

УДК 582.739

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ TRIFOLIUM REPENS, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ ТЕРРИТОРИЙ

Левицкий С.Н.

ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России», Архангельск, e-mail: sergeylevitski@yandex.ru

В статье представлены результаты исследования, показывающие использование в качестве биоиндикатора загрязнения воздуха белого ползучего клевера *Trifolium repens* синантропного вида, повсеместно встречающегося на Европейском Севере. Проведен анализ взаимосвязи фенотипического разнообразия растений *Trifolium repens* и степени антропогенной нагрузки на территории. Путем изучения частоты встречаемости отдельных фенотипов клевера белого ползучего в популяциях, произрастающих на территориях с различной степенью загрязнения, был изучен морфогенетический полиморфизм гена V, который отвечает за формирование белого рисунка на листьях. Было выявлено наличие мутантных аллелей данного гена у гомо- и гетерозиготных организмов в различных популяциях. Установлена высокая степень полиморфизма гена V в популяциях с высокой антропогенной нагрузкой. Выявлены взаимосвязи частоты встречаемости различных фенотипов с возрастом и динамикой развития популяций. Показана целесообразность использования *Trifolium repens* в качестве биоиндикатора загрязнения территории.

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

GENETIC POLYMORPHISM IN POPULATION OF TRIFOLIUM REPENS, GROWING UNDER DIFFERENT ANTHROPOGENIC LOAD TERRITORIES

Levitskiy S.N.

Northern state medical University, Arkhangelsk, e-mail: sergeylevitski@yandex.ru

The results of studies showing use as bioindicator pollution *Trifolium repens* – is ubiquitous in the European North synanthropic species. The analysis of interrelation of phenotypic variety plants of *Trifolium repens* with various drawings of leaves and degrees of anthropogenous load on territories is carried out. By studying of hair dryers in the populations growing in territories with various extent of pollution morphogenetic polymorphism of gene V was established. Existence mutant allele this gene at homo- and heterozygotic organisms in various populations was revealed. High degree of polymorphism on gene V in populations with high anthropogenous loading is established. Interrelations of frequencies of occurrence of various hair dryers and dynamics of development of populations are revealed with age. Use expediency of *Trifolium repens* as the bioindicator of pollution on the territory is shown.

Keywords: *Trifolium repens*, bioindicator, hair dryer, genetic polymorphism, multiple allelism, anthropogenous loading

Клевер ползучий *Trifolium repens* L. используется в качестве биоиндикатора загрязнения воздуха и почв. Это довольно удобный объект для мониторинга окружающей среды. Он является удачным и информативным биоиндикатором, позволяющим оценить степень антропогенной нагрузки. [7, 11]. Белый ползучий клевер является типичным растением во флоре местобитания, связанных с деятельностью человека, имеет высокую численность в исследуемых биоценозах, удобен для отбора проб, обладает быстрой сменой фаз [3, 5].

Trifolium repens L. – многолетнее растение со стержневой, сильно разветвленной корневой системой, укороченным главным стеблем, боковыми стелющимися и укореняющимися побегами. Растет на разных почвах с достаточным количеством питательных веществ и воды, плохо переносит избыток влаги в почве. Это светолюбивое растение, которое при благоприятных условиях быстро разрастается [2].

В качестве биоиндикатора может использоваться полиморфизм по форме седо-

го рисунка (пятна) на листовой пластинке. Рисунок на листе у растений отличается расположением, окраской, размером и другими показателями. Это зависит от возраста, формы листьев [1, 4, 10].

Наличие и форма седого рисунка – это пример наследственного полиморфизма. Признак является моногенно-наследуемым. Разнообразие растений обусловлено серией множественных аллелей гена V. Ген, определяющий признак седых пятен на листочках у клевера, представлен восемью наиболее часто встречающимися аллелями [9].

