

И.И. Коршиков¹, Т.И. Великоридько¹, С.Н. Тунда¹, Е.А. Мудрик²

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕРЕВЬЕВ С ВЫСОКОЙ И НИЗКОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ НОРМАЛЬНЫХ И НЕПОЛНОЦЕННЫХ СЕМЯН В ИЗОЛИРОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ СОСНЫ МЕЛОВОЙ В ДОНБАССЕ

Pinus sylvestris var. *cretacea*, семенная продуктивность, гетерозиготность, межallelельные взаимосвязи

Введение

Многим видам хвойных свойственна высокая внутривидовая индивидуальная изменчивость семенной продуктивности, сохраняющаяся у растений в разные по урожайности годы [5, 6, 14]. При этом в древостоях встречаются постоянные “самоопылители” и “перекрестники” [18], а также растения со стабильно повышенной и пониженной продуктивностью полных (нормальных) и неполноценных (пустых и недоразвитых) семян [14]. Пустые семена могут составлять существенную часть урожая хвойных [14].

Семенная продуктивность растений, как показано у наиболее изученной с позиций репродуктивной биологии сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), во многом зависит от природно-климатических и внутривидовых условий, которые заметно влияют на пыльцевой режим и соответственно на опыленность семян растений. Однако даже в наиболее благоприятные годы у отдельных растений в древостоях *P. sylvestris* в избытке образуются пустые и недоразвитые семена [14, 16]. Нормальные по размерам пустые семена формируются из погибших на втором году развития оплодотворенных семян, а недоразвитые, отделяющиеся от чешуй склерифицированные семена с крылатками, – после гибели на первом году развития опыленных семян, не сформировавших архегонии [14]. Избыточное образование нежизнеспособных семян может вносить дисбаланс в естественный процесс поддержания генетической структуры популяции в ее новых поколениях [8].

Внутривидовые условия, влияющие как на уровень семенной продуктивности отдельных растений, так и на соотношение в их урожае и в целом в популяции количества нормальных и нежизнеспособных семян, определяются генетическими особенностями растений. Так, установлено, что в популяции ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) деревья с пониженной или повышенной гетерозиготностью, определенной по шести полиморфным аллельным локусам, характеризовались избыточным количеством в шишках нежизнеспособных семян, а оптимум полноценных семян был свойственен растениям с 2–3 гетерозиготными локусами [2]. Ранее нами было показано, что неперекрывающиеся выборки деревьев с высокой и низкой продуктивностью полных, пустых и недоразвитых семян из природных популяций сосны обыкновенной [9], сосны горной (*Pinus mugo* Turra) [11] и сосны крымской (*P. pallasiana* D. Don) [8] отличались по уровню гетерозиготности. Для сосны меловой (*Pinus sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex. Kom.) такие исследования не проводились, тогда как они представляют определенный интерес: в силу малочисленности и изолированности единственной в Украине популяции, находящейся на южной границе природного распространения *P. sylvestris*, влияние внутривидовых генетических факторов на формирование семян может проявляться с большей очевидностью.

Цель работы – выяснение генетических особенностей деревьев, характеризующихся ежегодно стабильными отличиями по продуктивности полных и нежизнеспособных семян в популяции сосны меловой.

Объекты и методика

Для исследований использовали семена из реликтовой популяции сосны меловой на севере Донецкой области. Популяция расположена на меловых обнажениях правого берега р. Северский Донец на заповедной территории Национального природного парка «Святые Горы». Семена собраны с 71 дерева возрастом более 100 лет в процессе самостоятельных экспедиций 1995–1997 гг.

Фактическую семенную продуктивность растений в расчете на одну шишку определяли по традиционной методике, выделяя три категории семян: полные, пустые и недоразвитые [16]. На основании трехлетних данных из общей выборки деревьев были выделены шесть неперекрывающихся групп растений, стабильно отличающихся более чем в 2 раза по продуктивности семян каждой из названных категорий (табл. 1).

Таблица 1. Среднее количество семян в одной шишке в выборках альтернативных по семенной продуктивности растений в популяции сосны меловой (по итогам трехлетних наблюдений)

Выборки растений по категориям семян	Количество семян в одной шишке, шт.					
	полных		пустых		недоразвитых	
	$\frac{M \pm m}{N^*}$	CV, %	$\frac{M \pm m}{N}$	CV, %	$\frac{M \pm m}{N}$	CV, %
Максимальное количество семян в шишке	$\frac{12,2 \pm 0,74}{15}$	23,6	$\frac{10,0 \pm 1,22}{11}$	40,3	$\frac{6,5 \pm 0,95}{7}$	38,5
Минимальное количество семян в шишке	$\frac{1,8 \pm 0,44}{10}$	77,1	$\frac{1,4 \pm 0,21}{10}$	46,81	$\frac{0,5 \pm 0,09}{14}$	71,0
Среднее для общей совокупности изучаемых растений (71 растение)	$7,1 \pm 0,62$	62,8	$5,0 \pm 0,55$	79,9	$1,8 \pm 0,31$	125,3

Примечания: N – количество изученных растений в выборках; $M \pm m$ – среднее арифметическое значение \pm ошибка средней; CV – коэффициент вариации, %

