

## ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ДЕРЕВОСТАНІВ *PINUS SYLVESTRIS* L. (*PINACEAE*) ПРОМИСЛОВО ПОРУШЕНИХ ТА АЕРОТЕХНОГЕННО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЙ

*Ключові слова:* *Pinus sylvestris*, промислові відвали, аеротехногенне забруднення, локальні популяції і насадження, генетична мінливість і диференціація

### Вступ

Антропогенно докорінно порушені території, на яких відбувається природне поновлення рослинного покриву, важливі для визначення специфіки прояву толерантності популяцій піонерних видів. Особливо цікавить дослідників те, як саме формується структура популяцій у несприятливих, а часом і в стресових умовах техногенних екотопів.

Серед таких територій у степовій зоні насаперед виділяють породні відвали гірничовидобувних підприємств, озеленення яких уже понад півстоліття здійснюється деревними рослинами, але, на жаль, не завжди успішно. Досі обмаль уваги приділялося природному поселенню і самовідновленню деревних рослин на таких відвалах та аналізу стану піонерних деревостанів, що з часом там утворюються. Зокрема, ми показали, що на окремих залізрудних відвалах Криворіжжя природним шляхом активно розповсюджуються два види роду *Pinus* L.: *P. pallasiana* D. Don та *P. sylvestris* L., які формують локальні стійкі популяції у цих техногенних екотопах (Коршиков і др., 2005а, б). Пізніше ми з'ясували, що *P. sylvestris* природно поселяється на крейдових відвалах содового виробництва на півночі Донецької обл., а потім, за рахунок насіння дерев із відвалів, розселяється на їхній поверхні (Коршиков, Пастернак, 2011). Самовідновлення *P. sylvestris* на двох віддалених один від одного залізрудних відвалах і географічно відокремлених від них відвалах содового виробництва відбувається зазвичай із самостійних джерел насіння. Тому ці піонерні популяції повинні мати якісь відмінності в генетичній структурі, які зумовлені ефектом засновника та різним ступенем можливого природного добору на користь найвитриваліших генотипів.

Такий добір є і в штучних насадженнях *P. sylvestris*, що зростають поблизу великих промислових під-

приємств зі значним обсягом токсичних викидів. У них нестійкі дерева передчасно елімують або мають істотні пошкодження, тому аерополітанти є реальним фактором переформовування структури насаджень через природне визначення стійких дерев. Отже, у штучних насадженнях біля джерел потужних промислових викидів певною мірою можуть нівелюватися відмінності в генетичній структурі видів, що, очевидно, пов'язані з різним походженням садивного матеріалу. Несприятливі едафічні умови промислових відвалів, аеротехногенне забруднення — це чинники, різні за природою впливу на рослини. Однак невідомо, наскільки специфічно вони діють, щоб це позначалося на генетичній структурі деревостанів.

Мета роботи — порівняльний аналіз генетичної структури локальних популяцій *P. sylvestris*, що формуються на промислових відвалах, та вибірок стійких дерев у насадженнях, які зростають біля джерел токсичних промислових викидів, — для визначення специфіки впливу едафічного й аеротехногенного забруднення.

### Об'єкти та методика дослідження

Об'єктами вивчення були дві локальні популяції *P. sylvestris* на Первомайському (ЗВ1) та Петровському (ЗВ2) залізрудних відвалах Криворіжжя, відстань між якими — понад 50 км. На Первомайському відвалі локальна популяція *P. sylvestris* формується за рахунок насінневого відновлення навколо 25—30-річних насаджень і займає площу близько 1,0 га з чисельністю рослин різного віку (1—15 років) до 50 особин на 100 м<sup>2</sup>. Популяція *P. sylvestris* площею 2 га на Петровському відвалі виникла внаслідок заносу насіння з насаджень, що зростає за 100—150 м поблизу відвалу. На схилах крейдових відвалів содового виробництва на півночі Донецької області (КРВ) трапляються окремі рослини, які досягли репродуктивної стадії розвитку (ри-

сунок), а на невеликій вирівняній площі між двома відвалами на окремих ділянках формується «шітка» молодих рослин (до 400 шт./100 м<sup>2</sup>). На двох останніх відвалах *P. sylvestris* ніколи не висаджували.

