

УДК 581.5; 58.087; 57.084.2; 575.224.46; 575.224.23

ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА И ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В ИСПЫТЫВАЮЩИХ ТЕХНОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

© 2011 г. А. А. Удалова, С. А. Гераськин

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН

249032 Калужская обл., Обнинск

e-mail: oudalova@mail.ru

Поступила в редакцию 08.04.2010 г.

Изучали уровень цитогенетических нарушений в популяциях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающих в зоне влияния комплекса предприятий атомной промышленности. Частота аберрантных клеток в корневой меристеме проростков семян из испытывающих техногенное воздействие популяций достоверно превышала фоновый уровень на протяжении 6 лет наблюдения. В фоновой популяции цитогенетические показатели подчинялись циклическим изменениям во времени. В подвергающихся техногенному давлению популяциях обнаружено нарушение закономерностей, присущих фоновой популяции. Увеличение уровня цитогенетических нарушений сопровождалось возрастанием амплитуды его колебаний, а отклонения значений основных количественных параметров колебательного процесса от характерных для фоновой популяции возрастали вместе со степенью техногенного воздействия. Вариабельность изученного признака в условиях техногенной нагрузки увеличивалась. Вклад внутрисемейной изменчивости цитогенетических показателей являлся преобладающим, но его величина снижалась в условиях техногенеза. Обнаружена тенденция к дестабилизации динамики коэффициента повторяемости в условиях техногенной нагрузки. В ходе посемейного анализа уровня цитогенетических нарушений на контрастных фонах, которые моделировали острым облучением семян перед проращиванием, в контрольной популяции сосны выявлен высокозначимый вклад компонент “семья”, “среда” и “взаимодействие семья – среда” в цитогенетическую изменчивость. В популяциях, развивающихся в условиях техногенного воздействия, обнаружены модификации структуры эколого-генетической изменчивости, степень которых увеличивалась с возрастанием техногенной нагрузки.

Техногенное воздействие на окружающую среду неуклонно увеличивается. Изучение закономерностей функционирования природных систем в этих условиях необходимо для оптимального использования природных ресурсов и повышения эффективности природоохранной деятельности. Существующие знания о последствиях загрязнения биоценозов высокими дозами токсикантов, проявляющимися в очевидных изменениях численности, жизнеспособности, фенотипических признаков представителей флоры и фауны, вряд ли можно назвать исчерпывающими. Еще меньше известно о закономерностях адаптации популяций и видов к хроническому воздействию низких уровней техногенных стрессоров. Популяции являются элементарными структурными единицами биоценозов, обеспечивающими преемственное существование и развитие всего живого, в том числе в условиях антропогенного воздействия.

Устойчивость популяций связана с необходимостью сохранения и поддержания их внутреннего генетического разнообразия. В этой связи особый интерес представляют немногочисленные исследования многолетней динамики изменений в популяциях растений и животных на территориях, испытывающих техногенное давление. Уникальные данные многолетнего цитогенетического мониторинга популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), расположенных вблизи комплекса предприятий атомной промышленности, представлены в работе С.А. Гераськина с соавт. (Geras'kin et al., 2005). В этом исследовании был обнаружен повышенный уровень цитогенетических нарушений в испытывающих техногенное воздействие популяциях. Частота аберрантных клеток росла в течение всего времени исследования (1997–2002 гг.) как в импактных, так и в

фоновой популяциях сосны, причина чего была не вполне понятна.

Хорошо известно, что загрязнение среды обитания оказывает влияние на генетическую структуру популяций (Шевченко и др., 1992; Guttman, 1994; Prus-Glowacki et al., 1999; Bickham et al., 2000; Theodorakis, 2001; Гераськин и др., 2009а) и проявляется в изменениях частот редких аллелей, величины гетерозиготности, полиморфизма и генетического разнообразия в целом. Меньше изучены модификации величины и структуры внутривидовой изменчивости в этих условиях (Духарев и др., 1992; Безель и др., 2001; Трубина, 2005). Для развития представлений о популяционной структуре видов и путях их адаптации в изменяющихся условиях среды важен анализ не только генетически обусловленной, но именно эколого-генетической изменчивости, включающий изучение генетико-средовых взаимоотношений в популяциях (Глотов, 1983; Гриценко, 2008). Полученные нами экспериментальные данные (Geras'kin et al., 2005) позволяют провести такой анализ в испытывающих техногенное воздействие природных популяциях.

Цель работы – изучение временной динамики цитогенетических показателей и эколого-генетической структуры их изменчивости в популяциях сосны обыкновенной в условиях техногенного воздействия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальный материал был получен в ходе шестилетних наблюдений в районе расположения комплекса предприятий атомной промышленности в г. Сосновый Бор, Ленинградская обл., в состав которого входят Ленинградская АЭС, Научно-исследовательский технологический институт, Региональное предприятие по переработке и хранению радиоактивных отходов ЛСК “Радон”, а также предприятие по дезактивации и переработке содержащих радиоактивные вещества металлических отходов. В течение всего периода эксплуатации объектов ядерного комплекса в этом районе (с начала 1970-х годов) дозовые нагрузки на биоту и человека от техногенных радионуклидов не превышали допустимых гигиеническими нормативами пределов. Однако расположенные на территории ЛСК “Радон” установки, приповерхностные и наземные хранилища радиоактивных отходов являются локальным источником загрязнения грунтовых вод, а в непосредственной близости от предприятия зарегистрировано увеличение числа случаев существенного повы-

шения концентрации радионуклидов и других техногенных поллютантов, в частности тяжелых металлов, в приземном воздухе, снеге, хвое и мхе. Подробная характеристика радиоэкологической обстановки в районе исследования приведена в работе Л.Д. Блиновой (1998).

С 1997 по 2002 год ежегодно осенью проводили отбор шишек с деревьев в трех популяциях сосны обыкновенной, расположенных на территории ЛСК “Радон” (популяция А), г. Сосновый Бор (популяция В) и на расстоянии 30 км от города, вне зоны возможного влияния комплекса предприятий атомной промышленности (пос. Большая Ижора – фоновая популяция С). Семена проращивали и проводили цитогенетический анализ клеток апикальной меристемы корней проростков. В каждом препарате анализировали все ана-телофазные клетки (2700–16 500 клеток на экспериментальный участок). Часть собранных в 1999–2001 гг. семян была подвергнута острому γ -облучению дозой 15 Гр (мощность дозы 0.6 Гр/мин) от источника ^{60}Co . Немедленно после облучения семена проращивали. Уровень цитогенетических эффектов оценивали по частоте аберрантных ана-телофаз первого митоза в корневой меристеме проростков. Методика цитогенетического анализа и полученные данные представлены в работе С.А. Гераськина с соавт. (Geras'kin et al., 2005).

Для определения значимости различий между средними значениями применяли критерий Стьюдента. Для аппроксимации изменения цитогенетических нарушений во времени использован регрессионный анализ. Сравнение качества аппроксимации и прогностической ценности моделей проводили с помощью критерия структурной идентификации (Гераськин, Сарапульцев, 1993) и критерия Хайека (Гофман, 1994). Для оценки компонент изменчивости и их значимости использован дисперсионный анализ. Оценку и сравнение коэффициентов повторяемости проводили в соответствии с рекомендациями Л.А. Животовского (1979). Для изучения структуры эколого-генетической изменчивости адаптировали методику посемейного анализа на контрастных фонах (Глотов, 1983).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Временная динамика частоты цитогенетических нарушений. В течение всех лет исследования (1997–2002 гг.) частота цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков сосны обыкновенной из популяции С (0.57–0.70%)

была достоверно ниже ($p < 5\%$), чем в произрастающих вблизи комплекса предприятий атомной промышленности популяциях А (1.53–2.28%) и В (1.19–1.84%) (Geras'kin et al., 2005). В отличие от показанного нами ранее при изучении популяций сосны обыкновенной из 30-километровой зоны аварии на ЧАЭС (Гераськин и др., 2000) закономерного роста частоты аберрантных клеток (АК) с увеличением мощности экспозиционной дозы (МЭД), повышенную частоту цитогенетических нарушений в популяциях А и В трудно объяснить только радиационным воздействием. МЭД в центре г. Сосновый Бор (12.8 мкР/ч) практически не отличалась, а на территории ЛСК (18.8 мкР/ч) незначительно превышала фоновый уровень, который в пос. Большая Ижора составлял 12.6 мкР/ч, что не согласуется с непропорционально высокой частотой цитогенетических нарушений на импактных участках, до 3 раз превышающей спонтанный уровень. Полученные для расположенной в г. Сосновый Бор популяции В результаты оказались особенно неожиданными, поскольку при планировании эксперимента предполагалось, что частота цитогенетических нарушений на этом участке не будет превышать спонтанный уровень. Статистическая нагруженность данных (5–15 тыс. анафаз на одну экспериментальную точку), однако, не позволяет сомневаться в их достоверности. Таким образом, в среде произрастания популяций сосны обыкновенной из района расположения ЛСК "Радон" и г. Сосновый Бор было выявлено значимое мутагенное воздействие. На основе анализа спектра цитогенетических нарушений

