АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

Л. А. Семкина

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТНЫХ СПЕКТРОВ ПЕРОКСИДАЗЫ У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

СВЕРДЛОВСК · 1985

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

Л. А. Семкина

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТНЫХ СПЕКТРОВ ПЕРОКСИДАЗЫ У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

СВЕРДЛОВСК 1985

УДК 581.143:581.15+575.6

Семкина Л. А. **Изменчивость изоферментных спектров пероксидазы у сосны обыкновенной.** Свердловск: УНЦ АН СССР, 1985.

Изоферментный спектр пероксидазы хвои используется в качестве теста для дифференциации популяции сосны обыкновенной на Урале. В связи с этим проведено поэтапное исследование форм внутривидовой изменчивости. Показаны специфика эндогенной и размах индивидуальной изменчивости, установлен уровень гетерогенности. Межпопуляционная изменчивость охарактеризована различным качественным составом изоферментов и частотой встречаемости отдельных фракций пероксидазы с учетом особенностей сезонной динамики.

Книга рассчитана на научных работников — систематиков и физиологов растений, лесоводов и экологов, а также на специалистов смежных областей биологии.

Иллюстраций 9. Таблиц 19. Библиогр. 178 назв.

Ответственный редактор д. б. н., проф. **С. А. Мамаев**

И $\frac{21006-1321-141(83)}{055(02)7}$ 27—1985

© УНЦ АН СССР, 1985

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время значительно возрос интерес к изучению изоферментных систем. Изоферментные спектры начали использоваться в генетических, популяционных и хемосистематических исследованиях. Это стало возможным при внедрении электрофоретического метода разделения ферментов, позволяющего выявлять различия между их разными формами на основе электрических свойств. Как известно, многие аминокислоты несут электрический заряд, поэтому электрические свойства полипептида зависят от его аминокислотного состава. Во многих случаях замещение одной аминокислоты другой приводит к изменению этих свойств. Поэтому с помощью электрофореза в геле достаточно просто выявить замещение аминокислот и идентифицировать белки (ферменты), различающиеся даже по одной аминокислоте. Поскольку каждый полипептид является продуктом одного локуса, этот метод позволяет определить число генов, имеющих по нескольку аллелей, и число локусов, представленных в популяции только одним аллелем. Так, Левонтин и Дж. Хебби из Чикагского университета обнаружили около 30 % полиморфных по электрофоретической подвижности генов, регулирующих синтез ферментов [31].

В 1957 г. Хантер и Маркерт, а в 1959 г. Маркерт и Мёллер [22] установили, что один и тот же фермент может быть представлен в организме множественными формами — изоферментами (изоэнзимами, изозимами), различающимися по электрофоретической подвижности. Первоначально изоферментами называли любые множественные фракции одного и того же фермента, характеризующиеся единой субстратной специфичностью. Однако в дальнейшем этому определению был придан генетический смысл, и под изоферментами стали понимать генетически детерминированные варианты одного и того же фермента в одном и том же организме со сходной субстратной специфичностью. В основе множественности ферментов лежат следующие молекулярные механизмы как генетического, так и эпигенетического характера.

1. Многие ферменты состоят из нескольких полипептидов, кодируемых отдельными аллельными или неаллельными генами. Такие полипептиды могут соединяться в гомополимеры или гетерополимеры.

2. Отдельные ферменты могут существовать в виде серии полимеров разного размера (например, моно-, ди- и тетраполимеры).

3. Полипептидные цепи иногда вторично подвергаются химическим модификациям (отщеплению отдельных пептидов, присоединению нуклеотидов и других соединений, фосфорилированию и т. д.) без существенного изменения основной ферментной функции.

4. В некоторых случаях молекулы фермента, не теряя основной функции, существуют в разных конформационных состояниях за счет пермутации полимерных субъединиц или альтернативной третичной и четвертичной структуры белков [6, 50].

Поскольку в основе изоферментных вариаций, наблюдающихся у отдельных особей вида, лежат чисто генетические причины, исследование их позволяет решать сложные вопросы, связанные со структурой биологических форм. Особый интерес представляет изучение структуры основных хорологических единиц — популяций.

В Отделе экспериментальной экологии и акклиматизации растений Института экологии растений и животных Уральского научного центра АН СССР под руководством профессора С. А. Мамаева в течение многих лет проводятся работы по обоснованию методов изучения структуры популяций древесных растений и установления их границ и объема. Одним из таких методов и является характеристика изоферментных спектров пероксидазы хвои сосны обыкновенной. В связи со значительной вариабельностью ферментов необходимо было установить уровень изменчивости изоферментов пероксидазы, чтобы в дальнейшем использовать этот показатель в популяционных и хемотаксономических исследованиях. Аналитическая часть работы выполнена инженером С. П. Васфиловым, которому автор выражает глубокую благодарность.

Глава 1

ЗНАЧЕНИЕ И РОЛЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ

ОРГАНО- И ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОСТЬ

Существует два типа ферментов: основные, которые возникли в процессе эволюции и генной дупликации, и так называемые «вторичные» изоферменты, которые участвуют в метаболизме. Все имеющиеся физиологические данные, по-видимому, отвечают за адаптационные особенности организма и могут изменяться под влиянием экологических факторов.

Так, спектр изоферментов пероксидазы в процессе прорастания семян кукурузы оказался, по данным Е. В. Ревина, А. И. Ротарь [47], Падма и Редди [127], весьма разнообразным. Маршалек [121] на примере табака обнаружил быстро мигрирующую и изменчивую в процессе развития полосу пероксидазы, которая может служить генетическим маркером. В семенах капусты максимальное число полос эстеразы наблюдалось через 24 и 48 ч прорастания, затем оно вновь уменьшалось [156]. У пшеницы в первые 48 ч прорастания семян в экстрактах найдено только по одному компоненту пероксидазы, полифенолоксидазы и каталазы. Через 48 ч прорастания количество полос увеличивалось, и через 5 дней насчитывалось уже семь полос пероксидазы, число полос полифенолоксидазы не изменялось после 72 ч прорастания [155]. Авторы делают вывод о том, что различным тканям и органам присущи индивидуальные изоферменты наряду с общими для всех органов. В работах Скэндейлиоса [146, 147, 149] показана тканевая специфичность лейцинаминопептидазы (ЛАП) в семенах кукурузы. Обнаружено четыре зоны этого фермента (*A*, *B*, *C*, *D*). Зона *D* была найдена только в свежем эндосперме (16 дней спустя после опыления), в зародыше ее не оказалось. Зоны *C* и *D* отсутствовали во всех других тканях. Зона *C* встречается обычно в эндосперме и зародыше, в то время как зоны *A* и *B* присутствуют обычно во всех тканях, но в разных концентрациях.

Закономерности изменения изоферментов при прорастании семян как у покрытосеменных, так и у голосеменных однотипны. Приведем примеры специфики изменения изоферментных спект-

ров при прорастании семян сосны и лиственницы. Пероксидаза в сухих семенах отсутствует, она появляется всегда с началом деления клеток, т. е. в конце первой недели прорастания [134]. Алкогольдегидрогеназа появлялась на третий день в проростках семян сосны. Максимальное число полос эстеразы и пероксидазы было в стадии эпикотиля. Лейцинаминопептидаза и каталаза присутствовали на всех стадиях прорастания [73].

Разные органы одного и того же растения могут иметь различные по составу изоферменты. Так, изоферментные спектры пероксидазы, каталазы, эстеразы и лейцинаминопептидазы были различны в корнях, листьях и стеблях сосны [134], лиственницы [29] и других растений [23]. По исследованиям М. П. Сафонова [52], у гороха в листьях имелось шесть зон пероксидазы, в стеблях — четыре, в незрелых семенах — 2. 12 полос эстеразы имелось в семенах, в стеблях — 5, в листьях всего 3.

Все результаты говорят о том, что существует органо- и тканеспецифичность изоферментов, обусловленная действием специфических генов и играющая определенную роль в метаболизме.

АДАПТИВНАЯ И РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ

Особый интерес для наших исследований представляет большое разнообразие изоферментов, находящихся в одних и тех же тканях разных организмов. По мнению одной группы генетиков, биохимический полиморфизм возможен потому, что он не оказывает влияния на судьбу организма. Они считают, что замена одной аминокислоты на другую в белке, состоящем из сотен аминокислот, не сказывается на свойствах фермента. Аллели, ответственные за такое замещение, нейтральны по отношению к естественному отбору, поскольку не дают своим обладателям никаких преимуществ [99—101]. Это нейтралистское представление о полиморфизме.

Вторая точка зрения предполагает важную роль изоферментного полиморфизма и объясняет его возникновение спецификой естественного отбора. Эта «селекционистская» точка зрения содержит два положения. Во-первых, полиморфные гены влияют на выживание и размножение несущих их особей, и, во-вторых, широко распространенные в природе системы активно поддерживают генетическое разнообразие. Нейтралистская и селекционистская гипотезы были подвергнуты экспериментальной проверке, и оказалось, что естественный отбор поддерживает полиморфизм. Имеется много доказательств адаптивного значения белкового полиморфизма [95]. Но нейтралистская гипотеза, вероятно, тоже имеет право на существование [20], хотя роль случайных генов в эволюционном процессе невелика.

На некоторых растениях (кукуруза, овес, пшеница и др.) приспособительный характер внутривидовой биохимической изменчивости установлен точно [19]. Больше всего имеется дан-

ных о преимуществе гетерозигот [55, 36]. Два или несколько изоферментов лучше удовлетворяют потребности организма (причем в более широком диапазоне условий), чем один фермент. Это можно считать примером сбалансированного полиморфизма. Сводку об адаптивном значении природного полиморфизма приводят П. С. Редькин [48] и Е. В. Полякова [43]. Возникновение изоферментов обусловлено биохимической полиморфностью, и «вторичные» изоферменты выполняют регуляторную роль. С этой точки зрения изофермент можно условно определить как элементарную информативную единицу метаболических и генетических уровней регуляции [151, 152, 46, 5].

ИЗОПЕРОКСИДАЗЫ РАСТЕНИЙ

Пероксидаза (донор: H_2O_2 — оксидоредуктаза, К. Ф. 1. 11. 1. 7). Пероксидаза представляет собой двухкомпонентный фермент с железопорфирином в простетической группе, трехвалентное железо которого не меняет своей валентности в процессе катализа. Интерес к пероксидазе возрос в связи с обнаружением ее способности осуществлять свои функции не только за счет перекисного кислорода, но и за счет кислорода неактивированного, молекулярного. Установлено, что оксидазные функции пероксидазы, обнаруженные впервые Теорелем в 1949 г., распространяются на ряд соединений различной химической природы. Особый интерес представляет способность пероксидазы осуществлять окисление восстановленных коэнзимов НАД — H_2 и НАДФ — H_2 через посредство предварительно окисленного триметафенола-флороглюцина. Важно подчеркнуть, что полифенолоксидазами флороглюцин не окисляется. Кофактором окисления пероксидазой этого субстрата молекулярным кислородом служат ионы марганца [49, 12].

Было выяснено, что пероксидаза содержится в митохондриях и участвует в процессах транспорта электронов при акте дыхания. Включение пероксидазы в электронно-транспортную цепь дыхания сопровождается активированием процессов запасания энергии изолированными митохондриями [11, 13]. В отличие от других ферментов у пероксидазы нет узкой специфичности. Показано ее участие в образовании лигнина, ауксина и этилена в ростовых процессах и в процессах созревания и старения, в окислительных и защитных реакциях растительной клетки [148, 115]. Пероксидаза в клетках может быть связана с хромосомами, митохондриями, а также свободно присутствовать в цитоплазме (связанная пероксидаза составляет 20 % от общего количества) [113], что указывает на функциональную связь этого фермента со многими сторонами клеточного метаболизма [56, 119, 160].

Явно выраженная полифункциональность пероксидазы и высокая гетерогенность ее изоферментной системы приводят неко-

торых исследователей к мнению о трудности или даже невозможности ее использования в генетических работах. Однако к настоящему времени накоплены экспериментальные данные, позволяющие более оптимистично расценивать возможности использования изопероксидаз в качестве генетических маркеров. Уже удалось не только продемонстрировать существование генетического контроля над этим ферментом, но и выявить отдельные компоненты генетической системы, участвующей в контроле [57, 136].

Несмотря на то, что синтез любого фермента и его множественных форм определен генетически, в процессе онтогенетического развития изоферментные формы способны модифицироваться. Так, например, изоферментный спектр может изменяться под влиянием минеральных удобрений. По исследованиям Дэвида и Смита [81], изменение условий питания у проростков сосны Элиота приводило к обеднению спектра белков. Внесение фосфора влекло за собой потерю одной из двух полос пероксидазы и полифенолксидазы и обеих полос аскорбиноксидазы. Внесение в песчаную почву мочевины приводило к потере одной полосы пероксидазы и обогащению спектра железосодержащих белков. Г. Ж. Валиханова [1] на примере 15—20-дневных проростков гороха изучала изоферментный спектр пероксидазы при разных дозах магния и показала, что при его исключении в листьях отмечались большие изменения набора изопероксидаз.

Меняется спектр пероксидаз и при засолении питательной среды [21], хроническом облучении [60], потере всхожести семян [61]. Но не найдено изменения изоферментного спектра пероксидазы при заражении корней пшеницы фузариозом [140] и при поражении листьев осота грибным заболеванием [3]. М. Е. Ладыгина [25] считает, что с устойчивостью к вирусу табачной мозаики связаны в основном медленно движущиеся фракции ферментов, участвующие в превращении фенолов.

По-разному реагируют изоферменты пероксидазы на действие пониженных и повышенных температур. Так, повышение температуры не изменяло изоферментного спектра пероксидазы у проростков пшеницы, но менялось соотношение различных типов [53, 37]. При пониженных температурах отмечается изменение изоферментного спектра как у древесных растений [4], так и у озимой пшеницы и кукурузы в процессе закаливания. Отмечается появление новых компонентов в зоне слабо- и среднеподвижных фракций [59, 107].

Повышение устойчивости некоторых растений зимой связано с увеличением числа изоферментов пероксидазы [56]. Ф. Бергман [70] отмечает, что в умеренных зонах преобладают локусы с двумя аллельными полосами, в то время как локус с одной полосой более часто встречается в холодном климате. Перестройка изоферментов пероксидаз рассматривается как адаптивная реакция на действие неблагоприятных факторов среды [39].

Глава 2

ИЗОФЕРМЕНТЫ В ГЕНЕТИКО-ПОПУЛЯЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

ИЗОФЕРМЕНТЫ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Изучение генетики вида начинается с изучения генетики признаков. Признак при этом рассматривается как маркерный фенотипический показатель единицы дискретности наследственности. В качестве признака выбирается показатель, легко учитывающийся в реализации по фенотипу. По признаку можно судить о наличии и функции гена. Электрофоретические варианты изоферментов оказались удобными признаками-маркерами в генетических исследованиях. Генетике изоферментов высших растений посвящены работы Скендейлиоса [148], Е. В. Поляковой и С. И. Малецкого [44], А. В. Титова [57], Т. С. Фадеевой [58]. Р. К. Левонтин [31] отмечает, что растениям, как материалу для изучения генетической изменчивости, пока уделяли очень мало внимания, хотя растения, с их бесконечным разнообразием типов размножения, с наличием гаплоидных, диплоидных и полиплоидных тканей, крайне интересны для сравнительных исследований, позволяющих выделить факторы, влияющие на изменчивость аллоферментов. На растениях гораздо легче, чем на животных, проводить популяционные эксперименты как в природе, так и в искусственных условиях.

Как уже говорилось, изменчивость каждого белка и фермента обусловлена расщеплением аллелей в каждом локусе. Поэтому можно вычислить частоты аллелей в каждом локусе и, следовательно, гетерогенность популяции [31]. Для определения того, что две разные полосы электрофореграммы, обнаруженные у двух особей, относятся к ферментам, кодируемым аллелями одного гена, необходимо произвести лишь одно скрещивание и проделать анализ потомства. Если эти две полосы дадут менделевское расщепление 1 : 2 : 1 (гомозигота быстрая : гетерозигота : гомозигота медленная), то рассматриваемые аллоферменты кодируются аллелями одного гена [93, 55]. Более быстрый и простой метод генетического анализа хвойных растений предлагают Бартельс и Бергман [68, 66]. Этот метод ценен тем, что при наличии гаплоидных и диплоидных тканей обнаруживается корреляция между разбросом изозимного фенотипа и раз-

делением генов в гаплоидном эндосперме семян свободноопыляемых деревьев, т. е. наличие двух типов спектров у гаметофитов одного и того же дерева позволяет сделать заключение о гетерозиготности дерева по этому признаку, а обнаружение только одного типа — о его гомозиготности. Следовательно, изучение спектров изоэнзимов гаплоидных тканей позволяет увидеть аллельные вариации этих энзимов, так как не все электрофоретические варианты изоферментов наследуются, т. е. являются аллоферментами или аллозимами. Более подробная интерпретация работ Бартельса и Бергмана дана у Л. Я. Полозовой [40].

Ферет [86] показал, что изоферменты пероксидазы наследуются у потомства ели, которое было получено посредством свободного и контролируемого опыления. Набор изоформ был больше в семьях, произошедших от свободного опыления, но, несмотря на наблюдаемую изменчивость, изоферменты пероксидазы находятся под генетическим контролем.

Ряд работ касается характера и специфики наследования различных типов ферментов и выделения полиморфных локусов. Так, Линдквист и Рудин [117] анализировали изоферментную изменчивость по четырем полиморфным локусам в 11 популяциях ели, произрастающей в Швеции. Основная изменчивость приходилась на локусы эстеразы и кислой фосфотазы. Ранее Линдквист [116] изучал наследование лейцинаминопептидазы у потомства шести материнских деревьев после самоопыления и после семи различных скрещиваний. Показано, что в хвое материнских деревьев имеются две электрофоретические зоны *A* и *B*. В потомстве найдена зона *B*, состоящая из трех аллелей (B_1, B_2, B_3). Конкл [74] исследовал потомство 16 контрольно-опыляемых семей. Выявлен один локус для алкогольдегидрогеназы и два локуса (с двумя аллелями на локус) для лейцинаминопептидазы. Подобная работа проведена Копесом [78] с использованием изоферментов лейцинаминопептидазы и пероксидазы, выделен из восьми полос пероксидазы только один аллозим с относительной подвижностью от 0,44 до 0,49.

Полиморфизм сосны обыкновенной оценивался по четырем сцепленным локусам эстеразы на примере двух популяций [45]. Наследование сцепленных локусов показано также для кислой и щелочной фосфотазы. Аллели же локусов лейцинаминопептидазы, по данным В. А. Духарева [9], наследуются независимо.

Адамс и Джоли [63] исследовали клоны сосны ладанной (*P. taeda* L.) и обнаружили значительную генетическую изменчивость. Двенадцать из пятнадцати исследованных локусов были полиморфны, причем на каждый локус приходилось в среднем три-четыре аллели. Более 25 % полиморфных локусов оказались гетерозиготными у каждого изученного образца. На основании аллозимных генотипов можно было идентифицировать 47 из 50 клонов, что свидетельствует о возможности использо-

вания аллозимов в качестве маркеров в селекционных программах. Аллозимные варианты гаплоидной и диплоидной ткани. сосны ладанной в 10 ферментных системах контролировались по меньшей мере 17 локусами [64].

В эндосперме гетерозиготных клонов было обнаружено по одной зоне активности ферментов глутоматдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, каждая из которых контролировалась одним локусом. Две зоны активности ферментов лейцинаминопептидазы, фосфоглюкоизомеразы, фосфоглюкомутазы и глутамат оксалоацетат трансаминазы детерминировались двумя локусами. Третий локус, кодировавший глутамат оксалоацетат трансаминазу, был активен только в зародыше. Две зоны ферментативной активности были выявлены также для ферментов малатдегидрогеназы и кислой фосфотазы, которые, по-видимому, контролировались двумя локусами. Верхняя зона малатдегидрогеназы, а также единственная зона активности, наблюдаемая для аконитазы и изоцитрат дегидрогеназы, были представлены одной инвариантной полосой и, возможно, кодируются одним локусом. В трех гетерозиготных комбинациях выявлены отклонения в характере расщепления, причем нехватка отдельных аллелей наблюдалась у потомства нескольких родительских деревьев.

У другого вида сосны (*Pinus rigida* Mill.) изучалось наследование восьми полиморфных ферментных систем, кодируемых 14 локусами [118]. Показано моногенное наследование ферментов изоцитрат дегидрогеназы и аконитазы. Двумя локусами кодируются 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, фосфоглюкомутаза и лейцинаминопептидаза. Глутамат оксалоацетат трансаминаза контролируется двумя тесно сцепленными локусами, так как на электрофореграммах обнаружено три зоны активности.

