

Н.С. ТЕРЛЫГА¹, И.И. КОРШИКОВ², А.Е. МАЗУР¹

¹ Криворожский ботанический сад НАН Украины
Украина, 50089 г. Кривой Рог, ул. Маршака, 50

² Донецкий ботанический сад НАН Украины
Украина, 83059 г. Донецк, пр. Ильича, 110

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УСТОЙЧИВЫХ В УСЛОВИЯХ КРИВОРОЖЬЯ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ КРЫМСКОЙ (*PINUS PALLASIANA* D. DON.)

На основе трехлетних наблюдений за поврежденностью 25 растений каждого из четырех изучаемых молодых насаждений *Pinus pallasiana* D. Don разных техногенно загрязненных экотопов Криворожья выделено 24 наиболее устойчивых дерева. Определены значения основных показателей генетического полиморфизма по 23 аллозимным локусам для первичных насаждений и выборки устойчивых деревьев. Устойчивые деревья имеют меньшее аллельное и генотипическое разнообразие, но повышенный уровень гетерозиготности ($H_O = 0,326$, $H_E = 0,320$) по сравнению с первичными насаждениями ($H_O = 0,166-0,326$, $H_E = 0,214-0,275$).

Селекционный процесс в отношении древесных пород в начале 80-х годов XX в. находился на стадии инвентаризации лесов, отбора плюсовых насаждений и деревьев, создания на их основе клоновых плантаций [6]. Для дальнейшего развития и повышения практической результативности лесной селекции важно провести сравнительный анализ генетического разнообразия плюсовых деревьев и исходных популяций [7]. Возрастающее антропогенное и техногенное воздействие на природные и искусственные лесные экосистемы требует критической переоценки некоторых генетико-селекционных принципов и приемов улучшения лесов, четкого определения приоритетов в изучении генетического потенциала отдельных видов, путей его сохранения и воспроизводства в отдельных регионах [2]. В частности, для озеленения промышленно развитых регионов степной зоны Украины необходимо выведение устойчивых к азротехногенным загрязнителям форм древесных растений, сохраняющих свои декоративные качества в урботехногенной среде. Поскольку в степной зоне в основном произрастают интро-

дуценты, то их селекционно-генетическое улучшение должно проводиться на основе адаптированных к новым условиям насаждений, достигших репродуктивной фазы развития [5], хотя они характеризуются обедненным генотипическим составом [3]. Целью выделения устойчивых декоративных форм древесных растений должно быть получение максимального селекционного эффекта для определенных экологических ниш. Этого можно добиться, подбирая древесные растения по генотипическому составу, уровню гетерозиготности и адаптивным признакам, отражающим их норму реакции на действие лимитирующих факторов среды [2, 5].

Цель данной работы — сравнительный анализ генетических параметров выборок устойчивых к техногенному загрязнению среды растений и исходных насаждений *Pinus pallasiana* различных экотопов Криворожья.

Материалы и методы

В течение трех лет велось наблюдение за жизненным состоянием 100 деревьев в четырех молодых насаждениях (20—30-летнего возраста) *P. pallasiana* в г. Кривой Рог.

Эти насаждения находились на территории Северного горнообогатительного комбината (СевГОК), в 3 км от промплощадки Криворожского металлургического комбината (КМК), на отвале Первомайского рудника (ПРР) и в Романовском урочище (РУ). У 25 растений каждого из этих насаждений определяли сохранность и продолжительность жизни хвои, ее повреждаемость и относительную охвоенность ростовых побегов.

По результатам трехлетних наблюдений из них были выделены 5—7 наиболее устойчивых деревьев.

Для определения генетических параметров с каждого из 100 изученных растений собирали семена. Из гаплоидных эндоспермов семян экстрагировали ферменты, которые использовали в качестве молекулярно-генетических маркеров материнских растений. В электрофоретическом анализе были задействованы 10 ферментных систем. Их разделяли в вертикальных пластинках 7,5%-го полиакриламидного геля. Условия экстракции ферментов, их электрофоретического разделения, гистохимического окрашивания на гелевых пластинках и их номенклатура подробно нами описаны ранее [4]. Для сравнительного анализа генетических параметров объединенной выборки устойчивых деревьев (всего 24) и исходных насаждений *P. pallasiana* применяли общепринятые показатели популяционной генетики [1].

Результаты и обсуждение

В результате электрофоретического анализа изоферментов идентифицировано 23 генных локуса, контролирующих синтез 10 исследуемых ферментных систем *P. pallasiana*. В общей выборке растений 18 локусов были полиморфны, и для них описано 65 аллельных вариантов.

