

**БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ****ПОