

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ КРЫМСКОЙ (PINUS PALLASIANA D. DON) С СУЩЕСТВЕННЫМИ ОТЛИЧИЯМИ В СЕМЕННОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ В НАСАЖДЕНИЯХ КРИВОРОЖЬЯ

Изучены генетические особенности деревьев с максимальной и минимальной продуктивностью полных или пустых семян, выделенных в 4 насаждениях Pinus pallasiana D. Don в Криворожье. Установлено, что объединенные группы деревьев из всех насаждений со значимыми отличиями в продуктивности семян разных категорий существенно не отличаются по уровню гетерозиготности и от ее средней величины по насаждениям, установленной на основе электрофоретического анализа изменчивости изозимов 9 ферментов. У альтернативных по семенной продуктивности групп растений выявлены значительные отличия в гетерозиготности по отдельным из 18 полиморфных аллозимных локусов.

Как показывает мировая практика, массовое внедрение перспективного интродуцента в лесокультурное производство возможно при наличии надежной региональной семенной базы. Ее можно предварительно сформировать, выделяя семенные участки в наиболее жизнестойких продуктивных интродукционных лесонасаждениях. На следующем этапе необходимо создавать семенные плантации, преимущественно клоновые, из лучших фенотипов, отобранных в существующих насаждениях. При отборе таких растений следует выяснить их реальную семенную продуктивность. Это особенно необходимо для хвойных, урожай шишек которых нередко содержит значительное количество пустых семян.

Не менее важны в селекционном семеноводстве данные о генетических особенностях растений, отбираемых для создания лесосеменной плантации [5]. Как показано на примере природных популяций некоторых видов хвойных, в шишках высоко- и низкогетерозиготных растений нередко образуется большое количество неполноценных семян [1].

Среди перспективных видов древесных растений для массового размножения в степной зоне Украины выделяют Pinus pallasiana D. Don, небольшая клоновая семенная плантация которой создана лишь в Горном Крыму. Эта сосна отличается высокой устойчивостью при выращивании в промышленно развитых регионах степной зоны и способна к самовозобновлению на железорудных отвалах Криворожья [2, 4]. P. pallasiana формирует полноценный урожай шишек в различных техногенных экотопах, даже в зонах острого воздействия эмиссий крупных промышленных производств. Как в природных популяциях, так и в насаждениях интродукционного ареала, независимо от жесткости экологических условий, P. pallasiana отличается высокой индивидуальной изменчивостью по показателям семеношения [4].

Цель работы — выделить в насаждениях P. pallasiana в Криворожье деревья с максимальной и минимальной продуктивностью полных семян и выяснить их генетические отличия между собой и от растений с повышенной пустосемянностью.

Объектами исследований служили четыре насаждения P. pallasiana в г. Кривой

Рог: в рекреационной зоне города — в Романовском урочище, на Первомайском железорудном отвале, в зонах интенсивного действия выбросов Криворожского металлургического комбината и Северного горнообогатительного комбината. У типичных для этих насаждений 25 предварительно промаркированных растений в течение трех лет подряд определяли количество полных и пустых семян в шишках. У каждого растения ежегодно анализировали по этим показателям не менее 10 шишек.

Для определения генотипа 100 растений четырех насаждений использовали в качестве молекулярно-генетических маркеров изоферменты девяти ферментных систем: алкогольдегидрогеназу (ADH), глутаматдегидрогеназу (GDH), глутаматоксалоацетаттрансаминазу (GOT), диафоруазу (DIA), кислую фосфатазу (ACP), лейцинаминопептидазу (LAP), малатдегидрогеназу (MDH), супероксиддегидрогеназу (SOD) и форматдегидрогеназу (FDH). Белки, экстрагируемые из эндоспермов не менее чем 8 семян каждого растения, электрофоретически разделяли в вертикальных пластинках 7,5%-ного полиакриламидного геля. Условия экстракции, электрофоретического

разделения, гистохимического окрашивания изоформ на гелевых пластинках, номенклатуры локусов и аллелей подробно нами описаны ранее [3, 4]. В результате электрофоретического анализа были рассчитаны частоты аллелей по 22 изоферментным локусам и значения основных показателей генетического полиморфизма для выборок из 25 деревьев в каждом из четырех насаждений, а также для выделенных из этих выборок и объединенных в общие группы растений, существенно различающихся по продуктивности полных или пустых семян.

