

ТОРЯНИК В. М.✉, МІРОНЕЦЬ Л. П.

Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка,
Україна, 40002, м. Суми, вул. Роменська, 87, e-mail: toryanik_vn@ukr.net, mironets19@gmail.com
✉ toryanik_vn@ukr.net

МОРФОГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ *TRIFOLIUM REPENS* L. ЗА МАЛЮНОКОМ «СИВОЇ» ПЛЯМИ НА ЛИСТКУ НА ТЕРИТОРІЯХ М. СУМИ З РІЗНИМ АНТРОПОГЕННИМ НАВАНТАЖЕННЯМ

Мета. Вивчено особливості морфогенетичного поліморфізму *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листку на територіях м. Суми з різним антропогенним навантаженням. **Методи.** Збір листків проводився у період масового цвітіння рослини з пробних площадок із покриттям *T. repens* до 60 %, що знаходилися на географічно віддалених територіях різних мікрорайонів міста. Ідентифікація малюнків «сивої» плями здійснювалася за методикою І. Т. Папонової та П. Я. Шварцмана, з використанням таблиці Дж. Л. Брюбейкера. **Результати.** У загальній вибірці рослин *T. repens*, зібраних із територій міста з різним антропогенним навантаженням, виявлено 16 фенотипів та 14 генотипів, сформованих серією з 7-ми алелів гена V. У вибірках найчастіше траплялися «дикі» фенотипи, серед «мутантних» переважали гетерозиготи, виявляючись у фенотипі подвійними плямами. Найбільша різноманітність фенотипів встановлена на територіях паркових зон міста, найменша – на узбіччях та газонах автомагістралі. **Висновки.** Фенотипічна мінливість *T. repens* L. на територіях міста з різним антропогенним навантаженням свідчить про поліморфізм життєвих стратегій, що дозволяє підтримувати високий адаптивний потенціал у локальних популяціях виду.

Ключові слова: фенотипічний і генотипічний поліморфізм, *Trifolium repens* L., малюнок «сивої» плями на листку, антропогенне навантаження.

Характерною екологічною особливістю *T. repens* є широкі можливості адаптації до значного діапазону абіотичних умов, зокрема й екстремальних, що сприяє його широкому поширенню на порушених територіях. Характерною особливістю природних популяцій *T. repens* є поліморфізм за малюнком «сивої» плями на листку. Малюнок «сивої» плями може відрізнятися розташуванням, забарвленням, інтенсивністю

прояву, розміром. Доведено, що різноманітність рослин *T. repens* за цією ознакою визначається серією множинних алелів гена V. Наявність «сивої» плями на листку – ознака домінантна (V), відсутність – рецесивна (v). Усі алелі гена V, а їх налічується 11 або більше, порушують нормальний розвиток хлорофілу в палисадних клітинах світлої зони листка. Для більшості комбінацій алелів характерним є їх прояв із утворенням різних варіантів фенотипів [18].

Вивченню природних популяцій *T. repens* присвячено ряд досліджень (J. L. Brewbaker, A. Cresswell, R. S. Hamilton, Н. В. Глотова, Л. Н. Денисова, І. Е. Камчатова, М. Ю. Купріянова, С. Н. Левицький, В. І. Нахаєва, Д. Б. Орлинський, Г. Г. Соколова, Н. Хох, Н. Н. Шаригіна, П. Я. Шварцман та ін.), у яких наводиться аналіз просторової та вікової структури популяцій цього виду, характеризується еколого-генетична та міжпопуляційна мінливість за ознакою «сивої» плями на листку, вказується на наявність залежності ступеня фенотипічної та генотипічної різноманітності популяцій *T. repens* за такою ознакою від рівня забруднення навколишнього середовища [1–15].

