

УЛЬЯНОВА ЕЛЕНА ВАЛЕРЬЕВНА

**Эколого-генетическая характеристика ценопопуляций
Taraxacum officinale s.l. и *Plantago major* L.
в условиях радионуклидного загрязнения**

03.00.16 – экология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Екатеринбург – 2004

Работа выполнена в Институте экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель – доктор биологических наук

Позолотина Вера Николаевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор

Шавнин Сергей Александрович

кандидат биологических наук, доцент

Радченко Татьяна Александровна

Ведущая организация – Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН

Защита состоится 15 марта 2005 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.

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

Автореферат разослан 9 февраля 2005 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета

доктор биологических наук

М.Г. Нифонтова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Глобальное загрязнение биосферы искусственными радионуклидами возникло в XX в. в результате испытаний ядерного оружия и развития ядерных технологий. В отдельных регионах радиационная ситуация сложилась особенно неблагоприятно из-за аварий и инцидентов на предприятиях ядерно-топливного цикла. Серьезные радиозэкологические проблемы существуют в Уральском регионе, основным источником загрязнения которого является ПО «МАЯК». В период с 1949 по 1951 гг. предприятие проводило сбросы жидких радиоактивных отходов непосредственно в р. Течу. В результате Кыштымской аварии 1957 г. сформировался Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС).

Исследования последствий длительного хронического облучения растений обширны. У целостных организмов установлены изменения всех физиологических процессов: дыхания, фотосинтеза, скорости роста и развития, нарушения минерального обмена и регуляции морфогенеза (Бреславец, 1946; Гродзинский, 1989; Савин, 1991; Попова и др., 1991; Позолотина, 2003). На популяционном уровне отмечены расширение диапазона изменчивости показателей жизнеспособности и радиочувствительности семенного потомства, увеличение частоты встречаемости разных типов морфологических аномалий в развитии (Попова и др., 1992; Позолотина, 2003). Хроническое облучение вызывает повышение частоты хромосомных aberrаций в клетках корневых меристем (Кальченко и др., 1995; Шевченко и др., 1998). Показано также изменение генетической структуры популяций растений в условиях действия малых доз радиации (Дубинин и др., 1988; Кальченко и др., 1995). Однако комплексных исследований хронически облучаемых природных популяций немного, а число вовлеченных в них объектов не превышает трех десятков. Этих данных недостаточно для выявления механизмов адаптации растений к длительному действию радиации, поэтому работы по изучению эколого-генетических особенностей разных видов, произрастающих в условиях радиоактивного загрязнения, представляются актуальными.

Цель работы: комплексное изучение последствий хронического воздействия ионизирующей радиации в широком градиенте доз на ценопопуляцию *Taraxacum*

officinale s.l. и *Plantago major* L., произрастающие на загрязненных радионуклидами территориях Уральского региона.

Задачи исследования:

1. Оценить радиоэкологическую ситуацию на территории Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРСа), в пойме р. Течи и на фоновых площадках вне зоны радионуклидного загрязнения, рассчитать дозовые нагрузки на меристематические ткани растений.
2. Провести анализ показателей жизнеспособности, радиорезистентности и мутабельности семенного потомства *Taraxacum officinale* s.l. из зоны ВУРСа и соотнести полученные данные с аллозимной структурой его ценопопуляций.
3. Изучить изменчивость показателей жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства *Plantago major* L. из зоны ВУРСа и выявить полиморфизм ферментных систем растений из этих ценопопуляций.
4. Исследовать жизнеспособность, радиоустойчивость, мутабельность и фенотипическую аллозимную изменчивость ценопопуляций *T. officinale* s.l. из пойменных экосистем р. Течи, учитывая сопутствующее действие экологических факторов, связанных с повышенным увлажнением экотопов.
5. Рассмотреть показатели жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства *P. major* L., произрастающего в пойменных экосистемах р. Течи, в совокупности с анализом генетической и генотипической изменчивости ценопопуляций, оценивая модифицирующую роль повышенного увлажнения биотопов.

Научная новизна. Впервые изучен аллозимный полиморфизм у *T. officinale* s.l. и выявлен фоновый уровень изменчивости этих характеристик. Впервые в радиоэкологические исследования вовлечена ценопопуляция одуванчика лекарственного из головной части ВУРСа, что значительно расширило градиент дозовых нагрузок на растения. Определены основные значения показателей жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства в сочетании с оценкой изменчивости ферментных систем.

Впервые проведен комплексный анализ ценопопуляций *P. major* L. из зоны ВУРСа и пойменных экосистем р. Течи. Показаны аллозимное разнообразие це-

нопопуляций подорожника в комплексе с изменчивостью показателей жизнеспособности, радиорезистентности и мутабельности его семенного потомства, а также модифицирующее действие на радиобиологические эффекты экологических факторов, в частности режима увлажнения биотопов. В условиях хронического облучения установлены направленные изменения в фено- и генотипической структурах ценопопуляций растений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные нами данные углубляют знания о биологических эффектах воздействия хронического облучения в малых дозах на растения. Выявленные особенности вносят вклад в развитие представлений о механизмах адаптации популяций растений к ионизирующей радиации в широком диапазоне доз. Полученные результаты можно использовать при проведении природоохранной деятельности в районах, загрязненных долгоживущими радионуклидами.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В ценопопуляциях *Taraxacum officinale* s.l. и *Plantago major* L., длительное время произрастающих в условиях пролонгированного действия ионизирующих излучений, происходят существенные фенотипические изменения: наблюдается направленный сдвиг частот аллелей и морф ферментных систем, возрастает доля редких фенов; отмечается расширение диапазона посемейной изменчивости жизнеспособности и радиочувствительности семенного потомства и увеличение в выборках частоты терат.
2. Биологические эффекты от действия ионизирующих излучений зависят от их интенсивности и комплекса экологических условий: постоянно действующих (повышенная увлажненность биотопов) и переменных (погодные условия).
3. Видовая специфичность реакций изученных растений на хроническое облучение в значительной степени определяется способом размножения, при этом в пределах каждого вида обнаружено несколько путей адаптации.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы были представлены на конференциях молодых ученых ИЭРиЖ УрО РАН (Екатеринбург, 2002, 2003, 2004); на X Международном экологическом симпозиуме «Урал атомный, Урал промышленный» (Екатеринбург, 2002); на VI и VII Всероссийских

популяционных семинарах (Н. Тагил, 2002; Сыктывкар, 2004); на III Международном симпозиуме «Механизмы действия сверхмалых доз» (Москва, 2002); на IX-XI молодежных научных конференциях «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 2002, 2003, 2004); на научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Биоразнообразие. Экология. Эволюция. Адаптация» (Одесса, 2003); на 2-й конференции МОГиС «Актуальные проблемы генетики» (Москва, 2003); на 7-й Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2003); на 2-м молодежном научном семинаре «Природные и городские экосистемы: проблемы изучения биоразнообразия» (Екатеринбург, 2003); на II Международной конференции «Окружающая среда и экология Сибири, Дальнего Востока и Арктики» (Томск, 2003); на Всероссийской научно-практической конференции «Экология промышленного города и экологическое образование» (Н. Тагил, 2004).

Публикации. Результаты исследований изложены в 22 научных работах.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 171 странице текста, содержит 19 таблиц и 45 рисунков. Библиографический список включает 228 источников, 42 из которых на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Действие малых доз ионизирующей радиации на растения (литературный обзор)

В главе анализируются работы отечественных и зарубежных исследователей, посвященные проблеме действия на живые организмы малых доз ионизирующей радиации. Рассматриваются некоторые биологические особенности действия хронического низкоинтенсивного излучения на растения: эффект гормезиса, адаптивный ответ, отсутствие линейной зависимости «доза-эффект», радиационно-индуцированная нестабильность генома и феномен радиоадаптации.

Глава 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследования

Исследование проведено на двух видах дикорастущих растений, различающихся между собой способом размножения и ploидностью генома.

Одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* s.l.) – многолетнее травянистое поликарпическое растение из семейства Asteraceae Dumort. Вид апомиктический, триплоидный, $n=8$, полиморфный (Определитель..., 1994). На выбранных участках доминировал *T. off. f. pectinatiforme* Lindb. fil.

Подорожник большой (*Plantago major* L.) – многолетнее поликарпическое растение из семейства Plantaginaceae Juss. Вид диплоидный, $n=6$ (Хромосомные числа..., 1969). Система полового размножения с преобладанием самоопыления (Van Dijk, Van Delden, 1981). На участках отмечен только *P. major* ssp. *major*.

2.2. Методы исследования и критерии оценки изучаемых эффектов

Для анализа жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности в каждой ценопопуляции семена одуванчика и подорожника собирали индивидуально с 10 растений. В экспериментах с облучением в широком диапазоне доз проанализирована смесь семян с 50-70 растений.

В лабораторном эксперименте использовали метод рулонной культуры, проращивая семена в сосудах с дистиллированной водой в течение 30 дней. Опыты проводили в трех повторностях. Жизнеспособность, радиочувствительность и мутабельность семенного потомства растений оценивали по стандартным методикам (Позолотина, 2003). Всего изучено более 60 тыс. шт. проростков одуванчика и подорожника.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программ STATISTICA и EXCEL (описательная статистика, дисперсионный анализ, метод множественных сравнений Фишера) (Гласс, Стэнли, 1976). Нормальность распределения оценивали при помощи теста Колмогорова-Смирнова (d).