Наличие «седого» пятна на листьях – признак доминантный (V), его отсутствие – рецессивный (v). Все аллели гена V нарушают нормальное развитие хлорофилла в палисадных клетках светлой зоны листа, приводят к сокращению в них количества хлоропластов вплоть до их полного отсутствия, способствуют уменьшению размеров палисадных клеток и увеличению пространства между ними, более ранней гибели клеток, поэтому форма седого рисунка на пластинках листа клевера ползуче-

го и частота его встречаемости – индикатор загрязнения среды обитания.

Brewbaker J.L. (1955) были проанализированы 11 аллелей этого гена и их различные варианты, образующиеся в резуль-

тате комбинаций аллелей у гетерозигот [10] (табл. 1). Аллель *v* рецессивная по отношению к остальным аллелям. В некоторых популяциях наблюдается кодоминирование [12].

Таблица 1

Множественный аллелизм в локусе гена *V* у *Trifolium repens* (по П.Я. Шварцману, 1986)

Аллель	Генотип	Фенотип	Обозначение фенотипа (фена)
<i>V</i>	<i>VV</i>	Полное пятно	A
<i>v</i>	<i>vv</i>	Пятно отсутствует	O
<i>V^H</i>	<i>V^Hv</i>	Полное пятно, высокое	A ^H
<i>V^B</i>	<i>V^BV^B</i>	Разорванное пятно	B
<i>V^{Bh}</i>	<i>V^{Bh}V^{Bh}</i>	Разорванное высокое пятно	B ^H
<i>V^P</i>	<i>V^PV^P</i>	Центральная верхняя точка	C
<i>V^F</i>	<i>V^FV^F</i>	Большое сплошное пятно у основания	D
<i>V^S</i>	<i>V^SV^S</i>	Низкое треугольное пятно у основания	E

Изучению природных популяций клевера ползучего посвящены исследования, которые анализируют пространственную и возрастную структуру популяций, характеризуется эколого-генетическая изменчивость [1, 8, 9, 13].

Целью исследования являлось изучение по разнообразию седого рисунка на листьях белого ползучего клевера генетического полиморфизма в популяциях, произрастающих на участках с высокой антропогенной нагрузкой и условно чистых территориях Европейского Севера (на примере Архангельской области).

Материалы и методы исследования

Сбор материала проводили в июле 2009–2012 гг. в г. Архангельске (64° с.ш., 40° в.д. и с. Шангалы, Устьянского района (61° с.ш., 43° в.д.). Для определения фенотипов закладывали пробные площадки с однородными условиями произрастания и разной степенью антропогенной нагрузки. Всего было обследовано 5 пробных площадок.

Анализ и определение фенотипов растений проводили по методике Папоновой И.Т. (1982) и Шварцмана П.Я. (1986), сравнивая рисунки пятен на листьях с рисунком, изображенным в таблице Brewbaker J.L. (1955). Частоту встречаемости разных генотипов и фенотипов рассчитывали как долю растений того или иного генотипа в данной выборке, выражая в процентах.

В ходе исследования было проанализировано 1368 растений (710 – в условно чистых и 658 – в городских популяциях). Статистический анализ результатов проводился с применением пакета программ Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализируя полученные данные, было установлено, что во всех изучаемых популяциях наиболее часто встречаются растения клевера белого ползучего с генотипами: *vv*, *V^HV^B*, *V^PV^P*.

Всего было обнаружено 12 фенотипических классов, при этом минимальное количество разнообразных фенов составило – 3, а максимальное – 11, что говорит о различной степени морфогенетического полиморфизма у растений белого клевера, произрастающего на территориях с разной степенью антропогенной нагрузки.

Среднее значение фенотипического разнообразия белого рисунка листьев составило – 7 фенотипических классов.

Средние частоты встречаемости различных фенотипических классов, обнаруженных в городских популяциях, представлены в табл. 2, в сельских – в табл. 3.

Анализируя фенотипическое многообразие в популяциях клевера, произрастающих на территориях с повышенной антропогенной нагрузкой, было установлено, что в них преобладающим является фенотип O (лист без белого рисунка), далее по частоте встречаемости следуют растения с фенотипами A и C (полное пятно на листе и центральная верхняя точка).

