

УДК 504.054.001

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ
TRIFOLIUM REPENS, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ
В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ Г. ОМСКА**

¹Нахаева В.И., ²Александрова Т.В., ¹Рубцова А.В.

¹ГБОУ ВПО «Омский государственный педагогический университет», Омск,
e-mail: nakhaeva@mail.ru; e-mail: metrinskiy@mail.ru

²ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия», Омск,
e-mail: Nagini-snake@yandex.ru

Статья посвящена явлению генетического полиморфизма клевера белого ползучего *Trifolium repens* L. в популяциях города Омска. Соотношение различных фенотипов растения биоиндикатора позволяет сделать выводы о величине накопленного организмами груза мутаций в различных условиях антропогенной нагрузки. В данной работе представлен сравнительный анализ местообитаний парковых зон, а также окрестностей крупных автомагистралей и промышленных предприятий по степени загрязненности окружающей среды. Обнаружены проявления различных уровней загрязнения: от умеренного в парке «Зелёный остров» до очень сильного в Советском парке. Причиной столь весомых различий может служить противоречивая близость некоторых рекреационных зон к оживленным транспортным линиям города и работающим заводам нефтехимической, электроэнергетической, машиностроительной, промышленности строительных материалов и т.п.

Ключевые слова: антропогенная нагрузка, биоиндикатор, клевер белый ползучий, фен, генетический полиморфизм, множественный аллелизм.

**GENETIC POLYMORPHISM IN *TRIFOLIUM REPENS* POPULATION GROWING
IN DIFFERENT ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN THE CITY OF OMSK**

¹Nakhaeva V.I., ²Aleksandrova T.V., ¹Rubtsova A.V.

¹Omsk State Pedagogical University, Omsk, e-mail: nakhaeva@mail.ru; e-mail: metrinskiy@mail.ru

²Omsk State Medical Academy, Omsk, e-mail: Nagini-snake@yandex.ru

Article is dedicate to the phenomenon of genetic polymorphism of white creeping clover *Trifolium repens* L. in Omsk city's population. The ratio of different phenotypes of bioindicator plants allows to make conclusions about the magnitude of the accumulated mutations cargo of organisms in various conditions of anthropogenic load. This paper presents an comparative analysis of habitat parks and neighborhood of major highways and industrial enterprises on the degree of contamination of the environment. Found manifestations of various pollution levels: moderate in the park "Zelenyy ostrov" to very strong in the Sovetskiy park. The reason for such weighty differences may be contradictory proximity of some recreational areas to the city's transport lines and acting companies in the petrochemical, power, machine building, building materials, etc.

Keywords: anthropogenic load, bioindicator, white clover creeping, phenotype, genetic polymorphism, multiple allelism.

Введение

В связи с высокими темпами роста экономики и народонаселения, в последнее столетие отмечается увеличение площади и плотности застройки городов. В урбоценозах, в ходе промышленного производства и при разложении продуктов бытового пользования, в окружающую среду выделяется большое количество канцерогенов, мутагенов и токсичных веществ. Кроме того, городская экосистема отличается отсутствием равновесия, эта система аккумулирует вещества и энергию, постоянно требуя их поступления извне. Поставщиками, в этом случае, становятся другие, менее заселенные территории. На Земле уже невозможно найти место, которое через круговорот химических веществ и цепи питания было бы абсолютно независимо от деятельности человека. Таким образом, в настоящее время,

антропогенный фактор приобрёл решающее значение для существования и развития биосферы планеты. Многие виды растений приспособились к существованию под жёстким воздействием антропогенных факторов, в результате чего у некоторых из них наблюдаются изменения обмена веществ, произошедшие вследствие накопления груза мутаций, вызванных агрессивными условиями окружающей среды. Для синантропной флоры характерно образование новых морф в загрязнённой среде обитания. Благодаря этой особенности, ряд видов растений используется учёными в качестве биоиндикаторов для оценки степени экологической чистоты местности. Так, клевер ползучий *Trifolium repens* L. используется для определения степени загрязнения воздуха и почв. Этот вид травянистого растения является типичным для местообитаний, связанных с деятельностью человека.

В качестве признака, порожденного антропогенным влиянием, рассматривается наследственный полиморфизм по форме «седого» рисунка на листовой пластинке, который может различаться расположением, окраской, интенсивностью проявления, размером и рядом других показателей. Наличие «седого» пятна на листьях – признак доминантный (V), его отсутствие – рецессивный (v). Разнообразие фенотипов в этом случае обусловлено появлением в результате генной мутации серии множественных аллелей гена V, восемь из которых встречаются наиболее часто. При этом соотношение фенотипов в гибридном потомстве не меняется. Во всех случаях в генотипе присутствует только одна пара аллелей, их взаимодействие и определяет развитие признака, т. к. каждая имеет определенную степень доминирования. В данной работе рассматриваются только гомозиготные особи.

