

На правах рукописи

Каримуллина Элина Миннулловна

ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЗВЕЗДЧАТКИ ЗЛАКОВОЙ И ДРЕМЫ БЕЛОЙ ИЗ ЗОНЫ
ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА

03.02.08 – экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Екатеринбург – 2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Институте экологии растений и животных Уральского отделения РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук
Позолотина Вера Николаевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Гераськин Станислав Алексеевич
доктор биологических наук, доцент
Жуйкова Татьяна Валерьевна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт биологии
Коми научного центра УрО РАН

Защита состоится 25 мая 2012 г. в 11 часов на заседании диссертационного
совета Д 004.005.01 при Институте экологии растений и животных УрО РАН по
адресу: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202.

Факс: (343)260-82-56.

E-mail: dissovet@ipae.uran.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии растений и
животных УрО РАН.

Автореферат разослан “18” апреля 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

 Золотарева Н.В.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. С момента открытия искусственных радионуклидов прошел относительно небольшой период времени. Однако в результате деятельности ядерных предприятий, мощных аварий, испытаний ядерного оружия природная среда все в большей степени подвергается негативному воздействию техногенной радиации (Международный Чернобыльский проект ... , 1991; Крышев, Рязанцев, 2000; Крупные ... , 2001; Охрана ... , 2003; Cesium-137 ... , 2011; UNSCEAR, 2011). Это обуславливает неуклонное возрастание актуальности исследований действия радиации на живые организмы и их сообщества, особенно хронического облучения в малых дозах.

Влияние малых доз радиации на живые организмы изучено в многочисленных экспериментах. Показано, что они могут вызывать нестабильность генома (Новые аспекты ... , 1999; Рождественский, 1999; Мазурик, Михайлов, 2001; Little, 1999; Baverstock, 2000), трансгенерационный перенос некоторых свойств (Бычковская, 1986; Dubrova, 2003; Позолотина, 2003; Воробцова, 2006; Nomura, 1982), повышенный мутагенез (Дубинин и др., 1988; Попова и др., 1990; Евсеева, Гераськин, 2001), стимуляцию процессов роста и развития (Кузин, 1995), адаптивный ответ (Нестабильность генома ... , 1996; Клеточный состав ... , 2003; Evidence ... , 1990; Crawford, Davies, 1994; Adaptive response ... , 2009). Закономерности, установленные в экспериментах, находят подтверждение в природных сообществах в зонах радиоактивного загрязнения (Вудвелл, Остин, 1968; Черезанова и др., 1971; Шевченко и др., 1998; Козубов, Таскаев, 2004; Позолотина, 2003; Современное состояние ... , 2008; Удалова, Гераськин, 2011; Woodhead, 2003).

Уникальным природным полигоном для изучения популяций и экосистем в условиях радионуклидного загрязнения является Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС), который сформировался в 1957 г. в результате аварии на ПО “Маяк”. Многие поколения живых организмов в зоне ВУРСа испытывают воздействие ионизирующих излучений. Проведенные здесь исследования стали одним из первых опытов работы в зоне крупномасштабного радиоактивного загрязнения (Экологические ... , 2001; Пристер, Алексахин, 2008). Результаты этих исследований были востребованы в ходе проведения работ в зоне аварии на Чернобыльской АЭС и важны для прогнозов развития ситуации в других регионах, загрязненных радионуклидами.

Цель работы: комплексное изучение эколого-генетических особенностей звездчатки злаковой (*Stellaria graminea* L.) и дремы белой (*Melandrium album* (Mill.) Garcke), произрастающих в градиенте радионуклидного загрязнения зоны ВУРСа.

Задачи исследования:

1. Провести анализ жизнеспособности, мутабельности и антиоксидантного статуса семенного потомства звездчатки злаковой и дремы белой из зоны ВУРСа. Выявить взаимосвязи основных характеристик качества семенного потомства с уровнем радиоактивного загрязнения участков и динамикой погодных условий.
2. Изучить адаптивный потенциал семенного потомства двух модельных видов (используя провокационное облучение) с учетом уровня загрязнения участков и изменчивости погодных условий.
3. На основе аллозимного анализа выявить генетическое разнообразие в ценопопуляциях звездчатки злаковой и дремы белой, произрастающих в градиенте радиоактивного загрязнения.

Научная новизна. Впервые в эколого-генетические исследования вовлечены ценопопуляции звездчатки злаковой и дремы белой из зоны ВУРСа, а также изучен полиморфизм ферментных систем у вида *S. graminea* в целом и хронически облучаемых ценопопуляций, в частности. Впервые выявлены особенности ферментной изменчивости у *M. album* в зоне радиоактивного загрязнения. Определены основные значения внутри- и межпопуляционной вариабельности показателей жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства изученных видов. Выявлена межгодовая изменчивость этих показателей в зависимости от сочетанного действия радиации и климатических факторов. Впервые дана оценка суммарного содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) в проростках звездчатки и дремы в зависимости от уровня загрязнения мест произрастания материнских растений.

Теоретическое и практическое значение.

Полученные нами данные вносят вклад в изучение отдаленных последствий хронического облучения в малых дозах в ценопопуляциях, расширяют имеющиеся представления о механизмах адаптации природных систем к радиоактивному загрязнению. Эти данные можно рассматривать как базовые при прогнозировании восстановления растительных сообществ в зоне ВУРСа, а также использовать при организации экологического мониторинга в других районах, загрязненных долгоживущими радионуклидами. Результаты работы используются в лекционном курсе «Радиоэкология с основами радиобиологии», читаемом в ФГАОУ ВПО

Уральском федеральном университете имени первого Президента России Б.Н. Ельцина (г. Екатеринбург).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. *Stellaria graminea* и *Melandrium album* отличаются высокой изменчивостью жизнеспособности семенного потомства без определенной связи с уровнем загрязнения местообитаний родительских растений. Межгодовая изменчивость обусловлена сочетанным действием радиации и других факторов среды, в первую очередь осадков и температуры. Семенное потомство обоих видов растений из зоны ВУРСа характеризуется повышенной частотой морфозов, причем дополнительное облучение способствует выявлению скрытых нарушений.

2. Эффекта радиоадаптации, т.е. стабильного повышения радиоустойчивости организмов, длительное время обитающих в радиоактивно-загрязненной среде, у *S. graminea* и *M. album* не выявлено. Как правило, высокое качество семенного потомства обеспечивает повышенную радиоустойчивость, независимо от радиационной нагрузки на материнские растения.

