

Е.А. Мудрик, Е. М. Горлова

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ СОСНЫ КРЫМСКОЙ (*PINUS PALLASIANA* D. DON)

сосна крымская, зародыши семян, аллельная и генотипическая гетерогенность

Важнейшая количественная и качественная составляющая популяции – это генетическая структура, стабильно воспроизводимая в панмиктических популяциях в пространстве и времени [1]. Особенности генетической структуры природных популяций вида во многом определяются уровнем его полиморфизма и степенью благоприятности условий существования. Полиморфные гены обуславливают генетическую изменчивость вида, осуществляя адаптацию организмов и популяций к различным воздействиям, однако генетическая структура популяции может сохраняться на протяжении многих поколений [1]. Частота аллелей и генотипов, подразделенность особей на генетически близкие группы и связь между ними в череде поколений – основные характеристики генетической структуры популяции [7]. Сравнительный анализ изменчивости генетических параметров материнских особей и их потомства в разные годы позволяет определить уровень воспроизводства аллельного и генотипического разнообразия в природной популяции, а также количественно оценить степень их дифференциации. Для видов хвойных наиболее удобным материалом при проведении таких исследований являются зародыши семян, несущие в себе генотип будущего дерева [6].

Особый интерес представляет изучение динамики воспроизводства аллельного и генотипического разнообразия маргинальных популяций, находящихся на границе естественного распространения вида. Специфические природно-климатические условия могут существенно сказываться на репродуктивном развитии растений и процессе опыления, отражаясь в определенных изменениях генетической структуры их потомства.

Цель данной работы – сравнительный анализ погодичного воспроизводства уровня генетической изменчивости в семенном потомстве природной популяции сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don).

В исследовании были использованы семена 19 деревьев *P. pallasiana*, собранные в популяции урочища Никиты в Крыму (400 м над у. м.) в 1996–1997 гг. Для определения генотипов материнского дерева и его потомства (зародышей семян) проводили параллельный электрофорез ферментов одного семени по схеме эндосперм – зародыш. У каждого растения анализировали по 8 семян.

Электрофорез ферментов тканей эндоспермов и зародышей проводили в вертикальных пластинках 7,5 %-ного полиакриламидного геля (рН 8,9) в трис-глициновом буфере (рН 8,3) [8]. Гистохимическое окрашивание осуществляли по стандартной методике с незначительными модификациями [2]. Для анализа использовали два фермента: глутаматоксалоацетаттрансаминазу (GOT, К. Ф. 3. 4. 11. 1.) и глутаматдегидрогеназу (GDH, К. Ф. 1. 4. 1. 2.). Для обозначения ферментов и локусов использовали общепринятую номенклатуру [10].

Для определения сходства и различия генетической структуры взрослых деревьев *P. pallasiana* и их потомства разных лет использовали стандартные показатели популяционно-генетических исследований: состав и частоту аллелей и генотипов, ожидаемую и наблюдаемую гетерозиготность, индекс фиксации Райта. Соответствие наблюдаемых распределений генотипов ожидаемым из равновесия Харди-Вайнберга по каждому локусу проверяли по стандартному χ^2 - критерию. Межвыборочную гетерогенность частот аллелей и генотипов оценивали по критерию χ^2 и критерию генетической идентичности (*I*) Л. А. Животовского [3], сходство генетического состава выборок определяли с помощью показателя сходства (*r*) по Л. А. Животовскому [3], генетическую дистанцию рассчитывали по М. Нею [9].

Из четырех изученных локусов, контролирующих синтез глутаматоксалоацетаттрансаминазы и глутаматдегидрогеназы, один локус – Got-1 – был мономорфным у взрослых

Таблица 1. Состав и частота аллелей и генотипов, показатели гетерозиготности для материнских деревьев и семенного потомства природной популяции *Pinus pallasiانا* D. Don

Локус	Алель, гетерозиготность*	Частота аллелей				Генотип	материнские деревья	Частота генотипов	
		материнские деревья	зародыши семян		зародыши семян			1996 г.	1997 г.
			1996 г.	1997 г.					
Gdh	1,12	0,052	0,046	0,030	1,12 / 1,12	-	0,013	-	
	1,00	0,922	0,915	0,936	1,12 / 1,00	0,053	0,033	0,006	
	0,75	0,026	0,039	0,034	1,12 / 0,75	0,053	0,033	0,053	
	<i>Ho</i>	0,105	0,086	0,079	1,00 / 1,00	0,894	0,888	0,921	
	<i>He</i>	0,147	0,159	0,125	1,00 / 0,75	-	0,020	0,020	
					0,75 / 0,75	-	0,013	-	
Got-2	1,12	0,473	0,520	0,381	1,12 / 1,12	0,210	0,257	0,184	
	1,00	0,527	0,480	0,619	1,12 / 1,00	0,526	0,526	0,395	
	<i>Ho</i>	0,526	0,526	0,395	1,00 / 1,00	0,264	0,217	0,421	
	<i>He</i>	0,499	0,499	0,472					
Got-3	1,50	0,079	0,063	0,075	1,50 / 1,50	-	0,006	0,020	
	1,00	0,895	0,921	0,905	1,50 / 1,00	0,158	0,112	0,112	
	0,60	0,026	0,016	0,020	1,00 / 1,00	0,790	0,850	0,829	
	<i>Ho</i>	0,210	0,145	0,151	1,00 / 0,60	0,052	0,032	0,039	
	<i>He</i>	0,192	0,148	0,175					

Примечание. **Ho* – наблюдаемая гетерозиготность, *He* – ожидаемая гетерозиготность.

