

УДК 634.946:581.4:575.5

## АНАЛИЗ СОПРЯЖЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ОКРАСКИ СЕМЯН И АЛЛОЗИМНОГО ПОЛИМОРФИЗМА РАСТЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА ЮГО-ВОСТОКЕ УКРАИНЫ

И.И. КОРШИКОВ, Т.И. ВЕЛИКОРИДЬКО, С.Н. ТУНДА

Донецкий ботанический сад НАН Украины  
Украина, 83059, Донецк, пр. Ильича, 110  
e-mail: herb@herb.dn.ua

Изучена аллозимная изменчивость по 21 локусу пяти групп деревьев с черной, коричневой, желтой, пестрой и беж окраской семян, выделенных из природных популяций *Pinus sylvestris* L. на юго-востоке Украины. Показано, что эти группы мало отличаются по уровням гетерозиготности ( $H_O = 21,2 - 23,3 \%$ ,  $H_E = 22,3 - 24,9 \%$ ), но характеризуются высокой степенью генетической дифференциации ( $D_N = 0,007 - 0,015$ ,  $D_{N\text{ср.}} = 0,011$ ).

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., окраска семян, аллозимная изменчивость, популяция, юго-восток Украины.

**В**ведение. Окраска семян у растений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) постоянно одинакова из года в год и не меняется с возрастом дерева. Этому дискретному феномаркеру придается диагностическое [1, 2] и генэкологическое значение [3, 4]. По данным Н.П. Кобранова семенная кожура содержит эллипсоидальные тельца пропитанные пигментофором, что определяет цвет семян и наличие рисунка [цит. по 1, стр. 71]. Д.И. Литвиновым в 1909 г. выделено цветосеменные формы *P. sylvestris* с черными семенами (var. *melanosperma* Litv.), с желтыми (var. *leucosperma* Litv.), с пестрыми или пятнистыми (var. *baliosperma* Litv.) и с коричневыми (var. *phoeosperma* Litv.); позже добавили еще одну форму с семенами цвета беж (f. *cinnamomeosperma* Mihl) [цит. по 1, стр. 13]. Деревья с такой окраской семян встречаются в популяциях по всему ареалу *P. sylvestris*, однако в северных его частях преобладают растения (>50%) с черным цветом семян [1, 4].

Индивидуальность окраски семян и ее стабильность в ходе онтогенеза растения – свидетельство генетической детерминированности этого признака. Несмотря на многолетние исследования изменчивости окраски семян у *P. sylvestris*, совсем не ясно, является ли разный тип окраски адаптивно значимым или селективно нейтральным, т.е не дает его носителю никаких адаптивных преимуществ. Это можно выяснить, изучая сопряженность изменчивости окраски семян с индивидуальной гетерозиготностью материнских растений в популяции *P. sylvestris*. В последние десятилетия в определении сопряженной изменчивости полигенных и моногенных признаков у хвойных в качестве генетических маркеров применяют ферменты. По мнению Ю.П. Алту-

хова [5], если аллозимные локусы в какой-то мере вовлечены в процесс адаптации, то уровни индивидуальной гетерозиготности должны быть распределены неслучайно вдоль кривой изменчивости функционально значимых количественных признаков.

Цель работы – анализ сопряженной внутривидовой изменчивости растений по признаку окраски семян и их гетерозиготностью в природных популяциях *P. sylvestris* на юго-востоке Украины.

### **Материалы и методы**

Изменчивость окраски семян изучали у 64 деревьев 80–100-летнего возраста в природных популяциях *P. sylvestris* Кременского лесничества Луганской области. Согласно классификации Л.Ф. Правдина [1] выделили деревья с такой окраской семян: черная, коричневая, желтая пестрая и беж. В исследованиях использовали семена полученные с не менее чем 10 шишек каждого дерева.