Подобные исследования проведены в Швеции на примере сосны обыкновенной. Так, Рудин и Екберг в своих ранних работах использовали три типа ферментов для оценки генотипической изменчивости с целью выбора лучших генотипов для семенных плантаций [138, 139]. Ими в дальнейшем выделены: для кислой фосфотазы и алкогольдегидрогеназы — два локуса, эстеразы — один, глутамат оксалат трансаминазы — три, лейцинаминопептидазы и малатдегидрогеназы — два [137]. Было изучено взаимодействие аллельных изоэнзимов по 12 локусам в эндосперме семян сосны обыкновенной. В анализ были взяты 48 различных пар для проверки связей и возможности построения генетических карт. Выявлено, что локус лейцинаминопептидазы связан с локусом алкогольдегидрогеназы. Были обнаружены три дерева с двойными гетерозиготами, которые показали высокую значимость связей по этим локусам. Расстояние максимального сходства по карте равнялось 32,8 сМ. Связь между локусами глутамат оксалат дегидрогеназы и лейцинаминопептидазы определялась путем анализа макрогаметофитов шести

деревьев. Среднее расстояние по карте в этом аспекте было 15,7 сМ, а оценка максимального сходства — 15,5. Между этими двумя локусами наблюдаются перестройки и в связи с этим большая изменчивость. Связь между локусами глутамат оксалат дегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы была обнаружена лишь у одного дерева, но расстояние по карте было велико — 39,1. Таким образом, обнаружено, что 7 из 12 локусов взаимосвязаны, что является нежелательным. Для изучения перекреста оказалось необходимым выделить особи, у которых было по три гетерозиготных локуса, и такие деревья найдены. Перекрест оценивали по коэффициенту соответствий, который определяли как отношение между наблюдаемой частотой двойных перестроек. Авторы выражают уверенность, что после уточнения расшифровки изоферментов макрогаметофитов можно будет составить точные генетические карты для хвойных растений.

Такого же типа исследования были проведены в Канаде [176] на примере ели ситхинской (*Picea sitchensis* Carr.) и дугласовой пихты (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco) [83]. Популяции ели оценивались по 24 локусам, а пихты по 27, из них 18 локусов оказались полиморфными. Все полиморфные локусы были объединены в три класса по их гетерозиготности. Мера генетической изменчивости (ожидаемая пропорция гетерозигот на локус и на популяцию) определялась по формуле: $h=1-\Sigma P_i^2$, где P_i — частота i-й аллели. Эта величина приведена для 18 полиморфных локусов.

Идентифицировано три полиморфных генных локуса рибонуклеазы дугласовой пихты, два локуса для сосны обыкновенной и один локус для ели обыкновенной. Фосфодиэстераза у всех этих видов контролируется одним локусом, множественные аллели которого обнаружены для ели и пихты [124]. Подобные работы проведены на примере цитрусовых [165, 159], камелии [169] и видов шелковицы [91].

В несколько ином плане велись исследования Снайдером и Хамакером [158]. Они изучили наследование отдельных изоферментов пероксидазы у двух видов сосны. Взято потомство от диаллельного скрещивания от шести родителей. В обоих видах имелось 11 полос и велось обследование потомства по различному сочетанию изоформ. Выявлено две изоформы пероксидазы (№ 10 и 11). Их наследуемость не менялась в зависимости от генетического фона отдельных родителей скипидарной сосны. У сосны длиннохвойной выявлена полоса № 2, которая имела нормальное распределение. Наследуемость других изоформ более сложная, и часто ожидаемые и наблюдаемые частоты не вполне соответствуют друг другу.

Ферет и Стейрс [85] изучали наследование изоферментов пероксидазы в листьях родителей вяза приземистого (*Ulmus pumila* L.) и их гибридов. Взято шесть родительских деревьев и 62 гибридные особи. Среди потомства 13 особей имело изоэнзим

с Rf 30, в 36 — изоэнзим с Rf 35 и в 13 особях присутствовали изоэнзимы с Rf 30 и 35. Ожидаемое число особей с каждым из уровней изоэнзимов составило 15, 5, 31 и 15. В этом случае получается, что изоэнзимы контролируются однолокусной трехаллельной генетической системой.

Проанализировано наследование лейцинаминопептидазы и кислой фосфотазы у бука [178], исследованы потомства 15 свободно опыляемых и двух контролируемых семей. Идентифицировано два полиморфных локуса с 4-мя аллелями в каждом.

Уиттер и Ферет [172, 173] провели исследование природных и созданных популяций виргинской сосны (*P. virginiana* Mill.) с целью выяснения изменения генетической структуры популяций в культуре. Изучалось наследование глутамат оксалоацетат трансаминазы, эстеразы и кислой фосфотазы в эндоспермах. На один эндосперм было обнаружено от 9 до 12 изоэнзимных лент эстеразы и от 2 до 5 кислой фосфотазы. Фенотипы этих систем были сложными, состоящими из множественных изоэнзимов с различной интенсивностью окрашивания. Во всех случаях среди семян любого из деревьев фенотипы имели соотношение 1 : 1, чем доказывалось существование генетической основы изоэнзимов в тканях эндосперма. При интерпретации полученных данных возник вопрос: являются ли наблюдаемые фенотипы продуктами одного локуса или множества связанных локусов? Обнаружилась невозможность сравнения вариантов интенсивности (как генетически эквивалентных) между отдельными деревьями. Анализ фенотипического распределения по гаплоидной ткани эндосперма достаточен для демонстрации наследуемых различий между изоэнзимами, но он не достаточен для различения фенотипов изоэнзимов, которые получаются из одного и многих связанных локусов. Следовательно, множественные изоэнзимы являются производными одного генного локуса при отсутствии независимого распределения среди множественных изоэнзимов или при появлении рекомбинантных фенотипов. Если наблюдаемые уровни изоэнзимов являются действительно производными одного генного локуса, тогда необходимо определить, как формируются множественные изоэнзимы. Авторы считают, что по частотам аллелей между природной и созданной популяциями различий нет, но соотношение генотипов различно (в частности, отмечается, что в искусственных популяциях меньше особей с промежуточной гетерозиготностью). Создание улучшенных семенных питомников уменьшает изменчивость, свойственную природным полиморфным локусам. В связи с этим важно определить роль полиморфизма у данных видов и установить необходимость поддержания его в искусственных популяциях.

Имеется ряд работ, в которых изоферменты использованы для установления доли влияния перекрестного опыления. Так, при анализе глутамат оксалоацетат трансаминазы у потомства двух гомозиготных деревьев сосны обыкновенной показано, что

перекрестное опыление составило 37 % для одного дерева и 39 — для другого [109]. Оценка степени переопыления у дугласовой пихты проведена с помощью однолокусного и многолокусного методов. Оба метода показали, что переопыление на семенной плантации в естественных насаждениях составляло 90 %, а самоопыление — 10 %. Показано также, что частота переопыления варьирует в зависимости от яруса кроны, будучи выше в верхней ее части, и от дерева к дереву [152]. На основании исследования эстераз у желтой сосны (*P. ponderosa* Dougl.) выявлена степень фертильности пыльцы [114].

ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

По современным представлениям, популяция растений — внутривидовая структурная единица, характеризующаяся определенным генотипическим составом особей, связанных между собой закономерными взаимоотношениями. В этом смысле популяция может рассматриваться как единая саморегулируемая целостная система. Чтобы популяция могла существовать, она должна иметь возможность сохранять приспособленность к среде, изменяя свою генетическую структуру при неизбежных изменениях среды. В популяциях диплоидных организмов может сохраниться в гетерозиготном состоянии огромный запас генетической изменчивости, так как для фенотипического проявления признака вполне достаточно нормальной активности одного аллеля данного локуса. Средняя жизнеспособность гомозигот равна 22,4 %, т. е. значительно ниже нормальной жизнеспособности, равной 33,3 % [36]. Таким образом, поддержание определенного уровня гетерозиготности в популяции является необходимым. С появлением электрофоретического метода изучения изоферментов стало возможным в широком плане оценить степень гетерогенности популяций. В последнее время появилось много работ в этом направлении по различным ферментным системам. Мы коснемся лишь исследований генетической изменчивости популяций древесных растений. Имеющуюся литературу по данному вопросу сгруппируем по видам растений.

Род *Pinus* L. В европейской части СССР изучены отдельные популяции сосны обыкновенной (*P. silvestris* L.) сотрудниками лаборатории лесоведения АН СССР под руководством Л. Ф. Правдина. В. А. Духаревым на примере двух изолированных популяций показано, что по частоте встречаемости общих аллелей лейцинаминопептидазы, эстеразы и фосфотазы они не отличаются [9]. Различия выявлены только по редким аллелям. Например, мушмарьинская популяция отличалась от звенигородской наличием дополнительного аллеля A_3 арилэстеразы [7]. Две другие популяции сосны обыкновенной из Ленинградской области и Литовской ССР отличались по частоте встречаемости изоэнзимов эстераз, особенно в области Rf 40—49, 80—89 и 50—59 [41]. Пруз-Гловацкий и Швейковская [132] изучали популя-

ции сосны горной (*P. montana* Mill.) и обыкновенной по пяти изоферментным системам. Три из них оказались мономорфными (малатдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, тетразолийоксидаза). Явных различий между популяциями по изоферментам эстеразы и пероксидазы не обнаружено. Шмидт [153] на примере 11 популяций сосны обыкновенной в Польше по изоферментам каталазы определил уровень гетерогенности, который варьировал от 0,35 до 0,6; во всех популяциях встречалось от трех до шести разных фенотипов каталазы. Выделено четыре популяции, которые по всем показателям являлись лучшими в Польше, они же и отличались наивысшей гетерогенностью. Подобные данные [108] получены на примере восьми популяций сосны обыкновенной по изоферментным системам. Была изучена [98] географическая изменчивость сосны обыкновенной, охватывающая почти весь ареал на европейско-азиатском континенте, по трем изоферментным системам — пероксидазе, глутаматдегидрогеназе и эстеразе. По пероксидазе выявлены различия даже среди экотипов.

В Северной Швеции Расмусон и Рудин [35] изучали экотипы сосны обыкновенной и клоны, выращенные в различных районах. Показано, что 11 клонов из 16 являются идентичными по спектрам эстеразы, пять — различаются по интенсивности полос. Получены заметные различия отдельных популяций сосны черной (*P. nigra* Arn.) по изоферментам глютамат оксалат трансаминазы [72]. По составу изоферментов подвид *pallasiana* оказалось возможным отличить от подвида *nigricans*, тогда как с помощью других методов этого сделать не удавалось.

Обнаружена значительная гетерогенность в популяциях сосны желтой (*P. ponderosa* Dougl.) по 23 изоферментным локусам [120]. Среднее число гетерозигот на локус равно 0,138. Генетическая вариабельность, показывающая разнообразие между популяциями, равна 12 %; высокая гетерогенность между популяциями объясняется генетическими различиями.

На побережье Японского моря изучено шесть местных популяций сосны Тунберга (*P. thunbergii* Parl.) по изоферментам пероксидазы. Различия найдены по частоте встречаемости отдельных полос. Так, средняя частота полосы *Q* в популяциях равна 8,8 %, при этом в популяциях Восточной Японии она составляет 22,5 %, а в Западной — 70 % [94].

Род *Picea* Dietr. На территории СССР ель занимает обширный ареал. Здесь имеются ель европейская (*P. abies* (L.) Karst.), сибирская (*P. obovata* Ldb.) и их гибридные формы. Л. Я. Полозова и И. В. Санина [42] изучали популяции ели из пяти районов по изоферментным спектрам эстеразы. Было рассчитано генетическое расстояние и установлена доля участия ели сибирской и ели европейской в зоне интрогрессии. Характерными спектрами отличались алтайские популяции, состоящие в основном из ели сибирской.

Я. Е. Кавац [15, 16, 18] охарактеризовал 16 популяций ели европейской в Латвийской ССР по 11 локусам пероксидазы. В каждой популяции исследовано от 60 до 120 особей. Изучены три популяции различного географического происхождения из Румынии, Финляндии и Латвии. Однолетние сеянцы отличались по частоте изоформ в зонах 16—32 и 34—48. Различий в зонах Rf 16, 20, 26 и 30 не установлено. По числу изоформ в зоне 16—32 более гетерогенной оказалась популяция из Румынии — обнаружено пять фенотипов пероксидазы с числом изоформ от двух до шести, популяции из Финляндии и Латвии имели четыре и три фенотипа с тремя — шестью изоформами соответственно. В зоне Rf 34—48 популяции из Румынии и Финляндии имеют четыре фенотипа с числом изоформ от двух до пяти, а популяция из Латвии — три фенотипа пероксидазы с числом изоформ от двух до четырех. Данные показывают, что для популяции из Финляндии характерно повышение среднего числа изоформ, особенно в зоне Rf 16—32. У латвийской популяции выявляется действие отбора в пользу фенотипов со средними значениями числа изоформ. В изученных ленинградских и латвийских популяциях отсутствует географический эффект. В зоне Rf 34—48 проявляется различное направление естественного отбора — увеличение частот гетерозиготных фенотипов в менее благоприятных условиях роста родительских популяций и более близкое к нормальному распределению фенотипов изоформ пероксидазы в лучших условиях [17].

В Финляндии Тайгерстедт [163] проанализировал две разграниченные популяции ели европейской по трем различным системам энзимов — эстеразы, лейцинаминопептидазы и кислой фосфотазы; выявлена значительная генетическая изменчивость аллозимов.

Девять популяций ели европейской из северной и центральной части ареала изучены Бергманом [67—69]. Между этими популяциями рассчитан генетический интервал по четырем изоферментным локусам. Значительные различия замечены между скандинавскими и среднеевропейскими популяциями. Так, аллель B_4 лейцинаминопептидазы отсутствовал у всех скандинавских популяций, в то время как в среднеевропейских он всегда наблюдался. Отношение частот A_1/A_2 лейцинаминопептидазы у северных популяций было выше 1, а у европейских ниже 1. Между скандинавскими популяциями различия имелись по кислой фосфотазе. Так, на севере Финляндии сумма частот встречаемости локусов B_1+B_2 составляла 60 %, а на юге — 5%. Почти неизменная частота локуса эстеразы А у финских семян позволила по этому признаку отличить их от шведских. Таким образом, анализируя партии семян неизвестного происхождения и сравнивая частоты встречаемости изоферментов с известными данными, можно определить местопроисхождение семян.

По частоте встречаемости особей с варьирующим числом

изоэнзимов Кортумак [104] разделил словацкие популяции ели. Наиболее выделяющимся по составу неспецифической эстеразы был экотип с южной границы ареала ели; в отношении состава пероксидазы такими же показателями обладал экотип из Нижних Татр. Эл-Кэссеби [83] изучал генетическую изменчивость 24 ферментных локусов в 10 популяциях ели ситхинской. Средний уровень полиморфных локусов на популяцию составил 0,51±0,02, а средний уровень гетерозиготных локусов на растение — 0,15±0,03. Восемь процентов генетического разнообразия приходилось на межпопуляционную, а 92 % на внутрипопуляционную дифференциации. Среднее генетическое расстояние составило 0,014, что свидетельствует об очень незначительной дифференциации географического происхождения. О незначительных различиях между популяциями ели приморской (*P. sithensis* Carr.) и ели голубой (*P. pungens* Engelm.) пишут Копес и Беквитц [79]. Шесть популяций ели приморской были идентичны при уровне достоверности 0,93, а ели голубой — при 0,69. Гибридные древостои обладали средними частотами изоферментов между частотами чистых древостоев, с некоторым уклонением в сторону ели приморской. Большая часть полуострова Кенаи была занята гибридными популяциями, содержавшими одновременно гены ели приморской и голубой.

Другие виды хвойных. На территории СССР, кроме сосны и ели, исследовалось два вида лиственницы — даурская (*Larix gmelinii* Rupr.) и сибирская (*L. sibirica* Ldb.). А. Я. Ларионова [26, 29, 30] в десяти интродуцированных географических образцах выявила степень полиморфизма изоформ пероксидазы и эстеразы. Всего обнаружено 27 зон пероксидазы и 13 зон с эстеразной активностью. Число полос пероксидазы в спектрах отдельных деревьев варьирует от шести до 14, число зон эстеразы несколько ниже, от двух до восьми. Степень сходства между популяциями по частотам зон ферментов находится в прямой зависимости от их географической общности. Так, Хакасская, Горно-Алтайская и Южно-Ангарская популяции лиственницы сибирской более сходны друг с другом, чем с Ангаро-Верхнеленской и Забайкальской популяциями, хотя и обнаруживают различия по другим признакам. Популяции лиственницы даурской — Хилокская и Чернышевская,— очень близкие по морфологическим характеристикам, достаточно четко различаются между собой по частотам встречаемости электрофоретических форм ферментов. Популяции даурской лиственницы по пероксидазе характеризуются более высокой степенью гетерогенности. По эстеразе степень гетерогенности сходна у обоих видов.

Популяции пихты белой (*Abies alba* Mill.) в центральной Европе (Чехословакия) изучал Кортумак [106] по девяти локусам шести ферментных систем. Выделено два локуса лейцинаминопептидазы — А и В. Локус А состоял из восьми аллелей, а локус В — из семи. Различия между четырьмя популяциями

отмечались по различной частоте встречаемости отдельных аллелей. Так, аллели A_2, B_1, B_2, B_4, B_5 и B_6 были общими для всех популяций. Значительные различия были по эстеразе: выделено два локуса по пять аллелей в каждом. Средняя гетерозиготность исследованных популяций колебалась от 0,446 до 0,554. Мера генетических различий отдельных популяций, вычисленная на основе частоты отдельных генов, указывает на значительное родство популяций Жарновица — Нова Седлица, Жарновица — Штитник и Поприд — Нова Седлица, в то время как популяции Жарновица — Поприд и Нова Седлица — Штитник более генетически дифференцированы. Самые большие различия выявлены между популяциями Поприд и Штитник.

На Японских островах изучался туевик (*Thujopsis delobrata* Sieb. et Zucc.), пихта сахалинская (*A. sachalinensis* Mast.), криптомерия (*Cryptomeria japonica* Don.) и лиственница японская (*L. leptolepis* Gord.) в естественных лесах. Сакаи [141] предложил для изучения генетической изменчивости индекс идентификации клонов в лесу. Оценка признака проводится по трем (+1,0 и —1) или двум классам (1 и 0), в зависимости от признака. Для исследований было выбрано два изолированных участка леса с туевиком, разделенных десятикилометровым проливом [142]. В каждом отдельном дереве оказалось 15—16 изоэнзимов пероксидазы, а всего выделено 42 полосы. Делается вывод о том, что популяции на данных участках генетически различаются. В дальнейшей работе Сакаи и Миязаки [143] поставили цель — выявить в этих естественных лесах клоны и семьи; все деревья были нанесены на карту с описанием основных морфологических показателей. У близкорастущих деревьев электрофореграммы пероксидазы были сходными, в связи с чем сделан вывод, что генетически родственные деревья растут близко, в радиусе 20—25 м, образуя так называемые «пучки». Естественный участок леса из туевика оказался более гомозиготным, чем предполагалось ранее.

Матсуура и Сакаи [122] на острове Хоккайдо изучили семь популяций пихты сахалинской по изоферментным спектрам пероксидазы. Полученные данные они трактуют с позиций расселения пихты.

В начале 70-х годов в Японии была заложена плантация одиннадцати экотипов лиственницы японской, и в 10-летнем возрасте она анализировалась по изоферментным спектрам пероксидазы [164]. Был рассчитан индекс генетической дифференциации, и оказалось, что экотипы, происходящие с горы Хузизан, почти сходны по своей генетической природе, а три экотипа с горы Азамаяма от них отличаются. Наибольшие различия замечены между экотипами гор Хузизан и Ренгедейк.

Девять экотипов (107 образцов) дугласии (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco.) изучались в Калифорнии, в штатах Вашингтон, Орегон и на острове Ванкувер [175]. Географиче-

ские различия оказались статистически значимыми только для локуса эстеразы-В. Около половины междуэкотипных отклонений связано с повышением высоты местности. Отмечается пониженная гетерозиготность в популяциях на большой высоте по локусу глутамат оксалоацетат трансаминазы-В. По эстеразе-С не выявлено какой-либо взаимосвязи с высотой. Таким образом, гетерозиготность уменьшается с увеличением высоты и (в меньшей степени) широты. Обнаружено, что пары экотипов острова Ванкувер вниз к Орегону дифференцируются параллельно широте; из этого следует, что гены не переносились на большое расстояние, а двигались постепенно через серии субпопуляций. Связь с широтой отражает важную роль макрогеографических градиентов окружающей среды в создании генетических различий популяций дугласии. Между четырьмя калифорнийскими популяциями четких различий не выявлено. Самые большие различия обнаружены в двух экотипах, разделенных расстоянием около 30 км и сильно различающихся микрорельефом и вследствие этого — температурным режимом (прибрежный и внутриматериковый экотип). Делается вывод, что генетическая дифференциация в виде генетического расстояния между экотипами более или менее параллельна географическому расстоянию между ними.

Джен и Малли [177] изучили 11 естественных популяций дугласовой пихты в Британской Колумбии по 21 локусу различных ферментных систем. Определена гетерозиготность для каждого локуса. Среднее генетическое расстояние между парами популяции составило 0,0037. Пространственная изоляция является существенным фактором популяционной дифференциации. Пихта Дугласа — это вид, который отличается большим разнообразием морфологических и физиологических характеристик не только между отдаленными популяциями, но и в пределах небольшого района. Мухс [125] изучил 14 экотипов из коллекции IUFRO. Сборы семян проведены почти в тех же районах — в Британской Колумбии, в штатах Вашингтон, Орегон и на острове Ванкувер. Исследовались двухлетние сеянцы по изоферментам пероксидазы. Обнаружено 11 фракций пероксидазы и определена частота их встречаемости в каждом экотипе, вычислена мера различия. Частоты трех изоформ сильно варьировали между экотипами, фракции № 2 и 9 являлись общими почти для всех растений. Мера различия достигала значительной величины в 85 парах экотипов, только шесть пар были неразличимы при пятипроцентном уровне значимости.

