

УДК 630*182.3

В. А. Дишко

Український науково-дослідний інститут лісового господарства і агролісомеліорації імені Г. М. Висоцького, м. Харків

**ОСОБЛИВОСТІ РІЗНОМАНІТТЯ ТА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ
МОРФОЛОГІЧНИХ І БІОХІМІЧНИХ ОЗНАК СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ
(*PINUS SYLVESTRIS* L.) У ДП «ЧУГУЄВО-БАБЧАНСЬКЕ ЛГ»**

Наведено матеріали використання морфологічних і біохімічних ознак для вивчення внутрішньопопуляційної мінливості та кореляційних зв'язків на прикладі сосни звичайної. Показано, що співвідношення кількісного вмісту деяких основних компонентів первинного та вторинного синтезу може служити критерієм для оцінки міжпопуляційної та внутрішньопопуляційної мінливості видів, а також використовуватись як маркер під час селективного відбору.

Ключові слова: внутрішньопопуляційна мінливість, коефіцієнт кореляції, білки, флавоноли.

Вступ. Останнім часом, внаслідок негативного впливу чинників біотичного, абіотичного та антропогенного стресу, порушуються продукційні процеси не тільки серед трав'янистих, але й серед деревних рослин. Це викликає зниження біорізноманіття, яке може негативно позначитися на стійкості лісів та забезпеченні потреб суспільства в лісових ресурсах. Дослідження вчених засвідчили, що на лісонасінних плантаціях виявлено лише близько 75 % алельних варіантів генів, присутніх у природних популяціях [14], тому вирішення проблем, пов'язаних зі збереженням генетичного фонду, повинно складатися з послідовного вивчення популяційної структури та розробки заходів щодо збереження рівня біорізноманіття лісів на плантаціях [4,10].

Сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.) розповсюджений поліморфний вид, що утворює багато екологічних форм, вивчення яких дає змогу визначати мінливість їх структури [6]. Аналіз літературних даних свідчать, що для виявлення змін, які відбуваються в рослинному організмі під дією несприятливих факторів, в основному, беруться до уваги лише морфологічні характеристики. Їх використання, як маркерів для відображення ідентичності генетичного матеріалу, є недостатнім, у силу високого ступеня їх екологічної модифікації. Останнім часом проводяться дослідження біохімічних ознак, що легко відокремити та ідентифікувати за допомогою досить простих методів [16]. Крім того, біохімічний аналіз дає змогу зробити важливі висновки про стан рослини навіть за відсутності зовнішніх симптомів пошкодження [11]. Паралельне вивчення біохімічних та морфологічних показників дасть змогу доповнити існуючу класифікацію, основу на використанні ростових ознак.

У нашій роботі як морфологічні маркери використано лінійні параметри хвої сосни звичайної, а біохімічних – кількісні характеристики накопичення білка та сполук флавонолів у хвої. Інтенсивність синтезу білка та флавонолів пов'язана з інтенсивністю розвитку дерев [12]. Білок як основний метаболіт, особини з більш

¹Науковий керівник – д.б.н., п.н.с. Полякова Л. В

потужною енергією росту, продукують більшу його кількість. Флавоноли – дуже активна група антиоксидантної системи рослинної клітини, інтенсивність їх синтезу падає з підвищенням ростової активності дерев, що може призвести до зниження стійкості дерев в умовах дії стресових чинників навколишнього середовища [7, 11, 12]. Метою дослідження було вивчення структури мінливості морфологічних та біохімічних ознак хвої у штучному насадженні сосни звичайної та виявлення їх зв'язку з основними ростовими процесами.

Об'єкт і методика досліджень: Об'єктом дослідження формового різноманіття та аналізу кореляційних зв'язків була хвоя, зібрана у штучному насадженні сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.) на території Печенізького лісництва ДП «Чугуєво-Бабчанське ЛГ» Харківської області (кв. 103, виділ 2). Ділянка площею 4,5 га, вік насадження 110 років, походження – штучне, клас бонітету – II, повнота – 0,7, запас – 340 м³/га, тип лісу – В₂-дС, склад – 10Сз. Для отримання репрезентативних результатів аналізу біохімічних показників з пагонів верхівки 24 облікових дерев в один день, у певний короткий проміжок часу, збирали однорічну та дворічну хвою. Для цих дерев виміряно таксаційні показники за загальноприйнятими методиками [1]: висота (h), діаметр стовбура на висоті 1,3 м (d_{1,3}) та на середині його висоти (d_{0,5}), довжина живої крони (L_{ж.кр.}).