Действие различных аллелей на отдельных этапах онтогенеза определяет расположение «седых» пятен. Все они нарушают нормальное развитие хлорофилла в палисадных клетках светлой зоны листа и приводят к сокращению в них количества хлоропластов вплоть до их полного отсутствия. Это вызывает уменьшение размеров палисадных клеток и увеличение пространства между ними, более раннюю гибель клеток, поэтому форма седого рисунка на пластинках листа клевера ползучего и частота его встречаемости – индикатор загрязнения среды обитания. Доказано, что в более благоприятных условиях среды отмечается преобладание генотипов vv и VV, а в местообитаниях, испытывающих антропогенную нагрузку, наблюдается большое разнообразие генотипов [3]. Чем больше вариантов «седого» рисунка выявлено на определенной территории, тем больше мутаций произошло в гене V, а значит можно сделать вы-

вод о том, что хозяйственная деятельность человека оказала заметное негативное влияние на данную территорию.

Цель исследования: изучение генетического полиморфизма в популяциях белого ползучего клевера, произрастающего в различных условиях окружающей среды г. Омска, по разнообразию «седого» рисунка на листьях.

Для достижения указанно цели были поставлены следующие задачи:

1) произвести фенотипический анализ признака «седой» рисунок на листе белого клевера в популяциях, произрастающих в различных районах Омска (в т.ч. «зелёных зонах» и промышленных районах) с определением генотипа;

2) определить наиболее встречаемый фенотип и генотип серии, провести статистическую проверку эмпирических данных на достоверность;

3) определить степень влияния условий окружающей среды на отдельные городские популяции в форме сравнения частоты встречаемости рецессивной аллели в анализируемых популяциях.









Материалы и методы исследования

В 2012-2013 гг. кафедрой «Биологии» ОмГПУ было организовано изучение экологического состояния различных зон города Омска методом оценки генетического полиморфизма в популяциях белого ползучего клевера. Сбор материала производился в июле 2012 и сентябре 2013 года в различных районах города Омска. Для определения фенотипов закладывались пробные рандомизированные площади с различными условиями произрастания и разной степенью антропогенной нагрузки. Всего было обследовано 6948 растений на 180 пробных площадках.

Далее проводился подсчет листьев растений *Trifolium repens* с разными формами «седых» пятен на листьях. Анализ и определение фенотипов растений проводили по методике Папоновой И.Т. (1982) и Шварцмана П.Я. (1986), сопоставляя рисунок на листе с генотипом по таблице (таб. 1).

Таблица 1

Генотипы и фенотипы белого клевера

vv	VV	V ^H V ^H	V ^B V ^B	V ^{Bh} V ^{Bh}	V ^P V ^P	V ^F V ^F	V ^L V ^L
							

Частота встречаемости различных генотипов и фенотипов была представлена как доля растений того или иного генотипа в данной выборке для конкретного местообитания, выраженная в процентах. Её уточнение производилось путём вычисления среднего квадратичного отклонения σ и средней частоты m ка-

чественного признака. Для подтверждения достоверности полученных данных применялся стандартный критерий Пирсона χ^2 , а для их сравнения – критерий Стьюдента t [4]. Оценка степени загрязнения почв производилась с использованием индекса соотношения фенотипов (ИСФ) [6].

**Результаты исследования
и их обсуждение**

Выборки 2012 и 2013 годов не имели достоверных различий с вероятностью более 95% ($\chi^2=10,466$, $0,01 < P < 0,05$), что свидетельствовало об их принадлежности к одной генеральной совокупности. Между популяциями белого клевера, произрастающими в административных округах г. Омска, были обнаружены достоверные различия (вероятность 90-95%), что подтверждается значением критерия Пирсона, равным 7,792. Совокупности особей рассматриваемых парковых зон Омска также достоверно различимы с вероятностью 95-99%, что подтверждается значением величины $\chi^2=6,966$.

В ходе сбора материала в административных округах города Омска было обнаружено

6 фенотипических классов: без пятна – О (2856), полное \wedge -образное пятно – А (1342), полное \wedge -образное высокое пятно – А^Н (1946), \wedge -образное разорванное пятно – В (136), центральное пятно – С (606), треугольное низкое пятно у основания – Е (62). Установленным фенотипическим классам соответствуют генотипы: без пятна – vv, полное \wedge -образное пятно – VV, полное \wedge -образное высокое пятно – V^HV^H, \wedge -образное разорванное пятно – V^BV^B, центральное пятно – V^PV^P, треугольное низкое пятно у основания – V^LV^L (рис.1).

Было установлено, что в исследуемых популяциях г. Омска наиболее часто встречаются растения следующих классов: без пятна – vv (26-47%), полное \wedge -образное высокое пятно – V^HV^H (16-48%) и полное \wedge -образное пятно – VV (11-30%) (рис. 2).

