

БИОХИМИЧЕСКИЙ И ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ПЫЛЬЦЫ РАЗНЫХ КЛОНОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Е.И. Киров¹, В.В. Тараканов², Т.А. Кукушкина³, О.В. Чанкина¹, Л.И. Кальченко⁴

¹Институт химической кинетики и горения СО РАН, Россия

²Западно-Сибирский филиал института леса СО РАН, Россия

³Центральный Сибирский Ботанический сад СО РАН, Россия

⁴Центр защиты леса по Алтайскому краю, Россия

630082, Новосибирск, а.я. 45, ул. Жуковского 100/1, т. (383) 2254702, e-mail: vytarh@yandex.ru

Изучена изменчивость химического состава пыльцы у клонов сосны обыкновенной. Обнаружено достоверное влияние клонов на содержание в пыльце Fe, Cu, Zn, Pb. Для анализа биохимического состава пыльцы были использованы формы сосны, отличающиеся по окрасу микростробиллов - «желтая» и «красная». По содержанию большинства компонентов (аскорбиновой кислоты, сахаров, дубильных веществ, флавонолов, катехинов, протопектинов, сапонинов) межклоновая изменчивость существенно перекрывает межформовую. Лишь по содержанию кислот имеет место обратное соотношение. Предварительный результат сводится к тому, что изменчивость элементного состава пыльцы по некоторым компонентам имеет наследственную природу, и это может быть использовано для создания сортов-клонов фармакологического и парфюмерного назначения.

The variability of chemical compound of pollen in a Scotch pine clones is studied. Significant influence of clones on the maintenance in pollen Fe, Cu, Zn, Pb is revealed. For the analysis of biochemical structure of pollen have been used "yellow" and "red" microstrobile forms of a pine. The between clones variability is essentially more then between forms variability. Only the maintenance of acids is exception. It is resumed that variability of element structure of pollen on some components has the hereditary nature, and it can be used for breeding on pharmacological and perfumery purposes.

Комплексное рациональное использование лесных генетических ресурсов подразумевает необходимость оценки генетической гетерогенности популяций древесных растений по различным признакам, включая химический состав компонентов их фитомассы. Анализ изменчивости химического состава генеративных органов хвойных древесных растений интересен с позиций отбора на повышенное содержание микроэлементов и физиологически активных химических соединений с целью получения сырья для фармакологической и косметической промышленности. В частности, значительным спросом у населения пользуется пыльца сосны (*Pinus sylvestris* L.), употребляемая наряду с пыльцой насекомоопыляемых растений как общеукрепляющее средство. Как показывают наши исследования, генетическая изменчивость по уровню пыльцевой продуктивности сосны является очень большой. При этом клоны «мужской сексуализации» могут продуцировать до 30-40 кг пыльцы на 1 га [Тараканов, 1999]. Между тем, изменчивость химического состава этого ценного продукта изучена недостаточно. Поэтому основной задачей наших исследований была оценка межклоновой (генотипической) изменчивости химического состава пыльцы сосны на клоновых плантациях этого вида в условиях Среднеобского бора.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Заготовку пыльцы для анализа химического состава осуществляли весной 2005 г. на 25-летней плантации, расположенной в Озерском лесхозе Алтайского края. Пыльцу заготавливали по общепринятой

методике. За 1 день до начала пыления осуществляли сбор «мужских колосков» с 17 клонов. Собранный сырьё досушивали в тёплых закрытых помещениях до выделения пыльцы из колосков. Пыльцу отвеивали на ситах, подсушивали до состояния «текучести» и помещали в стеклянной герметичной таре в холодильник. Такая пыльца использовалась для анализов на содержание биологически активных веществ (БАВ) и элементов. В последнем случае для каждого из 17 изученных клонов получали смешанный образец пыльцы. «Остаточный» компонент дисперсии оценивали по изменчивости между 4 раментами одного из клонов.