В каждом насаждении у растений ежегодно отмечали заметные индивидуальные различия в продуктивности полных и пустых семян. Эти межиндивидуальные отличия внутри насаждений, как правило, сохранялись в разные годы наблюдений. В результате этого в каждом насаждении удалось выделить несколько растений (до пяти) с высокой и низкой продуктивностью полных или пустых семян (табл. 1). По результатам трехлетних наблюдений наибольшее среднее количество полных семян отмечено в шишках выделенной группы растений рекреаци-

Таблица 1. Группы растений *Pinus pallasiana* с большим и малым количеством полных и пустых семян в шишках, выделенные из четырех насаждений Криворожья

Выборка деревьев	Категория семян	Романовское урочище		Металлургический комбинат		Горнообогатительный комбинат		Железорудный отвал	
		полные	пустые	полные	пустые	полные	пустые	полные	пустые
С высоким содержанием семян в шишке	Полные	$58,1 \pm 2,9$ 17,5	$4,2 \pm 0,8$ 51,4	$31,6 \pm 1,5$ 18,4	$13,3 \pm 1,9$ 56,8	$29,7 \pm 1,4$ 17,6	$16,6 \pm 2,7$ 62,9	$57,3 \pm 1,9$ 7,4	$5,2 \pm 1,6$ 67,0
	Пустые	$46,4 \pm 2,3$ 19,3	$13,5 \pm 2,1$ 57,5	$22,6 \pm 2,3$ 43,7	$29,1 \pm 2,3$ 33,4	$23,3 \pm 3,2$ 53,9	$24,0 \pm 2,5$ 40,7	$38,2 \pm 2,3$ 13,3	$12,3 \pm 0,8$ 14,0
С низким содержанием семян в шишке	Полные	$34,6 \pm 2,7$ 23,6	$11,3 \pm 3,8$ 102,5	$25,1 \pm 2,8$ 39,2	$26,9 \pm 3,5$ 45,0	$20,1 \pm 3,5$ 60,7	$17,9 \pm 3,5$ 67,6	$46,3 \pm 2,9$ 14,4	$10,9 \pm 5,8$ 118,9
	Пустые	$48,5 \pm 3,6$ 33,8	$4,9 \pm 0,4$ 37,1	$23,9 \pm 1,5$ 11,7	$17,0 \pm 2,8$ 69,7	$26,4 \pm 3,4$ 45,0	$10,9 \pm 1,5$ 49,0	$48,1 \pm 2,9$ 13,8	$3,9 \pm 2,1$ 118,7

Примечание: В числителе данные приведены в виде ($M \pm m$), в знаменателе — CV, %.

онного насаждения — 58,1 шт. и группы из насаждения на железорудном отвале — 57,3 шт. В группах растений из насаждений, подвергающихся воздействию эмиссий горнообогатительного или металлургического комбинатов, количество полных семян было заметно меньше — 29,7–31,6 шт., или 51,1–54,4 % от их числа в шишках растений Романовского урочища. Характерной особенностью всех четырех вариантов групп растений из насаждений, расположенных в зонах воздействия промышленных выбросов, было существенно большее количество в их шишках пустых семян и меньшее — полных семян, чем у растений Романовского урочища и железорудного отвала. Вариабельность (CV, %) показателя пустосемянности была чаще выше, чем изменчивость количества полных семян в шишках растений. Таким образом, эмиссии металлургических производств Криворожья негативно влияют на репродуктивный процесс *P. pallasiana*, вызывая снижение продуктивности полных семян и заметное увеличение количества пустых семян в шишках растений. При формировании региональной семенной базы *P. pallasiana* для последующего массового озеленения промышленного Криворожья необходимо использовать выделенные растения с высокой продуктивностью полных семян из всех четырех насаждений, включая растения из зон интенсивного действия аэротехногенных выбросов. Именно эти растения следует отнести к наиболее адаптированным к условиям техногенно загрязненной среды Криворожья.

Деревья с высокой и низкой продуктивностью полных или пустых семян из всех насаждений были объединены в четыре общие группы для анализа генетических отличий между ними. Достоверная гетерогенность аллельных частот с использованием χ^2 -теста для альтернативных выборок по одной или разным категориям семян выявлена лишь для одного локуса.