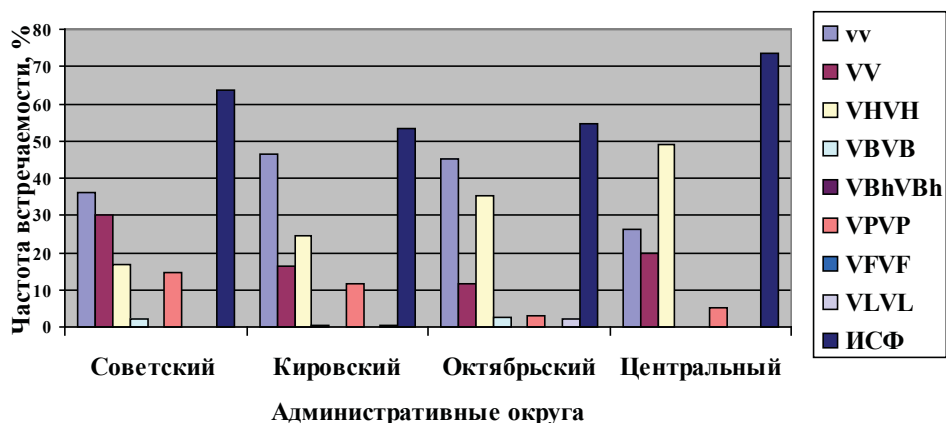


Рис. 1. Частота встречаемости фенотипических классов в популяциях *Trifolium repens* в административных округах г. Омска в 2012-2013 годах

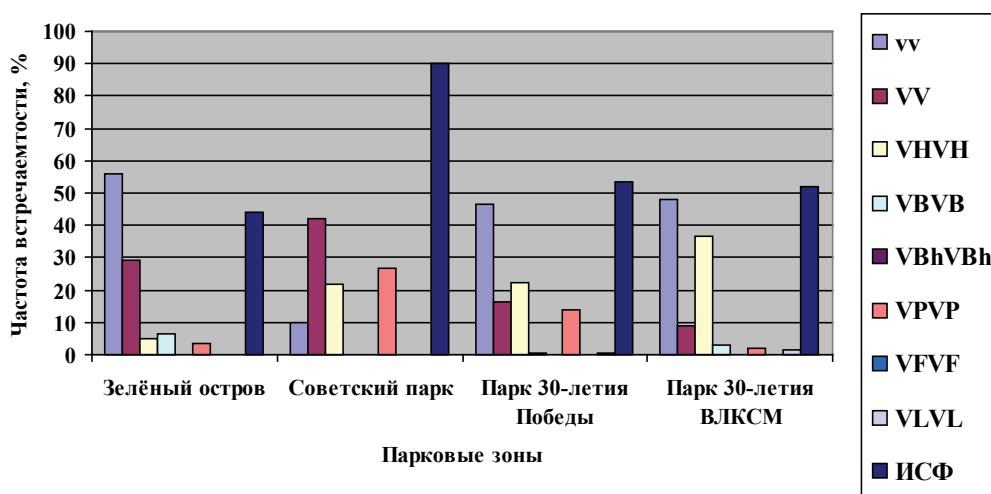


Рис. 2. Частота встречаемости фенотипических классов в популяциях *Trifolium repens* в парковых зонах г. Омска в 2012-2013 годах

Эти генеральные совокупности отмечены, как содержащие высокое разнообразие фенотипических классов с частотой встречаемости $>1\%$, что говорит о большом количестве мутантных особей в городских популяциях. Наименьшее число диких фенотипов (vv , VV) найдено в Центральном районе, наибольшее – в Советском АО. Возможно, это было вызвано тем, что площадки в Советском округе закладывались преимущественно на территории парковых зон, а в Центральном округе они располагались вдали от крупных парков, в связи с отсутствием таковых. Также были определены наименее встречающиеся фенотипы: \wedge -образное разорванное пятно – $V^B V^B$ (0-2%), центральное пятно – $V^P V^P$ (3-14%), треугольное низкое пятно у основания – $V^L V^L$ (0-2%). Большое число особей, имеющих мутантный генотип, может быть свидетельством высокого уровня воздействия внешних или внутренних факторов. Это подтверждает общий индекс соотношения фенотипов, имеющий значение 58,89%, что свидетельствует о средней степени загрязнения почв (41-60%), граничащей с сильным загрязнением (61-80%) (Биология в школе, 2010). Частные значения этой величины соответствуют средней степени загрязнения: Кировский округ (53,43%), Октябрьский округ (54,81%); а также сильным загрязнением: Советский округ (63,86%), Центральный округ (73,58%).

