться [1].

При использовании флуктуирующей асимметрии для оценки качества среды следует учитывать, что разные параметры одного и того же объекта могут неодинаково реагировать на экологические факторы. Кроме того, отсутствие изменений флуктуирующей асимметрии не всегда свидетельствует об отсутствии стресса [5]. Существуют виды [*Betula pubescens* ssp. *czerepanovii* (N.I. Orlova) Hamet-Ahti; *Salix borealis* (Fries) Nas.], для которых асимметрия не возрастает даже при очень высоких уровнях промышленного загрязнения [15; 18]. Помимо антропогенных воздействий, на флуктуирующую асимметрию может влиять и климатический фактор [10; 15]. В целом вопрос о конкретных механизмах и факторах, влияющих на показатели флуктуирующей асимметрии тех или иных организмов, остается неясным. Объекты, специфически реагирующие на определенные антропогенные воздействия изменением показателей флуктуирующей асимметрии, могут оказаться полезными для экологического мониторинга. В данной работе оценено воздействие ионов кадмия на флуктуирующую асимметрию листьев огурца посевного (*Cucumis sativus* L.).

## Материалы и методы

Семена огурца посевного высаживали в емкости объемом 1 л, содержащие 300 г торфяного питательного грунта, производимого из торфа с добавлением песка, известковых материалов и минеральных макро- и микроудобрений. Содержание основных питательных элементов в почве составляло не менее 150 мг/л азота ( $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$ ), 250 мг/л фосфора ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ), 250 мг/л калия ( $\text{K}_2\text{O}$ ). Массовая доля влаги не превышала 65%; pH солевой вытяжки находился в диапазоне 5,5–6,5. Для контроля и опыта использовали по 12 растений. При оценке влияния ионов свинца в емкости с опытными растениями вносили водный раствор  $3\text{CdSO}_4 \cdot 48\text{H}_2\text{O}$  (0,23 мг/мл) до конечной концентрации по элементу 10 мг Cd/кг почвы. Растения выращивали в комнатных условиях в течение 40–50 дней. Для оценки флуктуирующей асимметрии листьев огурца определяли площади левой и правой половины настоящих листьев; число жилок третьего порядка, отходящих слева и справа от жилки второго порядка настоящего листа, соединяющей черешок и верхушку листа; длину жилок семядольных листьев. Статистическую обработку результатов проводили, основываясь на ранее предложенной схеме [2]. Схема включала в себя проверку данных на нормальность распределения величин разницы между левым и правым измерениями параметра, на присутствие направленной асимметрии и антисимметрии, на зависимость величины асимметрии признака от его размера, оценку ошибки измерения двухфакторным дисперсионным анализом и сравнение флуктуирующей асимметрии разных объектов однофакторным дисперсионным анализом.

## Результаты

Тест Колмогорова-Смирнова и анализ асимметрии и эксцесса показал, что распределение для вариантов (**L-R**), представляющих собой разницу между числом жилок третьего порядка, отходящих слева и справа от жилки второго порядка настоящего листа, соединяющей черешок и верхушку листа левой и правой жилок, соответствует нормальному распределению. И в опыте, и в контроле нет направленной асимметрии и антисимметрии, судя по анализу асимметрии и эксцесса. t-тест показал отсутствие направленной асимметрии в контроле, и ее присутствие в опыте. Таким образом, выбранный мерный признак листьев огурца соответствует характеристикам идеальной флуктуирующей асимметрии. Поскольку тест Спирмена и Кендалла, оценивающий зависимость величины асимметрии признака от его размера, дал отри-

цательный результат, то в качестве индекса флуктуирующей асимметрии был выбран  $F_1 = |L-R|$ .

