

АЛЛОЗИМНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ЦЕНОПОПУЛЯЦИЯХ ПОДОРОЖНИКА БОЛЬШОГО ИЗ ЗОНЫ ВЛИЯНИЯ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Шималина Н. С., Антонова Е. В., Позолотина В. Н.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта 202
nadia_malina@mail.ru, sselena@ipae.uran.ru, pozolotina@ipae.uran.ru

Химическое загрязнение 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, длительное время произрастающих в градиенте химического загрязнения.

Подорожник большой (*Plantago major* L.) – многолетнее травянистое поликарпическое растение из семейства Plantaginaceae Juss. Размножается преимущественно семенами [Онтогенетический..., 1997]. Семена собирали в зоне воздействия Карабашского медеплавильного завода (КМЗ), который действует с 1910 г. Основные компоненты выбросов – сернистый ангидрид и полиметаллическая пыль [Комплексная..., 1992]. На разном удалении от КМЗ были выбраны четыре площадки на разных расстояниях от завода. В индексации участков учтены расстояния от завода: КМЗ-1, КМЗ-5, КМЗ-8 и КМЗ-10. Фоновые площадки находились на расстоянии 24 км и 32 км: Фон-24 и Фон-32 соответственно. Индекс токсической нагрузки рассчитывали по формуле:

$$K_i = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \frac{C_{ji}}{C_{jf}}$$

где K_i – индекс загрязненности i -й точки; C_{ji} – концентрация j -го элемента в i -й точке; C_{jf} – концентрация j -го элемента в фоновой зоне; n – количество анализируемых элементов. Уровни токсической нагрузки в зоне влияния КМЗ превышают фоновые значения в 5–42 раза (табл. 1).

Таблица 1

Содержание тяжелых металлов в почвах и индексы токсической нагрузки в зоне влияния КМЗ и на фоновых участках

Зона воздействия	Содержание металлов в почвах, мкг/г				K_i
	Cu	Cd	Pb	Zn	
Средние фоновые значения	40,0 ± 5,7	0,56 ± 0,15	27,8 ± 10,7	43,1 ± 7,9	1,0
КМЗ-10	289,4 ± 19,4	2,2 ± 0,23	108,0 ± 12,2	260,1 ± 40,9	5,2
КМЗ-5	914,7 ± 94,0	5,2 ± 0,32	214,4 ± 37,8	525,7 ± 51,1	13,0
КМЗ-8	695,0 ± 1,1	4,9 ± 1,1	239,6 ± 109,8	879,1 ± 480,7	13,8
КМЗ-1	2 569 ± 506	11,4 ± 2,4	586,6 ± 37,4	2655,4 ± 169,5	41,8

Примечание: представлены среднеарифметические значения ± ошибка среднего; $n = 8$.

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 прегенеративной стадии, выращенные в оранжерее из семян. Изоферментный анализ и гистохимическое окрашивание образцов выполнено по стандартным методикам [Peacock et al., 1965; Harris, Hopkinson, 1976]. Анализ статистических гипотез проведен в программах GenAlex 6.502 [Peakall, Smouse, 2006], Statistica 6.0 и BIOSYS-2 [Swofford et al., 1997].

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

По локусу Got-1 все выборки значимо различались между собой ($\chi^2 = 9,2-94,8, p < 0,01$), кроме пары КМЗ-8 – Фон-24 ($\chi^2 = 0,22, p = 0,64$). При этом во всех выборках (за исключением КМЗ-1) доминировал аллель Got-1₂. По локусу Got-2 выборка КМЗ-1 вновь показала значимые различия со всеми остальными ценопопуляциями ($\chi^2 = 10,5-18,1, p < 0,01$), кроме КМЗ-10 ($\chi^2 = 5,9, p = 0,052$). В выборке Фон-24 отмечены редкие (<1 %) и уникальные аллели Got-2₃, Got-2₄, которые в других ценопопуляциях не встречались. Редкий аллель Got-2₅ был отмечен в выборках Фон-24, КМЗ-10 и КМЗ-8. По локусу

ADH все ценопопуляции значительно различались между собой, кроме пар КМЗ-8 – Фон-24, КМЗ-1 – КМЗ-5 и КМЗ-5 – Фон-32. Во всех выборках (за исключением КМЗ-10) доминировал аллель ADH₂.

Таким образом, наибольшее разнообразие аллелей было отмечено в выборке Фон-24, среднее число аллелей на локус составило 1,67, в остальных выборках – 1,33–1,44 (табл. 2). Средний показатель для всех выборок был равен 1,44, 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 % локусов, а в выборках из зоны воздействия КМЗ – 22–33 % локусов. 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 загрязнения – 0,046.