Генетическая дистанция (D_N) М. Неи [6], учитывающая отклонения в аллельных частотах по всем анализируемым локусам, у сравниваемых групп составляла 0,006–0,007. Это соответствует нижнему пределу межпопуляционных отличий *P. pallasiana* в Горном Крыму [4]. Все это свидетельствует о высокой однородности генетической структуры данных групп растений, несмотря на существенные отличия между ними в продуктивности полных и пустых семян.

Для каждой из четырех групп растений были рассчитаны средние и полокусные значения наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности и коэффициенты инбридинга особи относительно выборки (F_{IS}) (табл. 2). Средние значения наблюдаемой гетерозиготности во всех четырех выборках были достаточно близки, изменяясь в пределах 25,3–28,8 %. Это соответствует уровню гетерозиготности растений в природных популяциях *P. pallasiana* Горного Крыма [4]. Для трех анализируемых выборок характерным является некоторый избыток гетерозигот, наибольший (11,6%) — для выборки деревьев с высокой пустосемянностью. И наоборот, в выборке деревьев с низким количеством пустых семян в шишках выявлен дефицит гетерозигот 5,3%. Эти данные косвенно подтверждают предположение Ю.П. Алтухова [1] о том, что избыточная пустосемянность является результатом «платы» за высокую гетерозиготность материнских растений, которая поддерживается системой сбалансированной летальности и отсекается балансирующим отбором у их семенного потомства на самых ранних стадиях онтогенеза.

Из 18 полиморфных локусов высоким уровнем изменчивости характеризовались 6 (Got-2, Mdh-3, Dia-1, Dia-2, Asp, Me-3) во всех четырех группах растений, в которых доля гетерозигот варьировала от 38,1 до 71,4%. Очевидного преимущества гомо- или гетерозигот по всем 6 локу-

Таблица 2. Значения наблюдаемой (H_O), ожидаемой (H_E) гетерозиготности и коэффициента инбридинга (F_{IS}) в объединенных группах деревьев с высокой и низкой продуктивностью полных и пустых семян, выделенных из четырех насаждений *Pinus pallasiana* в Криворожье

Лocus	Показатель	Категория семян и их содержание в шишке			
		полные		пустые	
		высокое	низкое	высокое	низкое
		N=21	N=16	N=21	N=20
Gdh	H_O	0,238	0,250	0,333	0,300
	H_E	0,210	0,219	0,278	0,261
	F_{IS}	-0,133	-0,141	-0,198	-0,149
Got-2	H_O	0,667	0,500	0,429	0,400
	H_E	0,490	0,492	0,495	0,420
	F_{IS}	-0,361	-0,016	0,133	0,048
Got-3	H_O	0,619	0,250	0,429	0,350
	H_E	0,428	0,219	0,336	0,289
	F_{IS}	-0,446	-0,142	-0,277	-0,211
Sod-4	H_O	0,143	0,188	0,381	0,150
	H_E	0,136	0,170	0,308	0,139
	F_{IS}	-0,051	-0,106	-0,237	-0,073
Mdh-2	H_O	0,286	0,125	0,095	0,250
	H_E	0,245	0,118	0,091	0,219
	F_{IS}	-0,167	-0,059	-0,044	-0,142
Mdh-3	H_O	0,524	0,625	0,714	0,600
	H_E	0,459	0,430	0,500	0,471
	F_{IS}	-0,142	-0,453	-0,428	-0,274
Mdh-4	H_O	0,190	0,250	0,143	0,250
	H_E	0,390	0,531	0,413	0,591
	F_{IS}	0,513	0,529	0,654	0,577
Dia-1	H_O	0,571	0,563	0,619	0,500
	H_E	0,444	0,451	0,516	0,545
	F_{IS}	-0,286	-0,248	-0,200	-0,101

сам при попарном сравнении групп деревьев с высокой или низкой продуктивностью полных или пустых семян не выявлено. Средним уровнем изменчивости, а в отдельных группах — и высоким, ISSN 1605-6574. Интродукция растений, 2011, № 1

Окончание табл. 2.