Аналогичные результаты были получены при обработке данных для метрических признаков – площади левой и правой половины настоящего листа и длины семядольных листьев. Единственное отличие заключалось в том, что и в опыте, и в контроле, судя по данным t-теста, не обнаружено направленной асимметрии. Для метрических признаков ошибка измерения, оцененная двухфакторным дисперсионным анализом [«сторона» (фиксированная переменная) Ч «объект» (случайная переменная)], показала, что для всех групп объектов (опыт, контроль) различия между сторонами значимо больше, чем различия между сторонами из-за ошибки измерения.

Для оценки различий по флуктуирующей асимметрии листьев огурца, выращенного в присутствии ионов кадмия, и листьев контрольных растений использовали однофакторный дисперсионный анализ при разной численности вариант в группах. Результаты представлены в табл. 1 и табл. 2.

Таблица 1

Дисперсионный анализ данных о влиянии ионов кадмия на флуктуирующую асимметрию числа жилок третьего порядка, отходящих слева и справа от жилки второго порядка, соединяющей черешок и верхушку настоящего листа огурца посевного

Источник варьирования	ss	df	ms=ss/df	Fфактическое	Fтабличное	
					P=0,05	P=0,01
Общее	14	29				
Фактор А (кадмий)	2	1	2	2/0.43 = 4.65	4,20	7,64
Случайные отклонения	12	28	0.43			

Таблица 2

**Дисперсионный анализ данных о влиянии ионов кадмия  
на асимметрию площади половины листа огурца посевного**

Источник варьирования	ss	df	ms=ss/df	Fфактическое	Fтабличное	
					P=0,05	P=0,01
Общее	56 837	29				
Фактор А (кадмий)	730	1	730	$730/2004 = 0,36$	4,20	7,64
Случайные отклонения	56 107	28	2004			

Средние показатели флуктуирующей асимметрии для числа жилок третьего порядка, отходящих слева и справа от жилки второго порядка настоящего листа, соединяющей черешок и верхушку листа, значимо различались (для  $p=0,05$ ) и составляли 1,25 и 0,71 соответственно для опыта и контроля. Значения флуктуирующей асимметрии для площади левой и правой половины настоящего листа были выше в контроле по сравнению с опытом и составляли соответственно 63,14 и 53,24. Однако по данным дисперсионного анализа эти различия оказались статистически незначимыми. Аналогично не обнаружено различий в показателях флуктуирующей асимметрии для длины семядольных листьев. Таким образом, выращивание огурца посевного в почве, содержащей 5 ориентировочно допустимых концентраций кадмия, увеличивает флуктуирующую асимметрию мерного признака и не влияет на флуктуирующую асимметрию оцененных метрических параметров.

Контрольные растения и растения, выращенные в присутствии ионов кадмия, также не различались по всхожести семян и темпам развития. Однако у растений, выращенных в присутствии кадмия, отмечено развитие складчатости (гофрированности) листьев. При расположении на ровной поверхности плоские листья контрольных растений заметно отличались от волнистых листьев опытных растений. Кроме того, у растений, выращенных в присутствии кадмия, наблюдали деформации, вызванные образованием между жилками вздутый, создающих впечатление складок.

## Обсуждение

Для оценки уровня антропогенного давления на окружающую среду используют экологический мониторинг, одно из направлений которого заключается в оценке реакции живых организмов на антропогенное воздействие в той или иной среде обитания. При определении антропогенного стресса нередко используют метод измерения флуктуирующей асимметрии, и в частности, флуктуирующей асимметрии растений. Однако флуктуирующая асимметрия не всегда коррелирует со стрессом и состоянием окружающей среды. До сих пор остается неясным вопрос о конкретных механизмах и факторах, влияющих на показатели флуктуирующей асимметрии тех или иных организмов. Одно из решений проблемы заключается в поиске факторов, однозначно изменяющих показатели флуктуирующей асимметрии у конкретных видов растений. Такие растения можно было бы использовать в качестве специфических индикаторов на отдельные антропогенные загрязнители.