Максимальное аллельное разнообразие (54) присуще растениям, произрастающим вблизи Криворожского металлургического комбината, а минимальное — отмечено в

наиболее молодом насаждении на отвале горнорудного карьера и в выборке устойчивых растений (45). Количественное представительство аллелей в четырех первичных интродукционных насаждениях *P. pallasiana* на Криворожье составляет 69,2—83,1% от их числа в общей выборке из 100 растений. В каждом из четырех изучаемых насаждений встречаются 1—4 редких аллеля, присущих только одному из древостоев. Такая особенность отмечена и в природных популяциях сосны крымской [5]. В общей выборке растений установлено 83 генотипа 18 полиморфных локусов. Наибольшее число генотипов свойственно растениям Романовского урочища — 59, а наименьшее — 54 — выборке устойчивых растений. Представительство генотипов в изучаемых насаждениях составляет 65,1—71,1% от их числа в общей выборке растений. Во всех исходных насаждениях встречается от 2 до 6 генотипов, присущих только этим выборкам.

В выборке устойчивых растений и во всех исходных насаждениях установлены случаи достоверного несоответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому согласно закону Харди—Вайнберга (табл. 1). У растений насаждения на территории Северного горнообогатительного комбината существенные отклонения в равновесном распределении генотипов отмечены по двум локусам, а у растений насаждения отвала Первомайского рудника — по семи. В выборке устойчивых растений такие отклонения выявлены в трех локусах. В природных популяциях хвойных существенные нарушения в равновесном распределении генотипов в соответствии с законом Харди—Вайнберга обычно свойственны 1—3 локусам [1, 5]. Как показывает анализ всей совокупности анализируемых локусов, наблюдаемое распределение генотипов в выборке устойчивых растений соответствует теоретически ожидаемому.

Используя частоты аллелей и генотипов, был проведен попарный анализ гене-

Таблица 1. Анализ соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому согласно закону Харди—Вайнберга в насаждениях *Pinus pallasiana* D. Don на Криворожье и в выборке устойчивых растений из них, χ^2 -тест

Локус	Насаждения				Устойчивые деревья из этих насаждений
	СевГОК	КМК	ППП	РУ	
Gdh	0,50 (0,76)	0,29 (0,62)	0,04 (0,24)	0,13 (0,19)	0,74 (0,7)
Got-1	0,00	0,01 (0,19)	0,00	0,01 (0,19)	0,00
Got-2	1,03 (1,03)	12,28 (1,03)***	9,42 (0,89)***	0,78 (0,27)	3,40 (1,00)
Got-3	0,13 (0,26)	3,46 (0,98)	0,01 (0,14)*	7,96 (1,01)**	0,50 (0,70)
Sod-4	0,02 (0,23)	0,22 (0,73)	0,01 (0,19)	0,29 (0,62)	0,04 (0,26)
Mdh-2	0,00	0,46 (0,70)	0,16 (0,52)	0,29 (0,62)	0,50 (0,71)
Mdh-3	0,27 (0,27)	0,45 (0,38)	2,03 (0,99)	0,93 (1,94)	2,30 (1,02)
Mdh-4	19,89 (1,74)***	3,29 (0,78)	14,48 (2,42)**	14,02 (2,15)**	12,32 (20,85)**
Dia-1	4,34 (1,03)*	5,04 (1,03)*	7,99 (2,31)*	0,06 (0,26)	1,80 (1)
Dia-2	0,15 (0,70)	1,44 (1,83)	0,37 (1,23)	1,14 (1,77)	0,23 (0,26)
Dia-4	3,05 (2,37)	0,17 (0,26)	0,90 (0,62)	3,13 (1,71)	6,78 (0,90)**
Acp	1,34 (0,86)	0,33 (0,75)	0,30 (0,76)	2,23 (0,31)	1,35 (2,04)
Adh-1	0,35 (0,92)	0,10 (0,38)	6,48 (1,81)*	0,85 (0,27)	5,10 (0,87)*
Adh-2	3,27 (1,66)	0,08 (0,40)	22,97 (0,92)***	0,16 (0,52)	1,41 (0,53)
Lap-1	0,40 (1,30)	0,03 (0,27)	0,00	0,0004 (0,04)*	0,32 (0,44)
Lap-2	0,33 (1,10)	0,01 (0,14)*	0,002 (0,12)*	0,00	0,21 (0,18)
Fdh	0,02 (0,42)	0,02 (0,23)*	0,41 (0,23)	0,33 (1,10)	0,01 (0,14)
Me-2	0,00	0,16 (0,52)	0,08 (0,40)	0,29 (0,62)	0,17 (0,53)
Me-3	0,23 (0,27)	0,48 (0,40)	0,99 (1,01)	0,56 (0,64)	0,75 (1,03)
По совокупности локусов	35,32 (14,92)**	28,32 (11,62)**	66,66 (14,8)***	33,16 (14,23)**	37,93 (33,16)

Примечание. В скобках указано число степеней свободы. Значения достоверны: * — при $P < 0,05$; ** — при $P < 0,01$; *** — при $P < 0,001$.