Dia-2	H_O	0,476	0,500	0,429	0,400
	H_E	0,445	0,398	0,359	0,335
	F_{IS}	-0,070	-0,256	-0,195	-0,194
Dia-4	H_O	0,238	0,375	0,476	0,200
	H_E	0,336	0,398	0,373	0,335
	F_{IS}	0,292	0,058	0,276	0,403
Acp	H_O	0,381	0,500	0,429	0,700
	H_E	0,391	0,408	0,359	0,534
	F_{IS}	0,026	-0,225	-0,195	-0,307
Lap-1	H_O	0,095	0,125	0,095	0,100
	H_E	0,093	0,219	0,093	0,266
	F_{IS}	-0,022	0,429	-0,022	0,624
Lap-2	H_O	0,000	0,125	0,048	0,150
	H_E	0,000	0,118	0,047	0,141
	F_{IS}	0,000	-0,059	-0,021	-0,064
Me-2	H_O	0,095	0,000	0,048	0,250
	H_E	0,091	0,000	0,047	0,219
	F_{IS}	-0,044	0,000	-0,021	-0,142
Me-3	H_O	0,524	0,625	0,714	0,500
	H_E	0,482	0,469	0,495	0,495
	F_{IS}	-0,087	-0,333	-0,442	-0,010
Fdh	H_O	0,048	0,188	0,238	0,200
	H_E	0,047	0,271	0,216	0,184
	F_{IS}	-0,021	0,306	-0,102	-0,087
Adh-1	H_O	0,286	0,313	0,476	0,350
	H_E	0,357	0,404	0,421	0,411
	F_{IS}	0,199	0,225	-0,131	0,148
Adh-2	H_O	0,190	0,188	0,238	0,200
	H_E	0,386	0,342	0,336	0,335
	F_{IS}	0,508	0,450	0,292	0,403
В среднем по 22 локусам	H_O	0,253	0,259	0,288	0,266
	H_E	0,247	0,257	0,258	0,281
	F_{IS}	-0,024	-0,002	-0,116	0,053

отличались еще 5 локусов: Gdh, Got-3, Dia-4, Adh-1 и Adh-2, наблюдаемая гетерозиготность по которым составляла 18,8–61,9%. Сравнение альтернативных групп растений по продуктивности полных семян

выявило, что наиболее существенные отличия в значениях H_O и H_E свойственны локусам *Got-3*, *Mdh-2*, *Lap-2*, *Me-2* и *Fdh*. Так, у группы деревьев с высокой продуктивностью полных семян значения H_O и H_E по локусу *Got-3* были в 2,0–2,5 раза выше, а по локусу *Fdh* — в 3,9–5,8 раза ниже, чем у группы деревьев с низкой продуктивностью этих семян. По уровню гетерозиготности деревья с высокой и низкой пустосемянностью наиболее различались по локусам *Sod-4*, *Mdh-2*, *Lap-2*, *Me-2*. За исключением локуса *Got-3*, все остальные локусы с наиболее значительными отличиями в гетерозиготности у обеих альтернативных групп относились к числу низкоизменчивых. Обращает внимание, что локусы *Mdh-2*, *Lap-2* и *Me-2* были общими для обеих альтернативных групп растений по продуктивности полных или пустых семян. Эти локусы также не отличались высокой изменчивостью во всех четырех группах растений. Только по локусу *Mdh-2* обнаружен средний уровень изменчивости в двух группах с высоким количеством полных и низким — пустых семян ($H_O = 25,0-28,6\%$, $H_E = 21,9-24,5\%$), близкие показатели гетерозиготности выявлены для локуса *Me-2* ($H_O = 25,0\%$ и $H_E = 21,9\%$) в группе деревьев с низкой пустосемянностью.

По 11 локусам во всех четырех выборках отмечен избыток гетерозигот, о чем свидетельствуют отрицательные значения коэффициента инбридинга F_{IS} . Только по трем локусам — *Mdh-4*, *Dia-4* и *Adh-2* — значения этого коэффициента были положительными во всех анализируемых выборках. Отличительная особенность локуса *Lap-1* — явный недостаток гетерозигот в выборках деревьев с низким количеством полных или пустых семян.