Аллозимный анализ у *T. officinale* s.l. проведен на этиолированных листьях, а у *P. major* L. – на проростках в 6.4%-ном ПААГ в трис-ЭДТА-боратной системе (Peacock et al., 1965). Гистохимическое окрашивание гелей осуществляли по стандартным методикам (Harris, Hopkinson, 1976). Зимограммы у одуванчика анализи-

ровали как аллозимные фенотипы. Общее число изученных растений одуванчика составило 612 экз., а подорожника – 475 экз.

По каждой ферментной системе у одуванчика были рассчитаны частоты встречаемости фенотипов (p); значимость различий между ценопопуляциями устанавливали при анализе таблиц сопряженности, рассчитывая χ^2 (Афифи, Эйзен, 1982). В качестве меры фенотипического внутривидового разнообразия был выбран показатель Животовского (μ). Для детализации структуры ценопопуляций вычисляли долю редких морф (h_{μ}) (Животовский, 1991). Клоны (растения, обладающие одинаковым мультилокусным аллозимным фенотипом) выделяли по аллозимным спектрам EST, FDH, GDH, GOT, 6-PGDH, PGI.

В ценопопуляциях подорожника уровень генетического разнообразия характеризовали по частотам аллелей (p), среднему числу аллелей на локус (N_A), средней наблюдаемой (H_O) и ожидаемой (H_E) гетерозиготности, числу локусов с достоверным отклонением генотипов от теоретически ожидаемого распределения (N_{HW}), проценту полиморфных локусов (P_{95} и P_{99}). Межпопуляционные различия оценивали при помощи F-статистики Райта (Wright, 1951), коэффициентов генетических расстояний (Nei, 1973). Статистическая обработка данных была проведена в программе BIOSYS-1 (Swofford, Selander, 1981) и STATISTICA 6.0. Генотипы растений подорожника определены по полиморфным локусам Adh, Got-1 и Got-2.

Глава 3. Радиоэкологическая характеристика Уральского региона

3.1. Основные источники искусственных радионуклидов в Уральском регионе (историческая справка)

По литературным данным рассмотрены сведения об авариях и инцидентах на ПО «МАЯК», приведших к загрязнению окружающей среды (Итоги..., 1990; Заключение..., 1991; Последствия..., 2002).

3.2. Современная радиоэкологическая характеристика участков исследования в зоне ВУРСа

Описаны радиоэкологические особенности площадок, расположенных на центральной оси Восточно-Уральского радиоактивного следа: импактный участок

находится в 13 км от эпицентра взрыва (головная часть ВУРСа), а буферный – в 86 км (средняя часть). В качестве фоновой использовали площадку вне зоны радионуклидного загрязнения. Для всех участков характерен один тип сообщества – вторичный суходольный разнотравно-злаковый луг. Почва серая лесная. Концентрации ^{90}Sr и ^{137}Cs в верхнем слое почвы буферной площадки были выше по сравнению с фоновой на один, а импактной – на один-три порядка величин.

3.3. Современная радиэкологическая характеристика участков исследования в пойме р. Течи

Приводится радиэкологическая характеристика площадок, расположенных в пойменных экосистемах р. Течи. Участки заложены по обоим берегам реки примерно в 107 км от ее истока и в 5 км друг от друга. В качестве фоновой выбрана площадка в пойме р. Пышмы. Всем участкам свойственен один тип сообщества – вторичный пойменный разнотравно-злаковый луг. Почва аллювиально-слоистая. На левом и правом берегах р. Течи концентрация ^{90}Sr и ^{137}Cs в верхнем слое почвы выше по сравнению с фоновой площадкой на один-два порядка величин.

3.4. Расчет дозовых нагрузок на растения

Дополнительную дозовую нагрузку на наиболее чувствительные меристематические ткани материнских растений одуванчика и подорожника (практически не возвышающиеся над поверхностью почвы) рассчитывали, исходя из содержания ^{90}Sr и ^{137}Cs в верхнем корнеобитаемом слое. Она превысила фоновый уровень (10-12 мкР/ч) в 4 и 240 раз соответственно для средней и головной частей ВУРСа. За максимально возможный период жизни (20 лет) поглощенная доза для растений импактной ценопопуляции составляет ~5 Гр, а буферной – 0.056 Гр.

В пойменных экосистемах р. Течи дополнительная дозовая нагрузка на меристематические ткани одуванчика и подорожника в 30 раз превышает фоновый уровень. Максимально возможные поглощенные растениями за жизнь дозы близки и составляют на правом берегу 0.83 Гр, а на левом – 0.77 Гр. Эти значения не выходят за границы малых доз ионизирующего облучения для растений.

Глава 4. Эколого-генетическая характеристика ценопопуляций травянистых растений из зоны ВУРСа

4.1. Оценка жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства *Taraxacum officinale* s.l.

Жизнеспособность семенного потомства. У одуванчика наиболее жизнеспособное семенное потомство сформировалось в фоновой ценопопуляции, а наименее – в импактной выборке. В градиенте радионуклидного загрязнения наблюдается увеличение диапазона посемейной изменчивости показателей жизнеспособности, о чем свидетельствует высокие коэффициенты вариации (CV). Так, по выживаемости проростков в фоновой ценопопуляции $CV=11.6\%$, а в буферной и импактной выборках – 15.4 и 35.8% соответственно.

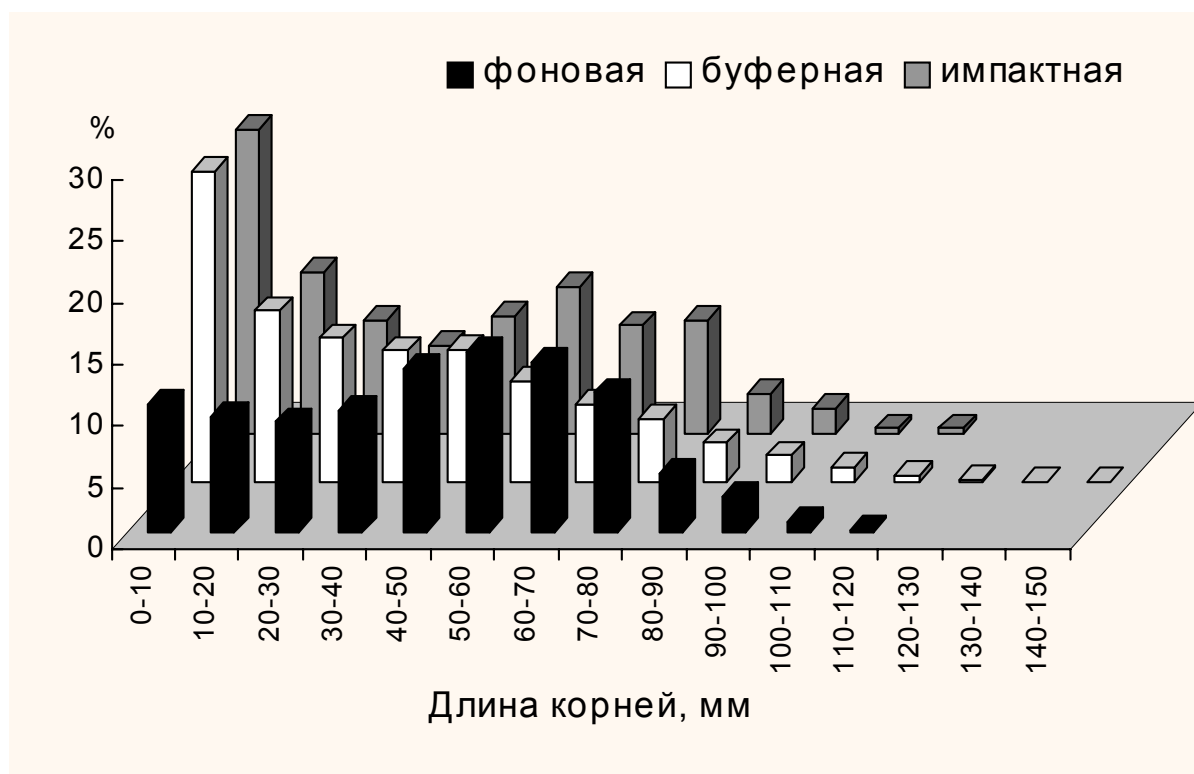


Рис. 1. Частотное распределение проростков одуванчика из ценопопуляций зоны ВУРСа по длине корней.