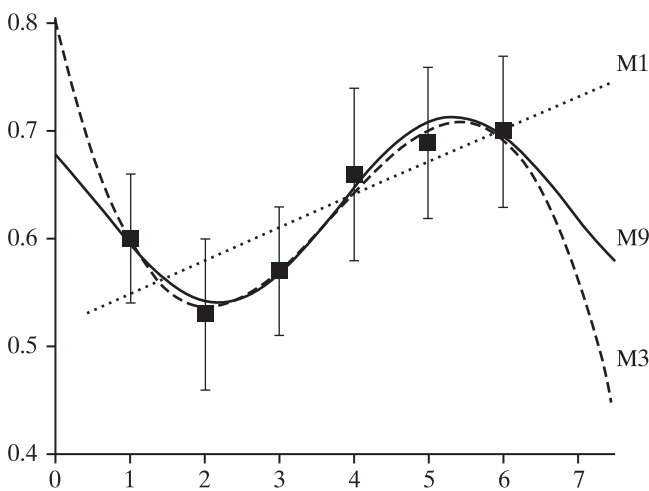


Рис. 1. Частота цитогенетических нарушений (%) в клетках корневой меристемы проростков сосны обыкновенной из фоновой популяции С в зависимости от года наблюдения: аппроксимация линейной (M1), полиномиальной (M3) и синусоидальной (M9) моделями.

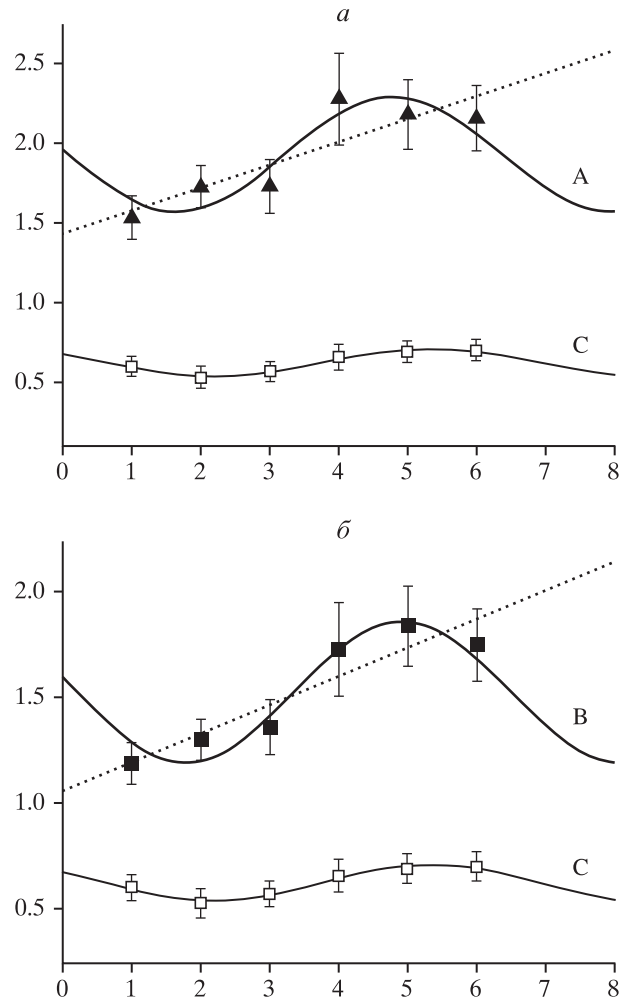


Рис. 2. Частота цитогенетических нарушений (%) в клетках корневой меристемы проростков сосны обыкновенной из фоновой (популяция С) и испытывающих техногенное воздействие популяций А (а) и В (б) в зависимости от года наблюдения.

было выдвинуто предположение (Geras'kin et al., 2005) о значительном вкладе факторов химической природы в регистрируемый эффект.

Наблюдения за популяциями сосны обыкновенной в течение 6 лет позволили оценить закономерности изменения частоты АК во времени (рис. 1, 2). Регрессионный анализ показал, что временные зависимости выхода цитогенетических нарушений на всех трех участках могут быть адекватно описаны линейной моделью. Значения коэффициента корреляции между частотой АК и временем исследования в популяциях А, В и С достоверно отличаются от нуля и равны 0.87 ($p < 5\%$), 0.93 ($p < 1\%$), 0.83 ($p < 5\%$) соответственно. Скорость увеличения частоты цитогенетических нарушений со временем, оцененная по величине наклона линейной регрессии,

Таблица 1. Сравнение качества аппроксимации разными математическими моделями зависимости частоты цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков семян сосны от времени

Модель	<i>n</i>	I этап			II этап	III этап	
		<i>SSR</i> , 10 ⁻³	<i>F</i>	<i>R</i> ² , %	<i>T</i> , 10 ⁻³	<i>H</i>	<i>p_H</i>
Популяция С (Большая Ижора)							
M1	2	7.28	9.2**	69.6	3.63	-	-
M2	3	5.51	10.1**	77.0	5.51	0.74	0.514
M3	4	0.39	122.4***	98.4	0.77	4.24	0.051
M4	5	0.12	201.9***	99.5	0.59	5.53	0.114
M5	2	9.39	6.3*	61.2	4.65		
M6	2	12.0	4.0	50.1	6.00		
M7	2	10.0	5.5**	57.7	5.00		
M8	2	17.0	1.5	27.4	8.50		
M9	3	0.58	120.4***	97.6	0.58	4.18	0.025
Популяция В (г. Сосновый Бор)							
M1	2	53.0	24.7***	86.1	26.5	-	-
M2	3	46.0	22.0***	88.0	46.0	0.51	0.64
M3	4	13.0	55.9***	96.5	26.0	1.76	0.22
M4	5	10.0	35.4***	97.3	50.0	1.44	0.39
M5	2	51.0	25.8***	86.6	25.5	0.29	0.79
M6	2	63.0	20.1**	83.4	31.5		
M7	2	216.0	3.1	43.3	108.0		
M8	2	119.0	8.9**	68.9	59.5		
M9	3	28.0	14.1**	87.6	28.0	1.20	0.32
Популяция А (ЛСК "Радон")							
M1	2	115.0	12.7**	76.1	57.5	-	-
M2	3	88.0	13.5**	81.9	88.0	0.72	0.52
M3	4	60.0	14.1**	87.6	120.0	0.99	0.43
M4	5	60.0	7.0*	87.6	300.0	0.70	0.61
M5	2	102.0	15.0**	70.0	51.0	0.55	0.61
M6	2	103.0	14.7**	78.6	51.5	0.51	0.63
M7	2	322.0	2.0	33.3	161.0		
M8	2	149.0	9.0**	69.2	74.5		
M9	3	77.0	15.8**	84.1	77.0	0.90	0.43

Модели:

$$M1 - a + b \cdot t$$

$$M2 - a + b_1 \cdot t + b_2 \cdot t^2$$

$$M3 - a + b_1 \cdot t + b_2 \cdot t^2 + b_3 \cdot t^3$$

$$M4 - a + b_1 \cdot t + \dots + b_4 \cdot t^4$$

$$M5 - a + b \cdot \sqrt{r}$$

$$M6 - a + b \cdot \ln(t)$$

$$M7 - a + b \cdot e^t$$

$$M8 - a + b/t$$

$$M9 - a + b \cdot \sin(t + c)$$

Примечание. *n* – число параметров модели; *SSR* – остаточная сумма квадратов; *F* – статистика Фишера; *R*² – коэффициент множественной корреляции; *T* – критерий структурной идентификации; *H*, *p_H* – значение и уровень значимости критерия Хайека. Жирным шрифтом выделены значения критериев, согласно которым качество аппроксимации данной модели превосходит возможности линейной модели M1.

Уровень значимости регрессии: * *p* < 10%; ** *p* < 5%; *** *p* < 1%.

составляет 0.15 ± 0.04 , 0.14 ± 0.03 и $0.03 \pm 0.01\%$ /год для популяций А, В и С. Рост частоты цитогенетических нарушений в семенном потомстве популяций сосны, расположенных в г. Сосновый Бор и на территории ЛСК, можно связать с техногенным воздействием. Однако достоверное

увеличение частоты АК со временем наблюдается и на фоновом участке С, хотя его скорость здесь достоверно (*p* < 5%) ниже, чем на двух других участках. Выдвинутое ранее (Geras'kin et al., 2005) предположение о влиянии глобального изменения экологической ситуации на рост частоты

мутационных событий в контрольной популяции не было подкреплено доказательствами.

