ISSN 1816-9643

ВОПРОСЫ РАДИАЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ 2007 № 1

ЖУРНАЛ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ "МАЯК"

УДК 574.21:575.2
© 2007

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЧИВОСТИ РАЗМЕРОВ И ФОРМЫ ТЕЛА РЕЧНОГО ОКУНЯ (*PERCA FLUVIATILIS* L.) В КОНТРОЛЬНЫХ И ИМПАКТНЫХ ВОДОЕМАХ БАССЕЙНА р. ТЕЧА МЕТОДАМИ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

А.Г. Васильев, В.Ю. Баранов, М.В. Чибиряк
Россия, г. Екатеринбург, Институт экологии растений и животных УрО РАН
А.И. Смагин
Россия, г. Озерск, ФГУП "ПО "Маяк"

На основе многомерных методов геометрической морфометрии по 30 гомологичным меткам (landmarks) изучена изменчивость формы тела речного окуня в контрольных, а также импактной популяциях, обитающих в условиях хронического радиоактивного облучения в водоемах верховьев р. Теча. Форма тела окуней из популяции Теченского каскада водохранилищ, подверженных длительному (около 50 лет) радиоактивному воздействию, и из контрольных водоемов существенно различается, и эти различия коррелируют с градиентом удельной активности ^{90}Sr и ^{137}Cs в тканях рыб. Окуни из импактной теченской популяции отличаются от большинства контрольных группировок замедленным ростом и характерными пропорциями тела. Для них типичны относительно крупные голова, жаберная крышка и челюсть, а также более высокое тело с укороченным хвостовым отделом, что наблюдается у рыб, являющихся маневренными хищниками. Установлено, что размах изменчивости формы тела окуня в условиях хронического облучения более чем в два раза меньше изменчивости, связанной с гидрохимическими особенностями водной среды (минерализация водоемов). Более 57 % дисперсии межгрупповых морфогенетических различий окуней связано с обитанием рыб в водоемах, отличающихся разной степенью минерализации воды, тогда как 25 % дисперсии можно связать с обитанием в условиях хронического облучения разной интенсивности в системе водохранилищ р. Теча.

Проблема возникновения адаптивных морфогенетических изменений популяций в условиях хронического радиоактивного внешнего и внутреннего облучения чрезвычайно актуальна и по-прежнему далека от своего решения [1]. Ранее нами было показано, что в популяциях двух модельных видов грызунов на импактной территории (по оси Восточно-Уральского радиоактивного следа – ВУРСа) устойчиво проявляется повышенное морфологическое разнообразие, обусловленное увеличением доли мелких морфогенетических аберраций и уродств в строении черепа [2, 3]. В южной и северной частях ВУРСа на участках с исходной плотностью радиоактивного загрязнения, соответственно, 18,5 и 0,15 МБк/м^2 (500 и 4 Ки/км^2) по ^{90}Sr выявлено однонаправленное уклонение импактных выборок от контрольных, расположенных за пределами ВУРСа, по встречаемости фенов определенных неметрических признаков черепа, что косвенно указывает на адаптивный характер таких преобразований [3, 4]. Предполагается, что эти эффекты связаны с хроническим облучением популяций животных в малых дозах и аккумуляцией мелких эпигенетических аберраций индивидуального развития, приводящих к проявлению повышенного количества характерных фенотипических отклонений в зоне ВУРС.

Нарушения морфогенеза при хроническом облучении могут возникать не только из-за многочисленных непосредственных повреждений генома, но и из-за повышенного общего уровня репаративных процессов, что может влиять на эпигенетическую систему и приводить к "переключению" морфогенетических программ. Дальнейший отбор таких морфозов может приводить к фиксации в популяции соответствующих адаптивных уклонений развития. Следует при этом четко различать модификационные обратимые изменения эпигенетической системы, носящие характер временных акклимаций на уровне онтогенетических процессов и необратимые адаптивные преобразования, то есть селективную фиксацию данных особенностей развития на уровне популяции. Поэтому представляет интерес оценить на модельных видах позвоночных животных, в какой степени хроническое облучение природных популяций влияет на протекание морфогенеза в градиенте интенсивности воздействия, и каково направление фенотипических изменений при длительном воздействии радиации.

Можно предполагать, что при избыточном уровне репаративных процессов часть онтогенетических ресурсов и времени должна быть затрачена, что может приводить к недоразвитию или неодинаковой скорости развития отдельных частей тела, а, следовательно, к изменению его пропорций. С другой стороны, не исключено, что постоянные репаративные процессы могут, напротив, привести к общему ускорению и пролонгации процессов роста и развития, что, например, проявляется в случаях гормезиса. Это также должно приводить к аллометрическим изменениям. Сложность практического решения данной проблемы во многом обусловлена тем, что традиционно затруднительно отделить друг от друга компоненты изменчивости размеров и формы, т.е. ростовые и морфогенетические составляющие изменчивости.

В последнее время появились новые методы геометрической морфометрии, позволяющие исключить размерную компоненту изменчивости и многомерно анализировать изменения формы (пропорций) биологических объектов [5–10]. Поэтому возникает реальная возможность приблизиться к решению указанной выше проблемы, применив методы геометрической морфометрии для оценки вероятных ростовых и отдельно морфогенетических изменений у животных, популяции которых длительно обитают в условиях радиоактивного облучения.

Среди позвоночных животных морфогенетически наиболее пластичными и изменчивыми, по-видимому, являются рыбы [11–13]. По этой причине в качестве модельного вида для попытки решения данной проблемы выбран речной окунь (*Perca fluviatilis* L.), популяции которого обитают в загрязненных радионуклидами водохранилищах р. Течи (импактные группировки) и в ближайших озерах, где воздействие радиационных и других антропогенных факторов в тысячи раз ниже либо практически отсутствует (контрольные группы).

В этой связи цель данной работы состояла в проведении методами геометрической морфометрии сравнительного морфологического исследования особенностей роста и изменчивости формы тела окуня в контрольных водоемах и в условиях хронического облучения разной интенсивности в системе водохранилищ ПО "Маяк" на р. Теча (ТКВ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для данной работы послужили выборки окуня, взятые в 2005 г. из водоемов Каслинского и Кунашакского районов Челябинской области – оз. Иртяш, оз. Кажакуль, оз. Уелги и Теченских водохранилищ – ТКВ (рис. 1). Все обследованные популяции окуня были выловлены из водоемов единой гидрологической системы в верховьях р. Теча и междуречья рек Теча и Синара и, по-видимому, близки по происхождению. Во всех водоемах окунь является одним из доминирующих видов рыб, а в контрольных неводных и сетных уловах оз. Кажакуль на долю окуня приходится 80–90 % улова.