Популяция клевера, произрастающая на набережной реки Северная Двина, по морфогенетическому полиморфизму наиболее сходна с популяциями, характеризующимися низкой антропогенной нагрузкой. Из трех площадок, заложенных в границах городского поселения, данная популяция характеризуется наличием наименьшего количества фенотипических различий по сравнению с другими (обнаружено 8 фенов).

В популяциях, произрастающих в непосредственной близости к автомагистралям (проспект Троицкий и проспект Ломоносова г. Архангельска), наблюдается более высокое разнообразие фенов (по 11 в каждой). Кроме того, были обнаружены фенотипы, которые не встречались в первой популя-

ции – Д, Е, СЕ, А^НЕ, которые имеют генотипический полиморфизм как у гомозигот, так и у гетерозигот: V^SV^HV^SV^P.

Из трех изученных городских популяций клевера наибольший полиморфизм

наблюдается у растений, произрастающих на проспекте Троицкий, который и характеризуется наибольшей степенью антропогенной нагрузки на территорию (табл. 2).

Таблица 2

Частота встречаемости фенотипических классов в городских популяциях *Trifolium repens*, %

Фенотип (условное обозначение)	Генотип	Набережная реки Северная Двина	Троицкий проспект	Проспект Ломоносова
О	vv	48,4 ± 2,12	36,6 ± 1,4	36,6 ± 1,4
А	Vv	2,20 ± 0,06	8,2 ± 0,08	8,2 ± 0,08
А	VV	12,4 ± 1,62	4,3 ± 1,15	4,3 ± 1,15
А ^Н	V ^Н v	0,6 ± 0,24	3,0 ± 0,02	3,0 ± 0,02
А ^Н А	V ^Н V	–	2,2 ± 1,4	2,2 ± 1,4
А ^Н	V ^Н V ^Н	–	3,06 ± 0,4	3,06 ± 0,4
А ^Н	V ^Н V ^В	25,5 ± 1,22	31,4 ± 2,6	14,6 ± 1,12
С	V ^Р v	–	–	1,2 ± 0,04
А (С)	V ^Р V	0,68 ± 0,05	–	1,8 ± 0,6
А ^Н С	V ^Р V ^Н	3,4 ± 0,08	6,2 ± 0,55	5,2 ± 2,24
С	V ^Р V ^Р	6,82 ± 0,56	3,6 ± 0,25	4,4 ± 0,2
А ^Н Е	V ^S V ^Н	–	0,1 ± 0,02	–
СЕ	V ^S V ^Р	–	1,34 ± 1,2	–

Таблица 3

Частота встречаемости фенотипических классов в сельских популяциях *Trifolium repens*, %

Фенотип (условное обозначение)	Генотип	Берег реки Устья	Разнотравье на лугу
О	vv	50,2 ± 2,8	62,6 ± 3,8
А	VV	12,5 ± 1,12	12,6 ± 1,2
А ^Н	V ^Н V ^Н	4,4 ± 0,2	–
А ^Н	V ^Н V ^В	20,6 ± 1,6	24,8 ± 2,6
С	V ^Р V ^Р	12,3 ± 2,2	–

В условиях г. Архангельска популяция клевера, вероятнее всего, испытывает антропогенное влияние в виде загрязнения атмосферного воздуха от близлежащей автомагистрали, что и обуславливает довольно высокую частоту мутационного процесса и выражается в увеличении количества разнообразных фенотипов в данной популяции.

Полученные нами данные подтверждаются и другими исследованиями. Так, Шарыгина Н.В. и соавт. (2010) отмечают, что популяции клевера в пределах города являются молодыми и в них наблюдается тенденция увеличения генетического разнообразия за счет редко встречающихся генотипов V^РV^В и V^SV^S.