деревьев *P. pallasiana* и зародышей семян. Полиморфизм был обнаружен по локусам Got-2, Got-3 и Gdh. Для этих локусов описано 8 аллелей, которые встречались и у материнских деревьев, и в их потомстве (табл. 1). Наибольшая частота встречаемости свойственна аллелю с индексом 1,00, для локусов Gdh и Got-3 она составляет $\geq 0,895$.

Состав и частота аллелей взрослых деревьев сосны крымской и зародышей урожая двух последовательных лет были близкими (см. табл. 1). При анализе гетерогенности аллелей по критериям χ^2 и *I* между материнскими деревьями и их потомством обоих лет наблюдений существенных различий не обнаружено. Однако при сравнении выборок зародышей урожая 1996 и 1997 гг. была установлена достоверная гетерогенность аллельного состава по локусу Got-2 при 0,01 %-ном уровне значимости.

Наблюдаемое соотношение генотипов среди взрослых деревьев *P. pallasiana* отличалось от ожидаемого по одному локусу – Gdh. Достоверные случаи отклонения от равновесия генотипов также установлены в семенном потомстве сосны крымской двух лет наблюдений по локусу Gdh и в зародышах урожая 1997 г. по локусу Got-2.

Оценка генотипической гетерогенности при сравнении генотипов материнских деревьев *P. pallasiana* и их потомства не выявила достоверных различий, несмотря на существование в потомстве редких генотипов (частота которых $< 0,05$) в локусах Gdh и Got-3 (см. табл. 1). По-видимому, их частота настолько мала, что не оказывает существенного влияния на генотипическую гетерогенность. В свою очередь, между потомством 1996 и 1997 гг., как и при анализе аллельной гетерогенности, установлена гетерогенность генотипов по локусу Got-2 при 0,01 %-ном уровне значимости. Это может быть связано со снижением наблюдаемой гетерозиготности в потомстве *P. pallasiana* в 1997 г. на 33,1 % по сравнению с зародышами урожая 1996 г. (см. табл. 1). Достоверная генотипическая гетерогенность в локусе Gdh между семенным потомством сосны крымской двух лет наблюдений вызвана качественным различием в составе генотипов – присутствием редких генотипов в потомстве 1996 г. и их отсутствием у зародышей *P. pallasiana* урожая 1997 г. (см. табл. 1). Отметим, что именно в локусах Gdh и Got-2 были установлены отклонения в фактическом распределении генотипов от ожидаемого при равновесии Харди-Вайнберга.

Средний уровень гетерозиготности в потомстве обоих лет наблюдений был меньше, чем у взрослых деревьев (табл. 2). Средняя наблюдаемая гетерозиготность материнских деревьев сосны крымской на 11,6 % и 35,2 % выше, чем у зародышей урожая 1996 и 1997 гг. соответственно. Различия наблюдаемой гетерозиготности между выборками зародышей разных лет составляют 21,1 %. Положительные значения индекса фиксации Райта в потомстве *P. pallasiana* указывают на недостаток гетерозигот в поколениях. Для потомства сосны крымской урожая 1996 г. характерен 6 %-ный дефицит гетерозигот, а в 1997 г. недостаток гетерозигот составил 19,2 %. Эти результаты согласуются с данными о дефиците гетерозигот зародышей в природных популяциях хвойных [4, 5]. Снижение гетерозиготности в последовательных поколениях *P. pallasiana* свидетельствует о неблагоприятных процессах в природной популяции, вероятно связанных с самоопылением материнских деревьев. При этом очевидно, что 1997 год был менее благоприятным для формирования семенного потомства сосны крымской.

Показатель генетического сходства *r* для материнских деревьев и зародышей *P. pallasiana* достаточно высок (в среднем 0,996) и не обнаруживает достоверных различий.

Таблица 2. Основные параметры генетической изменчивости взрослых деревьев и зародышей в природной популяции *Pinus pallasiana* D. Don

Выборка	Объем выборки, шт.	Доля полиморфных локусов (P_{99})	Среднее число аллелей на локус	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта (F)
				ожидаемая (He)	наблюдаемая (Ho)	
взрослые деревья	19	0,750	2,250	0,209±0,042	0,211±0,041	-0,009
зародыши 1996 г.	152	0,750	2,250	0,201±0,014	0,189±0,014	0,06
зародыши 1997 г.	152	0,750	2,250	0,193±0,014	0,156±0,013	0,192

Для дифференцированной оценки различий между взрослыми деревьями сосны крымской и их потомством использовали коэффициент генетической дистанции Нея (D_N). Значения этого коэффициента между материнскими деревьями и зародышами урожая 1996 и 1997 гг. были очень маленькими, составив 0,001 и 0,003 соответственно. Генетическая дистанция между выборками зародышей двух лет наблюдений была больше – 0,006, что говорит о меньшем генетическом сходстве между потомством *P. pallasiana* разных лет.