Элементный анализ сосновой пыльцы проводился рентгено-флуоресцентным методом с использованием синхротронного излучения (РФА СИ) в Центре синхротронного излучения ИЯФ СО РАН [Kutsenogyi et al., 2007] (станция элементного анализа, накопитель ВЭПП-3). Количественное определение элементного состава проводилось методом внешнего стандарта. В качестве стандарта, наиболее близкого по составу к определяемым образцам, использовался российский стандарт СОРМ1 ГСО8242-2003.

Содержание БАВ - сахаров, кислот, экстрактивных веществ, флавоноидов, каротиноидов, а также пектинов и катехинов - определяли в лаборатории фитохимии ЦСБС СО РАН по общепринятым методикам [Кривенцов, 1982].

Длину и вес «мужских колосков» (часть побега с микростробилами) оценивали после подсушивания при комнатной температуре до выделения пыльцы. Измерение длины пыльцевых зёрен осуществляли по методике Т.П. Некрасовой [1983] под световым микроскопом при увеличении 7*20.

Для оценки компонентов дисперсии и долей влияния клонов (коэффициента наследуемости в широком смысле слова H^2) по морфометрическим признакам использовали однофакторный дисперсионный анализ (равномерный комплекс, число клонов – 16-17, общий объём комплекса N=48 для признака «длина мужских колосков» и 510 - для признака «длина пыльцевых зёрен»). Для оценки H^2 по признакам химического состава пыльцы применяли «метод эталонов» [Рашаль, 1985]: число клонов – 17, число рамет для оценки «остаточного» компонента дисперсии - 4; общий объём комплекса N=21.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Популяции сосны диморфны по окраске микростробил. Обычно в насаждениях преобладает форма с желтой окраской, форма с красными пыльниками

разных оттенков встречается реже, но её частота повышается в крайних популяциях и в условиях пессимума. Частота краснопыльничковой формы рассматривается в качестве фона популяционного масштаба [Видякин, 2001; 2004]. В литературе отмечается, что красный цвет пыльников (микростробил) обусловлен содержанием антоцианов [Козубов, 1962]. Сведения об адаптивном значении и ассоциации окраски микростробил с другими признаками в определенной мере противоречивы [Некрасова, 1983; Видякин, 2004; Седельникова и др., 2004]. Но многие авторы отмечают, что сосна с красными микростробилами в среднем высыпает пыльцу раньше, чем с желтыми. Это явление характерно и для исследуемой нами плантации. Частота краснопыльничковой формы на лесосеменных плантациях (ЛСП) плюс-деревьев приобской сосны варьирует в пределах 12,5-31,7 %.

Таблица 1 - Средние значения морфометрических признаков «мужских колосков» и пыльцевых зерен у желто- и краснопыльничковых форм сосны на лесосеменной плантации

Окраска мужских соцветий	Вес побегов, г		Длина колосков, мм		Длина пыльцевых зерен, ед.окуляр-микрометра	
	$x \pm m$	n	$x \pm m$	n	$x \pm m$	n
Желтая	0,153 ±0,156	42	37,1 ±3,12	42	17,52 ±0,043	450
Красная	0,150 ±0,013	6	34,3 ±7,04	6	17,00 ±0,104	60
Разность средних	0,003 ±0,157		2,8 ±7,70		0,52 ±0,113***	

*** - $P < 0.001$

При этом клоны краснопыльничковой формы не отличаются по размерам и весу мужских побегов от клонов желтопыльничковой формы, но характеризуются более мелкими размерами пыльцевых зёрен (таблица 1). Это находится в некотором противоречии с данными, полученными для суходольных сосняков таежной зоны Западной Сибири [Седельникова и др., 2004]. Вероятно, оно обусловлено раз-

личиями в генетической структуре насаждений и лабильностью связей количественных и полиморфных признаков [Глотов, 1983]. Интересен вопрос о том, сказывается ли окраска микростробил (наличие антоцианов) на химическом составе пыльцы. Для анализа биохимического состава были подобраны 3 желтопыльничковых и 3 краснопыльничковых (КП) клона сосны.