Анализируя популяции клевера ползучего в условиях территорий с низкой степенью антропогенной нагрузки, следует отметить, что они характеризуются боль-

шей морфогенетической однородностью (табл. 3). Так, в популяции на берегу реки Устья было обнаружено только 5 фенотипических классов, а в популяции луга – всего 3. При этом в данных популяциях преобладают те же фены, что и в городских.

Снижение частоты встречаемости различных генотипов, а следовательно, и гетерогенности популяций белого ползучего клевера в сельских (пастбищных) популяциях, вероятнее всего, связаны с низкой степенью антропогенного воздействия на эти территории. По мнению ряда авторов [1, 4, 7, 8, 9], видовое разнообразие трав, высокий уровень адаптации растительных видов и конкуренция между ними приводят к подавлению доминирования клевера белого в данных сообществах, что и приводит к снижению генетического полиморфизма у данного вида.

Выводы

Различия в генетическом полиморфизме клевера белого ползучего в различных популяциях связаны с разнообразными природно-экологическими и антропогенными факторами.

Множественный аллелизм в локусе гена V у *Trifolium repens* может быть использован как показатель оценки антропогенной нагрузки на территорию, а сам вид является довольно информативным, удобным и доступным биоиндикатором.

Полиморфизм в популяциях клевера ползучего в «чистых» территориях обусловлен, вероятнее всего, увеличением частоты встречаемости отдельных фенотипов (от 50 до 0,1%).

В городских популяциях, вероятнее всего, полиморфизм обусловлен адаптивными эффектами сверхдоминирования и стабилизирующему естественному отбору [8].

Список литературы

1. Валиев Р.Р., Яковлева О.М. Сравнительная характеристика наследственного полиморфизма по признаку «седого» пятна на листьях растений в популяции TRIFOLIUM REPENS на территории г. Уфы и некоторых районов республики Башкортостан // Вестник Башкирского университета. – 2008. – Т 13, № 12. – С. 24–27.
2. *Trifolium repens* L. – Клевер ползучий, или белый / И.А. Губанов и др. // Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 т. – М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. иссл., 2003. – Т. 2. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). – С. 473.
3. 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.
4. Камчатова И.Е. Внутрипопуляционный генетический полиморфизм у клеверов (*Trifolium*) // Фенетика природных популяций: материалы IV Всесоюз. совещ. (Борок, ноябрь 1990 г.). – М., 1990. – С. 132.
5. Мелехова О.П., Егорова Е.И., Евсеева Т.И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. – М.: Издательский центр «Академия», 2007. – 288 с.
6. Папонова И.Т. Методические разработки генетических экскурсий по изучению популяций цветковых растений. – Пермь: ПГУ, 1982. – 34 с.
7. Савинов А.Б. Анализ фенотипической изменчивости одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) из биотопов с разными уровнями техногенного загрязнения // Экология. – 1998. – № 5 – С. 362–365.
8. Соколова Г.Г., Камалтдинова Г.Т. Морфогенетический полиморфизм листьев клевера ползучего // Известия Алтайского государственного университета. – 2010. – № 1(67). – С. 48–51.
9. Шарыгина Н.В., Авдусева 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.
10. Шварцман П.Я. Полевая практика по генетике с основами селекции. – М.: Просвещение, 1986. – 111 с.
11. Чукаева Н.В. Белый клевер в оценке состояния окружающей среды // Естествознание и гуманизм. Сборник научных трудов. – 2010. – Т. 6, № 1. – С. 73.

12. Brewbaker J.L. V-Ceaf markings of white clover // J. Hered. – 1955. – Vol XLVI, № 3. – P. 115–125.

13. Maximenko. O.E., Chumashkaev A.N., Glotov N.V. Population structure of white clover (*Trifolium repens* L.) in North-Western Siberia // Вид и его продуктивность в ареале: материалы VI совещания. Программа ЮНЕСКО «Человек и биосфера». – СПб: Гидрометеиздат, 1993. – С. 359–361.