Для определения генетических особенностей выделенных групп растений применяли метод электрофоретического разделения изоферментов в вертикальных пластинках 7,5%-го полиакриламидного геля с рН разделяющего геля 8,9 в трис-глициновом электродном буфере с рН 8,3 [17]. Экстракты для анализа получали из гаплоидных тканей эндоспермов семян. В качестве молекулярно-генетических маркеров использовали изоферменты 9 ферментных систем: глутаматдегидрогеназы (*GDH*, К.Ф. 1.4.1.2), кислой фосфатазы (*ACP*, К.Ф. 3.1.3.2), глутаматоксалоацетаттрансаминазы (*GOT*, К.Ф. 2.6.1.1), супероксиддисмутазы (*SOD*, К.Ф. 1.15.1.1), малатдегидрогеназы (*MDH*, К.Ф. 1.1.1.37), диафоразы (*DIA*, К.Ф. 1.6.4.3), алкогольдегидрогеназы (*ADH*, К.Ф. 1.1.1.1), лейцинаминопептидазы (*LAP*, К.Ф. 3.4.11.1), формиатдегидрогеназы (*FDH*, К.Ф. 1.2.1.2). Генетический контроль этих ферментных систем у сосны меловой установлен нами ранее [12].

Генотип дерева определяли по сегрегации (расщеплению) аллелей в выборках не менее 8 гаплоидных эндоспермов. Параметры генетической изменчивости растений оценивали по традиционным в популяционной генетике показателям: среднему числу аллелей на локус (*A*), полиморфности (P_{99}), ожидаемой (H_E) и наблюдаемой (H_O) гетерозиготности, *F*-статистикам С. Райта [24] и *G*-статистикам Нея [20], генетической дистанции Нея [19]. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакетов компьютерных программ BIOSYS-1 [22], GenAlEx V.6 [21] и GenRes [4].

Результаты исследований и их обсуждение

В группе деревьев с минимальной продуктивностью семян всех трех категорий было ~ в 3–4 раза меньше семян в шишке, чем в среднем в общей совокупности изучаемых растений, а у деревьев с максимальным количеством полных, пустых и недоразвитых семян – больше в 17,1; 2,0 и 13,5 раз, соответственно (см. табл. 1). Погодичная вариабельность этих показателей, судя по значениям коэффициента вариации (*CV*), в целом была высокая.

В сравнительном анализе генетической изменчивости альтернативных по семенной продуктивности выборок растений сосны меловой (максимум – минимум семян каждой из категорий) были использованы частоты аллелей 20 аллозимных локусов, из которых 4 (*Sod-1*, *Sod-2*, *Sod-3*, *Sod-4*) оказались мономорфными. Из 16 полиморфных локусов во всех выборках деревьев

изменчивыми были 9, а локусы *Got-1*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *Dia-2*, *Dia-4*, *Adh-1*, *Lap-2* в отдельных выборках были мономорфными. У деревьев с максимальной продуктивностью полных семян изменчивость по 9 полиморфным локусам была, как правило, выше, чем у растений с минимальным количеством этих семян в шишке, – средняя наблюдаемая гетерозиготность варьировала от 20,0 до 66,7%. Количество аллелей 16 полиморфных локусов в объединенной выборке всех растений составило 47, а в альтернативных по семенной продуктивности, соответственно, следующим: максимум и минимум полных семян – 35 и 28; максимум и минимум пустых семян – 37 и 33; максимум и минимум недоразвитых семян – 27 и 34 аллеля. Частоты преобладающих аллелей, за исключением единичных случаев (*Mdh-4* и *Dia-1*), по всем локусам были $\geq 0,5$. В объединенной выборке всех растений с разной семенной продуктивностью зафиксировано 57 генотипов, наибольшее их количество – 40 было у деревьев с максимумом полных семян в шишке.

Аллельная гетерогенность в альтернативных по семенной продуктивности выборках растений отсутствует, а генотипическая – выявлена в единичных случаях. Не установлено значимых отклонений по частотам аллелей и генотипов между выборками деревьев с высоким количеством полных и пустых, а также полных и недоразвитых семян. В других вариантах сравнения выборок отмечены отдельные случаи существенной аллельной (два случая) и генотипической (один случай) гетерогенности. Это указывает на однородность генетической структуры деревьев, несмотря на значимые их отличия по показателям семенной продуктивности. При анализе фактического распределения генотипов внутри каждой из анализируемых выборок деревьев выявлено всего четыре достоверных случая отклонения от ожидаемого равновесия, согласно закону Харди–Вайнберга.

Выборки растений с разной семенной продуктивностью отличались по основным показателям генетического полиморфизма (табл. 2). Наименьшие значения доли полиморфных локусов и среднего числа аллелей на локус свойственны растениям, продуцирующим максимум недоразвитых семян. Также низкое число аллелей на локус выявлено у растений с минимумом полных семян в шишке. Наиболее высокий уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o) отмечен в трех выборках деревьев: с максимумом полных и минимумом пустых, а также недоразвитых семян.

Таблица 2. Значения основных показателей генетического полиморфизма в выборках деревьев с высокой и низкой продуктивностью полных, пустых и недоразвитых семян в шишке в популяции сосны меловой

Выборки растений по категориям семян: количество семян в шишке	Доля полиморфных локусов (P_{99})	Среднее число аллелей на локус	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта, F	Коэффициент инбридинга, F_{IS}
			ожидаемая, H_E	наблюдаемая, H_o		
полные семена						
максимум	0,700	2,050	0,225±0,021	0,233±0,020*	-0,036	0,013
минимум	0,650	1,750	0,219±0,026	0,170±0,023	0,224	0,134
пустые семена						
максимум	0,750	2,100	0,203±0,025	0,205±0,024	-0,010	0,013
минимум	0,750	1,900	0,232±0,027	0,215±0,024	0,073	0,073
недоразвитые семена						
максимум	0,600	1,750	0,149±0,026	0,129±0,026*	0,168	0,134
минимум	0,650	2,050	0,224±0,021	0,225±0,021	-0,004	0,015
в совокупной выборке из популяции						
	0,773	2,591	0,233±0,010	0,218±0,010	0,064	0,021

Примечание. * – достоверные отличия при $P < 0,05$ между альтернативными выборками.

У растений с максимумом полных семян уровень H_o был существенно выше, чем у деревьев с минимумом таких семян в шишке. Альтернативные выборки растений сосны меловой по продуктивности пустых семян не имели достоверных отличий по H_o . Напротив, выборки деревьев с минимумом и максимумом недоразвитых семян характеризовались существенными отличиями и в ожидаемой, и в наблюдаемой гетерозиготности. Согласно значениям показателя F_{IS} , для всех выборок деревьев свойственен недостаток гетерозигот, который был наибольшим у групп с минимумом полных и пустых и максимумом недоразвитых семян в шишке.

Последующий анализ был связан с анализом связи между индивидуальной гетерозиготностью растений и количеством семян в шишке. Наиболее высокая продуктивность полных семян свойственна деревьям, гетерозиготным по 3–6 локусам (рис. 1). Высокая пустосемянность была у растений, гетерозиготных по 5–6 локусам, а наибольшее количество недоразвитых семян выявлено у деревьев, гетерозиготных по одному локусу.

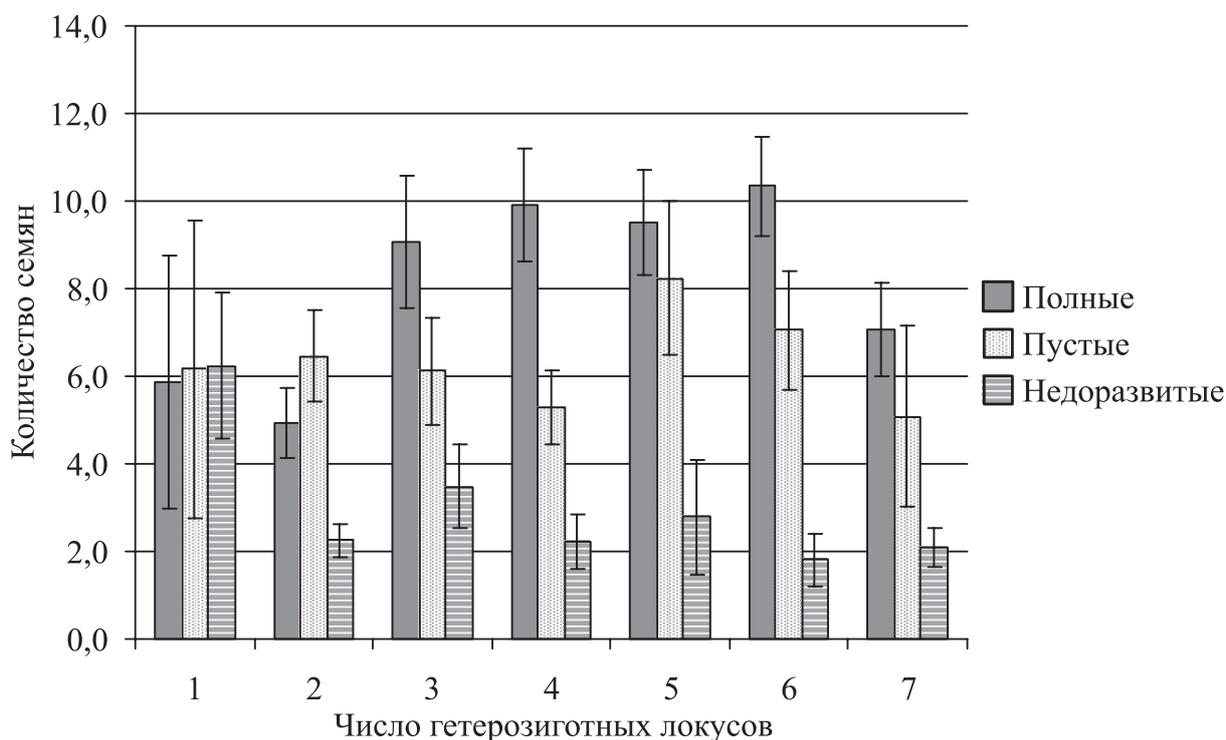


Рис. 1. Среднее количество полных, пустых и недоразвитых семян в шишке разных по числу гетерозиготных локусов деревьев в природной популяции сосны меловой

Выделенные нами шесть внутрипопуляционных групп деревьев сосны меловой, различающиеся по показателям семенной продуктивности, характеризовались генетической подразделенностью, свойственной популяциям *P. sylvestris* одного из лесорастительных районов Украины [10]. Согласно средним значениям F_{ST}/G_{ST} на межвыборочные отличия приходилось 1,7 % всей генетической изменчивости (табл. 3). Почти такой же уровень подразделенности установлен при сравнении выборок с максимумом и минимумом полных семян, несколько выше (1,9–2,2 %) – при сравнении альтернативных выборок по продуктивности пустых и наибольший (3,1–3,4 %) – недоразвитых семян. Вклад отдельных локусов в подразделенность всех альтернативных групп деревьев был разным. При анализе всех шести выборок наибольшим (~ 2 и более раза выше среднего) он отмечен по локусам *Dia-4*, *Dia-2*, *Gdh* и *Got-2*.