З кожного дерева відібрано по 10 пар хвоїнок поточного та минулого років вегетації. Довжину хвоїнок вимірювали за допомогою міліметрового паперу, а потім висушували зразки до повітряно-сухого стану, при кімнатній температурі без доступу сонячного світла, для визначення вмісту білків (Б) та флавонолів (Фл). Усі кількісні визначення біохімічних показників проводили в чотирьохкратній повторності. Визначення Б за методикою Г.А. Бузун [3], шляхом екстрагування з амідно-чорним, на колориметрі КФК-200 при довжині хвилі 615 нм, а вміст сполук групи флавонолів – шляхом екстрагування з етанолом (70 %), по реакції з AlCl₃ [15], при довжині хвилі 415 нм.

Для порівняння неоднорідності властивостей особин у популяції та оцінки ступеня внутрішньопопуляційної мінливості визначали коефіцієнти варіації досліджених морфологічних і біохімічних ознак (C_v, %) та аналізували їх за допомогою емпіричної шкали рівнів мінливості, запропонована С.А. Мамаєвим [9]: дуже низький (до 7 %), низький (8–12 %), середній (13–20 %), підвищений (21–30 %), високий (31–40 %), дуже високий (більше 40 %).

Для оцінки екологічної нерівності дерев обчислено залежність висоти стовбурів дерев від їх діаметру $f=h/d_{1,3}$ [1; 8]. За методикою роботи [16], вибірку розподілили на групи. Як критерій розподілу використовували стандартне відхилення показників від їх середнього значення: I група – домінантні ($> X_{\text{сеп}} + \sigma$); II – кодомінантні ($X_{\text{сеп}} + \sigma$); III – підпорядковані ($X_{\text{сеп}} - \sigma$); IV – пригнічені ($< X_{\text{сеп}} - \sigma$). Для виявлення залежності між морфологічними та біохімічними ознаками та характеру їх взаємозв'язку визначали коефіцієнти кореляції Пірсона [5].

Результати та обговорення. Результати дослідження хвої поточного (1-річна) та минулого (2-річна) року вегетації показали (табл. 1), що в одному грамі її сухої речовини синтезується від 7 до 12,3 % білків, запаси ж флавонолів складають, порівняно, незначну частку, від 0,7 до 2,24 мг/г⁻¹. Відмінності інтенсивності синтезу Б та Фл у хвої різного віку не значні, проте діапазон значень показників

зафіксованих у хвої поточного року вегетації дещо ширший ($B_{1-річна} - 7-12,3 \%$; $B_{2-річна} - 7,3-12,0 \%$; $\Phi_{L1-річна} - 0,7-2,4 \text{ мг/г}^{-1}$; $\Phi_{L2-річна} - 0,8-2,1 \text{ мг/г}^{-1}$).

Ступінь мінливості синтезу Б у хвої обстежених дерев незначний, розраховані нами коефіцієнти варіації невисокі, у хвої поточного року вегетації 12,6, а минулого 13,5 %. За шкалою С.А. Мамаєва [9], вони знаходяться в межах низького та середнього рівнів мінливості (див. табл. 1). Інтенсивність синтезу сполук флавонолів у хвої варіює суттєво, розраховані коефіцієнти варіації для хвої поточного року вегетації – $C_v = 33,0 \%$, а минулого $C_v = 31,2 \%$, що свідчить про неоднорідність вибірки за даними ознаками.