Генетичну структуру розвинених, найстійкіших дерев *P. sylvestris* досліджували в трьох насадженнях: у м. Маріуполі поблизу (1,5 км) металургійного комбінату (МАР), у м. Сіверськодонецьку біля (300 м) хімічного комбінату з виробництва азотних добрив (А1) та поряд (1 км) із тепловою електростанцією, що працює на вугіллі в Донецькій обл. (НС). Вік насаджень — 15—25 років. Із 20—25 дерев у кожному з шести деревостанів збирали шишки, повноцінне насіння яких використовували для встановлення генотипу дерева методом електрофоретичного аналізу ізоферментів.

Для дослідження генетичного поліморфізму *P. sylvestris* як молекулярно-генетичні маркери обрано ізоферменти восьми ферментних систем: алкогольдегідрогенази (ADH), глутаматоксалоацетаттрансамінази (GOT), діафрази (DIA), глутаматдегідрогенази (GDH), малатдегідрогенази (MDH), кислій фосфатази (ACP), лейцинамінопептидази (LAP), супероксиддисмутази (SOD). Для електрофоретичного аналізу ізозимів, який проводили у 7,5 %-му поліакриламідному гелі, використовували мегагаметофіти 7—8 насінин із кожного дерева. Методику екстракції ферментів, їхнього електрофоретичного розділення, гістохімічного забарвлення ізоферментів на гелевих пластинах, номенклатуру локусів та алелів детально викладено в нашій попередній публікації, присвяченій дослідженням популяційно-генетичної мінливості *P. sylvestris* в Україні (Коршиков и др., 2005).

Шляхом електрофорезу білків визначено алелі 16 алозимних локусів, які використовували для розрахунку показників генетичного поліморфізму, генетичної дистанції за М. Неєм (Nei, 1972). Гетерогенність частот алелів оцінювали за стандартним  $\chi^2$ -тестом (Животовский, 1991) за допомогою програми GenRes (Демкович, 2007).

## Результати дослідження та їх обговорення

Найважливішими в наших дослідженнях були три популяції *P. sylvestris*, що зростали на промислових відвалах. Ці популяції є «острівними» в степовій зоні, вони виникли завдяки біологічній здатності *P. sylvestris* колонізувати нові техногенні екотопи на означеній території. Попри те, що відвали географічно ізольовані та суттєво відрізняються за фізико-хімічним і механічним складом, а



Самовідновлення *Pinus sylvestris* L. на крейдяному відвалі содового виробництва в Донбасі

Self *Pinus sylvestris* L. on chalk dump of soda production in Donbass

популяції тут формуються з різних джерел насіння, достовірних розбіжностей у частотах алелів не встановлено по жодному з 13 поліморфних локусів (табл. 1).

Локуси Sod-1, Sod-2 та Sod-3 були мономорфними в усіх шести деревостанах, що є звичайним для цих локусів, і в природних популяціях *P. sylvestris* (Коршиков и др., 2005). Відсутність суттєвої алельної гетерогенності між трьома популяціями свідчить про те, що не відбувається будь-якої різноспрямованої дії природного добору щодо алелів у процесі поселення рослин на різні едафотопи відвалів.

Вибіркі стійких до аерополютантів дерев трьох насаджень значно відрізнялися за частотою алелів за шістьма локусами (Sod-4, Dia-1, Dia-2, Dia-4, Acp і Lap-1). Однозначно відповісти на питання, чи пов'язано це з природним добром за негативного впливу аерополютантів, чи з різним походженням вихідного садивного матеріалу, в даному випадку майже неможливо. При порівнянні трьох популяцій і трьох насаджень до шести вищезазначених локусів додається ще один. Тобто, в розбіжності генетичної структури *P. sylvestris* шести деревостанів найбільший внесок тих локусів, за якими цей вид відрізняється в трьох штучних насадженнях. З цього аналізу можна зробити попередній висновок, що едафічні умови залізородних і крейдяних відвалів суттєвіше «вирівнюють» генетичну структуру популяцій *P. sylvestris*, які формуються на них за рахунок самовідновлення рослин, аніж

ушкоджувальна дія на рослини зі штучних насаджень різних за кількісно-якісним складом токсичних викидів металургійних, хімічних підприємств і теплової електростанції.