Отлов рыб осуществляли постоянным набором ставных жаберных сетей с ячеей от 25 до 50 мм, общей длиной до 300 м. Биологический анализ рыб выполняли общепринятыми методами [14]. Взвешивание рыб производили на электронных весах с точностью до 1 г, длину тела измеряли мерной лентой до конца чешуйчатого покрова (промысловая длина) с точнос-

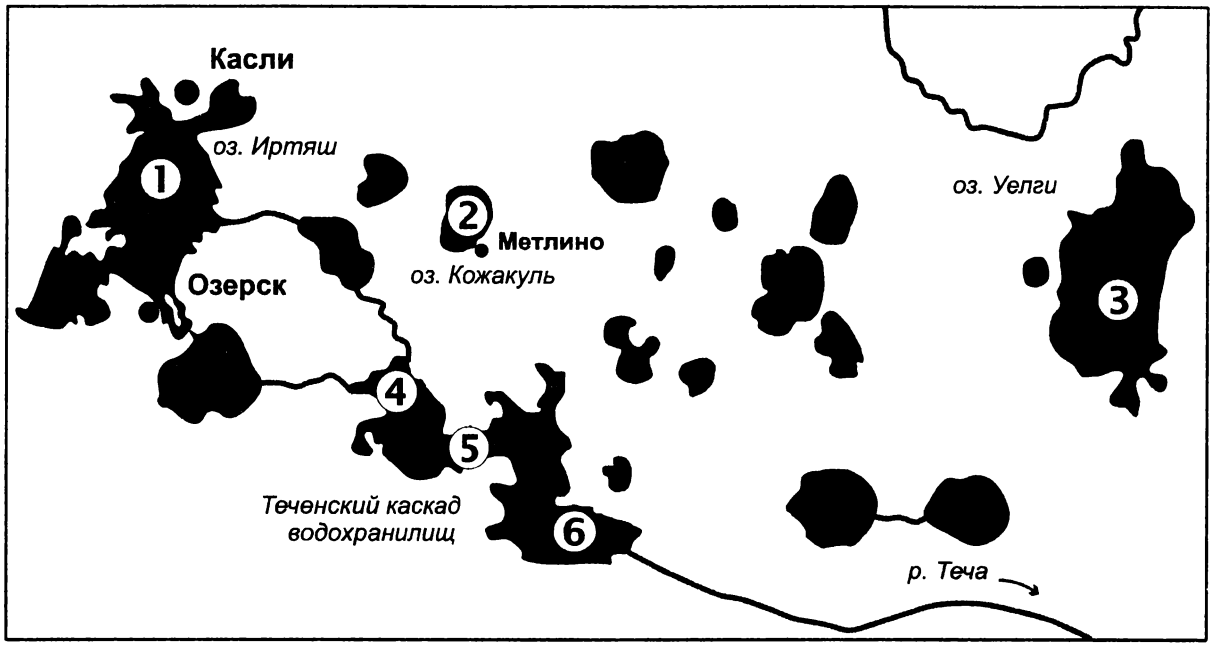

Рис. 1. Карта-схема мест отлова речного окуня в водоемах Южного Урала:
1 – оз. Иртяш, 2 – оз. Кажакуль, 3 – оз. Уелги,
4–6 – водоемы-отстойники ТКВ в верховьях р. Течи (4 – В-4; 5 – В-10; 6 – В-11)

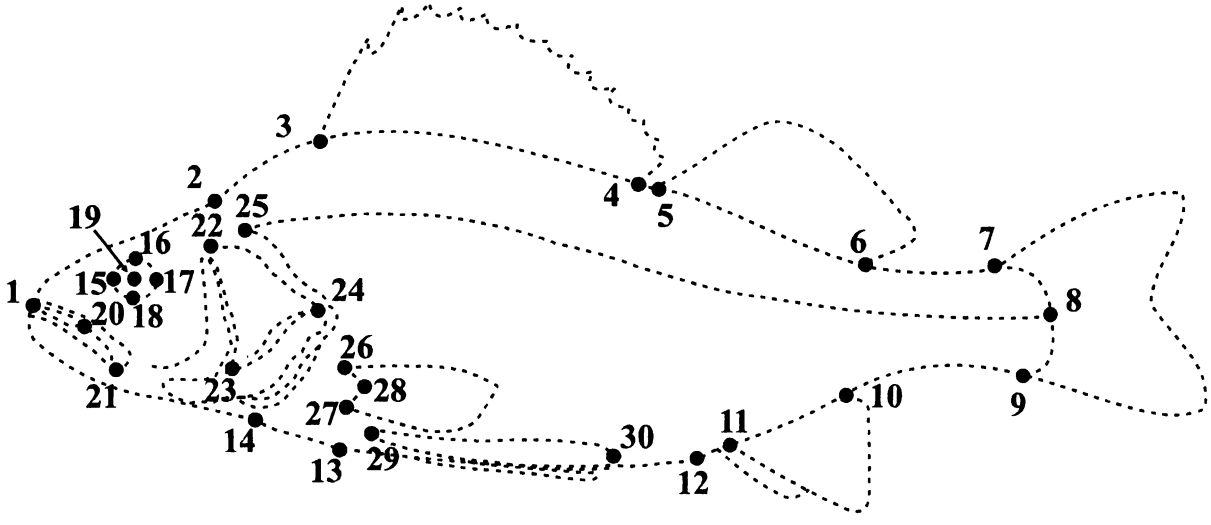

Рис. 2. Схема размещения гомологичных меток (landmarks) на боковой проекции речного окуня для изучения формы тела и его частей методами геометрической морфометрии. 1–30 – метки

тью до 1 мм. Пол и стадию зрелости половых продуктов определяли у каждой особи. Возраст рыб устанавливали по чешуе с использованием микроскопа МБС-9 при разных режимах увеличения. Определение удельной активности воды и биосубстратов проводили на аттестованном оборудовании принятыми аттестованными методами в ЦЗЛ ПО "Маяк".

Цифровые изображения формы тела окуня с разрешением 1280 на 960 пикселей получены с помощью фотоаппарата Nicon CoolPix 4500. Всего изучено 185 экз. оцифрованных изображений. Фотографии рыб анализировали методами геометрической морфометрии [9–10].

Геометрическая морфометрия основана на многомерном сравнительном анализе изменчивости формы заранее оцифрованных изображений биологических объектов. Для этой цели выбирается некий первый (референтный) объект, который становится эталоном. С помощью дигитайзера задаются координаты определенных меток (landmarks), характеризующих структурные особенности объекта. Метки расставляются в определенных точках, которые должны быть гомологичными для разных особей. Затем все объекты выравниваются по размерам с исходным объектом и подвергаются многомерной процедуре жесткого вращения так, чтобы все гомологичные точки каждой особи в выборке совместились с точками исходной (многомерный Прокрустов анализ). При этом степень деформации объектов (она условно называется энергией деформации) относительно исходного объекта суммируется по каждой точке и может служить мерой сходства с ним. Чем больше приходится "деформировать" объекты, чтобы они совпали с исходным (референтным) изображением по всем точкам-меткам, тем больше они отличаются от него по своей форме.

Координаты объектов проецируются на поверхность сферы, называемой Кендалловым пространством (название введено в честь основателя этой метрики – Кендалла). Эти проекции не могут быть реально визуализированы в евклидовой метрике, поэтому для ординации объектов часто используют проекции точек на тангенциальную (касательную к сфере) плоскость, что несколько искажает общую картину, но позволяет ее практически изобразить. Формирующиеся при этом переменные, называются "относительными деформациями" (relative warps). Они позволяют визуализировать координаты изучаемых объектов. С полученными матрицами многомерных координат относительных деформаций можно работать как с матрицами обычных измерений объектов по многим признакам, включая проведение дискриминантного или регрессионного анализа [9].