Ступінь внутрішньопопуляційної мінливості морфологічних ознак досліджених дерев у межах низького та середнього рівнів за шкалою С.А. Мамаєва [5]. Найменш суттєво в досліджених дерев варіює висота стовбура ($C_v = 6,2 \%$) та довжина хвої ($C_{v1-p} = 10,1$; $C_{v2-p} = 12,9 \%$). Діаметр дерев на різних висотах ($d_{1,3}$; $d_{0,5}$), як і довжина живої крони ($L_{ж.кр.}$), варіюють більш суттєво (відповідно $C_v = 16,7 \%$; $C_v = 18,8 \%$; $C_v = 17,5 \%$) і знаходяться в межах низького та середнього рівнів мінливості.

1. Характеристики таксаційних та біохімічних показників у штучному 110-річному насадженні сосни звичайної в ДП «Чугуєво-Бабчанське ЛГ»

Досліджені ознаки	$X_{\text{сеп}} \pm x$	X_{min}	X_{max}	$C_v, \%$
Висота стовбура (h), м	25,6±0,3	21,5	28,3	6,2
Діаметр стовбура на висоті 1,3 м ($d_{1,3}$), см	33,2±1,3	24,2	48,1	18,8
Діаметр стовбура на половині висоти ($d_{0,5}$), см	21,5±0,7	28,7	15,6	16,7
Довжина живої крони, м	8,9±0,3	12,5	7,0	17,5
Довжина 1 р хвої, мм	84,0±2,2	61,2	105,0	12,9
Довжина 2 р хвої, мм	90,9±2,2	76,1	109,9	10,1
Вміст Б* в 1 гр сухої речовини в однорічній хвої, %	10,5±0,3	7,0	12,3	12,6
Вмісту Б в 1 гр сухої речовини в дворічній хвої, %	9,8±0,3	7,3	12,0	13,5
Вміст Фл в 1 гр сухої речовини в однорічній хвої, мг/г^{-1}	1,37±0,01	0,7	2,4	33,0
Вміст Фл в 1 гр сухої речовини в дворічній хвої, мг/г^{-1}	1,43±0,1	0,8	2,1	31,2

*Примітка: тут і далі Б – білок, Фл – флавоноли.

Аналіз основних ростових ознак засвідчив, що зі збільшенням діаметра вище середнього значення ($d_{\text{сеп}} = 33,2 \text{ см}$) спостерігається послаблення кореляційного зв'язку між основними ростовими ознаками. Щоб скоригувати, здавалося б, хаотичну структуру насадження, для кожного дерева визначено коефіцієнт екологічної нерівності ($f = h/d_{1,3}$) [1; 8]. Отриманий показник виступає елементом субординації між висотою та діаметром та характеризує ступінь екологічної стійкості дерев, що пов'язують з багатьма факторами, у тому числі і з біорізноманіттям [2]. За результатами (табл. 2) проведено оцінку структурного розвитку дерев та виявлено, що ступінь екологічної стійкості знижується за умов збільшення відношення між основними ростовими ознаками.

Для того, щоб визначити характер зв'язку Б і Фл з основними ростовими ознаками, дерева в популяції розподілили на чотири групи за ознакою екологічної стійкості [11; 16] та розраховували середню кількість біохімічних сполук Б та Фл у хвої дерев кожної групи. Результати (рис. 1.) засвідчили, що найбільш значну частку (42%), становлять дерева II групи (підпорядкованої) ($f = 0,79-0,91$), дещо менша частка дерев (33 %) III групи (кодмінантної) ($f = 0,67-0,78$). Кількість

дерев у I та IV групах (пригніченій та доміантній) однакова (13 %).

2. Характеристика взаємозв'язку основних ростових ознак в штучному насадженні сосни звичайної

