



І.І. КОРШИКОВ<sup>1</sup>, О.В. КРАСНОШТАН<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Донецький ботанічний сад НАН України  
пр. Ілліча, 110, м. Донецьк, 83059, Україна  
*donetsk-sad@mail.ru*

<sup>2</sup> Криворізький ботанічний сад НАН України  
вул. Маршака, 50, м. Кривий Ріг, 50039, Україна

**ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ  
СТРУКТУРИ ЛОКАЛЬНОЇ ПОПУЛЯЦІЇ  
*PINUS SYLVESTRIS* L. НА ЗАЛІЗОРУДНОМУ  
ВІДВАЛІ КРИВОРІЖЖЯ**

*Ключові слова:* *Pinus sylvestris*, міграція, залізорудний відвал, локальна популяція, генетична структура

**Вступ**

На залізорудних відвалах Криворіжжя активно відновлюються *Pinus pallasiana* D. Don і *P. sylvestris* L., які потрапляють сюди двома шляхами: зі створених на відвалах первинних рекультиваційних насаджень, рослини яких досягли репродуктивної стадії розвитку, а також завдяки анемохорному і зоохорному надходженню насіння із найближчих осередків видів.

Обидва види сосни поселяються і відновлюються на відвалах щорічно вже більше 10-ти, а подекуди — і до 20 років. Деякі рослини обох видів, що природно відновилися на відвалах, вже дають повноцінне насіння, а, отже, беруть участь у формуванні їх локальних піонерних популяцій. Такі популяції *P. pallasiana* та *P. sylvestris* на відвалах відзначаються високою життестійкістю [5, 6].

Природне відновлення й розселення обох видів *Pinus* на породних відвалах Криворіжжя — унікальне явище, бо в штучних насадженнях на чорноземах воно трапляється дуже рідко. Спонтанне формування локальних піонерних ізолятів *P. pallasiana* і *P. sylvestris* на

залізородних відвалах можна розглядати як окремий випадок розвитку острівних популяцій видів у степовій зоні, за межами природного ареалу, за рахунок міграції генів від штучних джерел — насаджень на та поза відвалами. У зв'язку з цим постає питання: відновлюються лише найстійкіші генотипи видів на специфічно сприятливих локальних ділянках відвалів чи це стихійно випадкове явище? Якщо *P. sylvestris* в умовах відвалів відновлюється під впливом спрямованого інтенсивного добору, то генетична структура цих ізольованих популяцій відрізнятиметься від такої природних популяцій виду в Степу України.

Мета роботи — аналіз генетичної мінливості спонтанної популяції *P. sylvestris*, що формується в ектопах на залізородному відвалі Криворіжжя, порівняно з природними популяціями цього виду в степовій зоні України.

### Об'єкти та методика досліджень

Досліджували локальну популяцію *P. sylvestris* в ектопах на великому Петровському залізородному відвалі Криворіжжя та чотири природні популяції в Харківській і Луганській областях. Особливості Петровського відвалу (~ 20 га) полягають у тому, що він міститься в сільській місцевості, оточений сільськогосподарськими угіддями. Невелику частину його території рекультивовано лише за останні три роки, а тому всі багаторічні деревні рослини на едафотопх відвалу, де припинено відсіпання породи, — заносні. Поблизу відвалу (200–400 м) виявлене невелике (~ 1 га) 40-річне насадження *P. sylvestris* — головне джерело насіння цього виду, яке потрапляє на відвал. Найактивніше *P. sylvestris* опановує схили і берми відвалу з боку, протилежного сосновому насадженню. Загальна площа локальної популяції *P. sylvestris* природного походження — близько 5 га. Вона складається з 1–20-річних особин. Рослини, що формують урожай шишок, мають вік 8–20 років і трапляються з частотою 10–50 особин на 1 га. З 19 рослин 15–20-річного віку зібрані насіння для подальшого генетичного аналізу. По 23–54 рослини 80–100-річного віку обрано у двох природних популяціях *P. sylvestris* Кременецького лісництва Луганської обл. (В, Г) і ще двох — з Ізюмського лісництва Харківської обл. (І, ІХ), які використали для подальшого аналізу.

