

Институт экологии растений и животных УрО РАН

# **ЭКОЛОГИЯ: ФАКТЫ, ГИПОТЕЗЫ, МОДЕЛИ**

Материалы конференции молодых ученых,  
посвященной Году экологии в России  
27–31 марта 2017 г.



Екатеринбург

2017

УДК 574 (061.3)

Э 40



**Экология:** факты, гипотезы, модели. Материалы конф. молодых ученых, 27–31 марта 2017 г. / ИЭРиЖ УрО РАН – Екатеринбург: ИД «ЛИСИЦА», 2017. – 160 с.

В сборнике опубликованы материалы Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной Году экологии в России «Экология: факты, гипотезы, модели». Мероприятие проходило в Институте экологии растений и животных УрО РАН с 27 по 31 марта 2017 г. Работы посвящены проблемам изучения биологического разнообразия на популяционном, видовом и экосистемном уровнях, этологии, анализу экологических закономерностей эволюции, поиску механизмов адаптации биологических систем к экстремальным условиям, а также популяционным аспектам экотоксикологии, радиобиологии и радиоэкологии.

В оформлении обложки использована фотография победителя фотоконкурса конференции В.В. Кукарских «Кольца судьбы».

ISBN 978-5-9500954-4-3



9 785950 095443

© Авторы, 2017

© ИЭРиЖ УрО РАН, 2017

© Оформление, ИД «ЛИСИЦА», 2017

# Аллозимный полиморфизм в популяциях подорожника большого *Plantago major* L. из зон радиоактивного и химического загрязнения

Н.С. Шималина<sup>1</sup>, Е.И. Складорова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург

<sup>2</sup>Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург

---

*Ключевые слова:* подорожник, *Plantago major*, ионизирующее излучение, тяжелые металлы, аллозимы.

## ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды приводит к изменению эколого-генетической структуры природных популяций, что позволяет им выполнять свои биогеоценотические функции в изменившихся условиях, и является одним из проявлений адаптационных процессов (Безель, 2006). Цель работы — оценка изменчивости аллозимных локусов в ценопопуляциях подорожника большого (*Plantago major* L.), длительное время произрастающих в градиенте радиоактивного или химического загрязнения.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Подорожник большой — многолетнее травянистое поликарпическое растение из семейства Plantaginaceae Juss. Размножается преимущественно семенами (Онтогенетический..., 1997). Вид диплоидный,  $2n=12$  (Хромосомные..., 1969).

Семена подорожника собирали в головной части Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРСа) и в зоне воздействия Карабашского медеплавильного завода (КМЗ). ВУРС сформировался в результате взрыва емкости с радиоактивными отходами в сентябре 1957 г. на производственном объединении «Маяк». Реперные радионуклиды —  $Sr^{90}$  и  $Cs^{137}$ . На территории ВУРСа были выбраны три площадки на разном удалении от эпицентра аварии (7–17 км). Дозовые нагрузки в зоне ВУРСа превышают фоновые уровни в 178–1460 раз. Данные дозы облучения классифицируются для растительных объектов как малые (Garnier-Laplace et al., 2004).

Основные компоненты выбросов КМЗ — диоксид серы и полиметаллическая пыль. В градиенте химического загрязнения были вы-

браны четыре площадки на разном расстоянии от КМЗ(1–10 км). Уровни токсической нагрузки в зоне влияния КМЗ превышают фоновые значения в 5–42 раза. Фоновые площадки находились вне зон техногенного загрязнения.

На основе анализа литературных данных и ранее проведенных собственных исследований (Позолотина и др., 2008) были протестированы 13 ферментных систем: ADH (EC 1.1.1.1), FDH (EC 1.2.1.2), GOT (EC 2.6.1.1), PGI (EC 5.3.1.9), SKDH (EC 1.1.1.25), PGM (EC 5.4.2.2.), 6-PGD (EC 1.1.1.44), DIA (EC 1.6.4.3), IDH (EC 1.1.1.42), EST-c и EST-f (EC 3.1.1.1), SOD (EC 1.15.1.1), GDH (EC 1.4.1.2). Для аллозимного анализа использовали растения, выращенные в оранжерее из семян; всего исследовано 795 растений. Изоферментный анализ и гистохимическое окрашивание образцов выполняли по стандартным методикам (Peacock et al., 1965; Harris, Hopkinson, 1976). Для сравнения частот аллелей использовали критерий  $\chi^2$ . Анализ статистических гипотез проведен в программах GenAlex 6.502 (Peakall, Smouse, 2006), Statistica 6.0 и BIOSYS-2 (Swofford et al., 1997).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мономорфными во всех ценопопуляциях оказались шесть ферментных систем (FDH, PGI, SKDH, 6-PGD, DIA и GDH). Зоны активности систем PGM, SOD, IDH, EST-c и EST-f были полиморфными, но трудно интерпретируемыми, поэтому от их анализа пришлось отказаться. Полиморфными и хорошо различимыми оказались две ферментные системы: ADH (1 locus кодируется 2 аллелями) и GOT (Got-1 кодируется 3 аллелями, Got-2 — 5 аллелями).