В градиенте увеличения дозовых нагрузок отмечено снижение числа семей, имеющих близкое к гауссовскому распределение длины корня. Анализ объединенных выборок (рассмотрение семей как единой совокупности данных в ценопопуляции) показал, что всем исследованным ценопопуляциям свойственно ненормальное распределение признака ($N_{\text{FON}}=1141$, $d=0.071$; $N_{\text{BUF}}=2173$, $d=0.107$; $N_{\text{IMP}}=250$, $d=0.125$; $p<0.01$) (рис. 1). В буферной ценопопуляции вариабельность

признака была наивысшей (1-145 мм). В обеих выборках из зоны ВУРСа доминировали проростки с короткими корнями

Радиочувствительность семенного потомства. Наибольшая чувствительность к провокационному облучению характерна для семенного потомства одуванчика из головной части следа. Нестабильность в ответе на провокационное облучение, обнаруженную у буферной выборки по показателю листообразования, можно считать следствием действия малых доз ионизирующих излучений (рис. 2). Фоновой ценопопуляции одуванчика была свойственна классическая дозовая зависимость.

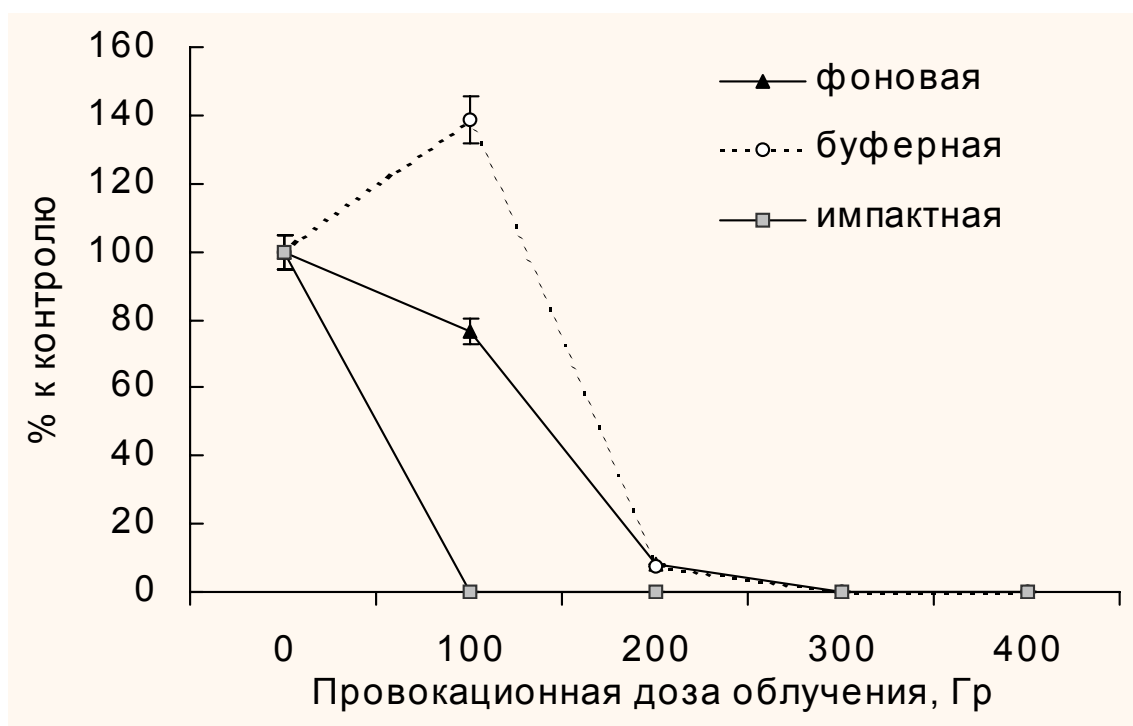


Рис. 2. Зависимость числа проростков одуванчика с настоящими листьями из ценопопуляций зоны ВУРСа от дозы провокационного облучения.

Посемейный анализ радиочувствительности семенного потомства. По показателю «выживаемость одномесячных проростков» в отдельных семьях буферной и импактной ценопопуляций выявлены стимулирующий (150-180% от собственного необлученного контроля) и подавляющий (практически до 0%) эффекты. Фоновая ценопопуляция характеризовалась меньшей амплитудой изменчивости (рис. 3).

Мутабельность семенного потомства. В хронически облучаемых ценопопуляциях одуванчика наблюдается высокая мутабельность семенного потомства.

К примеру, число проростков с некрозами корней в фоновой ценопопуляции было менее 0.05%, в то время в буферной и импактной выборках их количество составило 15 и 30% соответственно. У потомков облученных растений превышена также доля проростков с глубокими поражениями всех органов, с нарушением формы и цвета семядолей.

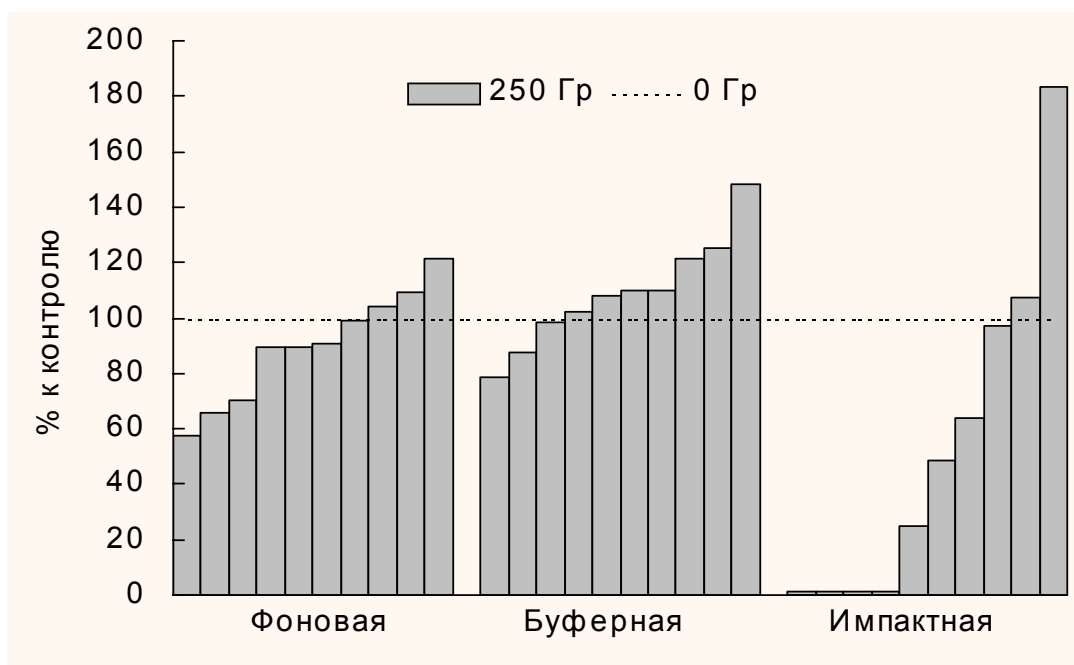


Рис. 3. Посемейная изменчивость выживаемости проростков одуванчика из ценопопуляций зоны ВУРСа при провокационном облучении.

4.2. Изменчивость ферментных систем в ценопопуляциях одуванчика лекарственного

Аллозимная структура ценопопуляций. Всего в выборках обнаружено 42 фена. Каждой хронически облучаемой выборке было свойственно 8 уникальных морф. Фенов, характерных только для фоновой выборки, не обнаружено. В градиенте загрязнения отмечен факт существенного преобладания морфы Got₄ (в буферной и импактной ценопопуляциях доминирование составило 56 и 69% при фоновом уровне 11%). Возможно, это свидетельствует об адаптивном характере подобного полиморфизма ферментной системы GOT.

Клональная структура ценопопуляций. На всех изученных площадках был выделен 21 клон (рис. 4). В фоновой выборке число растений с разными аллозимными фенотипами (клонами) составило 10, в буферной ценопопуляции – 7, а в импактной – 6. Эти данные свидетельствуют о снижении клонального разнообра-

зия в градиенте дозовых нагрузок на растения. В зоне ВУРСа доминировали растения с идентичным аллозимным фенотипом.

Аллозимное фенотипическое разнообразие выборок. Во всех исследованных ценопопуляциях мономорфными оказались системы GDH, а также ADH в фоновой выборке. Значения индекса разнообразия (μ), рассчитанные для PGI-2 и 6-PGDH, примерно в 2 раза были выше на импактном участке по сравнению с остальными выборками. Полиморфизм GOT был в 2 раза больше в средней части ВУРСа по сравнению с фоновым уровнем, и в 1.5 раза выше, чем в импактной ценопопуляции.

Доля редких морф. По большинству ферментных систем доля редких морф (h_{μ}) в хронически облучаемых выборках была выше фонового уровня. Общее количество редких морф (1-3 растения на выборку) в фоновой ценопопуляции составило 3, в буферной – 8, в импактной – 10. Это подтверждает факт увеличения изменчивости ферментных систем у одуванчика из зоны ВУРСа за счет редких морф.