Матеріали і методи

Збирання листків *T. repens* проводилося у травні-серпні 2018 р. у період масового цвітіння рослини на територіях м. Суми, що знаходяться на значній відстані одна від одної (від 3-х до 10 км), зі схожими умовами для росту, але з різним антропогенним навантаженням: на газонах прибудинкової території багатоквартирних будинків (територія 1, Роменський мікрорайон, північно-західна частина міста), в рекреаційній зоні озера Чеха (територія 2, 9–10 мікрорайон, південно-західна частина міста), в рекреаційній зоні Веретенівського парку (територія 3, Курський мікрорайон, північно-східна частина міста), в рекреаційній зоні міського парку ім. І. М. Кожедуба (територія 4, центр міста), на узбіччях та

газонах уздовж автомагістралі «Суми-Київ» (територія 5, Роменський мікрорайон, північно-західна частина міста), на узбіччях уздовж автомагістралі «Суми-Харків» (територія 6, мікрорайон «Хіммістечко», південно-західна частина міста). Території 1 і 2 нами були визначені як відносно антропогенно напружені (витоптування, викошування, забруднення побутовим сміттям), території 3 і 4 – найменш антропогенно напружені (паркові зони), території 5 і 6 – найбільш антропогенно напружені (витоптування, викошування, забруднення повітря і ґрунту поліюантами).

На кожній території обстежувалися пробні площадки з покриттям *T. repens* до 60 % розміром 5x5 м [16]. Загалом з усіх пробних площадок методом випадкової вибірки було зібрано і проаналізовано 1463 листки.

Для ідентифікації малюнків «сивої» плями використовували методику І. Т. Папонової

(1982) та П. Я. Шварцмана (1986) [17], порівнюючи малюнки плям на зібраних листках із малюнками, зображеними у табл. Дж. Л. Брюбейкера [18, 19]. Трапляння різних фенотипів та генотипів розраховували як частку листків певного фенотипу/генотипу у вибірці, зробленій на ділянці кожної досліджуваної території, що виражали у відсотках [20].

Результати та обговорення

Усього у загальній вибірці рослин *T. repens*, зібраних із 6-ти територій м. Суми з різним антропогенним навантаженням, виявлено 16 фенотипів (табл.). За частотою переважаючими фенотипами були фенотипи з доміантною ознакою, тобто з різною формою «сивої» плями на листку. За середньою частотою перша п'ятірка фенотипів утворювала такий ранжований ряд: $O(vv) > A(VV, Vv) > B^H C(V^{BH}v) > C(V^P V^P) > A^H(V^H V^B)$.

Таблиця. Частота різних фенотипів та генотипів *Trifolium repens* L. за малюнком «сивої» плями на листках на територіях м. Суми з різним антропогенним навантаженням

Фенотип	Генотип	Території дослідження					
		1	2	3	4	5	6
O	vv	25,6±1,05	27,2±0,78	36,6±1,6	42,5±0,07	43,3±1,8	42,6±0,05
A	VV, Vv	22,6±1,34	31,9±2,0	28,3±0,12	18,9±1,07	32,5±0,67	28,3±0,9
A ^H	V ^H V ^H	–	1,6±0,3	3,7±1,04	8,6±0,77	10±0,24	1,39±0,8
A ^H A	V ^H V	–	–	1,5±1,03	–	–	–
A ^H C	V ^P V ^H	–	–	–	1,1±0,23	–	–
A ^H E	V ^H V ^S	15,8±0,63	–	0,62±0,29	–	–	–
A(B)	V ^B V	–	–	2,1±0,5	–	–	1,85±0,32
B ^H	V ^H V ^B	–	0,8±0,19	–	–	–	–
AB ^H	V ^{BH} V	–	–	–	–	–	0,46±0,4
B ^H C	V ^{BH} v	22,8±1,9	23,3±1,5	16,8±1,5	15,6±0,36	4,2±1,6	11,57±0,65
A(C)	V ^P V	1,5±0,8	1,2±0,7	–	1,1±0,23	–	–
C	V ^P V ^P	5,9±1,05	13,6±0,38	8,9±1,4	9,7±0,8	10±0,24	12,5±1,02
E	V ^S V ^S	4,9±0,7	–	1,1±0,44	1,1±0,23	–	0,9±0,54
Атипічна форма O (чотири листник)	vv	–	–	0,2±0,22	–	–	–
Атипічна форма A (чотири листник)	VV	0,9±0,75	0,4±0,23	0,2±0,22	1,1±0,23	–	0,46±0,03
Атипічна форма A ^H (форма сердечка)	V ^H V ^H	–	–	–	0,5±0,06	–	–

Генетичний склад загальної вибірки рослин *T. repens* був представлений 14-ма генотипами, сформованими серією з 7-ми алелів: v , V , V^H , V^B , V^{BH} , V^P , V^S . Із них на усіх 6-ти територіях виявлено 5: v , V , V^H , V^{BH} , V^P . На усіх 6-ти територіях виявлені рослини з генотипами: vv , VV , Vv , $V^{BH}V$, $V^P V^P$, що відповідають таким фенотипам: О (без плями), А (повна Л-подібна пляма), $V^H C$ (розірвана пляма, висока), С (центральна пляма).