Для объяснения полученных результатов было сделано предположение, что изменение популяционных значений биологических показателей в естественных условиях может следовать более сложной динамике, чем линейная. Например, фазы подъема и снижения могут чередоваться, обеспечивая сохранение гомеостаза популяции. При аппроксимации данных линейная модель *a priori* имеет преимущество как одна из наиболее простых. С усложнением регрессионной функции и увеличением числа свободных параметров неопределяемая моделью доля вариации уменьшается, однако прогностическая ценность математической модели снижается. Для выбора оптимальной функции необходимо использовать критерии сравнения качества аппроксимации, учитывающие сложность сравниваемых моделей. В табл. 1 представлены результаты применения девяти моделей для описания зависимости средних значений частоты АК в корневой меристеме проростков сосны обыкновенной из трех изученных популяций от времени наблюдения. Первые четыре модели (М1-М4) представляют собой полиномиальные функции с возрастающей степенью полинома, следующие четыре модели (М5-М8) – наиболее распространенные нелинейные зависимости, имеющие такое же число свободных параметров $n = 2$, как и линейная модель. Наконец, модель М9 (синусоидальная) описывает циклические колебания эффекта во времени.

Сравнение качества аппроксимации проводили в три этапа. Во-первых, оценивали, насколько хорошо выбранная функция описывает экспериментальные данные, для чего использовали основные критерии дисперсионного анализа (остаточная сумма квадратов SSR , статистика Фишера F и множественный коэффициент корреляции R^2). Для фоновой популяции С по каждому из этих трех взаимосвязанных критериев полиномиальные (М2-М4) и синусоидальная (М9) модели показывают лучшее соответствие экспериментальным данным, чем линейная модель М1 (табл. 1). Нелинейные модели М5-М8, согласно “дисперсионным” критериям, оказываются неконкурентоспособными и могут быть исключены из дальнейшего анализа.

Во-вторых, принимали во внимание ухудшение прогностических свойств моделей при увеличении числа свободных параметров n , требующих верификации. С помощью критерия структурной идентификации T (Гераськин, Сарапульцев, 1993), который накладывает штраф за сложность,

показано, что добавление квадратичного члена (модель М2, популяция С) не приводит к такому улучшению аппроксимационных свойств модели, которое компенсировало бы ее усложнение. Это позволило исключить квадратичную зависимость из числа конкурентов линейной модели.

Наконец, проверяли статистическую гипотезу о том, что достигнутое с помощью выбранной модели улучшение качества аппроксимации по сравнению с линейной моделью не является статистически значимым. Для этого использовали критерий Хайека (Гофман, 1994), статистика которого подчиняется нормальному распределению. В случае фоновой популяции С (табл. 1) уровень значимости альтернативной гипотезы высок для синусоидальной модели М9 ($p = 0.025$) и близок к критическому для полиномиальной модели третьего порядка М3 ($p = 0.051$). Все прочие модели достоверно проигрывают линейной в качестве аппроксимации.

Из рис. 1, на котором представлены результаты применения линейной и лучших нелинейных моделей для аппроксимации временной зависимости частоты цитогенетических нарушений в фоновой популяции С, очевидно, что преимущество моделей М3 и М9 объясняется их способностью описать волнообразный характер зависимости. Однако прогностические свойства полиномиальной модели М3 за пределами изученного временного интервала быстро ухудшаются, так как при движении по оси времени вперед значения полинома резко уменьшаются и вскоре становятся отрицательными, а при движении в обратном направлении устремляются в бесконечность. Это иллюстрирует неправомочность формального подхода к математическому описанию биологических явлений. Кроме того, несмотря на большее число свободных параметров, доставляемое моделью М3 ($n = 4$), преимущество не столь значительно (табл. 1, p_H), как для модели М9 с меньшим числом параметров ($n=3$). Отсюда следует вывод, что высокое качество аппроксимации синусоидальной зависимостью удалось обеспечить не столько за счет усложнения функции, сколько благодаря достижению функционального изоморфизма биологического явления и его математической модели. В целом полученные результаты показывают, что хотя линейная модель математически адекватна в данном случае, но изменение частоты цитогенетических нарушений в течение 6 лет наблюдения на контрольном участке с высокой статистической достоверностью лучше описывают математические модели, отражающие

Таблица 2. Значения коэффициентов линейной и синусоидальной моделей при описании временной динамики уровня цитогенетических повреждений в популяциях сосны обыкновенной, различающихся степенью техногенного воздействия

Популяция	Модель М1: $a + b \cdot t$		Модель М9: $a + b \cdot \sin(t + c)$		
	a	b	a	b	c
С (Большая Ижора)	0.518	0.031	0.627	0.086	2.512
В (Сосновый Бор)	1.050	0.137	1.527	0.334	2.920
А (ЛСК)	1.426	0.145	1.929	0.360	3.057

циклический характер изменения биологических параметров во времени.

Анализ качества аппроксимации теми же моделями временных зависимостей в находящихся под техногенным давлением популяциях сосны А и В показал (табл. 1), что по дисперсионным критериям большинство нелинейных моделей, включая полиномиальные и синусоидальную, способны обеспечить лучшее приближение экспериментальных данных, чем линейная модель. Введение штрафа за сложность (табл. 1, этап II – критерий структурной идентификации T) показывает, однако, что увеличение числа свободных параметров не компенсируется достигнутым улучшением аппроксимационных свойств как в популяции В (за исключением полинома 3-й степени – модель М3), так и в популяции А. Неплохие качества продемонстрировали модели М5 и М6, отражающие замедление скорости увеличения уровня повреждений в течение времени наблюдения. Однако применение критерия Хайека показало, что достоверных улучшений качества аппроксимации частоты цитогенетических нарушений в импактных популяциях А и В по сравнению с линейной моделью не удалось достигнуть ни в одном случае (табл. 1). В том числе имевшее место в интактной популяции преимущество циклических моделей оказалось нивелированным в импактных популяциях.

В табл. 2 представлены значения регрессионных коэффициентов линейной и синусоидальной зависимостей, полученные для трех популяций сосны. Коэффициент b линейной модели отражает обсуждавшееся выше различие между фоновой и импактными популяциями в скорости роста наблюдаемого эффекта со временем. Три коэффициента синусоидальной зависимости имеют очевидный биологический смысл, а их сравнение позволяет наглядно показать различия между изучаемыми популяциями. Так, средняя за время наблюдений частота АК, выражаемая

параметром a , значительно (в 2–3 раза) выше в импактных популяциях. Размах колебаний (коэффициент b) уровня цитогенетических нарушений в популяциях А и В превышает фоновый уровень в 4 раза (см. также рис. 2). Разность коэффициентов c отражает относительный сдвиг периодов колебаний и показывает, что в популяциях А и В фазы подъема и спада уровня цитогенетических нарушений наступают с небольшим опережением относительно популяции С. При этом наблюдается тенденция к увеличению отклонений параметров a , b и c от фоновых значений с возрастанием степени антропогенного воздействия.

Таким образом, изучение временной динамики частоты цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков в течение 6 лет показало, что в интактной популяции сосны обыкновенной частота АК с высокой статистической достоверностью может быть описана математическими моделями, отражающими циклический характер изменения биологических параметров во времени. В подвергающихся техногенному давлению популяциях преимущества циклических функций над линейной зависимостью не являются достоверными. Однако использование синусоиды для описания временной динамики и в этом случае позволяет дать наглядную интерпретацию наблюдаемых явлений – в испытывающих техногенное воздействие популяциях увеличиваются средние популяционные значения и амплитуды колебаний биологических параметров. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что длительное обитание в условиях техногенного стресса приводит к нарушению естественных закономерностей изменения и дестабилизации популяционных показателей.

Структура и динамика внутривидовой изменчивости. Расширение диапазона изменчивости признаков, характеризующих самые разные популяционные процессы и показатели – воспроизводство (Безель и др., 2001), жизнеспособность

семенного потомства (Позолотина и др., 2009), морфометрические индексы (Глотов, Тараканов, 1985; Трубина, 2005), генетическое разнообразие (Кальченко и др., 1983; Prus-Glowacki et al., 1999; Bickham et al., 2000; Гераськин и др., 2009a) – одно из наиболее общих эколого-генетических последствий хронического стрессового воздействия. Не являются исключением и выявленные цитогенетические нарушения в семенном потомстве сосны обыкновенной. Изменчивость признака “частота АК в корневой меристеме проростков” в импактных популяциях А и В превосходит изменчивость в фоновой популяции С от 1.4 до 5 раз в разные годы (рис. 3).

Внутрипопуляционная изменчивость различных признаков и свойств – неотъемлемая черта природных популяций. Наследственная, т.е. генетически обусловленная изменчивость определяется различиями в генотипе особей и передается от родителей к потомкам. Исторически сложившееся генетическое разнообразие является важнейшим условием устойчивого воспроизведения вида в поколениях и мерой адаптации к среде обитания (Тимофеев-Ресовский и др., 1969). Ненаследственная, модификационная изменчивость возникает в ответ на изменение условий, в которых происходит развитие организма. Фенотипическая пластичность – яркое проявление модификационной изменчивости, при этом показано, что признаки вегетативной сферы очень пластичны, в то время как генеративные, напротив, сильнее детерминированы генотипически и более устойчивы к действию экологических факторов (Глотов, Гриценко, 1983; Трубина, 2001; Павлова, 2009).