Внутрипопуляционная дифференциация выделенных групп растений сосны меловой с разной семенной продуктивностью достигала такого же уровня, как межпопуляционная ($D_N = 0,007–0,029$) для *P. sylvestris* в пределах ее ареала на территории Украины [10]. На дендрограмме, построенной на основании значений генетической дистанции Нея, не выявлено четкой кластеризации в зависимости от продуктивности у растений полноценных и неполноценных семян.

Таблица 3. Значения показателей дифференциации F_{ST}/G_{ST} между выборками деревьев с высокой и низкой продуктивностью полных, пустых и недоразвитых семян в шишке в популяции сосны меловой

Локусы	Выборки растений по категориям семян: количество семян в шишке												Общее по всем выборкам			
	полные максимум – минимум			пустые максимум – минимум			недоразвитые максимум – минимум			максимум полных – минимум пустых – минимум недоразвитых					максимум пустых – максимум недоразвитых – минимум полных	
	F_{ST}	G_{ST}	F_{ST}/G_{ST}	F_{ST}	G_{ST}	F_{ST}/G_{ST}	F_{ST}	G_{ST}	F_{ST}/G_{ST}	F_{ST}	G_{ST}	F_{ST}/G_{ST}	F_{ST}	G_{ST}	F_{ST}	G_{ST}
<i>Got-1</i>	0,031	0,031	0,027	0,027	0,027	0	0	0,038	0,038	0,033	0,033	0,033	0,033	0,033	0,000	0,000
<i>Got-2</i>	0,071	0,071	0	0	0	0	0	0,024	0,024	0,026	0,026	0,026	0,026	0,035	0,035	
<i>Got-3</i>	0,011	0,006	0,037	0,041	0,056	0,046	0,056	0,034	0,038	0,013	0,007	0,013	0,007	0,017	0,020	
<i>Gdh-1</i>	0,006	0,006	0,021	0,021	0,025	0,025	0,025	0,003	0,003	0,038	0,038	0,038	0,038	0,036	0,036	
<i>Dia-1</i>	0,011	0,011	0,034	0,034	0,120	0,096	0,120	0,043	0,041	0,057	0,057	0,057	0,057	0,009	0,009	
<i>Dia-2</i>	0,020	0,015	0	0	0,025	0,025	0,025	0,019	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012	0,033	0,044	
<i>Dia-4</i>	0	0	0,022	0,022	0,048	0,048	0	0	0	0,032	0,032	0,032	0,032	0,096	0,096	
<i>Mdh-2</i>	0,020	0,020	0,021	0,021	0,053	0,053	0,053	0,027	0,027	0,055	0,055	0,055	0,055	0,009	0,009	
<i>Mdh-3</i>	0,018	0,015	0,007	0,007	0,108	0,087	0,108	0,008	0,005	0,056	0,056	0,056	0,056	0,015	0,018	
<i>Mdh-4</i>	0,053	0,048	0,01	0,011	0,052	0,050	0,052	0,040	0,040	0,041	0,038	0,041	0,038	0,026	0,024	
<i>Sod-1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
<i>Sod-2</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
<i>Sod-3</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
<i>Sod-4</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
<i>Adh-1</i>	0,029	0,025	0,007	0,008	0,014	0,012	0,014	0,014	0,015	0,019	0,017	0,019	0,017	0,013	0,013	
<i>Adh-2</i>	0,004	0,004	0,010	0,006	0,046	0,046	0,046	0,056	0,056	0,013	0,007	0,013	0,007	0,003	0,003	
<i>Acp-2</i>	0,024	0,018	0,008	0,004	0,039	0,032	0,039	0,018	0,013	0,031	0,034	0,031	0,034	0,012	0,012	
<i>Lap-1</i>	0,018	0,021	0,152	0,210	0,138	0,018	0,138	0,138	0,222	0,024	0,025	0,024	0,025	0,011	0,008	
<i>Lap-2</i>	0,028	0,028	0,004	0,004	0	0	0	0,003	0,003	0,026	0,026	0,026	0,026	0,025	0,019	
<i>Fdh-1</i>	0,001	0,001	0,020	0,020	0,077	0,077	0,077	0,023	0,023	0,049	0,049	0,049	0,049	0,010	0,007	
Среднее	0,017	0,016	0,019	0,022	0,034	0,031	0,034	0,024	0,028	0,026	0,026	0,026	0,026	0,017	0,017	

По всей видимости, генетическая обусловленность семенной продуктивности растений определяется влиянием не только отдельных генов, но зависит от их сочетания в генотипах растений. Это сочетание через присутствие или отсутствие летальных и сублетальных генов в материнских и отцовских гаметах, вероятно, сказывается уже на гаметическом этапе развития опыленных семян, приводя к образованию недоразвитых семян, отделяющихся с крылатками от семенных чешуй. На эмбриональном этапе развития оплодотворенных семян может включаться механизм несовместимости между эндоспермом и зародышем семени [13]. Предполагают, что развитие или гибель зародыша с образованием пустых семян определяется количеством аллелей несовместимости, идентичных как у материнского дерева, так и у зародыша [7]. У сравниваемых нами групп растений сосны меловой с близкими по значению частотами представлены, как правило, одни и те же аллели, поэтому, вероятно, в формировании полных и неполноценных семян определяющее значение может принадлежать ассоциациям аллелей материнского растения, включающим летали и полулетали. В определенной степени эту предпосылку подтверждает анализ рекомбинационной изменчивости, оцененной по составу и частотам генотипов парных комбинаций полиморфных локусов у альтернативных по семенной продуктивности выборок растений. В совокупной выборке из 71 растения было выявлено 66 парных комбинаций 16 полиморфных локусов и установлено 820 генотипов. В отдельных выборках дилокусных генотипов было заметно меньше – 428 у растений с максимумом полных и 414 – с минимумом недоразвитых семян в шишке, а наименьшее – в выборке с максимумом недоразвитых семян (231); в остальных выборках – 325–344.