«Дикі» фенотипи (О і А) частіше (на 18–56 %) фіксувалися у вибірках рослин *T. repens*, зроблених на територіях 2–6. На території 1 майже на 4 % частіше фіксувалися «мутантні» фенотипи. Серед «мутантних» фенотипів переважали гетерозиготи, у яких домінантні алелі діють у компаунді, виявляючись у фенотипі подвійними плямами, що контролюються обома алелями. На територіях 2, 3, 4, 6 виявлені фенотипи, що не траплялися на інших територіях, зокрема: V^H , атипічна форма листка 1, $A^H C$ і атипічна форма листка 3, AB^H .

На територіях 1 і 2, які ми визначили як відносно антропогенно напружені, було виявлено 8 фенотипів. На території 1 найчастіше траплявся фенотип О, на другому місці за частотою були фенотипи А та $V^H C$, на третьому – $A^H E$. Рідше від інших траплялися фенотип А(С) та атипічна форма 2. На території 2 найвищим було трапляння фенотипу А, а фенотипи О та $V^H C$ були на другому та третьому місці відповідно. З найменшою частотою на цій території траплявся фенотип V^H , причому на інших досліджених територіях рослин із таким фенотипом виявлено не було. Генотипи виявлених на обох територіях фенотипів були сформовані серією з 7-ми алелів: на території 1 – v , V , V^{BH} , V^P , V^H , V^S ; на території 2 – v , V , V^{BH} , V^P , V^H , V^B , тобто в обох серіях були наявні 5 спільних алелів і по одному оригінальному алелю.

На територіях 3 і 4, які є парковими зонами і які ми визначили як найменш антропогенно напружені, перші місця за частотою займали одні й ті ж самі фенотипи: перше – О, друге – А, третє – $V^H C$. Однак серед фенотипів із типовими листками найменшою (<1 %) була частка на території 3 фенотипу $A^H E$, а на території 4 – фенотипів $A^H C$, А(С) та Е. Вибірки з цих територій відрізнялися найбільшою фенотипічною різноманітністю, наявністю атипічних форм листка 1 і 3, які не траплялися на інших територіях. В обох вибірках «дикі» фенотипи переважали за частотою «мутантні» на 22–25 %. Приблизно

30 % рослин *T. repens* в обох вибірках були гетерозиготами. Серед усіх виявлених фенотипів на території 3 найрідшими були атипічна форма 1 і 2, а на території 4 – атипічна форма 3. Генотипи рослин обох популяцій сформовані серією з 6-ти алелів: v , V , V^{BH} , V^P , V^H , V^S .

Аналогічним був розподіл за частотою фенотипів щодо першого-третього місць і на територіях 5 і 6, які ми визначили як найбільш антропогенно напружені (через наявність на цих територіях доріг з інтенсивним рухом автотранспорту і, як результат, більш інтенсивним забрудненням навколишнього середовища вихлопними газами та аеротехногенними викидами хімічного підприємства). Найчастіше на цих територіях траплялися рослини з фенотипом О. Найменшою серед усіх фенотипів, виявлених на території 5 була частка $V^H C$, на території 6 – AB^H та атипічної форми 2. Вибірки з територій 5 і 6 значно відрізнялися за числом фенотипів (5 і 9 відповідно), а також за співвідношенням частот «диких» і «мутантних» фенотипів. Генотипи рослин на території 5 були сформовані серією з 5-ти алелів: v , V , V^{BH} , V^P , V^H , а генотипи рослин популяції території 6 – серією з 7-ми алелів: v , V , V^{BH} , V^P , V^H , V^B , V^S .