У дослідженні генетичного поліморфізму *P. sylvestris* як молекулярно-генетичні маркери обрано ізоферменти восьми ферментних систем: алкогольдегідрогенази (ADH), глутаматоксалоацетаттрансамінази (GOT), діафрази (DIA), глутаматдегідрогенази (GDH), малатдегідрогенази (MDH), кислотої фосфатази (ACP), лейцинамінопептидази (LAP), супероксиддисмутази (SOD). В електрофоретичному аналізі ферментів, який проводили у 7,5 %-му поліакриламідному гелі, використовували мегагаметофіти 7–8 насінин з кожного дерева. Методика екстракції ферментів, їх електрофоретичного розділення, гістохімічного фарбування ізоферментів на гелевих пластинах, номенклатура локусів та алелів детально викладені в нашій попередній публікації, присвяченій дослідженням популяційно-генетичної мінливості *P. sylvestris* в Україні [4].

Шляхом електрофорезу визначено алелі 19 алозимних локусів, які використовували для розрахунку показників генетичного поліморфізму, генетичної

дистанції за М. Неєм [9] у п'яти вибірках дерев. Гетерогенність частот алелів оцінювали за стандартним  $\chi^2$ -тестом [3] за допомогою програми GenRes [1].

### Результати досліджень та їх обговорення

Далеко не все насіння, яке тим чи іншим чином потрапляє на відвал, дає сходи. Якщо б це відбувалося, то мало б місце масове відновлення сосни навколо найбільш розвинених дерев. Але це не спостерігається впродовж останніх трьох років. Мабуть, у досліджених гетерогенних неоедафотопях суттєва частка насіння не знаходить сприятливих умов для проростання й подальшого розвитку.

У результаті електрофоретичного аналізу восьми ферментних систем у 144 рослин загальної вибірки з 5 популяцій встановлено 58 алелів 19 локусів, три з яких – Sod-1, Sod-2 і Sod-3 – є мономорфними (табл. 1). У чотирьох природних популяціях виявлено від 40 до 46 алелів, або 69–79,3 % їх загальної кількості. Зауважимо, що вибірка з популяції В за кількістю дерев переважала таку з популяції Г у 2,2 раза, однак у популяції В описано лише на один алель більше, відповідно 46 та 45. У популяції з молодих рослин, що формується на відвалі, зареєстровано 39 алелів (67,2 %). Це відповідає нижній межі для степових природних популяцій *P. sylvestris*, які складаються з генеративно розвинених дерев. В усіх п'ятьох популя-

Таблиця 1. Кількість алелів і значення середньої полокусної гетерозиготності чотирьох природних на залізородному відвалі Криворіжжя

Фермент	Локус	Природні популяції степової зони		
		кількість алелів у загальній вибірці (В, Г, І, ІХ)	гетерозиготність (В, Г, І, ІХ)	
			наявна, $H_o$	очікувана, $H_e$
Алкогольдегідрогеназа	Adh-1	5	0,258	0,239
	Adh-2	3	0,146	0,189
Глутаматдегідрогеназа	Gdh	2	0,464	0,451
	Глутаматоксалоацетат-трансаміназа	Got-1	3	0,040
Got-2		4	0,520	0,488
Got-3		2	0,448	0,428
Діафораза	Dia-1	5	0,447	0,486
	Dia-2	3	0,143	0,147
	Dia-4	3	0,083	0,079
Кисла фосфатаза	Acp	4	0,425	0,512
Лейцинамінотрипептидаза	Lap-1	3	0,237	0,201
	Lap-2	4	0,175	0,162
Малатдегідрогеназа	Mdh-2	2	0,066	0,063
	Mdh-3	5	0,556	0,459
	Mdh-4	5	0,418	0,454
Супероксиддисмутаза	Sod-4	2	0,080	0,076
Середнє	–	–	0,237	0,236

ціях відзначено 26 алелів (44,8 % від їх загальної кількості). Частота предомінантного алеля (1.00) за всіма поліморфними локусами у них була  $> 0,500$ .