Анализ на основе дилокусных сочетаний средних значений коэффициента инбридинга особи (F_{IS}) относительно отдельных выборок растений по продуктивности семян указывает на явные их отличия в генотипической структуре (рис. 2). Если для растений с высокой продуктивностью полных семян свойственен некоторый избыток гетерозигот (3,5 %), то для деревьев с низкой продуктивностью таких семян – явный недостаток (22,3 %). Такая же тенденция сохраняется у альтернативных выборок по продуктивности пустых семян и обратная – для деревьев с разным количеством недоразвитых семян.

Для того чтобы выяснить, какие парные сочетания локусов вносят наибольший вклад в подразделенность альтернативных по семенной продуктивности выборок растений, были рассчитаны значения коэффициента F_{ST} . Для групп растений с высокой и низкой продуктивностью полных семян установлено 12 дилокусных комбинаций, значения F_{ST} которых в 1,5 и более раз больше средневыборочных (табл. 4). В 9 из этих комбинаций присутствовал локус *Got-2*, в трех – локусы *Mdh-4* и *Adh-1*. Для альтернативных выборок растений по продуктивности пустых семян наибольшие значения F_{ST} свойственны 15 парам локусов, в 11 из которых присутствовал локус *Dia-1*.

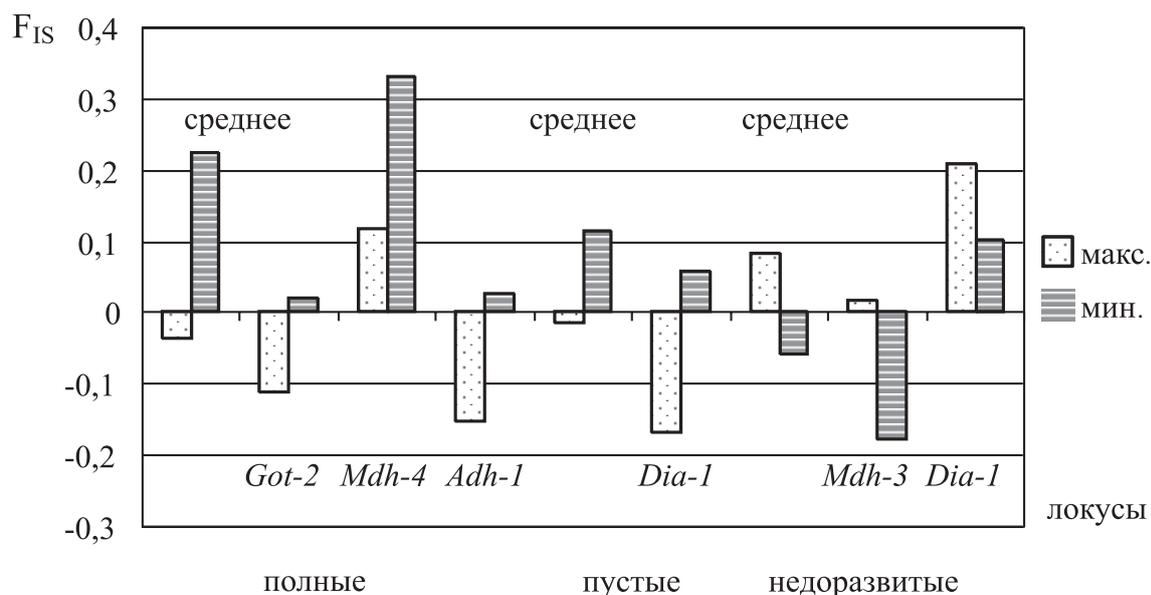


Рис. 2. Средние значения F_{IS} для выборок двухлокусных генотипов сосны меловой, продуцирующих максимальное и минимальное количество полных, пустых и недоразвитых семян, а также для выборок двухлокусных генотипов, имеющих в сочетании отдельные локусы.

Таблица 4. Значения F_{ST} между выборками двухлокусных генотипов, продуцирующих максимальное и минимальное количество семян разных категорий в шишке, в популяции сосны меловой