Адамс [62] изучил 28 популяций можжевельника (*Juniperus aschei* Buchn.), имеющего ограниченный ареал от Сев. Мексики до юга Миссури. Электроморфы пероксидазы обрабатывали как обычные качественные химические признаки. Внутрипопуляционную изменчивость определяли путем среднего сходства коэффициента фенетической изменчивости. Отмечается низкая вариабельность внутри популяций можжевельника.

Лиственные древесные растения. Популяционные исследования с использованием изоферментов проведены на небольшом числе видов лиственных древесных пород. Так, Пайне и Файрбротерс [128] изучили в Нью-Джерси восемь природных популяций березы тополелистной (*Betula populifolia* Marsh.), определяя протеины, лейцинаминопептидазу и эстеразу в пыльце. Эстераза представлена 6—10 изоформами, межпопуляционное сходство составило 86,5 %. Лейцинаминопептидаза представлена тремя изоферментами (в одном случае количество изоферментов варьировало от двух до четырех), различий между популяциями по этому ферменту не обнаружено. Выявлена наибольшая внутрипопуляционная изменчивость в центре ареала, вследствие чего делается вывод о дрейфе генов из центральных популяций к крайним.

По трем локусам изоферментов исследовались 11 южных и две северных популяции бука лесного (*Fagus silvatica* L.) во Франции [161]. Выделены два аллозима пероксидазы и один аллозим глутамат оксалоацетат трансаминазы, состоящий из двух аллелей. Один локус пероксидазы состоит из двух аллелей, другой — из трех. Показано, что на частоту встречаемости аллелей влияет климат. Первый локус пероксидазы зависит от режима питания, а второй — от температурного режима. Во Франции изучены четыре популяции фиговых деревьев (*Ficus carica L.*) по изоферментам эстеразы и кислой фосфотазы [166]. Частота аллеля $A^{1,1}$ кислой фосфотазы увеличивается с севера на юг; в горных и в самых северных популяциях этот аллель вообще не встречается, тогда как на юге, в Алжире, его частота достигает 0,3. Для обоих локусов характерна очень низкая частота гетерозиготных особей. Делается вывод, что популяции фигового дерева разделены на субпопуляции, изолирующим барьером является разное время цветения.

В Швеции изучено два вида дуба — скальный и черешчатый (*Quercus petraea* Liebl., *Q. robur* L.) [126]. Найдено 11 различных изоформ пероксидазы, распределенных по четырем группам, одна из которых найдена лишь у дуба скального и в интрогрессивных популяциях. Внутривидовая изменчивость зимограмм очень высокая, что свидетельствует о генетической гетерогенности популяции дубов. Генетическая гетерогенность выявлена у алычи (*Prunus divaricata* Ldb.) М. М. Магомедмирзаевым и П. М. Муратчаевой [32]. Популяции алычи Предгорного Дагестана, Зап. Кавказа и Закавказья отличались по спектрам пероксидазы от популяций из внутреннего Дагестана.

Таким образом, исследования генетической структуры популяций древесных растений с помощью изоферментных тестов развернулись достаточно широко. Охвачено много древесных пород, испытано большинство ферментных систем. Получены многочисленные данные по генетической дивергенции между популяциями одного и того же вида.

Глава 3

ИЗОФЕРМЕНТЫ В ХЕМОСИСТЕМАТИКЕ РАСТЕНИЙ

В последнее десятилетие исследование электрофоретических вариаций ферментов стало широко применяться в хемосистематических исследованиях для разграничения близких видов. Но не все ферментные системы дают в данном случае положительный эффект. Так, польские исследователи Прус-Гловацкий и Швейковская [132] применили пять ферментных типов для разграничения видов сосны. Не было обнаружено различий по трем ферментным системам — малатдегидрогеназе, алкогольдегидрогеназе и тетразолийоксидазе. Системы эстеразы и пероксидазы показали значительную вариабельность как внутри, так и между видами. Имелось семь полос альфа-эстераз у сосны обыкновенной и девять полос у сосны горной, из них выделено две видоспецифичные полосы пероксидазы и эстеразы для сосны горной и одна — для сосны обыкновенной.

Две ферментные системы — пероксидаза и эстераза — были применены А. Я. Ларионовой [27] для разграничения видов лиственницы — даурской и сибирской. Гетерогенность эстеразы оказалась одинакова для обоих видов во всех популяциях, лишь пероксидаза была более подходящей для таких исследований. Есть и другие исследования, свидетельствующие о возможности применения пероксидазы для хемотаксономических исследований. Так, Снайдер и Хамакер [158] проанализировали 619 экземпляров сосны ладанной (*P. taeda* L.) и сосны длиннохвойной (*P. palustris* Mill.) и выявили 11 изоферментов пероксидазы, девять из которых являются общими для обоих видов. Видоспецифичными полосами были № 1 и 8. Так, полоса № 8 всегда отсутствовала у сосны длиннохвойной, а полоса № 1 — у сосны ладанной. Подобные данные получены [129] при сравнении десяти ферментных систем трех видов вяза. Видоспецифичной оказалась только пероксидазная система, а все остальные показали малую вариабельность. С помощью пероксидазы удалось дифференцировать виды бука. Для каждого из семи видов были выделены видоспецифичные аллозимы [161]. По пероксидазным спектрам проанализированы следующие растения: ель, лиственница, можжевельник, туя, тополь, береза, барбарис, калина, бе-

ресклет, клен, сирень, бирючина [51]. В результате исследований обнаружено, что фракционный состав восьми видов берез неодинаков и колеблется от пяти до восьми. Различий по изоферментам пероксидазы у барбариса амурского и тибетского не обнаружено, но у бересклетов различия очень ясные. Так, у бересклета американского и европейского в спектре 15—16 компонентов, а у обыкновенного и Маака — 7—9.

Очень разнообразен качественный состав изоферментов 14 изученных видов клена, число полос колеблется от 3 до 12. Наибольшее количество полос у клена ясенелистного авторы объясняют его адаптационными способностями. У сосны обыкновенной также 12 полос, это наибольшее число по сравнению с другими видами сосен. Качественный состав изоферментов пероксидазы совершенно иной у ели, туи, лиственницы, сосны. Большое разнообразие спектров получено у 10 видов тополей. Различия таковы, что их даже трудно уместить в рамки видов. Однако все эти данные нуждаются в повторной проверке, так как неучтенная авторами погодичная изменчивость очень значительна. Кортумак [105] исследовал восемь видов рода *Abies* Hill. на содержание изоферментов эстеразы и пероксидазы. Были выбраны модельные деревья и с них собраны семена, в течение двух лет проводились исследования отдельно в эндосперме и зародыше. Количество полос эстеразы в одном году было от четырех до десяти, в другом 5—10; появились новые легкоподвижные фракции. Четыре вида пихты близки по изоферментным спектрам эстеразы — пихта белая (*A. alba* Mill.), кавказская (*A. nordmaniana* (Stev) Spach.), киликийская (*A. cilicica* Carr), алжирская (*A. numidica* De Lannoy), которые в отличие от пихты греческой (*A. cephalonica* Loud) и пихты испанской (*A. pinsapo* Boiss.) содержали дополнительные полосы из менее интенсивно окрашенных изоэнзимов. Особенно сильно отличалась от остальных видов пихта одноцветная (*A. concolor* v. *loviana*), спектр ее мало походил на другие изученные виды, изоэнзимы резко различались по их подвижности. Межвидовые различия в разные годы проявляются в разной степени. Пероксидаза по сравнению с неспецифичной эстеразой оказалась менее разнородной, и виды разделились на две группы. Первая группа видов пихты — белая, кавказская, греческая и киликийская — имели в своем спектре пять изоэнзимов и отличались от зимограмм второй группы (испанской, алжирской и одноцветной), не имевших легкоподвижных фракций, но получивших добавочные энзимы. В следующем году получены в основном сходные энзимограммы, состоящие также из пяти изопероксидаз с почти одинаковой подвижностью, и только в двух видах пихт — греческой и испанской — было четыре фракции. Межвидовых различий по энзимограммам лактатдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы не получено. Неясную дифференциацию дали энзимограммы малатдегидрогеназы. Полученные данные по энзимам

в основном соответствуют систематическому подразделению рода *Abies*, предложенному Крюссманом [111].

Пэйшоу и Стоцкий [130] исследовали семена восьми видов хвойных по энзимограммам эстеразы, лейцинаминопептидазы и пероксидазы. Отмечается, что лейцинаминопептидаза имеет филогенетическое значение. Всего найдено восемь различных полос этого фермента, из которых у всех исследованных видов сосны одинаковы три полосы, у видов ели — две трудноподвижные фракции, остальные изоформы варьируют между отдельными видами. Изоферменты эстераз значительно меняются у отдельных видов и, по мнению авторов, не имеют систематического значения (число полос варьирует от 5 до 16). Пероксидазы дают от трех до девяти полос, характерных для каждого отдельного вида, но общих полос не обнаружено. Так, по данным Хадаковой [89, 90], для рода *Allium* L. может быть успешно применена оценка по эстеразе, особенно если использовать электрофокусирование в полиакриламидном геле. Исследованы семена 12 видов из 5 секций. Всего в роде найдено 26 полос (для каждого вида характерно от 8 до 17).

Ямомото и Плитман [174] использовали четыре ферментные системы для характеристики 24 видов горошка. При сравнении полученных энзимограмм авторы не нашли какой-либо ясной общей филогенетической тенденции или систематической корреляции. Сходство энзимов не обязательно коррелирует с таксономическими показателями. Системы амилазы и эстеразы обнаружили большой полиморфизм по сравнению с глутамат оксалоацетат трансаминазой и могут быть использованы для идентификации видов и линий. Для разграничения 15 видов фасоли была использована эстераза и лейцинаминопептидаза [167], для видов капусты и горчицы — β-галактозидаза [170]. Д. Пеев и Н. Бабалькова для систематического изучения видов вероники применили глутамат-, алкоголь- и малатдегидрогеназы [38]. Изоферментные спектры этих систем дают возможность разграничения видов и подвидов.

Имеется ряд работ, в которых для хемотаксономических исследований использована только пероксидаза. Так, Эстербауэр [88], исследуя виды сосен, не нашел ясных различий между ними. Отмечено увеличение числа полос у пятихвойных сосен по сравнению с двуххвойными. Другие авторы [87] исследовали виды ели европейской, пихты белой и лиственницы европейской. Вследствие значительной вариабельности пероксидазных образцов идентификация видов по этому признаку затруднена.

Т. Ю. Иванькина также не получила ясных различий по изоферментным спектрам пероксидазы и эстеразы кедра сибирского, корейского и кедрового стланника [14]. Конклин и Смит [75] для 10 видов дурмана выявили видоспецифичные полосы. Изменение числа полос было меньше между видами внутри групп, чем между группами. Сравнение проводили исходя из показате-

ля Rf по гомологии полос. Приводится формула гомологичности. Подобные данные получены для видов осок [150], подорожника [82], табака [154], хризантемы [110], дурнишника [123]. Однако есть работы, в которых не удалось выделить видоспецифичные полосы пероксидазы и эстеразы. Таковы данные Смита [157]. Он исследовал 64 вида табака; было выявлено для всех видов 33 полосы (21 анодная и 12 катодных). Число полос пероксидазы в отдельных видах колебалось от 3 до 10, число эстеразных полос — от 3 до 15. Также не найдено ясных различий между видами дикой ржи [133] и овса [80].

Есть попытки применения изоферментов на уровне рода и выше. Наряду с белками были использованы дегидрогеназы для характеристики видов семейства бобовых [162]. Японскими исследователями [92] по изоферменту пероксидазы охарактеризованы виды семейства Moraceae. Они предложили формулу расчета индекса сходства зимограмм между видами $S = N_{cd}(N_c + N_d) \cdot 100$ (%), где N_c — число полос, общих для двух видов, а N_d — число полос, установленных для каждого вида.

Бакардиева приводит данные исследования изоферментов пероксидазы у растений различных филогенетических групп (водоросли, лишайники, папоротники, хвойные, одно- и двудольные) [65].

Наиболее перспективно, по-видимому, использование изоферментной методики для характеристики селекционных групп и сортов. Так, Бергманн [71] с помощью пяти ферментных систем охарактеризовал клоны тополей. Лейцинаминопептидаза, малатдегидрогеназа, глутамат оксалоацетат трансаминаза, эстераза и пероксидаза оказались стабильными в пределах клона; найдены различия у растений, относящихся к разным клонам. Изоэнзимы изучались у совместимых и не совместимых комбинаций привоя и подвоя в течение 27 месяцев после проведения прививки дугласии с целью установления причин возникновения антагонизма клеток для прогнозирования несовместимости. Наряду с анатомическими показателями использовали изоферменты пероксидазы и эстеразы [77].

Получены данные, свидетельствующие о возможности проведения сортовой идентификации на основании различий в изоферментных спектрах. При исследовании изоферментов пероксидазы, эстеразы, малатдегидрогеназы, цитохромоксидазы, фенолоксидазы и полифенолоксидазы идентифицированы сорта роз [112]. Вычислены коэффициенты подобия между всеми возможными комбинациями сортов. Проведена также идентификация сортов яблони [2], найдены специфические «гибридные» изоферментные зоны у гибридных сортов, а также рассчитана соразмерная корреляция между коэффициентом родства электрофоретических спектров сравниваемых форм растений. С помощью изофермента пероксидазы дифференцированы сорта груши [145]. Изучена изменчивость эстеразы и пероксидазы 127 сор-

тов и линий батата. Найдены четыре изоформы эстеразы, по которым можно различить сорта, и на основании частот встречаемости вычислены коэффициенты подобия, оказавшиеся высокими для китайской, местной японской и тайваньской групп и низкими для мексиканской и американской [102, 103].

Подводя итог литературному обзору, можно сделать вывод, что применение изоферментов наиболее перспективно при определении генетической дивергенции между популяциями одного вида и между видами одного рода, являющейся генетическим и биохимическим следствием видообразования, а также при изучении наследования признаков и выявления гибридного происхождения.

Глава 4

МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сосна обыкновенная (*P. silvestris* L.) занимает обширный ареал. На Урале она — одна из основных лесообразующих пород. С. А. Мамаев по морфобиологическим и анатомическим показателям выделил популяции и группы популяций этого вида в данном районе [34]. Для корректировки границ и объема описанных популяций в качестве маркера дополнительно использованы изоферменты пероксидазы хвои. При изучении межпопуляционной изменчивости необходимо было установить уровни варьирования изоферментных спектров. В связи с этим проведено поэтапное исследование форм внутривидовой изменчивости, разработанное С. А. Мамаевым [35]. В настоящей работе будут рассмотрены следующие формы изменчивости сосны обыкновенной по пероксидазе: эндогенная, сезонная, индивидуальная и географическая (межпопуляционная).

Эндогенная, сезонная и индивидуальная формы изменчивости исследованы на моделях, произрастающих в лесопарковой зоне вблизи г. Свердловска и относящихся (по природному районированию) к подзоне южной тайги. Для изучения географической изменчивости выбрано шесть участков. Самый северный район — г. Березово. Южный предел ареала сосны на Урале — Наурзумский бор в Казахстане (степная зона). Расстояние между крайними точками составляет 1400 км. Характеристика некоторых климатических и таксационных показателей дана в табл. 1.

Подробную методику выделения и идентификации изоферментов мы не приводим, поскольку она достаточно полно освещена в работах Л. И. Корочкина [22] и К. Н. Сарсенбаева [51].

Изоферменты пероксидазы определялись в полиакриламидном геле по методике, описанной венгерской фирмой «Реанал» (модель 69), с некоторыми изменениями. Угольный электрод заменен платиновым. Навеску (200 мг) растирали в холодной ступе с 2 мл трис-глицинового буфера, Ph — 8,3. В навеске определяли белок по Лоури и активность пероксидазы по Бояркину. Активность пероксидазы рассчитывали на 1 мг сырой ткани и 1 мг белка. В зависимости от содержания белка в навеске брали определенную вытяжку (так, чтобы в гель было внесено одинаковое количество белка). Центрифугирование проводилось при

Таблица 1

Географические координаты и некоторые климатологические данные опытных участков

Место взятия проб	Широта	Долгота	Средняя температура, °С			Годовая сумма осадков, мм	Ботанико-географическая зона и подзона
			годовая	января	июля		
Г. Березово Тюменской обл.	64°30′	62°	—3,8	—22,0	15,8	450	Северная тайга
Гайнский р-н Пермской обл.	60°17′	54°17′	0,4	—16,7	17,3	500	Средняя тайга
Ивдельский р-н Свердловской обл.	60°40′	60°26′	—0,1	—19,2	16,7	461	»
Пригород Свердловска	57°30′	63°43′	1,0	—15,6	17,3	469	Южная тайга
Брединский р-н Челябинской обл.	52°26′	60°21′	1,4	—17,4	19,3	250	Степная зона
Казахская ССР, Наурзумский р-н	51°	64°	2,3	—17,7	21,7	253	»

3000 об/мин в течение 15 мин при 0 °С. Электрофорез осуществлялся при нулевой температуре (в холодильнике). Гели окрашивали насыщенным раствором бензидина в коричневый цвет. После фиксации гелей определяли при подсвечивании (на хроматографическом столике) относительную подвижность изоэнзимов (ОЭП), затем гели подвергали денситометрированию. В качестве денситометра использовали микрофотометр МФ-2, двигатель СД-54 (2,24 об/мин) и милливольтметр постоянного тока Н-37. Индентификацию изоформ пероксидазы проводили посредством показателя Rf и специфики распределения на денситограмме. Каждой фракции фермента присвоен порядковый номер, это особенно необходимо для расчета встречаемости того или иного изоэнзима при характеристике популяционной и межпопуляционной изменчивости.

Проведение идентификации изоэнзимов только по значению Rf недостаточно, поскольку этот показатель зависит от многих факторов (температуры, чистоты реактивов, структуры геля и т. д.). В течение вегетационного периода значение Rf изменяется, вся колонка с изоферментами как бы раздвигается, увеличивается расстояние между отдельными фракциями. При учете только показателя ОЭП можно получить множество различных изоформ, поэтому дополнение таких данных денситограммой позволяет получить более ясную и точную картину идентификации изоферментов.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики. Рассчитывали коэффициент Пирсона X^2, для сравнения двух однородных эмпирических распределений (по Лакину [24]). Кроме того, определяли показатель сходства популяций r, по

Л. А. Животовскому [10], и степень генетической дифференциации между популяциями по методу, предложенному Тода и Миками [164].

$$D_{jk}=\sqrt{\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(x_{ij}-x_{ik})^2},$$

где N — общее количество отдельных полос; x_{ij} и x_{ik} — частоты i-й полосы в j- и k-популяциях. Индивидуальную изменчивость оценивали по индексу идентичности, применяемому Сакаи [141],

$$I_{j(i)}=1-\frac{\sum_{m=1}^{n}-D_m^2}{n},$$

где $I_{j(i)}$ — индекс идентичности, отражающий общность между i- и j-деревом. Величина D_m — определяется следующим образом: обозначим признак через x, тогда $D=x_i-x_j$, если $(x_i-x_j)\leqslant 1$, или $D=1$, если $(x_i-x_j)\geqslant 1$; n — число исследованных признаков. Для оценки признака использовали два класса: $+1$ — есть полоса, 0 — нет полосы.

Глава 5

ЭНДОГЕННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Эндогенная изменчивость наблюдается у растений, имеющих много метамерных органов. Она характерна для морфологических и физиологических признаков древесных растений. В частности, у сосны обыкновенной протяженность кроны весьма велика (10—15 м), в различных ее частях различны режимы питания и освещения, что обусловливает высокий уровень эндогенной изменчивости. Он оценен С. А. Мамаевым [33] у сосны обыкновенной для многих признаков. Уровень варьирования при этом равен или даже выше уровня индивидуальной изменчивости.

Одним из важных химических признаков сосны является качественный состав пероксидазы. Для характеристики популяционной изменчивости необходимо сначала выявить, как он изменяется в зависимости от возраста хвои и ее расположения в кроне. Это позволит при изучении межпопуляционных характеристик исключить влияние данного фактора. Такие исследования проведены Эстербауэром [84]. Он в течение двух лет изучал хвою с пяти ветвей различных деревьев ели европейской. Обнаружены две группы изоферментов — четыре-пять легкоподвижных и шесть-десять трудноподвижных фракций. При этом молодая хвоя содержала больше легкоподвижных фракций. Ферет и Стейрс на примере вяза приземистого (*Ulmus pumila* L.) показали, что уровни пероксидазы не зависят от места взятия листьев для анализа [85]. А. Я. Ларионовой также получены данные, свидетельствующие о том, что изоформы пероксидазы и эстеразы хвои лиственницы не изменяются ни качественно, ни количественно в различных частях кроны. Электрофореграммы ферментов хвои, взятой из верхней и нижней, западной и восточной, северной и южной частей кроны, совершенно идентичны [26]. Я. Э. Кавац показал на примере клонов ели [17], что экологическая дисперсия изоформ внутри клонов была равна нулю.