тической гетерогенности выборки устойчивых растений и каждого из четырех первичных насаждений (табл. 2). Применяв стандартный χ^2 -тест для этого анализа, мы обнаружили, что аллельная гетерогенность в сравниваемых парах встречается по 1—3 локусам, а генотипическая — по 1—4. Наибольший уровень аллельной гетерогенности (3 локуса) выявлен при сравнении выборки устойчивых растений и насаждения на отвале Первомайского рудника. Максимальная генотипическая гетерогенность (4 локуса) свойственна устойчивым растениям и древостоем вблизи металлургического комбината. По генотипической структуре выборка устойчивых растений наиболее близка к насаждению в Романовском урочище.

Расчеты значений основных показателей генетического полиморфизма свидетельствуют, что доля полиморфных локусов в выборке устойчивых растений и в исходных насаждениях составляет 75—80% (табл. 3). Выборка устойчивых растений характеризовалась наибольшим средним значением ожидаемой гетерозиготности, которое достоверно выше, чем в исходных древостоях. Устойчивые растения и те, что произрастают вблизи металлургического комбината, в среднем гетерозиготны по 32,6%, а в Романовском урочище и в насаждении на территории СевГОКа — соответственно по 24,4 и 27,8% своих генов. Существенно меньший уровень гетерозиготности — 16,6% — свойственен молодым растениям насаждения на отвале Первомайского рудника. Это можно

Таблица 2. Попарный анализ гетерогенности аллелей и генотипов выборки устойчивых деревьев и исходных насаждений *P. pallasiana* D. Don на Криворожье, χ^2 -тест

Локус	Аллели (А), генотип (Г)	Показатель гетерогенности			
		КМК—Уст	СевГОК—Уст	ППР—Уст	РУ—Уст
Gdh	A	0,44 (1)	0,01 (1)	1,85 (2)	0,95 (1)
	Г	0,16 (1)	0,52 (1)	1,93 (2)	1,11 (1)
Got-1	A	0,00	1,503 (2)	0,00	1,005 (1)
	Г	0,00	3,07 (2)	0,00	3,07 (2)
Got-2	A	1,84 (1)	0,68 (1)	4,39 (1)*	1,22 (1)
	Г	1,40 (2)	4,43 (2)	15,56 (2)***	3,08 (3)
Got-3	A	1,667 (1)	1,54 (2)	3,30 (1)	5,90 (1)*
	Г	1,35 (2)	3,55 (1)	3,67 (1)	8,98 (1)**
Sod-4	A	0,38 (2)	0,17 (2)	1,52 (2)	1,12 (2)
	Г	1,94 (20)	0,43 (20)	1,66 (2)	1,12 (2)
Mdh-2	A	0,01 (1)	7,86 (1)**	0,48 (1)	0,14 (1)
	Г	8,52 (1)**	0,01 (1)	0,56 (1)	0,17 (1)
Mdh-3	A	2,99 (4)	1,25 (2)	0,67 (1)	7,16 (3)
	Г	1,26 (3)	5,43 (5)	0,87 (2)	9,22 (5)
Mdh-4	A	1,81 (3)	0,20 (2)	2,16 (2)	0,70 (2)
	Г	10,43 (4)*	12,61 (4)*	6,70 (5)	3,26 (3)
Dia-1	A	0,17 (1)	0,05 (1)	9,71 (2)**	4,99 (2)
	Г	1,61 (2)	0,65 (20)	9,09 (4)	5,56 (3)
Dia-2	A	7,37 (2)*	3,91 (2)	1,86 (2)	4,64 (2)
	Г	3,91 (3)	9,48 (3)*	3,07 (3)	6,95 (3)
Dia-4	A	0,51 (2)	3,07 (2)	3,29 (2)	0,51 (2)
	Г	4,34 (4)	2,04 (30)	4,98 (30)	3,23 (4)
Acp	A	3,72 (3)	5,49 (2)	2,15 (2)	3,42 (3)
	Г	6,88 (3)	3,55 (40)	3,20 (3)	3,87 (4)
Adh-1	A	3,15 (3)	0,14 (1)	4,71 (2)	2,71 (2)
	Г	1,63 (2)	5,81 (4)	5,16 (4)	4,41 (3)
Adh-2	A	0,17 (1)	8,38 (2)*	3,16 (1)	0,004 (1)
	Г	3,16 (3)	1,16 (2)	6,56 (2)*	1,49 (2)
Lap-1	A	2,29 (2)	5,05 (2)	4,33 (2)	2,54 (2)
	Г	9,97 (3)*	0,18 (1)	2,16 (1)	3,06 (2)
Lap-2	A	4,02 (2)	5,34 (2)	1,35 (2)	2,14 (1)
	Г	5,86 (2)	3,99 (2)	1,33 (2)	2,16 (1)
Fdh	A	0,29 (3)	5,83 (4)	4,76 (4)	1,31 (3)
	Г	5,05 (5)	3,40 (4)	5,30 (5)	2,35 (4)
Me-2	A	0,004 (1)	0,17 (1)	5,48 (1)*	0,06 (1)
	Г	5,79 (1)*	0,01 (1)	0,19 (1)	0,07 (1)
Me-3	A	1,17 (3)	1,81 (2)	3,28 (1)	3,83 (3)
	Г	2,41 (3)	5,41 (4)	3,90 (2)	3,93 (4)