Изучение соотношения генетической и экологической компонент, стабильности структуры изменчивости и ее динамики во времени в условиях техногенного воздействия представляет большой интерес. Однако разделение двух компонент изменчивости, особенно для популяций в естественных условиях обитания, – методически сложная задача. Одним из методов эколого-генетических исследований, применяемых для ее решения, является посемейный анализ (Глотов, Гриценко, 1983; Глотов и др., 1995).

При исследовании популяций сосны в Ленинградской обл. отбор проб семян проводили с нескольких деревьев на каждом участке (табл. 3), что позволяет рассмотреть отдельно внутрисемейную и межсемейную изменчивость. Первая определяется вариабельностью признаков у семенного потомства, полученного с одного дерева, вторая – различиями в характеристиках семян или проростков с разных материнских деревьев.

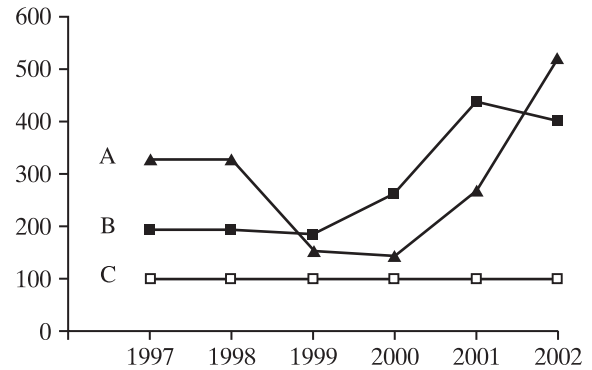


Рис. 3. Дисперсия частоты aberrantных клеток в корневой меристеме проростков в популяциях сосны обыкновенной А, В, С в 1997–2002 гг. (в % от дисперсии в фоновой популяции С).

Общую вариабельность признака в каждой из популяций можно представить в виде суммы двух

компонент: $SS = SS_w + SS_b$, где $SS_w = \sum_{i=1}^k SS_i$ – дис-

персия внутри крон деревьев (внутрисемейная), SS_b – дисперсия признака между деревьями (межсемейная), k – число обследованных деревьев на участке. Внутрисемейная вариабельность в значительной степени формируется за счет генетической, а не модификационной изменчивости, в то время как дисперсия признака между деревьями отражает суммарно различия и генетические, и экологические. Действительно, условия произрастания материнского растения частично определяют признаки развивающихся из его семян потомков, по крайней мере на ранних стадиях онтогенеза, – этот эффект известен как экологическое последствие (Глотов и др., 1995).

Из табл. 3 видно, что внутрисемейная изменчивость частоты АК в корневой меристеме проростков сосны в обследованных популяциях является преобладающей и в большинстве случаев составляет более 90% от общей изменчивости. В контрольной популяции С средняя величина вклада этой компоненты за 6 лет составила 93.0%, в популяциях из г. Сосновый Бор и ЛСК доля внутрисемейной компоненты несколько меньше – 88.2 и 86.9% соответственно.

В дисперсионном анализе отношение факторальной дисперсии к общей $\rho = SS_b / SS$ называется коэффициентом внутриклассовой корреляции (КВК) или показателем силы влияния фактора (Животовский, 1979). В популяционной генетике и селекции тот же показатель получил название коэффициента повторяемости. Оценка значимости влияния фактора по критерию Фишера (табл. 3)

Таблица 3. Оценка внутрипопуляционной изменчивости признака “частота aberrantных клеток в корневой меристеме проростков” у сосны обыкновенной

Год	Популяция	Объем выборок		Сумма квадратов отклонений, %		F	Оценка по Снедекору	
		деревьев (k)	семян (N)	SS _w /SS	SS _b /SS = ρ		n ₀	r ± m _r , %
1997	C	6	200	93.3	6.7	2.8**	32.3	5.3±5.8
	B	5	175	99.1	0.9	0.4	34.5	-1.8±2.7
	A	5	144	98.9	1.1	0.4	28.2	-2.2±3.3
1998	C	10	277	94.1	5.9	1.9*	26.9	3.1±4.2
	B	6	306	97.5	2.5	1.5	49.2	1.0±2.8
	A	8	232	96.4	3.6	1.2	28.1	0.7±3.7
1999	C	12	155	91.9	8.1	1.1	12.8	1.1±6.2
	B	8	78	94.9	5.1	0.5	9.4	-5.2±8.2
	A	6	50	97.2	2.8	0.3	8.2	-10.0±9.6
2000	C	9	87	93.2	6.9	0.7	9.3	-3.1±8.3
	B	8	30	64.4	35.6	1.7	3.7	16.5±21.3
	A	6	26	73.8	26.3	1.4	4.3	9.0±23.1
2001	C	12	120	91.0	9.0	1.0	9.9	-0.3±7.4
	B	8	56	91.0	9.0	0.7	6.9	-4.9±11.7
	A	10	49	83.6	16.4	0.9	4.9	-3.2±14.9
2002	C	14	118	94.5	5.5	0.5	8.4	-6.8±6.6
	B	12	67	82.4	17.6	1.1	5.6	1.2±12.6
	A	11	52	71.6	28.4	1.6	4.7	11.8±15.7

Примечание. Проверку достоверности отличий ρ от 0 проводили по критерию Фишера (F) со степенями свободы $v_1 = k - 1$ и $v_2 = N - k$ (Животовский, 1979).

* $p < 10\%$; ** $p < 5\%$.

показала, что несмотря на довольно большие абсолютные значения ρ (до 36%), коэффициент повторяемости достоверно отличается от нуля только в двух случаях – в фоновой популяции С в 1997 и 1998 гг. В импактных популяциях, а также в 1999–2002 гг. в популяции С выявить достоверность отличия КВК от нуля не удалось ($p > 10\%$).

Динамика коэффициента повторяемости в популяциях сосны обыкновенной представлена на рис. 4. В фоновой популяции С его значения сохраняются на довольно стабильном уровне (рис. 4) – среднее за 6 лет наблюдений значение $\bar{\rho} = 7.0\%$, а максимальный размах колебаний $\Delta\rho = 3.5\%$, – в то время как на участках, где популяции подвергаются техногенному давлению, ρ сильно меняется, хотя ясной временной зависимости не прослеживается: в популяции В – $\Delta\rho = 34.7\%$, в популяции А – $\Delta\rho = 27.3\%$. Кроме того, средние значения ρ в популяциях сосны из г. Сосновый Бор ($\bar{\rho} = 11.8\%$) и с территории ЛСК ($\bar{\rho} = 13.1\%$) значительно больше, чем на фоновом участке.

Полученное в отдельном исследовании значение ρ является выборочной оценкой и ха-

рактеризует степень влияния фактора, которая проявилась в данной группе исследованных объектов. Для того чтобы сравнить коэффициенты повторяемости в разные годы и в разных популяциях, следует получить несмещенную оценку ρ. Оценки КВК, получаемые разными способами (Гинзбург, 1969; Смирязев и др., 1992), сильно зависят от репрезентативности выборки и сбалансированности дисперсионного комплекса (Урбах, 1968; Гинзбург, 1969). Поскольку в нашей работе с разных сосен получали разное число семян, использовали рекомендованные Л.А. Животовским (1979) выражения для оценки КВК по Снедекору (r) и его стандартного отклонения (m_r) для неравномерного дисперсионного комплекса

$$r = \frac{F - 1}{F + n_0 - 1},$$

$$m_r = \sqrt{\frac{2N}{(k-1)(N-k)} \frac{(1-\rho)(1+\rho(n_0-1))}{n_0}},$$

(1)

где $n_0 = \frac{1}{k-1} \left(N - \frac{1}{N} \sum_{i=1}^k n_i^2 \right)$ – определенным

образом усредненное число повторностей. Результаты расчетов приведены в табл. 3. Значения ошибки m_r так велики, что достоверных различий между КВК как на разных участках, так и в разные годы обнаружить не удалось. Отметим, что динамика изменения оценок КВК, r , повторяет динамику выборочных значений ρ , но размах годовых колебаний сглажен.

Полученные оценки коэффициента повторяемости r в половине случаев (когда $F < 1$) являются отрицательными, что не имеет биологического смысла. Согласно теории дисперсионного анализа, если значение критерия Фишера F меньше единицы, то влияние фактора считается незначимым, следовательно, нет оснований вычислять силу этого влияния r (Урбах, 1968). По мнению Л.А. Животовского (1979), к малым значениям F может привести высокая внутригрупповая изменчивость, обусловленная наличием неучтенных факторов.

