

Научная статья

УДК 630.174.755:575.17:582.475:630.425  
DOI 10.24419/LNI.2304-3083.2023.1.08

## Генетическое разнообразие ели европейской на Северо-Западе России в естественных насаждениях, загрязненных тяжелыми металлами

Александр Евгеньевич Андреев <sup>1</sup>

Алена Ивановна Баранова <sup>2</sup>

Галина Валентиновна Калько <sup>3</sup>

**Аннотация.** В условиях интенсификации промышленности и изменения климата исследование взаимосвязи накопления растениями тяжелых металлов и уровня генетического разнообразия их популяций актуально для оценки адаптационного потенциала лесобразующих древесных пород. Исследование посвящено изучению параметров генетического разнообразия ели европейской в микросателлитных локусах в насаждениях с разной степенью загрязненности тяжелыми металлами. Объекты исследований – пробные площадки в Ленинградской обл. вблизи металлургического предприятия ООО «Орион-Спецсплав-Гатчина» (Гатчинское лесничество) и автотрасс в Тосненском районе (Любанское лесничество). Метод исследования – анализ полиморфизма в ядерных EST-SSR локусах. Загрязненность пробных площадей тяжелыми металлами Mn, Zn, Cu, Fe, Pb, Cr, Ni, Cd была установлена по их содержанию в хвое ели. Отмечена тенденция снижения генетического разнообразия (число эффективных аллелей –  $N_e$ , индекс разнообразия Шеннона –  $H'$ ) и ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) у взрослых елей и подроста на наиболее загрязненных пробных площадях вблизи металлургического предприятия. При попарном сравнении  $F_{ST}$  популяций выявлено, что популяции пробных площадей Гатчина1 и Гатчина2, наиболее загрязненные тяжелыми металлами и самые близкие к источнику загрязнения в г. Гатчине, имеют некоторую степень обособленности от других популяций в Гатчинском и Тосненском районах, расположенных на расстоянии 19–38 км от них.

**Ключевые слова:** ель европейская, микросателлиты, генетическое разнообразие, структура популяции, тяжелые металлы

**Для цитирования:** Андреев А.Е., Баранова А.И., Калько Г.В. Генетическое разнообразие ели европейской на Северо-Западе России в естественных насаждениях, загрязненных тяжелыми металлами. – Текст : электронный // Лесохозяйственная информация. 2023. № 1. С. 97–110. DOI 10.24419/LNI.2304-3083.2023.1.08

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова, аспирант (Санкт-Петербург, Российская Федерация), alexander\_597@mail.ru

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, лаборант-исследователь; Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова, студент (Санкт-Петербург, Российская Федерация), al.baranova.2019@mail.ru

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, заведующий лабораторией (Санкт-Петербург, Российская Федерация), gkalko@spb-niilh.ru

Original article

DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.08

## Genetic Diversity of Norway Spruce in Natural Stands Contaminated with Heavy Metals in Varying Degrees in the North-West of Russia

Alexander E. Andreev<sup>1</sup>

Alena I. Baranova<sup>2</sup>

Galina V. Kalko<sup>3</sup>

**Abstract.** The investigation of the relationship between the accumulation of heavy metals by plants and the level of genetic diversity of their populations is relevant for assessing the adaptive potential of forest-forming tree species under the conditions of industrial development and climate change. The study is devoted to assessing the parameters of genetic diversity of Norway spruce in microsatellite loci in natural stands with varying heavy metals contamination.

The objects of research are trial plots in the Leningrad region near the metallurgical enterprise “Orion-Specseplav-Gatchina” LLC (Gatchinskoye forestry) and near highways in the Tosnensky district (Lyubanskoye forestry). Research method – analysis of polymorphism in nuclear EST-SSR loci. Contamination of test plots with heavy metals Mn, Zn, Cu, Fe, Pb, Cr, Ni, Cd was determined by their content in spruce needles. A trend towards a decrease in genetic diversity (number of effective alleles –  $N_e$ , Shannon diversity index –  $I$ , expected heterozygosity –  $H_e$ ) was noted in mature spruces and undergrowth on the most polluted test plots near the metallurgical enterprise. Pairwise comparison of  $F_{ST}$  indices of populations revealed that populations from the Gatchina1 and Gatchina2 sample plots, which are the most contaminated with heavy metals and are closest to the source of pollution in Gatchina, have some degree of apartness from other populations in the Gatchina and Tosnensky districts, located at a distance of 19–38 km from them.

**Key words:** Norway spruce, microsatellites, genetic diversity, population structure, heavy metals.

**For citation:** Andreev A., Baranova A., Kalko G. Genetic diversity of Norway spruce in natural stands contaminated with heavy metals in varying degrees in the North-West of Russia. – Text : electronic // Forestry information. 2023. № 1. P. 97–110. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.08

<sup>1</sup> St. Petersburg State Forestry Engineering University named after S.M. Kirov, Postgraduate Student (St. Petersburg, Russian Federation), alexander\_597@mail.ru

<sup>2</sup> St. Petersburg Scientific Research Institute of Forestry, laboratory researcher; St. Petersburg State Forestry University named after S.M. Kirov, Student (St. Petersburg, Russian Federation), al.baranova.2019@mail.ru

<sup>3</sup> Saint Petersburg Scientific Research Institute of Forestry, Head of Laboratory (Saint Petersburg, Russian Federation), gkalko@spb-niilh.ru

**И**нтенсивное развитие промышленности и транспорта негативно влияет на состояние окружающей природной среды. Причем это может проявляться не только в непосредственной близости к источникам загрязнений, но и на отдаленных территориях [1, 2]. Наиболее опасные загрязнители – крупные промышленные предприятия (металлургические заводы и горно-обогатительные комбинаты и пр.) [3–5], вокруг них могут формироваться техногенные промышленные пустоши и лесные экосистемы различной степени нарушенности [6, 7].

Особое место среди поллютантов занимают тяжелые металлы (ТМ), которые содержатся в выбросах предприятий большинства отраслей промышленности и транспорта [1, 2]. Хвоя способна накапливать ТМ как из атмосферы, так и из почвы путем корневого поглощения [8]. За время жизни хвои в ней аккумулируются характерные для данной местности микроэлементы в количествах, достаточных для определения с помощью аналитических методов [9, 10]. Последствия загрязнения ТМ отражаются на всех аспектах существования растений – дыхании, фотосинтезе, генеративной сфере – и проявляются в снижении продуктивности [8].

Сведения о возможности влияния ТМ на генетическую структуру популяций хвойных видов противоречивы. По-видимому, эта неоднозначность связана с применением различных методов исследования, отличающихся генов (сайтов), в которых изучали полиморфизм, а также с разным количеством и составом поллютантов.