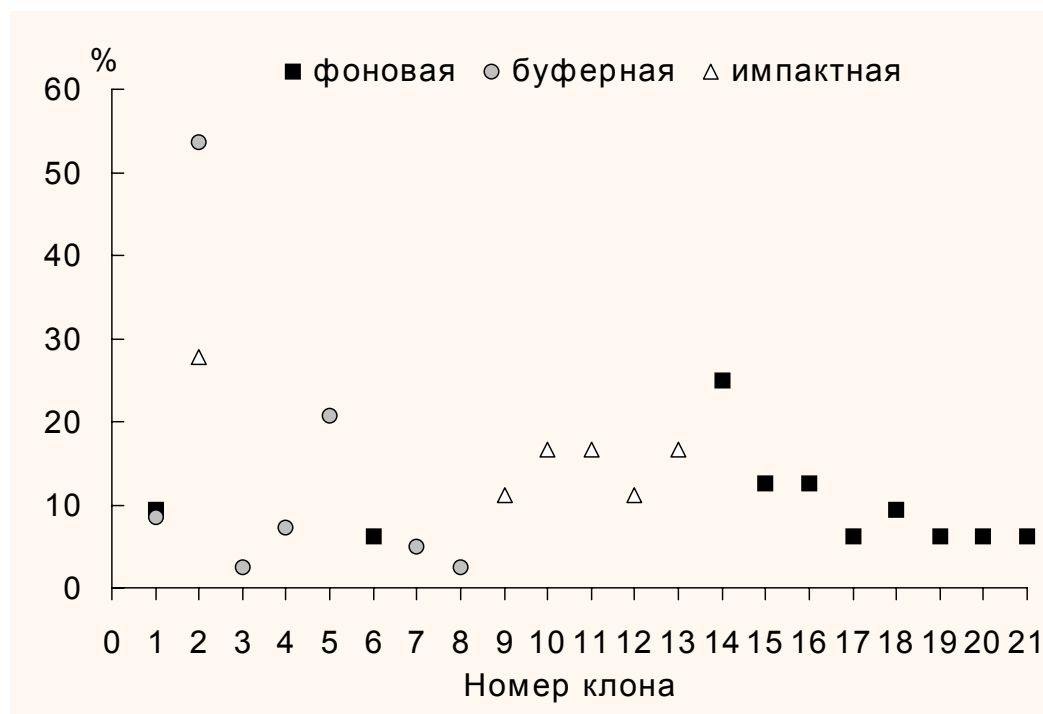


Рис. 4. Клональная структура ценопопуляций одуванчика из зоны ВУРСа.

4.3. Оценка жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства *Plantago major* L.

Жизнеспособность семенного потомства. Семена буферной ценопопуляции по всем показателям были менее жизнеспособны по сравнению с фоновым уровнем. Семенное потомство импактной выборки имело преимущество перед буферной. В то же время значимые различия между импактной и фоновой ценопопуляциями были установлены только по энергии прорастания и всхожести семян, а также выживаемости проростков (точный критерий сравнения долей; $N_{IMP}=785$ и $N_{FON}=964$; $p=0.0000-0.00009$). Наибольшая индивидуальная изменчивость выживаемости проростков подорожника была характерна для хронически облучаемых выборок. В буферной и импактной ценопопуляциях лимиты составили 12-60% и 10-86% соответственно, а в фоновой – 34-72%.

Радиочувствительность семенного потомства. В ходе эксперимента выявлена достоверная зависимость от облучения выживаемости проростков (рис. 5). Для фоновой ценопопуляции была получена классическая кривая «доза-эффект». В то же время для семенного потомства растений из ценопопуляций ВУРСа характерен нетипичный ответ на провокационное облучение. У проростков импактной выборки выживаемость при большой дозе облучения не снижалась, однако скорость формирования настоящих листьев была очень низка.

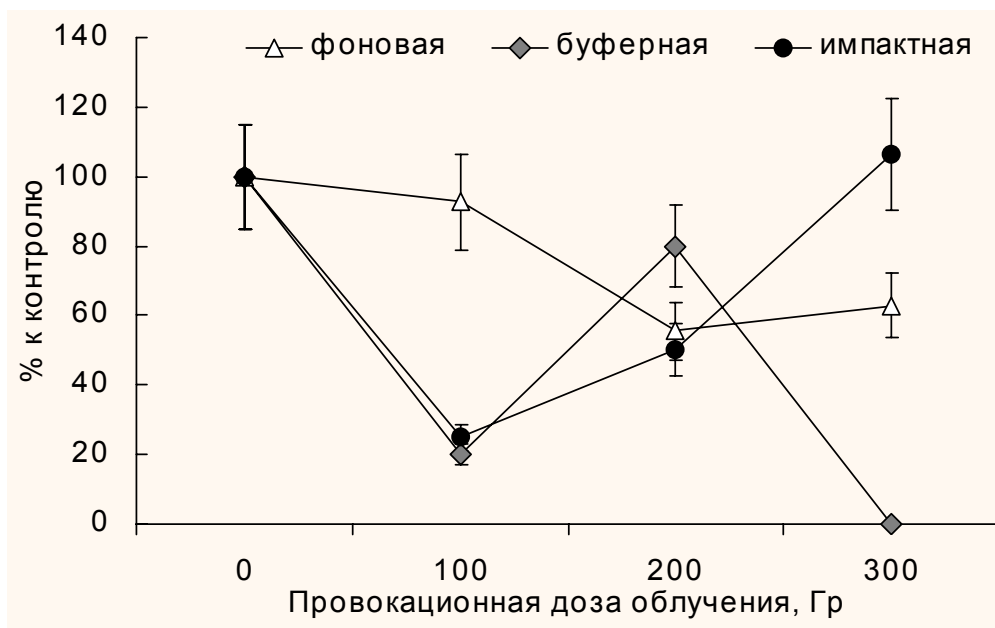


Рис. 5. Выживаемость проростков подорожника в зависимости от дополнительного облучения.

Индивидуальный анализ радиорезистентности семенного потомства. В условиях дополнительного облучения выживаемость проростков фоновой выборки снижалась незначительно (до 72%), у потомства отдельных растений отмечен стимулирующий эффект (до 150% от собственного необлученного контроля). В то же время в буферной выборке лимиты составили 17.9-340%, а в импактной ценопопуляции индивидуальная изменчивость выживаемости проростков варьировала от 47 до 227%.

Мутабельность семенного потомства. У проростков подорожника обнаружено меньшее по сравнению с одуванчиком разнообразие аномалий в развитии, однако, в ценопопуляциях из зоны ВУРСа число проростков с тератами также превышало фоновый уровень. Например, среднее число некрозов корней у проростков фоновой выборки составило 0.53% (при диапазоне индивидуальной изменчивости 0-0.39%), в буферной – 28.6% (13.8-40.8%), а в импактной – 53.4% (6.4-93.3%). Это свидетельствует об увеличении генетического груза в ценопопуляциях. В условиях провокационного облучения число скрытых повреждений в буферной выборке было значительно выше, чем в импактной (рис. 6).

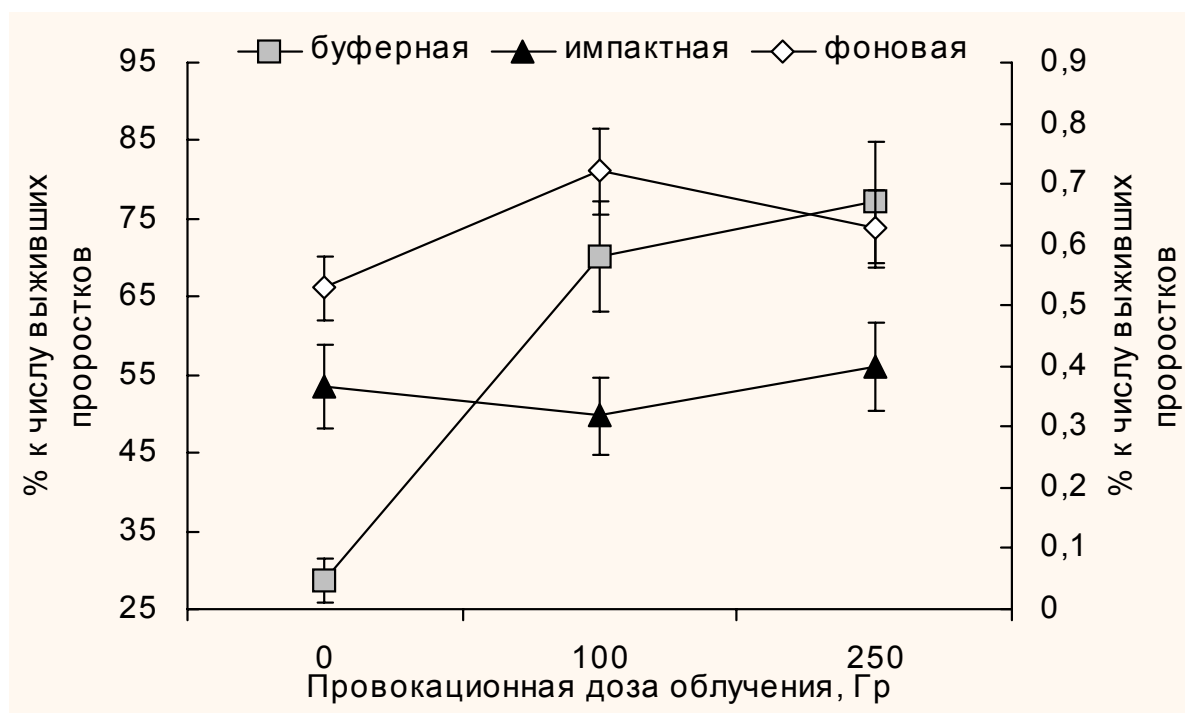


Рис. 6. Изменчивость числа проростков с некрозами корней в условиях провокационного облучения. Значения показателя для фоновой ценопопуляции отложены на вспомогательной оси (справа).