Для описания изменчивости формы тела окуня использовали 30 меток (landmarks), расставленных в узлах гомологичных элементов структуры тела окуня в боковой проекции (рис. 2) с помощью программы экранного дигитайзера TpsDig [15]. Для суперимпозиции (наложения объектов) применили метод обобщенного ортогонального Прокрустова анализа на основе наименьших квадратов (generalized orthogonal least-squares Procrustes analysis - GPA), который позволяет вычислить "консенсусную конфигурацию" – усредненную для выборки форму биологического объекта [5]. Предварительный анализ показал, что повторная расстановка меток демонстрирует высокую устойчивость и надежность их размещения, поскольку различия между повторными сериями статистически недостоверны. При оценке общего размера объекта использовали размер центроида – квадратного корня из суммы квадратов расстояний от центра тяжести объекта до меток [7]. При проецировании многомерных частных ординат объектов на касательную (тангенциальную) плоскость к сфере Кендаллова пространства (при $\alpha=0$), вычисляли новые проекции ординат (относительные деформации – relative warps) вдоль главных компонент формы (PCS – principal component shape). При попарном сравнении выборочных матриц вычисляли взаимную корреляцию переменных формы и оценивали значимость поддержки коэффициентов корреляций с помощью перестановочного теста (permutation test) при 1000 повторных серий вычислений.

Все расчеты провели с помощью пакетов прикладных программ TPS [15–17] и PAST 1.34 [18], которые доступны на http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet.html, а также NTSYS-pc [19] и Statistica 5.5. Предварительно оценили связь относительных деформаций с размерами, возрастом и полом с использованием коэффициентов ранговой

корреляции Спирмена. При множественных сравнениях выборок использовали однофакторный дисперсионный анализ и его непараметрический аналог – тест Краскела-Уоллиса. Для оценки однородности выборочных дисперсий применяли тесты Бартлетта и Левене. При многомерном сравнении выборок по вычисленным значениям относительных деформаций использовали канонический и дискриминантный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Геоэкологические и радиоэкологические особенности исследуемых биотопов

Озеро Иртяш (В-1) замыкает систему проточных пресноводных Каслинско-Кыштымских озер, расположенных на восточном склоне Уральского хребта (рис. 1). Котловины озерной системы приурочены к предгорным разломам и по происхождению относятся к тектоническим. Котловина солоноватого оз. Кажакуль, расположенного в междуречье верхнего течения рек Течи и Синары, имеет эрозионно-тектоническое происхождение. Рельеф водосборной территории водоема грядово-холмистый, сильно выровненный [20]. Котловина другого водоема Синаро-Теченского междуречья – оз. Уелги – размещена в котловинно-западинном рельефе Южного Зауралья.

Озеро Иртяш замыкает плотина П-1. Исток р. Теча находится за водосбросом после П-1. Вода реки, пройдя несколько километров по широкой заболоченной пойме, поступала в оз. Кызыл-Таш (В-2), которое запирала плотина П-2. За плотиной П-2 по течению реки расположена плотина П-3, запирающая Кокшаровский пруд (В-3, реконструированный в 1951 г.), а в 6 км от П-2 расположена плотина П-4 Метлинского пруда (В-4).

С января 1949 г. в р. Теча начали поступать радиоактивные стоки ПО "Маяк". Сброс жидких радиоактивных отходов в составе растворов кислот и щелочей осуществлялся через специальный выпуск, расположенный в 300 м за плотиной П-2. Радиоактивные стоки, разбавленные водой, поступавшей из оз. Кызыл-Таш, проходили транзитом через водоемы В-3 и В-4 и далее поступали в р. Теча. В период с 1949 г. по 1952 г. в реку было сброшено около $1 \cdot 10^{17}$ Бк (2,73 млн. Ки) β-излучающих радионуклидов [21].

В 1956 г. ниже плотины П-4 была построена плотина П-10. Новый водоем – накопитель В-10 начал заполняться радиоактивными стоками, а чистые воды из оз. Иртяш были отведены в р. Теча по специальному обводному каналу за П-10. Одновременно происходило и заселение водоема рыбой, обитавшей в В-3 и В-4.

В 1956 г. сброс радиоактивных веществ в открытую гидрографическую сеть был прекращен. В 1963 г. в связи с заполнением В-10 было начато строительство следующего водоема каскада В-11, а в 1964 г. строительство плотины П-11, замыкающей каскад водохранилищ, было завершено [21]. История формирования во многом определила уровни радиоактивного загрязнения дна водоемов Теченского каскада [22].

В настоящее время в состав ТКВ входят четыре водоема, причем три из них (В-3, В-4 и В-10) эксплуатируются в проточном режиме. Объем всех водоемов ТКВ составляет ~340 млн. м^3, в них хранится около $1{,}2 \cdot 10^{16}$ Бк (330 кКи) β-излучающих радионуклидов, поступивших в систему, главным образом, в первые годы работы предприятия. Основная часть активности (до 90 %) депонирована в донных отложениях водоемов. Основные параметры водоемов ТКВ по состоянию на 2001 г. приведены в табл. 1.

Таблица 1

Основные параметры водоемов ТКВ – 2001 г. [23]

Параметр	Водоемы			Всего
	В-4	В-10	В-11	
Площадь, км^2	1,3	18,3	47,0	66,6
Объем, млн. м^3	3,8	80,0	255,0	338,8
Содержание* активности в воде, кКи	0,6	20,0	14,0	34,6
Содержание* активности в донных отложениях, кКи	4,2	250,0	25,0	279,2
Суммарная* активность в водоеме, кКи	4,8	270,0	39,0	313,8

Примечание. * – Активность обусловлена ^{90}Sr и ^{137}Cs.

Текущие сбросы жидких отходов осуществляются только в водоемы В-3 и В-4. Объем сбросов составляет 3–5 млн. м³/год, а суммарная активность не превышает 2–4 кКи/год, т.е. составляет ~1 % от общего запаса. Следует отметить, что в результате процесса естественного радиоактивного распада общий запас радионуклидов, депонированных в ТКВ, ежегодно снижается на ~5 кКи или на 2 %.

Выборки окуня с трех различных биотопов Теченского каскада были отобраны: на перепуске воды из В-4 в В-10 (условно верхняя В-4), перепуске воды из В-10 в В-11 (условно центральная В-10), и в В-11 (условно нижняя В-11). Удельная активность воды в районе обследуемых биотопов приводятся в табл. 2.

Оценивали удельную активность ^{90}Sr и ^{137}Cs в обезглавленных и выпотрошенных тушках окуней в Бк/кг сырого веса. Средние значения удельной активности ^{90}Sr и ^{137}Cs в костно-мышечных тканях проб окуней приведены в табл. 3. Видно, что разброс значений колеблется в сравниваемых водоемах на порядки величин.

Исследования экологического состояния водоемов ТКВ, проведенные в 1970–90 гг., позволили установить, что доза радиации на организм рыб, обитающих в В-10, 2–3 гр/год (верхняя микропопуляция). Доза радиации на рыб, обитающих в контрольных озерах, ниже на пять порядков величин [22, 24, 25].

Действие факторов среды радиационной и не радиационной природы на изменение формы тела в популяциях окуня

Прежде всего, важно было оценить влияние пола и возраста на изменчивость формы тела окуней. По объединенной выборке, включающей контрольную – иртяшскую и импактную – теченскую, вычислили 56 главных компонент формы (PCS), характеризующих относительные деформации. Среди них выявилось 18 главных компонент, объясняющих 86,63 % общей дисперсии, которые, согласно критерию Джолиффа [26], могут рассматриваться как значимые и интерпретируемые.