Очень мало исследований, посвященных оценке генетического разнообразия (синоним – генетический полиморфизм) европейских видов ели в загрязненных ТМ и контрольных местностях. Сосна изучена в этом аспекте лучше. Однако в работах, посвященных изучению генетического разнообразия в загрязненных и контрольных насаждениях разных видов сосен, приведены диаметрально противоположные выводы о взаимосвязи загрязнения насаждений ТМ и параметров генетического разнообразия.

Так, И.И. Коршиков с соавт. [11] при исследовании сосны обыкновенной (изоферментный

анализ) выявили, что средние показатели генетического разнообразия (число аллелей на локус, число генотипов, наблюдаемая ( $H_o$ ) и ожидаемая ( $H_e$ ) гетерозиготности) в двух загрязненных (деградирующих) популяциях были на 7,9–16,7% ниже, чем в трех популяциях контрольной (незагрязненной) зоны [11].

В западной и юго-западной Польше [12] методом изоферментного анализа изучали сеянцы сосны обыкновенной 8 семенных происхождений, которые произрастали в течение 14 лет на загрязненной и контрольной площадях. Было показано, что выборки с участка, загрязненного ТМ, имеют большее генетическое разнообразие, чем контрольные [12].

Эти данные несколько противоречат выводам более поздних исследований по изучению адаптации сосен обыкновенной и черной к загрязнениям ТМ в Польше [13]. У обоих видов устойчивые деревья продемонстрировали более низкую степень генетического разнообразия, чем деревья, чувствительные к металлам, в отношении некоторых локусов ферментов (SHDH A, PGI, PGM, MDH C и DIA). На загрязненных участках было выявлено меньшее количество аллелей и аллелей на локус, отмечено выпадение частных аллелей и повышение гомозиготности. Авторы предполагают, что если устойчивые деревья обоих видов выживут в условиях длительного загрязнения почвы, то популяции будут обеднены некоторыми аллелями неизвестной адаптивной ценности [13].

В другом исследовании [14] было показано, что ионы ТМ оказывают значительное влияние на генетическую структуру популяции *Pinus sylvestris*. Авторы пришли к такому выводу на основе данных изоферментного и цитологического анализа. Исследователи показали, что общее и среднее количество аллелей и генотипов на локус были выше в выборке деревьев, чувствительных к загрязнению, но средняя по всем локусам наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) в этой группе была ниже [14].

Канадские авторы [15], изучавшие генетическое разнообразие популяций *Pinus banksiana* и *Pinus resinosa* в загрязненном ТМ регионе

северного Онтарио, значимой разницы уровней генетического полиморфизма для загрязненных и не загрязненных металлами участков не выявили.

В исследованиях на видах ели однозначного понимания взаимосвязи контаминации насаждений ТМ и генетического разнообразия также не прослеживается.

При проведении с помощью ISSR-маркеров генетического анализа популяций ели черной (*Picea mariana*) из промышленного региона Онтарио был сделан вывод, что генетический полиморфизм и долгосрочное (более 30 лет) воздействие ТМ не связаны [16]. Авторы ранее выявили низкое, не превышающее установленные в Канаде нормативы, содержание ТМ в хвое елей и почве исследуемых насаждений [17].

В исследовании адаптации ели европейской (*Picea abies*) к загрязнениям в Германии, напротив, было показано, что загрязнения ТМ влияют на структуру популяций. По данным F. Bergmann и B. Nosius [18], при изучении сохранности семян ели европейской из семян разного происхождения (6 источников семян), произрастающих на двух сильно загрязненных ТМ территориях, наблюдались изменения в структуре популяций при анализе в 8-ми локусах полиморфных ферментов. Установлено, что частота гетерозигот в 4-х из этих локусов существенно увеличилась в выборках выживших саженцев из всех источников происхождения по сравнению с исходными образцами зародышей [18].

Словацкие авторы, изучавшие влияние промышленного загрязнения на соотношение аллелей и генотипов ели европейской, установили, что выборки выпадающих деревьев имеют более высокий уровень генетического разнообразия по сравнению с выборками внешне здоровых (устойчивых к загрязнению) деревьев [19].

R. Riegel с соавт. [20] использовали для изучения чувствительных и толерантных к загрязнениям елей европейских, произрастающих на двух соседних загрязненных участках, кодоминантные маркеры EST и хлоропластные микросателлиты. Больше число аллелей было обнаружено в двух чувствительных подгруппах по сравнению

с толерантными. Распределение частот генотипов между толерантными и чувствительными подгруппами различается, но статистическая значимость определяется только одним из протестированных локусов EST [20].

По данным F. Bergmann и F. Scholz [21], помимо прочих негативных эффектов, загрязнения могут вызвать отбор, ведущий к изменениям генетической структуры популяций и генетическому обеднению вида [21]. Для того чтобы выявить наличие такого отбора, авторы сравнили генетическую структуру выборок взрослых деревьев в еловых насаждениях, подвергшихся воздействию загрязнения, и генетическую структуру выборок подростка естественного возобновления. Выраженные различия в частотах аллелей и генотипов между двумя поколениями наблюдались только для одного локуса (фермент PEPСА-A) из 9-ти ферментных систем, которые, по мнению авторов, могут быть вовлечены в ответ на абиотический стресс [21].

Цель исследования – оценка параметров генетического разнообразия ели европейской в микросателлитных локусах в насаждениях разной степени загрязненности ТМ.

## Материалы и методы исследований

Для выявления полиморфизма ДНК в микросателлитных локусах использовали образцы ДНК ели европейской из популяций вблизи источников загрязнений и на контрольных пробных площадях двух объектов Ленинградской обл. Места отбора проб хвои ели в Гатчинском лесничестве расположены по одному азимуту, выбранному с учетом розы ветров, на расстоянии от источника загрязнений 5 (Гатчина1), 12 (Гатчина2) и 31 (Гатчина3) км.

Для оценки влияния загрязнений автотранспорта пробы собирали у федеральной автотрассы М10 (Тосно1), региональной дороги Тосно – Лисино – Корпус (Тосно2) и в контрольном насаждении на просеке (Тосно3) в Любанском лесничестве. На каждой пробной площадке отбирали по 25–27 образцов хвои у взрослых

елей ( $d_{1,3} = 20\text{--}46,8$  см,  $h = 16\text{--}35$  м) и подроста ( $d_{1,3} = 3,5\text{--}8,5$  см;  $h = 3\text{--}8$  м).

ДНК выделяли из хвои ели классическим методом СТАВ с модификациями [22]. Чистоту ДНК и ее концентрацию определяли спектрофотометрически на приборе SPECTROstar Nano, BMG Labtech GmbH (Германия). Для исследования были взяты образцы ДНК с соотношением поглощения при длинах волн 260 и 280 нм ( $A_{260/280}$ ) от 1,7 до 1,99.