№ дерева	h, м	d, см	f=h/d	№ дерева	h, м	d, см	f=h/d	№ дерева	h, м	d, см	f=h/d
1 дерево	26,1	38,2	0,68	9 дерево	23,9	25,2	0,95	17 дерево	24,9	29,3	0,85
2 дерево	28,3	39,8	0,71	10 дерево	26,7	35,7	0,75	18 дерево	21,5	26,1	0,82
3 дерево	26,7	39,2	0,68	11 дерево	24,8	25,8	0,96	19 дерево	26,9	39,5	0,68
4 дерево	27,9	33,4	0,83	12 дерево	24,2	30,6	0,79	20 дерево	25,7	48,1	0,53
5 дерево	25,0	41,4	0,60	13 дерево	25,2	34,4	0,73	21 дерево	25,3	29,0	0,87
6 дерево	26,7	30,6	0,87	14 дерево	23,4	27,7	0,84	22 дерево	27,2	29,9	0,91
7 дерево	24,7	32,8	0,75	15 дерево	23,2	28,0	0,83	23 дерево	26,2	29,9	0,88
8 дерево	26,0	42,0	0,62	16 дерево	27,2	35,4	0,77	24 дерево	26,0	24,2	1,07

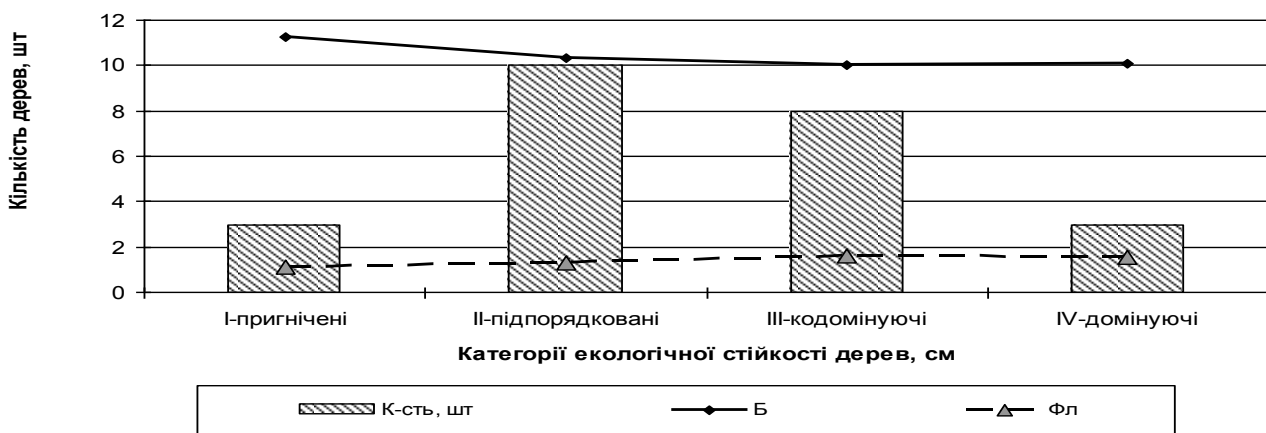


Рис. 1. Диференціація дерев сосни звичайної за коефіцієнтами їх екологічної стійкості та інтенсивністю синтезу Б та Фл в асиміляційному апараті.

Для кожної групи розраховано середню кількість білків та флавонолів у 1 г сухої речовини. Інтенсивність синтезу Б у хвої при підвищенні екологічної стійкості дерев зменшується, а флавонолів, навпаки, – збільшується. Результати наших досліджень засвідчили, що дерева домінуючої групи, які характеризуються більшою екологічною стійкістю, продукують найбільшу кількість флавонолів і найменшу кількість білка у порівняно з деревами інших груп. Присутність у популяції особин з різною ростовою активністю забезпечує її стабільність і стійкість в умовах навколишнього середовища, що постійно змінюється. З огляду на це важливу роль відіграє вивчення реагування особин у популяції на вплив чинників навколишнього середовища, тобто норми реакції організму. Застосування інтегрованого аналізу морфологічних та біохімічних ознак дає змогу на практиці комплексно оцінити індивідуальні селективні властивості особин.