Вторым важным методическим вопросом является выяснение того, как изменяется спектр изоферментов на протяжении жизни дерева в одних и тех же органах. Так как на древесных растениях это осуществить трудно, В. А. Духарев предположил, что использование самоопыления может помочь проследить спектр изоэнзимов в онтогенезе [8]. Если потомство гомозиготно, то оно

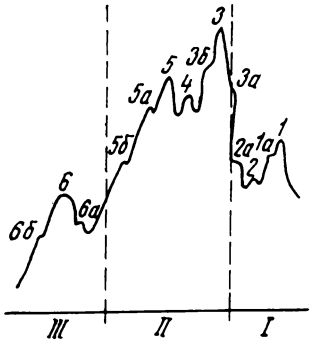

Рис. 1. Денситограмма изоферментов сосны обыкновенной.

идентично материнскому дереву. Исходя из этих соображений, он сравнил спектр эстеразы у потомства от самоопыления и перекрестного опыления кедра сибирского (*P. sibirica* (Rupr.) Mayr.). Получены данные в пользу того, что спектр эстераз в онтогенезе кедра за период от 14 до 90 лет не изменяется. Ферет также отмечает, что спектр эстераз у четырехлетних сеянцев сосны, полученных от самоопыления, не отличается от родительского [86].

В результате наших исследований выявлено наличие 15 фракций в хвое сосны обыкновенной. Встречаемость их весьма различна. Весь спектр можно разделить на три части: I — трудноподвижные (1, 1а, 2, 2а, 3а); II — среднеподвижные (3, 3б, 4, 5, 5а, 5б); III — легкоподвижные (6а, 6, 6б) фракции (рис. 1). Присвоенным номерам фракций соответствуют следующие значения Rf, %: 1) 8—10; 1а) 10—12; 2) 15—16; 2а) 20—23; 3а) 24—26; 3) 29—31; 3б) 31—33; 4) 34—36; 4б) 38—39; 5) 40—43; 5а) 43—45; 5б) 47—50; 6а) 52—55; 6) 63—66; 6б) 68—70. Обязательными, т. е. встречающимися у всех деревьев, являются только четыре фракции — 3, 4, 5, 6. Все остальные изоэнзимы во всех частях спектра обладают значительной изменчивостью.

Для выяснения того, как влияет на качество состав изоферментов возраст хвои и ее половой тип, изучены спектры у шести деревьев в феврале и апреле 1976 г. Взята хвоя сосны обыкновенной первого года жизни — ростовая, мужская и женская (1р, 1м, 1ж) и второго года жизни (соответственно 2р, 2м, 2ж). Анализ показал большие различия в проявлении эндогенной изменчивости у отдельных деревьев (табл. 2). У модели 1 различно содержание изоэнзимов у хвои разного возраста, а половой тип побега не влияет на изоферментный состав. Хвоя второго года жизни имела семь фракций (1, 3, 4, 5, 5а, 5б, 6) в оба срока определения. У хвои первого года наблюдается еще дополнительно легкоподвижная фракция 6а. У модели 2 различия были также только у хвои первого года. Кроме общих семи фракций, у женской и мужской хвои имелась трудноподвижная фракция 2а, а у ростовой — 6а. Модель 3 схожа с предыдущей, но у мужской хвои второго года выделялась дополительная фракция 6а. Модель 4 подобна модели 2, только дополнительные фракции 2а и 6а имелись у ростовой и женской хвои первого года. У модели 5 специфика эндогенной изменчивости не подчиняется общей закономерности, у нее качественный состав изоферментов зависит как от возраста, так и от типа хвои. Модель

Таблица 2

Качественный состав изоферментов пероксидазы в зависимости от возраста и типа хвои (участок № 1, февраль 1976 г.)

№ модели	Год жизни	Тип хвои	Фракция пероксидазы									
			1	2а	3	3б	4	5	5а	5б	6а	6
1	1-й	Р	+		+		+	+	+	+	+	+
		М	+		+		+	+	+	+	+	+
		Ж	+		+		+	+	+			+
	2-й	Р	+		+		+	+	+	+		+
		М	+		+		+	+	+	+		+
		Ж	+		+		+	+	+	+		+
2	1-й	Р	+		+		+	+	+	+	+	+
		М	+	+	+	+	+	+	+	+		+
		Ж	+	+	+		+	+	+			+
	2-й	Р	+		+		+	+	+	+		+
		М	+		+		+	+	+	+		+
		Ж										
3	1-й	Р	+		+		+	+	+	+		+
		М	+	+	+		+	+	+	+		+
		Ж	+	+	+		+	+	+	+		+
	2-й	Р	+		+		+	+	+	+		+
		М	+		+		+	+	+	+		+
		Ж	+		+		+	+	+	+		+
4	1-й	Р	+	+	+		+	+	+	+	+	+
		М	+		+		+	+	+	+		+
		Ж	+	+	+		+	+	+	+	+	+
	2-й	Р	+		+		+	+		+		+
		М	+		+		+	+	+	+		+
		Ж	+		+		+	+	+	+		+
5	1-й	Р	+		+	+	+	+	+	+		+
		М	+		+		+	+	+	+		+
		Ж	+		+		+	+	+			+
	2-й	Р			+		+	+	+		+	+
		М			+		+	+	+	+		+
		Ж	+		+			+	+	+		+
6	1-й	Р	+	+	+		+	+	+	+	+	+
		М	+		+		+	+	+	+		+
	2-й	Р	+		+		+	+	+	+		+
		М	+	+	+		+	+	+	+		+

Таблица 3

Встречаемость фракций пероксидазы в хвое сосны обыкновенной в зависимости от ее возраста и полового типа побега, %

Тип хвои	Месяц исследования	Фракция *							Кол-во фракций
		1	1а	2а	3б	5а	5б	6а	
		1-й год жизни							
Р	II	100	Не обн.	33	17	100	100	67	10
	IV	100	»	Не обн.	Не обн.	100	100	60	8
М	II	100	»	33	17	100	100	67	10
	IV	100	»	Не обн.	Не обн.	100	67	67	8
Ж	II	100	»	60	»	100	40	40	9
		2-й год жизни							
Р	II	83	Не обн.	Не обн.	Не обн.	83	83	Не обн.	7
	IV	100	»	»	»	100	83	»	7
М	II	80	20	20	»	100	100	»	9
	IV	83	Не обн.	Не обн.	»	83	100	33	8
Ж	II	100	»	»	»	100	100	Не обн.	7
	IV	100	»	33	»	100	100	»	8

* Встречаемость фракций 3, 4, 5, 6 во всех вариантах — 100 %.

6 отличается тем, что у нее и мужская хвоя 2-го года, и ростовая хвоя первого года имели по девять фракций (дополнительно: 2а и 6а у 1Р; 1а и 2а у 2М).

Таким образом, можно констатировать, что изоферментный состав пероксидазы связан с возрастом хвои и половым типом побегов. Однако первый фактор играет более значительную роль. В хвое первого года жизни содержится бо̀льшее количество фракций по сравнению с хвоей второго года. Все изученные особи различаются по качественному составу изоферментов именно хвои первого года. Это и понятно, так как у нее еще не закончены ростовые процессы и полностью не сформированы клеточные структуры. По специфике эндогенной изменчивости изученные особи можно объединить в две группы. Три модельных дерева дополнительно отличались наличием легкоподвижной фракции 6а в хвое первого года жизни. У трех других деревьев дополнительные фракции (2 и 2а) наблюдались в трудноподвижной части спектра. Расчет встречаемости отдельных фракций у изученных особей (табл. 3) показал, что качественный состав изоферментов в большой степени зависит от возраста хвои и в незначительной — от ее типа (рис. 2).

Для отработки методики дальнейших исследований необходимо выяснить, зависит ли качественный состав изоферментов от размера хвои, который определяется местонахождением по-

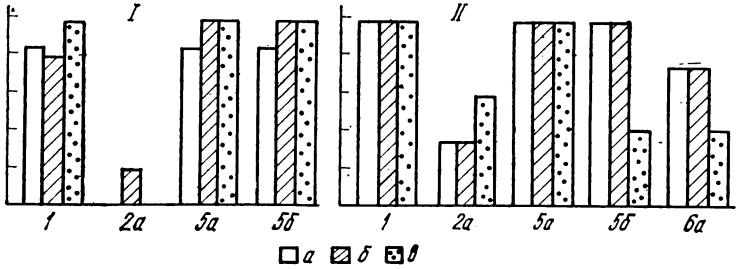

Рис. 2. Зависимость качественного состава пероксидазы от возраста и типа хвои.

Хвоя: *I* — второго года; *II* — первого года жизни; *а* — ростовая; *б* — мужская, *в* — женская.

бега (основного или бокового) и от общей активности пероксидазы. В связи с этим анализировали модель 3, в которой отобрано 12 проб (по три повторности в каждой пробе). Изучена ростовая хвоя первого, второго и третьего годов жизни, взятая с основных (1Ро, 2Ро, 3Ро) и боковых (1Рб, 2Рб) побегов, а также женская хвоя (1Жо). По качественному составу изоферментов отличается только ростовая хвоя первого года, у которой дополнительно имеются фракции 2 и 2а. Нет различий между хвоей как с основных, так и с боковых побегов.

Размеры хвои, которые колебались в зависимости от типа побегов от 35 до 75 см, не оказали влияния на качественный состав изоферментов, так же как и общая активность пероксидазы. На рис. 3 показана активность пероксидазы в два срока определения по трем моделям. Активность пероксидазы не зависит от типа хвои, но возраст хвои отражается на активности пероксидазы, на фоне ее сезонной динамики. В феврале не было различий по активности пероксидазы между хвоей разного возраста, а в марте активность повысилась, особенно у хвои второго года. В сентябре также активность пероксидазы в хвое второго года была выше. Если принять значения активности первого года за

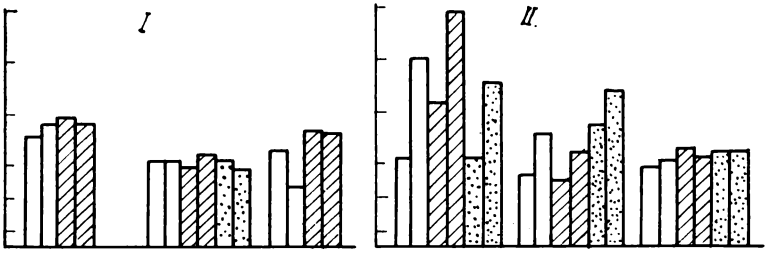

Рис. 3. Эндогенная изменчивость сосны обыкновенной по общей активности пероксидазы.

I — февраль, *II* — март 1976 г. Хвоя: первого года жизни — нечетные колонки, второго — четные. Остальные усл. обозначения те же, что на рис. 2.

100 %, то активность пероксидазы второго года хвои у пяти деревьев составит 116—272 %.

Интересно выяснить уровень вариабельности активности пероксидазы отдельных фракций внутри дерева. С этой целью у модели 3 колонки гелей разрезали на фракции и определяли удельную активность пероксидазы каждой фракции. Расчет произведен на 1 г сырого веса и на 1 мг белка, так как содержание белка также сильно варьирует. Приведем результаты для двух основных фракций. Лимиты абсолютных значений удельной активности фракции 1 колеблются от 1,45 до 3,81, а в расчете на 1 мг белка — от 0,45 до 0,79. Уровень изменчивости высокий — коэффициент вариации составил при расчете на 1 г сырого веса 40 % и на 1 мг белка — 25 %. У фракции 3 лимиты удельной активности пероксидазы на 1 г сырой ткани колеблются от 1,17 до 4,20, а на 1 мг белка — от 0,020, до 0,075. Коэффициенты вариации соответственно равны 27 и 47 %.

Наибольшую долю изменчивости составило колебание активности пероксидазы по годам жизни. Хорошо прослеживается повышение активности по мере увеличения возраста хвои. Если принять активность пероксидазы хвои первого года за 100 %, то активность отдельных фракций по годам будет выглядеть следующим образом, %:

Хвоя	1	3	4	5	5а	5б	6а	6
2-го года	156	129	242	109	121	203	218	172
3-го года	215	188	259	159	144	280	338	250

Возрастание активности наблюдается для всех фракций без исключения.

Судя по полученным данным, для исследований внутривидовой изменчивости по изоферментам целесообразно использовать ростовую хвою второго года, которая более стабильна по всем показателям.

ВЫВОДЫ

1. Электрофоретический спектр хвои сосны обыкновенной состоит из 15 фракций, четыре из них являются постоянными.

2. Специфика эндогенной изменчивости качественного состава изоферментов пероксидазы сосны обыкновенной заключается в возрастных изменениях хвои. Хвоя первого года жизни содержит дополнительно одну-две фракции по сравнению с двухгодичной хвоей.

3. Качественный состав изоферментов пероксидазы не зависит от ее общей активности, от полового типа и от размеров хвои и побегов.

4. Общая активность пероксидазы отдельных фракций повышается по мере увеличения абсолютного возраста хвои и характеризуется высоким уровнем изменчивости.

Глава 6

СЕЗОННАЯ И ПОГОДИЧНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

В растительном организме происходит непрерывная цепь биохимических реакций и превращений. При изучении изменчивости исследователь не всегда способен уловить нужный момент, поэтому для правильной оценки любого признака его надо рассматривать в динамике. Ферменты, как исключительно лабильные соединения, несомненно, подвергаются значительным изменениям во времени. Келлер и Адамс изучали сезонную динамику пероксидазы, эстеразы и α-терпенеол дегидрогеназы. Анализы проводились в течение года, один раз в месяц [97]. Объектом исследования служил можжевельник скальный (*Juniperus scopulorum* Sarg.). Была обнаружена только одна полоса α-терпенеол дегидрогеназы, которая не изменялась в течение всего года. Качественных различий по пероксидазе также не было найдено, но имелись очень значительные количественные различия. Так, фракции 3 и 4 проявлялись очень интенсивно с октября по декабрь, затем интенсивность их окраски ослабевала с января по апрель, а в мае, июне и июле они были едва различны. Такая закономерность сохранялась у всех четырех изученных деревьев. Интенсивность окраски фракций 1 и 2 не изменялась с августа по апрель, но почти полностью окраска исчезала с мая по июль. Остальные четыре фракции оставались постоянными в течение года. По эстеразе получены более разнородные данные. Часть фракций (7 и 8 у деревьев № 2, 3, 4 и 9 ,10 — у дерева № 1) была постоянной в течение года, а остальные за сезон менялись.

По данным А. Я. Ларионовой [28], эстераза является стабильным ферментом. За сезон качественных различий у лиственниц даурской и сибирской не выявлено. По пероксидазе же отмечены как количественные, так и качественные различия.

По исследованиям В. А. Духарева [9], изоферментный спектр эстеразы и лейцинаминопептидазы хвои сеянцев качественно не изменяется, но очень сильно меняется ферментативная активность — особенно она высока летом, и наиболее низка зимой.

Сезонные изменения изоформ пероксидазы у ели обыкновенной проанализировал Кавац [17]. Полученные данные свидетельствуют о том, что в ноябре увеличивается частота изоформ зоны

Таблица 4

Сезонная динамика изоферментов пероксидазы хвои сосны обыкновенной по частоте встречаемости отдельных фракций, %

Дата	Фракция пероксидазы *									
	1	1а	2	2а	3а	3б	4а	5а	5б	6а
Участок 1										
1976 г.										
XII	93	0	73	40	0	7	7	80	53	47
1977 г.										
III	87	0	40	13	13	7	0	67	60	7
V	87	0	27	7	0	7	0	13	7	0
VII	73	0	73	40	7	13	7	93	20	0
IX	47	0	73	27	0	13	0	47	13	0
1978 г.										
III	100	0	87	53	53	33	20	80	53	20
VII	67	0	100	100	27	47	7	87	40	0
1979 г.										
II	100	40	100	80	60	20	0	80	40	7
IV	100	13	100	93	73	7	0	80	60	27
Участок 2										
1977 г.										
V	78	0	41	0	4	4	0	7	0	0
VII	54	4	89	18	7	4	0	82	7	0
IX	54	0	71	61	4	4	4	21	7	0
1978 г.										
VI	65	0	61	39	30	35	0	96	52	0
IX	96	7	96	86	11	7	4	96	57	14

* Встречаемость фракций 3, 4, 5 и 6 составляет 100 %.

Таблица 5

Содержание отдельных фракций пероксидазы (участок 2, 1977 г.), отн. ед

Месяц	Фракция							
	1	2	2а	3	4	5	5а	6
V	16,7	9,7	—	33,6	13,1	20,1	—	18,9
VII	16,4	11,1	—	29,3	15,7	20,1	12,5	11,2
IX	12,2	9,2	7,1	26,6	14,1	26,4	12,8	17,2

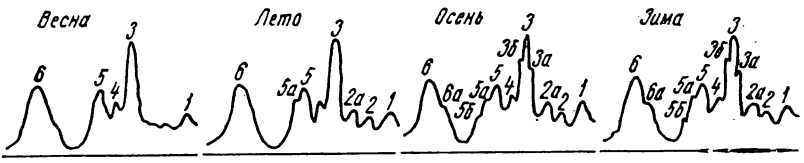

Рис. 4. Денситограммы сезонной динамики изоферментов пероксидазы.

Rf 16—32 и зоны Rf 34—48, а в июле — частота изоформ в зоне Rf 24 и 28.

Для изучения сезонной динамики изоферментов пероксидазы в хвое сосны обыкновенной нами было выбрано два участка вблизи г. Свердловска — Лесопарк им. Лесоводов России (участок 1) и Нижнеисетский лесопарк (участок 2). На первом для изучения было взято 15 деревьев, а на втором — 28.

В течение трех лет на модельных деревьях проводилось электрофоретическое исследование ферментов пероксидазы. Был рассчитан процент встречаемости отдельных фракций.

Рассмотрим первую часть спектра — трудноподвижные фракции (1, 1а, 2, 2а, 3а). Наиболее стабильным изоферментом в этой части спектра является фракция 1, ее частота встречаемости составляет от 47 до 100 %. Изменчивость этой части спектра повышается с увеличением относительной электроподвижности фракций. Так, лимиты встречаемости фракции 2 составляют от 0 до 93 %, а фракции 3а — от 0 до 73 (табл. 4). Вторая (среднеподвижная) часть спектра — фракции 3, 3б, 4, 5, 5а, 5б. Здесь расположены в основном постоянные фракции (3, 4, 5), которые за сезон не меняются. Их встречаемость составляет 100 %, к ним еще относится фракция 6 из третьей (легкоподвижной) части спектра. В течение трех лет эти фракции были постоянными. Они определяют основной рисунок денситограммы. Кроме процента встречаемости, для основных фракций рассчитано относительное содержание пероксидазы по площади пиков денситограммы. Содержание фракции 3 наибольшее и почти не меняется в течение сезона (табл. 5). Содержание других фракций также меняется незначительно.

По денситограммам, отражающим наличие отдельных фракций в основные сезоны года (рис. 4), можно видеть, что в весенние месяцы, когда начинается рост побегов и хвои, спектр в основном состоит из постоянных фракций. Из трудноподвижных только фракция 1 присутствует у большего количества особей, ее встречаемость составляет 87 на первом и 78 % на втором участке, фракция 2а в мае на втором участке не найдена ни у одного дерева, а на первом — только у одного. Встречаемость среднеподвижных фракций 5а и 5б в весенние месяцы очень низка и не превышает 7—13 %, т. е. спектр «обедненный». (Весной все дополнительные фракции изоферментов, по-видимому,

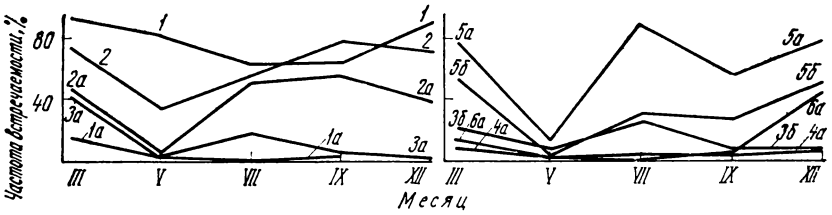

Рис. 5. Сезонные изменения отдельных фракций пероксидазы.

активно используются в метаболизме растений, участвуя в их росте и развитии.)

В летние месяцы спектр обогащается дополнительными фракциями. Появляются фракция 2 с частотой встречаемости от 73 до 100 % и фракция 2а, встречающаяся реже, но также являющаяся характерной для летнего спектра. В среднеподвижной его части появляются две новые фракции: 5а (частота встречаемости от 82 до 93 %) и 5б (от 7 до 20 %). Но самый богатый спектр наблюдается в осенне-зимний период, когда наступает глубокий вынужденный покой хвойных растений. В это время имеются лишь количественные различия в средне- и легкоподвижной части спектра. Так, в зимние месяцы частота встречаемости фракции 5а, 5б и 6а составляет 80, 53, 47 % соответственно, а в осенние — 55, 26,5 % (взяты средние данные по двум точкам за три года). В осенне-зимние месяцы появляется фракция 4а (Rf 38—39) с 4 %-ной встречаемостью. Сходная картина получена Л. М. Сероглазовой [54] по активности пероксидазы у ели: максимальная активность отмечается в зимний период, наименьшая — летом. Резкое возрастание активности осенью объясняется переходом пероксидазы при пониженных температурах из связанного состояния в свободное. Грилл и Естербауэр [84] приводят данные, свидетельствующие о наивысшем содержании фракций пероксидазы в хвое у лиственницы в октябре и в ноябре — у ели.