ПЦР проводили в амплификаторах T100, C1000, CFX96, BIO-RAD, США. Объем реакции – 15 мкл. В каждой амплификации ставили контроли без матрицы ДНК. Амплификацию осуществляли с прямыми праймерами, меченными флуоресцентной краской FAM, JOE (HEX), ROX и не меченными обратными праймерами. Детекцию результатов ПЦР на генетическом анализаторе 3500 проводили с помощью фрагментного анализа с размерным стандартом LIZ600. Микросателлитный анализ был выполнен с использованием двух мультиплексов, разработанных нами ранее [23] и содержащих 5 ядерных микросателлитных локусов из транскрибируемых регионов ДНК (EST): UAPgCT144, WS0092, A19, Pa\_36, Pa\_28, Pa\_44.

Расчеты показателей генетического разнообразия и оценка межпопуляционной дифференциации в изучаемых насаждениях ели европейской были проведены с использованием надстройки для MS Excel GenAlEx 6.503 [24]. Были вычислены следующие параметры: число

аллелей на локус ( $N_a$ ), эффективное число аллелей ( $N_e$ ), индекс разнообразия Шеннона ( $I$ ), наблюдаемая ( $H_o$ ) и ожидаемая ( $H_e$ ) гетерозиготности, F-статистики, предложенные S. Wright для характеристики структуры популяций. С целью построения дендрограммы сходства на основе индексов  $F_{ST}$  применяли программный пакет Phylip [25].

Содержание ТМ (Mn, Zn, Cu, Fe, Pb, Cr, Ni, Cd) в хвое елей определяли в ФБУ «Рослесозащита» по аутсорсингу стандартными методами [26].

## Результаты и обсуждение

Характеристики генетического разнообразия взрослых елей (В) и подроста (П) на пробных площадях в Гатчинском районе Ленинградской обл. вблизи источника стационарного загрязнения металлургического предприятия ООО «Орион-Спецсплав-Гатчина» представлены в табл. 1.

На исследованных пробных площадях Гатчинского района популяционные характеристики насаждений ели существенно не различались (см. табл. 1).

Число аллелей на локус ( $N_a$ ) в опытных насаждениях варьировало от 5,8 до 7,2, эффективное число аллелей ( $N_e$ ) – от 2,9 до 3,7.

Следует отметить несколько меньшее число аллелей на локус ( $N_a$ ) на двух площадях, наиболее близких к металлургическому предприятию в Гатчинском районе: на пробной площади

**Таблица 1. Характеристики генетического разнообразия взрослых елей (В) и подроста (П) на пробных площадях в Гатчинском районе Ленинградской обл. вблизи источника стационарного загрязнения**

НАСАЖДЕНИЕ	$N_a$	$N_e$	$I$	$H_o$	$H_e$	$F$
Гатчина1_В	7,000 ± 1,643	3,210 ± 0,775	1,274 ± 0,294	0,526 ± 0,123	0,577 ± 0,119	0,075 ± 0,085
Гатчина2_В	5,800 ± 1,241	3,243 ± 0,858	1,258 ± 0,288	0,456 ± 0,133	0,581 ± 0,115	0,227 ± 0,112
Гатчина3_В	7,000 ± 1,761	3,669 ± 0,955	1,348 ± 0,313	0,525 ± 0,115	0,614 ± 0,118	0,087 ± 0,148
Гатчина1_П	6,400 ± 1,503	2,905 ± 0,893	1,158 ± 0,283	0,508 ± 0,110	0,531 ± 0,114	0,011 ± 0,090
Гатчина2_П	6,200 ± 1,530	3,079 ± 0,855	1,140 ± 0,327	0,415 ± 0,143	0,524 ± 0,146	0,166 ± 0,118
Гатчина3_П	7,200 ± 2,223	3,490 ± 0,811	1,359 ± 0,279	0,658 ± 0,114	0,630 ± 0,094	-0,113 ± 0,224
В среднем	6,600 ± 0,630	3,266 ± 0,323	1,256 ± 0,112	0,515 ± 0,048	0,576 ± 0,045	0,588 ± 0,046

Гатчина2 у взрослых елей – 5,8 и Гатчина1 и Гатчина2 у подростка – 6,4 и 6,2 соответственно.

Наиболее отчетливо тенденция снижения эффективного числа аллелей на локус ( $N_e$ ), индекса разнообразия Шеннона (I) и ожидаемой гетерозиготности ( $H_e$ ) выражена на площадях, наиболее близких к источнику загрязнения в г. Гатчине. Так, эффективное число аллелей на локус ( $N_e$ ) на пробных площадях Гатчина1 и Гатчина2 составляло 3,210 и 3,243 у взрослых елей и 2,905 и 3,079 у подростка соответственно. На контрольной площади Гатчина3 этот показатель достигал 3,669 у взрослых елей и 3,490 у подростка. Индекс Шеннона (I) на площадях Гатчина1 и Гатчина2 составил 1,274 и 1,258 у взрослых елей и 1,158 и 1,140 у подростка соответственно. На контрольной пробной площади Гатчина3 этот показатель достигал 1,348 у взрослых елей и 1,359 у подростка. Ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) у взрослых елей составила 0,577 и 0,581, у подростка – 0,531 и 0,524 на площадях Гатчина1 и Гатчина2 соответственно. В контроле (Гатчина3) – 0,614 у взрослых елей и 0,630 у подростка (см. табл. 1).

Наблюдаемая ( $H_o$ ) гетерозиготность колебалась от 0,415 до 0,658. Ее наименьшие значения отмечены на наиболее близких к источнику загрязнения площадях Гатчина2 у взрослых елей ( $H_o = 0,456$ ) и Гатчина1 и Гатчина2 у подростка (0,508 и 0,415 соответственно).

Если значение каждого из популяционных параметров в контроле принять равным 100 %, то на пробных площадях Гатчина1 и Гатчина2 у взрослых елей эффективное число аллелей ( $N_e$ ) было ниже на 12,5 и 11,6 %, индекс Шеннона (I) – на 5,5 и 6,7 %, ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) – на 6,0 и 5,4 % соответственно. У подростка ели европейской эффективное число аллелей ( $N_e$ ) меньше на 16,8 и 11,8 %, индекс Шеннона (I) – на 14,8 и 16,1 %, ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) – на 15,7 и 16,8 % (на площадях Гатчина1 и Гатчина2 соответственно).

Значения индекса фиксации F варьируют в пределах от -0,113 до 0,227 (см. табл. 1). При этом большая часть изучаемых насаждений находится в равновесном состоянии (индекс

фиксации F – от 0,011 до 0,087). Исключение составляет пробная площадь в 12 км от Гатчины (Гатчина2), для которой характерен дефицит гетерозигот (индекс F достигал 0,227 и 0,166 у взрослых деревьев и подростка соответственно). В контрольном насаждении, расположенном в 31 км от Гатчины (Гатчина3), у подростка выявлен некоторый избыток гетерозигот ( $F = -0,113$ ), у взрослых деревьев избытка гетерозигот не обнаружено.