4.4. Изменчивость ферментных систем в ценопопуляциях подорожника большого

Полиморфными у подорожника большого оказались ферментные системы ADH – 1 locus (2 аллеля) и GOT – 2 locus: Got-1 (2 аллеля) и Got-2 (3 аллеля).

Внутрипопуляционная генетическая изменчивость. Установлено, что в фоновой ценопопуляции частоты аллелей локуса Adh находятся в равновесии. В хронически облучаемых выборках наблюдается смещение на 18-28% в пользу аллеля Adh₃. По частотам аллеля Got-1₂ фоновая выборка была близка с импактной, а по Got-2₂ – с буферной. Можно предполагать независимый от радиационного фактора полиморфизм по двум locusам Got.

На основании частот аллелей ген-ферментных locusов в каждой ценопопуляции подорожника большого рассчитаны значения основных показателей генетической изменчивости (табл. 1). Поскольку аллель Got-1₃ обнаружен только в фоновой выборке, среднее число аллелей на locus было больше по сравнению с остальными ценопопуляциями. Наблюдаемая гетерозиготность (H_O) в фоновой ценопопуляции оказалась выше, чем в хронически облучаемых выборках.

Наименьший процент полиморфных locusов (P_{95}) был характерен для импактной ценопопуляции, а наибольший – для буферной. Сходная ситуация обнаружена при расчете эффективного числа аллелей и средней ожидаемой гетерозиготности.

Таблица 1. Значения основных показателей генетической изменчивости в ценопопуляциях *P. major* L. из зоны ВУРСа

Ценопопуляция	P_{95} , %	P_{99} , %	N_A	H_O	H_E	n_e
Фоновая	18.18	27.27	1.36±0.20	0.043±0.025	0.086±0.052	1.09
Буферная	27.27	27.27	1.27±0.14	0.029±0.017	0.107±0.056	1.12
Импактная	9.09	27.27	1.27±0.14	0.033±0.025	0.047±0.040	1.05
Среднее	18.18	27.27	1.30±0.16	0.035±0.022	0.080±0.049	1.09

Примечание: P_{95} и P_{99} - процент полиморфных locusов при 95%- и 99%-ных критериях полиморфности, N_A - среднее число аллелей на locus, средняя наблюдаемая (H_O) и ожидаемая (H_E) гетерозиготность, n_e – эффективное число аллелей. Для N_A , H_O и H_E указаны стандартные ошибки.

В целом импактная ценопопуляция характеризуется самым низким генетическим разнообразием, а буферная выборка – самым высоким. Превышение в 1.4-3.7 раз

средней ожидаемой гетерозиготности над наблюдаемой свидетельствует о высоком коэффициенте инбридинга в ценопопуляциях подорожника.

Внутривидовая дифференциация ценопопуляций. Коэффициент инбридинга каждой особи подорожника относительно ценопопуляции в целом (F_{IS}) составил 53.5%, а инбридинг особи относительно вида был несколько выше ($F_{IT}=57.42\%$). Коэффициент инбридинга популяции относительно вида в целом (F_{ST}) свидетельствует о том, что только 8.5% от выявленной генетической изменчивости распределяется между ценопопуляциями, а свыше 91% ее реализуется за счет внутривидовой изменчивости.

В ценопопуляциях подорожника обнаружено 20 генотипов, в фоновой выборке их было 17 (7 из них – уникальные), в буферной – 13 (3), а в импактной – 6 (0). На всех участках доминировали растения с разными аллозимными гомозиготными генотипами (рис. 7). Полученные данные свидетельствуют о снижении генотипического разнообразия в ценопопуляциях подорожника в градиенте радионуклидного загрязнения и об усилении доминирования определенного генотипа.

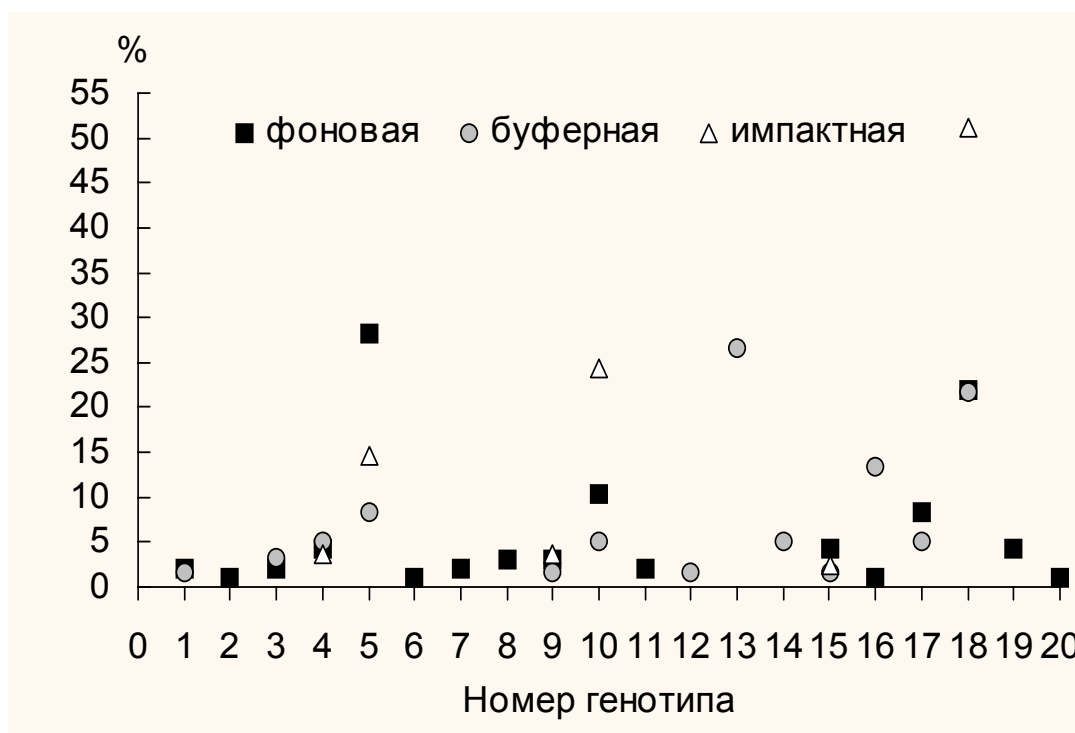


Рис. 7. Генотипическая изменчивость ценопопуляций подорожника большого из зоны ВУРСа.

Глава 5. Эколого-генетическая характеристика ценопопуляций травянистых растений из пойменных экосистем р. Течи

5.1. Оценка жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства *Taraxacum officinale* s.l.

Жизнеспособность семенного потомства. Наиболее жизнеспособное семенное потомство (оценка по энергии прорастания, всхожести семян, выживаемости проростков, числу проростков с настоящим листом и длине корня) формировалось в фоновой ценопопуляции одуванчика, а наименее – в правобережной выборке поймы р. Течи (F-критерий, $p=0.00034-0.00084$). Жизнеспособность семян левобережной выборки в один год не отличалась от фонового уровня (F-критерий, $p=0.23-0.78$), в другие была ниже его (F-критерий, $p=0.00001-0.000875$). В сезоны с низкой выживаемостью проростков левобережной ценопопуляции отмечен наибольший диапазон посемейной изменчивости ($CV=44.3\%$ при фоновом уровне $CV=19.2\%$). Правобережная выборка по вариабельности выживаемости ($CV=22.4\%$) отличалась от левобережной ($CV=13\%$).

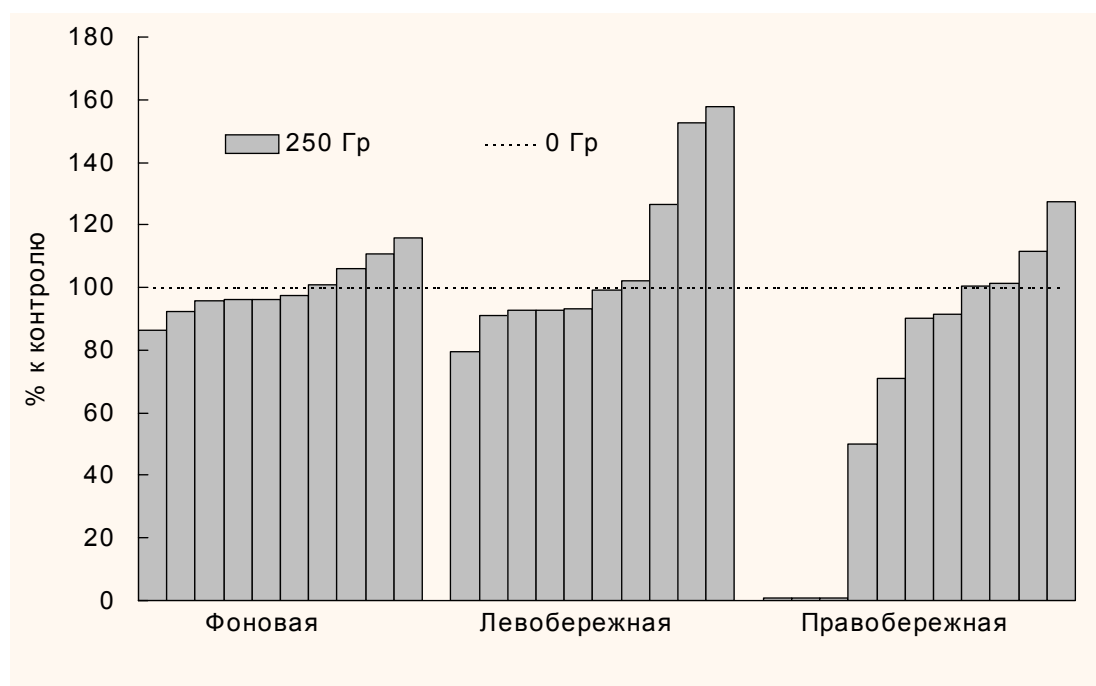


Рис. 8. Посемейная изменчивость выживаемости проростков одуванчика из разных ценопопуляций при провокационном облучении.