В популяциях белого клевера парковых зон г. Омска наиболее часто встречаются растения следующих классов: без пятна – vv (10-56%), полное \wedge -образное высокое пятно – $V^H V^H$ (9-42%) и полное \wedge -образное пятно – VV (5-37%). Эти генеральные совокупности также отмечаются, как содержащие высокое разнообразие фенотипических классов с частотой встречаемости $>1\%$, что говорит о большом количестве в них мутантных особей. Наименьшее число диких фенотипов (vv , VV) найдено в Советском парке. Наибольшее – в парке «Зелёный остров». Частота встречаемости рецессивной гомозиготы резко различается в выборках Советского парка и других парков. Вероятно, это обусловлено тем, что эта рекреационная зона располагается на 6 км к югу от Омского Нефтеперерабатывающего завода, а данное направление розы ветров является одним из наиболее типичных для города Омска.

Большое количество диких фенотипов в популяции парка «Зелёный остров» можно объяснить тем, что он представляет собой полуостровную часть суши в русле реки

Иртыш. Предположительно, загрязняющие эту среду обитания вещества аккумулируются в реке посредством подземных вод, тем самым освобождая её. Были определены наименее встречающиеся фенотипы: \wedge -образное разорванное пятно – $V^B V^B$ (0-7%), центральное пятно – $V^P V^P$ (2-27%), треугольное низкое пятно у основания – $V^L V^L$ (0-2%).

Вычисление индексов соотношения фенотипов «зелёных зон» дало следующие результаты: удовлетворительное экологическое состояние парка «Зелёный остров» (43,94%), средняя степень загрязнения парка 30-летия Победы (53,42%) и парка 30-летия ВЛКСМ (52,92%), а для Советского парка было определено очень сильное загрязнение (90,29%), что подтверждает вышеуказанные результаты. Исходя из полученного значения $ИСФ_{\text{общ}}$ (58,57%), можно утверждать об отсутствии достоверных различий между загрязненностью почв в парковых зонах Омска и административных районах города в целом. Это вызвано тем, что рассмотренные парки располагаются вдоль крупных автомагистралей: Зелёный остров – ул. Красный путь, Советский парк – проспект Мира, парк 30-летия Победы – ул. Суворова и ул. Масленникова, парк 30-летия ВЛКСМ – ул. Богдана Хмельницкого. Таким образом, рассмотренные «зелёные зоны» города в целом не отличаются большей чистотой окружающей среды, чем административные округа Омска.

Выводы

1. При анализе признака «седой рисунок» на листе белого клевера были выявлены следующие фенотипы и генотипы в популяциях г. Омска: без пятна – vv , полное \wedge -образное пятно – VV , полное \wedge -образное высокое пятно – $V^H V^H$, \wedge -образное разорванное пятно – $V^B V^B$, центральное пятно – $V^P V^P$, треугольное низкое пятно у основания – $V^L V^L$.

2. Все городские популяции *Trifolium repens* L., включая произрастающие в парковых зонах, обладают большой частотой встречаемости мутантных генотипов, выраженных фенами с различной формой, размером и интенсивностью окраски «седых» пятен на листьях.

3. В исследованных местообитаниях белого клевера в городе Омске прослеживаются явные признаки наличия груза мутаций, вызванного воздействием антропогенных факторов, причем и в парковых зонах и в административных районах города в целом.

Список литературы

1. Горшкова Т.А. Оценка возможности использования клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) для биоиндикации антропогенного нарушения среды // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 69–73.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (С основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с., ил.
3. Левицкий С.Н. Генетический полиморфизм в популяциях *Trifolium repens*, произрастающих в условиях различной антропогенной нагрузки территорий // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 4 (часть 1). – стр. 108-111; URL: www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=10000319 (дата обращения: 28.05.2014).
4. Зайцев Г.Н. Методика биометрических расчетов. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1973.
5. Соколова Г.Г., Камалудинова Г.Т. Морфогенетический полиморфизм листьев клевера ползучего // Известия АлтГУ. – 2010. – № 3 (часть 1). – стр. 48-51; URL: <http://izvestia.asu.ru/2010/3-1/bios/TheNewsOfASU-2010-3-1-bios-10.pdf> (дата обращения: 18.10.2014).
6. Чукаева Н.В. Экологическая оценка состояния территории, прилегающей к озеру Тепляковское // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 8 – стр. 77-78. URL: www.rae.ru/use/?section=content&op=show_article&article_id=7797530 (дата обращения: 27.10.2014).
7. Шарыгина Н.В., Авдушева А.В. Изучение наследственного полиморфизма рисунка седых пятен на листьях растений в популяции клевера *Trifolium repens* // Экологические проблемы Севера: Межвузовский сборник научных трудов. – Архангельск: Изд-во АГТУ, 2010. – Вып. 13. – С. 122.
8. Шварцман П.Я. Полевая практика по генетике с основами селекции. – М.: Просвещение, 1986. – 111 с.