Дифференциацию частот аллелей среди популяций (насаждений) Гатчинского лесничества оценивали, используя AMOVA (Analysis of Molecular Variance). Достоверность индекса фиксации  $F_{ST}$  при попарных сравнениях популяций (насаждений) определяли по результатам 9999 пермутаций. Доля межпопуляционной изменчивости составила 3 %.

Различия в содержании ТМ в хвое елей на пробных площадях Гатчина1 и Гатчина2 по сравнению с их содержанием в контроле (Гатчина3) были достоверными на уровне значимости 0,05. Так, существенно ниже содержание Mn в хвое взрослых елей на пробной площади Гатчина1 по сравнению с контрольной площадью Гатчина3 (166,3 и 459,8 мг/кг абсолютно с. в. соответственно). Содержание этого элемента достоверно меньше и в хвое подростка на площади Гатчина1 (194,0 мг/кг с. в.), чем на контрольной площади Гатчина3 (557,9 мг/кг с. в.) [27]. Известно, что ТМ не только накапливаются в ассимилирующих органах растений, но и препятствуют поглощению и накоплению биофильных элементов, таких как Mn и Zn [28].

Содержание Pb было существенно более высоким в хвое подростка на пробной площади Гатчина1 (2,326 мг/кг с. в.) по сравнению с контрольной площадью Гатчина3 (1,030 мг/кг с. в.). На пробной площади Гатчина2 содержание Cr в хвое взрослых елей (1,792 мг/кг с. в.) и подростка (1,816 мг/кг с. в.) существенно выше, чем на пробных площадях Гатчина1 и Гатчина3. На этой же пробной площади определено достоверно более высокое, чем на других пробных площадях, содержание Ni в хвое взрослых елей и подростка: 1,664 и 2,092 мг/кг с. в. соответственно [27].

Таким образом, несмотря на то что на пробных площадях в Гатчинском районе при существенной разнице в содержании ТМ в хвое достоверных различий в популяционных параметрах не выявлено, на уровне тенденций отмечены некоторые закономерности, указывающие на снижение генетического разнообразия ели при загрязнении насаждений ТМ.

Характеристики генетического разнообразия насаждений ели в Тосненском районе приведены в табл. 2.

Число аллелей на локус ( $N_a$ ) у ели европейской на пробных площадях в Тосненском районе в среднем было чуть выше, чем в Гатчинском, и варьировало от 6,4 до 7,8 (см. табл. 1 и 2). Эффективное число аллелей также было незначительно выше, чем в Гатчине, и находилось в пределах от 3,092 до 4,096. Интенсивность источников загрязнения автотранспортом не оказывала влияния на число эффективных аллелей ( $N_e$ ) у взрослых елей и подростка. Ожидаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) на всех пробных площадях превышала наблюдаемую ( $H_e$ ), за исключением площади Тосно3\_П. Ожидаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) колебалась от 0,596 до 0,684, наблюдаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) – от 0,549 до 0,658.

Индекс Шеннона (I) на участках вблизи г. Тосно варьировал от 1,291 до 1,435 и был чуть выше, чем в Гатчинском районе (от 1,140 до 1,359). Тенденций зависимости индекса I от интенсивности движения автотранспорта вблизи пробных площадей не выявлено.

Индекс фиксации F колебался от -0,056 до 0,095, что указывает на то, что все учетные насаждения в Тосненском районе близки к равновесному состоянию (см. табл. 2).

Полученные нами данные сложно сравнивать с результатами исследований, выполненных в 1989–2001 гг. для ели европейской [18–21], в связи с различающимися схемами экспериментов и применяемыми маркерами ДНК. Более близкие по дизайну эксперименты были описаны для разных видов сосен [11–15], при этом выводы, к которым пришли авторы этих статей, противоположны. Наши результаты в большей степени сходны с данными И.И. Коршикова с соавт. [11]: при загрязнении насаждений (повышенном содержании ТМ в хвое) отмечаются сниженные параметры генетического разнообразия у ели европейской. Тем не менее выявленные тренды статистически недостоверны, как и у канадских авторов [15, 16, 29].

Ни в одном из приведенных нами исследований не использовался градиентный подход в оценке загрязнений. В нашей работе была поставлена цель – отследить изменения параметров генетического разнообразия при разных уровнях загрязнений, распространяющихся от стационарного источника по одному азимуту.

Как и И.И. Коршиков с соавт. [11], мы выявили четкую тенденцию к снижению ожидаемой гетерозиготности ( $H_o$ ) на двух пробных площадях (Гатчина1 и Гатчина2) вблизи источника загрязнений по сравнению с более удаленной от

**Таблица 2. Характеристики генетического разнообразия взрослых елей (В) и подростка (П) на пробных площадях в Тосненском районе Ленинградской обл. вблизи источников загрязнения автотранспортом**

НАСАЖДЕНИЕ	$N_a$	$N_e$	I	$H_o$	$H_e$	F
Тосно1_В	7,600 ± 2,205	3,709 ± 1,005	1,418 ± 0,297	0,616 ± 0,084	0,634 ± 0,099	-0,006 ± 0,110
Тосно 2_В	7,000 ± 2,550	4,096 ± 1,097	1,404 ± 0,332	0,633 ± 0,113	0,654 ± 0,102	-0,056 ± 0,236
Тосно 3_В	7,800 ± 2,437	3,092 ± 0,641	1,345 ± 0,291	0,575 ± 0,099	0,602 ± 0,096	0,033 ± 0,130
Тосно 1_П	6,800 ± 1,158	3,681 ± 0,674	1,435 ± 0,207	0,658 ± 0,086	0,684 ± 0,062	0,004 ± 0,175
Тосно 2_П	6,400 ± 1,208	3,144 ± 0,587	1,298 ± 0,210	0,549 ± 0,115	0,629 ± 0,073	0,095 ± 0,210
Тосно 3_П	7,000 ± 1,140	3,187 ± 0,863	1,291 ± 0,226	0,625 ± 0,136	0,596 ± 0,086	-0,039 ± 0,203
В среднем	7,100 ± 0,707	3,485 ± 0,317	1,365 ± 0,099	0,609 ± 0,040	0,633 ± 0,033	0,005 ± 0,068

источника загрязнений контрольной пробной площадью (Гатчина3). Этот тренд прослеживался и у взрослых елей, и у подростка (см. табл. 1). Мы не установили различий в числе аллелей на локус ( $N_a$ ) и наблюдаемой гетерозиготности ( $H_o$ ) в загрязненных и контрольных выборках, отмеченных другими авторами [11–13]. В то же время была обнаружена тенденция к снижению числа эффективных аллелей ( $N_e$ ) и индекса Шеннона ( $I$ ) у взрослых елей и подростка на загрязненных участках Гатчина1 и Гатчина2 по сравнению с контролем (Гатчина3) (см. табл. 1).