Интегральную оценку генотипа растения проводили по совокупности молекулярно-генетических маркеров, в качестве которых использовали изоферменты 9 ферментных систем: алкогольдегидрогеназу (ADH), глутаматоксалоацетаттрансаминазу (GOT), глутаматдегидрогеназу (GDH), диафору (DIA), кислую фосфатазу (ACP), лейцинаминопептидазу (LAP), малатдегидрогеназу (MDH), супероксиддисмутазу (SOD) и малик-энзим (ME). Белки, экстрагируемые трис-глициновым буфером из гаплоидных мегагаметофитов семян, электрофоретически разделяли в вертикальных пластинках 7,5 %-ного полиакриламидного геля. В электрофоретическом анализе использовали 8 и более семян одного растения. Условия экстракции, разделения изоферментов, гистохимическо-

го окрашивания на гелиевых пластинках, их номенклатура более детально описана в ранее опубликованной нашей работе [6] Растения с одинаковой окраской семян объединяли в выборки и для каждой из них рассчитывали частоты аллелей 21 идентифицированных локусов. Для выяснения генетических характеристик выборок деревьев с разной окраской семян использовали традиционные популяционно-генетические показатели [5]. Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы BIOSYS-1 [7].

### **Результаты и обсуждение**

На южной границе природного ареала *P. sylvestris* доля деревьев с черной окраской семян составила 17,2 %, что не менее чем в три раза меньше нежели в северных популяциях этого вида [1,4]. На юге природного ареала относительное количество деревьев с коричневой окраской семян была 40,6 %, значительно меньше с желтой – 15,6 %, пестрой – 14,1 % и беж – 12,5 %. В целом на юго-востоке Украины доминируют деревья с темноокрашенными семенами (черные и коричневые), общая доля которых равнялась 57,8 %. В.Л. Черепнин [3] проведя анализ 2000 образцов семян, полученных из разных лесорастительных зон на территории СССР, отметил, что доля светлых семян, как правило, возрастает в сухих местообитаниях *P. sylvestris*, а на увлажненных территориях чаще встречаются темноокрашенные семена. В обзоре литературы его монографии [3] проведен анализ противоречивых сведений ряда исследований о зависимости качества семян от их окраски и получаемого из них посадочного материала.

Анализ аллозимной изменчивости показал, что доля полиморфных локусов и среднее число аллелей на локус в пяти группах деревьев изменялись в преде-

**Таблица 1.** Значения основных показателей генетического полиморфизма в пяти выборках деревьев, различающихся по окраске семян в популяциях *Pinus sylvestris* L. юго-востока Украины

Окраска семян	Доля полиморфных локусов, P <sub>gg</sub>	Среднее число аллелей на локус	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта, F
			ожидаемая, H <sub>E</sub>	наблюдаемая, H <sub>O</sub>	
	0,714	1,952	0,236±0,026	0,233±0,024	0,013
Беж	0,667	2,000	0,233±0,029	0,220±0,027	0,056
Коричневые	0,810	2,333	0,249±0,017	0,220±0,016	0,116
Черные	0,619	2,000	0,227±0,024	0,212±0,023	0,066
Пестрые	0,667	1,810	0,223±0,026	0,228±0,025	-0,022
Среднее	0,810	2,667	0,243±0,010	0,222±0,010	0,086

**Таблица 2.** Значение коэффициента F-статистики Райта и G-статистики Нея для пяти групп деревьев *Pinus sylvestris* L., различающихся по окраске семян в природных популяциях юго-востока Украины

Локус	F <sub>IS</sub>	F <sub>ST</sub>	G <sub>ST</sub>
Gdh	0,062	0,014	0,014
Got-1	-0,013	0,011	0,011
Got-2	-0,092	0,022	0,024
Got-3	-0,085	0,018	0,018
Mdh-2	-0,033	0,030	0,029
Mdh-3	-0,150	0,035	0,044
Mdh-4	0,005	0,030	0,016
Dia-1	-0,046	0,035	0,025
Dia-2	0,239	0,030	0,038
Dia-4	-0,063	0,015	0,013
Sod-1	0	0,000	0,000
Sod-2	0	0,000	0,000
Sod-3	0	0,000	0,000
Sod-4	-0,027	0,060	0,016
Acp	-0,072	0,021	0,019
Adh-1	-0,115	0,032	0,031
Adh-2	-0,060	0,036	0,038
Lap-1	0,372	0,025	0,016
Lap-2	0,443	0,023	0,027
Me-2	-0,053	0,046	0,046
Me-3	0,575	0,016	0,016
Среднее	0,042	0,024	0,023