Значения коэффициента повторяемости были также сопоставлены путем вычисления доверительных интервалов с использованием упрощенного выражения для формулы Вальда, разработанной для случая неравномерного дисперсионного комплекса (Животовский, 1979). Учитывали, что при небольшом числе градаций k ($< 20-30$) распределение выборочного КВК может сильно отличаться от нормального, и использовать ошибки среднего m_r при сравнении значений КВК в этом случае неправомерно. Поэтому применяли нормализующее z -преобразование к оценкам коэффициента повторяемости (Животовский, 1979). Однако имеющегося объема экспериментальных данных оказалось недостаточно для выявления достоверных различий в оценках КВК. Выявление различий по показателям силы влияния фактора требует (Гинзбург, 1973; Животовский, 1979) очень больших объемов экспериментальных данных, включающих как большое число градаций, так и число повторностей внутри каждой градации. Планирование такого дисперсионного комплекса ввиду большой трудоемкости работ возможно только в рамках узко ориентированных популяционно-генетических исследований.

Таким образом, анализ внутривидовой изменчивости показал, что вариабельность признака “частота АК в корневой меристеме проростков сосны обыкновенной” из популяций, подвергающихся техногенному давлению, значительно превышает соответствующие значения

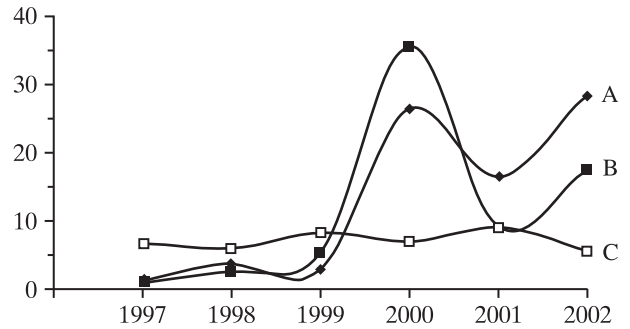


Рис. 4. Временная динамика коэффициента повторяемости ρ (%) в популяциях сосны обыкновенной.

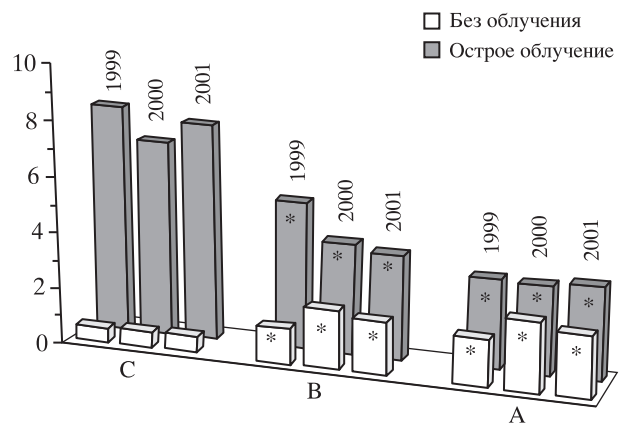


Рис. 5. Частота aberrantных клеток (%) в корневой меристеме проростков из необлученных и облученных семян сосны обыкновенной из популяций А, В и С (1999–2001 гг.). Учтены только деревья, для которых получены данные как при остром облучении семян, так и без него; «*» – отличие от фоновой популяции С достоверно ($p < 5\%$).

для фоновой популяции. В значительной степени генетически детерминированная внутрисемейная вариабельность отвечает за основную часть изменчивости. Средние значения коэффициента повторяемости в импактных популяциях до 2 раз, а размах колебаний – до 10 раз выше, чем в фоновой, хотя достоверных различий между популяциями выявить не удалось из-за недостаточных объемов экспериментальных данных.

Посемейный анализ на контрастных фонах. В экспериментах с дополнительным γ -облучением собранных в 1999–2001 гг. семян сосны показано (Geras'kin et al., 2005), что по тесту “частота АК в корневой меристеме проростков” подвергшиеся техногенному воздействию популяции А и В обладают достоверно более высокой устойчивостью к острому облучению, чем фоновая популяция С (рис. 5). Острое воздействие привело к повышению частоты АК в фоновой популяции С в 12–15 раз, в то время как в популяциях А и В отно-

Таблица 4. Результаты посемейного анализа структуры популяционной изменчивости в контрастных условиях

Год	Объем выборок		Компоненты изменчивости, %			
	деревьев	проростков	условия	семья	взаимодействие	ошибка
Популяция С (Большая Ижора)						
1999	8	147	54.3*	9.2*	12.8*	23.7
2000	6	77	55.6*	12.9*	14.3*	17.2
2001	9	111	88.5*	1.0	2.9*	7.6
Популяция В (г. Сосновый Бор)						
1999	6	87	45.8*	4.4	6.7	43.0
2000	6	56	28.8*	11.6	5.3	54.3
2001	6	73	32.2*	5.8	4.3	57.6
Популяция А (ЛСК "Радон")						
1999	4	57	20.2*	0.9	5.3	73.6
2000	5	43	4.2	26.6*	23.0*	46.2
2001	7	53	29.0*	6.1	3.7	61.2

Примечание. Значимость вклада фактора: * $p < 1\%$.

шение частоты АК в проростках из облученных и необлученных семян составляет в среднем за три года 2.7 и 1.6 раза соответственно, т.е. наблюдается тенденция увеличения устойчивости популяции к стрессовому воздействию с повышением техногенного давления в месте ее обитания.

Данные об ответной реакции растений на острое облучение были использованы для анализа компонент эколого-генетической изменчивости цитогенетических показателей с помощью метода посемейного анализа на контрастных фонах. Острое облучение семян рассматривали в качестве модификатора среды существования, тестирующего общую устойчивость популяции сосны к стрессовому воздействию. Учитывали только такие деревья (семьи), семена с которых были использованы для изучения цитогенетических эффектов как после острого облучения семян, так и без него. В табл. 4 приведены результаты двухфакторного дисперсионного анализа, где в качестве основных факторов рассматривали: 1) наличие или отсутствие острого облучения семян (условия среды) и 2) принадлежность семян к одному родительскому дереву (семья). Кроме того, учитывали вклад взаимодействия семья – среда.

В фоновой популяции С вклад всех трех компонент изменчивости, связанных с эффектами облучения, семьи и их взаимодействия, является

высокозначимым в 8 случаях из 9 (табл. 4). Отсутствие достоверного влияния генотипа в популяции С в 2001 г., по всей видимости, объясняется сильной несбалансированностью дисперсионного комплекса (после острого облучения частоту АК фиксировали только в двух проростках с каждого дерева), что существенно повышает требования к объему данных, необходимому для установления значимости статистических связей (Животовский, 1979).

В подвергающихся техногенному давлению популяциях А и В на 5%-ном уровне значимости не удалось выявить вклад как компоненты "семья", так и компоненты "взаимодействие семья – среда" (табл. 4), что указывает на модификацию структуры популяционной изменчивости у потомков особей, развивающихся в измененных экологических условиях. Единственное отклонение от этого правила отмечено в популяции А по результатам наблюдений в 2000 г. (табл. 4), причины которого неясны.

Так как достоверные различия между частотой цитогенетических нарушений в пределах каждой популяции на протяжении времени исследования отсутствовали (Geras'kin et al., 2005), то полученные в разные годы выборки могут быть объединены, чтобы увеличить объем данных для дисперсионного анализа. В этом случае (рис. 6) становится возможным выявить значимую роль

вклада генетико-средовых взаимодействий в популяции сосны В, техногенное воздействие на которую меньше, чем на популяцию А, где вклад как внутрисемейной компоненты, так и семья-средовых взаимодействий остается статистически недостоверным.

Вклад неопределяемой дисперсионным комплексом признаков компоненты («ошибка») заметно возрастает с увеличением степени техногенного воздействия (рис. 6). Это свидетельствует о существовании важных факторов, не учтенных в комплексе признаков «семья – условия среды». Ведущим среди таких неучтенных факторов, по всей видимости, является степень техногенного влияния на популяцию. К сожалению, структура данных не позволила провести трехфакторный дисперсионный анализ (семья – стрессовое воздействие – уровень техногенного воздействия) и оценить вклад техногенного фактора количественно из-за недостатка степеней свободы в отдельных градациях дисперсионного комплекса.

Таким образом, результаты посемейного анализа изменчивости на контрастных фонах показали, что при хроническом техногенном воздействии происходит модификация структуры популяционной изменчивости, причем с возрастанием экологического неблагополучия степень изменений увеличивается.

ОБСУЖДЕНИЕ

Древесные виды перекрестно опыляющихся растений, представленные большими популяциями с высоким уровнем генотипической и фенотипической изменчивости и произрастающие в разнообразных экологических условиях, являются удобным объектом для изучения молекулярно-генетических механизмов адаптации. Кроны лиственных и, особенно, хвойных деревьев характеризуются высокой задерживающей способностью по отношению к поступающим из атмосферы поллютантам и медленным самоочищением от них. В последние годы хвойные растения стали особенно популярны (Prus-Glowacki et al., 1999; Федотов и др., 2006; Gonzalez-Martinez et al., 2006) в качестве тест-объектов популяционно-генетических исследований. Долговременные наблюдения за популяциями хвойных растений, населяющими техногенно загрязненные территории, могут стать источником ценной информации о закономерностях формирования биологических эффектов в этих условиях, а также направленности и динамике адаптивных процессов.