Для других видов растений (при изучении уровней загрязненности насаждений ТМ и генетического разнообразия) также приводятся сложно сопоставимые данные. Для ряда видов выявлено снижение параметров генетического разнообразия в загрязненных популяциях по сравнению с контрольными. Это было показано для *Silene paradoxa* L. [30] и *Sedum alfredii* при использовании метода RAPD [31].

При изучении фиалки трехцветной с использованием ISSR-маркеров, напротив, выборки с загрязненных участков показали более высокий генетический полиморфизм (полиморфность – 84 %) и генное разнообразие ( $H_T = 0,1709$ ), чем контрольные популяции (75 % и 0,1448

соответственно). Авторы полагают, что популяции фиалки, загрязненные ТМ, накапливают общее генетическое разнообразие и в них могут происходить микроэволюционные процессы, ведущие к возникновению местных экотипов, лучше приспособленных к условиям среды, а возможно, и к дивергенции вида [32].

Дифференциацию частот аллелей среди популяций оценивали, используя AMOVA. Достоверность индекса фиксации  $F_{ST}$  при попарных сравнениях генетической обособленности насаждений определяли по результатам 9999 пермутаций. Статистически достоверная доля межпопуляционной изменчивости на пробных площадях Тосненского района, как и вблизи Гатчины, составляла 3 %.

Таким образом, достоверных различий в популяционных параметрах насаждений, расположенных вблизи источника загрязнений автотранспортом, в Тосненском районе не обнаружено. Достоверной разницы в содержании ТМ в хвое елей на разных пробных площадях Любанского лесничества не выявлено (неопубликованные данные).

В целом показатели генетического разнообразия на пробных площадях обоих объектов высокие. Применение AMOVA для всех пробных

**Таблица 3. Индексы фиксации  $F_{ST}$  при попарном сравнении между популяциями ели европейской в Гатчинском и Тосненском районах при анализе в пяти микросателлитных локусах (GENALEX 6.503)**

Популяция	Тосно 1_В	Тосно 2_В	Тосно 3_В	Тосно 1_П	Тосно 2_П	Тосно 3_П	Гатчина 1_В	Гатчина 2_В	Гатчина 3_В	Гатчина 1_П	Гатчина 2_П	Гатчина 3_П
Тосно1_В	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Тосно2_В	0,013	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Тосно3_В	0,038	0,019	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Тосно1_П	0,024	0,011	0,022	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Тосно2_П	0,022	0,014	0,015	0,007	0,000	-	-	-	-	-	-	-
Тосно3_П	0,053	0,031	0,017	0,024	0,021	0,000	-	-	-	-	-	-
Гатчина1_В	0,069	0,051	0,041	0,041	0,035	0,044	0,000	-	-	-	-	-
Гатчина2_В	0,079	0,055	0,039	0,043	0,041	0,036	0,012	0,000	-	-	-	-
Гатчина3_В	0,035	0,019	0,018	0,017	0,012	0,023	0,022	0,029	0,000	-	-	-
Гатчина1_П	0,099	0,072	0,053	0,053	0,054	0,039	0,015	0,015	0,035	0,000	-	-
Гатчина2_П	0,076	0,063	0,040	0,058	0,048	0,048	0,015	0,025	0,027	0,024	0,000	-
Гатчина3_П	0,031	0,014	0,023	0,016	0,017	0,020	0,046	0,048	0,011	0,054	0,050	0,000



площадей в Гатчинском и Тосненском районах выявило межпопуляционную изменчивость в 4 %.

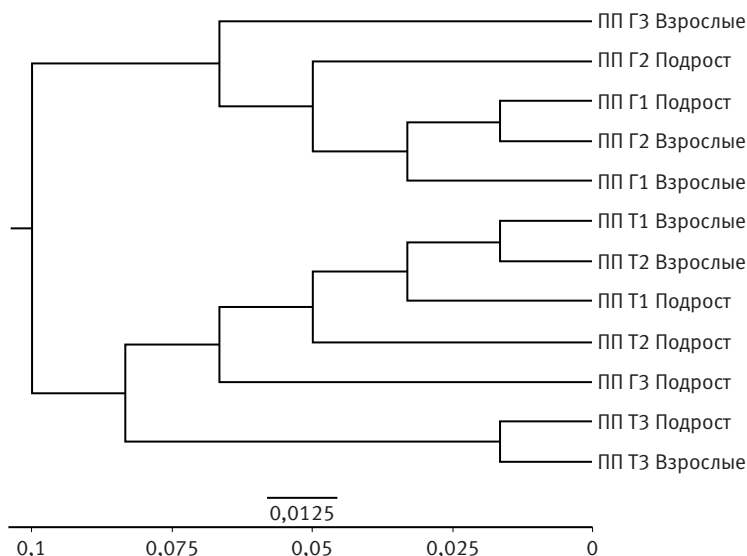
Значения индекса фиксации  $F_{ST}$  при попарном сравнении выборок на пробных площадях обоих объектов представлены в табл. 3. Индекс фиксации  $F_{ST}$  варьировал от 1,1 до 9,9 %.

На рисунке представлена дендрограмма сходства популяций ели на пробных площадях Ленинградской обл. на основе индексов фиксации  $F_{ST}$  (метод «ближайшего соседа»).

Взрослые деревья ели и подрост на пробных площадях Гатчина1 и Гатчина2 и взрослые деревья на площади Гатчина3 были сгруппированы в один кластер, при этом сходство популяций на площадях Гатчина1 и Гатчина2 выше (см. рисунок).

Таким образом, на основе совокупности полученных данных можно утверждать, что пробные площади Гатчина1 и Гатчина2, наиболее близко расположенные к источнику загрязнения в Гатчине и сильнее загрязненные ТМ, имеют некоторую степень обособленности от популяций Гатчина3, Тосно1, Тосно2 и Тосно3, находящихся на довольно близком расстоянии (19–38 км) от них. На площадях Гатчина1 и Гатчина2 у взрослых елей и подростка отмечена тенденция к снижению числа эффективных аллелей на локус ( $N_e$ ), индекса разнообразия Шеннона ( $H$ ) и ожидаемой гетерозиготности ( $H_e$ ) по сравнению с контрольной популяцией Гатчина3.

Авторы, изучающие другие виды растений, также отмечают дифференциацию выборок на загрязненных ТМ и контрольных участках. J. Deng с соавт. [31] с помощью анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) данных, полученных с использованием RAPD-маркеров, и кластерного анализа генетических расстояний методом невзвешенных парных групп со средним арифметическим (UPGMA – агломерационный метод иерархической кластеризации) подтвердили, что генетическая дифференциация между популяциями *Sedum alfredii* на территории рудников и на фоновых участках была значительной. На контаминированных площадях параметры генетического разнообразия были ниже, чем на контрольных [31]. По сведениям



**Дендрограмма сходства популяций ели европейской на пробных площадях Ленинградской обл. на основе индексов фиксации  $F_{ST}$  (метод «ближайшего соседа»)**

польских авторов, при использовании программы STRUCTURE и кластерного анализа по методу UPGMA для данных, полученных с использованием ISSR-маркеров, была выявлена значительная разница между популяциями фиалки с загрязненных и контрольных территорий. Популяции фиалки трехцветной, загрязненные металлами, характеризуются высокой степенью генетической изменчивости [32].