Радиочувствительность семенного потомства. В предварительном эксперименте сравнивали реакции на облучение в широком диапазоне доз левобережной ценопопуляции и фоновой выборки. Обнаружено, что по всем показателям

большая чувствительность к облучению характерна для хронически облучаемой ценопопуляции. Наиболее четко подавляющий эффект выявлен по числу проростков с настоящими листьями.

Посемейный анализ радиочувствительности семенного потомства. Семьи неоднозначно реагировали на провокационное облучение. Так, в фоновой выборке посемейная изменчивость выживаемости находилась в границах 86.2-115.7% от собственного необлученного контроля, а в левобережной и правобережной – 79.5-157.9% и 1-127.5% соответственно (рис. 8). В левобережной ценопопуляции одуванчика доля устойчивых к облучению семей больше, чем в правобережной.

Мутабельность семенного потомства. В левобережной ценопопуляции доля проростков с некрозом семядолей в семь раз превышала фоновый уровень. Хлорофильные мутации в правобережной выборке отмечались у 5.9% проростков (диапазон посемейной изменчивости 0-20.8%), в левобережной – 3.5% (0-10.2%), а в фоновой – 2.8% (0-7.1%).

5.2. Изменчивость ферментных систем в ценопопуляциях одуванчика лекарственного

Аллозимная структура ценопопуляций. Общее для трех пойменных ценопопуляций число фенов равно 60. Различия между ценопопуляциями проявились по частотам морф. Так, фен Pgi-1₃ встречался в шесть раз чаще в правобережной ценопопуляции, а доли Got₄ и Got₁₂ в левобережной выборке были в 2-19 раз выше по сравнению с остальными.

Клональная структура пойменных ценопопуляций. На всех изученных участках нами было выделено 23 клона (рис. 9). В левобережной ценопопуляции выявлено 11 клонов (7 из них – уникальные), в правобережной – 4 (2), а в фоновой – 13 (10). В пойменных экосистемах р. Течи доминировали растения с уникальными фенотипами. На фоновом участке преобладал клон, встречающийся и на левом берегу р. Течи. В целом клональное разнообразие в фоновой ценопопуляции выше, а доминантный аллозимный фенотип представлен вдвое реже, чем на импактных площадках.

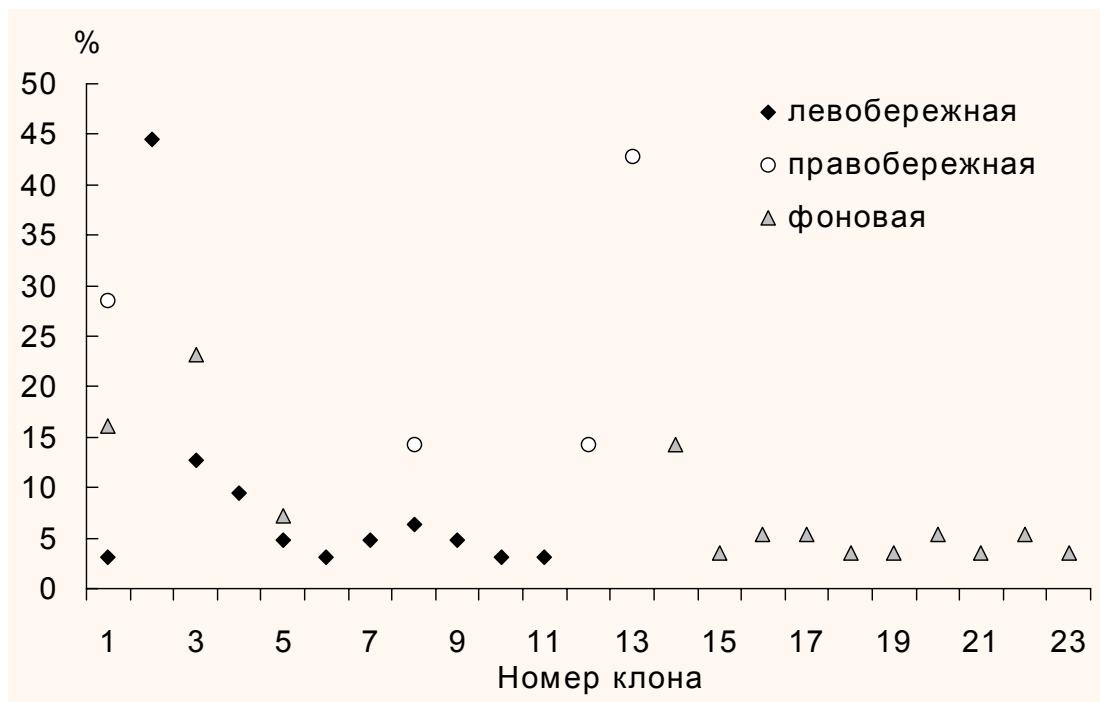


Рис. 9. Клональная структура пойменных ценопопуляций одуванчика.

Аллозимное фенотипическое разнообразие выборок. Мономорфными ферментными системами оказались EST в левобережной выборке, а также GDH в пойме р. Течи. На фоновом участке мономорфных систем не обнаружено. В хронически облучаемых выборках высок уровень полиморфизма у PGI, однако, в правобережной ценопопуляции отмечена большая изменчивость первой зоны активности, а в левобережной – второй.

Доля редких морф. Импактные выборки различаются между собой по всем ферментным системам, кроме PGI-2. По вкладу редких морф левобережная и фоновая ценопопуляции близки по 6-PGDH, SDH, ADH, GOT и DIA, а правобережная и фоновая – по FDH и EST. Общее количество редких морф в фоновой выборке составило 12, а в лево- и правобережной – 11 и 10 соответственно.

5.3. Оценка жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства *Plantago major* L.

Жизнеспособность семенного потомства. В первый год исследования жизнеспособность семенного потомства левобережной выборки мало отличалось от фонового уровня (точный критерий сравнения долей, $p=0.87$), а правобережной было наименее жизнеспособным ($p=0.0001$).

Во второй год исследования наиболее жизнеспособное семенное потомство подорожника сформировалась в фоновой ценопопуляции ($p=0.00000002-0.048$). Семенное потомство подорожника из левобережной ценопопуляции уступало правобережной. Обеим выборкам из поймы р. Течи были свойственны вдвое большие по сравнению с фоновой диапазоны индивидуальной изменчивости по показателю листообразования.

Радиорезистентность семенного потомства. Выживаемость потомства растений из импактных ценопопуляций при провокационном облучении с ростом дозы не только не снижалась, но увеличивалась, например, в правобережной выборке до 235%. Этот феномен можно расценивать как проявление преадаптации семенного потомства к дополнительному облучению. Эффект стимуляции отмечен у проростков фоновой ценопопуляции (100-150 Гр), однако, при облучении в дозе 300 Гр их выживаемость была близка к нулю (рис. 10).

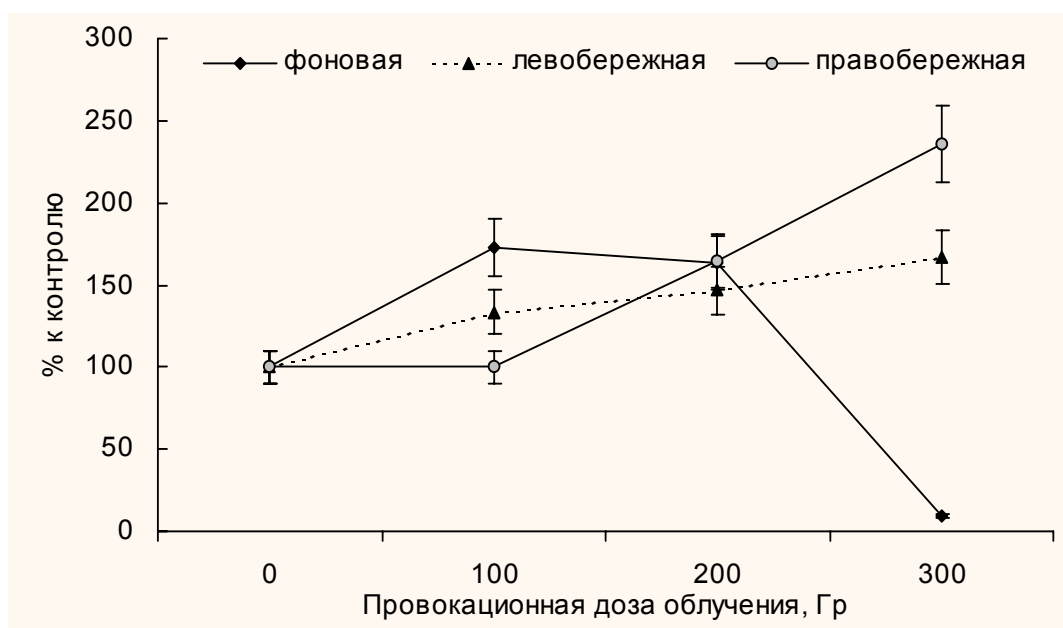


Рис. 10. Зависимость выживаемости проростков подорожника из разных выборок при провокационном облучении в широком диапазоне доз.