**Таблиця 1. Аелельна гетерогенність *Pinus sylvestris* L. у популяціях на промислових відвалах Донбасу, Криворіжжя та насадженнях поблизу великих промислових підприємств у Донецькій і Луганській областях**

Локус	Насадження поблизу промислових підприємств (МАР, НС, А1)	Популяції на промислових відвалах (ЗВ1, ЗВ2, КРВ)	Насадження і популяції
GDH	n.s.	n.s.	n.s.
Got-1	n.s.	n.s.	n.s.
Got-2	n.s.	n.s.	n.s.
Got-3	n.s.	n.s.	39,1 (20) **
Sod-1	n.s.	n.s.	n.s.
Sod-2	n.s.	n.s.	n.s.
Sod-3	n.s.	n.s.	n.s.
Sod-4	12,0 (4) *	n.s.	24,8 (10) **
Mdh-2	n.s.	n.s.	n.s.
Mdh-3	n.s.	n.s.	n.s.
Dia-1	16,1 (6) *	n.s.	33,9 (15) **
Dia-2	14,2 (6) *	n.s.	36,6 (15) **
Dia-4	14,9 (4) **	n.s.	19,0 (10) *
Asp	31,1 (4) ***	n.s.	37,4 (10) ***
Lap-1	14,4 (6) *	n.s.	37,9 (20) **
Lap-2	n.s.	n.s.	n.s.

Примітка: відмінності достовірні за \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$ ; у дужках — число ступенів свободи, n.s. — різниця недостовірна

Подальший генетичний аналіз свідчить, що в трьох популяціях частка поліморфних локусів ( $P_{99}$ ) та середня кількість алелів (A) була на рівні або нижчою, ніж у штучних насадженнях (табл. 2). Найменші значення цих показників зафіксовано в популяції *P. sylvestris* на крейдяному відвалі. Це, можливо, пов'язано з тим, що вибірка рослин на крейдяному відвалі спершу становила 20 особин, а в ході аналізу зменшилася до 11, бо в шишках дев'яти рослин із двадцяти не виявилось повного насіння. Для багатьох рослин цієї популяції характерна наявність великої кількості порожнього насіння в шишках. Це, можливо, є наслідком недостатнього перехресного запилення в дуже розрідженій популяції *P. sylvestris*, що зростала на крейдяному відвалі.

За показниками наявної ( $H_o$ ) й очікуваної ( $H_e$ ) середньої гетерозиготності, які значно менше залежать від обсягу вибірки, найменші значення мали рослини на крейдяному відвалі. Це може вказувати на їх походження від однієї або дуже малої кількості позавідвальних рослин. До речі, поблизу крейдяних відвалів (100—200 м) не знайдено особин *P. sylvestris* репродуктивного віку. Популяція на залізорудному відвалі (ЗВ2), що походить із насіння великого насадження біля відвалу (понад 300-х дерев), характеризувалася найбільшим рівнем наявної гетерозиготності. Він був суттєво вищим, аніж у рослин із крейдяного відвалу. В особин популяції на іншому залізорудному відвалі (ЗВ1) середня наявна гетерозиготність була на рівні штучних насаджень. На цьому відвалі популяція формується навколо насадження маточних дерев *P. sylvestris* репродуктивного віку, яких менше півсотні. Все це

**Таблиця 2. Значення основних показників генетичного поліморфізму *Pinus sylvestris* у популяціях на промислових відвалах Донбасу, Криворіжжя та насадженнях поблизу великих промислових підприємств у Донецькій і Луганській областях**

Популяція	Частка поліморфних локусів, $P_{99}$	Середня кількість алелів на локус, A	Середня гетерозиготність		Індекс фіксації Райта, F
			очікувана ( $H_e$ )	наявна ( $H_o$ )	
Штучні насадження					
МАР	0,688	2,313	0,217 ± 0,018	0,213 ± 0,017	0,018
НС	0,750	2,438	0,219 ± 0,018	0,229 ± 0,018	-0,046
А1	0,750	2,125	0,209 ± 0,018	0,230 ± 0,018	-0,100
Популяції на промислових відвалах					
ЗВ1	0,688	2,125	0,201 ± 0,020	0,214 ± 0,021	-0,065
ЗВ2	0,688	2,250	0,225 ± 0,018	0,285 ± 0,018	-0,267
КРВ	0,563	1,750	0,183 ± 0,025	0,170 ± 0,024	0,071