Рассмотрим сезонные изменения отдельных фракций у сосны обыкновенной. На рис. 5 представлены средние значения за три года частоты встречаемости изменяющихся фракций пероксидазы хвои у сосны обыкновенной.

Фракция	
1 (Rf 8—10)	Ее частота во все сезоны года колеблется мало— от 64 до 96 %.
1а (10—12)	Встречается редко, и только в марте частота составляет 13 %.
2 (15—16)	Минимальное содержание в мае, затем в июле идет увеличение, в осенне-зимние месяцы частота становится стабильной (73—80 %).
2а (20—23)	Характер сезонных изменений такой же, как у

Таблица 6

Различия в сезонной изменчивости изоферментов пероксидазы

Период наблюдений	χ^2	Степень свободы	Табличные значения χ^2		
			0,05	0,01	0,001
Сезонная изменчивость (участок 1)					
1977 г.					
март — май	27	9	16,9	21,7	27,9
май — июнь	36	10	18,3	23,2	29,6
май — сентябрь	30	9	16,9	21,7	27,9
июнь — март	10	12	21,0	26,2	32,9
Погодичная изменчивость (участок 1)					
1977 и 1978 гг.					
март	15	12	21,0	26,2	32,9
июнь	14	11	19,7	24,7	31,3
сентябрь	23	11	»	»	»
Погодичная изменчивость (участок 2)					
Сентябрь 1977—1978 гг.	29	13	22,4	27,7	34,5
Между участками 1 и 2					
Сентябрь 1977 г.	5,0	11	19,7	24,7	31,3

Таблица 7

Некоторые показатели вегетационного периода (июнь — август)

Год	Средняя сумма *		Гидротермический коэффициент	Сумма эффективных температур		
	температур, °С	осадков, мм		выше 5°	выше 10°	выше 15°
1976	1830	231	1,1	—	740	210
1977	2320	239	1,1	1510	840	310
1978	1620	416	2,8	1130	470	140
1979	1741	221	1,3	1280	589	124
Норма	1780	268	1,5	1420	—	—

* Средняя сумма температур и осадков дана за период с температурой выше 10°.

Таблица 8

Средняя температура воздуха по месяцам и сезонам, °С

Год	Зима	Апрель	Май	Весна	Июнь	Июль
1977	—11,9(0,0)*	16,5	13,2	9,8(+3,6)*	17,7	18,2
1978	—7,9(+4,0)*	1,7	8,8	5,2(—1,0)*	14,8	15,9
1979	—11,1(+0,8)*	—2,1	12,4	5,1(—1,1)*	11,1	18,1

* Отклонения от нормы.

фракции 2, только уровень частоты встречаемости ниже.

3а (29—31)
3б (31—33) — В мае встречаемость почти сведена к нулю, в июле небольшое увеличение до 18—25, затем снова снижение до 5—8 % в сентябре. Наибольшая встречаемость в мае (42—20 %).

4а (38—39) — Встречается реже всех остальных. Найдена только в отдельные месяцы с низкой частотой встречаемости.

5а (43—45) — Минимальное содержание в мае (10 %), максимальное — в июле (90 %), затем идет некоторое снижение, а в декабре и марте — увеличение и стабилизация (76 и 80 %).

5б (47—50) — Минимальная встречаемость в мае (4 %), затем постепенное повышение идет с июля по декабрь (30—53 %).

6а (63—66) — Самая легкоподвижная фракция. Весной и летом не найдена, в сентябре найдено всего 5, в марте — 11, а в декабре — 47 %.

Таким образом, высоко варьируют и активно участвуют в метаболизме растений средне- и легкоподвижные фракции (5а, 5б, 6а). Из трудноподвижных только одна (2а) отличается значительной вариабельностью.

Полученные данные о сезонных и погодичных различиях обработаны методами вариационной статистики. Одним из показателей выбран χ^2. Статистически достоверные сезонные различия частоты встречаемости фракций пероксидазы имеют место почти во все месяцы (кроме марта и июня) и на всех уровнях значимости. В последнем случае значения χ^2 ниже табличного и данные тождественны (табл. 6). Некоторые имеющиеся различия по сезонной динамике между двумя участками по значению χ^2 статистически не достоверны.

Погодичные различия сезонной динамики изоферментов выявлены только в сентябре. В другие месяцы значения χ^2 ниже табличных.

Лето	Сентябрь	Осень
16,7(+0,9)*	9,1	3,7(—1,5)*
14,4(—1,4)*	8,9	5,0(—0,2)*
14,7(—1,1)*	9,8	—

Данные табл. 6 свидетельствуют о том, что для состава изоферментов важны не сами абсолютные показатели, характеризующие экологические факторы, а сезонная динамика жизненных процессов.

Температурные показатели в разные годы были далеко не одинаковыми (табл. 7), а погодичных различий в составе изоферментов найти не удалось. Такие различия установлены только в сентябре, когда температурные показатели как раз оказались идентичными в отдельные годы (табл. 8).

ВЫВОДЫ

1. Качественный состав изоферментов пероксидазы подвержен заметной сезонной динамике.

2. Весенне-летний период, когда происходят наиболее интенсивные ростовые процессы, характеризуется обедненным спектром изоферментных фракций.

3. Для осенне-зимнего периода характерен обогащенный спектр.

4. При популяционных исследованиях необходимо учитывать фенологическую неоднородность материала и проводить сравнительные анализы в осенне-зимние месяцы.

Глава 7

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ХВОИ

Изменчивость растительных организмов одного вида в пределах экологически однородного участка, не связанная с полом и возрастом, называется индивидуальной изменчивостью. Причины ее возникновения имеют двойственный характер. В основе лежат генетические причины, но для некоторых признаков бóльшую долю индивидуальной изменчивости составляет модификационная. Вычленить только генетическую изменчивость очень трудно. С помощью исследования изоферментных систем, по-видимому, можно ближе подойти к решению этой задачи. В настоящей работе мы имеем дело с изоферментами пероксидазы, которая является довольно лабильным ферментом, активно участвующим в метаболизме растений. Поэтому часть обнаруженных изоформ связана с процессами роста и развития и, вероятно, составляет основную часть модификационной изменчивости.

Специальных исследований индивидуальной изменчивости пероксидазы и других типов ферментов почти не проводилось. Есть только констатация ее существования у отдельных организмов. А. Я. Ларионова отмечает высокий уровень индивидуальной изменчивости как по числу ферментов, так и по их качественному составу в хвое лиственниц сибирской и даурской [29]. Практически каждое дерево в популяции, по ее данным, имело специфический набор пероксидазы и эстеразы, причем уровень изменчивости у первой был ниже, чем у второй.

Многие исследователи отмечают большую гетерогенность изоферментов внутри популяций в сравнении с межпопуляционной [67, 168]. Данные Расмуссона, Рудина [135] и Мукса [125] свидетельствуют о наибольшей межпопуляционной изменчивости (по сравнению с индивидуальной) по изоферментам эстеразы и пероксидазы хвои сосны обыкновенной. Копес [76] исследовал формы дугласовой пихты по семи ферментным системам. По его данным, карликовая форма пихты по числу изоферментов очень сильно отличалась от «нормальных» деревьев. Найдено 12 полос у нормальных деревьев дугласии, а у карликовых только семь. Наиболее подробные исследования индивидуальной изменчиво-

Таблица 9

Индивидуальная изменчивость изоферментов пероксидазы по качественному составу в хвое отдельных деревьев сосны обыкновенной

№ модели	Фракция пероксидазы													
	1	1а	2	2а	3	3а	3б	4	4а	5	5а	5б	6	6а
1	+				+	+		+		+	+	+	+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
2			+		+	+		+		+			+	
	+		+	+	+	+		+		+	+		+	
3	+		+		+		+	+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+	+	+	+
4			+	+	+		+	+		+			+	
	+		+	+	+		+	+		+	+	+	+	
5			+	+	+			+		+			+	
	+	+	+	+	+			+		+	+		+	
6	+		+	+	+			+	+	+			+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
7			+	+	+			+		+	+		+	
	+	+	+		+	+		+		+	+		+	
8	+		+	+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+	+	+	
9	+		+		+			+					+	
	+				+			+		+	+	+	+	
10	+		+		+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
11	+		+		+			+		+	+		+	
	+		+		+			+		+	+	+	+	
12					+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+			+	
13				+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
14	+		+	+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
15	+		+	+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+	+	+	
16			+	+	+			+		+			+	
	+		+	+	+	+		+		+	+	+	+	+
17	+		+	+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
18	+			+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+	+	+	+
19	+		+	+	+			+		+	+		+	
	+		+	+	+					+	+	+	+	
20	+		+	+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+	+	+	
21				+	+			+		+			+	
	+		+		+			+		+	+		+	
22					+			+		+			+	
			+	+	+			+	+	+	+	+	+	
23	+		+	+	+			+		+	+	+	+	
	+		+	+	+			+		+	+	+	+	
24				+	+					+			+	+
	+		+	+	+			+		+	+	+	+	
25					+			+		+	+		+	
	+		+	+	+		+	+		+	+	+	+	

Окончание таблицы 9

№ модели	Фракция пероксидазы													
	1	1а	2	2а	3	3а	3б	4	4а	5	5а	5б	6	6а
26	+		+		+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
27	+		+		+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+	+		+	
28			+	+	+			+		+			+	
	+		+	+	+			+		+		+	+	

Примечание. Для каждой модели верхний ряд составлен по данным сентября 1977 г., нижний — по данным сентября 1978 г.

сти провели японские исследователи Сакаи и Миязаки [143] на примере уже упомянутого естественного леса из туевика. С помощью изоферментов пероксидазы они выявили биотипы, наличие инбридинга и вегетативного размножения. В последнем слу-

Таблица 10

Показатель идентичности особей по качественному составу изоферментов

№ дерева	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		0,67	0,58	0,50	0,57	0,50	0,67	0,50	0,50	0,58	0,58	0,75
2			0,92	0,83	0,92	0,83	0,83	0,83	0,92	0,92	0,75	1,00
3				0,75	0,83	0,92	0,75	0,92	1,00	1,00	0,83	0,83
4					0,92	0,83	0,83	0,83	0,75	0,75	0,67	0,75
5						0,92	0,83	0,92	0,83	0,83	0,67	0,83
6							0,83	1,00	0,83	0,92	0,75	0,75
7								0,83	0,67	0,75	0,75	0,75
8									0,83	0,92	0,75	0,75
9										0,92	0,75	0,83
10											0,83	0,83
11												0,67
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												
21												
22												
23												
24												
25												
26												
27												

чае различий в качественном составе фракций не наблюдалось. Для характеристики индивидуальной изменчивости изоферментов пероксидазы хвои нами проведены исследования качественного состава отдельных особей на участке 2 в течение двух лет. Изучено 28 одновозрастных модельных деревьев, стоящих вдоль просеки и имеющих примерно одинаковый экологический фон. Из табл. 9 видно, что качественный состав изоферментов пероксидазы может различаться не только от дерева к дереву, но и в разные годы. Не у всех деревьев по годам наблюдается сохранение качественного состава изоферментов. По-видимому, так называемые «вторичные» изоферменты довольно сильно подвержены влиянию экологических условий. Особенно это можно видеть на примере фракций 5а и 5б. В 1977 г. фракция 5а имелась только у шести, а 5б — у двух деревьев. В следующем году фракция 5а присутствовала у 26 деревьев, а 5б — у 16. В 1978 г. фракция 6а найдена только у четырех деревьев, а в 1977 г. она

пероксидазы (участок 2, сентябрь 1977 г.)

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
0,67	0,50	0,50	0,58	0,50	0,58	0,58	0,50	0,67	0,75	0,67	0,67	0,83	0,58	0,58	0,58
0,92	0,83	0,83	0,92	0,83	0,75	0,75	0,83	0,92	1,00	0,67	0,75	0,92	0,92	0,92	0,92
0,75	0,92	0,92	0,83	0,92	0,83	0,83	0,92	0,75	0,83	0,75	0,67	0,75	0,92	1,00	0,83
0,83	0,83	0,83	0,92	0,83	0,75	0,75	0,83	0,83	0,75	0,67	0,83	0,67	0,75	0,75	0,92
0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,83	0,83	0,92	0,92	0,83	0,75	0,83	0,75	0,83	0,83	1,00
0,83	1,00	1,00	0,92	1,00	0,92	0,92	1,00	0,83	0,75	0,83	0,75	0,67	0,92	0,92	0,92
0,83	0,83	0,83	0,92	0,83	0,75	0,92	0,83	0,83	0,75	0,83	0,75	0,83	0,83	0,83	1,00
0,83	1,00	1,00	0,92	1,00	0,92	0,92	1,00	0,83	0,75	0,83	0,75	0,67	0,92	0,92	0,92
0,75	0,92	0,92	0,83	0,92	0,83	0,83	0,92	0,75	0,83	0,75	0,67	0,75	1,00	1,00	0,83
0,75	0,92	0,92	0,83	0,92	0,83	0,83	0,92	0,75	0,83	0,75	0,67	0,75	1,00	1,00	0,83
0,58	0,75	0,75	0,67	0,75	0,67	0,83	0,75	0,58	0,83	0,75	0,50	0,75	0,83	0,83	0,67
0,92	0,75	0,75	0,83	0,75	0,83	0,67	0,75	0,92	1,00	0,58	0,83	0,92	0,83	0,83	0,83
	0,83	0,83	0,92	0,83	0,92	0,75	0,83	1,00	0,92	0,67	0,92	0,83	0,75	0,75	0,92
		1,00	0,92	1,00	0,92	0,92	1,00	0,83	0,75	0,83	0,75	0,67	0,92	0,92	0,92
			0,93	1,00	0,92	0,92	1,00	0,83	0,75	0,83	0,75	0,67	0,92	0,92	0,92
				0,91	0,83	0,83	0,92	0,92	0,83	0,75	0,83	0,75	0,83	0,83	0,92
					0,92	0,92	1,00	0,83	0,75	0,83	0,75	0,67	0,92	0,92	0,92
						0,83	0,92	0,92	0,83	0,75	0,83	0,75	0,83	0,83	0,83
							0,92	0,83	0,75	0,83	0,75	0,75	0,92	0,92	0,92
								0,83	0,75	0,83	0,75	0,67	0,92	0,92	0,92
									0,92	0,67	0,92	0,83	0,67	0,67	0,92
										0,58	0,83	0,92	0,83	0,83	0,83
											0,58	0,67	0,75	0,75	0,75
												0,75	0,67	0,67	0,83
													0,75	0,75	0,75
														1,00	0,83
															0,83

не была обнаружена (этот год отличался очень жарким и сухим летом). По другим фракциям различия незначительные.

Для выявления степени гетерогенности отдельных деревьев был применен индекс идентичности, предложенный японскими исследователями [141]. В табл. 10 представлены данные, свидетельствующие о том, насколько отличались друг от друга по этому индексу особи, исследованные в сентябре 1977 г. Общее число полос в этот срок исследования было 12. Если индекс идентичности равен 1, то различий нет, при величине 0,92 — разница на одну фракцию, при 0,83 — на две, при 0,75 — на три, при 0,67 — на четыре, при 0,58 — на пять и при 0,50 — на шесть фракций. На рис. 6 показан уровень различий отдельных деревьев. Так, деревья № 1 и № 2 отличаются друг от друга по индексам очень сильно, различия между деревьями № 23 и № 28 меньше, а ломаные кривые деревьев № 11 и № 12 почти накладываются друг на друга. Если посчитать все возможные типы индексов, то окажется, что в восьми случаях отсутствуют различия между деревьями, в 25 % имеются различия по одной полосе спектра, а в 30—21 % — по двум и трем полосам. Число несоответствий, равное четырем, показывает большую степень

Таблица 11

Показатель идентичности особей по качественному составу изоферментов

№ дерева	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13
1		0,55	0,73	0,45	0,82	0,82	0,73	0,73	0,64	0,55	0,82	0,64
2			0,64	0,91	0,55	0,64	0,82	0,82	0,82	0,82	0,73	0,82
3				0,73	0,91	0,91	0,64	0,73	0,73	0,82	0,73	0,82
4					0,64	0,91	0,73	0,73	0,82	0,91	0,64	0,91
5						1,00	0,73	0,73	0,82	0,73	0,82	0,73
6							0,73	0,73	0,82	0,73	0,82	0,73
7								1,00	0,91	0,64	0,91	0,64
8									0,91	0,64	0,91	0,64
10										0,73	0,82	0,73
11											0,55	0,91
12												0,55
13												
16												
17												
20												
21												
22												
23												
24												
25												
26												
27												

* Общее количество фракций 11.

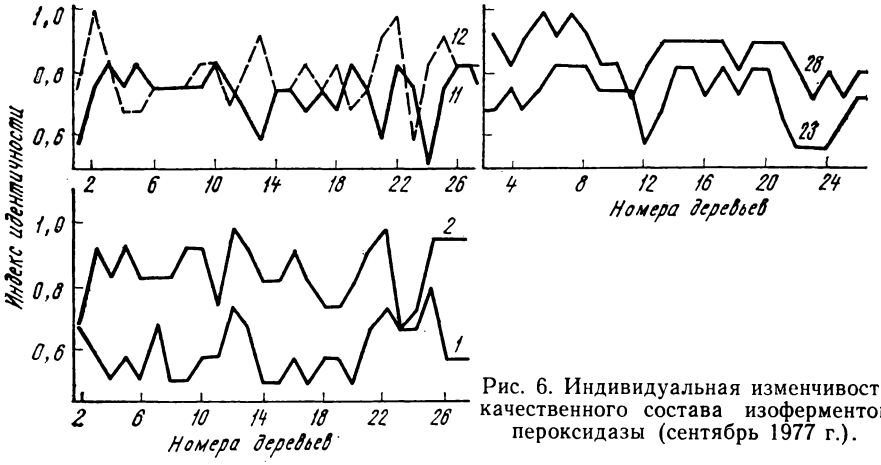

Рис. 6. Индивидуальная изменчивость качественного состава изоферментов пероксидазы (сентябрь 1977 г.).

гетерогенности популяции в 9 % случаев, несоответствие пяти фракций — в 4,2, шести — в 2,5 % случаев.

Из всех изученных особей особенно сильно выделяются три (1, 11, 23), степень индивидуальности которых очень велика. Так,

пероксидазы (участок 2, 13 апреля 1978 г.)

16	17	20	21	22	23	24	25	26	27	28
0,91	0,82	0,82	0,64	0,73	0,73	0,82	0,91	0,91	0,82	0,55
0,73	0,55	0,64	0,91	0,73	0,91	0,73	0,64	0,45	0,73	0,73
0,82	0,91	0,91	0,73	0,64	0,73	0,82	0,82	0,82	0,91	0,82
0,55	0,73	0,64	0,82	0,73	0,91	0,64	0,55	0,55	0,64	0,73
0,73	0,82	0,82	0,64	0,64	0,64	0,64	0,73	0,91	0,81	0,73
0,73	0,82	0,82	0,64	0,64	0,64	0,64	0,73	0,91	0,82	0,73
0,64	0,55	0,55	0,73	0,73	0,73	0,55	0,64	0,64	0,73	0,64
0,64	0,55	0,55	0,73	0,64	0,73	0,55	0,64	0,64	0,73	0,73
0,55	0,64	0,64	0,64	0,73	0,64	0,45	0,55	0,73	0,64	0,73
0,64	0,73	0,73	0,91	0,64	0,91	0,73	0,64	0,64	0,73	0,82
0,73	0,64	0,64	0,64	0,82	0,64	0,64	0,73	0,73	0,82	0,73
0,64	0,73	0,73	0,91	0,55	0,91	0,73	0,64	0,64	0,73	0,73
	0,91	0,91	0,73	0,55	0,73	0,91	1,00	0,82	0,91	0,64
		1,00	0,64	0,45	0,64	0,82	0,91	0,91	0,82	0,73
			0,64	0,45	0,64	0,82	0,91	0,91	0,82	0,73
				0,64	1,00	0,82	0,73	0,55	0,82	0,55
					0,64	0,64	0,55	0,55	0,64	0,55
						0,82	0,73	0,55	0,82	0,55
							0,91	0,73	0,82	0,55
								0,82	0,91	0,64
									0,82	0,64
										0,73

Таблица 12

Показатель идентичности особей по качественному составу изоферментов

№ дерева	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		0,93	0,86	0,86	0,93	1,00	0,79	0,93	0,79	1,00	0,86	0,86
2			0,79	0,79	0,86	0,93	0,86	0,86	0,71	0,93	0,79	0,86
3				0,86	0,79	0,86	0,64	0,93	0,79	0,86	0,86	0,79
4					0,86	0,86	0,64	0,93	0,93	0,79	0,86	0,86
5						0,93	0,86	0,86	0,71	0,93	0,93	0,86
6							0,79	0,93	0,79	1,00	0,86	0,93
7								0,71	0,64	0,86	0,71	0,64
8									0,86	0,93	0,93	0,86
9										0,79	0,93	0,71
10											0,86	0,93
11												0,79
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												
21												
22												
23												
24												
25												
26												
27												

* Общее количество фракций 14.

модель № 1 отличается почти от всех остальных по четырем — шести фракциям. Интересно проследить, сохраняется ли такая закономерность генетической специфичности в различные годы исследования. Для этого обратимся к табл. 10 и 12, в которых отражен индекс идентичности в сентябре 1977—78 г. В 1978 году наиболее отличающимися особями оказались деревья 7, 16 и 22. В течение года эта закономерность сохранялась.