References

1. Valiev R.R., Jakovleva O.M. *Sravnitel'naja harakteristika nasledstvennogo polimorfizma po priznaku «sedogo» pjatna na list'jah rastenij v populjacii TRIFOLIUM REPENS na territorii g. Ufy i nekotoryh rajonov respubliki Bashkortostan* // Vestnik Bashkirkoskogo universiteta. 2008. T 13, no. 12. pp. 24–27.
2. Gubanov I.A. i dr. *Trifolium repens* L. — *Klever polzuchij, ili belyj* // Illjustrirovannyj opredelitel' rastenij Srednej Rossii. V 3 t. M.: T-vo nauch. izd. KMK, In-t tehnolog. issl., 2003. T. 2. Pokrytosemennye (dvudol'nye: razdel'nolepestnye). pp. 473.
3. Gorshkova T.A. *Ocenka vozmozhnosti ispol'zovanija klevera polzuchego (Trifolium repens L.) dlja bioindikacii antropogennogo narushenija sredy* // Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk., 2012. T. 14, no. 1, pp. 69–73.
4. Kamchatova I.E. *Vnutripopuljacionnyj genetičeskij polimorfizm u kleverov (Trifolium)* // Fenetika prirodnyh populjacij: materialy IV Vsesojuz. sovez. (Borok, nojabr' 1990 g.). M., 1990. pp. 132.
5. Melekhova O.P., Egorova E.I., Evseeva T.I. *Biologičeskij kontrol' okružajuwej sredy: bioindikacija i biotestirovanie*. M.: Izdatel'skij centr «Akademija», 2007. 288 p.
6. Paponova I.T. *Metodičeskie razrabotki genetičeskijh jekskursij po izučeniju populjacij cvetkovykh rastenij*. Perm', PGU, 1982. 34p.
7. Savinov A.B. *Analiz fenotipičeskoj izmenčivosti oduvančika lekarstvennogo (Taraxacum officinale Wigg.) iz biotopov s raznymi urovnjami tehnogennogo zagryznenija* // Jekologija. 1998. no. 5 pp. 362–365.
8. Sokolova G.G., Kamaltdinova G.T. *Morfogenetičeskij polimorfizm list'ev klevera polzuchego* // Izvestija Altajskogo gosudarstvennogo universiteta 3-1(67), 2010 pp. 48–51.
9. Sharygina N.V., Avdusheva A.V. *Izuchenie nasledstvennogo polimorfizma risunka sedyh pjaten na list'jah rastenij v populjacii klevera Trifolium repens* // Jekologičeskie problemy Severa: Mezhuvozkij sbornik nauchnyh trudov/ Arhangel'sk: izd-vo AGTU, 2010. Vyp. 13., pp. 122.
10. Shvarcman P.Ja. *Polevaja praktika po genetike s osnovami selekcii*. M., Prosvevlenie, 1986. 111 p.
11. Chukaeva N.V. *Belyj klever v ocenke sostojanija okružajuwej sredy*. // Estestvoznanie i gumanizm. Sbornik nauchnyh trudov. T. 6, no. 1, 2010. pp. 73.
12. Brewbaker J.L. V-Ceaf markings of white clover // J. Hered. 1955. Vol XLVI no. 3 pp. 115–125.
13. Mahimenko. O.E., Shumashkaev A.N., Glotov N.V. Population structure of white clover (*Trifolium repens* L.) in North-Western Siberia // Materialy VI sovezanija «Vid i ego produktivnost v areale». Programma JuNESKO «Chelovek i biosfera». SPb: Gidrometeoizdat, 1993. pp. 359–361.

Рецензенты:

Поскотинова Л.В., д.б.н., доцент, заведующая лабораторией биоритмологии ФГУН «Институт физиологии природных адаптаций» Уральского отделения Российской академии наук;

Буюклинская О.В., д.м.н., заведующая кафедрой фармакологии и фармакологии ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Работа поступила в редакцию 23.01.2013.