Таким образом, сделанное нами заключение о тенденции снижения параметров генетического разнообразия елей на площадях, загрязненных ТМ, и о некоторой дифференциации между популяциями с загрязненных и контрольных площадей подтверждается данными ряда других исследователей.

## Выводы

1. На пробных площадях в Гатчинском районе на фоне достоверных различий содержания тяжелых металлов в хвое (свинца на пробной площади Гатчина1 по сравнению с контрольной площадью Гатчина3 – подрост; хрома и никеля на пробной площади Гатчина2 по сравнению с пробными площадями Гатчина1 и Гатчина3

(контроль) – взрослые ели, подрост) отмечены тенденции снижения генетического разнообразия ели на загрязненных площадях по сравнению с контрольной.

2. На основе попарного сравнения индексов  $F_{ST}$  у выборок ели европейской с пробных площадей в Гатчинском и Тосненском районах Ленинградской обл. и результатов кластерного анализа

данных на основе индексов фиксации  $F_{ST}$  (метод «ближайшего соседа») сделан вывод о некоторой степени обособленности наиболее загрязненных площадей Гатчина1 и Гатчина2, близко расположенных к источнику загрязнения, от популяций Гатчина3, Тосно1, Тосно2 и Тосно3, находящихся на незначительном для ветроопыляемых видов расстоянии (19–38 км).

*Исследование выполнено за счет средств  
федерального бюджета в рамках государственного  
задания ФБУ «СПбНИИЛХ» (№ 053-0006-22-00).*

## Список источников

1. Обзор фонового состояния окружающей среды на территории стран СНГ за 2012 г. / под ред. академика РАН Ю.А. Израэля ; Институт глобального климата и экологии Росгидромета и РАН. – Москва, 2013. – 61 с.
2. Обзор фонового состояния окружающей среды на территории стран СНГ за 2018 г. / под ред. профессора Г.М. Черногаевой ; Росгидромет, Институт глобального климата и экологии имени академика Ю.А. Израэля. Москва, 2019. – 99 с.
3. Никонов, М.В. Устойчивость лесов к воздействию природных и антропогенных факторов (на примере Новгородской области) / М.В. Никонов. – Великий Новгород : НовГУ им. Я. Мудрого, 2003. – 296 с.
4. Павлов, И.Н. Древесные растения в условиях техногенного загрязнения / И.Н. Павлов. – Улан-Удэ : БНЦ СО РАН, 2005. – 370 с.
5. Влияние техногенных выбросов и радиоактивного загрязнения на состояние хвойных лесов Беларуси / С.А. Ламоткин, Е.Д. Скаковский, Л.Ю. Тычинская, С.И. Шпак, О.А. Гайдукевич, С.В. Рыков, О.В. Черняк, А.В. Воронин // Вестник РУДН. – 2009. – № 2. – С. 108–115.
6. Чжан, С.А. Особенности влияния техногенного загрязнения на хвойные древостои / С.А. Чжан. – Братск : ГОУ ВПО «БрГУ», 2010. – 67 с.
7. Неверова, О.А. Применение фитоиндикации в оценке загрязнения окружающей среды / О.А. Неверова // Биосфера: междисциплинарный научный и прикладной журнал. – Т. 1. – 2009. – № 1. – С. 82–92.
8. Устойчивость растений к тяжелым металлам / А.Ф. Титов, В.В. Таланова, Н.М. Казина [и др.] ; отв. ред. Н.Н. Немова ; Ин-т биологии КарНЦ. – Петрозаводск, 2007. – 172 с.
9. Мэннинг, У.Дж. Биомониторинг загрязнения атмосферы с помощью растений ; пер. с англ. / У.Дж. Мэннинг, У.А. Федер. – Ленинград : Гидрометеиздат, 1985. – 144 с.
10. Есякова, О.А. Ассимиляционный аппарат ели сибирской как индикатор загрязнения городской атмосферы / О.А. Есякова, В.М. Воронин, Р.А. Степень // Хвойные boreальной зоны. – Т. XXV. – 2008. – № 1–2. – С. 109–112.
11. Korshikov, I.I. Genetic structure and variation in *Pinus sylvestris* L. populations degrading due to pollution-induced injury / I.I. Korshikov, T.I. Velikoridko, L.A. Butilskaya // *Silvae genetica*. – 2002. – Vol. 51(2–3). – P. 45–48.
12. Industrial pollutants tend to increase genetic diversity: evidence from field-grown European Scots pine populations / W. Prus-Glowacki, A. Wojnicka-Póltorak, J. Oleksyn, P.B. Reich // *Forest Growth Responses to the Pollution Climate of the 21st Century*. – 1999. – P. 395–402.
13. Chudzińska, E. Adaptation strategies and referencing trial of Scots and black pine populations subjected to heavy metal pollution / E. Chudzińska, J.B. Diatta, A. Wojnicka-Póltorak // *Environmental science and pollution research*. – 2014. – Vol. 21. – P. 2165–2177.
14. Effects of heavy metal pollution on genetic variation and cytological disturbances in the *Pinus sylvestris* L. population / W. Prus-Głowacki, E. Chudzińska, A. Wojnicka-Póltorak, L. Kozacki, K. Fagiewicz // *Journal of applied genetics*. – 2006. – Vol. 47. – № 2. – С. 99–108.
15. Genetic analysis of *Pinus banksiana* and *Pinus resinosa* populations from stressed sites contaminated with metals in Northern Ontario (Canada) / K.K. Vandelight, K.K. Nkongolo, M. Mehes, P. Beckett // *Chemistry and Ecology*. – 2011. – Vol. 27(4). – P. 369–380.
16. Genetic Analysis of Black Spruce (*Picea mariana*) Populations from Dry and Wet Areas of a Metal-Contaminated Region in Ontario (Canada) / S. Dobrzeniecka, K.K. Nkongolo, P. Michael, M. Mehes-Smith, P. Beckett // *Water Air Soil Pollut.* – 2011. – Vol. 215. – P. 117–125.
17. Metal content in soil and black spruce (*Picea mariana*) trees in the Sudbury Region (Ontario, Canada): low concentration of arsenic, cadmium, and nickel detected near smelter sources / K.K. Nkongolo, A. Vaillancourt, S. Dobrzeniecka, M. Mehes, P. Beckett // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2008. – Vol. 80. – P. 107–111.