Возраст окуней в выборках колеблется от 3 до 7 лет. Выборки представлены неполовозрелыми и половозрелыми особями. Расчет коэффициентов ранговой корреляции

Таблица 2

Удельная активность воды на станциях отлова и в контрольных водоемах

Место отлова окуня	Вода (Бк/л)	
	^{90}Sr	^{137}Cs
Перепуск из В-4 в В-10	5300,0	320,0
Перепуск из В-10 в В-11	3800,0	30,0
Водоем В-11	1500,0	5,0
Кажакуль	0,5	0,1
Уелги	0,1	0,2
Иртяш	0,03	0,19

Таблица 3

Средняя удельная активность ^{90}Sr и ^{137}Cs в костно-мышечных тканях окуня в сравниваемых контрольных и импактных выборках на Южном Урале, Бк/кг сырого веса (без учета головы и внутренних органов)

Сравниваемые выборки	Средняя уд. активность тушек рыб, Бк/кг	
	^{90}Sr	^{137}Cs
Контрольные популяции:		
Иртяшская	8,8	9,3
Кажакульская	22,0	32,0
Уелгинская	27,0	28,0
Импактные микропопуляции Теченской популяции:		
Верхняя (В-4)	417000,0	127300,0
Центральная (В-10)	212600,0	37400,0
Нижняя (В-11)	107900,0	540,0

Спирмена между значениями компонент и индивидуальным возрастом рыб, выраженным в годах, выявил значимую связь для первой (r = -0,44), третьей (r = 0,49) и пятнадцатой (r = 0,25) главных компонент формы, на которые приходится 32,43 % общей дисперсии. В то же время следует заметить, что коэффициент корреляции Спирмена индивидуальных значений размеров центроидов, интегрально характеризующих общие размеры особей и возраст рыб, составил r = 0,82. По этой причине можно отчасти говорить о размерно-возрастной компоненте изменчивости формы. Исследование

трансформаций индивидуальных форм окуня в других выборках показало сходную тенденцию возрастных изменений. При оценке регрессии размеров центроидов и компонент формы было, однако, установлено, что необъясненная остаточная дисперсия составила 94,5 %. В то же время перестановочный тест показал, что число и доля значений Λ-критерия Уилкса при случайных перестановках значительно чаще была меньше по величине, чем реально наблюдаемая. Это указывает на то, что, несмотря на слабо выраженную регрессию размеров и формы тела окуня, она по некоторым главным компонентам оказалась значимой. На рис. 3А показаны крайние (экстремумные) изображения конфигурации тела окуня, которые характеризуют размерно-возрастную изменчивость формы объектов. Хорошо видно, что при минимальных размерах и меньшем возрасте наблюдаются характерные пропорции тела и его частей: относительно более крупная голова и размер глаза, а также длина хвостового стебля, но относительно меньшая высота тела. С возрастом эти пропорции изменяются почти на противоположные.

Связь формы тела с полом в данной объединенной выборке проявилась только по третьей (r = 0,46), четвертой (r = 0,27) и двенадцатой (r = 0,32) компонентам. На половую изменчивость формы тела в рассмотренном случае приходится 16,4 % дисперсии. Мы прокоррелировали матрицы главных компонент формы равных по объему выборок самцов и самок с помощью программы tpsPLS [27] и получили достаточно высокие значения коэффициентов корреляции по большинству осей (от r = 0,71 до r = 0,89), однако перестановочный тест при 1000 повторных вычислениях показал, что число и доля значений коэффициентов корреляции, получаемых при случайных перестановках значительно чаще превышает наблюдаемые величины. Таким образом, несмотря на сравнительно высокие значения коэффициентов корреляции, связь компонент формы у самцов и самок не может считаться устойчивой и достоверной, что указывает на существенные половые различия в морфогенезе самцов и самок окуня. Значимая связь с полом по отдельным направлениям изменения формы окуня была обнаружена, однако, не во всех выборках. Тем не менее, для исключения возможного влияния возраста и пола дальнейшее сравнение выборок проводили по независимым от этих факторов переменным (относительным деформациям).

Поскольку выборки из микропопуляций теченской группировки существенно различались по уровню удельной активности ^{90}Sr и ^{137}Cs в костно-мышечных тканях рыб как друг от друга, так и от контрольной Иртяшской популяции, то мы ранжировали выборки, введя ранговую переменную "содержание радионуклидов в тканях рыб". В каждой выборке оценку концентрации радионуклидов проводили у небольшого числа особей (от 2 до 18 экз.), однако полученные величины оказались весьма однородными и вполне могут быть экстраполированы на всю выборку. Поэтому мы сознательно упростили ситуацию, присвоив всем особям четырех сравниваемых выборок ранги от 1 до 4: Иртяшская – 1, В-11 – 2, В-10 – 3, В-4 – 4. Введенная переменная весьма грубо отражает различия и не дает возможность индивидуальных оценок, но в целом задает общий вектор накопления радионуклидов в сравниваемых группировках окуня, и поэтому может быть использована в самом первом приближении.

Значимые коэффициенты корреляции Спирмена между переменной "содержание радионуклидов в тканях рыб" и главными компонентами формы проявились только по второй (r = 0,60), шестой (0,24), седьмой (-0,29) и восьмой (-0,32) компонентам, объясняющим 26,36 % общей дисперсии. Эта величина оказалась выше, чем дисперсия формы тела, обусловленная половыми различиями и приближается по уровню к дисперсии, обусловленной возрастными морфогенетическими изменениями.

Многомерная ординация формы тела окуней двух сравниваемых популяций: контрольной – Иртяшской и импактной – Теченской приведена на рис. 4 в плоскости первой (PCS1) и второй (PCS2) главных компонент формы. Из рисунка видно, что полигоны изменчивости сравниваемых выборок частично трансгрессируют, но существенно смещены по отношению друг к другу вдоль второй главной компоненты, причем в верхней части графика расположена импактная Теченская выборка, а контрольная – внизу. Если справа налево вдоль первой главной оси наблюдаются рассмотренные выше возрас-

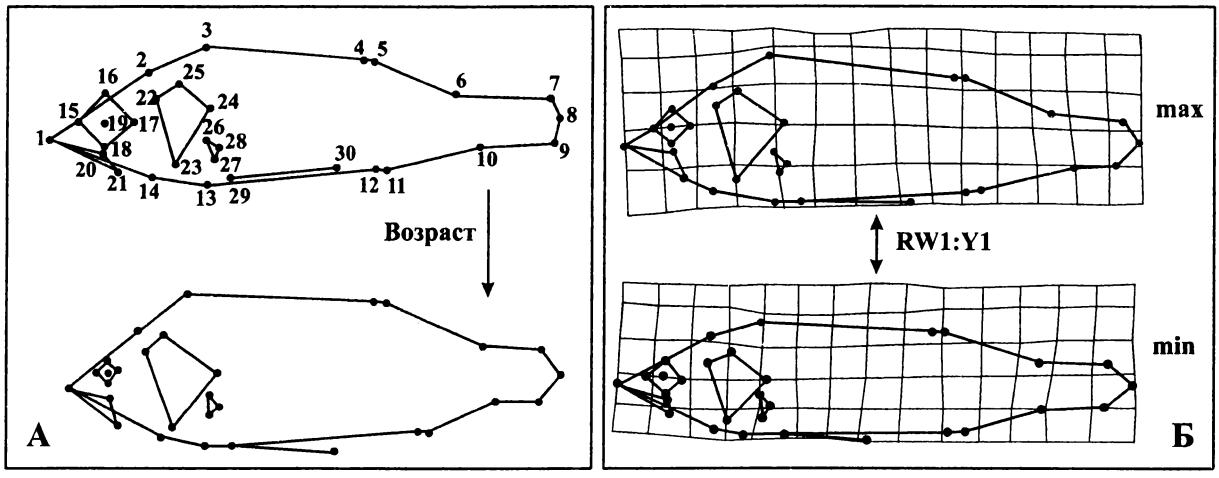

Рис. 3. Сравнение крайних (экстремумных) пар вычисленных конфигураций боковой проекции тела речного окуня для двух главных компонент формы (PCS1 и PCS2), обусловленных возрастом (А) и хроническим воздействием радиоактивного облучения разной интенсивности (Б)