3. Аллозимный полиморфизм ценопопуляций *S. graminea* и *M. album*, подверженных хроническому облучению, отличается от такового фоновых выборок. Установлен направленный сдвиг частот аллелей некоторых ферментных систем у обоих видов и увеличение числа редких аллелей у *S. graminea* в выборках ВУРСа. Феномены могут быть обусловлены высоким уровнем мутаций и направленным отбором, кроме того, возможны изменения эпигенетических механизмов регуляции генома в условиях повышенного радиационного фона.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы представлены на Всероссийских (Озерск, 2007; Екатеринбург, 2007, 2008, 2009; Н. Тагил, 2008; Сыктывкар, 2010) и Международных (Донецк, 2007; Харьков, 2008; Санкт-Петербург, 2008; Апатиты, 2009; Сыктывкар, 2009; Киев, 2011) конференциях; на Всероссийском популяционном семинаре (Ижевск, 2008); Годичном собрании общества физиологов растений (Апатиты, 2009); Съезде по радиационным исследованиям (Москва, 2010); Crimean Meeting: Third International conference, dedicated to N.V. Timofeeff-Ressovsky; Readings after V.I. Korogodin and V.A. Shevchenko (Alushta, 2010).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 07-04-96098 и 07-05-00070), Программы развития ведущих научных школ (НШ-5286.2006.4, НШ-1022.2008.4, НШ-5325.2012.4), Междисциплинарных проектов УрО РАН (№09-М-24-2001, 12-М-24-2016), Проекта ориентированных фундаментальных исследований

УрО РАН (№11-4-01-ЯЦ), Программы Научно-образовательных центров (контракт 02.740.11.0279), Программы Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов», гранта для молодых ученых и аспирантов УрО РАН (№10-4-НП-265).

Личный вклад автора. Автор лично участвовала в сборе полевого материала и выполняла лабораторные исследования (проращивание семян, аллозимный анализ, измерение НМАО). Математический анализ данных, интерпретация и обобщение материалов выполнены автором лично или при его непосредственном участии.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, списка литературы. Работа изложена на 169 страницах, содержит 10 таблиц, 33 рисунка. Список литературы включает 352 источника, из них 150 – на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает благодарность д.б.н. В.Н. Позолотиной и к.б.н. Е.В. Антоновой за помощь и поддержку на всех этапах проведения исследований; сотрудникам лаборатории молекулярной экологии растений ИЭРиЖ УрО РАН во главе с д.б.н. В.Л. Семериковым за помощь в интерпретации первичных данных аллозимного анализа (аллелограмм).

Глава 1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В ХРОНИЧЕСКИ ОБЛУЧАЕМЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В данной главе проанализированы имеющиеся в научной литературе материалы и теоретические обобщения об эффектах действия радиации на растения на различных уровнях биологической иерархии. Обсуждаются основные следствия радиационного воздействия в малых дозах: мутагенный эффект, нестабильность генома, эффект гормезиса, радиоадаптация и их проявление в природных сообществах в условиях радиоактивного загрязнения.

Глава 2. ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 История формирования и современное состояние Восточно-Уральского радиоактивного следа

Проанализирован ход событий после аварии на ПО «Маяк» в 1957 г.: образование ВУРСа, вклад Карачаевского инцидента (1967 г.), увеличившего радиоактивное загрязнение зоны. Приведена современная характеристика уровней

загрязнения центральной оси следа и его периферийных участков (Итоги ... , 1990; Трапезников и др., 2000; Молчанова и др., 2003; Современное состояние ... , 2008).

2.2 Характеристика реперных участков

На территории ВУРСа выбраны 4 участка, три из которых расположены в головной части следа (импактные) и один – в промежуточной (буферной) зоне, три фоновых участка расположены вне зоны загрязнения (табл. 1). В разделе приводится краткое описание фитоценозов на каждом участке.

Таблица 1 – Содержание ^{90}Sr и ^{137}Cs в 0-5 см слое почвы¹ и дозовые нагрузки на растения² за счет этих радионуклидов³ в зоне ВУРСа и на фоновых территориях

Участок	Географические координаты	$[^{90}\text{Sr}] \pm \text{SE}$ (Бк/кг сух. м.)	$[^{137}\text{Cs}] \pm \text{SE}$ (Бк/кг сух. м.)	<i>Stellaria graminea</i> (мкГр/ч)	<i>Melandrium album</i> (мкГр/ч)
Фоновый 1 (Ф-1)	56°41' с.ш., 61°02' в.д.	6.5±1.3	28.0±8.7	0.0056	0.0045
Фоновый 2 (Ф-2)	56°47' с.ш., 61°18' в.д.	6.3±1.45	19.8±10.6	0.0047	0.0030
Фоновый 3 (Ф-3)	57°33' с.ш., 62°42' в.д.	– ⁴	– ⁴	– ⁴	– ⁴
Буферный (Б)	55°50' с.ш., 60°52' в.д.	588±335	320±77.6	0.26	0.11
Импактный 3 (И-3)	55°49' с.ш., 60°55' в.д.	10320±7871	405±206	0.41	1.28
Импактный 2 (И-2)	55°46' с.ш., 60°53' в.д.	85434±11158	3564±625	3.44	38
Импактный 1 (И-1)	55°45' с.ш., 60°50' в.д.	214948±40971	12667±3488	9.10	30

Примечания

1 число повторностей n=5–25

2 расчет учитывает дозы на поверхности почвы, β -излучение с высотой ослабевает согласно экспоненциальной функции: $y = 97.27e^{-0.015x}$, $R^2 = 0.979$

3 расчет дозовых нагрузок выполнен с помощью программы ERICA Tool без учета естественного радиационного фона

4 на участке *Фоновый-3* был измерен только γ -фон на уровне почвы, он составлял 9–11 мкР/ч, расчеты вклада ^{90}Sr и ^{137}Cs в дозовую нагрузку не проводили

2.3 Методологические подходы в дозиметрии и оценка дозовых нагрузок на ценопопуляции звездчатки злаковой и дремы белой в зоне ВУРСа

Описываются методологические подходы к оценке дозовых нагрузок на биоту на примере программных пакетов *R&D128/SP1a* (Impact assessment ... , 2001; 2003) и *ERICA Tool* (An integrated approach ... , 2007; The ERICA ... , 2008; Larsson, 2008). Расчеты поглощенных доз показали, что с учетом естественного радиационного фона (ЕРФ) дозовые нагрузки на буферном участке превосходят фоновые в 2 раза, а на импактных участках – в 60-300 раз.

Глава 3. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Описание объектов исследования

В качестве модельных объектов выбраны два вида из семейства Caryophyllaceae Juss.: звездчатка злаковая (*Stellaria graminea* L.) и дрема белая

(*Melandrium album* (Mill.) Garcke). Данные виды встречаются повсеместно в зоне ВУРСа, характеризуются высокой семенной продуктивностью, семена легко прорастают в лабораторных условиях. Важным аргументом при выборе этих видов послужила их высокая способность накапливать радионуклиды (Современное состояние ... , 2008).