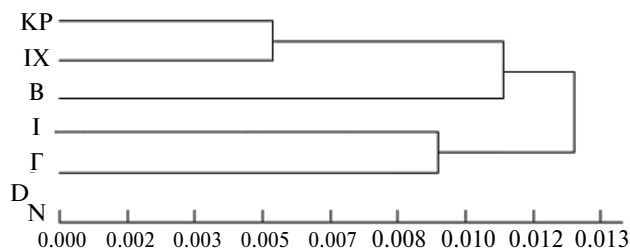
З 19 досліджуваних локусів у чотирьох природних популяціях *P. sylvestris* найвищою мінливістю відзначаються Gdh, Got-2, Got-3, Dia-1, Acp, Mdh-3, Mdh-4, за якими середня наявна гетерозиготність ( $H_o$ ) варіювала в межах 41,8–55,6 %. Шість із цих локусів, за винятком Mdh-4, були високомінливими в популяції *P. sylvestris* на залізородному відвалі (31,6–57,9 %). Для всіх п'яти популяцій характерний незначний надлишок гетерозигот у 1–1,5 % за коефіцієнтом інбридингу особини ( $F_{IS}$ ) стосовно популяції.

Порівнюючи чотири природних популяції, ми виявили суттєву алельну гетерогенність за сімома локусами (табл. 2). За аналізом популяції, що формується на залізородному відвалі, істотну алельну гетерогенність відзначено за тими самими сімома локусами та ще одним – Adh-1. Отже, гетерогенність генетичної структури п'яти досліджених популяцій не пов'язана зі значним генетичним внеском популяції *P. sylvestris* на відвалі.

У рослин чотирьох природних популяцій 68,4–84,2 % досліджених локусів є поліморфними, а на один локус у середньому припадає 2,105–2,421 алелів (табл. 3). Ці два основні показники генетичного поліморфізму в популяції *P. syl-*

**популяції *Pinus sylvestris* L. степової зони України та локальної популяції**

	Популяція на залізородному відвалі			Коефіцієнт інбридингу особини щодо популяції, $F_{IS}$	
	кількість алелів (КР)	гетерозиготність (КР)			
		наявна, $H_o$	очікувана, $H_E$	степова зона	залізородний відвал
	2	0,211	0,188	–0,058	–0,120
	1	0,000	0,000	0,167	0,000
	2	0,316	0,333	–0,029	0,052
	1	0,000	0,000	–0,012	0
	2	0,421	0,432	–0,060	0,026
	3	0,421	0,497	–0,034	0,153
	3	0,474	0,444	0,060	–0,067
	2	0,105	0,100	0,013	–0,049
	3	0,158	0,148	–0,045	–0,065
	3	0,579	0,436	0,187	–0,328
	4	0,158	0,148	–0,094	–0,068
	3	0,368	0,314	–0,077	–0,174
	2	0,053	0,056	–0,048	0,068
	2	0,368	0,300	–0,203	–0,227
	2	0,211	0,432	0,085	0,513
	1	0,000	0,000	–0,043	0
	–	0,202	0,202	–0,010	–0,015



Дендрограма, побудована на підставі коефіцієнтів генетичної дистанції Нея для природних популяцій *P. sylvestris* степової зони України та локальної популяції на залізорудному відвалі Криворіжжя

A dendrogram, which was made on the base of coefficients of Nei's genetic distance for the natural populations of *P. sylvestris* of steppe zone of Ukraine and local population on the iron-ore dump of Krivoy Rog region

*vestris* на відвалі містяться на нижній межі, яка властива степовим природним популяціям. Її молоді рослини характеризуються нижчим рівнем мінливості, їх наявна середня гетерозиготність становить 20,2 %, тимчасом як у генеративно розвинених рослин степових популяцій – від 22,5 до 26,1 %. Вважати, що це спричинюється віковими відмінностями рослин досліджених популяцій, не зовсім слушно, бо в 15–20-річному віці гетерозиготність особин у популяціях видів роду *Pinus* досягає рівня генеративно розвинених рослин [2, 7, 8]. Однаковими є значення середньої наявної й очікуваної гетерозиготності в популяції *P. sylvestris* на відвалі. Це засвідчує, що її генетична структура врівноважена відповідно до закону Харді–Вайнберга. Відсутність значного дефіциту або над-