Мутабельность семенного потомства. Для пойменных ценопопуляций подорожника характерна нестабильность в проявлении нарушений в морфогенезе проростков в разные сезоны. Так, в первый год исследования у хронически облучаемых выборок процент проростков с некрозами семядолей был ниже фонового и составлял 0.9-4.7%, а во второй год в левобережной выборке доля проростков с

данной аномалией была в два раза выше по сравнению с фоновой ценопопуляцией. Восстановление ростовых процессов за счет образования боковых корней у правобережных проростков было более интенсивным в варианте без дополнительного облучения, а левобережных – при провокационном облучении (рис. 11).

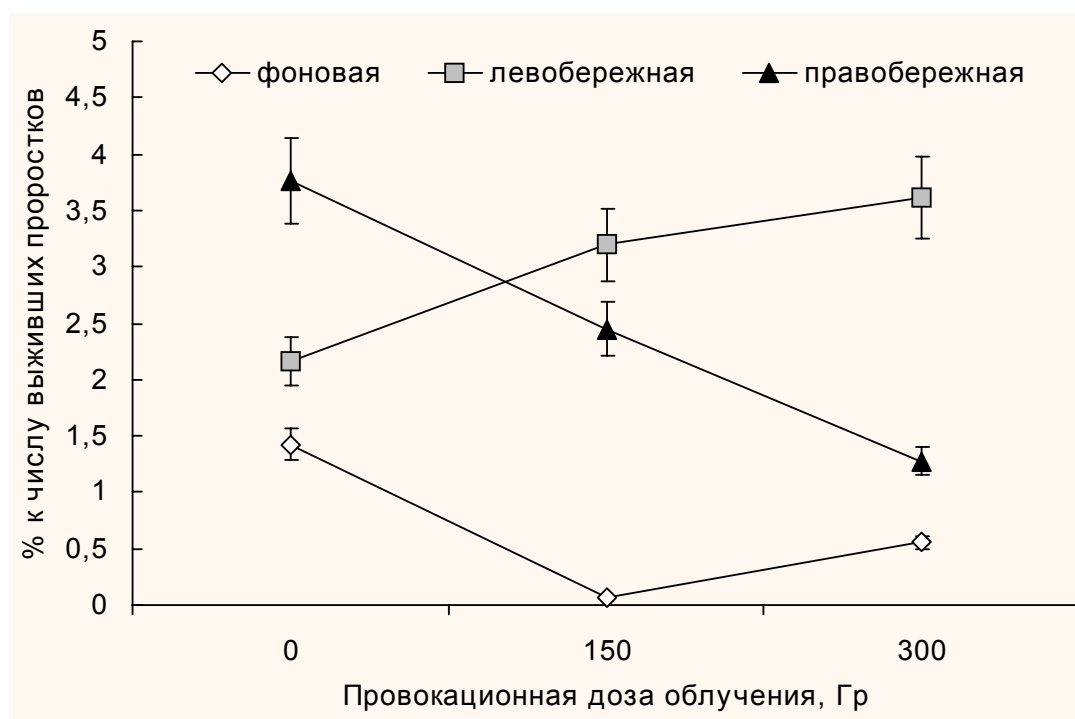


Рис. 11. Влияние дополнительного облучения на восстановление ростовых процессов за счет образования боковых корней у проростков из разных выборок.

5.4. Изменчивость ферментных систем в ценопопуляциях подорожника большого

Внутрипопуляционная генетическая изменчивость. В левобережной ценопопуляции частоты аллелей локуса Adh близки к соотношению 1:1 (0.56:0.44). В фоновой выборке обнаружено большее смещение в пользу аллеля Adh₂, а правобережной – Adh₃ (на 38%). В правобережной ценопопуляции локус Got-1 оказался мономорфным. По локусу Got-2 во всех выборках доминировал второй аллель.

На основании частот аллелей ген-ферментных локусов были рассчитаны значения основных показателей генетической изменчивости (табл. 2). В пойменных ценопопуляциях подорожника наблюдаемая гетерозиготность в 1.8-3.2 раза была меньше ожидаемой, что свидетельствует о высоком коэффициенте инбридинга. В полиморфном состоянии в пойменных выборках находится 18.2% локусов при

95%-ном критерии оценки и 24.3% – при 99%-ном критерии. Изменчивость фоновой ценопопуляции была наивысшей, а правобережной – наименьшей.

Внутривидовая дифференциация ценопопуляций. Показатель F_{IS} , характеризующий коэффициент инбридинга особи относительно популяции, составляет 0.6080, что указывает на 60.8%-ный дефицит гетерозиготных генотипов. Критерий F_{IT} , отражающий инбридинг особи относительно вида, был на 5% больше. Только 13% от выявленной генетической изменчивости приписывается межпопуляционной компоненте ($F_{ST}=0.1300$), а 87% реализуется за счет внутривидовой изменчивости.

Таблица 2. Значения основных показателей генетической изменчивости в ценопопуляциях *P. major* L.

Ценопопуляция	$P_{95}, \%$	$P_{99}, \%$	N_A	H_O	H_E	n_e
Фоновая	27.27	27.27	1.27±0.14	0.035±0.032	0.064±0.044	1.07
Левобережная	18.18	27.27	1.27±0.14	0.028±0.016	0.089±0.057	1.10
Правобережная	9.09	18.18	1.18±0.12	0.013±0.009	0.041±0.033	1.04
Среднее	18.18	24.24	1.24±0.13	0.025±0.019	0.065±0.045	1.07

Примечание: P_{95} и P_{99} - процент полиморфных локусов при 95%- и 99%-ных критериях полиморфности, N_A - среднее число аллелей на локус, средняя наблюдаемая (H_O) и ожидаемая (H_E) гетерозиготность, n_e – эффективное число аллелей. Для N_A , H_O и H_E указаны стандартные ошибки.

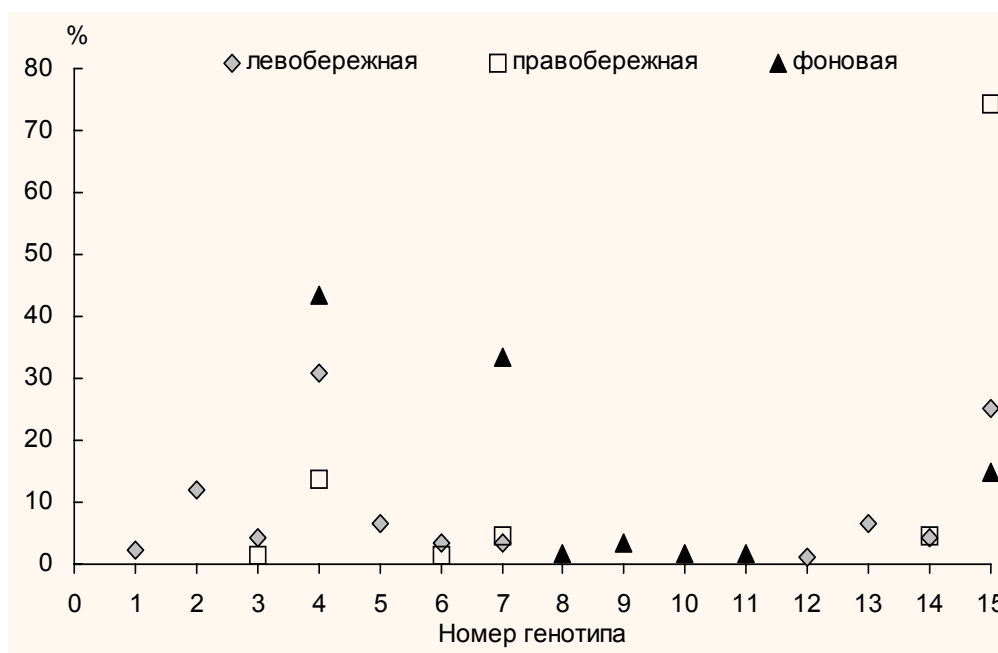


Рис. 12. Генотипическая изменчивость ценопопуляций подорожника из пойменных экосистем.