Таблиця 3. Значення коефіцієнта генетичної дистанції Нея ( $D_N$ ) *Pinus sylvestris* L. для популяцій на промислових відвалах Донбасу, Криворіжжя та насаджень поблизу великих промислових підприємств у Донецькій і Луганській областях

Деревостани	МАР	НС	А1	ЗВ1	ЗВ2	КРВ
МАР	—	0,010	0,010	0,008	0,014	0,011
НС		—	0,015	0,009	0,010	0,010
А1			—	0,015	0,020	0,014
ЗВ1				—	0,016	0,010
ЗВ2					—	0,018
КРВ						—

свідчить, що генотипова структура піонерних популяцій *P. sylvestris*, які спонтанно виникають на промислових відвалах, залежить від кількості дерев, котрі стають донорами насіння. В цьому простежується ефект засновника.

За рівнем гетерозиготності штучні насадження мало відрізнялись одне від одного. У чотирьох деревостанах встановлено надлишок гетерозигот від 4,6 % (НС) до 26,7 % (ЗВ2), а найбільшу їх нестачу (7,1 %) відзначено в популяції з крейдяного відвалу (КРВ). Усе це, напевно, зумовлено первинним рівнем інбредності насіння, яке потрапляє на відвали. У свою чергу, генетична мінливість насіння залежить від частки перехресного запилення рослин, що однозначно зменшується в розріджених деревостанах. Середній рівень наявної гетерозиготності рослин у двох популяціях на залізорудних відвалах і в трьох штучних насадженнях відповідає рівню, раніше встановленому для природних популяцій *P. sylvestris* степової і лісостепової зон (Коршиков и др., 2005). У популяції *P. sylvestris*, що формується за рахунок колонізації гірничорудного відвалу на Південному Уралі, значення основних показників генетичного поліморфізму були такими:  $A = 2,2$ ,  $H_o = 0,203$ ,  $H_e = 0,277$  (Музафарова и др., 2010). На просторах Східної Європи та Західного Сибіру середня наявна гетерозиготність у великих природних популяціях *P. sylvestris* становила 0,290 (Гончаренко и др., 1993), а в межах ареалу на території України — 0,232 (Коршиков и др., 2005). Гетерозиготність 41 таксона родини Pinaceae Lindl. була в середньому 0,198 і варіювала від 0,150 до 0,340 (Delgado et al., 2002). Загалом кожний вид має еволюційно визначений рівень генетичної мінливості, який підтримується перебігом складних внутрішньопопуляційних процесів і природним доббором у ході змін поколінь (Динаміка..., 2004).

Середнє значення коефіцієнта  $F_{ST}$ , який уможливує визначення відсотка генетичної мінливості, що припадає на розбіжності між усіма деревостанами, було низьким — 2,6 %. Згідно зі значеннями коефіцієнта генетичної дистанції Нея ( $D_N$ ) диференціація деревостанів *P. sylvestris* також несуттєва (табл. 3).

Так, середнє значення  $D_N$  між трьома штучними насадженнями становило 0,012, між трьома популяціями — 0,015, а між усіма деревостанами — 0,013. Природні популяції *P. sylvestris* на території України дещо більше диференційовані: значення  $D_N = 0,017$  (Коршиков и др., 2005).

## Висновки

Таким чином, наші дослідження локальних популяцій *P. sylvestris* на трьох промислових відвалах степової зони України свідчать, що в ході їх формування частотно залежного добору на користь певних алелів не відбувається. Разом з тим рівень генетичної мінливості, насамперед гетерозиготності рослин цих популяцій, залежить від кількості материнських дерев — донорів насіння. Загалом генетичне різноманіття *P. sylvestris* на залізорудних і крейдяному відвалах досить високе і достатнє для подальшої успішної колонізації території відвалів і формування тут стійких популяцій.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию древесных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. — Гомель: Бел. НИИЛХ, 1989. — 164 с.
2. Демкович А.Е. GenRes — программа анализа популяционно-генетических данных // Промышленная ботаника. — 2007. — Вып. 7. — С. 128—133.
3. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / Под ред. Ю.П. Алтухова. — М.: Наука, 2004. — 619 с.

4. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. — М.: Наука, 1991. — 271 с.
5. Коршиков И.И., Калафат Л.А., Пирко Я.В., Великоридько Т.И. Популяционно-генетическая изменчивость сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в основных лесорастительных районах Украины // Генетика. — 2005. — 41, № 2. — С. 216—228.
6. Коршиков И.И., Красноштан О.В., Терлыга Н.С. Мазур А.Е. Естественное возобновление сосны крымской (*Pinus pal-lasiana* D.Don) на железорудном отвале Криворожья // Интродукция растений. — 2005а. — № 4. — С. 46—51.
7. Коршиков И.И., Красноштан О.В., Терлыга Н.С. и др. Самовозобновление *Pinus sylvestris* L. на железорудных отвалах Криворожья // Промышленная ботаника. — 2005б. — Вып. 5. — С. 75—84.
8. Коршиков И.И., Пастернак Г.А. Древесные растения на меловых отвалах Донецкой области // Відновлення порушення природних екосистем: Мат-ли IV міжнар. наук. конф. (м. Донецьк, 18—21 жовтня 2011 р.). — Донецьк, 2011. — С. 191—193.
9. Музафарова А.А., Янбаев Ю.А., Галеев Э.И. Генетическая изменчивость древесных в техногенных условиях: Мат-лы междунар. конф. с элементами науч. школы для молодежи в рамках Федер. целевой программы «Науч. и науч.-пед. кадры инновац. России» на 2009—2013 годы. — Уфа, 2010. — С. 229—230.
10. Delgado P., Cuenca A., Escalante A.E. et al. Comparative genetic structure in pines: evolutionary and conservation consequences // Revista Chilena de Historia Natural. — 2002. — 75. — P. 27—37.
11. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. — 1972. — 106. — P. 283—292.

Рекомендує до друку Надійшла 17.02.2012 р.  
Є.Л. Кордюм

*И.И. Коршиков, О.В. Красноштан, Г.А. Пастернак*  
Донецкий ботанический сад НАН Украины  
**ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ  
ДРЕВОСТОЕВ *PINUS SYLVESTRIS* L. (*PINACEAE*)  
ПРОМЫШЛЕННО НАРУШЕННЫХ  
И АЭРОТЕХНОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ**  
Проведены сравнительные исследования генетической изменчивости и дифференциации по 16 аллозимным локусам

трёх локальных популяций *Pinus sylvestris*, спонтанно формирующихся за счет занесения семян извне на двух железорудных отвалах Криворожья и на меловом отвале содового производства в Донбассе, и трех молодых насаждений, произрастающих вблизи крупных промышленных производств с большим объемом токсичных выбросов. Показано, что древостой популяций мало отличается по аллельной структуре, но имеет расхождения в уровне наблюдаемой гетерозиготности: наиболее высокой — на железорудном отвале ( $H_o = 0,285$ ), низкой — на меловом отвале ( $H_o = 0,170$ ) и промежуточной — для насаждений ( $H_o = 0,219—0,230$ ). Все шесть географически изолированных древостоев, имеющих разное происхождение, отличаются низкой генетической дифференциацией ( $D_N = 0,013$ ).

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* *Pinus sylvestris*, промышленные отвалы, аэротехногенное загрязнение, локальные популяции и насаждения, генетическая изменчивость и дифференциация.

*I.I. Korshikov, O.V. Krasnoshtan, G.O. Pasternak*  
Donetsk Botanical Garden, National Academy  
of Sciences of Ukraine

**PECULIARITIES OF GENETIC STRUCTURE  
OF *PINUS SYLVESTRIS* L. (*PINACEAE*) STANDS  
ON THE DISTURBED INDUSTRIAL AND  
AEROTECHNOGENICALLY CONTAMINATED AREAS**

Comparative studies of genetic variation and differentiation were carried out at 16 allozyme loci of three local populations of *Pinus sylvestris* spontaneously formed by skid of seeds from outside on two iron-ore dumps and at the Krivoy Rog cretaceous dump soda production in the Donets Basin, and three young tree stands growing near large industrial factories with large amounts of toxic emissions. It is shown that the populations are slightly different in allelic structure. However, there are distinctions in the level of observed heterozygosity: the highest level found in the iron-ore dump ( $H_o = 0.285$ ), the lowest one in the cretaceous dump ( $H_o = 0.170$ ) and intermediate in the plantations ( $H_o = 0.219—0.230$ ). All six geographically isolated forest stands of different origin were characterized by low genetic differentiation ( $D_N = 0.013$ ).

*Key words:* *Pinus sylvestris*, industrial dumps, aerotechnogenic pollution, local populations and plantations, genetic variation and differentiation.