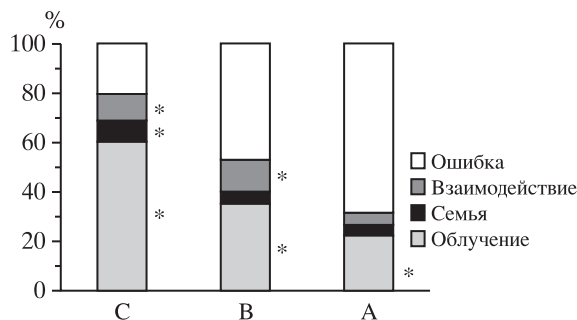


Рис. 6. Вклад факторов «условия среды (облучение)», «семья», «взаимодействие семья-среда» в общую дисперсию частоты aberrantных клеток в корневой меристеме проростков сосны обыкновенной в популяциях А, В, С. * – вклад фактора статистически значим ($p < 1\%$). Данные для популяции А по результатам наблюдений 2000 г. не учитывали.

В ходе шестилетних наблюдений было выявлено (Geras'kin et al., 2005) мутагенное воздействие на популяции сосны обыкновенной в районе расположения ЛСК «Радон» и в г. Сосновый Бор, уровень цитогенетических повреждений в семенном потомстве которых достоверно превышал фоновое значение в течение всего времени исследования. Детальный анализ динамики наблюдаемых эффектов позволил выявить ряд интересных фактов. Показано, что изменение частоты цитогенетических нарушений со временем в фоновой популяции сосны с высокой статистической достоверностью может быть описано волнообразной зависимостью. Этот результат можно рассматривать как подтверждение гипотезы о наличии периодических изменений биологических параметров в природных популяциях под действием естественных причин, которые являются способом поддержания динамического равновесия в живых системах. Таким образом, некоторое возрастание частоты цитогенетических нарушений в контрольной популяции сосны находит логичное объяснение – период наблюдений совпал с фазой нарастания цитогенетического груза. К сожалению, цикл наблюдений в Ленинградской обл. был прерван в 2002 г., что не позволило получить надежных экспериментальных доказательств в пользу снижения уровня нарушений в популяции С в последующие годы, прогнозируемого синусоидальной моделью. В популяциях А и В, однако, можно отметить начало фазы спада в 2001 и 2002 гг. (рис. 2).

В то время как с высокой статистической надежностью можно говорить о наличии в интактной популяции С циклических процессов, в испытывающих воздействие антропогенных

факторов популяциях А и В наблюдается их дестабилизация. Увеличение частоты цитогенетических нарушений сопровождается возрастанием амплитуды ее колебаний, а отклонения основных количественных параметров колебательного процесса от характерных для контрольной популяции значений увеличиваются вместе со степенью техногенного воздействия.

Периодические или непериодические колебания абиотических факторов, сопровождающиеся соответствующими изменениями биотических показателей, широко распространены в природе. К числу наиболее известных примеров относятся популяционные волны – периодические или непериодические значительные изменения числа особей в популяции, однако соответствующие модификации могут проявляться на всех уровнях организации живого, приводя к изменениям фенотипических, морфометрических и иных, в том числе и цитогенетических, показателей. Так, частота инверсий в природных популяциях может циклически меняться во времени, отражая разную приспособленность генотипов к условиям среды (Dubinin, Tiniakov, 1946). Периодические колебания популяционных параметров, с одной стороны, поддерживают динамическое равновесие в популяции, в рамках которого реализуются процессы развития и поддержания гомеостаза живой системы, с другой – поставляют материал для естественного отбора. Антропогенные воздействия, как подтверждают полученные в настоящей работе результаты, способны модифицировать естественные закономерности и в конечном счете менять направление и интенсивность естественного отбора.

Наличие в природных популяциях генетической гетерогенности по устойчивости к действию техногенных факторов и обусловленные этим различия в развитии и выживании составляющих популяцию особей играют большую роль в процессах адаптации популяций и видов к меняющимся условиям среды обитания. Хроническое стрессовое воздействие, такое, как техногенное загрязнение, часто приводит к изменениям величины либо структуры внутривидовой изменчивости (Семерик, Завьялова, 1990; Шевченко и др., 1992; Prus-Glowacki et al., 1999; Vickham et al., 2000; Трубина, 2001; Theodorakis, 2001; Гераськин и др., 2009а), что является признаком идущих в популяции процессов адаптации. Вариабельность признаков и свойств организмов часто является даже более чувствительным показателем, чем различия средних значений (Handy et al., 2003; Tsytsugina, Polikarpov,

2003). Изучение эколого-генетической структуры изменчивости позволяет оценить фенотипическую пластичность и адаптационный потенциал популяций, имеющих разную ценотическую значимость и стратегию выживания в меняющихся условиях среды.

В нашем исследовании изменчивость цитогенетических показателей в популяциях сосны, подвергающихся техногенному давлению, превышала фоновый уровень. Методика посемейного отбора образцов семян позволила разделить внутрисемейную и межсемейную вариабельность и оценить такую важную популяционную характеристику как коэффициент повторяемости. Под повторяемостью понимают способность организмов удерживать свои показатели на определенном уровне при реализации одной и той же групповой генетической информации в разных условиях (Смирязев и др., 1992; Маркова, 2009) и различают возрастную, паратипическую (реализующуюся в разных условиях среды) и топографическую (на разных органах или частях тела особи) повторяемости. Способность сохранять определенное постоянство признака имеет большое значение как в селекционной работе, так и при оценке наследственных свойств природных, в том числе хозяйственно-ценных популяций и видов (Смирязев и др., 1992). В популяциях сосны обыкновенной на фоновом участке С выборочные значения коэффициента повторяемости достоверно отличались от нуля в 1997 и 1998 гг. (табл. 3); в последующие годы значение ρ оставалось примерно на том же уровне, но уменьшение объемов данных – число просмотренных проростков снизилось с 200–280 в 1997–1998 гг. до 90–160 в 1999–2002 гг. – не позволило выявить достоверность этого показателя. В популяциях А и В значимых отличий коэффициента повторяемости от нуля не было обнаружено на протяжении всего времени исследования, хотя амплитуда его колебаний от года к году в 8–10 раз превышала фоновое значение. Возможно, полученные данные свидетельствуют о дестабилизации коэффициента паратипической повторяемости в популяциях А и В, испытывающих техногенную нагрузку, однако ограниченный объем информации не позволяет сделать такой вывод с уверенностью.

Оставшаяся после выделения внутрисемейной компоненты дисперсия показателя у потомства отражает суммарно как влияние экологических условий, в которых существовали материнские деревья (экологическое последствие) и генотипические различия между материнскими деревьями, так и взаимодействие “семья – среда”,

выражающееся в неодинаковой ответной реакции особей при резком изменении условий среды. Для снятия эффекта последствия рекомендуется (Глотов, 1983) помещать потомство в экстремальные условия, стрессовое воздействие которых превосходит влияние различий между материнскими растениями в популяции. Резкое увеличение вклада средовой компоненты (условий выращивания) в общую вариабельность признака позволяет значительно снизить неопределяемую дисперсию и четко выделить эффект семей и их взаимодействия с условиями среды (Гриценко, 2008).

Контрастные экологические условия (режимы освещенности, температуры, питания и др.) широко применяются в эколого-генетических исследованиях для оценки нормы реакции генотипа и генетической гетерогенности популяций. Высокая эффективность анализа на контрастных фонах, соединенного с методикой посемейного анализа, по сравнению с другими распространенными методами эколого-генетических исследований (клонированием и посемейными посевами в разных природных условиях) была продемонстрирована в ряде работ (Глотов, Гриценко, 1983; Глотов, Тараканов, 1985; Гриценко, 2008).

Острое облучение является частным случаем испытаний в экстремальных условиях. Провокационное облучение часто используется как инструмент для выявления скрытой изменчивости по морфологическим, физиологическим и цитогенетическим признакам (Черезанова, Алексахин, 1975; Шевченко и др., 1992; Кальченко, Федотов, 2001; Позолотина, 2001; Позолотина и др., 2006). В изучаемых популяциях сосны обыкновенной из Ленинградской обл. дополнительное острое γ -облучение семян позволило продемонстрировать повышенную радиорезистентность импактных популяций по сравнению с фоновой. В.А. Кальченко и И.С. Федотов (2001) также обнаружили эффект радиоадаптации к острому γ -облучению при исследовании устойчивости семян сосны обыкновенной, собранных в 30-километровой зоне ЧАЭС в 1997 г.