Таким образом, выборки растений *P. pallasiana* с высокой и низкой продуктивностью полных или пустых семян, имея близкий средний уровень наблюдаемой гетерозиготности, разнятся по ее уровню в

отдельных локусах. По всей видимости, локусы с существенными отклонениями в гетерозиготности в альтернативных выборках растений по семенной продуктивности сцеплены с генами, которые определяют функционально важный уровень изменчивости генома, обеспечивающий разные индивидуальные итоги половой репродукции. При отборе деревьев *P. pallasiana* в интродукционных насаждениях для формирования лесосеменных участков и плантаций предпочтение следует отдавать среднегетерозиготным особям с низким уровнем пустосемянности. При создании клоновых лесосеменных плантаций должно быть задействовано не менее 25 лучших или плюсовых деревьев с вышеприведенными характеристиками. Это обеспечит поддержание уровня генетической изменчивости, свойственного природным популяциям, и снижение вероятности наличия рецессивных эмбриональных леталей в семенном потомстве.

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. — 3-е изд. — М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. — 431 с.

2. Коршиков И.И., Красноштан О.В., Терлыга Н.С., Мазур А.Е. Естественное возобновление сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) на железорудном отвале Криворожья // Интродукция растений. — 2005. — № 4. — С. 46–51.

3. Коршиков И.И., Терлыга Н.С. Генетическая изменчивость сосны крымской в природных популяциях Крыма и искусственных насаждениях Кривбасса // Цитология и генетика. — 2000. — 34, № 6. — С. 21–29.

4. Коршиков И.И., Терлыга Н.С., Бычков С.А. Популяционно-генетические проблемы дендротехнологической интродукции (на примере сосны крымской). — Донецк: Лебедь, 2002. — 328 с.

5. Тараканов В.В., Демиденко В.П., Ишутин Я.Н., Бушков Н.Т. Селекционное семеноводство сосны обыкновенной в Сибири. — Новосибирск: Наука, 2001. — 230 с.

6. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. — 1972. — 106. — P. 283–292.

Рекомендовал к печати
Б.А. Левенко

I.I. Коршиков¹, А.Ю. Мазур², Н.С. Терлига²,
О.В. Красноштан²

¹ Донецький ботанічний сад НАН України,
Україна, м. Донецьк

² Криворізький ботанічний сад НАН України,
Україна, м. Кривий Ріг

ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДЕРЕВ СОСНИ
КРИМСЬКОЇ (*PINUS PALLASIANA* D. DON)
ЗІ ЗНАЧНИМИ ВІДМІННОСТЯМИ У НАСІННЄВІЙ
ПРОДУКТИВНОСТІ У НАСАДЖЕННЯХ
КРИВОРІЖЖЯ

Вивчено генетичні особливості дерев з максимальною та мінімальною продуктивністю повного або порожнього насіння, виділених у 4 насадженнях *Pinus pallasiana* D. Don у Криворіжжі. Встановлено, що об'єднані групи дерев з усіх насаджень із значними відмінностями у продуктивності насіння різних категорій суттєво не відрізняються за рівнем гетерозиготності і від її середньої величини по насадженнях, яку було встановлено за допомогою електрофоретичного аналізу мінливості ізозимів 9 ферментів. У альтернативних за насінневою продуктивністю груп рослин виявлено значні відмінності у гетерозиготності за окремими з 18 поліморфних алозимних локусів.

I.I. Korshikov¹, A.Yu. Mazur², N.S. Terlyga²,
O.V. Krasnoshtan²

¹ Donetsk Botanical Gardens, National Academy of
Sciences of Ukraine, Ukraine, Donetsk

² Krivoy Rog Botanical Gardens, National Academy
of Sciences of Ukraine, Ukraine, Krivoy Rog

GENETIC PECULIARITIES OF PINUS
PALLASIANA D. DON TREES WITH SIGNIFICANT
DIFFERENCES IN SEED PRODUCTIVITY
IN THE KRIVOY ROG REGION STANDS

Genetic peculiarities of trees with maximum and minimum productivity of full-grained or empty seeds were studied in four *Pinus pallasiana* D. Don stands of the Krivoy Rog region. It is shown that heterozygosity levels are not significantly different in four combined groups of trees from all stands, those groups being characterized by a considerable differences in seed productivity. Heterozygosity levels of these groups were also not significantly different from average heterozygosity of every stand, on the basis of electrophoretic analysis of variation of isozymes of 9 enzyme systems. Notable differences in heterozygosity levels were revealed in plant groups with alternative seed productivity at some of 18 polymorphic allozyme loci.