В данной работе оценивали влияние загрязнения почвы ионами кадмия на показатели флуктуирующей асимметрии трех параметров листьев огурца посевного. В отличие от значений флуктуирующей асимметрии площадей левой и правой половины настоящего листа и длины семядольных листьев, значение флуктуирующей асимметрии числа жилок третьего порядка, отходящих слева и справа от жилки второго порядка настоящего листа, у опытных растений значительно превышало таковое у контрольных растений. Кроме того, для этого показателя наблюдали переход к направленной асимметрии у растений, выращенных в присутствии кадмия. Направленная асимметрия, в отличие от флуктуирующей асимметрии и антисимметрии, наблюдается тогда, когда структура или признак развиты на одной определенной стороне больше, чем на другой. В этом случае для величин различий между левой и правой сторонами характерно нормальное распределение вокруг среднего значения, отличного от нуля. При антисимметрии частоты величин различий между левой и правой сторонами дают бимодальное распределение вокруг нуля [16]. Переход между флуктуирующей асимметрией и направленной или антисимметрией можно математически моделировать, и все три вида асимметрии динамически связаны между собой [7]. Показано, что холодовой стресс вызывает сдвиг от унимодального распределения к бимодальному распределению частот стерноплевральных щетинок на левой и правой стороне тела *Drosophila melanogaster* [13], то есть стресс приводит к появлению (или увеличению) антисимметрии признака. Для того же самого признака наблюдали

переход от флуктуирующей асимметрии к направленной асимметрии в ответ на воздействие высоких концентраций бензола [8]. Таким образом, оцененный в данной работе мерный признак реагировал на загрязнение почвы кадмием не только увеличением значения асимметрии, но и переходом к другому типу асимметрии.

Кадмий может вызывать ингибирование роста огурца посевного [4; 14], ингибирование роста корней [4; 17], снижать содержание каротиноидов, хлорофилла и вызывать хлороз [11; 14], увеличивать активность  $H^+$ -АТФ-азы плазматических мембран и концентрацию белков теплового шока в тканях [9]. Наблюдаемые эффекты зависят от условий выращивания и используемых концентраций ионов кадмия. В данной работе не обнаружено воздействия кадмия на всхожесть семян и темпы роста растений. Однако морфология листьев огурца, выращенного в присутствии кадмия, отличалась от морфологии листьев контрольных растений. Другие тяжелые металлы также могут вызывать изменения листьев огурца. Так, выращивание растений в присутствии ионов меди приводило к уменьшению площади листьев при неизменном весе [3]. При выращивании в присутствии свинца листовые пластинки были тоньше, чем в контроле, а клетки эпидермиса были обеднены кутином [6]. В случае применения кадмия деформация выражалась в развитии складчатости листьев. Неясно, является ли складчатость листьев огурца высокоспецифичным показателем кадмиевого загрязнения почвы, поскольку у других растений этот признак может появляться по разным причинам. Так, гофрированность листьев является нормальным признаком одного из сортов малины (сорт Калининградская); вызывается недостатком цинка у плодовых и декоративных деревьев и кустарников; является следствием поражения бахчевыми тлями и у лука — стеблевой нематодой, а также одним из симптомов вироза картофеля.

## Выводы

Показатели флуктуирующей асимметрии листьев огурца посевного, определенные на основании измерения числа жилок третьего порядка у растений, выращенных в почве, содержащей ориентировочно допустимые концентрации кадмия, значимо превышали показатели флуктуирующей асимметрии у растений, выращенных в почве, не содержащей избыточных концентраций этого металла. Данный параметр можно рассматривать потенциальным специфическим индикатором кадмиевого загрязнения почвы. Выращивание огурца в присутствии

кадмия не влияло на флуктуирующую асимметрию выбранных метрических признаков – площади левой и правой половины настоящего листа и длину семядольных листьев. Контрольные и опытные растения также не различались на ювенильной стадии развития. У растений, выращенных в почве, загрязненной кадмием, развивается деформация листьев, проявляющаяся в их складчатости.