Таблица 2 - Концентрация органических соединений в пыльце желто- и красно-пыльничковых форм сосны в условиях клоновых плантаций

№ клона	Аскорбиновая кислота, мг %	Сахара, %	Кислотность, %	Дубильные вещества, %	Флавонолы, %	Катехины, %	Протопектины, %	Сапонины %
а) желтый окрас мужских соцветий								
22	21,56	6,85	1,97	0,82	0,093	0,035	2,27	5,79
31	20,92	4,84	1,84	0,64	0,094	0,016	1,51	6,55
122	19,24	5,26	1,89	0,45	0,051	0,043	1,42	4,87
Среднее	27.59 ±0.69	4.02 ±0.61	1.67 ±0.04	0.44 ±0.11	0.053 ±0.014	0.035 ±0.008	1.57 ±0.27	6.39 ±0.49
б) красный окрас мужских соцветий								
1	37,16	5,74	1,66	0,63	0,020	0,020	1,53	5,01
17	29,14	3,34	1,63	0,35	0,075	0,042	1,56	-
69	16,47	2,99	1,73	0,34	0,065	0,043	1,63	7,77
Среднее	20.57 ±6.02	5.65 ±0.86	1.90 ±0.03	0.64 ±0.10	0.079 ±0.017	0.031 ±0.008	1.73 ±0.03	5.74 ±1.13
<i>Достоверность различий между «а» и «б»</i>								
Разность средних	7,02 ±6,06	1,63 ±1,06	0, 23 ±0,05	0,20 ±0,14	0,026 ±0,022	0,004 ±0,011	0,16 ±0,27	0,65 ±1,23
t	1.16	1.54	4.72*	1.38	1.18	0.33	0.59	0.53

t - значение статистики критерия Стьюдента; * - $P < 0.05$

Анализ показал, что по содержанию большинства компонентов (аскорбиновой кислоты, сахаров, дубильных веществ, флавонолов, катехинов, протопектинов, сапонинов) межклоновая изменчивость существенно перекрывает межформовую. Однако по содержанию кислот различие между формами статистически значимо (таблица 2).

Что касается элементного состава пыльцы, то достоверное различие между желто- и краснопыльничковыми деревьями обнаружено по 3 из 12 надежно диагностируемых элементов: Ca, Zn и Cu (таблица 3). Интерпретация этих результатов на данном этапе исследований затруднительна. Очевидно лишь, что полиморфизм по окраске микростробил (наличию антоцианов) может быть ассоциирован с более глубокими различиями в химизме растений. Но связь эта может оказаться лабильной (варьировать в зависимости от генетической структуры и

условий обитания популяций), поэтому в этом направлении необходимы дальнейшие исследования. В целом можно заключить, что на исследуемой ЛСП межформовая изменчивость по окраске микростробил существенно ниже межклоновой (внутрипопуляционной генетической) – как по «химическим» так и по морфометрическим признакам. Например, доля влияния клонов в общей дисперсии (H^2) длины «мужских колосков» и длины пыльцевых зёрен составляет 24,0 и 44,7 % соответственно ($P < 0.001$).

Аналогичные оценки для концентрации 12 химических элементов в пыльце варьируют в очень широких пределах – почти от 0 до более чем 90 %, составляя в среднем около 55 %. При этом достоверные межклоновые (генотипические) различия наблюдаются по 4/12 выборки элементов: Fe, Cu, Zn, Pb (рисунок).