Таким образом, сравнительный анализ генетической изменчивости материнских деревьев и семенного потомства природной популяции *P. pallasiana* в течение двух последовательных лет наблюдений показал отсутствие достоверной аллельной и генотипической гетерогенности между ними. Однако в потомстве сосны крымской прослеживается тенденция снижения уровня гетерозиготности, особенно в зародышах семян урожая 1997 года. В свою очередь, семенное потомство одних и тех же деревьев *P. pallasiana* характеризуется погодичной генетической неоднородностью. Достоверные различия в аллельной и генотипической гетерогенности обнаружены по 2 из 3 изученных локусов. Это может быть связано с разными долями перекрестного опыления и самоопыления у материнских деревьев *P. pallasiana* в течение двух лет наблюдений.

1. Алтухов Ю.П., Корочкин Л.И., Рычков Ю.Г. Наследственное биохимическое разнообразие в процессах эволюции и индивидуального развития // Генетика. – 1996. – 32, № 11. – С. 1450–1473.
2. Гончаренко Г.Г., Падуров В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. – Гомель: Би., 1989. – 162 с.
3. Животовский Л.А. Показатель сродства популяций по полиморфным признакам // Журн. общ. биологии. – 1979. – 40, № 4. – С. 587–602.
4. Политов Д.В., Крутовский К.В. Генетическая изменчивость сибирской кедровой сосны *Pinus sibirica* Du Tour. Сообщение V. Анализ системы скрещивания // Генетика. – 1990. – 26, № 4. – С. 2002–2011.
5. Старова Н.В., Ямбаев Ю.А., Юмадилов Н.Х. и др. Генетическая изменчивость сосны обыкновенной в возрастных группах // Генетика. – 1990. – 26, № 3. – С. 498–505.
6. Шигапов З.Х., Тимерьянов А.Ш., Ямбаев Ю.А., Шигапова А.И. Динамика генетической структуры потомства по годам на лесосеменной плантации и в природной популяции сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.) // Генетика. – 1996. – 32, № 10. – С. 1363–1370.
7. Яблоков А.В. Популяционная биология. – М.: Высш. шк., 1987. – 204 с.
8. Davis B.J. Disk electroforesis. II. Methods and applications to human serum proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1964. – 121. – P. 67–65.
9. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. – 1972. – 106. – P.283–292.
10. Prakash S., Lewontin R.C., Hubby T.L. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. 4. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura* // Genetics (US). – 1969. – 61. – P. 841–858.

Донецкий ботанический сад НАН Украины

Получено 18.03.2003

УДК 575.123:581.15:581.141:582.475.4 (477)

Генетическая гетерогенность семенного потомства природной популяции сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) / Е. А. Мудрик, Е. М. Горлова // Промышленная ботаника. – 2003. – Вып. 3. – С. 91–94

Проведен сравнительный анализ погодичного воспроизводства уровня генетической изменчивости в семенном потомстве природной популяции *P. pallasiana*. В качестве генетических маркеров использовали изоферменты 2 ферментных систем. Установлено, что между материнскими деревьями сосны крымской и их потомством двух лет не существует достоверной аллельной и генотипической гетерогенности, но наблюдается снижение уровня гетерозиготности в поколениях. Так, дефицит гетерозигот составляет 6 и 19,2 % для семенного потомства сосны крымской 1996 и 1997 гг. соответственно. Между потомством *P. pallasiana* обоих лет наблюдений установлена аллельная и генотипическая неоднородность, что может быть связано с разными долями перекрестного опыления и самоопыления деревьев в течение двух последовательных лет.

UDC 575.123:581.15:581.141:582.475.4 (477)

Genetic heterogeneity of the seed progeny in the natural population of *Pinus pallasiana* D. Don / E. A. Mudrik, E. M. Gorlova // Industrial botany. – 2003. – V. 3. – P. 91–94.

A comparative analysis of reproduction of the level of genetic variation observed year after year in the seed progeny of the *Pinus pallasiana* natural population was made. As the genetic markers, isozymes of 2 enzymous systems were used. No valid allele and genotypic heterogeneity was detected between the mother plants of *P. pallasiana* and their two-year old posterity, but a decrease in the level of heterozygosity in generations was observed. So, the deficit of heterozygotes was 6 and 19,2 % for the seed progeny of *P. pallasiana* in 1996 and 1997 years respectively. True allele and genotypic heterogeneity was detected between *P. pallasiana* posterity of the either year, that may be accounted for by the different roles of the cross- and self-pollination of the trees in two years of observation.