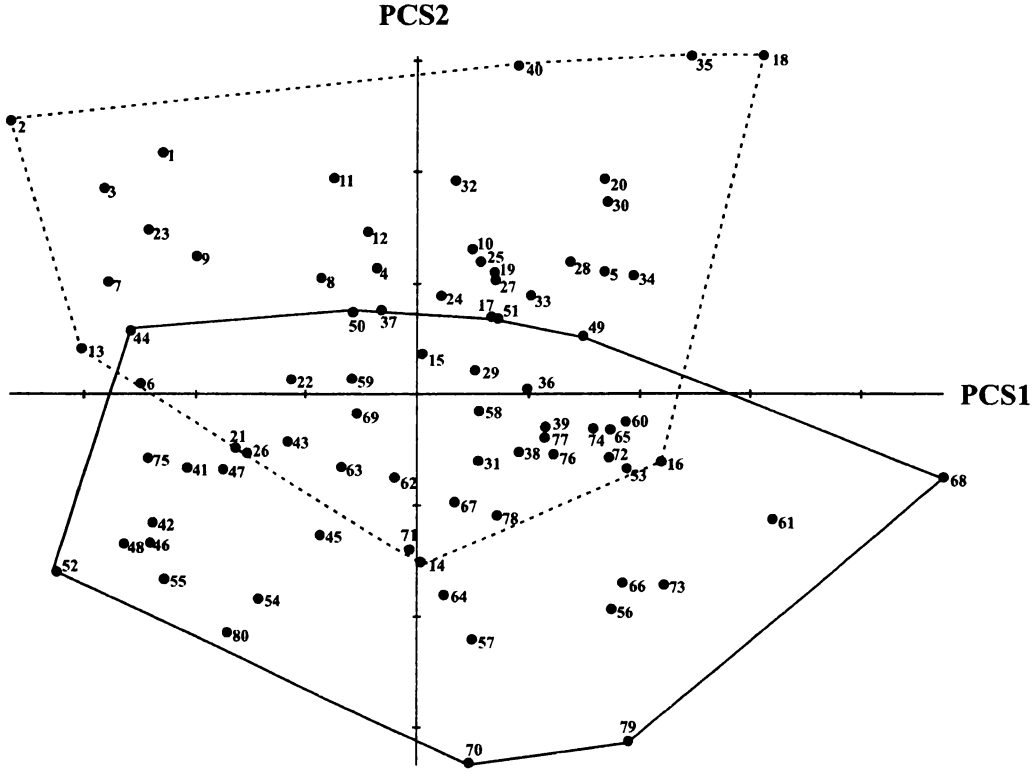

Рис. 4. Многомерная ординация формы тела окуней двух сравниваемых популяций: контрольной – Иртяшской и импактной – Теченской в плоскости первой (PCS1) и второй (PCS2) главных компонент формы

тные изменения (рис. 3 А), то снизу вверх вдоль второй главной оси нарастают различия, обусловленные высоким содержанием радионуклидов в тканях особей, а также обитанием в радиационно загрязненных водоемах Теченского каскада. Представляет интерес рассмотреть изменения формы тела окуня, обусловленные разным содержанием радионуклидов в тканях рыб у сравниваемых популяционных группировок (рис. 3 Б). На рисунке представлены крайние (экстремумные) конфигурации тела окуня для Иртяшской и Теченской популяций вдоль второй компоненты формы, представленной в виде относительной деформации RW1:Y1. Хорошо видно, что на рисунке нижняя модель конфигурации тела окуня, характерная для контрольной Иртяшской популяции, при минимальных значениях данной переменной имеет относительно более продолговатое и невысокое тело с удлиненным хвостовым стеблем, а также сравнительно небольшую голову с укороченной челюстью и суженой жаберной крышкой. Напротив, в импактной теченской популяции окуни имеют относительно более высокое тело с резким перегибом в виде горба в основании первого спинного плавника, с укрупненной головой и челюстью и укороченной хвостовой частью. Окуни с такими пропорциями тела и его частей, скорее всего, являются отчетливо выраженными хищниками и обладают высокой маневренностью движений.

Различия вдоль второй компоненты формы резко выражены между сравниваемыми группировками и образуют ряд значений соответствующий градиенту содержания радионуклидов в тканях рыб (рис. 5). Тесты Левене и Бартлетта не опровергли для сравниваемых выборок гипотезы о равенстве дисперсий значений данной компоненты формы, что позволило использовать для множественного сравнения не только тест Краскела-Уоллиса, но и однофакторный дисперсионный анализ. Межгрупповые

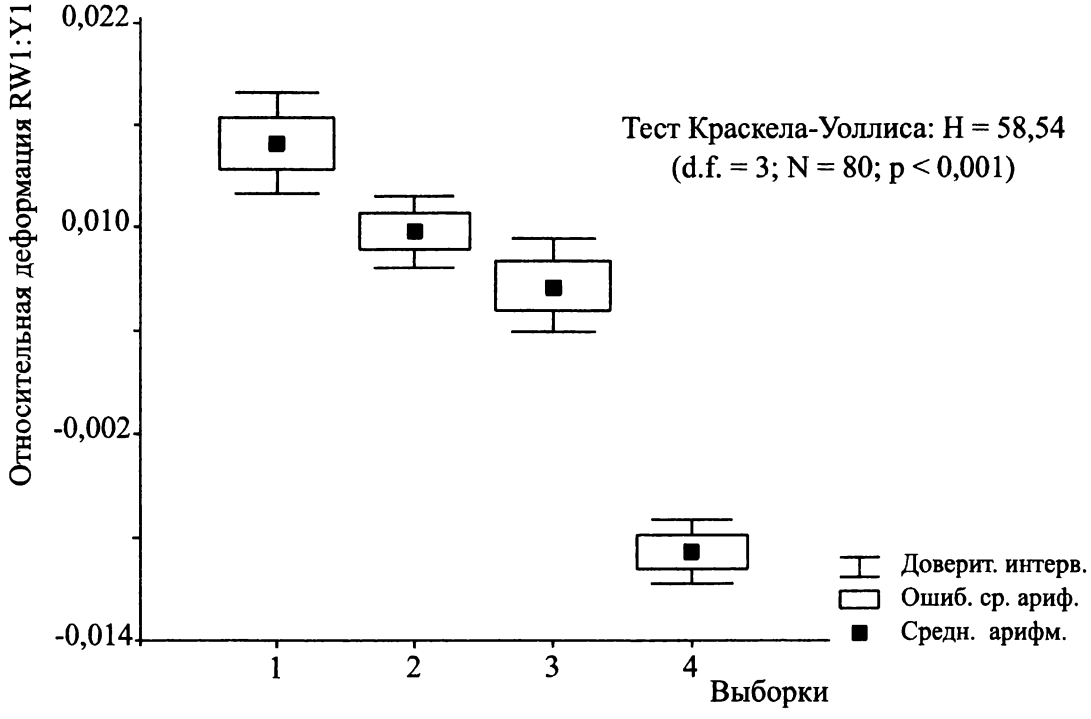

Рис. 5. Сравнение трех импактных Теченских микропопуляций и контрольной Иртяшской популяции речного окуня по значениям второй компоненты формы (относительная деформация RW1:Y1).
Выборки: 1–3 – Теченская популяция (1 – В-4; 2 – В-10; 3 – В-11); 4 – Иртяшская популяция

различия между выборками из трех Теченских микропопуляций и Иртяшской популяции по значениям второй компоненты формы оказались в обоих случаях высоко значимыми ($H = 58,54$; d.f. = 3; $N = 80$; $p < 0,001$ и $F = 65,84$; d.f.1 = 3; d.f.2 = 76; $p < 0,001$).