Таблица 3 - Средняя концентрация элементов (ppm) в пыльце желто- и краснопыльничковых форм сосны на лесосеменной плантации (приведены данные для элементов, по которым обнаружены достоверные различия между формами; $P < 0.05$)

Окраска мужских соцветий	Число клонов	Химический элемент		
		Ca	Zn	Cu
Желтая	15	298 ±10	28,0 ±1,2	2,06 ±0,09
Красная	2	352 ±5	21,7 ±3,4	1,70 ±0,03
Разность средних	-	54 ±15	6,3 ±2,5	0,36 ±0,13

В частности клон выраженной мужской сексуализации № 122 характеризуется и определенными отклонениями в химическом составе пыльцы – наибольшей концентрацией железа и свинца. Отметим также, что при анализе химического состава хвои оценки H^2 по содержанию железа были близки к нулевым [Тараканов и др., 2007], что контрастирует с высокими оценками наследуемости содержания этого элемента в пыльце.

В заключение рассмотрим межклоновые (генотипические) корреляции между химическим составом пыльцы и некоторыми морфометрическими

признаками мужской генеративной сферы. В целом степень ассоциации признаков является невысокой (табл. 4). Среди признаков химической природы можно выделить кластер положительно коррелированных элементов K, Rb, Y, Br с коэффициентами 0.50...0.97. Вес и длина мужских колосков положительно коррелированы с содержанием в пыльце K, а длина пыльцевых зёрен - отрицательно с содержанием Mn. Следовательно, отбор на химические особенности пыльцы может привести к изменениям морфометрических признаков мужской генеративной сферы.

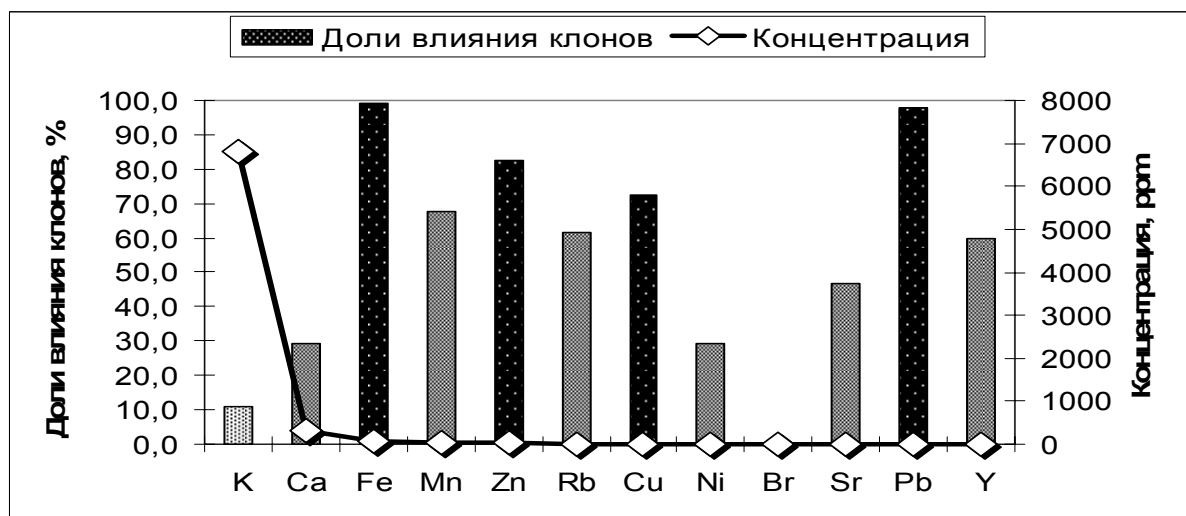


Рисунок 1 - Доли влияния клонов в общей дисперсии признаков и концентрация элементов в пыльце сосны (доли влияния, значимые на уровне $P < 0,05$, выделены темным цветом)

Таблица 4 - Межклоновые коэффициенты корреляции Спирмена между концентрацией химических элементов в пыльце и морфометрическими признаками мужской генеративной сферы. Жирным шрифтом выделены коэффициенты, достоверно отличающиеся от нуля при $P < 0.05$ ($N=16$)