Наибольшее разнообразие аллелей было отмечено в выборке Фон-2, в которой среднее число аллелей на locus составило 1.67, в остальных выборках — 1.33–1.44, причём наименьшие значения показателя было в зоне ВУРСа (табл. 1). Средний показатель для всех выборок был равен 1.41, что несколько выше результатов, полученных для американских и европейских популяций подорожника — 1.31 (Van Dijk et al., 1988), а также для популяций подорожника Среднего и Южного Урала — 1.29 (Позолотина и др., 2008). В полиморфном состоянии при 95%-ном критерии оценки у подорожника большого в фоновых популяциях находится 33% locusов, в выборках из зоны воздействия КМЗ — 22–33% locusов, из зоны ВУРСа — 11–22%. Во всех ценопопуляциях подорожника наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) была ниже ожидаемой ( $H_e$ ), однако различия между показателями были незначимы. Средняя наблюдаемая гетерозиготность фоновых ценопопуляций составила 0.092 и была выше, чем в выборках из зоны химического и радиоактивного загрязнения — 0.046 и 0.032, соответственно.

Таблица 1. Основные показатели генетической изменчивости в ценопопуляциях подорожника большого из фоновой и техногенных зон

Зона	Популяция	$P_{95},\%$	Na	Ne	Ho	He	F
Фон	Фон-1	33.33	1.333±0.167	1.282±0.146	0.115±0.06	0.151±0.076	0.248±0.042
	Фон-2	33.33	1.667±0.441	1.2±0.103	0.068±0.035	0.124±0.063	0.459±0.034
КМЗ	КМЗ-1	22.22	1.444±0.242	1.105±0.063	0.024±0.013	0.075±0.044	0.492±0.154
	КМЗ-2	33.33	1.444±0.242	1.214±0.114	0.061±0.034	0.127±0.065	0.537±0.047
	КМЗ-3	33.33	1.444±0.242	1.198±0.1	0.055±0.029	0.124±0.062	0.56±0.047
	КМЗ-4	33.33	1.333±0.167	1.209±0.123	0.044±0.035	0.119±0.066	0.688±0.112
ВУРС	ВУРС-1	22.22	1.333±0.167	1.171±0.107	0.027±0.018	0.101±0.061	0.688±0.056
	ВУРС-2	11.11	1.333±0.167	1.096±0.086	0.04±0.031	0.058±0.048	0.105±0.073
	ВУРС-3	22.22	1.333±0.167	1.157±0.103	0.03±0.019	0.094±0.059	0.677±0.014

Примечание: Na — среднее число аллелей на локус, Ne — эффективное число аллелей, Ho — средняя наблюдаемая, He — средняя ожидаемая гетерозиготность, F — индекс фиксации Райта.

По частотам аллелей соотношение Харди-Вайнберга не поддерживалось, за исключением выборки ВУРС-2, что также указывает на ограничения для свободного скрещивания и связано с высокой долей самоопыления у подорожника большого.

Коэффициент инбридинга по всем изученным локусам у каждой особи относительно ценопопуляции в целом ( $F_{is}$ ) составлял у подорожника 52.6%, а инбридинг особи относительно вида ( $F_{it}$ ) был равен 59% (табл. 2). Коэффициент инбридинга в популяции относительно вида в целом ( $F_{st}$ ) свидетельствует о том, что только 13.2% от выявленной генетической изменчивости распределяется между выборками, а 86.8% реализуется за счет внутривидовой изменчивости.

Таблица 2. Значения коэффициентов F-статистик Райта для подорожника большого из всех изученных ценопопуляций

Локус	$F_{is}$	$F_{it}$	$F_{st}$
Got-1	0.51	0.632	0.249
Got-2	0.569	0.589	0.046
Adh	0.5	0.55	0.1
Среднее	$0.526 \pm 0.022$	$0.590 \pm 0.024$	$0.132 \pm 0.021$

Анализ генетических расстояний по всем изученным ферментным системам (рисунок) свидетельствует о том, что определенной связи генетической структуры ценопопуляций с радиоактивным или химическим загрязнением среды обитания не наблюдается.