3.2 Описание методов исследования

Отбор проб почв, растений и их семян проводили в конце августа в течение 4 лет. Для аллозимного анализа отбирали листья с 50 растений в каждой ценопопуляции. Для экспериментальных проращиваний собирали смесь семян с 50 растений в каждой ценопопуляции. Для оценки индивидуальной изменчивости в пределах каждой ценопопуляции собирали семена с 10 отдельно взятых растений. Такая выборка считается репрезентативной для оценки ценопопуляции (Wright, Freeland, 1960).

Содержание ^{137}Cs и ^{90}Sr в образцах почв и растений определяли общепринятыми, сертифицированными методами (Молчанова и др., 2006). Анализы выполнены сотрудниками лаборатории общей радиозологии ИЭРиЖ (Современное состояние ... , 2008). Для оценки погодных условий в разные годы рассчитывали индекс аридности, разработанный Г.Т. Селяниновым, который учитывает суммы эффективных температур и количество осадков (The encyclopedia ... , 2005; Селянинов, 1928). Семена проращивали в лаборатории при постоянной температуре и освещенности методом рулонной культуры (ISTA, 1999). Эксперименты проведены в 3–8 повторностях по 25–50 семян в каждой. Для характеристики жизнеспособности семенного потомства использовали следующие показатели: всхожесть семян, выживаемость проростков, длина корня, наличие боковых корней и скорость листообразования. Для оценки адаптивного потенциала семена облучали перед посевом γ -лучами ^{137}Cs в диапазоне доз 100–400 Гр на установке «Игур». Анализируя данные за несколько лет, выявили межгодовую изменчивость жизнеспособности и радиочувствительности семенного потомства обоих видов в изученных ценопопуляциях. Мутабельность оценивали по частоте встречаемости в выборках проростков с аномалиями формы семядолей, корней, листьев, гипокотилия (Лутова и др., 2000). Учитывали некрозы корней и семядолей. Хлорофильные нарушения классифицировали по Определителю (Калам, Орав, 1974). За 4 года исследований изучено **43700** проростков.

Стандартными методами исследован полиморфизм 9 ферментных систем (хорошо идентифицируется 2 мономорфных и 7 полиморфных локусов) у звездчатки и 12 систем (хорошо идентифицируется 4 мономорфных и 10 полиморфных локусов) у дремы. Для изученных ген-ферментных локусов рассчитаны основные показатели генетической изменчивости. Общее число

исследованных образцов – 456 шт. Определение суммарного содержания НМАО в растениях основано на окислении антиоксидантов FeCl_3 (Ермаков и др., 1987). Оценено 234 пробы.

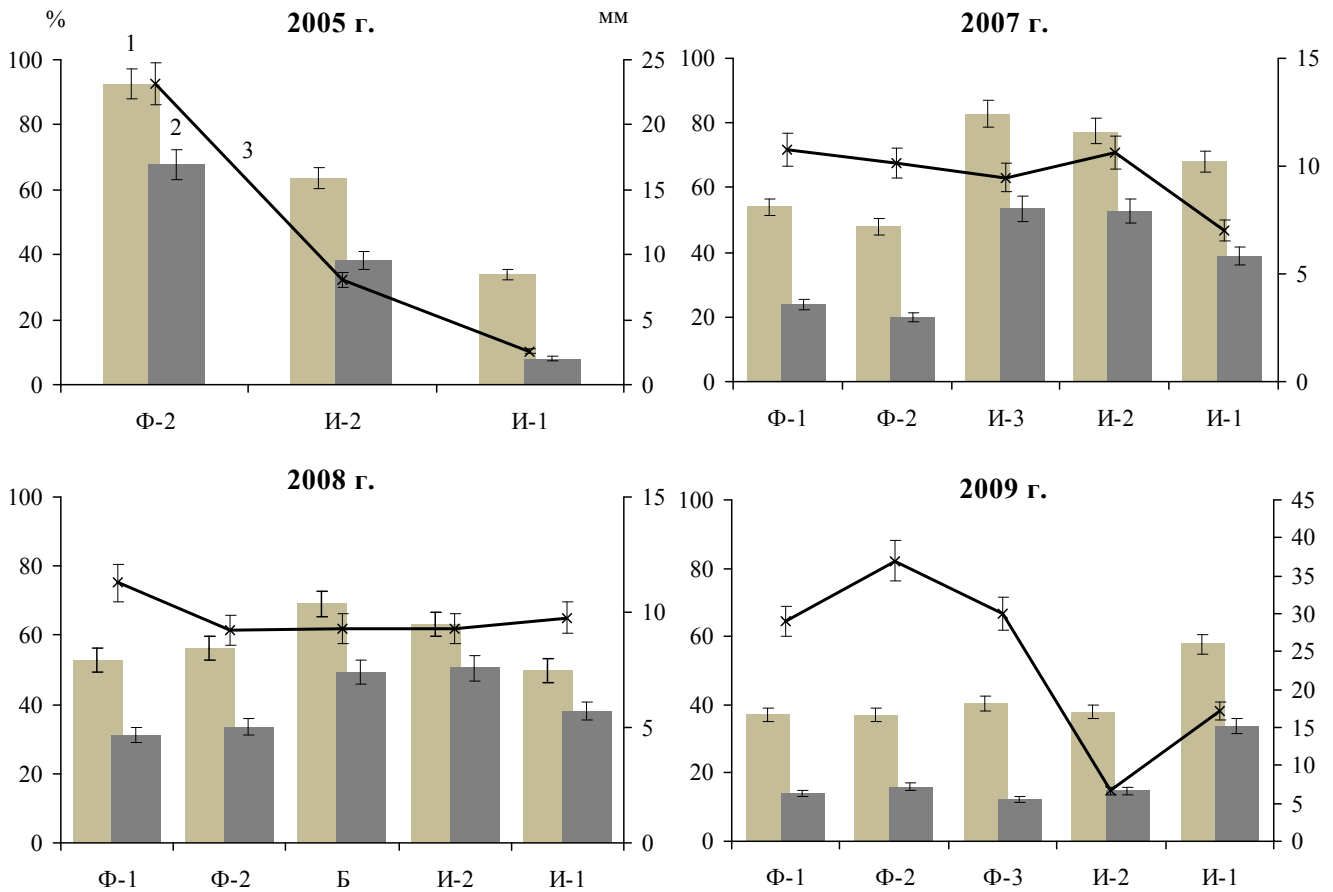
Для проверки гипотез были использованы критерии непараметрической и параметрической статистики. Анализ данных проведен в программах BIOSYS-1 (Swofford, Selander, 1981), TFPGA 3.1 (Miller, 1997), STATISTICA 6.0 (StatSoft, 2001), StatPlus 2009 (AnalystSoft Inc., StatPlus 2009) и GraphPad Prism Software 2009 (Motulsky et al., 1994).