18. Bergmann, F. Effects of heavy metal polluted soils on the genetic structure of Norway spruce seedling populations / F. Bergmann, B. Hosius // *Water, Air, and Soil Pollution*. – 1996. – Vol. 89(3). – P. 363–373.
19. Longauer, R. Selection effects of air pollution on gene pools of Norway spruce, European silver fir and European beech / R. Longauer, D. Gömöry, L. Paule // *Environmental pollution*. – 2001. – Vol. 115. – № 3. – P. 405–411.
20. Genetic variation in two heavily polluted stands of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) as indicated by nuclear and organelle DNA markers / R. Riegel, R. Schubert, G. Müller-Starck, D.F. Karnosky, L. Paule // *Genetic Response of Forest Systems to Changing Environmental Conditions*. – Dordrecht : Springer, 2001. – C. 21–34.
21. Bergmann, F. Selection effects of air pollution in Norway spruce (*Picea abies*) populations / F. Bergmann, F. Scholz // *Genetic effects of air pollutants in forest tree populations*. – Berlin, Heidelberg : Springer, 1989. – C. 143–160.
22. Rahimah, A.R. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable DNA / A.R. Rahimah, S.C. Cheah, S. Rajinder // *J. Oil Palm Res.* – 2006. – Vol. 18. – P. 296–304.
23. Калько, Г.В. Использование кривых плавления ампликонов при оценке пригодности nSSR-локусов ели европейской для мультиплексирования / Г.В. Калько, Р.Р. Мусина // *Тр. Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства*. – 2020. – № 1. – С. 16–31.
24. Peakall, R. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall and P.E. Smouse // *Molecular Ecology Notes*. – 2006. – Vol. 6. – P. 288–295.
25. Retief, J.D. Phylogenetic analysis using PHYLIP – Текст : электронный / J.D. Retief, S. Misener, S.A. Krawetz // *Bioinformatics methods and protocols*. Humana Press. – 2000. – Vol. 132. – URL: <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:243>
26. Методика измерения массовых долей металлов в осадках сточных вод, донных отложениях, образцах растительного происхождения спектральными методами. ПНД Ф 16.2.2:2.3.71-2011. – Текст : электронный / Федеральная служба по надзору в сфере природопользования. – Москва, 2011. – URL: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293793/4293793107.htm>.
27. Калько, Г.В. Содержание тяжелых металлов и серы в хвое ели европейской в зоне выбросов металлургического предприятия в Ленинградской области / Г.В. Калько, А.Е. Андреев // *Современная биология и биотехнология: проблемы, тенденции, перспективы : сб. докл. и тез. Всерос. науч.-практ. конф. (Волгоград, 23–25 нояб. 2021 г.)*. – Волгоград : изд-во ВолГУ, 2022. – С. 158–161.
28. Неверова, О.А. Опыт использования биоиндикаторов в оценке загрязнения окружающей среды / О.А. Неверова, Н.И. Еремеева // *Экология. Серия аналитических обзоров мировой литературы*. – 2006. – № 80. – С. 1–88.
29. Total and bioavailable metals in two contrasting mining regions (Sudbury in Canada and Lubumbashi in DR-Congo): relation to genetic variation in plant populations / R. Narendrula, K.K. Nkongolo, P. Beckett, G. Spiers // *Chemistry and Ecology*. – 2013. – Vol. 29(2). – P. 111–127.
30. Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a random amplified polymorphic DNA analysis / A. Mengoni, C. Gonnelli, F. Galardi, R. Gabbrielli, M. Bazzicalupo // *Molecular ecology*. – 2000. – Vol. 9(9). – P. 1319–1324.
31. The effects of heavy metal pollution on genetic diversity in zinc/cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii* populations / J. Deng, B. Liao, M. Ye, D. Deng, C. Lan, W. Shu // *Plant Soil*. – 2007. – Vol. 297(1–2). – P. 83–92. – DOI: 10.1007/s11104-007-9322-5.
32. Słomka, A. Increased genetic diversity of *Viola tricolor* L. (Violaceae) in metal-polluted environments / A. Słomka, A. Sutkowska, M. Szczepaniak, P. Malec, J. Mitka, E. Kuta // *Chemosphere*. – 2011. – Vol. 83(4). – P. 435–442.

## References

1. Обзор fonovogo sostoyaniya okruzhayushchej sredy na territorii stran SNG za 2012 g. / pod red. akademika RAN Yu.A. Izraelya ; Institut global'nogo klimata i ekologii Rosgidrometa i RAN. – Moskva, 2013. – 61 s.

