

Коршиков И. И., Горлова Е. М.  
Донецкий ботанический сад НАН Украины

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕРЕВЬЕВ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ОПЫЛЕННОСТИ И ОПОЛОДТВОРЕННОСТИ СЕМЯПОЧЕК *PINUS STANKEWICZII* (SUKACZ.) FOMIN В НАСАЖДЕНИЯХ КРЫМА

На основе анализа изменчивости 20 аллозимных локусов изучены генетические особенности растений с высоким и низким уровнями опыленности и оплодотворенности семян *Pinus stankeviczii* из древостоев Крыма. Установлено, что наибольшие значения доли полиморфных локусов и количества аллелей свойственны высокоопыленным деревьям, а наиболее высокая гетерозиготность ( $H_o=0,229$ ), наибольшее количество генотипов, редких аллелей и генотипов — деревьям с высоким уровнем оплодотворенности.

### Введение

Сосна Станкевича (*Pinus stankeviczii* (Sukacz.) Fomin), как и большинство видов рода *Pinus* L., отличается от других представителей семейства *Pinaceae* Lindl. исключительной редкостью партеноспермии [6]. Это их свойство позволяет изучать процессы опыления и оплодотворения и с достаточной высокой точностью определять количество опыленных и оплодотворенных семян у каждого конкретного растения [5]. Изначально каждая женская шишка обладает определенной потенциальной способностью к образованию полноценных семян, но на разных этапах ее развития происходит частичная гибель семян — и в итоге только некоторая их часть формирует полные, пустые и недоразвитые семена. Общее количество семян этих трех категорий характеризует опыленность семян [4] или их гаметофитную выживаемость [5]. Непосредственные причины, влияющие на качество опыления — недостаток и неравномерность распределения пыльцы в кроне растения, а также необратимые нарушения в развитии мужских или женских гаметофитов, их полная или частичная несовместимость. Успешность оплодотворения или эмбриональная выживаемость семян оценивается по суммарному количеству полных и пустых семян в шишке [5].

В популяциях хвойных отмечают отдельные деревья, которые в одинаковых условиях опыления существенно различаются по выживаемости семян. При этом индивидуальные отличия деревьев

в опыленности и выживаемости семян на гаметофитном и эмбриональном этапах их развития, как правило, сохраняются из года в год [4, 5]. Благодаря современным методам исследования растений, в частности анализу биохимической наследственной изменчивости, стало возможным изучение генетических особенностей растений, существенно отличающихся по показателям, характеризующим половой репродуктивный процесс.

Цель работы — выяснить генетические особенности деревьев с высокой и низкой опыленностью и оплодотворенностью семян в насаждениях *P. stankeviczii* в Горном Крыму.

### Материалы и методы исследований

В природных урочищах Новый Свет и Аязьма а также насаждении возле поселка Морское в Горном Крыму собирали нераскрытые женские шишки со 191 растения *P. stankeviczii*. В 5–10 шишках каждого растения определяли количество полных, пустых и недоразвитых семян в расчете на одну шишку. Используя эти данные, согласно методике М. Г. Романовского [5], рассчитывали показатели опыленности и оплодотворенности семян каждого растения. В результате этого анализа были выделены непересекающиеся группы деревьев с высокими и низкими уровнями опыленности и оплодотворенности семян. У 28 отобранных растений с высоким уровнем опыленности гаметофитная выживаемость семян была  $\geq 90,1\%$ ,

а у 19 — с низкой опыленностью семян гаметофитная выживаемость  $\leq 60,3\%$ . Эмбриональная выживаемость семян у деревьев с высоким и низким уровнями оплодотворенности составила соответственно  $\geq 94,5\%$  (16 деревьев) и  $\leq 64,8\%$  (19 деревьев). Для определения генотипа каждого из 191 растения использовали не менее восьми случайно выбранных эндоспермов семян, из которых экстрагировали ферменты. Их электрофоретически разделяли в 7,5 %-ном полиакриламидном геле. В таких исследованиях было задействовано девять ферментных систем. Методика их анализа и статистические методы расчетов основных показателей генетической изменчивости подробно описаны нами ранее [1, 2].