Глава 4. ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ ЗВЕЗДЧАТКИ ЗЛАКОВОЙ ИЗ ЗОНЫ ВУРСА

4.1 Жизнеспособность семенного потомства звездчатки злаковой в градиенте радиоактивного загрязнения

В 2005 г. в градиенте загрязнения у звездчатки наблюдалось снижение выживаемости проростков и скорости листообразования (U -тест, $n=3$, $p=0.020$ – 0.049), а также угнетение роста корней ($F(2, 303)=174.2$, $p<0.001$) (рис. 1). В 2007 г. выборки семян двух фоновых участков не различались между собой по всем показателям (U -тест, $n=4$, $p=0.06$ – 0.08), однако они были значимо ниже по сравнению с характеристиками импактных ценопопуляций (U -тест, $n=4$, $p=0.0004$). В 2008 г. жизнеспособность потомства фоновых выборок была близка (U -тест, $n=10$, $p=0.074$ – 0.12). Наибольшее количество проростков с настоящим листом зафиксировано в выборках *Буферная* и *Импактная-2*, различия с фоновыми показателями значимы (U -тест, $n=10$, $p=0.021$). В 2009 г. семенное потомство с наиболее загрязненного участка имело самые высокие значения выживаемости проростков и скорости формирования листьев, различия были значимы по сравнению со всеми остальными выборками (U -тест, $n=4$, $p=0.015$; $p=0.004$). Выборка *Импактная-1* характеризовалась угнетением роста корней в 2 раза, а *Импактная-2* – в 5–6 раз по сравнению с фоновыми ценопопуляциями (Фишер LSD -тест, $p<0.001$). Фоновые выборки не имели значимых различий между собой.

Статистически значимое влияние погодных условий на качество семенного потомства звездчатки злаковой выявлено только для ценопопуляций зоны ВУРСа (рис. 2). Фоновые ценопопуляции в изменчивых погодных условиях демонстрируют высокую вариабельность показателей жизнеспособности и отсутствие определенной зависимости от температуры и количества осадков.



1 – выживаемость проростков, 2 – листообразование, 3 – длина корней (вспомогательная шкала)

Рисунок 1 – Основные показатели жизнеспособности семенного потомства звездчатки злаковой из разных ценопопуляций

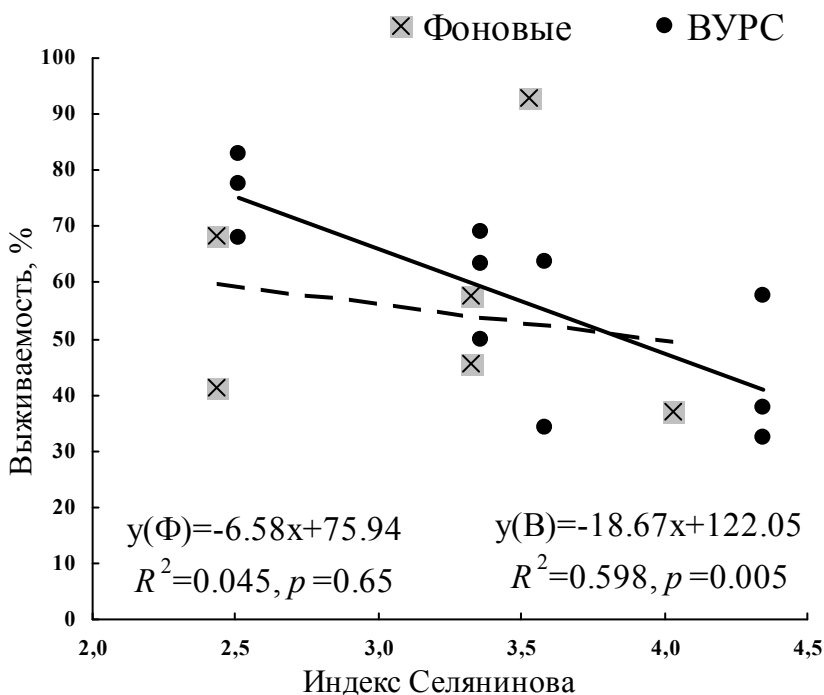


Рисунок 2 – Зависимость выживаемости семенного потомства фоновых (Ф) и импактных (В) популяций звездчатки от суммы эффективных температур и количества осадков за 4 года исследований

Установленный факт может быть следствием прямого действия малых доз радиации. Вероятно, это связано также с проявлением эффектов синергизма и антагонизма при взаимодействии радиации с другими экологическими факторами. Подобные данные были получены при изучении ценопопуляций одуванчика. В условиях загрязнения тяжелыми металлами чувствительность к колебаниям погодных условий у *Taraxacum officinale* f. *pectinatiforme* повышалась (Жуйкова, Безель, 2009).

4.2 Радиочувствительность семенного потомства звездчатки злаковой в градиенте радиоактивного загрязнения

В 2005 г. выживаемость проростков фоновой ценопопуляции при облучении во всем диапазоне доз не отличалась от необлученного контроля ($\chi^2=0.267$, $df=4$, $p=0.992$). Радиочувствительность семенного потомства из зоны ВУРСа была выше, чем в фоновой выборке ($p=0.048-0.001$ – снижение значений для всех показателей жизнеспособности при дополнительно облучении). В 2007 г. наблюдалась противоположная картина – фоновые выборки оказались самыми чувствительными к дополнительному облучению (Каримуллина, Антонова, 2008). В 2008 г. зависимости радиочувствительности от уровня загрязнения местообитаний не выявлено. Зафиксирована высокая индивидуальная изменчивость жизнеспособности и содержания НМАО у проростков. Дополнительное облучение в дозе 300 Гр показало, что в каждой выборке велика доля групп (группа – потомки одного растения), у которых после провокационного облучения содержание НМАО увеличилось (в фоновой выборке – 77%, в *Импактной-3* – 56%, в *Импактной-2* – 40%), в остальных группах показатели уменьшились (Позолотина и др., 2010; Антонова и др., 2011; Antonova et al., 2010). Максимальный разброс значений наблюдался в выборке с наиболее загрязненного участка ($CV=49\%$), а минимальный – в фоновых ($CV=24\%$). Таким образом, устойчивого эффекта радиоадаптации в ценопопуляциях звездчатки из зоны ВУРСа не обнаружено.