После исключения переменных, связанных с возрастом и полом, провели канонический анализ межгрупповых различий по 13 оставшимся компонентам формы (рис. 6). Различия между выборками вдоль первой канонической переменной, на которую пришлось 82,62 % дисперсии, хорошо согласуются с градиентом содержания радионуклидов в тканях окуней. Слева на графике расположен полигон ординат контрольной Иртяшской популяции, а правее последовательно размещаются полигоны импактных теченских микропопуляций: В-11, В-10 и В-4. Таким образом, исключение переменных, обусловленных размерно-возрастными и половыми различиями, привело к проявлению морфогенетических особенностей, главным образом связанных с длительным обитанием рыб в градиенте радиоактивного воздействия. При этом, однако, следует заметить, что эти различия могут быть отчасти связаны и с разной минерализацией воды. Согласно Л.Е. Черняевой с соавт. [20] в оз. Кажакуль минерализация достигает 2350 мг/л, а в оз. Уелги – 2960 мг/л, тогда как в оз. Иртяш составляет 239 мг/л. Промежуточное положение занимают окуни выборки из Теченского каскада водохранилищ. В результате техногенного воздействия и отсутствия естественного водного обмена изменения природного гидрохимического состава водоемов-отстойников (исходно это пресные воды) неизбежно сопровождались и некоторым возрастанием минерализации. Нельзя также исключать при интерпретации описанного выше градиента морфогенетических различий и некоторое влияние температурного фактора, а также комплекса техногенных факторов неизвестной природы. Поскольку показатели минерализации воды в сравниваемых водоемах Южного Урала различаются на порядок величин, важно было оценить, как соотносится масштаб из-

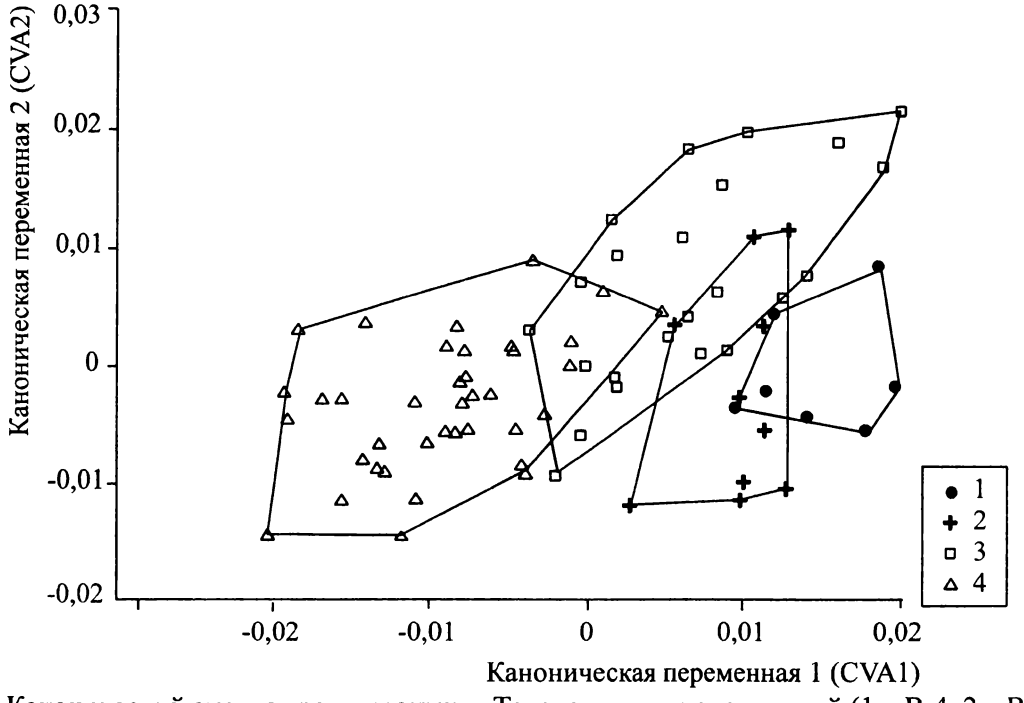

Рис. 6. Канонический анализ трех импактных Теченских микропопуляций (1 – В-4; 2 – В-10; 3 – В-11) и контрольной Иртяшской популяции (4) речного окуня по 13 компонентам формы (относительным деформациям), не связанным с возрастом и полом рыб

менчивости формы тела окуня, обусловленный влиянием в первую очередь фактора минерализации водоемов, с фактором хронического воздействия радиоактивного облучения разной интенсивности.

Для решения этой задачи был проведен дискриминантный анализ значений относительных деформаций (RW) всех четырех сравниваемых популяций на однородных по возрасту выборках. Поскольку предыдущее сравнение показало, что возраст является существенным фактором изменчивости формы, мы провели сравнение по выборкам окуней в возрасте 5+ лет. Исходно были рассмотрены 30 первых переменных RW - относительных деформаций, но сравнение проводили лишь по 23 компонентам, характеризующим 68 % дисперсии формы, исключив 7 переменных, которые были значимо связаны с полом и размерами. Выборки из Теченских микропопуляций в данном сравнении были объединены.

Результаты сравнения показали, что все три дискриминантные функции оказались высоко значимыми (табл. 4). На первую дискриминантную ось приходится 57,76 % межгрупповых различий. По величине и знакам центроидов сравниваемых выборок вдоль первой дискриминантной оси можно заключить, что наибольшие различия по форме тела наблюдаются между пресноводной Иртяшской популяцией с одной стороны и обеими, обитающими в солоноватых озерах, Кажакульской и Уелгинской популяциями, сходными друг с другом в этом отношении. Промежуточное положение между ними занимает Теченская импактная группировка, обитающая в воде с промежуточным уровнем минерализации. Поэтому можно полагать, что морфогенетические межпопуляционные различия вдоль первой дискриминантной оси, главным образом, связаны с фактором минерализации воды. При повышенной минерализации воды возрастает ее плотность, что неизбежно должно повлиять на морфо-функциональные черты рыб. Интересно, что окуни из солоноватых озер обладают более высокой упитанностью – 1,604 (по Фультону) в сравнении с пресноводными рыбами оз. Иртяш (1,519) и окунями Теченских водохранилищ – 1,497 ($F = 6,45$; $p < 0,013$).

Вдоль второй дискриминантной канонической переменной от всех контрольных популяций по величине и знаку центроида резко уклоняется импактная Теченская группировка. Можно полагать, что эти межгрупповые морфогенетические различия в основном обусловлены действием фактора хронического радиоактивного облучения высокой интенсивности в водоемах-отстойниках. На эту ось приходится 25,15 % межгрупповой дисперсии, то есть величина морфогенетических различий, связанных с действием радиационного фактора, более чем в два раза меньше по уровню, чем различия, связанные с разным уровнем минерализации водоемов.