Виявлені кореляційні зв'язки між біохімічними та морфологічними ознаками сосни звичайної представлено в табл. 3. Суттєвий зворотній кореляційний зв'язок зафіксовано між Б та Фл ($r=-0,367^{**}$), що підтверджує теорію відношень між цими сполуками. Інтенсифікація синтезу Б призводить до послаблення синтезу Фл, а посилення їх розкладання (Б) – навпаки, сприяє накопиченню цих сполук (Фл) [12]. Установлено існування незначного, проте достовірного на 95 % та 99 % рівні значущості різнонаправленого зв'язку між дослідженими біохімічними сполуками та морфологічними ознаками. Найбільш суттєвий взаємозв'язок зафіксовано між

біохімічними показниками та коефіцієнтом екологічної стійкості дерев (див. табл. 3): позитивний з синтезом Б ($r = 0,212^*$), а негативний – із синтезом Фл ($r = -0,342^{**}$).

3. Коефіцієнти кореляції біохімічних показників та ростових ознак сосни звичайної

Назва ознаки	$h, м$	$d_{1,3}, см$	f	$Lxв, мм$	Б	Фл
Висота дерева (h),	1					
Діаметр на висоті 1,3, см ($d_{1,3}$)	0,475*	1				
Коефіцієнт компонентної екологічної нерівності (f)	-0,178	-0,932**	1			
Довжина хвої, мм ($Lxв$)	-0,226*	0,011	-0,147	1		
Вміст Б в 1 гр сухої речовини хвої, % (Б)	0,168	-0,066	0,212*	-0,135	1	
Вміст Фл в 1 гр сухої речовини хвої, мг/г ⁻¹ (Фл)	-0,181	0,212*	-0,342**	-0,240*	-0,367**	1

Примітка: ** $p < 0,01$ ($r = 0,537$); * $p < 0,05$ ($r = 0,423$) (при $n = 24$).

** $p < 0,01$ ($r = 0,254$); * $p < 0,05$ ($r = 0,195$) (при $n > 100$) [5].

Збільшення лінійних розмірів хвої потребує більш значного використання пластичних речовин та продуктів фотосинтезу, що відбивається на синтезі Б та Фл. Відзначимо, що стосовно Фл розраховано негативний коефіцієнт кореляції достовірний на 95 % рівні значущості, а стосовно Б, також негативний, проте лише наближений до достовірного ($r_B = -0,292^{**}$; $r_{Фл} = -0,345^{**}$).

Кореляційний аналіз біохімічних та морфологічних ознак сосни звичайної засвідчив, що функціональні залежності між ними дуже складні і не дозволяють на пряму говорити про наявність причинно-наслідкового зв'язку, а лише про тенденції до нього.

Висновки: Вивчення структури популяції сосни звичайної в ДП «Чугуєво-Бабчанське ЛГ» засвідчило, що ступінь мінливості морфологічних ознак незначний ($Cv = 6,2-18,8\%$), тоді як отримані нами паралельні результати біохімічних досліджень, зокрема, вміст сполук групи флавонолів у хвої ($Cv = 31,2-33,0\%$), дозволяють виявити генетичну неоднорідність популяції та використовувати її як критерій для оцінки міжпопуляційної та внутрішньовидової мінливості видів. Інтенсивність синтезу Б та Фл безпосередньо пов'язана з ростовими процесами організму. Підвищення вмісту сполук Фл в асиміляційному апараті хвої сосни звичайної супроводжується підвищенням стійкості дерев до умов навколишнього середовища, але негативно впливає на їх ростову активність. Використання нескладних біохімічних методів дає змогу ідентифікувати продукти первинного та вторинного обміну в рослинних тканинах та застосовувати їх в якості маркерів, під час селективного відбору.

Бібліографічний список: 1. Анучин Н. П. Лесная таксация: учебник для вузов / Н. П. Анучин. – [Изд. 5-е, дополнен]. – М.: Лесная промышленность, 1982. – 552 с. 2. Бех И. А. Устойчивость и антропогенная динамика бореальных лесов Западной Сибири / И. А. Бех, Д. А. Савчук // Методы оценки состояния и устойчивости лесных экосистем. Красноярск, 1999. – С. 34–35. 3. Бузун Г. А. Определение белка в растениях с помощью амидо-черного / Г. А. Бузун, К. М. Джемухажзе., Л. Ф. Милешко // Физиология растений. – 1982. – Т. 29. – С. 198–204. 4. Видякин А. И. Фенетика, популяционная структура и сохранение генетического фонда сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / А. И. Видякин // Хвойные бореальной зоны, 2007 – Вып. 24. – № 2–3. – С. 159–166. 5. Вольф В. Г. Статистическая обработка опытных данных / В. Г. Вольф. – М.: Колос, 1996. – 253 с. 6. Егоров М. Н. Введение в фенетику древесных растений / М. Н. Егоров;