4.3 Мутабельность семенного потомства звездчатки злаковой в градиенте радиоактивного загрязнения

Установлено, что в разные годы спектр морфозов в выборках менялся. Выявлены значимые различия между фоновыми и импактными ценопопуляциями по частоте встречаемости проростков с некрозами корней в 2005 г. ($\chi^2=6.3$, $df=2$, $p=0.042$) и 2007 г. ($\chi^2=8.0$, $df=4$, $p=0.046$) (Последствия ... , 2009). В 2008 г. значимых различий по частоте морфозов между всеми выборками не обнаружено. В 2009 г. в выборках из зоны ВУРСа в 1.5–2 раза по сравнению с фоновыми возросла доля проростков со скрученным гипокотилем (U -тест, $n=4$, $p=0.002$). Можно

заклучить, что в большинстве случаев, частота морфозов в выборках ВУРСа превышала фоновый уровень.

4.4 Характеристика аллозимной изменчивости ценопопуляций звездчатки злаковой

На основе частот аллелей ген-ферментных локусов были рассчитаны значения основных показателей генетической изменчивости вида (табл. 2). В полиморфном состоянии находится 55.6% локусов при 95%-ном критерии оценки и 66.7% – при 99%-ном критерии. Наивысшая изменчивость наблюдалась в наиболее загрязненной ценопопуляции *Импактная-1*.

Таблица 2 – Основные показатели генетической изменчивости в ценопопуляциях *S. graminea*

Ценопопуляция	$P_{95},\%$	$P_{99},\%$	N	$N_A \pm S.E.$	$H_O \pm S.E.$	$H_E \pm S.E.*$
Фоновая-1	55.6	66.7	50	2.33±0.44	0.276±0.110	0.239±0.088
Фоновая-2	55.6	66.7	49	2.33±0.44	0.195±0.069	0.271±0.083
Импактная-1	55.6	77.8	48	2.11±0.26	0.256±0.107	0.209±0.078
Импактная-2	55.6	66.7	48	2.00±0.29	0.332±0.120	0.234±0.076
Среднее	55.6	69.5	48.8	2.2±0.4	0.265±0.101	0.238±0.081

Примечание – P_{95} и P_{99} – процент полиморфных локусов при 95%- и 99%-ных критериях полиморфности; N – размер выборки; N_A – среднее число аллелей на локус; H_O – средняя наблюдаемая и H_E – средняя ожидаемая гетерозиготность; * – несмещенная оценка

Установлено, что ценопопуляции звездчатки *Фоновая-1* и *Фоновая-2* характеризовались более высокой изменчивостью частот аллелей и их разнообразием. Аллели *Pgi-2*^{106,112} и *Fdh*⁶⁰ не встречались у растений ВУРСа. По тем же локусам обнаружена повышенная генетическая дифференциация ($F_{ST}=0.076$ и $F_{ST}=0.101$ соответственно), которую можно интерпретировать как свидетельство дизруптивного отбора. Импактные ценопопуляции генетически ближе друг к другу, чем к фоновым, и образуют один кластер. Установлен рост числа редких аллелей в ценопопуляциях ВУРСа (Каримуллина, 2008; Каримуллина и др., 2009).

Глава 5. ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДРЕМЫ БЕЛОЙ ИЗ ЗОНЫ ВУРСА

5.1 Жизнеспособность семенного потомства дремы белой в градиенте радиоактивного загрязнения

В 2005 г. значимые различия между выборками дремы из разных ценопопуляций проявились по скорости листообразования: в импактных ценопопуляциях она была в 4 раза ниже, чем фоновой и буферной (рис. 3). Наибольшее угнетение роста корней зафиксировано в выборках *Буферная* и

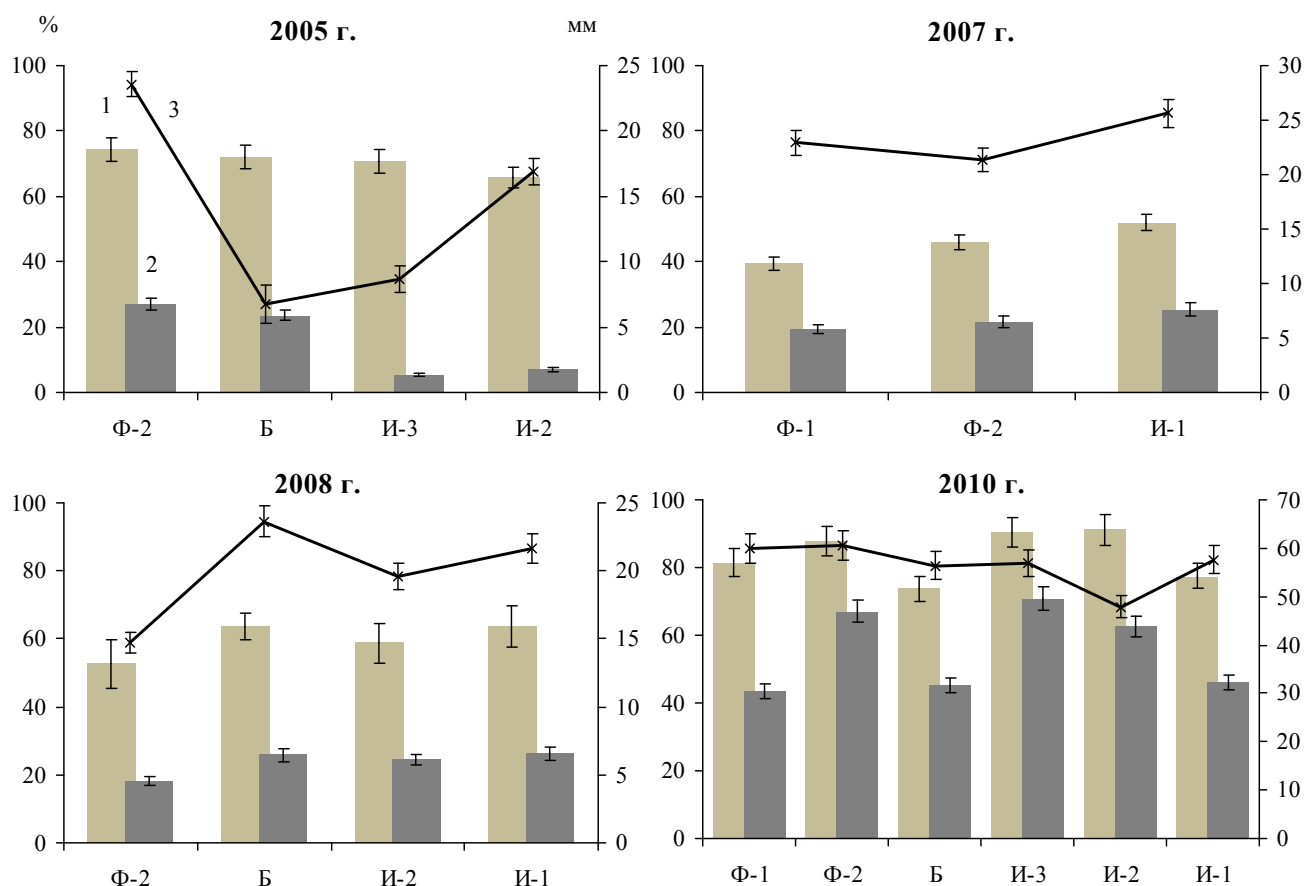
Импактная-3 (Фишер *LSD*-тест, $p < 0.001$). У проростков импактных ценопопуляций был более высокий антиоксидантный статус по сравнению с фоновыми (*U*-тест, $n=4$, $p=0.034$). Обнаружена отрицательная корреляция ($n=16$, $r=-0.723$, $p=0.001$) между показателями выживаемости на стадии листообразования и содержанием НМАО (Каримуллина, Позолотина, 2009; Karimullina, 2008). В 2007 г. наблюдалось снижение (на уровне тенденции) жизнеспособности семенного потомства фоновых выборок по сравнению с импактной. Длина корней проростков в выборке *Импактная-1* была значимо выше фоновых показателей (Фишер *LSD*-тест, $p=0.003-0.031$). В 2008 г. значимых различий по выживаемости и листообразованию проростков между выборками не обнаружено ($H(3, n=38)=2.94$; $p=0.44-0.67$) (Каримуллина, 2010), при этом проростки из ценопопуляций ВУРСа характеризовались большей длиной корней по сравнению с фоновой выборкой ($F(3, 1845)=49.87$, $p < 0.001$). В 2010 г. все исследованные ценопопуляции имели высокий уровень жизнеспособности и не различались значимо между собой по выживаемости проростков ($H(5, n=24)=10.1$; $p=0.062$).