лах 61,9–81,0 % и 1,81–2,33 % соответственно (табл.1). Однако значения этих основных показателей во многом определяются объемом выборок. Уровни наблюдаемой гетерозиготности (H<sub>O</sub>), менее зависимые от количества растений в выборке, у изучаемых групп были очень близкими: 21,2–23,3 %. Это же можно

сказать и об ожидаемой гетерозиготности (H<sub>E</sub>): 22,3–24,9 %.

Для всех групп деревьев, кроме одной – с пестрой окраской семян, был характерен некоторый недостаток гетерозигот. Из этого анализа очевидно, что функционально незначимый признак – окраска

**Таблица 3.** Коэффициенты генетической дистанция Нея для пяти групп деревьев, различающихся по окраске семян в популяциях *Pinus sylvestris* L. юго-востока Украины

Окраска семян	Желтые	Беж	Коричневые	Черные	Пестрые
Желтые	0,000	0,015	0,010	0,015	0,010
Беж	–	0,000	0,011	0,011	0,015
Коричневые	–	–	0,000	0,007	0,008
Черные	–	–	–	0,000	0,011
Пестрые	–	–	–	–	0,000

семян для *P. sylvestris* не определяется адаптивной природой полиморфизма белков, так как в распределении этого признака у пяти групп деревьев не выявлено ни гетеротипической селекции, ни аддитивного эффекта генов. По всей видимости в отношении окраски семян имеет место проявление естественной стабилизирующей селекции или балансирующего отбора [5]. Ранее нами не было выявлено существенных отличий в средней гетерозиготности выборок деревьев с темными и светлыми семенами из природных популяций сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) Крыма и искусственных насаждений г. Мариуполя [8].

При сравнительной оценке частот аллелей и генотипов пяти исследуемых групп деревьев с использованием  $\chi^2$ -теста не выявлено ни одного случая существенной гетерогенности.

Для изучаемой объединенной выборки в 64 дерева отмечен 4,2 % недостаток гетерозигот (табл.2). На межвыборочную изменчивость деревьев по окраске семян приходится лишь 2,4 %, согласно средним значениям коэффициентов FST и GST, т.е. 97,6 % изменчивости находится внутри анализируемых групп деревьев.

Коэффициенты генетической дистанции Нея ( $D_N$ ) [9], рассчитанные по частотам аллелей всех исследуемых локу-

сов в пяти группах деревьев варьировали в пределах 0,007–0,015 (табл. 3), составив в среднем 0,011. Это достаточно высокий уровень, в ряде случаев соответствующий дифференциации популяций в отдельных зонах Украины. Так, например, среднее значение ( $D_N$ ) для 15 популяций *P. sylvestris* по направлению от Львовской до Луганской областей составило 0,016 [6]. У групп деревьев с черной и коричневой окраской семян отмечено наименьшее значение  $D_N$ , а наибольшее – желтой – беж, желтой – черной и беж – пестрой. С. Соколовский (1931) допускает, что изначально в популяциях *P. sylvestris* существовало две разновидности деревьев со светло- и темноокрашенными семенами, которые в результате скрещивания дали другие типы окраски [цит. по 1, с.73].

### Выводы

При наличии широкой внутрипопуляционной амплитуды разнообразия деревьев *P. sylvestris* по окраске семян генетическая изменчивость, прежде всего, уровни гетерозиготности материнских растений существенно не отличаются. Это указывает на то, что окраска семян – не функционально значимый признак, не вовлеченный в процесс адаптации популяций. Существенная внутрипопуляционная генетическая дифференциация деревьев

с разной окраской семян позволяет рекомендовать этот простой фенотипический маркер для анализа структуры популяций *P. sylvestris* в разных частях ареала этого вида.