Таблиця 2. Аельна гетерогенність природних популяцій *P. sylvestris* степової зони України та локальної популяції на залізорудному відвалі Криворіжжя,  $\chi^2$ -тест

Локус	Популяція	
	В-Г-I-IX	В-Г-I-IX-КР
Gdh	4,01 (3)	9,34 (4)
Got-1	4,01 (6)	5,39 (8)
Got-2	15,13 (9)	18,59 (12)
Got-3	2,41 (3)	9,47 (8)
Sod-4	3,22 (3)	5,26 (4)
Mdh-2	2,59 (3)	2,70 (4)
Mdh-3	22,73 (12)*	28,76 (16)*
Mdh-4	38,86 (12)***	45,10 (16)***
Dia-1	50,70 (12)***	68,77 (16)***
Dia-2	7,72 (6)	11,46 (8)
Dia-4	15,76 (6)*	15,86 (8)*
Acp	41,84 (9)***	47,31 (12)***
Adh-1	14,82 (12)	36,32 (16)**
Adh-2	13,08 (6)*	19,49 (8)*
Lap-1	15,43 (6)*	32,34 (16)**
Lap-2	8,89 (9)	17,59 (12)

Примітка. Відмінності достовірні за \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001; у дужках – число ступенів свободи.

Таблиця 3. Значення основних показників генетичного поліморфізму степових природних популяцій *P. sylvestris* і локальної популяції на залізорудному відвалі Криворіжжя

Популяція	Кількість дерев, шт.	Частка поліморфних локусів, $P_{99}$	Середня кількість алелів на локус	Середня гетерозиготність		Індекс фіксації Райта, $F$
				очікувана, $H_E$	наявна, $H_O$	
В	54	0,842	2,421	$0,240 \pm 0,013$	$0,225 \pm 0,012$	0,063
Г	25	0,842	2,368	$0,236 \pm 0,017$	$0,261 \pm 0,016$	-0,106
І	23	0,684	2,105	$0,243 \pm 0,018$	$0,248 \pm 0,018$	-0,021
ІХ	23	0,789	2,263	$0,220 \pm 0,018$	$0,229 \pm 0,018$	-0,041
У середньому	125	0,803	2,323	$0,236 \pm 0,015$	$0,237 \pm 0,015$	-0,004
КР	19	0,684	2,053	$0,202 \pm 0,019$	$0,202 \pm 0,019$	0,000

лишку гомо- та гетерозигот підтверджує, що міграція генів із штучного насадження поза межами відвалу не має якогось односпрямованого характеру.

На міжпопуляційну мінливість чотирьох степових популяцій *P. sylvestris* припадає лише 1,9 % усієї генетичної мінливості за середніми значеннями коефіцієнтів  $F_{ST}$  і  $G_{ST}$ , які характеризують підрозділеність популяцій. Якщо аналізувати також локальну популяцію на залізорудному відвалі, то значення цих коефіцієнтів зростають до 2,4 %, що загалом засвідчує дуже низький рівень міжпопуляційних відмінностей.

Степові ізольовані популяції *P. sylvestris* слабо диференційовані, на що вказують низькі значення коефіцієнта генетичної дистанції Нея ( $D_N$ ), який для чотирьох степових популяцій варіював у межах  $0,009-0,015$  (у середньому  $0,011$ ). Практично на тому самому рівні диференціація цих популяцій залишається з урахуванням осередка на залізорудному відвалі ( $D_{N\text{порівн.}} = 0,0115$ ). За генетичною структурою популяція на залізорудному відвалі Криворіжжя найближча до однієї з природних популяцій *P. sylvestris* – з Ізюмського лісництва ( $D_N=0,005$ ) (рисунок).