Статистически значимое влияние комплекса погодных условий на качество семенного потомства дремы выявлено только для ценопопуляций зоны ВУРСа (рис. 4). Величина индекса Селянинова, рассчитанная по месяцам, свидетельствует о том, что качество семян дремы белой из зоны ВУРСа зависит от эффективных температур и суммы осадков в июне ($R=-0.70$, $p=0.016$), июле ($R=-0.67$, $p=0.025$) и августе ($R=-0.61$, $p=0.047$). Поскольку направление линии регрессии аналогично влиянию осадков и в июне, и в августе, можно предположить, что именно этот фактор является определяющим в развитии растений и формировании у них семян. Фоновые ценопопуляции дремы демонстрируют высокую вариабельность показателей жизнеспособности и отсутствие определенной зависимости от изменчивых погодных условий.

5.2 Радиочувствительность семенного потомства дремы белой в градиенте радиоактивного загрязнения

Наиболее определенно о радиочувствительности семенного потомства можно судить по скорости листообразования. В 2005 г. в выборке *Импактная-2* при облучении в дозе 100 Гр наблюдалась тенденция стимуляции формирования листьев (*U*-тест, $n=4$; $p=0.057$), а в фоновой и буферной выборках, а также в выборке *Импактная-3* наоборот – замедление роста (*U*-тест, $n=4$; $p=0.021-0.043$). Облучение в дозах свыше 200 Гр подавило развитие настоящих листьев у проростков всех исследованных ценопопуляций. В 2007 г. все ценопопуляции были радиоустойчивыми по выживаемости и скорости листообразования. Кривая «доза-

эффект» для выборки *Импактная-1* по выживаемости была пилообразной, отмечена стимуляция роста при облучении в дозах 100 и 300 Гр.



1 – выживаемость проростков, 2 – листообразование, 3 – длина корней (вспомогательная шкала)

Рисунок 3 – Основные показатели жизнеспособности семенного потомства дремы белой из разных ценопопуляций

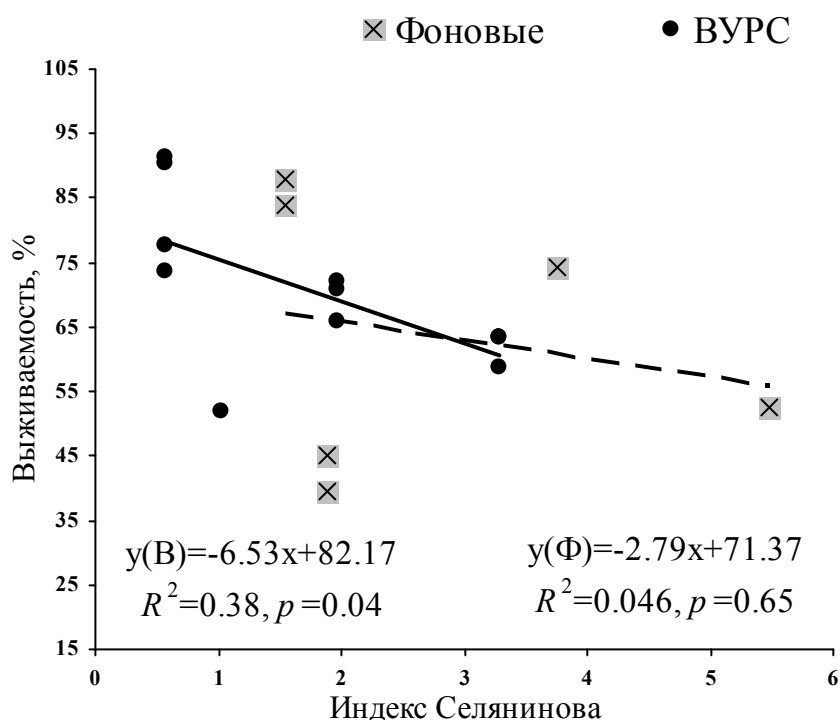


Рисунок 4 – Зависимость выживаемости семенного потомства фоновых (Ф) и импактных (В) популяций дремы от суммы эффективных температур и количества осадков за 4 года исследований

Однако длина корней проростков в этой выборке после облучения была самой низкой. Согласно двухфакторному дисперсионному анализу, оба фактора – уровень загрязнения местообитания и острое облучение семян – влияют на скорость роста корней ($F (df_1=2, df_2=4; 1795)=11.31$ и $62.37, p \ll 0.001$), взаимодействие факторов также значимо ($F (8, 1795)=3.57, p=0.0004$). В **2008** г. исследовали индивидуальную изменчивость радиочувствительности по выживаемости проростков. Во всех выборках наблюдалась значимая взаимосвязь между исходной выживаемостью и устойчивостью к дополнительному облучению ($R^2=0.9, p \ll 0.001$). Индивидуальная изменчивость содержания НМАО в проростках дремы белой была относительно невысока. Облучение в дозе 200 Гр не оказало значимого влияния на содержание НМАО в проростках. Возможно, это объясняется волновым характером изменчивости этого параметра после облучения (Levels ... , 2003).