	K	Ca	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Br	Rb	Sr	Y	Pb	ВМК
K	1,00												
Ca	0,34	1,00											
Mn	0,13	0,10	1,00										
Fe	0,38	0,35	0,41	1,00									
Ni	0,06	-0,16	-0,03	0,23	1,00								
Cu	0,10	-0,45	0,16	0,35	0,67	1,00							
Zn	-0,14	0,07	0,46	0,55	0,38	0,58	1,00						
Br	0,37	0,09	-0,18	-0,15	-0,01	-0,11	-0,42	1,00					
Rb	0,89	0,43	0,31	0,30	0,12	0,11	-0,09	0,52	1,00				
Sr	-0,10	0,48	0,31	0,38	0,02	-0,11	0,42	-0,22	-0,02	1,00			
Y	0,85	0,43	0,18	0,22	0,06	0,12	-0,14	0,55	0,97	-0,05	1,00		
Pb	-0,31	-0,38	-0,37	0,13	0,20	0,44	0,16	0,12	-0,39	-0,06	-0,32	1,00	
ВМК	0,50	0,15	-0,30	0,26	-0,09	-0,02	-0,36	0,46	0,38	-0,40	0,44	0,22	1,00
ДМК	0,50	0,42	0,01	0,43	-0,00	0,06	0,09	0,08	0,43	-0,05	0,46	-0,06	0,75
ДПЗ	0,01	0,16	-0,55	0,04	-0,40	-0,32	-0,18	-0,16	-0,22	0,11	-0,11	0,09	0,30

ВМК – вес «мужских колосков», ДМК – длина «мужских колосков»; ДПЗ – длина пыльцевых зёрен

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с небольшим объёмом выборок исследования по оценке химической разнокачественности пыльцы на клоновых плантациях сосны следует продолжить. Предварительный результат сводится к тому, что обнаруженная изменчивость имеет наследственную природу, и это может быть использовано для создания сортов-клонов фармакологического и парфюмерного назначения

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Видякин, А.И. Популяционная структура сосны обыкновенной на востоке европейской части России: автореф. ... докт.биол.наук. 03.00.16 / А.И. Видякин. - Екатеринбург, 2004. 48 с.
- Видякин, А.И. Фены лесных древесных растений: выделение, масштабирование и использование в популяционных исследованиях (на примере *Pinus sylvestris* L.) / А.И. Видякин // Экология. - 2001. - № 3. - С. 197-202.
- Глотов, Н.В. Оценка генетической гетерогенности природных популяций: количественные признаки / Н.В. Глотов // Экология. - 1983. - № 1. - С. 3-10.

- Козубов, Г.М. О краснопыльничковой форме сосны обыкновенной / Г.М. Козубов // Ботан. журн. - 1962. - Т. 47. - № 2. - С. 276-283.
- Некрасова, Т.П. Пыльца и пыльцевой режим хвойных Сибири [Текст] / Т.П. Некрасова - Новосибирск: Наука, 1983 – 169 с.
- Рашаль, И.Д. Генетический анализ количественных признаков / И.Д. Рашаль // Пути генетического улучшения лесных древесных растений. - М.: Наука, 1985. – С. 35-49.
- Седельникова, Т.С. Морфология пыльцы сосны обыкновенной на болотах и суходолах / Т.С. Седельникова, А.В. Пименов, С.П. Ефремов // Лесоведение. - 2004. - № 6. - С. 58-62.
- Тараканов, В.В. Пыльцевая продуктивность лесосеменных плантаций сосны / В.В. Тараканов // Лесное хоз-во. - 1999. – № 2. – С. 39-40.
- Элементный состав хвои в разных клонах сосны обыкновенной / В.В. Тараканов [и др.] // Лесоведение. – 2007. - № 1. - С. 28-35.
- Kutsenogyi, K.P. The use of X-ray fluorescence analysis with synchrotron radiation to measure elemental composition of phytomass and soils / K.P. Kutsenogyi et oll. // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A 575 (2007) 214-215.

Поступила в редакцию 1 августа 2007 г.
Принята к печати 15 сентября 2007 г.