### Результаты исследований и их обсуждение

Ранее нами было установлено, что синтез девяти ферментов у *P. stankeviczii* контролируется 20 локусами, из которых 18 полиморфны в древостоях Крыма. При сравнении аллельного и генотипического состава групп деревьев *P. stankeviczii* с высокой и низкой опыленностью и оплодотворенностью семян в насаждениях Горного Крыма обнаружены некоторые отличия (табл. 1). Так, например, по количеству выявленных аллелей наиболее различались выборки с высокой (наибольшее аллельное представительство) и низкой (наименьшее количество аллелей) опыленностью семян. Одинаковое количество аллелей выявилось в группах деревьев с высоким и низким уровнями оплодотворенности. В каждой из четырех групп деревьев встречались присущие только им аллели и генотипы. Это, как правило, редкие аллели и генотипы, так как встречались с частотой ниже 0,05. Наибольшее количество редких аллелей выявлено

в альтернативных группах по оплодотворенности семян. Что же касается генотипического состава, то максимальное количество генотипов обнаружено в группе деревьев с высоким числом оплодотворенных семян (53), чуть меньшее их количество — у высокоопыленных растений (52). В выборках с низкими показателями опыленности и оплодотворенности семян выявлено по 46 и 48 генотипов соответственно. Интересен тот факт, что в группе деревьев с высоким уровнем оплодотворенности семян отмечено максимальное количество редких аллелей и генотипов (встречающихся только в этой группе), при этом данная выборка — самая маленькая по количеству исследуемых растений.

Аллельная гетерогенность, определенная с помощью  $\chi^2$ -теста внутри альтернативных выборок по опыленности и оплодотворенности семян, обнаруживает различия для трех локусов: Sod-1 (2 случая), Dia-3 (1 случай) и Adh-1 (1 случай). Существенная генотипическая неоднородность выявлена только по локусу Adh-1 между выборками деревьев с высокой и низкой опыленностью семян.

В анализируемых выборках деревьев установлено два достоверных случая отклонения фактического распределения генотипов от теоретически ожидаемого согласно закону Харди-Вайнберга. Эти случаи были выявлены в локусах Mdh-3 и Mdh-4 в выборках растений с низкой (локус Mdh-4, недостаток гетерозигот) и высокой (Mdh-3, избыток гетерозигот) опыленностью семян.

Деревья *P. stankeviczii* с высокой опыленностью семян характеризуются большей долей полиморфных локусов (85,0 %) в сравнении с другими изучаемыми выборками и соответственно большим средним числом аллелей на локус — 2,250 (табл. 2). У растений с низкой опыленностью

1. Количество аллелей и генотипов в выборках *Pinus stankeviczii* с разной опыленностью и оплодотворенностью семян в насаждениях Крыма

Выборка растений	Количество деревьев	Количество аллелей		Количество генотипов	
		общее	встречающиеся только в одной группе	общее	встречающиеся только в одной группе
С высокой опыленностью семян	28	45	2	52	2
С низкой опыленностью семян	19	40	1	46	1
С высокой оплодотворенностью семян	16	44	4	53	6
С низкой оплодотворенностью семян	19	44	4	48	3

2. Значения основных показателей генетического полиморфизма в группах деревьев *Pinus stankeviczii* с высокой и низкой опыленностью и оплодотворенностью семян в насаждениях Крыма

Выборки растений по опыленности и оплодотворенности семян	Доля полиморфных локусов, P <sub>99</sub>	Среднее число аллелей на локус, A	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта, F
			ожидаемая, H <sub>F</sub>	наблюдаемая, H <sub>O</sub>	
Опыленность семян					
Высокая	0,850	2,250	0,195 ± 0,016	0,189 ± 0,015	0,031
Низкая	0,800	2,000	0,192 ± 0,019	0,186 ± 0,018	0,031
Оплодотворенность семян					
Высокая	0,800	2,200	0,240 ± 0,022	0,229 ± 0,021	0,046
Низкая	0,800	2,200	0,207 ± 0,019	0,211 ± 0,020	-0,019
В среднем по общей выборке					
	0,817	2,171	0,206 ± 0,019	0,201 ± 0,018	0,022

семян выявлены наименьшие значения ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности: 19,2% и 18,6% соответственно, а наибольшие — у группы деревьев с максимальной оплодотворенностью семян: 24,0% и 22,9%. Для трех групп деревьев характерен некоторый дефицит гетерозигот, подтверждаемый положительными значениями индекса фиксации Райта. Исключением является группа с низкой оплодотворенностью семян, у которой отмечен небольшой избыток гетерозигот.