5.3 Мутабельность семенного потомства дремы белой в градиенте радиоактивного загрязнения

В **2005** г. в ценопопуляциях дремы из зоны ВУРСа доля проростков с некрозами корней и нарушениями формы семядолей значительно превышала фоновый уровень ($\chi^2=30.0-32.8, df=3, p<0.01$). В **2007** г. количество проростков с нарушенным гелиотропизмом в наиболее загрязненной выборке *Импактная-1* было значимо выше, чем в фоновых ценопопуляциях (U -тест, $n_1=16, n_2=8; p=0.048$). В **2008** г. доля проростков с некрозами корней в фоновой ценопопуляции составила в среднем 7%, а в хронически облучаемых выборках показатель достигал 56% (U -тест, $n_1=9, n_2=27; p=0.024$). Дополнительное облучение выявило скрытые повреждения: возросло количество проростков с хлорофильными аномалиями семядолей в буферной ценопопуляции (U -тест, $n=10; p=0.002$), увеличилась в 1.5–3 раза доля проростков с некрозами корней в выборках *Буферная* и *Импактная-1* (U -тест, $n=10; p=0.007-0.023$). В **2010** г. в зоне ВУРСа обнаружены растения с обоеполыми цветками, в то время как в норме у этого двудомного вида четко выражен половой диморфизм. У проростков из зоны ВУРСа чаще встречались нарушения формы семядолей и гипокотыля. Значимые различия с фоновыми выборками зафиксированы для каждой импактной ценопопуляции (U -тест, $n_1=8, n_2=4; p=0.007-0.009$).

5.4 Характеристика аллозимной изменчивости ценопопуляций дремы белой

На основе частот встречаемости аллелей ген-ферментных локусов были рассчитаны значения основных показателей генетической изменчивости *M. album* (табл. 3). В полиморфном состоянии находится 50% локусов (при 95%-ном критерии) и 54.3% (при 99%-ном). Наибольший полиморфизм (64 и 71% соответственно) обнаружен в популяции *Импактная-1*.

Таблица 3 – Основные показатели генетической изменчивости в ценопопуляциях *M. album*

Ценопопуляция	$P_{95},\%$	$P_{99},\%$	N	$N_A \pm S.E.$	$H_O \pm S.E.$	$H_E \pm S.E. *$
Фоновая-1	42.9	50.0	46	1.93±0.32	0.164±0.082	0.181±0.068
Фоновая-2	42.9	50.0	52	1.93±0.32	0.120±0.059	0.154±0.060
Фоновая-3	50.0	50.0	56	1.79±0.24	0.121±0.051	0.169±0.056
Импактная-1	64.3	71.4	55	2.00±0.21	0.127±0.044	0.193±0.052
Импактная-2	50.0	50.0	52	2.07±0.35	0.146±0.059	0.180±0.060
Среднее	50.0	54.3	52.2	1.94±0.29	0.137±0.059	0.175±0.059

Примечание – P_{95} и P_{99} – процент полиморфных локусов при 95%- и 99%-ных критериях полиморфности; N – размер выборки; N_A – среднее число аллелей на локус; H_O – средняя наблюдаемая и H_E – средняя ожидаемая гетерозиготность; * – несмещенная оценка

По результатам анализа 12 ферментных систем было установлено, что в импактных ценопопуляциях дремы белой наблюдается повышение генетической изменчивости (Каримуллина, Антонова, 2009). Анализ аллельного разнообразия выявил аллели (*Mdh-3*¹⁰⁴, *Pgi-2*¹⁰⁶, *Lap*¹⁰⁵, *Mdh-2*⁹⁶ и *Dia*⁹⁴), присущие только выборкам из зоны ВУРСа. В результате возрос полиморфизм ген-ферментных локусов в ценопопуляциях дремы из загрязненной зоны. Разделение хронически облучаемых популяций с фоновыми выборками по генетическим дистанциям (Nei, 1978) зафиксировано по локусу *Nadhdh*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнение двух изученных видов из сем. *Caryophyllaceae*, произрастающих в градиенте радионуклидного загрязнения, выявило ряд общих закономерностей. Так, для обоих видов была характерна высокая межгодовая изменчивость жизнеспособности семенного потомства, которая в значительной мере обусловлена погодными условиями. В ценопопуляциях обоих видов в условиях радиоактивного

загрязнения повышена частота встречаемости морфозов. Не смотря на то, что оба вида принадлежат одному семейству, выявленные изменения аллозимного полиморфизма в ценопопуляциях ВУРСа были специфичны, при этом в каждом случае проявился ряд признаков (сдвиг частот аллелей некоторых локусов, увеличение доли редких аллелей), свидетельствующих о влиянии хронического облучения.

ВЫВОДЫ

1. Жизнеспособность семенного потомства звездчатки злаковой характеризовалась высокой межгодовой изменчивостью показателей как в зоне ВУРСа, так и на фоновых территориях. В ходе мониторинговых исследований зафиксированы подавляющий (выживаемость в градиенте загрязнения снижена), стимулирующий (показатели жизнеспособности семян из зоны ВУРСа выше, чем в фоновых выборках) и индифферентный (без значимых различий с контролем) эффекты.

2. Жизнеспособность семенного потомства дремы белой варьировала в меньшей степени, чем звездчатки злаковой. Подавляющий эффект в градиенте загрязнения проявился только в 2005 г. В последующие годы по выживаемости проростков не обнаружено достоверных различий между импактными и фоновыми выборками.

3. Качество семенного потомства обоих исследованных видов в ценопопуляциях ВУРСа в значительной мере определялось влиянием погодных условий в период вегетации. В фоновых выборках за 4 года исследований четкой зависимости выживаемости от динамики погодных условий не выявлено.

4. Устойчивого феномена радиоадаптации в выборках звездчатки злаковой и дремы белой из зоны ВУРСа не обнаружено. Высокая жизнеспособность семенного потомства у обоих видов обеспечивала повышенную устойчивость к дополнительному облучению независимо от уровня радиоактивного загрязнения местообитания родительских растений.

5. Частота встречаемости аномалий в развитии проростков в выборках звездчатки злаковой и дремы белой из зоны ВУРСа в большинстве случаев была значимо выше, чем в фоновых популяциях. Только в зоне ВУРСа встречались растения дремы белой с обоеполыми цветками, в то время как в норме у этого двудомного вида четко выражен половой диморфизм. Приведенные факты

указывают на генетические повреждения, вызванные малыми дозами радиации. Дополнительное облучение способствовало выявлению скрытых генетических нарушений.