2. Obzor fonovogo sostoyaniya okruzhayushchej sredy na territorii stran SNG za 2018 g. / pod red. professora G.M. Chernogaevoy ; Rosgidromet, Institut global'nogo klimata i ekologii imeni akademika Yu.A. Izraeliya. – Moskva, 2019. – 99 s.
3. Nikonov, M.V. Ustojchivost' lesov k vozdejstviyu prirodnyh i antropogennyh faktorov (na primere Novgorodskoj oblasti) / M.V. Nikonov. – Velikij Novgorod : NovGU im. Ya. Mudrogo, 2003. – 296 s.
4. Pavlov, I.N. Drevesnye rasteniya v usloviyah tekhnogennoho zagryazneniya / I.N. Pavlov. – Ulan-Ude : BNC SO RAN, 2005. – 370 s.
5. Vliyanie tekhnogennyh vybrosov i radioaktivnogo zagryazneniya na sostoyanie hvojnnyh lesov Belarusi / S.A. Lamotkin, E.D. Skakovskij, L.Yu. Tychinskaya, S.I. Shpak, O.A. Gajdukevich, S.V. Rykov, O.V. Chernyak, A.V. Voronin // Vestnik RUDN. – 2009. – № 2. – С. 108–115.
6. Chzhan, S.A. Osobennosti vliyaniya tekhnogennoho zagryazneniya na hvojnnye drevostoi / S.A. Chzhan. – Bratsk : GOU VPO «BrGU», 2010. – 67 s.
7. Neverova, O.A. Primenenie fitoindikacii v ocenke zagryazneniya okruzhayushchej sredy / O.A. Neverova // Biosfera: mezhdisciplinarnyj nauchnyj i prikladnoj zhurnal. – T. 1. – 2009. – № 1. – S. 82–92.
8. Ustojchivost' rastenij k tyazhelym metallam / A.F. Titov, V.V. Talanova, N.M. Kazina [i dr.] ; otv. red. N.N. Nemova ; In-t biologii KarNC. – Petrozavodsk, 2007. – 172 s.
9. Menning, U.Dzh. Biomonitoring zagryazneniya atmosfery s pomoshch'yu rastenij ; per. s angl. / U.Dzh. Menning, U.A. Feder. – Leningrad : Gidrometeoizdat, 1985. – 144 s.
10. Esyakova, O.A. Assimilyacionnyj apparat eli sibirskoj kak indikator zagryazneniya gorodskoj atmosfery / O.A. Esyakova, V.M. Voronin, R.A. Stepen' // Hvojnnye boreal'noj zony. – T. XXV. – 2008. – № 1–2. – S. 109–112.
11. Korshikov, I.I. Genetic structure and variation in *Pinus sylvestris* L. populations degrading due to pollution-induced injury / I.I. Korshikov, T.I. Velikoridko, L.A. Butilskaya // Silvae genetica. – 2002. – Vol. 51(2–3). – P. 45–48.
12. Industrial pollutants tend to increase genetic diversity: evidence from field-grown European Scots pine populations / W. Prus-Glowacki, A. Wojnicka-Poltorak, J. Oleksyn, P.B. Reich // Forest Growth Responses to the Pollution Climate of the 21st Century. – 1999. – P. 395–402.
13. Chudzińska, E. Adaptation strategies and referencing trial of Scots and black pine populations subjected to heavy metal pollution / E. Chudzińska, J.B. Diatta, A. Wojnicka-Póltorak // Environmental science and pollution research. – 2014. – Vol. 21. – P. 2165–2177.
14. Effects of heavy metal pollution on genetic variation and cytological disturbances in the *Pinus sylvestris* L. population / W. Prus-Głowacki, E. Chudzińska, A. Wojnicka-Póltorak, L. Kozacki, K. Fagiewicz // Journal of applied genetics. – 2006. – Vol. 47. – № 2. – S. 99–108.
15. Genetic analysis of *Pinus banksiana* and *Pinus resinosa* populations from stressed sites contaminated with metals in Northern Ontario (Canada) / K.K. Vandelight, K.K. Nkongolo, M. Mehes, P. Beckett // Chemistry and Ecology. – 2011. – Vol. 27(4). – P. 369–380.
16. Genetic Analysis of Black Spruce (*Picea mariana*) Populations from Dry and Wet Areas of a Metal-Contaminated Region in Ontario (Canada) / S. Dobrzeniecka, K.K. Nkongolo, P. Michael, M. Mehes-Smith, P. Beckett // Water Air Soil Pollut. – 2011. – Vol. 215. – P. 117–125.
17. Metal content in soil and black spruce (*Picea mariana*) trees in the Sudbury Region (Ontario, Canada): low concentration of arsenic, cadmium, and nickel detected near smelter sources / K.K. Nkongolo, A. Vaillancourt, S. Dobrzeniecka, M. Mehes, P. Beckett // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2008. – Vol. 80. – P. 107–111.
18. Bergmann, F. Effects of heavy metal polluted soils on the genetic structure of Norway spruce seedling populations / F. Bergmann, B. Hosius // Water, Air, and Soil Pollution. – 1996. – Vol. 89(3). – P. 363–373.
19. Longauer, R. Selection effects of air pollution on gene pools of Norway spruce, European silver fir and European beech / R. Longauer, D. Gömöry, L. Paule // Environmental pollution. – 2001. – Vol. 115. – № 3. – P. 405–411.

20. Genetic variation in two heavily polluted stands of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) as indicated by nuclear and organelle DNA markers / R. Riegel, R. Schubert, G. Müller-Starck, D.F. Karnosky, L. Paule // Genetic Response of Forest Systems to Changing Environmental Conditions. – Dordrecht : Springer, 2001. – S. 21–34.
21. Bergmann, F. Selection effects of air pollution in Norway spruce (*Picea abies*) populations / F. Bergmann, F. Scholz // Genetic effects of air pollutants in forest tree populations. – Berlin, Heidelberg : Springer, 1989. – S. 143–160.
22. Rahimah, A.R. Freeze-drying of oil palm (*Elaeis guineensis*) leaf and its effect on the quality of extractable DNA / A.R. Rahimah, S.C. Cheah, S. Rajinder // J Oil Palm Res. – 2006. – Vol. 18. – P. 296–304.
23. Kal'ko, G.V. Ispol'zovanie krivyh plavleniya amplikonov pri ocenke prigodnosti nSSR-lokusov eli evropejskoj dlya mul'tipleksirovaniya / G.V. Kal'ko, R.R. Musina // Tr. Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozyajstva. – 2020. – № 1. – S. 16–31.
24. Peakall, R. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall and P.E. Smouse // Molecular Ecology Notes. – 2006. – Vol. 6. – P. 288–295.
25. Retief, J.D. Phylogenetic analysis using PHYLIP – Текст : электронnyj / J.D. Retief, S. Misener, S.A. Krawetz // Bioinformatics methods and protocols. Humana Press. – 2000. – Vol. 132. – URL: <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:243>
26. Metodika izmereniya massovyh dolej metallov v osadkah stochnyh vod, donnyh otlozheniyah, obrazcah rastitel'nogo proiskhozhdeniya spektral'nymi metodami. PND F 16.2.2:2.3.71-2011. – Текст : электронnyj / Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere prirodopol'zovaniya. – Moskva, 2011. – URL: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293793/4293793107.htm>.
27. Kal'ko, G.V. Soderzhanie tyazhelyh metallov i sery v hvoe eli evropejskoj v zone vybrosov metallurgicheskogo predpriyatiya v Leningradskoj oblasti / G.V. Kal'ko, A.E. Andreev // Sovremennaya biologiya i biotekhnologiya: problemy, tendencii, perspektivy : sb. dokl. i tez. Vseros. nauch.-prakt. konf. (Volgograd, 23–25 noyab. 2021 g.). – Volgograd : izd-vo VolGU, 2022. – S. 158–161.
28. Neverova, O.A. Opyt ispol'zovaniya bioindikatorov v ocenke zagryazneniya okruzhayushchej sredy / O.A. Neverova, N.I. Ereemeeva // Ekologiya. Seriya analiticheskikh obzorov mirovoj literatury. – 2006. – № 80. – S. 1–88.
29. Total and bioavailable metals in two contrasting mining regions (Sudbury in Canada and Lubumbashi in DR-Congo): relation to genetic variation in plant populations / R. Narendrula, K.K. Nkongolo, P. Beckett, G. Spiers // Chemistry and Ecology. – 2013. – Vol. 29(2). – P. 111–127.
30. Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a random amplified polymorphic DNA analysis / A. Mengoni, C. Gonnelli, F. Galardi, R. Gabbrielli, M. Bazzicalupo // Molecular ecology. – 2000. – Vol. 9(9). – P. 1319–1324.
31. The effects of heavy metal pollution on genetic diversity in zinc/cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii* populations / J. Deng, B. Liao, M. Ye, D. Deng, C. Lan, W. Shu // Plant Soil. – 2007. – Vol. 297(1–2). – P. 83–92. – DOI: 10.1007/s11104-007-9322-5.
32. Słomka, A. Increased genetic diversity of *Viola tricolor* L. (Violaceae) in metal-polluted environments / A. Słomka, A. Sutkowska, M. Szczepaniak, P. Malec, J. Mitka, E. Kuta // Chemosphere. – 2011. – Vol. 83(4). – P. 435–442.