Таблица 2

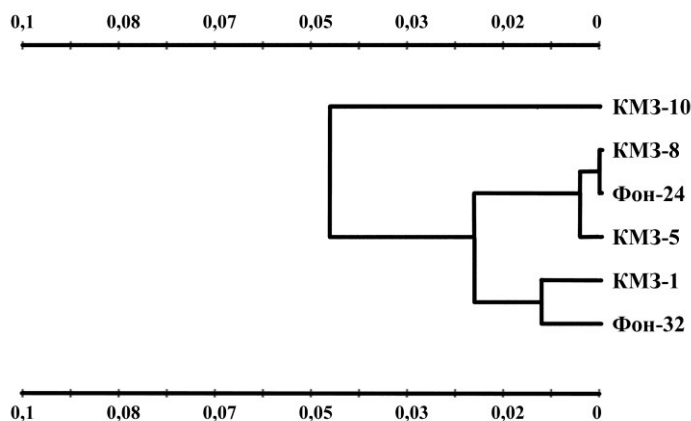
Основные показатели генетической изменчивости в ценопопуляциях *Plantago major* L. из фоновой и техногенных зон

Ценопопуляции		P ₉₅ , %	P ₉₉ , %	N	Na	Ne	H _o	H _e	F
Фон	Фон-24	33,33	33,33	54–67	1,67 ± 0,44	1,2 ± 0,1	0,07 ± 0,04	0,12 ± 0,06	0,46 ± 0,03
	Фон-32	33,33	33,33	57–58	1,33 ± 0,17	1,28 ± 0,15	0,12 ± 0,06	0,15 ± 0,08	0,25 ± 0,04
КМЗ	КМЗ-10	22,22	33,33	52–58	1,44 ± 0,24	1,11 ± 0,06	0,02 ± 0,01	0,08 ± 0,04	0,49 ± 0,15
	КМЗ-5	33,33	33,33	45–75	1,44 ± 0,24	1,21 ± 0,11	0,06 ± 0,03	0,13 ± 0,07	0,54 ± 0,05
	КМЗ-8	33,33	33,33	37–58	1,44 ± 0,24	1,2 ± 0,1	0,06 ± 0,03	0,12 ± 0,06	0,56 ± 0,05
	КМЗ-1	33,33	33,33	56–57	1,33 ± 0,17	1,21 ± 0,12	0,04 ± 0,04	0,12 ± 0,07	0,69 ± 0,12

Примечание: N – размер выборки из популяции для разных локусов, Na – среднее число аллелей на локус, Ne – эффективное число аллелей, H_o – средняя наблюдаемая, H_e – средняя ожидаемая гетерозиготность, F – индекс фиксации Райта.

Положительные значения индекса фиксации Райта (F) свидетельствует о том, что в ценопопуляциях преобладают гомозиготные генотипы. Коэффициент инбридинга в выборках КМЗ-1 и КМЗ-8 был значительно выше, чем в обеих фоновых ценопопуляциях. Наименьшее значение характерно для выборки Фон-32. По локусу Got-1 избыток гетерозиготных генотипов зафиксирован только в ценопопуляции КМЗ-10. В целом, в большинстве ценопопуляций индекс фиксации был высок и достигал в фоновой зоне 35,4 %, а в зоне воздействия КМЗ – 56,9 %. Это свидетельствует о высокой доле самоопыления у *Plantago major* L. В американских и европейских популяциях подорожника большого коэффициент инбридинга также был высок и составил 41,5–89,7 % [Van Dijk et al., 1988], что хорошо согласуется с данными, полученными для уральских популяций [Позолотина и др., 2008]. Анализ генетических расстояний по всем изученным ферментным системам (рис.) свидетельствует о том, что определенной связи генетической структуры ценопопуляций с химическим загрязнением среды обитания не наблюдается.

Коэффициент инбридинга по всем изученным локусам у каждой особи относительно ценопопуляции в целом (F_{is}) составлял у подорожника 49,5 %, а инбридинг особи относительно вида (Fit) – 56,4 %.



Дендрограмма генетических расстояний [Nei, 1978] между ценопопуляциями подорожника большого

Коэффициент инбридинга в ценопопуляции относительно вида в целом (F_{st}) свидетельствует о том, что только 13,1 % от выявленной генетической изменчивости распределяется между выборками, а 86,9 % реализуется за счет внутривидовой изменчивости. Эти значения хорошо соответствуют полученным нами ранее результатам [Позолотина и др., 2008].

Таким образом, из 13 ферментных систем только 2 энзима оказались полиморфными и хорошо интерпретируемыми. Доля полиморфных локусов в разных ценопопуляциях варьировала от 22 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 с уровнем химического загрязнения участков не обнаружено.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-04-01023).

ЛИТЕРАТУРА

- Безель В. С.** Экологическая токсикология: популяционный и биоценотический аспекты. Екатеринбург: Гощицкий, 2006. 280 с.
- Комплексная экологическая оценка техногенного воздействия на экосистемы южной тайги** / под ред. А. М. Степанова М.: ЦЕПЛ, 1992. 246 с.
- Оптогенетический атлас лекарственных растений** / под ред. Л. А. Жуковой. Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т, 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: Гощицкий, 2008. 204 с.
- 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. Vol. 60801.
- 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. Vol. 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. Vol. 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. Vol. 75, № 3. P. 518–528.