Таблица 4

Результаты дискриминантного анализа главных компонент формы тела речного окуня и значения центроидов выборок из контрольных и импактной популяций Южного Урала

Сравниваемые выборки	Дискриминантные канонические функции		
	DCF 1	DCF 2	DCF 3
1 – Теченская	0,695	-3,297	1,287
2 – Иртяшская	3,466	0,791	-0,111
3 – Кажакульская	-1,545	0,886	0,855
4 – Уелгинская	-1,087	-0,502	-1,635
Собственные числа	4,2450	1,8485	1,2560
Λ-критерий Уилкса	0,0297	0,1556	0,4436
Число степеней свободы	69	44	21
Доля дисперсии, %	57,76	25,15	17,09
Уровень значимости	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

Различия вдоль третьей дискриминантной оси обусловлены расхождением Уелгинской и Теченской выборок окуня. На долю этих морфогенетических различий приходится 17,09 % дисперсии. Возможно, что эти различия отчасти обусловлены соотношением глубины и площади водоема. Известно, что в глубоководных и мелководных водоемах пропорции тела окуня резко различаются [28]. Не исключена и иная интерпретация выявленных морфогенетических различий.

Важно подчеркнуть, что, несмотря на исключение из расчетов части переменных, значимо связанных с размерами, значения первой дискриминантной оси достоверно коррелируют с длиной ($r = -0,33$; $p = 0,0011$) и массой ($r = -0,35$; $p = 0,0004$) тела. Поскольку различия вдоль первой дискриминантной оси были интерпретированы как связанные с минерализацией водоемов, можно заключить, что в условиях большей минерализации водоемов рыбы не только более упитанные, но и достигают больших размеров. В пресноводной Иртяшской популяции и особенно в Теченской группировке окуни, напротив, тугорослые и в возрасте 5+ лет достоверно меньше по общим размерам и массе, чем в солоноватых водоемах.

Несколько неожиданным является общий высокий уровень дискриминации выборок (табл. 5). Особи Теченской и Иртяшской популяций практически безошибочно дискриминируются и корректность их безошибочного определения достигает 100 %. В Кажакульской популяции наблюдаются лишь два случая ошибочной диагностики особей: в одном случае особь была отнесена к импактной Теченской популяции, а в другом к солоноватоводной Уелгинской группировке. Это не удивительно, так как оз. Кажакуль примыкает к краю Восточно-Уральского радиоактивного следа и после аварии 1957 г. на ПО "Маяк" в озере наблюдается небольшое загрязнение радионуклидами. Поэтому, возможно, что у некоторых особей могут наблюдаться варианты морфогенеза (морфозы), характерные для водоемов с высоким содержанием радионуклидов. С другой стороны, оз. Кажакуль солоноватое, поэтому аналогичный морфоз, характерный для развития окуня в солоноватоводных озерах, каким является и оз. Уелги, мог проявиться и в Кажакульской популяции. Примечательно также, что часть Уелгинских окуней были ошибочно определены как Кажакульские, по-видимому, по той же причине. Тем не менее, надежность дискриминации выборок по данным, полученных методами геометрической морфометрии, оказалась очень высока (93,7 % случаев правильного отнесения особей к своим выборкам). Это указывает на высокую эффективность применения методов геометрической морфометрии для решения подобных популяционно-морфологических задач.

Из матрицы обобщенных расстояний Махаланобиса между сравниваемыми выборками видно, что Теченская популяция окуня почти в равной степени удалена от всех остальных, но несколько больше отличается от генетически исходной Иртяшской (табл. 6). Нами была вычислена условная мера уникальности выборок, представляющая собой сумму всех дистанций данной выборки со всеми остальными. Аналогичный подход был ранее применен [29] при сравнении популяций грызунов по фенетическим дистанциям, вычисленным по частотам неметрических признаков черепа. Из таблицы видно, что мера уникальности Иртяшской популяции является наибольшей, но близкое к ней значение данного показателя имеет и Теченская группировка. Кажакульская и Уелгинская популяции, обитающие в солоноватых озерах, морфогенетически близки ($D^2 = 8,7$), поэтому мера их уникальности значительно меньше.

Сходные результаты получены и при каноническом анализе этих выборок по тому же набору переменных – относительных деформаций (рис. 7). Так же, как и в разобранном выше случае дискриминантного анализа, вдоль первой канонической оси проявляются морфогенетические различия между пресноводными и солоноватоводными популяциями, на которые приходится 57,74 % дисперсии, а вдоль второй переменной резко уклоняется импактная Теченская популяция, причем различия вдоль этой переменной характеризуют 25,14 % общей дисперсии. Таким образом, видно, что канонический анализ практически повторил результаты, полученные при дискриминантном анализе.

В итоге проведенной работы можно заключить следующее. Многомерные методы геометрической морфометрии с использованием 30-ти

Таблица 5

Оценка корректности дискриминации объектов при сравнении формы тела речного окуня контрольных и импактной популяций из водоемов Южного Урала

Сравниваемые выборки	Корректность идентификации, %	1	2	3	4
1 – Теченская	100,0	11	0	0	0
2 – Иртяшская	100,0	0	22	0	0
3 – Кажакульская	94,4	0	1	34	1
4 – Уелгинская	84,6	0	0	4	22
Итого	93,7	11	23	38	23

Таблица 6

Обобщенные расстояния Махаланобиса (D^2) между сравниваемыми популяциями речного окуня (все различия статистически достоверны при $p < 0,001$)

Сравниваемые выборки	1	2	3	4	Мера уникальности
1 – Теченская	0	27,51	23,71	20,39	71,60
2 – Иртяшская		0	27,20	25,81	80,52
3 – Кажакульская			0	8,70	59,61
4 – Уелгинская				0	54,90

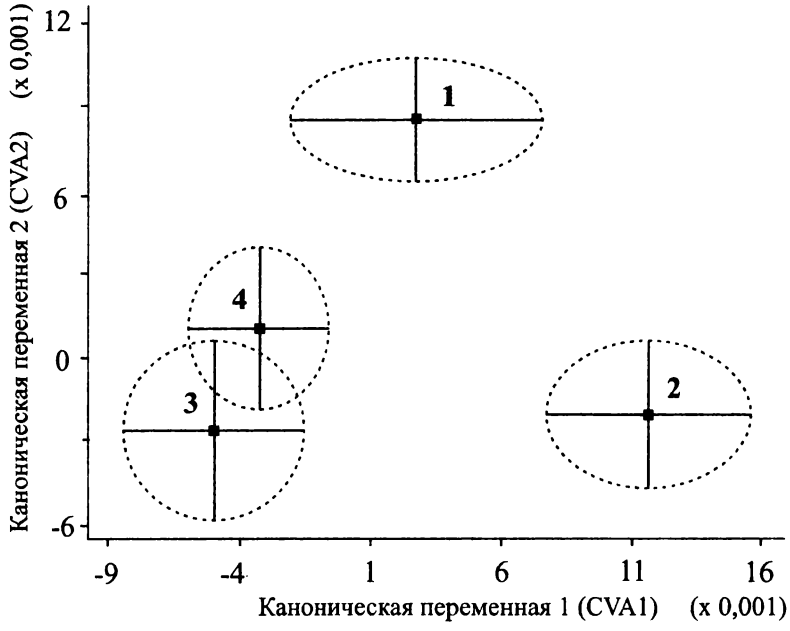

Рис. 7. Канонический анализ одновозрастных (5+) выборок из контрольных и импактной популяций речного окуня Южного Урала по значениям 23 относительных деформаций, не связанным с полом и размерами рыб. Популяции: 1 – импактная Теченская и 2 – Иртяшская, 3 – Кажакульская и 4 – Уелгинская контрольные группировки. Указаны центроиды и среднеквадратичные отклонения для каждой выборки