Висновки

Спираючись на думку ряду науковців [1, 4, 6–8, 21, 22], вважаємо, що своєрідність морфогенетичного поліморфізму за досліджуваною ознакою кожної вивченої нами вибірки з різних територій міста зумовлена складною взаємодією таких факторів, як природний добір, обмеження вільного схрещування, генетичний дрейф, хвилі життя, мутаційний процес, в умовах впливу на рослини специфічного для кожної території комплексу факторів навколишнього середовища (освітленість, вологість, температура повітря, температура ґрунту, відкритість простору для запилювачів), зокрема й антропогенних (витоптування, викошування, забруднення повітря і ґрунту поллютантами тощо). Фенотипічна мінливість *T. repens* на територіях міста з різним антропогенним навантаженням свідчить про поліморфізм життєвих стратегій, що дозволяє підтримувати високий адаптивний потенціал у локальних популяціях виду.

Найбільш імовірною причиною того, що за різноманітністю фенотипів найвищим ступенем поліморфізму характеризуються найменш антропогенно напружені території паркових зон міста, а найменшим – найбільш антропогенно

напружені території узбіч і газонів уздовж автомагістралей, є те, що в екологічно напружених умовах існують токсичні ефекти нафтопродуктів і стабілізуючий напрямок добору спря-

мований на підвищення і збереження найбільш адаптивних фенотипів О (без плями) та А (повна Λ-подібна пляма).