Для выяснения межвыборочных генетических отличий были использованы коэффициенты F-статистики Райта и G-статистики Неи. Выявлен низкий уровень структурной подразделенности исследуемых выборок. У групп деревьев с высокой и низкой оплодотворенностью семян на долю межвыборочной составляющей генетической изменчивости приходится 1,5–1,6%, а у групп растений с разной опыленностью семян еще меньше — 0,9% (табл. 3). Доля вклада отдельных полиморфных локусов в подразделенность выборок неодинаковая, а локусы с максимальным вкладом в формирование межвыборочных отличий практически совпадают. Следует отметить, что высокие значения коэффициента FST, отражающего соотношение гомо- и гетерозиготных генотипов в сравниваемых альтернативных группах, обнаружены в локусах Got-1, Adh-1, Sod-1 (опыленность семян) и Got-1, Dia-3, Sod-1 (оплодотворенность семян).

Генетическая дистанция Нея (DN) между сравниваемыми группами растений *P. stankeviczii* была невысокой, варьируя в пределах 0,005–0,011. Наиболее высокие значения DN были выявлены между высокоопыленными деревьями и альтернативными группами деревьев с разной оплодотворенностью семян (0,011). Такой уровень генетических отличий был выявлен между субпопуляциями *P. stankeviczii* в пределах двух локалитетов (Новый Свет и Айя) в Горном Крыму [1]. При изучении *Pinus pallasiana* D. Don было установлено, что более гетерозиготные растения в насаждениях Приазовья отличаются более высокой выживаемостью опыленных и оплодотворенных семян [3]. Однако, при исследовании *P. pallasiana* из природной популяции Горного Крыма гетерозиготность материнских растений существенно не сказывалась на гаметофитной и эмбриональной выживаемости их семян. Вероятно, в естественных условиях произрастания выживание опыленных и оплодотворенных семян зависит не столько от уровня гетерозиготности материнских растений, сколько от их генотипических особенностей, связанных с наличием полуплетальных аллелей генов или их комплексов, непосредственно влияющих на процесс половой репродукции. Все это свидетельствует, что одной из главных причин различий между деревьями с разными показателями опыленности и оплодотворенности является их генотипическая неоднородность в насаждениях *P. stankeviczii*.

3. Значения коэффициентов  $F_{ST}$  и  $G_{ST}$  для групп деревьев *Pinus stankeviczii* с разной опыленностью и оплодотворенностью семян в насаждениях Крыма

Локусы	Опыленность семян:		Оплодотворенность семян:	
	высокая	низкая	высокая	низкая
	$F_{ST}$	$G_{ST}$	$F_{ST}$	$G_{ST}$
Gdh	0,000	0,000	0,006	0,001
Got-1	0,029	0,029	0,033	0,033
Got-2	0,000	0,000	0,007	0,007
Got-3	0,007	0,007	0,000	0,000
Fdh	0,007	0,007	0,009	0,010
Dia-1	0,003	0,002	0,006	0,003
Dia-2	0,006	0,005	0,025	0,025
Dia-3	0,002	0,002	0,041	0,044
Dia-4	0,002	0,002	0,021	0,026
Аср	0,007	0,003	0,008	0,006
Adh-1	0,034	0,040	0,000	0,000
Adh-2	0,006	0,008	0,015	0,015
Lap-1	0,001	0,000	0,021	0,021
Mdh-2	0,003	0,003	0,002	0,002
Mdh-3	0,020	0,011	0,016	0,012
Mdh-4	0,000	0,000	0,021	0,021
Sod-1	0,055	0,055	0,072	0,072
Sod-2	0,000	0,000	0,000	0,000
Sod-3	0,000	0,000	0,000	0,000
Sod-4	0,000	0,000	0,010	0,007
Среднее	0,009	0,009	0,016	0,015

**Выводы**

Деревья *P. stankeviczii* в насаждениях Горного Крыма с высокой и низкой опыленностью и оплодотворенностью имеют определенные генетические отличия. Деревья с наиболее высокой гетерозиготностью, как правило, характеризуются и наибольшей оплодотворенностью семян. Поэтому при формировании лесосеменных плантаций, особенно клоновых, желательно предварительно выяснить генетические особенности плюсовых и элитных деревьев. При создании таких насаждений необходимо, на наш взгляд, ориентироваться на деревья с высокими уровнями опыленности и особенно оплодотворенности семян, так как именно они обладают оптимальной гетерозиготностью и разнообразным аллельным и генотипическим составом. Только на такой научно-генетической основе можно

формировать наиболее устойчивые искусственные насаждения этой сосны в Горном Крыму.