Генотип	Выборки по категориям семян			Генотип	Выборки по категориям семян		
	полные	пустые	недоразвитые		полные	пустые	недоразвитые
<i>Mdh-4Lap-1</i>	0,029	0,014	0,037	<i>Got-3Adh-1</i>	0,029	0,025	0,036
<i>Mdh-4Fdh</i>	0,020	0,036	0,079	<i>Got-3Acp</i>	0,012	0,023	0,052
<i>Mdh-4Dia-1</i>	0,020	0,045	0,095	<i>Got-2Mdh-4</i>	0,066	0,006	0,029
<i>Mdh-4Adh-2</i>	0,025	0,009	0,030	<i>Got-2Mdh-3</i>	0,058	0,004	0,077
<i>Mdh-4Adh-1</i>	0,042	0,009	0,039	<i>Got-2Lap-1</i>	0,063	0,009	0,007
<i>Mdh-4Acp</i>	0,042	0,007	0,031	<i>Got-2Got-3</i>	0,053	0,022	0,027
<i>Mdh-3Mdh-4</i>	0,024	0,019	0,107	<i>Got-2Gdh</i>	0,050	0,004	0,015
<i>Mdh-3Lap-1</i>	0,021	0,012	0,084	<i>Got-2Dia-1</i>	0,054	0,040	0,065
<i>Mdh-3Fdh</i>	0,012	0,034	0,126	<i>Got-2Adh-2</i>	0,059	0,004	0,000
<i>Mdh-3Dia-1</i>	0,012	0,043	0,141	<i>Got-2Adh-1</i>	0,075	0,004	0,009
<i>Mdh-3Adh-2</i>	0,017	0,006	0,077	<i>Got-2Acp</i>	0,054	0,002	0,026
<i>Mdh-3Adh-1</i>	0,034	0,007	0,085	<i>GdhMdh-4</i>	0,016	0,009	0,040
<i>Mdh-3Acp</i>	0,017	0,005	0,102	<i>GdhMdh-3</i>	0,008	0,007	0,092
<i>Mdh-2Mdh-4</i>	0,026	0,016	0,069	<i>GdhLap-1</i>	0,013	0,012	0,022
<i>Mdh-2Mdh-3</i>	0,018	0,014	0,115	<i>GdhDia-1</i>	0,004	0,043	0,079
<i>Mdh-2Lap-1</i>	0,023	0,019	0,046	<i>GdhAcp</i>	0,009	0,005	0,040
<i>Mdh-2Fdh</i>	0,014	0,041	0,088	<i>FdhLap-1</i>	0,017	0,038	0,057
<i>Mdh-2Dia-1</i>	0,014	0,045	0,103	<i>FdhAdh-2</i>	0,013	0,033	0,049
<i>Mdh-2Adh-2</i>	0,019	0,014	0,039	<i>FdhAdh-1</i>	0,029	0,034	0,058
<i>Mdh-2Acp</i>	0,019	0,012	0,064	<i>FdhAcp</i>	0,013	0,031	0,075
<i>Lap-1Acp</i>	0,022	0,009	0,033	<i>Dia-1Lap-1</i>	0,017	0,048	0,071
<i>Got-3Mdh-4</i>	0,019	0,027	0,057	<i>Dia-1Fdh</i>	0,008	0,069	0,114
<i>Got-3Mdh-3</i>	0,011	0,025	0,104	<i>Dia-1Adh-2</i>	0,013	0,043	0,065
<i>Got-3Mdh-2</i>	0,013	0,032	0,064	<i>Dia-1Adh-1</i>	0,029	0,043	0,073
<i>Got-3Lap-1</i>	0,016	0,030	0,034	<i>Dia-1Acp</i>	0,013	0,041	0,089
<i>Got-3Gdh</i>	0,003	0,025	0,042	<i>Adh-2Acp</i>	0,018	0,004	0,026
<i>Got-3Fdh</i>	0,007	0,052	0,077	<i>Adh-1Lap-1</i>	0,039	0,012	0,016
<i>Got-3Dia-1</i>	0,007	0,061	0,092	<i>Adh-1Adh-2</i>	0,035	0,007	0,009
<i>Got-3Adh-2</i>	0,012	0,025	0,027	<i>Adh-1Acp</i>	0,035	0,005	0,034
Среднее					0,025	0,022	0,059

У деревьев с разной продуктивностью недоразвитых семян значения F_{ST} не менее чем в 1,5 раза превышали средневыборочные в 12 комбинациях локусов, в 7 из которых встречался локус *Mdh-3* и в 4-х – *Dia-1*. Если сравнить одно- и дилокусные значения F_{ST} (см. табл. 3 и 4), видно, что только 3 из 5 локусов в обоих случаях имели высокие значения этого коэффициента у выборок деревьев с высокой и низкой продуктивностью полных семян. У альтернативных выборок деревьев по продуктивности пустых семян высокие значения F_{ST} в обоих вариантах расчетов свойственны одному из трех локусов, а у выборок с разной продуктивностью недоразвитых семян – у двух из восьми локусов. Так как при анализе дилокусных сочетаний учитывается рекомбинационная изменчивость, то часто встречающиеся отдельные локусы в парах с наибольшими значениями F_{ST} вероятно, можно рассматривать как селективно значимые. Не исключено, что эти же локусы выступают как маркеры участков хромосом, где локализованы гены, контролирующие семенную продуктивность отдельных индивидов.