References

1. Antosiewicz D.M. Adaptation of plants to an environment polluted with heavy metals. *Biol. Plant.* 2000. № 4. P. 599–601.
2. Melekhova O.P., Egorova E.I., Evseeva T.I. et al. Biological control of the environment: bioindication and biotesting. Moscow: Academy, 2007. 288 p. [in Russian] / Мелехова О.П., Егорова Е.И., Евсеева Т.И. и др. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. М.: Академия, 2007. 288 с.
3. Glotov N.V., Maksimenko O.E., Orlynsky D.B. Ecological and genetic variability of white clover (*Trifolium repens* L.) in natural populations of the Middle Ob region. *Ecology.* 1995. № 5. P. 344–346. [in Russian] / Глотов Н.В., Максименко О.Е., Орлинский Д.Б. Эколого-генетическая изменчивость клевера белого (*Trifolium repens* L.) в природных популяциях Среднего Приобья. *Экология.* 1995. № 5. С. 344–346.
4. Gorshkova T.A. Evaluation of the possibility of using creeping clover (*Trifolium repens* L.) for bioindication of anthropogenic environmental exposure. *News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2012. Vol. 14, № 1. P. 69–73. [in Russian] / Горшкова Т.А. Оценка возможности использования клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) для биоиндикации антропогенного нарушения среды. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2012. Т. 14, № 1. С. 69–73.
5. Denisova L.N. Spatial and age structure of *Trifolium repens* (Fabaceae) populations in different habitats. *Botanical Journal.* 1995. № 4. P. 18–25. [in Russian] / Денисова Л.Н. Пространственная и возрастная структура популяций *Trifolium repens* (Fabaceae) в различных местообитаниях. *Ботанический журнал.* 1995. № 4. С. 18–25.
6. Carnahan H.L., Hill H.D., Hanson A.A., Brown K.G. Inheritance and Frequencies of Leaf Markings in White Clover. *J. Hered.* 1955. Vol. XLVI, № 3. P. 109–114.
7. Kamchatova I.E. Clover intrapopulation genetic polymorphism (*Trifolium*). *Phenetics of natural populations: Proceedings of the IV All-Union Conference (Borok, November 1990).* Moscow: Institute of Developmental Biology. N.K. Koltsov Academy of Sciences of the USSR, 1990. P. 106–108. [in Russian] / Камчатова И.Е. Внутрипопуляционный генетический полиморфизм у клеверов (*Trifolium*). *Фенетика природных популяций: Материалы IV Всесоюзного совещания (Борок, ноябрь 1990 г.).* М.: Ин-т биологии развития им. Н.К. Кольцова АН СССР, 1990. С. 106–108.
8. Kupriyanova M.Yu., Semenova I.I. Estimation of urban environment using phytoindication methods (by the example of the city of Cheboksary). *Bulletin of the Chuvash State Pedagogical University. I.Ya. Yakovlev.* 2014. № 4 (84). P. 74–78. [in Russian] / Куприянова М.Ю., Семенова И.И. Оценка городской среды методами фитоиндикации (на примере г. Чебоксары). *Вестник Чувашского государственного педагогического университета им. И.Я. Яковлева.* 2014. № 4 (84). С. 74–78.
9. Levitsky S.N. Genetic polymorphism in the populations of *Trifolium repens*, growing under conditions of different anthropogenic load areas. *Basic research.* 2013. № 4 (part 1). P. 108–111. [in Russian] / Левицкий С.Н. Генетический полиморфизм в популяциях *Trifolium repens*, произрастающих в условиях различной антропогенной нагрузки территорий. *Фундаментальные исследования.* 2013. № 4 (часть 1). С. 108–111. URL: www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=10000319.
10. Nakhaeva V.I., Aleksandrova T.V., Rubtsova A.V. Genetic polymorphism in populations of *Trifolium repens*, growing in different environmental conditions of the city of Omsk. *Successes of modern science.* 2015. № 11. P. 49–45. [in Russian] / Нахаева В.И., Александрова Т.В., Рубцова А.В. Генетический полиморфизм в популяциях *Trifolium repens*, произрастающих в различных условиях окружающей среды г. Омска. *Успехи современного естествознания.* 2015. № 11. С. 49–53.
11. Semenova I.I., Soldatov U.A. Evaluation of the quality of urban environment by bioindication methods. *Theoretical and applied issues of education and science: collection of scientific papers on the International Scientific and Practical Conference.* Tambov: Consulting company Ucom, 2014. P. 121–122. [in Russian] / Семенова И.И., Солдатов У.А. Оценка качества урбаноосреды методами биоиндикации. *Теоретические и прикладные вопросы образования и науки: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции.* Тамбов: Консалтинговая компания Юком, 2014. С. 121–122.
12. Sokolova G.G., Kamaltdinova G.T. Morphogenetic polymorphism of clover leaves creeping. *News AltGU.* 2010. № 3 (part 1). P. 48–51. [in Russian] / Соколова Г.Г., Камалтдинова Г.Т. Морфогенетический полиморфизм листьев клевера ползучего. *Известия АлтГУ.* 2010. № 3 (часть 1). С. 48–51. URL: <http://izvestia.asu.ru/2010/3-1/bios/TheNewsOfASU-2010-3-1-bios-10.pdf>.
13. Khokh A.N., Lozinskaya O.V., Melnov S.B. Environmental quality assessment using meadow clover (*Trifolium pratense*). *Bulletin of Polesye State University. A series of natural sciences.* 2011. № 2. P. 3–7. [in Russian] / Хох А.Н., Лозинская О.В., Мельнов С.Б. Оценка качества среды с использованием клевера лугового (*Trifolium pratense*). *Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук.* 2011. № 2. С. 3–7.
14. Sharygina N.V., Avdusheva A.V. Study of hereditary polymorphism of white spots on the leaves of plants in the clover population of *Trifolium repens*. *Ecological problems of the North: interuniversity collection of scientific papers.* Arkhangelsk: Publishing house AGSTU. 2010. Vol. 13. P. 122. [in Russian] / Шарыгина Н.В., Авдушева А.В. Изучение наследственного полиморфизма рисунка седых пятен на листьях растений в популяции клевера *Trifolium repens*. *Экологические проблемы Севера: межвузовский сборник научных трудов.* Архангельск: Изд-во АГТУ, 2010. Вып. 13. С. 122.