ФГУП «Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции». – Воронеж: Изд-во Воронеж. Гос. ун-та, 2004. – 120 с. 7. Ладейщикова Е. И. Зависимость между составом экстраактивных веществ сосны обыкновенной и ее устойчивостью к корневой губке / Е. И. Ладейщикова, Г. М. Пастернак, А. И. Побегайло // Биология науки, 1980. – № 8. 8. Мазуркин П. М. Оценка компонентного неравновесия древостоя по кривым высот и диаметров растущих деревьев / П. М. Мазуркин, Э. Н. Бедертдинов, Н. В. Русинова // Успехи современного естествознания, 2009. – № 8. – С. 23–32. 9. Мамаев С. А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений (на примере семейства Pinaceae на Урале) / С. А. Мамаев. – М.: Наука, 1972. – 284 с. 10. Метлер Л. Генетика популяций и эволюция / Л. Метлер, Т. Грегг // Пер. с англ.: Б. В. Шиленко. – М.: Мир, 1972. – 323 с. 11. Полякова Л. В. Роль фенольных соединений в устойчивости географических культур сосны обыкновенной / Л. В. Полякова, П. Т. Журова // Лесоведение. – 2012. – № 1. – С. 27–33. 12. Судачкова Н. Е. Метаболизм хвойных и формирование древесины / Н. Е. Судачкова. – Новосибирск: Наука, 1977. – 230 с. 13. Храмова Е. П. Биохимические механизмы адаптации растений в условиях радиационного воздействия / [Е. П. Храмова, Г. И. Высочина, О. В. Тарасов и др.] // Химия в интересах устойчивого развития. – 2008. – № 3. – С. 259–267. 14. Cheliak W. M. Genetic effects of phenotypic selection in white spruce / W. M. Cheliak, G. Murray, J. A. Pitel // For. Ecol. Manage. – 1988. – Vol. 24. – P. 139–149. 15. Julkunen-Tiitto R. Phenolic constituents in leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics // J. Agric. Food Chem. – 1985. – V. 33. – P. 213–217. 16. Sonesson J. Genetic variation in responses of Pinus sylvestris trees to natural infection by Gremmenirlla abietina / J. Sonesson, G. Swedjemak, C. Almqvist and other // Skandinavian Journ. of Forestry Reseach. – 2007. – V. 22. – P. 290–298.

Дышко В. А.

ОСОБЕННОСТИ БИОРАЗНООБРАЗИЯ И ВЗАИМОСВЯЗИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (PINUS SYLVESTRIS L.) В ГП «ЧУГУЕВО-БАБЧАНСКОЕ ЛХ»

Приведены материалы использования морфологических и биохимических признаков для изучения внутривидовой изменчивости и корреляционных связей, на примере сосны обыкновенной. Показано, что соотношение количественного содержания некоторых основных компонентов первичного и вторичного синтеза может служить критерием для оценки межпопуляционной и внутривидовой изменчивости видов, а также использоваться в качестве маркера при селективном отборе

Ключевые слова: внутривидовая изменчивость, коэффициент корреляции, белки, флавоноиды.

Dushko V. A.

FEATURES BIODIVERSITY AND RELATIONSHIP OF MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TRAITS PINE (PINUS SYLVESTRIS L.) IN THE ENTERPRISE «CHUGUEVA-BABCHANSKE LH».

The materials on using of morphological and biochemical signs for the study of interpopulation variability and correlations, on the example of Scotch pine are given in the article. It is shown that the ratio of the quantitative content of some major components of the primary and secondary synthesis can serve as a criterion for assessing of interpopulation and intrapopulation variability of species, as well as used as a marker in selection.

Keywords: variability, correlation, proteins, compounds flavonols