6. Впервые исследована аллозимная структура ценопопуляций звездчатки злаковой. Установлен направленный сдвиг частот аллелей по локусам *Pgi-2* и *Fdh*, а также рост числа редких аллелей в выборках ВУРСа.

7. В ценопопуляциях дремы белой из зоны ВУРСа наблюдалось увеличение частоты встречаемости не только уникальных гомозиготных, но и гетерозиготных генотипов. Максимальная генетическая дифференциация выборок дремы, оцененная по F_{ST} , зафиксирована между сравниваемыми парами, состоящими только из фоновых и импактных растений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н., Михайловская Л.Н., Антонова Е.В., Каримуллина Э.М. Анализ современного состояния наземных экосистем на территории Восточно-Уральского радиоактивного следа // Вопр. радиац. безопасности. 2007. Спецвып. "Восточно-Уральскому радиоактивному следу – 50 лет". С. 32–44.

2. Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Каримуллина Э.М., Харитоновна О.В., Пустовалова Л.А. Последствия хронического действия радиации для флоры Восточно-Уральского радиоактивного следа // Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49, №1. С. 97–106.

3. Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Каримуллина Э.М. Эколого-генетическая характеристика звездчатки злаковой в условиях радиоактивного загрязнения // Экология. 2010. №6. С. 459–468.

В других изданиях:

4. Каримуллина Э.М., Антонова Е.В., Позолотина В.Н. Оценка качества семенного потомства дикорастущих видов растений на территории ВУРСа // Ядерно-промышленный комплекс Урала: проблемы и перспективы: четвертая молодеж. науч.- практ. конф.: тез. докл. Озерск, 2007. С. 130–132.

5. Антонова Е.В., Позолотина В.Н., Каримуллина Э.М. Эколого-генетический мониторинг качества семенного потомства дикорастущих видов растений из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // Промислова

ботаніка: стан та перспективи розвитку: матеріали міжнар. наук. конф. Донецьк, 2007. С. 29–34.

6. Каримуллина Э.М., Антонова Е.В. Скрининговые исследования травянистых растений в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа // Экология: от Арктики до Антарктики: материалы конф. молодых ученых, 2007. Екатеринбург, 2007. С. 131–136.

7. Молчанова И.В., Позолотина В.Н., Караваева Е.Н., Михайловская, Л.Н. Антонова Е.В., Каримуллина Э.М., Лобанова Л.В. Радиоэкологические исследования почвенно-растительного покрова Восточно-Уральского радиоактивного следа // Проблемы радиоэкологии и пограничных дисциплин: сб. науч. тр. Екатеринбург, 2007. Вып. 11. С. 320–346.

8. Каримуллина Э.М., Антонова Е.В., Позолотина В.Н. Оценка качества семенного потомства дремы белой из ценопопуляций зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // Экологические системы: фундаментальные и прикладные исследования: сб. материалов 2 Всерос. науч.-практ. конф. Нижний Тагил, 2008. С. 170–173.

9. Каримуллина Э.М. Изменчивость ферментных систем в ценопопуляциях звездчатки злаковой // Биосфера Земли: прошлое, настоящее, будущее: материалы конф. Молодых ученых, 21-25 апр. 2008. Екатеринбург, 2008. С. 94–103.

10. Karimullina E.M. The impact of radiation factor on the low molecular weight antioxidants content in *Melandrium album* and *Bromopsis inermis* // ECOBALTICA'2008: The Intern. Youth Sci. Environ. Forum. June 26-28. 2008, St.-Petersburg, 2008. P. 121–125.

11. Каримуллина Э.М., Антонова Е.В., Позолотина В.Н. Антиоксидантный статус и жизнеспособность семенного потомства растений в условиях радиоактивного загрязнения // Современное состояние и пути развития популяционной биологии: материалы X Всерос. популяц. семинара. Ижевск, 2008. С. 274–276.

12. Каримуллина Э.М., Антонова Е.В. Качество семенного потомства звездчатки злаковой и кровохлебки лекарственной из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // Біологія: від молекули до біосфери: матеріали III Міжнарод. Конф. молодих науковців. Харків. 2008. С. 322–323.

13. Каримуллина Э.М., Позолотина В.Н. Низкомолекулярные антиоксиданты у травянистых растений в условиях радионуклидного загрязнения // Физико-химические механизмы адаптации растений к антропогенному загрязнению в условиях Крайнего Севера: тез. докл. Годич. собр. о-ва физиологов растений России и Международ. науч. конф. Апатиты, 2009. С. 152–153.

14. Каримуллина Э.М., Антонова Е.В., Позолотина В.Н. Аллозимная изменчивость ценопопуляций звездчатки злаковой и подорожника большого из зоны ВУРСа // Биологическое разнообразие северных экосистем в условиях изменяющегося климата: тез. докл. Междунар. науч. конф. Апатиты, 2009. С. 37–38.
15. Каримуллина Э.М., Антонова Е.В. Генетические, биохимические и экологические особенности хронически облучаемых популяций дремы белой // Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды: тез. докл. Межд. конф. Сыктывкар, 2009. С. 61–64.
16. Каримуллина Э.М. Качество семенного потомства дремы белой из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // Актуальные проблемы биологии и экологии: сб. материалов XVII Всерос. молодежной науч. конф. Сыктывкар, 2010. С. 152–154.
17. Antonova E.V., Pozolotina V.N., Karimullina E.M. Natural coenopopulations of *Stellaria graminea* from East-Ural Radioactive Trace: effects of radiation and weather conditions // Crimean Meeting: Third International conference, dedicated to N.V.Timofeeff-Ressovsky «Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology, and evolution»; Third Readings after V.I. Korogodin and V.A. Shevchenko; NATO Advanced Research Workshop «Radioecological issues pertaining to environmental security and ecoterrorism»: Abstr., Papers by Young Sci. Dubna, 2010. P. 120.
18. Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Каримуллина Э.М. Эколого-генетическая характеристика травянистых растений в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа // тез. докл. VI Съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность): М., 2010. Т. 1 (секции I-VII). С. 162.
19. Антонова Е.В., Позолотина В.Н., Каримуллина Э.М. Эколого-генетическая последствия действия радиации на растения Восточно-Уральского радиоактивного следа // Двадцать пять лет Чернобыльской катастрофы. Безопасность будущего: междунар. конф. Киев, 2011. С. 45–47.

Подписано в печать 06.02.2012 г. 60x84 1/16
Бумага офсетная. Усл. Печ. Л. 1,0
Тираж 150 экз. Заказ № _____

Отпечатано в ООО "Типография "Махаон"
620026, г. Екатеринбург, ул. Тверитина, 38/3