Изучение структуры эколого-генетической изменчивости широко распространенных видов травянистых растений и насекомых по ряду количественных и полиморфных признаков показало, что наряду с высокой фенотипической пластичностью у изученных видов систематически выявляется взаимодействие “генотип–среда” (Глотов, Тараканов, 1985; Семериков, Завьялова, 1990; Глотов и др., 1995; Трубина, 2001; Гриценко,

2008). Н.В. Глотов и В.В. Тараканов (1985) продемонстрировали, что генотип-средовые взаимодействия создаются не за счет отдельных семей, а представляют собой фундаментальное свойство природных популяций, определяемое их значительной генетической гетерогенностью. Применение посемейного анализа на контрастных фонах при изучении морфологических признаков в интактных популяциях овсяницы Воронова (Глотов, Гриценко, 1983; Гриценко, 2008), канареечника тростниковидного (Семериков, Завьялова, 1990), скерды кровельной (Трубина, 2001), клевера белого (Глотов и др., 1995), а также дрозофилы (Глотов, Тараканов, 1985) позволило продемонстрировать высоко значимый вклад всех трех компонент (условия среды, генотип и взаимодействие генотип-среда). Исследование физиологических процессов (содержание хлорофилла) в летней и зимней хвое на клоновой плантации сосны обыкновенной также выявило высоко значимый вклад генотипической компоненты и взаимодействия “генотип-среда” в общую эколого-генетическую изменчивость (Кальченко и др., 2009). В настоящей работе получен аналогичный результат – вклад компонент изменчивости, связанных с эффектами облучения, семьи и их взаимодействия, в фоновой популяции С практически всегда является высокозначимым (более 99%) (табл. 4), при этом на контролируемые факторы приходится около 80% наблюдаемой вариабельности (рис. 6). По нашим сведениям, анализ структуры изменчивости цитогенетических показателей в семенном потомстве хвойных деревьев ранее не проводился.

В условиях техногенного воздействия происходят настолько существенные сдвиги эколого-генетической структуры популяционной изменчивости у сосны обыкновенной, что вклад экстремальных условий среды (острого облучения семян) снижается с 60 до 22% (рис. 6), а вклад генотипической компоненты и семья-средовых взаимодействий становится недостоверным (табл. 4), при этом тяжесть нарушений структуры изменчивости возрастает вместе со степенью техногенного воздействия. Литературные данные по изучению влияния техногенного загрязнения на эколого-генетическую структуру изменчивости немногочисленны, однако согласуются с нашими результатами. Так, в умеренно загрязненной в результате нефтедобычи популяции канареечника тростниковидного – доминанта луговых сообществ Западной Сибири – не удалось выявить компоненту взаимодействия “генотип-среда”, а в сильнозагрязненной – ни генотипическую, ни компоненту взаимодействия (Семериков, Завья-

лова, 1990). В популяциях скерды кровельной в окрестностях криолитового завода наблюдали снижение значимости генотипической компоненты по некоторым морфологическим признакам и отсутствие значимого вклада взаимодействия как на средне-, так и на сильнозагрязненных участках (Трубина, 2001). Н.В. Глозов и соавт. (1995), однако, наблюдали отсутствие зависимости эколого-генетической структуры изменчивости в популяциях клевера от степени нефтяного загрязнения территории; авторы считают, что такой результат объясняется особенностями экологической стратегии клевера, который плохо переносит ценогический стресс (конкуренцию), но хорошо адаптируется к условиям нарушенных территорий. Сосна, скерда и канареечник, как типичные доминанты соответствующих сообществ, достаточно устойчивы к биотическим факторам.

Адаптация к неблагоприятным факторам среды часто носит неспецифический характер и может проявляться через повышенную устойчивость популяций к острым воздействиям, отличным по своей природе от индуцировавших адаптацию факторов. В этой связи интересно отметить тенденцию к увеличению устойчивости популяций сосны к острому облучению с повышением техногенного давления, проявляющуюся через уменьшение разницы в уровне цитогенетических повреждений в проростках из облученных и необлученных семян (рис. 5). Аналогичную зависимость наблюдали при изучении влияния нефтяных загрязнений на морфологические показатели канареечника (Семериков, Завьялова, 1990), при проращивании семян которого на контрастных (стимулирующей, ингибирующей и нейтральной) средах зависимость длины проростков от условий выращивания ослабевала с увеличением степени загрязнения участков нефтью. Таким образом, длительное обитание популяций в условиях стресса может приводить к ослаблению их чувствительности к острым воздействиям, тогда как в интактных популяциях вклад средовой компоненты при помещении образцов в контрастные условия, как правило, является определяющим.

В целом применение методики посемейного анализа на контрастных фонах, где острое облучение играло роль провоцирующего фактора для проявления структуры популяционной изменчивости, позволило выявить закономерности ее модификации, которые оказались напрямую связаны с техногенным воздействием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последствия техногенного загрязнения могут проявляться на всех иерархических уровнях организации живого: от повреждения ДНК, изменения линейных размеров органов или особей до снижения репродуктивного потенциала и выживаемости популяций и видов (Bickham et al., 2000; Theodorakis, 2001). Хотя все эти изменения взаимосвязаны, принято считать (UNSCEAR, 1996), что предотвращение серьезных нарушений на уровне популяции обладает более высоким приоритетом для сохранения гомеостаза в природных экосистемах. При оценке допустимых пределов радиационного воздействия на живую природу к числу показателей, изменение которых может оказаться значимым на уровне популяций, НКДАР ООН относит выживаемость, фертильность, продуктивность и частоту мутаций (UNSCEAR, 2008), отмечая, что репродуктивная способность является наиболее чувствительным критерием в случае действия ионизирующих излучений. Результаты полевых исследований, выполненных нами на разных видах растений (Geras'kin et al., 2003, 2005; Гераськин и др., 2008, 2009), позволяют сделать вывод, что в популяциях, подвергающихся даже относительно невысоким уровням длительного радиационного воздействия, наблюдается повышенная частота цитогенетических нарушений. Результаты настоящей работы показывают, что загрязнение среды обитания приводит не только к изменению средних популяционных показателей, но и дестабилизации их временной динамики и модификациям эколого-генетической структуры изменчивости популяций, причем с возрастанием техногенной нагрузки степень изменений увеличивается. Существуют данные о взаимосвязи между нарушениями генетической структуры, возникшими при обитании популяций в техногенно-загрязненной среде, и эффектами на более высоком уровне биологической организации, такими, как выживаемость (Guttman, 1994; Theodorakis, 2001), скорость ростовых процессов (Oleksyn et al., 1994) и репродуктивный успех (Leberg, 1990). Изучение цитогенетических показателей и структуры их изменчивости в природных популяциях является перспективным для понимания закономерностей адаптации популяций и видов к изменяющимся условиям среды и оценки их эколого-генетического потенциала в условиях антропогенных воздействий.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 08-04-00631; 11-04-00670 и 11-04-97524).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Безель В.С., Позолотина В.Н., Бельский Е.А., Жуйкова Т.В., 2001. Изменчивость популяционных параметров: адаптация к токсическим факторам среды // Экология. № 6. С. 447–453.
- Блинова Л.Д., 1998. Радиоэкологический мониторинг атмосферы и гидросферы в районе расположения объектов ядерного комплекса (на примере г. Сосновый Бор): Автореф. дис. на соискание уч. ст. канд. физ.-мат. наук. Обнинск: НПО "Тайфун". 23 с.
- Гераськин С.А., Саранульцев Б.И., 1993. Автоматическая классификация биологических объектов по уровню радиационной устойчивости // Автоматика и телемеханика. № 2. С. 182–189.
- Гераськин С.А., Зимина Л.М., Дикарев В.Г. и др., 2000. Сравнительный анализ методами биоиндикации антропогенного загрязнения района расположения предприятия по переработке и хранению радиоактивных отходов и 30-км зоны ЧАЭС // Экология. № 4. С. 300–303.
- Гераськин С.А., Дикарева Н.С., Удалова А.А. и др., 2008. Цитогенетические эффекты в популяциях сосны обыкновенной из районов Брянской области, подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. Т. 48. № 5. С. 584–595.
- Гераськин С.А., Ванина Ю.С., Дикарев В.Г. и др., 2009а. Генетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной из районов Брянской области, подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. Т. 49. № 2. С. 136–146.
- Гераськин С.А., Мозолин Е.М., Дикарев В.Г. и др., 2009б. Цитогенетические эффекты в популяциях *Koeleria gracilis* Pers. с территории Семипалатинского испытательного полигона // Радиационная биология. Радиоэкология. Т. 49. № 2. С. 147–157.
- Гинзбург Э.Х., 1969. Сравнение оценок показателя силы влияния // Генетика. Т. 5. № 4. С. 150–155.
- Гинзбург Э.Х., 1973. Оценка показателя силы влияния и планирование дисперсионного комплекса // Генетика. Т. 9. № 3. С. 156.
- Готов Н.В., 1983. Оценка генетической гетерогенности природных популяций: количественные признаки // Экология. № 1. С. 3–10.
- Готов Н.В., Гриценко В.В., 1983. Эколого-генетическое исследование овсяницы Воронова (*Festuca woronowii* Nask.) в Дагестане // Журн. общ. биологии. Т. 44. № 6. С. 823–830.
- Готов Н.В., Тараканов В.В., 1985. Норма реакции генотипа и взаимодействие генотип-среда в природной популяции // Журн. общ. биологии. Т. 46. № 6. С. 760–770.
- Готов Н.В., Максименко О.Е., Орлинский Д.Б., 1995. Эколого-генетическая изменчивость клевера белого (*Trifolium repens* L.) в природных популяциях Среднего Приобья // Экология. № 5. С. 344–346.
- Гофман Д., 1994. Рак, вызываемый облучением в малых дозах: независимый анализ проблемы. Т. 2. М.: Социально-экологический союз. 217 с.
- Гриценко В.В., 2008. Эколого-генетическая организация изменчивости популяций некоторых видов растений и насекомых: Автореф. дис. на соискание уч. ст. докт. биол. наук. Казань: КазГУ. 45 с.
- Духарев В.А., Коршиков И.И., Рябоконь С.М., Котова А.А., 1992. Генетическая дифференциация субпопуляций сосны обыкновенной в условиях техногенного загрязнения // Цитология и генетика. Т. 26. № 3. С. 7–11.
- Животовский Л.А., 1979. Оценка коэффициента внутривидовой корреляции // Генетика. Т. 15. № 7. С. 1235–1242.
- Кальченко В.А., Федотов И.С., 2001. Генетические эффекты острого и хронического воздействия ионизирующих излучений на *Pinus sylvestris* L., произрастающих в районе отчуждения Чернобыльской АЭС // Генетика. Т. 37. № 4. С. 437–447.
- Кальченко В.А., Шевченко В.А., Рубанович А.В., Колобонникова Т.М., 1983. Изменчивость изоферментов лейцинаминопептидазы в популяциях *Centaurea scabiosa* L., обитающих в разных экологических условиях // Генетика. Т. 19. № 8. С. 1244–1250.
- Кальченко Л.И., Артымук С.Ю., Тараканов В.В., Игнатъев Л.А., 2007. Эколого-генетическая изменчивость содержания хлорофиллов "а" и "b" в хвое сосны обыкновенной // Хвойные бореальной зоны. Т. 26. № 2–3. С. 193–196.
- Маркова О.А., 2009. Повторяемость размера кладки и соотношения полов в потомстве волнистых пугайчиков *Melopsittacus undulatus* // Вестн. Харьк. ун-та. Вып. 9. С. 74–78.
- Павлова М.А., 2009. Внутривидовая изменчивость морфологических признаков *Ornithogalum refractum* Schlecht. в условиях Донецкого ботанического сада НАН Украины // Пром. ботаника. Вып. 9. С. 164–168.
- Позолотина В.Н., 2001. Исследование локальных ценопопуляций одуванчика (*Taraxacum officinale* s.l.) из радиоактивно загрязненных зон // Экология. № 2. С. 117–124.
- Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Безель В.С. и др., 2006. Пути адаптации ценопопуляций одуванчика лекарственного к длительному химическому и радиационному воздействию // Экология. № 6. С. 440–445.
- Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Каримуллина Э.М., Харитонова Л.А., 2009. Последствия хронического действия радиации для флоры Восточно-Уральского радиоактивного следа // Радиационная биология. Радиоэкология. Т. 49. Вып. 1. С. 97–106.