15. Dospheov B.A. Methods of field experience (with the basics of statistical processing of research results). Moscow: Agropromizdat, 1985. 351 p. [in Russian] / Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
16. Shvartsman P.Ya. Field practice in genetics with the basics of breeding. M.: The Enlightenment, 1986. 111 p. [in Russian] / Шварцман П.Я. Полевая практика по генетике с основами селекции. М.: Просвещение, 1986. 111 с.
17. Brewbaker J.L. V-leaf Markings of White Clover. *J. Hered.* 1955. Vol. XLVI, № 3. P. 115–125.
18. Rudenko S.S., Kostilyn S.S., Morozova T.V. General ecology. Practical course. Part 1. Urboecosy. Chernivtsi: Books – XXI, 2008. P. 26–30. [in Ukrainian] / Руденко С.С., Костишин С.С., Морозова Т.В. Загальна екологія. Практичний курс. Частина 1. Урбоєкосистеми. Чернівці: Книги – XXI, 2008. С. 26–30.
19. Avdeev V.I. Modern methods of biometrics in the study of plants: a textbook. Orenburg: Publishing Center OGAU, 2015. 130 p. [in Russian] / Авдеев В.И. Современные методы биометрии в исследовании растений: учебное пособие. Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2015. 130 с.
20. Maximenko O.E., Chumashkaev A.N., Glotov N.V. Population structure of white clover (*Trifolium repens* L.) in North-Western Russia and Western Siberia. *The species and its productivity in the area*. SPb.: Gidrometeoizdat, 1993. P. 359–361. [in Russian] / Максименко О.Е., Чумашкаев А.Н., Глотов Н.В. Популяционная структура белого клевера (*Trifolium repens* L.) в Северо-Западной России и Западной Сибири. *Вид и его продуктивность в ареале*. СПб.: Гидрометеоздат, 1993. С. 359–361.
21. Orlinsky D.B. Ecological and genetic variability of meadow clover (*Trifolium pratense*) in natural populations of the Middle Ob. Moscow: Ecology, 1995. 5 p. [in Russian] / Орлинский Д.Б. Эколого-генетическая изменчивость клевера лугового (*Trifolium pratense*) в природных популяциях Среднего Приобья. М.: Экология, 1995. 5 с.
22. Valiev R.R., Yakovleva O.M. Comparative characteristics of hereditary polymorphism based on "white" spots on the leaves of plants in *T. repens* populations in the city of Ufa and some areas of the Republic of Bashkortostan. *Vestn. Bashkir. Un.* 2008. Vol. 13, № 2. P. 273–276. [in Russian] / Валиев Р.Р., Яковлева О.М. Сравнительная характеристика наследственного полиморфизма по признаку «седого» пятна на листьях растений в популяциях *T. repens* на территории г. Уфы и некоторых районов республики Башкортостан. *Вестн. Башкир. ун-та*. 2008. Т. 13, № 2. С. 273–276.

TORYANIK V. M., MIRONETS L. P.

Sumy State Pedagogical University named after A.S. Makarenko,
Ukraine, 40002, Sumy, Romenskaya str., 87, e-mail: toryanik_vn@ukr.net, mironets19@gmail.com

MORPHOGENETIC POLYMORPHISM OF *TRIFOLIUM REPENS* L. IN THE PATTERN OF WHITE MARKING ON A LEAF ON THE TERRITORY OF THE CITY OF SUMY WITH A DIFFERENT ANTHROPOGENIC LOAD

Aim. The peculiarities of morphogenetic polymorphism of *Trifolium repens* L. in the pattern of white marking on a leaf on the territory of the city Sumy with a different anthropogenic load. **Methods.** Collection of leafs was carried out in 2018 during the period of mass flowering of plants from the test sites covered with *T. repens* L. up to 60%, located in geographically distant territories of various neighborhoods of the city. Identification of drawings of white marking on a leaf was carried out according to the method of I.T. Paponova and P.Ya. Schwartzman, using the tables of J.L. Briubecker. **Results.** In the total sample of *T. repens* L. collected from territories of the city with a different anthropogenic load, 16 phenotypes and 14 genotypes, formed by a series of 7 alleles of gen V, were revealed. In specimens most often there are wild phenotypes. Among the mutant phenotypes dominate heterozygotes and are detected in the phenotype as double stains. The greatest variety of phenotypes is established on the territories of urban parks, the smallest – on the roadside and lawns of the highway. **Conclusions.** The phenotypic variability of *T. repens* L. on the territory of the city with a different anthropogenic stress indicates polymorphism of life strategies that allows maintaining a high adaptive potential in the local populations of the species.

Keywords: phenotypic and genotypic polymorphism, *Trifolium repens* L., white marking on a leaf, anthropogenic load.