## Висновки

Таким чином, завдяки випадковій міграції насіння зі штучного насадження *P. sylvestris* на залізорудний відвал, розташований поблизу, виникла спонтанна острівна популяція в степовій зоні з досить високою аельною різноманітністю і без наявного зміщення у генетичній структурі. Локальна популяція *P. sylvestris* на відвалі має врівноважену генетичну структуру і за генетичною різноманітністю відповідає нижній межі, характерній для степових популяцій цього виду. Можна стверджувати, що у ході природного формування популяцій на відвалі не відтворюється ефект «пляшкового горлечка», який існує в разі реколонізації видами частки втраченої внаслідок катастрофічних явищ мегапопуляції або ареалу. Вочевидь, при формуванні популяції *P. sylvestris* на залізорудному відвалі діє балансуєчий добір, що вирівнює її генетичну структуру за рахунок добору одних і тих самих комбінацій алелів. Це властиво, як свідчать результати здійсненого нами аналізу, і степовим природним популяціям *P. sylvestris*. З результатів аналізу випливає й інший висновок – ефективна чисельність популяції *P. sylvestris* не є дуже значною.

Популяція *P. sylvestris* на залізорудному відвалі – вельми перспективний регіональний генетичний резерват як джерело насіння для подальшого озеленення інших залізорудних відвалів Криворіжжя. Активне міграційне поселення і насіннєве розмноження *P. sylvestris* на відвалі дає підстави для розробки методів рекультивациі залізорудних відвалів прямим висівом її насіння, що суттєво зменшить матеріальні витрати.

1. Демкович А.Е. GenRes – программа анализа популяционно-генетических данных // Промышленная ботаника. – 2007. – Вып. 7. – С. 128–133.
2. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / Под ред. Ю.П. Алтухова. – М.: Наука, 2004. – 619 с.
3. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. – М.: Наука, 1991. – 271 с.
4. Коршиков И.И., Калафат Л.А., Пирко Я.В. и др. Популяционно-генетическая изменчивость сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в основных лесорастительных районах Украины // Генетика. – 2005. – 41, № 2. – С. 216–228.
5. Коршиков И.И., Красноштан О.В., Терлыга Н.С. и др. Естественное возобновление сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) на железорудном отвале Криворожья // Интродукция растений. – 2005. – № 4. – С. 46–51.
6. Коршиков И.И., Красноштан О.В., Терлыга Н.С. и др. Самовозобновление *Pinus sylvestris* L. на железорудных отвалах Криворожья // Промышленная ботаника. – 2005. – Вып. 5. – С. 75–84.
7. Bush R.M. Evidence for the adaptive significance of allozymes in forest tree // New Forests Preserved at IUFRO meeting, Corvall. – 1990. – 6 (1–4). – P. 179–196.
8. 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.
9. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. – 1972. – 106. – P. 283–292.

Рекомендує до друку  
Є.Л. Кордюм

Надійшла 11.01.2010

И.И. Коршиков<sup>1</sup>, О.В. Красноштан<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Донецкий ботанический сад НАН Украины

<sup>2</sup> Криворожский ботанический сад НАН Украины

#### ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ЛОКАЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ *PINUS SYLVESTRIS* L. НА ЖЕЛЕЗОРУДНОМ ОТВАЛЕ КРИВОРОЖЬЯ

Проанализировано генетическое разнообразие по 19 аллозимным локусам локальной популяции *Pinus sylvestris* L., которая спонтанно формируется на железорудном отвале Криворожья за счет заноса семян. Установлено, что она имеет равновесную генетическую структуру, а по уровню генетического разнообразия и дифференциации мало отличается от географически удаленных природных степных популяций этого вида.

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* *Pinus sylvestris*, миграция, железорудный отвал, локальная популяция, генетическая структура

I.I. Korshikov<sup>1</sup>, O.V. Krasnoshtan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Donetsk Botanical Garden, the National Academy of Sciences of Ukraine

<sup>2</sup> Krivoy Rog Botanical Garden, the National Academy of Sciences of Ukraine

#### PECULIARITIES OF GENETIC STRUCTURE OF THE LOCAL POPULATION OF *PINUS SYLVESTRIS* L. ON THE IRON-ORE DUMPS OF KRIVOY ROG AREA

Analysis of genetic diversity by 19 allozyme loci of local population of *Pinus sylvestris* L., which is spontaneously forming on the iron-ore dumps of Krivoy Rog area due to introduction of seeds, has been carried out. It was ascertained that this population has balanced genetic structure and slightly differs from the geographically distant natural steppe populations of *P. sylvestris* by the level of genetic diversity and differentiation.

*К e y w o r d s:* *Pinus sylvestris*, migration, iron-ore dump, local population, genetic structure