Примечание. В скобках указано число степеней свободы. Значения достоверны: * — при $P < 0,05$; ** — при $P < 0,01$; *** — при $P < 0,001$.

объяснить тем, что на отвале высаживали сеянцы местной криворожской репродукции, а остальные изучаемые насаждения *P. pallasiana* формировались из сеянцев, завозимых из питомников южных областей Украины.

Выборка устойчивых деревьев и насаждения на территории СевГООКа генотипически сбалансированы, т. к. различия между значениями H_E и H_O очень незначительны. Однако в насаждении на территории

Таблица 3. Значения основных показателей генетического полиморфизма выборки устойчивых растений и исходных насаждений *P. pallasiana* D. Don на Криворожье

Место произрастания растений	Доля полиморфных локусов, P_{99}	Среднее число аллелей на локус, A	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта, F
			ожидаемая, H_E	наблюдаемая, H_O	
Криворожский металлургический комбинат	0,750	2,350	$0,270 \pm 0,018$	$0,326 \pm 0,017$	-0,207
Северный горно-обогатительный комбинат	0,750	2,350	$0,275 \pm 0,007$	$0,278 \pm 0,018$	-0,011
Отвал Первомайского рудника	0,750	2,200	$0,214 \pm 0,017$	$0,166 \pm 0,015$	0,224
Романовское урочище	0,800	2,400	$0,275 \pm 0,018$	$0,294 \pm 0,017$	-0,069
Выборка устойчивых деревьев	0,800	1,957	$0,320 \pm 0,022$	$0,326 \pm 0,021$	0,018

СевГОКа, как и в остальных трех исходных древостоях *P. pallasiana*, генетическая структура смещена от теоретически ожидаемой согласно закону Харди—Вайнберга по совокупности 23 анализируемых локусов (см. табл. 1.): в трех насаждениях — СевГОКа, КМК, РУ — в сторону избытка гетерозигот (значение F), а в насаждении ПРР — в сторону значительного их недостатка. Последнее может быть связано с выращиванием сеянцев, полученных из семян растений первичного интродукционного насаждения с высокой долей самоопыления.

Расчеты значений коэффициентов инбридинга F -статистики Райта [1] показывают, что в целом для изучаемых насаждений и анализируемой выборки устойчивых растений *P. pallasiana* на Криворожье свойственен небольшой избыток гетерозигот особи относительно насаждения ($F_{IS} = -0,030$) и особи относительно вида в целом ($F_{IT} = -0,001$). Значения коэффициентов F_{ST} и G_{ST} , определяющих подразделенность изучаемых выборок [1], свидетельствуют, что 97,2% всей генетической изменчивости сосредоточено внутри выборок и только 2,8% приходится на межвыборочную изменчивость. Это обычная норма, которая

свойственна популяциям многих видов хвойных [1, 5].

Используя частоты аллелей 23 локусов, были рассчитаны значения коэффициента генетической дистанции (D_N) М. Nei [8] для изучаемых насаждений и выборки устойчивых деревьев. Значения D_N для четырех интродукционных насаждений *P. pallasiana* на Криворожье варьировали от 0,010 до 0,022, составив в среднем 0,0165. Генетическая дистанция между выборкой устойчивых деревьев и исходными насаждениями изменялась в меньших пределах — от 0,007 до 0,012, составив в среднем 0,0095. В восьми природных популяциях *P. pallasiana* в Крыму значения D_N колебались от 0,005 до 0,022, а в среднем составляли 0,012 [9]. По нашим данным, в трех популяциях *P. pallasiana* в Крыму, исследованных по тем же аллозимным локусам, что и насаждения на Криворожье, значения D_N изменялись от 0,004 до 0,012 [4]. Следовательно, выборка устойчивых деревьев имеет степень генетической дифференциации, свойственную природным популяциям этого вида.