#### Литература

1. *Захаров В.М.* Здоровье среды: методика оценки / Захаров В.М. и др. – М.: Центр экологической политики России, 2000. – 68 с.
2. *Колонцов А.А.* Схема статистической обработки результатов измерений флуктуирующей асимметрии на примере клевера ползучего (*Trifolium repens* L.), выращенного в почве, загрязненной ионами свинца / Колонцов А.А., Савельева Н.А., Белова Е.Е. // Вестник МГОИ. – 2012. – № 1. – С. 8–13.
3. *Alaoui-Sossel B.* Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents / Alaoui-Sossel B. et al. // Plant Science – 2004. – V. 166 – P. 1213–1218.
4. *An Y.J.* Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants // Environ Pollut. – 2004. – V. 127, № 1. – P. 21–26.
5. *Anne P.* Is fluctuating asymmetry a reliable biomonitor of stress? A test using life history parameters in soybean / Anne P. et al. // Int. J. Plant Sci. – 1998. – Vol. 159. – P. 559–565.
6. *Chwil M.* The influence of lead on structure of *Cucumis sativus* L. leaves // Folia horticulturae – 2005. – V.17: № 2. – P. 11–22.
7. *Graham J.H.* Antisymmetry, directional asymmetry, and dynamic morphogenesis / Graham J. H., Freeman D. C., Emlen J. // Genetica. – 1993. – V. 89. – P. 121–137.
8. *Graham J. H.* Effects of lead and benzene on the developmental stability of *Drosophila melanogaster* / Graham J. H., Roe K.E., West T. B. // Ecotoxicology. – 1993. – V. 2. – P. 185–195.
9. *Janicka-Russak M.* Different effect of cadmium and copper on H<sup>+</sup>-ATPase activity in plasma membrane vesicles from *Cucumis sativus* roots / Janicka-Russak M., Kabaia K., Burzycki M. // J. Exp. Bot. – 2012. – V. 63. – №11. – P. 4133–4142.
10. *Kozlov M.V., Niemelä P.* Drought is more stressful for northern populations of Scots pine than low summer temperatures // Silva Fennica. – 2003. – V. 37. – № 2. – P. 175–180.
12. *Palmer A.R.* Fluctuating asymmetry analyses revisited / Palmer A.R., Strobeck C. // Developmental Instability (DI): Causes and Consequences / ed. M. Polak. – Oxford.: Oxford University Press, 2003. – P. 279–319.
11. *Moreno-Caselles J.* Cadmium accumulation and distribution in cucumber plant / Moreno Caselles J. et al. // Journal of Plant Nutrition – 2000. – V. 23, № 2. – P. 243–250.
13. *Petavy G.* Phenotypic and genetic variability of sternopleural bristle number in *Drosophila melanogaster* under daily thermal stress: developmental instability and anti-asymmetry / Petavy G. et al. // Evolutionary Ecology Research. – 2006. – V. 8. – P. 149–167.



14. *Tartoura K.A.H., Youssef S.A.G.* Effect of compost on the antioxidant defense systems of cucumber (*Cucumis sativus* L.) against cadmium toxicity // *Annals of Agricultural Science (Cairo)*. – 2010. – V. 55. – № 2. – P. 191–203.

15. *Valkama J., Kozlov M.V.* Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area // *J. of Appl. Ecol.* – 2001. – Vol. 38. – P. 665–673.

16. *Van Valen L.* A study of fluctuating asymmetry / Van Valen L. // *Evolution* – 1962. – V. 16. – P. 125–142.

17. *Zhang Y.* Influences of heavy metal cadmium alone and in combination with zinc on the growth and activities of antioxidant enzymes of *Cucumis sativus* hairy roots / Zhang Y. et al. // *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. – 2009. – V. 25, № 1. – P. 60–68.

18. *Zvereva E.L.* Stress responses of *Salix borealis* to pollution and defoliation / E. L. Zvereva, M.V. Kozlov, E. Haukioja // *J. of Appl. Ecol.* – 1997. – Vol. 34. – P. 1387–1396.