- Семериков Л.Ф., Завьялова Н.С., 1990. Влияние нефтяных загрязнений на изменчивость популяций канареечника тростниковидного *Phalaroides arundinacea* // Экология. № 2. С. 31–34.
- Смиряев А.В., Мартынов С.П., Кильчевский А.В., 1992. Биометрия в генетике и селекции растений. М.: Изд-во МСХА. 268 с.
- Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В., 1969. Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука. 408 с.
- Трубина М.Р., 2001. Эколого-генетическая структура изменчивости в популяциях скерды кровельной (*Crepis tectorum* L.) // Экология. № 1. С. 38–43.
- Трубина М.Р., 2005. Внутрипопуляционная дифференциация скерды кровельной (*Crepis tectorum* L.) по скорости роста розетки и темпам развития особей // Эффект последствия длительного стресса // Экология. № 4. С. 243–251.
- Урбах В.Ю., 1968. О показателях силы влияния в дисперсионном анализе // Генетика. Т. 4. Вып. 8. С. 155–164.
- Федотов И.С., Кальченко В.А., Игонина Е.В., Рубанович А.В., 2006. Радиационно-генетические последствия облучения популяции сосны обыкновенной в зоне аварии на ЧАЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. Т. 46. Вып. 3. С. 268–278.
- Шевченко В.А., Печуренков В.Л., Абрамов В.И., 1992. Радиационная генетика природных популяций // Генетические последствия Кыштымской аварии. М.: Наука. 221 с.
- Черезжанова Л.В., Алексахин Р.М., 1975. О биологическом действии повышенного фона ионизирующих излучений и процессах радиоадаптации в популяциях травянистых растений // Журн. общ. биологии. Т. 36. № 2. С. 303–311.
- Bickham J.W., Sandhu S., Hebert P.D.N. et al., 2000. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology // Mut. Res. V. 463. P. 33–51.
- Dubin N.P., Tiniakov G.G., 1946. Inversion gradients and natural selection in ecological races of *Drosophila funebris* // Genetics. V. 31. P. 537–545.
- Geras'kin S.A., Dikarev V.G., Zyablitskaya Ye.Ya. et al., 2003. Genetic consequences of radioactive contamination by the Chernobyl fallout to agricultural crops // J. Env. Radioactivity. V. 66. P. 155–169.
- Geras'kin S.A., Kim J.K., Oudalova A.A. et al., 2005. Bio-monitoring the genotoxicity of populations of Scots pine in the vicinity of a radioactive waste storage facility // Mut. Res. V. 583. P. 55–66.
- Gonzalez-Martinez S.C., Krutovsky K.V., Neale D.B., 2006. Forest-tree population genomics and adaptive evolution // N. Phytol. V. 170. P. 227–238.
- Guttman S.I., 1994. Population genetic structure and ecotoxicology // Environ. Health Perspect. V. 102. P. 97–100.
- Handy R.D., Galloway T.S., Depledge M.H., 2003. A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology // Ecotoxicology. V. 12. P. 331–343.
- Leberg P.L., 1990. Influence of genetic variability on population growth: implications for conservation // J. Fish. Biol. V. 37. (Suppl. A). P. 193–196.
- Oleksyn J., Prus-Glowacki W., Giertych M., Reich P.B., 1994. Relation between genetic diversity and pollution impact in a 1912 experiment with East European *Pinus sylvestris* provenances // Can. J. For. Res. V. 24. № 12. P. 2390–2394.
- Prus-Glowacki W., Wojnicka-Poltorak A., Oleksyn J., Reich P.B., 1999. Industrial pollutants tend to increase genetic diversity: evidence from field-grown European Scots pine populations // Water, Air, Soil Poll. V. 116. P. 395–402.
- Theodorakis C.W., 2001. Integration of genotoxic and population genetic endpoints in biomonitoring and risk assessment // Ecotoxicology. V. 10. P. 245–256.
- Tsytsugina V.G., Polikarpov G.G., 2003. Radiological effects on populations of Oligochaeta in the Chernobyl contaminated zone // J. Env. Radioactivity. V. 66. P. 141–154.
- UNSCEAR, 1996. Effects of ionizing radiation on the environment. Annex to Sources and effects of ionizing radiation. Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation to the General Assembly, United Nations, New York. 86 p.
- UNSCEAR, 2008. Effects on non-human biota. Annex to Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation to the General Assembly, United Nations, New York. 38 p.

Dynamics and ecological-genetic variability of cytogenetic disturbances in Scots pine populations experiencing technogenic impact

A. A. Oudalova, S. A. Geras'kin

*Russian Institute of Agricultural Radiology and Agroecology,
249032 Kaluga Region, Obninsk
e-mail: oudalova@mail.ru*

Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations in the vicinity of nuclear industry facilities were monitored. Aberrant cells occurrence in root meristem of germinated seeds from the impacted pine populations was found to be significantly above the reference level during all six years of observations. In the reference population, changes of cytogenetic disturbances with time appeared to be cyclic while in the impacted populations, technogenic stress was strong enough to destroy the natural regularities. The increase in cytogenetic disturbances was accompanied by growth of fluctuations magnitude; deviations of basic oscillation parameters from the reference values rose along with technogenic impact level. Variability in cytogenetic response increased under technogenic stress. Inter-family component of variability predominated, though its contribution slightly decreased in impacted populations. A tendency for destabilization of a repetition coefficient dynamics was found under technogenic impact. A portion of the seeds was exposed to 15 Gy of γ -rays, and higher radio-resistance in the impacted populations was observed. In the reference population, a family-related analysis of cytogenetic variability components after acute γ -exposure revealed significant contributions of "family" and "germination conditions" factors as well as their interactions. On the contrary, in populations existing under chronic stress, considerable modifications in the structure of ecological-genetic variability were found, their degree increasing with technogenic impact severity.