Если сравнить данные табл. 11 и 12, то можно заметить, что степень гетерогенности популяции в летний период более значительная по сравнению с осенним состоянием вегетативных органов, когда ростовые процессы закончены и произошла стабилизация многих метаболических процессов.

ВЫВОДЫ

1. Внутрипопуляционная изменчивость сосны обыкновенной по качественному составу изоферментов хвои весьма значительна.

пероксидазы (участок 2, сентябрь 1978 г.)*

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1,00	1,00	0,93	0,79	1,00	0,93	0,86	1,00	0,93	0,79	0,86	0,93	0,86	1,00	1,00	0,86
0,93	0,93	0,86	0,86	0,93	0,86	0,86	0,86	0,79	0,71	0,79	0,86	0,79	0,93	0,93	0,86
0,86	0,86	0,93	0,93	0,86	1,00	0,86	0,93	0,86	0,93	1,00	0,93	1,00	0,86	0,86	0,86
0,79	0,86	0,86	0,79	0,86	0,86	0,86	0,93	0,86	0,79	0,86	0,93	1,00	0,86	0,86	0,86
0,93	0,93	0,86	0,71	0,86	0,86	0,79	0,76	0,79	0,71	0,79	0,86	0,79	0,93	0,93	0,79
1,00	1,00	0,93	0,79	1,00	0,86	0,86	0,93	0,86	0,79	0,86	0,93	0,86	1,00	1,03	0,93
0,79	0,79	0,71	0,71	0,79	0,64	0,71	0,71	0,79	0,57	0,64	0,71	0,64	0,79	0,71	0,64
0,93	0,93	1,00	0,86	0,93	0,93	0,93	1,00	0,93	0,86	0,93	1,00	0,93	0,93	0,93	0,93
0,79	0,79	0,86	0,71	0,79	0,79	0,79	0,86	0,93	0,79	0,79	0,86	0,79	0,79	0,86	0,79
1,00	1,00	0,93	0,79	1,00	0,86	0,86	0,93	0,93	0,79	0,86	0,93	0,86	0,93	1,00	0,86
0,86	0,93	0,93	0,79	0,86	0,93	0,86	0,93	1,00	0,79	0,86	0,93	0,86	0,86	0,86	0,86
0,93	0,93	0,86	0,79	0,86	0,79	0,79	0,86	0,79	0,71	0,79	0,86	0,79	0,93	0,93	0,93
	1,00	0,93	0,79	1,00	0,86	0,86	0,93	0,86	0,79	0,86	0,93	0,86	1,00	1,00	0,86
		0,93	0,79	1,00	0,86	0,86	0,93	0,86	0,79	0,86	0,93	0,86	1,00	1,00	0,93
			0,86	0,93	0,93	0,93	1,00	0,93	0,86	0,93	1,00	0,93	0,93	0,93	0,93
				0,79	0,93	0,79	0,86	0,79	0,71	0,93	0,86	0,79	0,79	0,79	0,79
					9,86	0,86	0,93	0,86	0,79	0,86	0,93	0,86	0,93	1,00	0,93
						0,86	0,93	0,86	0,79	1,00	0,93	0,86	0,86	0,86	0,86
							0,93	0,86	0,79	0,86	0,93	0,86	0,86	0,86	0,86
								0,93	0,86	0,93	1,00	0,93	0,93	0,93	0,93
									0,79	0,86	0,93	0,79	0,86	0,86	0,86
										0,79	0,86	0,79	0,79	0,79	0,79
											0,93	0,86	0,86	0,86	0,86
												0,93	0,93	0,93	0,93
													0,86	0,86	0,86
														1,00	0,86
															0,86

2. Большинство деревьев входит в так называемое число «несоответствия» от 0 до 3, т. е. отличаются друг от друга на одну-три фракции или совсем не различаются. Наибольшая специфичность наблюдается у 15 % особей.

3. Наблюдающаяся погодичная изменчивость отдельных особей по качественному составу изоферментов выражается в наличии или отсутствии дополнительных фракций в средне- и легкоподвижной части спектра (5а, 5б и 6а). По-видимому, эти фракции участвуют в биохимической адаптации организма к изменяющимся условиям среды.

4. Специфичность особей по типу изоферментов сохраняется в течение одного вегетационного периода, но биохимический гомеостазис в популяции поддерживается в различные годы, т. е. средний уровень гетерогенности остается постоянным.

Глава 8

МЕЖПОПУЛЯЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

В настоящее время одним из актуальных вопросов в изучении популяционной структуры вида является разработка методов оценки дифференциации популяций, установления их границ и объема. С. А. Мамаев по комплексу морфобиологических показателей выделил популяции и группы популяций семейства Pinaceae на Урале [34]. В этой главе мы попытаемся охарактеризовать некоторые уральские популяции сосны обыкновенной по качественному составу изоферментов пероксидазы и оценить уровень их гетерогенности.

В литературном обзоре было освещено современное состояние популяционных исследований, при которых использовался метод изоферментных спектров. К настоящему времени испытаны почти все ферментные системы, выделены локусы и даже сделаны попытки составления генетических карт популяций. С помощью изоферментов удалось выделить некоторые подвиды, формы и гибриды у видов сосны и ели.

В настоящей работе проанализировано шесть популяций сосны обыкновенной, расположенных в различных ботанико-географических районах Урала (рис. 7):

1) Гайнская (средняя тайга Предуралья);
2) Березовская (северная тайга Зауралья);
3) Ивдельская (средняя тайга);
4) Свердловская (южная тайга);
5) Брединская (степная зона);
6) Наурзумская (степная зона).

Наиболее подробно охарактеризованы три популяции — среднетаежная, южнотаежная и степная. Сравнения по изоферментным спектрам для них проводились в течение трех лет и в разные сроки. Прежде всего отмечено, что качественный состав и содержание изоферментов заметно варьируют по годам. Так, частота встречаемости многих фракций в 1977 г. оказалась более низкой, чем в другие годы (табл. 13, рис. 8). Кроме того, сильнее выражались колебания частот.

В 1977 г. в степной популяции отсутствовали фракции 3а, 3б, 5б, 6а в то время как в среднетаежной они имелись (правда, с редкой частотой встречаемости), за исключением фракции 6а,

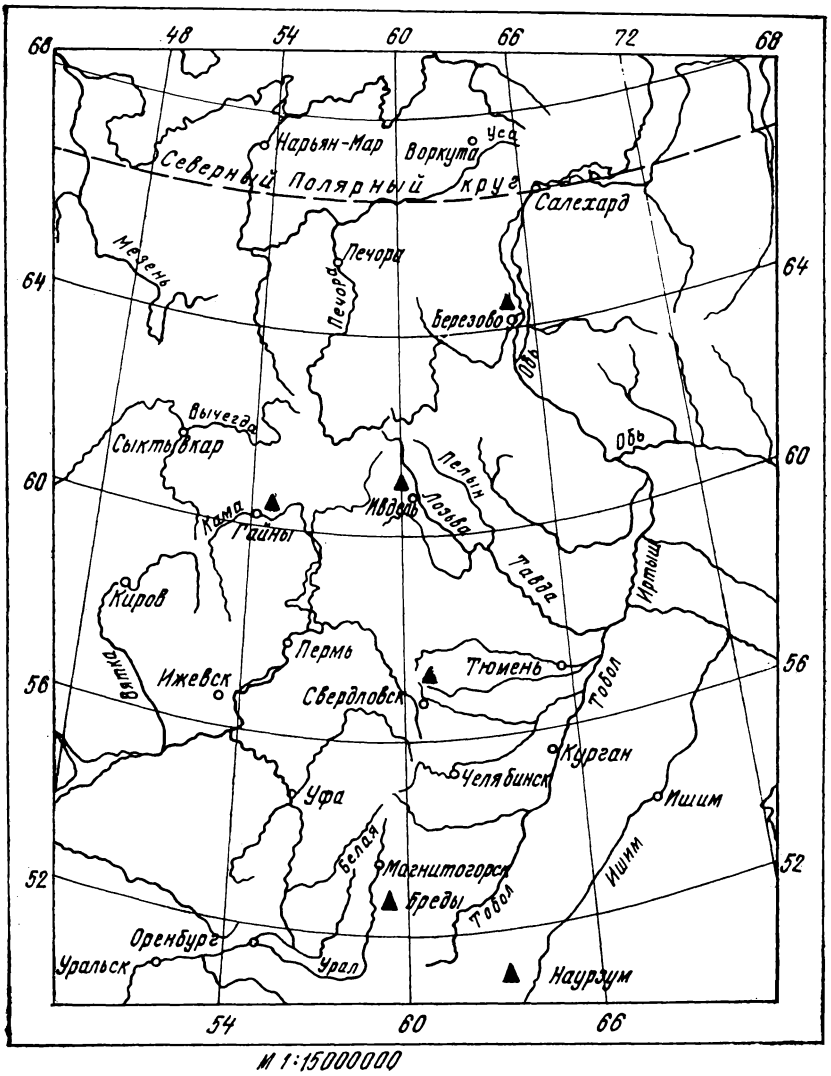

Рис. 7. Схема опытных участков.

Треугольниками обозначены опытные участки.

Таблица 13

Частота встречаемости фракций пероксидазы хвои сосны обыкновенной в различных географических районах, %

Район исследования, подзона	Время исследования	Фракция									
		1	1а	2	2а	3а	3б	4а	5а	5б	6а
Ивдельский р-н, средняя тайга	Март 1977	79	0	64	43	14	7	14	64	7	0
	Март 1978	100	0	100	71	29	14	7	57	36	7
	Июнь 1978	85	0	69	54	46	0	0	62	31	0
	Февраль 1979	100	7	100	71	50	50	0	80	50	14
Пригород Свердловска (участок 1), южная тайга	Март 1977	93	0	57	14	0	0	0	43	14	43
	Март 1978	92	0	85	38	30	23	15	92	54	30
	Июнь 1978	71	0	100	100	29	14	7	64	36	0
	Февраль 1979	100	40	100	80	60	20	0	80	40	7
Брединский р-н, степная зона	Март 1977	77	0	33	0	0	0	0	44	11	0
	Сентябрь 1978	85	8	92	92	54	23	0	77	46	8
	Июнь 1978	55	0	100	66	55	0	78	88	55	22
	Февраль 1979	100	0	100	77	33	67	0	89	89	11

Примечание. Частота встречаемости фракций 3, 4, 5 и 6 составляет 100 %.

которая отсутствовала в Ивдельской и Брединской популяциях, но имелась в Свердловской (43 %). 1978 и 1979 гг. были более стабильными в отношении качественного состава изоферментных фракций во всех трех популяциях, частоты встречаемости колебались несущественно. Это подтверждается статистическими данными. В табл. 14 приведен показатель генетической дифференциации, рассчитанный по методу Тода и Миками [164]. Кроме этого, рассчитан коэффициент генетического сходства популяций по Животовскому (табл. 15). Величина отличия r от 1 фиксируется критерием идентичности I. Если величина I больше табличного значения X^2, то на выбранном (например, 5 %-ном) уровне значимости популяции отличаются друг от друга, а если $r=1$, то они однотипны. Статистически достоверные различия Брединской (Б), Свердловской (С) и Ивдельской (И) популяций получены только в 1977 г., различия по изоферментным спектрам в 1978—1979 гг. не подтвердились (табл. 16).

В 1979 г. проведено сравнение шести уральских популяций сосны по изоферментному спектру пероксидазы. По качественному составу изоферментов выделяется Наурзумская (Н) степная популяция. В ней имеются фракции 4а с частотой встречаемости 21 % и 6а с частотой 7 %. Этих фракций нет ни в одной из остальных изученных уральских популяций (табл. 17).

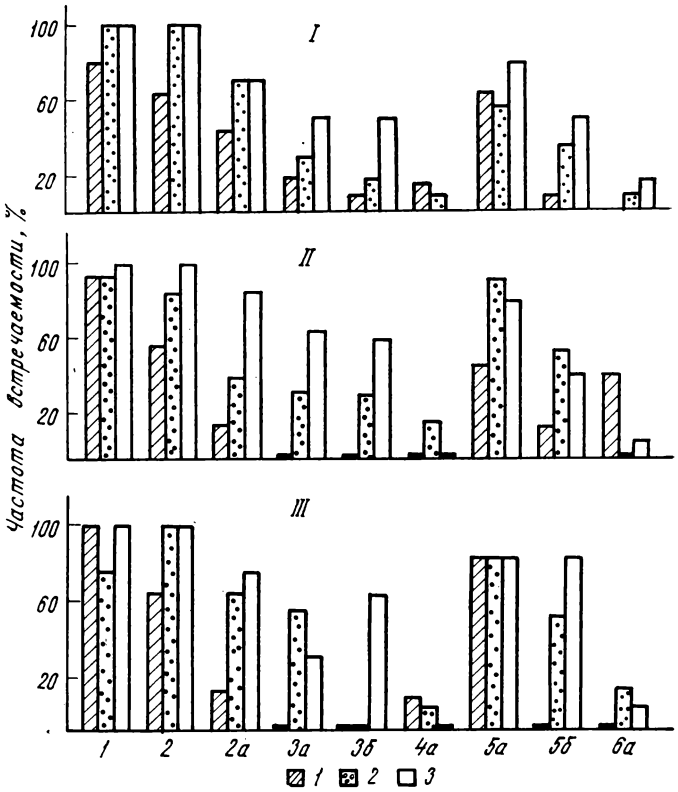

Рис. 8. Частота встречаемости изоферментов пероксидазы популяций сосны обыкновенной.

Подзоны: *I* — среднетаежная, *II* — южнотаежная, *III* — степная. Годы: *1* — 1977; *2* — 1978, *3* — 1979.

У среднетаежной Гайнской и северотаежной Березовской популяций сосны отсутствует фракция 6а, в то время как в Ивдельской ее частота составляет 14, в Свердловской — 27, Брединской — 8, Наурзумской — 21 %. Изученные популяции больше различаются по частоте встречаемости в средне- и легкоподвижной частях спектра — по фракциям 5а, 5б и 6а (рис. 9). Характерно, что частота этих фракций увеличивается с севера на юг. Такому же типу изменений подвержена трудноподвижная фракция 2а. Какой-либо специфичности изменений частоты встречаемости фракций 1а, 3а, 3б отметить не удалось. Статистическое подтверждение этих данных приведено в табл. 18. Анализируя эту таблицу, можно отметить, что достоверные различия получены между Наурзумской и Гайнской, Наурзумской и Ивдельской популяциями. Также достоверны различия между Свердловской и Березовской, Свердловской и Гайнской популяциями.

Таблица 14

Показатель генетической дифференциации трех популяций по Тода и Миками (Д)

Популяция, время исследования	Б, март 1977	Б, июнь 1977	Б, октябрь 1977	Б, март 1978	Б, июнь 1978	Б, февраль 1979	С, март 1977	С, март 1978	С, апрель 1978
И, март 1977	18,9/18,3						18,3/19,6		
И, март 1978				14,4/18,3				26,1/19,6	
И, июль 1978					19,0/19,6				18,0/18,3
И, февраль 1979						18,5/19,6			
С, март 1977	17,0/15,5								
С, июль 1977		25,6/16,9							
С, октябрь 1977			21,5/18,3						
С, июль 1978					17,2/19,6				

Примечание. Числитель — значение Д, знаменатель — табличное значение X^2.

Таблица 15

Показатель генетического сходства трех популяций по Животовскому (*r*)

Популяция, время исследования	Б, март 1977	Б, июнь 1977	Б, октябрь 1977	Б, март 1978	Б, июнь 1978	Б, июль 1979	Б, февраль 1979	С, март 1977	С, март 1978	С, июнь 1979
И, март 1977	0,48							0,48		
И, март 1978				0,71					0,66	
И, июль 1978					0,74					0,63
И, февраль 1979							0,79			
С, март 1977	0,63									
С, июль 1977		0,62								
С, октябрь 1977			0,64							
С, июль 1978					0,66					

Таблица 16

Критерий идентичности трех популяций (*I*)

Популяция, время исследования	Б, март 1977	Б, июнь 1977	Б, октябрь 1977	Б, март 1978	Б, июнь 1978	Б, июль 1979	Б, февраль 1979	С, март 1977	С, март 1978	С, июнь 1978
И, март 1977	25,4/18,3							22,0/19,6		
И, март 1978				15,5/18,3					18,1/19,6	
И, июнь 1978					10,9/19,6					19,7/18,3
И, февраль 1979							9,5/19,6			
С, март 1977	16,3/15,5									
С, июль 1977		15,0/16,9								
С, октябрь 1977			19,7/18,3							
С, июль 1978					14,7/18,3					

Примечание. Числитель — критерий идентичности, знаменатель — табличное значение X^2.

Таблица 17

Частота встречаемости фракций пероксидазы в популяциях сосны обыкновенной, %

Популяция	Фракция												
	1	1а	2	2а	3а	3б	4а	5	5а	5б	6	6а	6б
Березовская	87	13	87	53	53	20	40	93	47	3	100	0	0
Гайнская . . .	100	7	100	60	87	0	0	100	53	27	87	0	0
Ивдельская . .	100	7	100	71	64	50	0	100	86	50	100	14	0
Свердловская	100	13	100	93	73	7	0	100	80	60	100	27	0
Брединская . .	85	0	92	92	54	23	0	100	77	46	100	8	0
Наурзумская	100	14	100	57	86	57	21	100	100	86	86	21	7

Примечание. Частота встречаемости фракций 3 и 4 составляет 100 %.

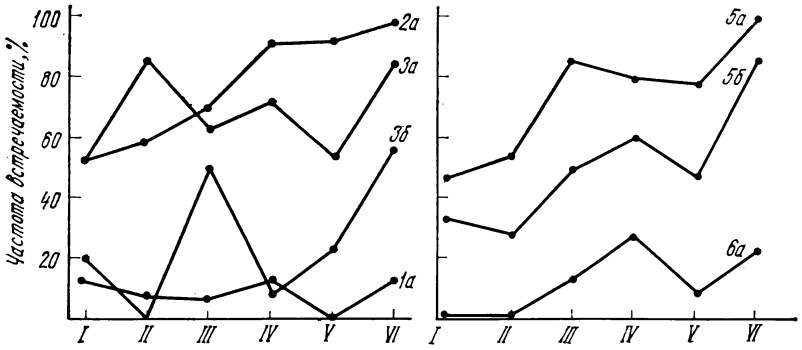

Рис. 9. Географическая изменчивость частоты встречаемости фракций пероксидазы у сосны обыкновенной.

Популяции: *I* — Березовская, *II* — Гайнская, *III* — Ивдельская, *IV* — Свердловская, *V* — Брединская, *VI* — Наурзумская.

Можно считать достоверными различия между Брединской и Ивдельской популяциями.

Итак, на основе оценки различий по изоферментам можно считать хорошо дифференцированными Березовскую (северотаежную), Гайнскую (среднетаежную), Свердловскую (южнотаежную), Брединскую (степную) и Наурзумскую (островную степную) популяции сосны. Среднетаежный Ивдельский и южнотаежный Свердловский участок можно рассматривать как

Таблица 18

Показатели дифференциации уральских популяций (1979 г.)

Популяция	*I*			*Д*			*r*		
	Березовская	Гайнская	Наурзумская	Березовская	Гайнская	Наурзумская	Березовская	Гайнская	Наурзумская
Гайнская	19,6/18,3			13,8/18,3		19,8/19,7	0,67		0,55
Ивдельская	17,1/19,7	20,3/19,7	22,7/22,4	17,0/19,7	19,8/19,7	14,7/23,4	0,71	0,65	0,63
Свердловская	20,9/19,7	20,2/19,7	19,8/22,4	15,0/19,7	18,9/19,7	19,6/22,4	0,65	0,66	0,65
Брединская	15,8/19,7	16,2/19,7	19,0/22,4	15,3/19,7	31,5/19,7	17,2/22,4	0,65	0,64	0,59
Наурзумская	18,0/22,4	27,2/22,4		25,7/22,4	25,9/22,4		0,69	0,55	

Примечание. В знаменателе табличное значение X^2.

одну популяцию — между ними нет ясных границ по специфике изоферментных спектров пероксидазы. Эти данные подтверждаются и морфобиологическими показателями. При сплошном ареале сосны трудно очертить ясные границы популяций, в этом случае наблюдается клинальная изменчивость, т. е. постепенное изменение признака. Направление изменчивости изучаемого показателя (в данном случае частота встречаемости отдельных фракций пероксидазы хвои) также соответствует закономерностям, полученным ранее С. А. Мамаевым [34] для других морфологических признаков. Частота встречаемости большинства фракций повышается с севера на юг. При дизъюнктивном ареале сосны, что имеет место для островной Наурзумской популяции на южном пределе распространения сосны обыкновенной, различия получены и по качественному составу изоферментов. В этой популяции обнаружены две специфические фракции. На северном пределе распространения сосны в Зауралье специфических фракций обнаружить не удалось, но эта северотаежная популяция отличается от других изученных наибольшей степенью гетерогенности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкое применение в популяционных исследованиях изоферментных спектров связано с возможностью использования их в качестве почти единственного источника генетической информации. Особенно интересными объектами оказались хвойные растения, имеющие диплоидные (зародыш) и гаплоидные (эндосперм) ткани. В настоящее время изучено довольно много ферментных систем, в результате чего удалось выделить локусы генома. Сделана первая попытка составления генетических карт видов хвойных древесных растений. На основе анализа литературных данных можно констатировать, что различные ферментные системы дают довольно однообразные результаты. Следовательно, для характеристики гетерогенности популяций не обязательно брать весь комплекс ферментных систем. По нашему мнению, для генетических исследований достаточно иметь сведения о двух-трех системах.