### Список литературы

1. Правдин Л.Ф. Сосна обыкновенная. Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция. – М.: Наука, 1964. – 192 с.
2. Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений (на примере семейства *Pinaceae* на Урале). – М.: Наука, 1973. – 284 с.
3. Черепнин В.Л. Изменчивость семян сосны обыкновенной. – Новосибирск: Наука, 1980. – 182 с.
4. Видякин А.И. Методические аспекты выделения фенотипов растений на примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) Ученые записки НТГСПА. Материалы VI всероссийского популяционного семинара. 2–6 декабря 2002г., г.Нижний Тагил, 2004. – 203 с.
5. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. 3-е изд. – М.: ИКЦ “Академкнига”, 2003. – 431 с.
6. 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. – Т. 41, № 2. – С. 216 – 228.
7. Swofford D.L., Selander R.B. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // J. Hered. – 1981. – Vol. 72, № 4. – P. 281 – 283.
8. Коршиков И.И., Бычков С.А. Окраска крылаток семян *Pinus pallasiana* (*Pinaceae*) как генетически предопределенный признак // Ботан. журн. – 2002. – Т. 87, № 3. – С. 99–106.
9. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. – 1972. – Vol. 106. – P. 283.

Представлена О.В. Дубровной  
Поступила 7.04.2009

АНАЛІЗ СПОЛУЧЕНОЇ МІНЛИВОСТІ  
ЗАБАРВЛЕННЯ НАСІННЯ І АЛОЗИМНОГО  
ПОЛІМОРФІЗМУ РОСЛИН В ПОПУЛЯЦІЯХ  
СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ НА ПІВДЕННОМУ СХОДІ  
УКРАЇНИ

І. І. Коршиков, Т. І. Великоридько, С. М. Тунда

Донецький ботанічний сад НАН України  
Україна, 83059, м. Донецьк, пр. Ілліча, 110  
e-mail: herb@herb.dn.ua

Вивчено алозимну мінливість за 21 локусом п'яти груп дерев чорним, коричневим, жовтим, строкатим та беж забарвленням насіння, виділеного з природних популяцій *Pinus sylvestris* L. на південному сході України. Встановлено, що ці групи мало відрізняються за рівнем гетерозиготності ( $H_0 = 21,2 - 23,3 \%$ ,  $H_E = 22,3 - 24,9 \%$ ), але характеризуються високим ступенем генетичної диференціації ( $D_N = 0,007 - 0,015$ ,  $D_N \text{ ср} = 0,011$ ).

**Ключові слова:** *Pinus sylvestris* L., забарвлення насіння, алозимна мінливість, популяція, південний схід України.

THE ANALYSIS OF THE COVARIATION IN SEED  
COLORATION AND ALLOZYMOUS POLY-  
MORPHISM OF PLANTS IN POPULATIONS  
OF SCOTS PINE FROM THE SOUTHEAST  
UKRAINE

I. I. Korshikov, T. I. Velikoridko, S. N. Tunda

Donetsk Botanical Garden, Natl. Acad. of Sci.  
of Ukraine  
Ukraine, 83059, Donetsk, av. Illich 110  
e-mail: herb@herb.dn.ua

Allozymous variability on 21 locus of five groups of trees with black, brown, yellow, motley and beige coloration of the seeds allocated from natural populations *Pinus sylvestris* L. in the southeast of Ukraine has been studied. It is shown, that these groups differ on heterozygosity levels ( $H_0 = 21,2-23,3 \%$ ,  $H_E = 22,3-24,9 \%$ ) a little, but are characterized by high degree of genetic differentiation ( $D_N = 0,007-0,015$ ,  $D_N \text{ mean} = 0,011$ ).

**Keywords:** *Pinus sylvestris* L., coloration of seeds, allozymous variability, population, the southeast of Ukraine