В пойменных экосистемах у подорожника обнаружено 15 аллозимных генотипов, в левобережной выборке их выделено 11 (5 из них – уникальные), в правобережной – 5 (0), а в фоновой – 7 (4). В левобережной и фоновой ценопопуляциях подорожника доминировали растения с идентичным аллозимным генотипом (рис. 12). В правобережной ценопопуляции доля преобладающего генотипа достигла 74%. Все доминанты представлены гомозиготами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексное исследование природных ценопопуляций *T. officinale* s.l. и *P. major* L., произрастающих в условиях длительного воздействия ионизирующих излучений на фоне разных экологических факторов, выявило черты сходства и различия изучаемых видов. В суходольных экосистемах у одуванчика обнаружено увеличение полиморфизма ферментов во всех ценопопуляциях из зоны ВУРСа, а у подорожника – только в буферной. Кроме того, в обеих хронически облучаемых выборках *T. officinale* s.l. доминировали растения с идентичным аллозимным фенотипом, а *P. major* L. – с разными генотипами. Радиочувствительность семян подорожника была выше, чем одуванчика. Возможно, с этим связаны меньшая аллозимная изменчивость подорожника из импактной выборки и большая устойчивость его семенного потомства к провокационному облучению, поскольку в силу более жесткого естественного отбора доля радиоустойчивых растений в популяции, как правило, увеличивается.

Сравнение суходольных и пойменных ценопопуляций обоих видов показало, что различия между ними неоднозначны. Принципиально важно, что левобережные и правобережные выборки обоих видов, несмотря на сходный уровень радионуклидного загрязнения и увлажненности почв, по большинству изученных показателей различались между собой. Это свидетельствует о том, что возможны несколько путей адаптации к действию радиации, при этом определяющую роль будут играть исходная структура ценопопуляций, изоляция и интенсивность дозовых нагрузок.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в условиях хронического облучения в малых дозах в ценопопуляциях растений из зоны ВУРСа происходит направленный сдвиг частот морф ферментов (*T. officinale* s.l.) и аллелей ген-ферментных локусов (*P. major* L.). Предполагается адаптивный характер этого феномена.
2. Клональная изменчивость ценопопуляций одуванчика и генотипическая вариабельность подорожника в градиенте радионуклидного загрязнения зоны ВУРСа снижается, при этом доминирующая роль определенного фенотипа и генотипа усиливается. В буферной и импактной ценопопуляциях *T. officinale* s.l. ВУРСа преобладает общий клон, а в выборках *P. major* L. – разные аллозимные генотипы, что, вероятно, связано с видовыми особенностями.
3. Увеличение аллозимного полиморфизма наблюдается в обеих ценопопуляциях одуванчика из зоны ВУРСа, а у подорожника – только в буферной. Этим выборкам характерны также широкие диапазоны изменчивости показателей жизнеспособности, нестабильность в ответе на провокационное облучение и высокая доля проростков с аномалиями в развитии.
4. Низкая изменчивость ген-ферментных локусов импактной выборки *P. major* L. наряду с высокой устойчивостью его семенного потомства к провокационному облучению возможно свидетельствует об усиленном отборе в пользу наиболее радиоустойчивых организмов.
5. В условиях пролонгированного низкоинтенсивного облучения ценопопуляций *T. officinale* s.l. и *P. major* L. в пойме р. Течи выявлены генетические основы различий в показателях жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства. Показано, что в выборках доминируют разные морфы энзимов и аллели ген-ферментных локусов, а также аллозимные фенотипы и генотипы. По большинству показателей левобережные ценопопуляции обоих видов близки к фоновым.
6. Для правобережных ценопопуляций одуванчика и подорожника из поймы р. Течи характерно наименьшее разнообразие ферментных систем. При этом у *P. major* L. отмечены умеренный диапазон индивидуальной изменчивости жизне-

способности семенного потомства и низкий уровень его мутабельности, а у одуванчика эти показатели были очень высоки.

7. Значительная часть аномалий на начальной стадии развития потомства хронически облучаемых растений одуванчика и подорожника скрыта и выявляется только в условиях провокационного облучения.
8. В условиях радионуклидного загрязнения у генетически различных ценопопуляций растений возможны разные пути приспособления к хроническому действию малых доз радиации. В зависимости от интенсивности воздействия, исходной популяционной структуры отбор может идти разными путями. Важную роль, определяющую успешность существования ценопопуляций в течение длительного времени, играют и другие экологические факторы, в частности повышенная увлажненность биотопов и погодные условия.

ОСНОВНЫЕ РАБОТЫ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Ульянова Е.В., Хорош Е.В.** Характеристика семенного потомства *Taraxacum officinale* s.l. из зоны ВУРСа // Биота горных территорий: история и современное состояние: Материалы конф. молодых ученых (15-19 апр. 2002 г.). Екатеринбург, 2002. С. 240-244.
2. **Позолотина В.Н., Ульянова Е.В.** Фенотипическое проявление признаков и их интерпретация у *Taraxacum officinale* s.l. из радиоактивно загрязненных территорий // Актуальные проблемы генетики: Материалы 2-й науч. конф. МОГиС, посвященной 115-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова. М., 2003. Т. 2. С. 317-318.
3. **Ульянова Е.В.** Изменчивость ферментов в ценопопуляциях *Taraxacum officinale* s.l. под действием малых доз радиации в пойме реки Течи // Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы докл. X молодеж. науч. конф. (Сыктывкар, Республика Коми, Россия, 15-17 апр. 2003 г.). Сыктывкар, 2003. С. 229-231.
4. **Ульянова Е.В.** Эколого-генетическая характеристика одуванчика лекарственного из пойменных экосистем р. Течи // Проблемы глобальной и региональной

экологии: Материалы конф. молодых ученых (31 марта – 4 апр. 2003 г.). Екатеринбург, 2003. С. 286-295.

5. **Ульянова Е.В.** Фенотипическая изменчивость признаков в ценопопуляции одуванчика лекарственного в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа // Природные и городские экосистемы: проблемы изучения биоразнообразия: Сб. ст. участников молодеж. науч. семинара (Екатеринбург, 9-11 апреля 2002 г., 20-23 апреля 2003 г.). Екатеринбург, 2003. С. 117-123.
6. **Позолотина В.Н., Саранульцев И.Е., Ульянова Е.В.** Изменчивость ферментных систем одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* s.l.) в условиях радиоактивного стресса // Уч. зап. Нижнетагильской государственной социально-педагогической академии: Материалы VI Всерос. популяц. семинара. Нижний Тагил, 2004. С. 180-183.
7. **Ульянова Е.В., Позолотина В.Н.** Вариабельность признаков в ценопопуляциях *Taraxacum officinale* s.l. при хроническом облучении в малых дозах // Методы популяционной биологии: Сб. ст. VII Всерос. популяц. семинара (Сыктывкар, 16-21 февраля 2004 г.). Сыктывкар, 2004. Ч. 1. С. 217-219.
8. **Ульянова Е.В., Позолотина В.Н., Антонов К.Л.** Изменчивость жизнеспособности, радиорезистентности и мутабельности семенного потомства *Plantago media* L. из ценопопуляций зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // Проблемы спектроскопии и спектрометрии: Межвуз. сб. науч. тр. Екатеринбург, 2004. Вып. 16. С. 191-199.
9. **Позолотина В.Н., Ульянова Е.В.** Особенности локальных ценопопуляций одуванчика в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа // Современные достижения в исследованиях окружающей среды и экологии: Сб. науч. ст., посвященный памяти академика В.Е. Зуева / Под общ. ред. В.В. Зуева. Томск, 2004. С. 145-148.
10. **Ульянова Е. В., Антонов К. Л.** Особенности ценопопуляций подорожника большого из пойменных экосистем реки Течи // Актуальные проблемы биологии и экологии: Одиннадцатая молодеж. науч. конф. Ин-та биологии Коми НЦ УрО РАН: Материалы докл. (19-23 апр. 2004 г., Сыктывкар). Сыктывкар, 2004. – (Пятнадцатая Коми респ. молодеж. науч. конф.; Т. 2). С. 306-308.

11. **Ульянова Е.В., Позолотина В.Н.** Изменчивость ферментных систем в ценопопуляциях одуванчика лекарственного из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // Радиационная биология. Радиозэкология. 2004. Т.44, № 5. С. 598-603.
12. **Ульянова Е.В., Позолотина В.Н., Саранульцев И.Е.** Эколого-генетическая характеристика ценопопуляций *Taraxacum officinale* s.l. из пойменных экосистем р. Течи // Экология. 2004. № 5. С.349-357.
13. **Ульянова Е.В.** Особенности ценопопуляций *Plantago major* L. на территории Восточно-Уральского радиоактивного следа // Экологические механизмы динамики и устойчивости биоты: Материалы конф. молодых ученых (19-23 апр. 2004 г.). Екатеринбург, 2004. С. 259-269.
14. **Позолотина В.Н., Ульянова Е.В., Саранульцев И.Е.** Биоиндикация радионуклидного загрязнения экосистем при помощи растений // Урал. Радиация. Реабилитация / Под ред. В.Н. Чуканова. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. С. 183-200.
15. **Позолотина В.Н., Ульянова Е.В.** Жизнеспособность и радиочувствительность семенного потомства *Plantago major* из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: Материалы Всерос. науч. конф. (11-15 окт. 2004 г.). Челябинск, 2004. С. 221-226.