Таким образом, изученная выборка устойчивых деревьев *P. pallasiana* из насаждений техногенных экотопов Криворожья

характеризовалась определенными генетическими отличиями по сравнению с исходными древостоями. Особенностью устойчивых молодых растений в насаждениях Криворожья является их высокая гетерозиготность. Очевидно, что это может быть одной из причин высокой устойчивости этой селекционно-перспективной группы деревьев к условиям техногенных экотопов Криворожья.

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. — М.: ИКЦ "Академкнига", 2003. — 431 с.
2. Концепция генетического улучшения лесов России // Лесоведение. — 1995. — № 3. — С. 3—7.
3. Коршиков И.И., Бычков С.А., Терлыга Н.С. К проблеме генетического представительства вида при интродукции // Докл. НАН Украины. — 2001. — № 10. — С. 162—166.
4. Коршиков И.И., Терлыга Н.С. Генетическая изменчивость сосны крымской в природных популяциях Крыма и искусственных насаждениях Кривбасса // Цитология и генетика. — 2000. — 34, № 6. — С. 21—29.
5. Коршиков И.И., Терлыга Н.С., Бычков С.А. Популяционно-генетические проблемы дендротехногенной интродукции (на примере сосны крымской). — Донецк: ООО "Лебедь", 2002. — 328 с.
6. Молотков П.И., Патлай И.Н., Давыдова Н.И. Селекция древесных растений. — М.: Лесн. пром-сть, 1982. — 224 с.
7. Петров С.А., Патлай И.Н., Сахаров В.И., Шутяев А.М. Методы лесной селекции, их генетическое обоснование и эффективность // Лесная генетика, селекция и физиология древесных растений: Матер. междунар. симпозиума (Воронеж, 25—30 сентября 1989 г.). — М.; Б. и., 1989. — С. 29—36.
8. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. — 1972. — Vol. 106. — P. 283—292.
9. Silin A.E., Goncharenko G.G. Allozyme variation in natural populations of Eurasian pines. VI. Population structure and genetic variation in geographically related and isolated populations of Pinus

nigra Arnold on the Crimean peninsula // Silvae Genetica. — 1996. — Vol. 45, № 2—3. — P. 67—75.

Рекомендовал к печати Б.А. Левенко

Н.С. Терлыга¹, И.И. Коршиков², А.Ю. Мазур¹

¹ Криворізький ботанічний сад НАН України, Україна, м. Кривий Ріг

² Донецький ботанічний сад НАН України, Україна, м. Донецьк

ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТІЙКИХ В УМОВАХ КРИВОРІЖЖЯ ДЕРЕВ СОСНИ КРИМСЬКОЇ (PINUS PALLASIANA D. DON)

На основі трирічних спостережень за пошкодженням 25 рослин кожного з чотирьох досліджуваних молодих насаджень *Pinus pallasiana* D. Don різних техногенно забруднених екотопів Криворіжжя виділено 24 найстійкіших дерева. Визначено значення головних показників генетичного поліморфізму за 23 алозимними локусами для первинних насаджень та вибірки стійких дерев. Стійкі дерева мають меншу алельну та генотипічну різноманітність, але підвищений рівень гетерозиготності ($H_O = 0,326$, $H_E = 0,320$) порівняно з первинними насадженнями ($H_O = 0,166—0,326$, $H_E = 0,214—0,275$).

N.S. Terlyga¹, I.I. Korshikov², A.E. Mazur¹

¹ Kriviy Rig Botanical Gardens, Ukraine, Kriviy Rig

² Donetsk Botanical Gardens, Ukraine, Donetsk

GENETIC PECULIARITIES OF PINUS PALLASIANA D. DON TREES TOLERANT TO KRIVIY RIG AREA CONDITIONS

On the basis of tree-year observations of four young stands of *Pinus pallasiana* D. Don from different technogenously polluted ecotops of Kriviy Rig area studied, 24 most tolerant trees have been identified. Values of the basic indices of genetic polymorphism for 23 allozyme loci for primary stands and for the sample of tolerant trees are determined. The tolerant trees have less pronounced allelic and genotypic variation, but they have an increased heterozygosity level ($H_O = 0,326$, $H_E = 0,320$) comparing to the primary stands ($H_O = 0,166—0,326$, $H_E = 0,214—0,275$).