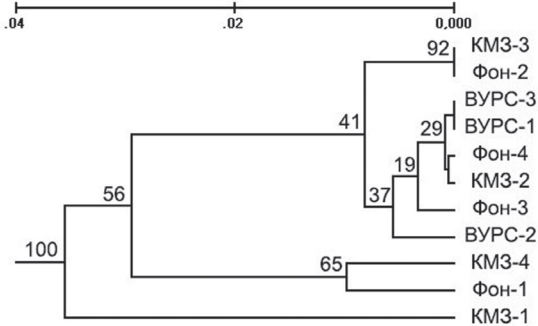


Рисунок. Дендрограмма генетических расстояний (Nei, 1978) между ценопопуляциями подорожника большого. В узлах – уровни бутстреп-поддержки.

Индекс внутривидового разнообразия Животовского ( $\mu$ ) рассчитывали по формуле:

$$\mu = \left( \sum_{m=1}^n \sqrt{p_m} \right)^2,$$

где  $p_m$  – частота  $m$ -го аллеля (Животовский, 1991). По значениям индекса изученные локусы принято делить на три группы: мономорфные ( $\mu=1$ ), со средним уровнем изменчивости ( $1 < \mu < 3$ ), и с высоким уровнем изменчивости ( $\mu > 3$ ). В изученных выборках значения  $\mu$  варьировали от 1.2 до 2.63, следовательно, все изученные нами локусы попали в группу со средним уровнем изменчивости.

Дополнительно была проведена оценка разнообразия аллельных сочетаний девяти локусов, три из которых были полиморфны. Всего в ценопопуляциях обнаружено 36 сочетаний, при этом в фоновых выборках их число варьировало от 10 до 18, в зоне химического загрязнения – от 7 до 15, в зонах радиоактивного загрязнения – от 6 до 11. Уникальные сочетания, которые больше нигде не встречались, отмечены только в выборках из зоны КМЗ и фоновых ценопопуляциях. Мы предполагаем, что отсутствие уникальных сочетаний в зоне ВУРСа связано с ограничением доступа человека на данную территорию, следовательно, и занос семян подорожника с других территорий в эту зону ограничен. На всех фоновых площадках и на участках в зоне влияния КМЗ занос семян возможен, что объясняет наличие уникальных сочетаний аллелей. Отсутствовали такие сочетания в наиболее загрязненной ценопопуляции КМЗ-4. Можно предположить, что в таких условиях способны существовать лишь адаптированные организмы. Что касается ценопопуляции КМЗ-1, местоположение ее удалено от активно используемых дорог и занос семян маловероятен.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полиморфными и хорошо интерпретируемыми оказались только 2 энзима из 13. Доля полиморфных локусов при 95% критерии оценки в разных ценопопуляциях варьировала от 11 до 33%. Среднее число аллелей на локус в выборках изменялось от 1.33 до 1.67. Высокий уровень инбридинга в ценопопуляциях привел к преобладанию гомозиготных генотипов. Определенной связи частот аллелей в ценопопуляциях подорожника большого с уровнем загрязнения почв радионуклидами или тяжелыми металлами не обнаружено.

Автор выражает благодарность д.б.н. В.Н. Позолотиной и к.б.н. Е.В. Антоновой за помощь на всех этапах выполнения работы. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15–04–01023).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Безель В.С. Экологическая токсикология: популяционный и биоценологический аспекты. Екатеринбург: Гошицкий, 2006. 280 с.
- Животовский Л. А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
- Комплексная экологическая оценка техногенного воздействия на экосистемы южной тайги / под ред. А.М. Степанова. М.: ЦЕПЛ, 1992. 246 с.
- Онтогенетический атлас лекарственных растений // под ред. Л.А. Жуковой. Йошкар-Ола: Марийский государственный университет, 1997. Вып. 1. С. 121–132.
- Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н. и др. Современное состояние наземных экосистем зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа: уровни загрязнения, биологические эффекты. Екатеринбург: Гошицкий, 2008. 204 с.
- Хромосомные числа цветковых растений: справочник. Л.: Наука, 1969. 926 с.
- Garnier-Laplace J., Gilek M., Sundell-Bergman S., Larssonet C. Assessing ecological effects of radionuclides: data gaps and extrapolation issues // Journal of Radiological Protection. 2004. V. 24, P. 139–155.
- Harris H., Hopkinson D.A. Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics, Amsterdam: North Holland, 1976.
- Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance for small number of individuals // Genetics. 1978. V. 89. P. 583–590.
- Peacock A.C., Bunting, S.C. Queen K.G. Serum Protein Electrophoresis in Acrylamide Gel: Patterns from Normal Human Subjects // Science. 1965. V. 147. P. 1451–1453.
- Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular ecology notes. 2006. V. 6. № 1. P. 288–295.
- Van Dijk H., Wolff K., De Vries A. Genetic variability in *Plantago* species in relation to their ecology // Theoretical and Applied Genetics. 1988. V. 75. № 3. P. 518–528.
- Swofford D. L., Selander R. B., Black W. C. BIOSYS-2: a computer program for the analysis of allelic variation in genetics // Department of genetics and development. University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois. 1997. V. 60801.