Проведено немало работ, в которых изоферментный спектр использован как обычный качественный химический признак для характеристики изменчивости популяций. Так, на основе изучения пероксидазы у различных видов хвойных были показаны уровни изменчивости и выделены отдельные биотипы этих видов, выявлено наличие вегетативного размножения. Следует, отметить, что пероксидазная система наиболее часто применяется в исследованиях. Это объясняется простотой получения электрофоретических спектров и наличием соответствующих реактивов. Пероксидаза четко дифференцируется на колонках геля и хорошо поддается денситометрированию. Кстати, использование денситометра для идентификации отдельных фракций желательно при популяционных исследованиях, когда приходится рассчитывать частоту встречаемости. Но в изучении пероксидазной системы есть одна серьезная трудность, заключающаяся в невозможности использования пероксидазы в генетических исследованиях, поскольку она отсутствует в сухих семенах. Отдельно галлоидную и диплоидную ткани в этом случае проанализировать не удается.

Оценка изоферментной дифференциации пероксидазы в связи с простотой и доступностью метода весьма перспективна для дальнейшего изучения популяционной структуры вида. Ее можно использовать для сравнительного исследования как отдельных

популяций, так и внутрипопуляционного многообразия особей. Однако существует целый ряд проблем методического плана. Например, неясно, каким образом может отразиться на результатах варьирование хвои по половому признаку, что имеет место у видов *Pinus*. Имеет ли значение возраст хвои, который, как известно, очень разнообразен в пределах даже одной ветви? Слабо изучено изменение состава изоферментов в разное время года.

В своей работе мы пытались решить все эти методические вопросы, невнимание к которым, как показывает опыт, может привести к серьезным ошибкам в оценке полученных материалов. При изучении варьирования изоферментов мы исходили из общей установки популяционных исследований — поэтапной оценки форм изменчивости [35]. При этом изучался уровень и характер сначала эндогенной, затем вутрипопуляционной и, наконец, межпопуляционной географической изменчивости.

Анализ эндогенной изменчивости у сосны обыкновенной показал, что различия в составе изоферментов в хвое так называемых ростовых, мужских и женских побегов в целом незначительны. Это примечательный факт, ибо известно, что большинство других признаков (как анатомо-морфологических, так и физиолого-биохимических) сильно варьирует в зависимости от направления сексуализации побегов. Однако при изучении изоферментов с методической целью лучше использовать хвою с ростовых побегов.

Более заметной оказалась корреляция качественного состава изоферментов с абсолютным возрастом хвои. В связи с этим целесообразно при анализе всегда использовать хвою одного возраста, лучше двухлетнюю, поскольку ей свойственна бóльшая стабильность изоферментов. Вероятно, это справедливо не только для сосны обыкновенной, но и для других видов хвойных.

Изучение сезонной динамики изоферментов пероксидазы показало ее закономерное изменение по периодам развития организма. Оказалось, что изоферментные спектры подвержены четко выраженной сезонной динамике, как и большинство других органических соединений. В весенне-летние месяцы изоферментный спектр характеризуется наименьшим содержанием — в этот период в нем присутствовали лишь постоянные фракции пероксидазы, мало подверженные каким-либо трансформациям. Все остальные включались в бурный обмен веществ и не обнаруживались в колонке, поскольку их количества были слишком малы.

Наиболее богат спектр изоферментов в осенне-зимние месяцы. На наш взгляд, этот период и является самым удобным для изучения набора изоферментов (можно обнаружить максимум изоформ, что дает возможность более детально оценить дифференциацию особей в пределах популяции).

Исследования внутривидовой изменчивости по изоферментам

в пределах популяции показали весьма высокий уровень изменчивости данного признака. Обычно особи отличаются друг от друга одной-тремя фракциями, иногда различия более существенны. Так, примерно у 15 % деревьев наблюдается наличие четырех-пяти специфических фракций, которых нет у остальной массы растений. Индивидуальная специфичность особей по типам изоферментов сохранялась обычно в течение лишь одного вегетационного периода, в дальнейшем корреляция менялась, на первое место по своей специфичности выступали другие индивидуумы. Средний же уровень гетерогенности популяции оставался постоянным в разные годы за счет дифференциации отдельных особей. Такая закономерность свидетельствует о значительной экологической трансформации изоферментных спектров; их подвижная часть весьма лабильна и меняется год от года.

Наибольший интерес представляет сравнение изоферментной структуры популяций различных географических районов. Полученный нами материал дает возможность провести некоторые сравнения такого типа. Мы имели данные о шести образцах сосновых насаждений, расположенных в северо-, средне-, южнотаежной подзонах и в степи Зауралья и Северного Казахстана. Изоферментные спектры этих древостоев позволили в основном подтвердить данные, полученные С. А. Мамаевым с помощью других тестов, о расчленении уральской части ареала сосны обыкновенной на популяции. Наиболее четко по типу изоферментного спектра отличается островная популяция сосны из Наурзумского заповедника, находящегося в степной зоне. Ее качественный состав весьма уникален. Выделяются по изоферментным спектрам насаждения из Гайнского и Березовского участков, относящихся соответственно к среднетаежной Предуральской и северотаежной Зауральской популяциям. Ивдельский и Свердловский участки, находящиеся в среднетаежной и южнотаежной подзонах, весьма близки по избранному нами показателю, и их, на наш взгляд, можно объединить в одну крупную популяцию. Этот момент уточняет предложенную ранее классификацию уральских популяций. Общей закономерностью следует считать изменение частоты встречаемости фракций пероксидазы с юга на север. Частота изоформ из средней и легкоподвижной частей спектра растет с увеличением географической широты местности.

Таким образом, исследование изоферментных фракций позволяет дополнить ведущийся поиск популяционных тестов новой методикой. Однако следует иметь в виду, что этот метод в основном не отличается от других методов оценки внутривидовой изменчивости, он может служить лишь дополнительным критерием на общем фоне других показателей. Принципиальная установка — использование комплекса показателей для характеристики внутривидовых структур — остается неизменной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валиханова Г. Ж., Биляшева Г. А. Изоферментный состав пероксидазы гороха при недостатке магния.— В кн.: Биология развития микроорганизмов и растений. Алма-Ата, 1978, с. 134—140.

2. Вейденберг А. Е., Сафонов В. И. Электрофоретические спектры белков и изоферментов как индикаторы наследственных особенностей у сортов и видов яблони.— Тезисы докл. II съезда ВОГиС. М., 1972, с. 220—221.

3. Верзилова Т. В. Изменение активности пероксидазы и полифенолоксидазы в листьях осота, пораженного *Puccinia suaveolens* (Pers) Rostr.— В кн.: Физиология иммунитета культурных растений. М.: Наука, 1976, с 81—91.

4. Воронова Н. В. Влияние температуры на изозимный спектр некоторых окислительных ферментов.— В кн.: Физиолого-биохимические механизмы повреждения и устойчивости растений. Новосибирск, 1981, с. 12—18.

5. Громашевская Л. Л. Изоферменты, их метаболическая роль и значение в медицине.— Молекулярная биология, 1974, вып. 10, с. 56—72.

6. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты М.: Мир, 1982, т. 1—3.

7. Духарев В. А. Состав эстераз у сосны обыкновенной в разновозрастных древостоях.— Лесоведение, 1978, № 6, с. 45—50.

8. Духарев В. А. Сравнение изоэнзимного спектра эстераз кедра сибирского в разном возрасте.— В кн.: Научные основы селекции хвойных древесных пород. М.: Наука, 1978, с. 121—124.

9. Духарев В. А. Биохимический полиморфизм в популяциях сосны обыкновенной: Автореф. ... канд. биол. наук. М., 1979. 25 с.

10. Животовский Л. А. Показатель сходства популяций по полиморфным признакам.— Ж. общ. биол., 1979, т. 40, вып. 4, с. 587—602.

11. Иванова Т. М., Давыдова М. А., Рубин Б. А. О пероксидазе митохондрий и ее вероятной роли в окислительных процессах.— Биохимия, 1966, т. 31, вып. 6, с. 1167—1173.

12. Иванова Т. М., Рубин Б. А. Об окислении кодегидразы I пероксидазой.— Докл. АН СССР, 1963, т. 150, № 2, с. 414—416.

13. Иванова Т. М., Рубин Б. А., Давыдова М. А. О каталитических функциях пероксидазы хлоропластов.— Докл. АН СССР, 1970, т. 190, № 1, с. 214—217.

14. Иванькина Т. Ю. Изменчивость кедровых сосен по составу изоферментов.— В кн.: Селекция хвойных пород Сибири. Красноярск, 1978, с. 52—63.

15. Кавац Я. Е. Экологическая стабильность изопероксидаз в популяциях ели обыкновенной.— В кн.: Проблемы физиологии и биохимии древесных растений: [Тезисы докл.]. Красноярск, 1974, вып. 1, с. 27—29.

16. Кавац Я. Е. Изоформы пероксидазы хвои в популяциях ели обыкновенной.— В кн.: Отбор лесных древесных. Рига, 1978, с. 69—82.

17. Кавац Я. Е. Изоформы пероксидазы хвои в популяциях ели обыкновенной в Латвийской ССР.: Автореф. ... канд. с.-х. наук. Рига, 1973. 23 с.

18. Кавац Я. Е., Роне В. М. Частота локусов изоэнзимов пероксидазы в популяциях ели обыкновенной как критерий генетического родства.— В кн.: Состояние и перспективы развития лесной генетики, селекции, семеноводства и интродукции. Методы селекции древесных пород. Рига, 1974, с. 65—68.

19. Кирпичников В. С. Биохимический полиморфизм и проблема так называемой недарвиновской эволюции.— Усп. соврем. биол., 1972, т. 74, вып. 2 (5), с. 231—246.
20. Кларке Б. Причины биологического разнообразия.— В кн.: Молекулы и клетки. М.: Мир, 1977, вып. 6, с. 316—334.
21. Колесников Г. П., Тур П. С., Ольховская К. К., Красникова Г. С. Изменение компонентного состава белков и изоферментов пероксидазы в зародышах семян риса при засолении питательной среды.— Бюлл. НТИ ВНИИ риса, 1977, № 22, с. 20—24.
22. Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. и др. Генетика изоферментов М.: Наука, 1977. 275 с.
23. Кучеренко Б. П. Разнокачественность тканей растений и изоферменты пероксидазы.— В кн.: Охорона вивчення та збачачення рослин світу. Міжвід. наук зб., 1976, вып. 3, с. 60—62.
24. Лакин Г. Д. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973, с. 136—140.
25. Ладыгина М. Е., Тайма Э. А., Рубин Б. А. Особенности изоэнзимного состава пероксидазы и полифенолоксидазы при вирусном патогенезе у табака.— Физиол. раст., 1970, т. 17, вып. 5, с. 928—936.
26. Ларионова А. Я. Изменчивость электрофоретических спектров пероксидазы и эстеразы хвои в популяциях лиственницы.— В кн.: Селекция хвойных пород Сибири. Красноярск, 1978, с. 35—51.
27. Ларионова А. Я. Изучение изменчивости лиственниц методом электрофореза ферментов. Новосибирск: Ин-т леса и древесины СО АН СССР, 1979.
28. Ларионова А. Я. Динамика электрофоретических спектров ферментов хвои лиственницы.— Изв. СО АН СССР, сер. биол., 1979, т. 10.
29. Ларионова А. Я. Изменчивость электрофоретических спектров ферментов лиственницы сибирской и даурской.: Автореф.... канд. биол. наук. Красноярск, 1982. 23 с.
30. Ларионова А. Я., Милютин Л. И. Исследование внутривидовой дифференциации сибирской лиственницы с помощью метода изоэнзимных спектров.— Лесоведение, 1981, № 2, с. 3—11.
31. Левонтин Р. К. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978, 348 с.
32. Магомедмирзаев М. М., Муратчаева П. М. Генетическая гетерогенность популяций алычи (*Prunus divaricata* Ldb.) по изопероксидазам семян.— В кн.: Ботанические и генетические ресурсы флоры Дагестана. Махачкала, 1981, с. 33—41.
33. Мамаев С. А. О проблемах и методах внутривидовой систематики древесных растений. Амплитуда изменчивости.— В кн.: Закономерности формообразования и дифференциации вида у древесных растений. Свердловск, 1969, с. 3—38.
34. Мамаев С. А. Закономерности внутривидовой изменчивости семейства Pinaceae на Урале.: Дисс. ... докт. биол. наук. Свердловск, 1970, т. 1, 2, 741 с.
35. Мамаев С. А. Основные принципы методики исследования внутривидовой изменчивости древесных растений.— В сб.: Индивидуальная эколого-географическая изменчивость растений. Свердловск, 1975, с. 3—14.
36. Меттлер Л., Грегг Т. Генетика популяций и эволюция. М.: Мир, 1972.
37. Олейникова Т. В., Волкова А. М., Пушина Р. Н. Действие высокой температуры на изоферментный состав и активность изозимов пероксидазы листьев пшеницы.— Физиол. и биохим. культ. раст., 1979, т. 11, вып. 2, с. 113—117.
38. Пеев Д., Бабалькова Н. Попытка изучения изоэнзимного состава некоторых дегидрогеназ и сравнения электрофоретических белковых спектров рода *Veronica L.*— Фитология (НРБ), 1978, т. 9, с. 34—40.
39. Петрова О. В., Мишустина Н. С. Изоферменты пероксидазы в листьях кукурузы при пониженных температурах.— Физиол. и биохимия культ. раст., 1976, т. 8, вып. 2, с. 174—177.

40. Полозова Л. Я. Исследование изоэнзимных спектров как метод изучения структуры популяций древесных пород.— В кн.: Научные основы селекции хвойных древесных пород. М.: Наука, 1978, с. 99—114.
41. Полозова Л. Я., Абатурова Г. А. Сравнительное исследование популяций сосны обыкновенной.— Лесоведение, 1976, № 5, с. 40—45.
42. Полозова Л. Я., Санина И. В. Сравнительное изучение изоэнзимов эстераз у ели.— В кн.: Научные основы селекции хвойных древесных пород. М.: Наука, 1978, с. 115—121.
43. Полякова Е. В. Гетерозис в свете данных биохимической генетики.— В кн.: Популяционно-генетические аспекты продуктивности растений. Новосибирск, 1982, с. 87—126.
44. Полякова Е. В., Малецкий С. И. Генетика изоферментов растений.— В кн.: Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977, с. 250—275.
45. Правдин Л. Ф., Алтухов Ю. П., Духарев В. А., Животовский Л. А., Полозова Л. Я. Полиморфизм популяций сосны обыкновенной по сцепленным локусам эстераз.— Докл. АН СССР, 1982, т. 262, № 4, с. 998—1000.
46. Райдер К., Тейлор К. Изоферменты. М.: Мир, 1983. 106 с.
47. Ревин Е. В., Ротарь А. И. Спектр изоферментов пероксидазы в процессе прорастания зерна высоколизованных и обычных форм кукурузы.— Изв. АН Молд. ССР, сер. биол. и хим. наук, 1981, т. 2, с. 14—18.
48. Редькин П. С. Изоферменты как элементы регуляторных систем гомеостаза.— Усп. соврем. биол., 1974, т. 78, вып. 1(4), с. 42—56.
49. Рубин Б. А., Иванова Т. М., Давыдова М. А. Характеристика пероксидазы как компонента окислительной системы растений.— Докл. АН СССР, 1966, т. 171, № 3, с. 736—739.
50. Салменкова Е. А. Генетика изоферментов рыб.— Усп. соврем. биол., 1973, т. 75, вып. 2, с. 218—235.
51. Сарсенбаев К. Н., Беков А. А.— Х., Рахимбаев И. Р. Изоферменты в хемосистематике высших растений. Алма-Ата, 1982. 159 с.
52. Сафонов М. П., Сафонова В. И., Деженер Р. Специфика белков и изоферментов в функционально различных органах города.— С.-х. биология, 1979, т. 5, № 5, с. 687—693.
53. Севрова О. К., Новоселова А. Н. Изоферменты листьев проростков пшеницы с повышенной теплоустойчивостью.— В кн.: Физиолого-биохимические и экологические аспекты устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды. Иркутск, 1977, с. 135—139.
54. Сероглазова Л. М. Некоторые физиологические особенности псевдотсуги тиссолистной.— Лесоведение и лесное хоз-во (Минск) 1962, № 6, с. 44—48.
55. Солбриг С., Солбриг Д. Популяционная биология и эволюция. М.: Мир, 1982, 484 с.
56. Титов А. Ф. Изопероксидазы растений.— Усп. соврем. биол., 1975, т. 80, вып. 1(4), с. 102—115.
57. Титов А. Ф. Генетика растительных изоферментов.— Усп. соврем. биол., 1978, т. 85, вып. 3, с. 325—339.
58. Фадеева Т. С., Соснихина С. Л. Сравнительная генетика растений. Л.: Изд-во ЛГУ, 1980. 246 с.
59. Христова И., Салчева Г. Исследование электрофоретических спектров растворимых белков и изозимов пероксидазы листьев, узла кущения и корней озимой пшеницы в процессе ее закалки низкой температурой.— Физиол. на раст. (НРБ), 1978, т. 4, № 1.
60. Шевченко В. А., Кальченков В. А., Рубанович А. В., Шеремета Н. Д., Несмеянова М. Изменчивость изоферментов лейцинаминопептидазы в хронически облучаемых популяциях, выявляемая методом электрофореза в полиакриламидном геле.— В кн.: 4-й Всес. симпозиум «Молекулярные механизмы генетических процессов». М., 1979, с. 78—79.
61. Шутова Е. А., Баллод З. И., Апрод А. И., Кротович В. Л. Изменение белков и изоферментов пероксидазы при потере всхожести семян риса.— Прикл. биохим. и микробиол., 1973, т. 9, № 2, с. 269—272.

62. Adams R. P. Chemosystematics — analyses of populational differention and variability of ancestral and recent populations of *Juniperus ashei*.— Ann. Mo. Bot. Gard., 1977, v. 64, N 2, p. 184—209.
63. Adams W., Joly R. Allozyme studies in loblolly pine seed orchards: clonal variabion and frequency of progeny due tu self-fertilization.— Silvae Genet., 1980, v. 29, N 1, p. 1—4.
64. Adams W., Joly R. Genetics of allozyme variants in loblolly pine.— J. Hered., 1980, v. 71, N 1, p. 33—40.
65. Bakardjieba N. T. Comparative study of the isoenzyme composition of peroxidase in plants at different phylogenetic position.— Докл. Болг. АН, 1976, v. 29, N 8, p. 1100, 1191—1194.
66. Bartels H. Genetic control of multiple esterases from needles and macrogametophytes of *Picea abies* (L.) Karst.— Planta, 1971, Bd. 99, Hf. 1, S. 283—289.
67. Bergmann F. Genetische Untersuchungen bei *Picea abies* mit Hilfe der Isoenzym — Identifizierung. III. Geographische Variation on 2 Esterase — und 2 Leucinaminopeptidase — Loci in der schwedischen Fichtenpopulationen.— Silvae Genet., 1973, Bd. 22, Hf. 1—3, S. 63—66.
68. Bergmann F. Genetic studies in *Picea abies* with aid of isoenzyme identification.— Theor. Appl. Genetics, 1973, v. 43, N 5.
69. Bergmann F. Genetischer Abstand zwischen Populationen. II. Die Bestimung des genetischen Abstands zwischen europäischen Fichtenpopulationen (*Picea abies*) auf der Basis von Isoenzym — Genhäufigkeiten.— Silvae Genet., 1974, Bd. 23, Hf. 1—3, S. 28—32.
70. Bergmann F. Adaptive acid phospatase polymorphism in conifer seeds.— Silvae Genetica, 1975, Bd. 23, Hf. 5—6, p. 175—177.
71. Bergmann F. Unterscheidung von Pappelklonen mit Hilfe von Isoenzym Mustern.— Holzzucht, 1981, Bd. 35, N 3—4, p. 24—27.
72. Bonnet-Masimbert M. Populations et isoenzymes chez *Pinus nigra*.— Bull. Soc. Bot. France, 1979, v. 126, N 2, p. 67—78.
73. Conkle M. Isozyme specificity during germination and early growth of knobcone pine.— Forest Sci., 1971, v. 17, N 4, p. 494—498.
74. Concle M. Inheritance of alcohol dehydrogenase and leucine aminopeptidase isozymes in knobcone pine.— Forest Sci., 1971, v. 17, N 2.
75. Conklin M., Smith H. Peroxidase isozymes: A measure of molecular variation in ten herbaceous species of *Datura*.— Amer. J. Bot., 1971, v. 58, N 7, p. 688—696.
76. Copes D. Isoenzyme study of dwarf and normal Douglas-fir trees.— Bot. Gaz., 1975, v. 136, N 4, p. 347—352.
77. Copes D. Isoenzyme activities differ in compatible and incompatible Douglas-fir graft unions.— Forest Sci, 1978, v 24, N 2, p 297—303
78. Copes D. A genetic analysis of aminopeptidase and peroxidase isoenzymes in Douglas-fir parent trees and seelding progeny.— Can. J. forest. Res., 1979, v. 9, N 2, p. 189—192.
79. Copes D., Beckwith R. Isoenzyme identification of *Picea glauca*, *P. sitchensis* and *P. lutzii* populations.— Bot. Gaz., 1977, v. 138, N 4, p. 512—521.
80. Dass H. Analysis of species relationships in Avenae by thin-layer chromatography and disc electrophoresis.— Can. J. Genet. Cytol., 1972, v. 14, N 2, p. 305—316.
81. David H., Smith W. Soluble protein and enzyme patterns in shoots of slash pine under different nutritional regimes.— Phytochemistry, 1970, v. 9, N 9, p. 1929—1932.
82. Dumitrescu M, Guern M., Cartier D. Etude électrophorétique des isoperoxidases chez quelques espèces de plantago el chez trois races chromosomiques *d'Hippocrepis comosa* L.— Rev. Roum. Biol. Sér. bot., 1973, v. 18, N 15, p. 305—309.
83. El-Kassaby J., Szikai O. Genetic variation of allozyme and quantitative traits in a selected *Douglas-fir* population.— Forest Ecol. Management, 1982, v. 4, N 2, p. 115—126.