Следует обратить внимание на тот факт, что комбинации локусов, по которым выявлено сцепление у *P. sylvestris* (*Got-1 – Adh-1*, *Got-1 – Adh-2*, *Got-2 – Adh-1*, *Got-2 – Lap-2*, *Adh-1 – Adh-2*, *Adh-1 – Dia-2*, *Adh-1 – Lap-2*, *Adh-2 – Dia-2*, *Adh-2 – Lap-2*) [15], как правило, не вносят заметного вклада в подразделенность выборок растений сосны меловой, альтернативных по продуктивности семян. В популяциях свободно скрещивающихся живых организмов многократно повторяющийся кроссинговер способствует рандомизации комбинаций аллелей сцепленных генов, однако некоторые их ассоциации встречаются чаще, чем ожидается при равномерном распределении [3]. Можно предположить, что у сосны меловой регулярно присутствующие в разных парных комбинациях с наибольшими значениями F_{ST} отдельные локусы (например, *Got-2*, *Dia-1*, *Mdh-3*) относятся к участкам рекомбинационного кроссоверного обмена в хромосомах. Причем для растений с высокой и низкой продуктивностью полных, пустых и недоразвитых семян эти локусы, а, соответственно, и участки, разные. В результате кроссинговера формируются случайные ассоциации аллелей с наличием или отсутствием леталей и полулеталей. Однако, количество жизнеспособных зигот, развивающихся в полные семена, определяется уже неслучайной ассоциацией аллелей из разных локусов, исключающих аллели несовместимости развивающегося зародыша и эндосперма семени. При этом пониженный уровень гетерозиготности материнского растения не всегда является определяющим в формировании полноценного урожая семян. Можно отметить, что растения с низкой гетерозиготностью характеризовались и более слабой продуктивностью полных и повышенным выходом недоразвитых семян, у растений с разным уровнем пустосемянности явных отличий в гетерозиготности не обнаружено. Давно известно, что пониженная гетерозиготность может способствовать снижению выживаемости и повышению числа уродств [23]. Высказывается предположение об оптимальном уровне гетерозиготности, свойственном наиболее приспособленным генотипам в популяции, которые часто характеризуются среднепопуляционным уровнем гетерозиготности [1]. В целом результаты наших исследований не противоречат этому, т.к. выборки деревьев с максимумом полных и минимумом пустых и недоразвитых семян по уровню гетерозиготности были близки к среднепопуляционному. Вероятно, у особей с такой гетерозиготностью случайное объединение гамет и межгенная рекомбинация не приводят к нарушению коадаптированных комплексов генов. Это может и обеспечивает им высокую семенную продуктивность с низкой долей нежизнеспособных семян.

Заключение

Таким образом, растения в изолированной популяции сосны меловой с высокой и низкой продуктивностью полных и нежизнеспособных семян имеют определенные генетические отличия, связанные с уровнем их гетерозиготности. У деревьев с максимумом полных и минимумом пустых и недоразвитых семян уровень гетерозиготности близок к среднепопуляционному и существенно выше, чем у деревьев с низким количеством полных и высоким – недоразвитых семян. Однако сам по себе уровень гетерозиготности материнского растения, вероятно, не всегда является решающим для качества урожая семян. Об этом свидетельствует отсутствие отличий в гетерозиготности у групп деревьев с низкой и высокой пустосемянностью. По всей видимости, определяющее значение в формировании семян имеет наличие леталей и полулеталей в гетерозиготных локусах материнского растения. Переход определенного числа этих генов в гомозиготное состояние у зародышей, по-видимому, способствует формированию пустых семян. Очевидно, это один из элементов сложного механизма генетического контроля семенной продуктивности растений.

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях / Ю.П. Алтухов. – 3-е изд. – М.: ИКЦ “Академкнига”, 2003. – 431 с.
2. Алтухов Ю.П. Аллозимный полиморфизм в природных популяциях ели европейской *Picea abies* (L.) Karst. Сообщение 3. Корреляция между уровнем индивидуальной гетерозиготности и относительным количеством нежизнеспособных семян / Ю.П. Алтухов, Н.Н. Гафаров, К.В. Крутовский, В.А. Духарев // Генетика. – 1986. – Т.22, № 12. – С. 2825–2830.
3. Банникова Л.В. Анализ неслучайности ассоциаций аллелей четырех локусов белков молока в популяциях ярославской породы крупного рогатого скота / Л.В. Банникова, Л.А. Зубарева // Генетика. – 1996. – Т. 32, № 11. – С. 1569–1575.
4. Демкович А.Е. GenRes – Программа анализа популяционно-генетических данных / А.Е. Демкович // Промышленная ботаника. – 2007. – Вып. 7. – С. 128–133.
5. Ефимов Ю.П. Итоги изучения закономерностей семеношения сосны обыкновенной в семенных плантациях / Ю.П. Ефимов // Половое размножение хвойных растений. – Новосибирск, 1985. – С. 145–146.
6. Зеленьяк А.К. Плодоношение лиственницы сибирской в Среднем Заволжье / А.К. Зеленьяк // Вопросы лесной биоценологии, экологии и охраны природы в степной зоне. – Куйбышев. – 1983. – С. 60–67.
7. Исаков Ю.Н. Связь генотипа по некоторым аллозимным локусам и способности к самоопылению у сосны обыкновенной / Ю.Н. Исаков, В.Л. Семерилов // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 2. – С. 274–276.
8. Коршиков И.И. Анализ генетической гетерогенности зародышей семян у деревьев с разной семенной продуктивностью в популяции сосны крымской (*Pinus pallasiana* D.Don) в Крыму / И.И. Коршиков, Е.А. Мудрик, Н.С. Терлыга // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 39, № 2. – С. 27–33.
9. Коршиков И.И. Сравнительное изучение аллозимного полиморфизма в группах деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) с разной семенной продуктивностью / И.И. Коршиков, Л.А. Калафат // Цитология и генетика. – 2004. – Т.38, № 2. – С. 9–14.
10. Коршиков И.И. Популяционно-генетическая изменчивость сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в основных лесорастительных районах Украины / И.И. Коршиков, Л.А. Калафат, Я.В. Пирко, Т.И. Великоридько // Генетика. – 2005. – Т. 41, № 2. – С. 216–228.
11. Коршиков И.И. Генетические особенности деревьев сосны горной (*Pinus mugo* Turta) со значимыми отличиями в показателях семеношения / И.И. Коршиков, Я.В. Пирко // Вісник Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2004. – № 2. – С. 212–220.
12. Коршиков І.І. Популяційно-генетична різноманітність сосни крейдяної / І.І. Коршиков, С.М. Тунда // Доповіді НАН України. – 2004. – № 7. – С. 182–186.
13. Кузнецова Н.Ф. Генетическая несовместимость и ее проявление у сосны обыкновенной / Н.Ф. Кузнецова // Лесоведение. – 1996. – № 5. – С. 27–33.
14. Некрасова Т.П. Изменчивость числа семян в шишках сосны от опыления / Т.П. Некрасова // Лесоведение. – 1986. – № 1. – С. 38–42.
15. Падутов В.Е. Генетические ресурсы сосны и ели в Беларуси / В.Е. Падутов. – Гомель: ИЛ НАН Беларуси, 2001. – 144 с.
16. Романовский М.Г. Гаметофитная смертность семян сосны обыкновенной / М.Г. Романовский // Генетика. – 1989. – Т. 25, № 1. – С.99–107.
17. Davis B.J. Disk electrophoresis. II. Methods and application to human serum proteins / B.J. Davis // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1964. – V. 121. – P. 404–427.
18. El-Kassaby Y.A. Temporal variation in the outcrossing rate in a natural stand of *Western white pine* / Y.A. El-Kassaby, M.D. Meagher, R. Davidson // *Silvae Genet.* – 1993. – V. 42, № 2–3. – P. 131–135.
19. Nei M. Genetic distance between populations / M. Nei // *Amer. Naturalist.* – 1972. – V. 106. – P. 283–292.
20. Nei M. Molecular population genetics and evolution / M. Nei // New York: Amer. Elsev. Publ. Comp., Inc. – 1975. – 278 p.
21. Peakall R., Smouse P.E. GenAlex 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P.E. Smouse // *Molecular Ecology Notes.* – 2006. – V. 6. – P. 288–295.
22. Swofford D. L., Selander R. B. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics / D.L. Swofford, R.B. Selander // *J. Hered.* – 1981. – V. 72, № 4. – P. 281–283.
23. Vrijenhoek R.C., Lerman S. Heterozygosity and developmental stability under sexual and asexual breeding systems / R.C. Vrijenhoek, S. Lerman // *Evolution.* – 1982. – V. 36, № 4. – P. 768–776.
24. Wright S. The interpretation of population structure by *F*-statistics with special regard to systems of mating / S. Wright // *Evolution.* – 1969. – V. 9. – P. 395–420.