**Перечень ссылок**

1. Коршиков И. И., Горлова Е. М. Генетическая структура, подразделенность и дифференциация популяций сосны Станкевича (*Pinus stankeviczii* (Sukacz.) Fomin) в Горном Крыму // Генетика. — 2006. — Т. 42, № 6. — С. 824–832.
2. Коршиков И. И., Скидан Е. М., Коба В. П. Генетический контроль аллозимов у сосны пицундской (*Pinus pityusa* Stev.) природных популяций Крыма // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 1. — С. 26–31.
3. Коршиков И. И., Терлыга Н. С., Бычков С. А. Популяционно-генетические проблемы дендротехнологической интродукции (на примере сосны крымской). — Донецк: ООО «Лебедь», 2002. — 328 с.

4. Некрасова Т.И. Изменчивость числа семян в шишках сосны от опыления // Лесоведение. — 1986. — № 1. — С. 38–42.
5. Романовский М.Г. Гаметофитная смертность семян-почек сосны обыкновенной // Генетика. — 1989. — Т. 25, № 1. — С. 99–108.
6. Хромова Л.В. Эмбриологические процессы в неопыленных семяпочках сосны и аномалии при ксеногамии // Лесоведение. — 1985. — № 2. — С. 47–52.

## ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДЕРЕВ З РІЗНИМ РІВНЕМ ЗАПИЛЕНОСТІ ТА ЗАПЛІДНЕНОСТІ НАСІННИХ ЗАЧАТКІВ *PINUS STANKEWICZII* (SUKACZ.) FOMIN У НАСАДЖЕННЯХ КРИМУ

Коршиков І. І., Горлова Є. М.  
Донецький ботанічний сад НАН України

На підставі аналізу мінливості 20 алозимних локусів вивчено генетичні особливості рослин з високим і низьким рівнями запилюваності та заплідненості насінних зачатків у деревостанах

*Pinus stankewiczii* в Криму. Встановлено, що найбільші значення частки поліморфних локусів і кількості алелей властиві деревам з високими рівнями запилюваності, а найвища гетерозиготність ( $H_o = 0,229$ ), найбільша кількість генотипів, рідкісних алелей і генотипів — деревам з високими рівнями заплідненості.

## GENETIC FEATURES OF TREES WITH DIFFERENT LEVEL POLLINATION AND GERMINATION SEED BUD *PINUS STANKEWICZII* (SUKACZ.) FOMIN IN PLANTINGS OF CRIMEA

Korshikov I. I., Gorlova E. M.

On the basis of the analysis of variability 20 allele loci genetic features of plants with high and low levels pollination and germination seed bud *Pinus stankewiczii* from forest stands of Crimea are studied. It is established that the greatest values of a share of polymorphic loci and quantity allele are peculiar pollination to trees, and the highest heterozygosity ( $H_o = 0,229$ ), the greatest quantity of genotypes, rare allele and genotypes — to trees with high level germination.

УДК 635.64.:631.526.32

Кравченко В. А.  
Науково-дослідний і навчальний центр закритого ґрунту

## СТВОРЕННЯ НЕТРАДИЦІЙНИХ ГЕНОТИПІВ ПОМІДОРА

В статті наведено результати селекційної роботи з помідором з залученням нетрадиційних генів. Створено цінні генотипи для умов закритого ґрунту, стійкі проти стресових чинників умов вирощування, з підвищеною лежкістю і транспортабельністю плодів.

### Вступ

Помідор — одна з найбільш досліджених у генетичному та селекційному відношенні рослин. Описано понад 1500 мутантних генів, багато з яких необхідні у нових сортах та гібридах [1]. Сучасне виробництво ускладнює вимоги до промислових

зразків. Задоволення таких вимог потребує створення генотипів, що поєднують ряд нетрадиційних генів. Відкриття гена *sp* (детермінантний ріст) суттєво змінило підходи до створення технологічних сортів [2]. Широко вирощуваний сорт помідора Світанок поєднав у своєму генотипі гени