гомологичных меток (landmarks) позволили выявить основные закономерности изменчивости морфогенеза речного окуня в контрольных Иртяшской, Кажакульской и Уелгинской популяциях, а также в трех микропопуляциях импактной Теченской популяции, обитающих в условиях хронического радиоактивного облучения разной интенсивности в водоемах-отстойниках ПО "Маяк" в верховьях р. Теча. Форма тела окуней из популяции Теченского каскада водохранилищ, подверженных длительному, почти полувековому, радиоактивному воздействию, и из контрольных водоемов существенно различается, и эти различия коррелируют с градиентом содержания ^{90}Sr и ^{137}Cs в тканях рыб. Окуни импактной Теченской популяции отличаются от большинства контрольных группировок замедленным ростом и, соответственно, меньшими размерами взрослых особей, а также характерными пропорциями тела. Они имеют относительно крупные размеры головы, челюсти и жаберной крышки, а также отличаются большей высотой тела в области основания первого спинного плавника и укороченным хвостовым отделом. Такие фенотипические особенности косвенно свидетельствуют о том, что они являются активными хищниками с высокой маневренностью движений. Поскольку эти особенности формы тела позволяют дискриминировать 100 % особей Теченской популяции, то можно предполагать, что за период существования этой группировки в водоемах-отстойниках в изолированном состоянии произошли существенные морфогенетические перестройки, которые, по-видимому, носят адаптивный характер. Тем не менее, фактор минерализации водоемов приводит к большему морфогенетическому эффекту, чем фактор хронического радиоактивного воздействия. Сравнение одновозрастных (5+) выборок из контрольных и импактной Теченской популяции позволило установить, что размах изменчивости формы тела окуня, связанной с минерализацией водоемов, практически в два раза превышает величину изменчивости, сопряженной с обитанием окуней в условиях хронического облучения. Установлено, что более 57 % дисперсии межгрупповых морфогенетических различий окуней связаны с обитанием рыб в водоемах, отличающихся разной степенью минерализации воды, тогда как только 25 % дисперсии можно связать с обитанием в условиях хронического облучения разной интенсивности в системе водохранилищ р. Теча. Полученные результаты позволяют также заключить, что методы геометрической морфометрии высоко эффективны для решения подобных популяционно-морфологических задач.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 04-04-96100 урал2004, 07-04-96096 р_урал_а и 07-04-00161_а, а также ФЦНТП развития системы ведущих научных школ 2006-РИ-112.0/001/337.

ЛИТЕРАТУРА

1. Позолотина В.Н. Отдаленные последствия действия радиации на растения. – Екатеринбург: Изд-во "Академкнига", 2003. – 244 с.
2. Васильев А.Г., Васильева И.А., Большаков В.Н. Фенетический мониторинг популяций красной полевки (*Clethrionomys rutilus* Pall.) в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа // Экология. – 1996. – № 2. – С. 117–124.
3. Васильев А.Г., Васильева И.А., Любашевский Н.М. и др. Популяционная феногенетика малой лесной мыши (*Apodemus uralensis* Pall.) в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа // Вопросы рад. безопасности. – 2003. – № 4. – С. 14–29.
4. Васильева И.А., Васильев А.Г., Любашевский Н.М. и др. Феногенетический анализ популяций малой лесной мыши (*Apodemus uralensis* Pall.) в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа // Экология. – 2003. – № 6. – С. 325–332.
5. Rohlf F.J., Slice D.E. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks // Systematic Zool. – 1990. – V. 39. – P. 40–59.
6. Rohlf F.J. On application of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny // Syst. Biol. – 1998. – V. 47. – № 1. – P. 147–158.
7. Rohlf F.J. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces // J. Classif. – 1999. – V. 16. – P. 197–223.
8. Bookstein F.L. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology. Cambridge: Cambridge Univ. Press. – 1991. – 198 p.

9. Павлинов И.Я. Геометрическая морфометрия черепа мышевидных грызунов (Mammalia, Rodentia): связь формы черепа с пищевой специализацией // Журн. общ. биол. – 2000. – Т. 61. – № 6. – С. 583–600.
10. Павлинов И.Я., Микешина Н.Г. Принципы и методы геометрической морфометрии // Журн. общ. биол. – 2002. – Т. 63. – № 6. – С. 473–493.
11. Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. Ч. 3. – М., 1949. – С. 1032–1039.
12. Жаков Л.А. О приспособительном значении размерной и возрастной структуры популяций окуня в малых озерах Карельского перешейка. // Тр. Карел. отд. ГосНИОРХ. – 1968. – Т. 5. – № 1. – С. 324–330.
13. Попова О.А., Андреев В.Л., Макарова Н.П., Решетников Ю.С. Изменчивость морфометрических показателей у речного окуня *Perca fluviatilis* L. в пределах ареала / Биология речного окуня. – М., 1993. – С. 4–55.
14. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М., 1966. – 376 с.
15. Rohlf F.J. TpsDig. Version 1.40. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. – 2004 a – (program).
16. Rohlf F.J. TPS Utility Program. Version 1.33. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. – 2004 б – (program).
17. Rohlf F.J. Relative warps. Version 1.42. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. – 2005. – (program).
18. Hammer Ø., Harper D.A.T., P.D. Ryan PAST – PAlaeontological STatistics, version 1.34. – 2005. – 66 p.
19. Rohlf F.J. NTSYS-pc; numerical taxonomy and system of multivariate statistical analysis programs (Version.1.40.440); Appl. Biostat. Inc., Dep. of Ecology and Evolution, State Univ. of New York. New York: Exeter Publishing. – 1988. – 34 p.
20. Черняева Л.Е., Черняев А.М., Еремеева М.Н. Гидрохимия озер. – Л., 1977. – 336 с.
21. Мокров Ю. Г. Реконструкция и прогноз радиоактивного загрязнения р. Теча. Часть 1. Роль взвешенных частиц в процессе формирования радиоактивного загрязнения р. Теча в 1949–1951 гг. / Библиотека журнала ВРБ. – Озерск, 2002. – № 1. – 175 с.
22. Смагин А.И. Радиоэкологические особенности водоема-хранилища отходов радиохимических заводов и состояние популяции обитающей в нем щуки (Esox Lucius L.) // Вопросы рад. безопасности. – 1996. – № 2. – С. 35–45.
23. Садовников В.И., Глаголенко Ю.В., Дрожко Е.Г. и др. Современное состояние и пути решения проблем Теченского каскада водоемов // Вопросы рад. безопасности. – 2002. – № 1. – С. 3–14.
24. Проблемы радиоэкологии водоемов-охладителей атомных электростанций: Сборник статей / Под ред. Н.В.Куликова, М.Я.Чеботиной. – Свердловск, 1978. – 120 с.
25. Смагин А.И. Исследование многофакторного антропогенного воздействия на экосистемы технологических водоемов ПО "Маяк" // Рад. биология. Радиоэкология. – 2006. – Т. 46. – № 1. – С. 94–110.
26. Jolliffe I.T. Principal Component Analysis. New York; Berlin: Springer-Verlag. – 1986. – 271 p.
27. Rohlf F.J. tpsPLS. Version 1.12. N.Y.: State Univ. at Stony Brook. – 2002. – (program).
28. Зеленецкий Н.М. Эколого-географическая изменчивость морфологических признаков окуня (*Perca fluviatilis* L.) в ареале: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Борок. – 1992. – 24 с.
29. Берри Р.Дж. Изменчивость у млекопитающих – основные концепции и проблемы // Успехи соврем. териологии. – 1977. – С. 5–25.

Поступила в редакцию 24 июля 2006 г.