¹Донецкий ботанический сад НАН Украины

Получено 26.05.2010

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

УДК 575.174.015.3:581.141:582.475.4

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕРЕВЬЕВ С ВЫСОКОЙ И НИЗКОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ НОРМАЛЬНЫХ И НЕПОЛНОЦЕННЫХ СЕМЯН В ИЗОЛИРОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ СОСНЫ МЕЛОВОЙ В ДОНБАССЕ

И.И. Коршиков¹, Т.И. Великоридько¹, С.Н. Тунда¹, Е.А. Мудрик²

¹Донецкий ботанический сад НАН Украины

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

По 20 аллозимным локусам проведен сравнительный анализ генетических особенностей деревьев из популяции сосны меловой (*Pinus sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom.), различающихся по продуктивности полных, пустых и недоразвитых семян. Три выборки деревьев с максимумом полных ($H_o = 0,233$), минимумом пустых ($H_o = 0,215$) и недоразвитых ($H_o = 0,225$) семян в шишке имели гетерозиготность, близкую к среднепопуляционной ($H_o = 0,218$), а у выборок с минимумом полных ($H_o = 0,170$) и максимумом недоразвитых ($H_o = 0,129$) семян она была существенно ниже. Дифференциация и подразделенность выборок деревьев с максимумом или минимумом семян каждой из категорий достигала уровня межпопуляционных отличий ($D_N = 0,007-0,029$; $F_{ST} = 0,016-0,034$). Выполнен анализ рекомбинационной изменчивости по дилокусным комбинациям генотипов и с помощью показателя F_{ST} установлены отдельные локусы в этих комбинациях, которые вносят наибольший вклад в подразделенность выборок деревьев с существенными отличиями в продуктивности полных и нежизнеспособных семян.

UDC 575.174.015.3:581.141:582.475.4

GENETIC PECULIARITIES OF *PINUS SYLVESTRIS* L. VAR. *CRETACEA* KALENICZ. EX KOM. TREES CHARACTERIZED BY HIGH AND LOW PRODUCTIVITY OF NORMAL AND INVIABLE SEEDS IN THE ISOLATED POPULATION IN DONBASS

I.I. Korshikov¹, T. I. Velikoridko¹, S.N. Tunda¹, E.A. Mudrik²

¹Donetsk Botanical Garden, the National Academy of Sciences of Ukraine

²Vavilov Institute of General Genetics RAS

Based on 20 allozyme loci, comparative analysis of genetic peculiarities of *Pinus sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom. trees differentiated significantly on full, empty, and undeveloped seed productivity in the Ukrainian population was carried out. Three samples with maximum of full ($H_o = 0.233$), minimum of empty ($H_o = 0.215$) and undeveloped ($H_o = 0.225$) seeds per a cone were characterized by close to the average level of population heterozygosity ($H_o = 0.218$), while it was much lower in samples with minimum of full ($H_o = 0.170$) seeds and maximum of undeveloped ($H_o = 0.129$) ones. Differentiation and subdivision of sample trees with maximum and minimum seeds of each categories ran up to interpopulational differences ($D_N = 0.007-0.029$; $F_{ST} = 0.016-0.034$). Recombination variation analysis was done using diloci genotype combinations. With the help of F_{ST} index some loci from these combinations which contribute mostly to trees with significant differences in full and undeveloped seed productivity have been revealed.