84. Esterbauer H., Grill D., Zotter M. Peroxidase in Nadeln von *Picea abies* (L.) Karst.—Biochem. Physiol. Pflanz., 1978, Bd. 172, N 1—2, S. 155—159.
85. Feret P., Stairs G. Peroxidase inheritance in sibirian elm.— Forest Sci., 1971, v. 17, N 4, p. 472—475.
86. Feret P. Isoenzyme variation in *Pieca glauca* (Moench) Voss. seedlings.— Silvae genetica, 1971, v. 20, N. 1—2, p. 46—50.
87. Grill D., Esterbauer H., Birkner M., Klansek E. Die Peroxidase Isòenzymmuster von *Picea abies, Abies alba* und *Larix decidua*.— Phyton, 1982, Bd. 22, Nf 2, S. 201—211.
88. Grill D., Esterbauer H., Dobernig I., Klansek E. Peroxidase Isoenzymmuster in vier *Pinus*-Species — Phyton, 1982, v. 22, p. 233—241.
89. Hadacová V., Klozova E. et all. Comparison of esterase isoenzyme patterns in seeds of some *Allium* species and in cultivars of *Allium cepa* L.— Biol. plant., 1981, v. 23, p. 174—181.
90. Hadacová V., Svachulová I., Klosová E., Hadac E., Pitterová K. Use of esterase isoenzymes revealed by gel isoelectric focusing as in aid in chemotaxonomical study of the genus Allium.— Biol. Plantarum, 1983, v. 25, N 1, p. 36—42.
91. Hisashi H., Keisaku W. Inheritance of peroxidae isozymes in mulberry (*Morus* spp.).— Euphytica, 1979, v. 28, N 1, p. 73—79.
92. Hisashi H., Kenji N. Inter-specific and generic differences of peroxidase isozyme patterns in Moraceae.— Acta sericol., 1976, N 98, p. 19—24.
93. Hubby I., Lewontin R. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations.— Genetics, 1966, v. 54, N 2, p. 577—609.
94. Iyama Chin-ya. Further investigations of georgraphical variation in isoperoxidase in populations of *Pinus thunbergii*.— Ann. Rept. Nat. Inst. Genet. Jap., 1973 (1974), N 24, p. 70—71.
95. Jones J. How mach genetic variation? — Nature, 1980, 288, N 5786, p. 10—11.
96. Kelley W., Adams P. Seasonal variation of isozymes in *Juniperus scopulorum:* systematic significance.— Amer. J. Bot., 1977, v. 64, N 9, p. 1092—1096.
97. Kelley W., Adams R. Analysis of isozyme variation in natural populations of *Juniperus ashei*.— Rhodora, 1978, v. 80, N 821, p. 107—184.
98. Kieliszewska-Rokicka B. Geographic and climatic differentiation of electrophoretic forms of esterase, glutamate dehydrogenase and peroxidase in scots pine tissues.— Acta. Soc. Bot. Polon., 1981, v. 50, N 3, p. 481—492.
99. Kimura M. Evolutionary rate at the molecular level.— Nature, 1968, N 217, p. 624—626.
100. Kimura M., Ohta T. Protein polymorphism as phase of molecular evolution.— Nature, 1971, N 229, p. 467—469.
101. King I., Jukes T. Non-Darwinian evolution: Random fixation of selectively neutral mutations.— Science, 1969, N 164, p. 788—798.
102. Kokubu Teiji, Hirai Masaaki. Variation of esterase isozymes in sweet potato varietes.— Mem. Fac. Agr. Kagoshina Univ., 1978, v. 14, N 23, p. 85—92.
103. Kokubu Teiji, Maeda Koji. Variation of peroxidase isozymes in sweet potato varieties.— Nem. Fac. Agr. Kagoshima Univ., 1978, v. 14, N 23, p. 77—84.
104. Kortumak A. Izoenzýmové zložzenie ako ukazovatel ekotypickej diferenciácie druhu *Picea abies* Karst.— Ved. pr. Výsk. ústavu lesn. hosp. Zvolene, 1975, v. 20, p. 248—256.
105. Kortumak A. Isozyme composition of some *Abies* species.— Biológia (ČSSR), 1981, v. 36, N 1, p. 3—13.
106. Kortumák A., Benčat F., Rudin D., Seyedyazdan R. Isoenzyme variation in the four slovakian populations of *Abies alba* Mill.—Biológia (ČSSR), 1982, v. 37, N 5, p. 433—440.

107. Kovács I., Fejér O., Devay M. Could-induced changes in the peroxidase multiple enzyme pattern in winter wheat cultivars during the hardening period.— Biochem. Physiol. Pflanz., 1978, v. 173, p. 327, 332.
108. Krzakowa M. Enzymatyczna zmiennosc miedzypopulacyjna sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.).— UAM. Ser. biol., 1979, N 17, 45 S.
109. Krzakowa M. Variability of glytamate-oxalate transaminase isoenzymes in open-pollinated progeny of homozygous scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees.— Acta. Soc. Bot. Pol., 1980, v. 49, N 1—2, p. 143—147.
110. Krisper I., Puff C. Peroxidasemuster und systematic von *Argyranthemum* und *Chrysanthemum s.* str. (Asteraceae — Anthemideae).— Plant. Syst. Evol., 1976, v. 124, N 4, p. 291—301.
111. Krüsmann G. Handbuch der Nadelgehölze. Berlin — Hamburg, 1972.
112. Kuhns L., Fretz Th. Distinguishing rose cultivars by polyacrylamide gel alectrophoresis. II. Isoenzyme variation among cultivars.— J. Amer. Soc. Hortic. Sci., 1978, v. 103, N 4, p. 509—516.
113. Lin E. H., Lamport D. An accounting of horseradish peroxidase isozymes associated with the cell wall and evidence that peroxidase does not contain hydroxyproline— Plant. Physiol., 1974, v. 54, N 6, p. 870—876.
114. Linhart L., Mitton J., Bowman D., Sturdgeon K., Hamrick J. Genetic aspects of fertility differentials in ponderosa pine.— Genet. Res., 1979, v. 33, N 3, p. 237—242.
115. Lobarzewski J. Peroksydazy róslinne.— Wiad. bot., 1981, v. 25, N 1, 29—44.
116. Lundkvist K. Inheritance of Leucine-aminopeptidase isozymes in *Picea abies* K.— Hereditas, 1974, v. 76, N 1, p. 91—95.
117. Lundkvist K., Rudin D. Genetic variation in eleven populations of *Picea abies* as determined by isozyme analysis.— Hereditas, 1977, v. 86, N 1, p. 67—73.
118. Luries R., Ledig F. Inheritance of some polymorphic isoenzymes in pitch pine (*Pinus regida* Mill.).— Heredity, 1978, v. 40, N 1, p. 27—32.
119. Mäder M., Meyer J., Bopp M. Lokalisation der Peroxidase — Isoenzyme in Protoplasten und Zellwänden von *Nicotiana tabacum* L.— Planta, 1975, Bd. 122, Hf. 3, S. 259—268.
120. O'Malley D., Allendorf F., Blake C. Inheritance of isozyme variation and heterozygosity in *Pinus ponderosa*.— Biochem. Genet., 1979, v. 17, N 3—4, p. 233—250.
121. Maršalek L. Pletivové a genotypové rozdily v souborech izoperoxidaz u *Nicoliana tabacum L.*— Sb. UVTIZ-Genet, 1981, v. 17, N 2, p. 81—88.
122. Matsuura T., Sakai K.— J. Georgraphical variation on an isozyme level in *Abies sachaliensis*.— In: Proc. Joint Sympos. Forest Tree Breeding Genet Subiect Group. Tokyo, 1972.
123. McMillan C. Systematic implications of the peroxidase isoenzymes in the *Xanthium strumarium* complexes.— Biochem. System. Ecology, 1975, v. 3, N 1, p. 7—9.
124. Meijnartowicz L., Bergmann F. Variation and genetics of ribonucleases and phosphodiesterases in conifer seeds.— Can. J. Bot., 1977, v. 55, N 6, p. 711—717.
125. Muhs H. Distinction of Douglas-fir provenances using peroxidase isoenzyme — patterns of needles.— Silvae Genet., 1974, v. 23, N 1—3.
126. Olsson U. Peroxidase isozymes in *Quercus petraea* and *Quercus robur*.— Bot. notis., 1975, v. 128, N 4, p. 408—411.
127. Padma A., Reddy G. Peroxidaze isozymes in the developing endosperm of maize.— J. Hered., 1971, v. 62, N 4, p. 252—254.
128. Payne R., Faibrothers D. Disc electrophoretic study of pollen proteins from natural populations of *Betula populifolia* in New Jersey.— Amer. J. Bot., 1973, v. 60, N 2, p. 182—189.
129. Pearce N., Richens B. Peroxidase isozymes in some elms (*Ulmus* L.) of eastern England.— Watsonia (Gr. Brit.), 1977, v. 11, N 4, p. 382—383.

130. Pei-Show J., Stotzky G. Electrophoretic analysis of isozymes from seeds of *Pinus, Abies* and *Pseudotsuga*.— Can. J. Bot., 1973, v. 51, N 11, p. 2201—2205.

131. Perry Th. Seasonal and genetic differences in fats, phenols, isoenzymes and pigments of red maple.— Forest Sci., 1971, v. 17, N 2, p. 209—212.

132. Prus-Glowacki W., Szweykowski J. Studies on isoenzyme variability in scotch pine (*Pinus silvestris*) and mountain dwarf pine (*Pinus mugo*) populations.— Bull. Soc. Amis Sci Lett. Poznan, 1977 (1978), D. 17, p. 15—27.

133. Puchalski I., Molski B. Isoenzyme variation within the wild *Secale* L. species.— Kulturpflanze, 1981, v. 29, p. 391—399.

134. Ramaiah P., Durzan D., Mia A. Amino acids, soluble proteins and isoenzyme patterns of peroxidase during the germination of jack pine.— Can. J. Bot., 1971, v. 49, N 12, p. 2151—2161.

135. Rasmuson B., Rudin D. Variatons in esterase zymogram patterns in needles of *Pinus silvestris* from provenances in northern Sweden.— Silvae genetica, 1971, v. 20, N 1—2, p. 39—41.

136. Reynolds T. An analysis of enzyme multiple form variation in relation to cytology and morphology in *Gibasis schiedeana. I.* Peroxidases.— Kew. Bull., 1979, v. 34, N 1, p. 83—111.

137. Rudin D., Ekberg I. Linkage studies in *Pinus syvestris* L.— using macrogametophyte allozymes.— Silvae Genet., 1978, v. 27, N 1, p. 1—12.

138. Rudin D., Eriksson G., Ekberg I., Rasmuson M. Studies of allele frequencies and inbreeding in Scots pine populations by the aid of the isozyme technique.— Silvae Genet., 1974, v. 23, N 1—3, p. 10—13.

139. Rudin D., Rasmuson B. Genedic variation in esterases from needles of *Pinus silvestris* L.— Hereditas, 1973, v. 73, N 1, p. 89—98.

140. Scki F., Mesterházy A. Perozidase and cytochrome oxidase isoenzyme patterns of wheat roots as influenced by *Fusarium* infection.— In.: Current Topics in plant Pathol. Budapest, 1977, p. 155—159.

141. Sakai K-I., Hajashi S., Tomita K. Clone analysis and genetical study of quantitative characters in a natural forest of *Cryptomeria japonica*.— Silvae Genet., 1970, v. 19, Hf. 4, p. 124—128.

142. Sakai K.-I., Mipazaki J., Matsuura T. Genetic studies in natural populations of forest trees. I. Genetic variability of the enzymatic level in natural forests of *Thyjopsis delobrata*.— Silvae genetica, 1971, v. 20, Hf. 5—6, p. 168—173.

143. Sakai K.-I., Mijazaki J. Genetic studies in natural populations of forest trees. II. Family analysis: A new method for quantitative genetic studies.— Silvae genetica, 1972, v. 21, p. 149—154.

144. Sakai K. I., Park J.-G. Genetic studies in natural populations of forest trees. III. Genetic differentiation within a forest of *Cryptomeria japonica*.— Theor. Appl. Genet., 1971, v. 41, p. 13—17.

145. Santamour F. Cambiat peroxidase isoenzymes in relation to systematics of *Acer*.— Bull. Torr. Bot. Club., 1982, v. 109, N 2, p. 152—161.

146. Scandalios I. Tissue-specific isozyme variation in maize.— J. Heredity, 1964, v. 55, N 2, p. 281—285

147. Scandalios I. Leucine aminopeplidase isozymes in maize development.— J. Heredity, 1965, v. 56, N 1, p. 177—180.

148. Seandalios I. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review.— Biochem. Genet., 1969, v. 3, p. 37—39.

149. Scandalios I. Isozymes in development and differentiation.— Ann. Rev. Plant Phys., 1974, v. 25, p. 225—258.

150. Szweykowski J., Krzakowa M. Peroxidases as taxonomic characters. I. *Carex* sectio Vignea (Cyperaceae, Angiospermae).— Bull. Soc. Amis Sci. Lett. Poznan, 1977 (1978), D. 17, p. 29—32.

151. Schaw C.h. Electrophoretic variation in enzymes.— Science, 1965, v. 149, N 3687, p. 963—943.

152. Shaw D., Allard R. Estimation of outcrossing rates in Dougias-fir using isozyme markers.— Theor. Appl. Genet., 1982, v. 62, N 2, p. 113—129.

153. Schmidt A. Genetic variation among eleven populations of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) as determined by catalase polymorphism.— Arbor. kor., 1980, v. 25, p. 181—187.
154. Sheen S. Peroxidases in the gemus *Nicotiana*.— Theor. Appl. Genet, 1970, v. 40, p. 18—25.
155. Singh R., Singh D. Isoenzyme pattern of peroxidase, polyphemol oxidase and catalase during germination and early plant development of wheat.— Biochem. Physiol. Pflanz, 1974, Bd. 166, Hf. 3, S. 233—237.
156. Singh Ved Pal, Cupta Vimal Kishore. Electrophoretic variations in *Brassica* with respect to esterase isoenzyme patterns.— J. Indian Bot. Soc., 1978, 57, N 2, p. 146—154.
157. Smith H., Hamill D., Weaver E., Thompson K. Multiple molecular forms or peroxidases and esterases among *Nicotiana* species and amphiploids.— J. Hered., 1970, v. 61, N 5, p. 203—212.
158 Shynder E., Hamaker I. Inheritance of peroxidase isozymes. in needles of loblolly and longleaf pines.— Silvae Genet., 1978, v. 27, N 3—4, p. 125—129.
159. Spiegel-Roy P., Vardi A., Schami A. Peroxidase isozymes as a tool for early separation of nucellar and zygotic citrus seedlings.— Proc. Int. Soc. Citricult. Int. Citrus Congr., Orlando, 1977, v. 2; 1978, p. 619—624.
160. Srivastava O., Huystee R. Evidence for close assiciation of peroxidase polyphenol oxidase and IAA oxidase isozymes of peanut suspension culture medium.— Can. J. Bot., 1973, v. 51, N 11, p. 2207—2215.
161. Thiebaut B., Lumaret R., Vernet Ph. The bud enzymes of beech (*Fagus sylvatica* L.) genetic distinction and analisis of polymorphism in several French populations.— Silvae Genet., 1982, v. 31, Hf. 2—3, p. 51—60.
162. Thurman D., Boulter D., Derbyshire E., Turner B. L. Electrophoretic mobilities of formic and glutamic dehydrogenases in the *Fabaceae:* A systematic survey.— New Phytol., 1967, v. 66, p. 37—45.
163. Tigerstedt P. Studies on isozyme variations in marginal and central populations of *Picea abies*.— Hereditas, 1973, v. 75, p. 47—60.
164. Toda R., Mikami S. The provenance trials of Japanese larch established in Japan and the tentative achievements.— Silvae Genet., 1976, v. 25, Hf. 5—6, 209—216.
165. Iorres A., Soots R., Diedenholfen U. Leat isozymes as gene tic markers in *Citrus*.— Amer. J. Bot., 1978, v. 65, N 8, p. 869—881.
166. Valizageh M. Esterase and acid phosphotase polpmorphism in the fig tree (*Ficus carica* L.).— Biochem. Genet., 1977, v. 15, N 11—12, p. 1037—1048.
167. Vayghan J., Waite A. Comparative electrophoretic studies of the seed proteins of certain species of *Brassica* and *Sinapis*.— J. Exp. Bot., 1967, v. 18, N 54, p. 100—109.
168. Weber J., Stettler R. Isoenzyme variation among ten populations of *Populus trichocarpa* Torr. et Gray in the Pacific North — west.— Silvae Genet., 1981, v. 30, N 2—3, p. 82—87.
169. Wendel I., Parks C. Genetic control of isozyme variation in *Camellina japonica*.— J. Hered., 1982, v. 73, N 3, p. 197—204.
170. West N., Garber F. Genetic studies of variant enzymes. I. An electrophoretic survey of esterases and leucine aminopeptidases in the genus *Phaseolus*.— Can. J. Genet. Cytol., 1967, v. 38, N 3, p. 640—645.
171. Wheeler N., Guries R. Population structure, genic diversity, and morphological variation in *Pinus contorta* Dougl.— Can. J. Forest Res., 1982, v. 12, N 3, p. 595—606.
172. Witter M., Feret P. Inheritance of glutamate oxalo-acetate transaminase isozymes in virginia pine megagametophytes.— Silvae Genet., 1978, v. 27, Hf. 3—4, p. 129—134.
173. Witter M., Feret P. Inheritance of esterase and acid phosphatase isozymes in virginia pine and the application of the isozyme technique to a seed orchard population.— Silvae Genet., 1979, v. 28, N 5—6, p. 213—220.

174. Jamamoto K., Plitmann U. Isozyme polymorphism in species of the genus *Vicia* (Leguminosae).— Jap. J. Genet., 1980, v. 55, N 3, p. 151—164.

175. Jang I., Ching T., Ching K. Isoenzyme variation of coastal Douglas-fir. I. A study of geographic variation in thee enzyme spstems.— Silvae Genet., 1977, v. 26, N 1, p. 10—18.

176. Jeh E., El-Kassaby J. Enzyme variation in natural populations of sitka spruce (*Picea sitchensis*). 1. Genetic variation patterns amog trees from 10 IUFRO provenances.— Can. J. Forest Res., 1980, v. 10, N 3, p. 415—422.

177. Jeh F., Malley D. Enzyme variations in natural populations of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) from Britisch Columbia. 1. Genetic variation patterns in coastal populations.— Silvae Genet., 1980, v. 29, N 3—4, p. 83—92.

178. Zin-Suh Kim. Inheritance of leucine aminopeptidase and acid phosphatase isozymes in beech (*Fagus sylvatica* L.).— Silvae Genet., 1979, v. 28, Hf. 2—3, p. 68—71.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение 3
Глава 1. Значение и роль изоферментов в растениях . . 5
Глава 2. Изоферменты в генетико-популяционных исследованиях древесных растений 9
Глава 3. Изоферменты в хемосистематике растений . . 21
Глава 4. Методы и объекты исследований 24
Глава 5. Эндогенная изменчивость 29
Глава 6. Сезонная и погодичная изменчивость 35
Глава 7. Индивидуальная изменчивость изоферментов хвои 42
Глава 8. Межпопуляционная изменчивость 50
Заключение 58
Литература 61

Семкина Лидия Александровна

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТНЫХ СПЕКТРОВ ПЕРОКСИДАЗЫ У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Рекомендовано к изданию Ученым советом Института экологии растений и животных и РИСО УНЦ АН СССР

Редактор **И. Ф. Сахновский**
Обложка художника **М. Н. Гарипова**
Техн. редактор **Н. Р. Рабинович**
Корректор **О. П. Естишина**

Сдано в набор 14.06.84. Подписано в печать 29.05.85. НС 15077. Формат 60×90 1/16. Бумага типографская № 2. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл.-печ. л. 4,5. Уч.-изд. л. 5,5. Тираж 700. Заказ 427. Цена 80 к.

РИСО УНЦ АН СССР, г. Свердловск, ГСП-169, Первомайская, 91.
Типография изд-ва «Уральский рабочий», г. Свердловск, пр. Ленина, 49.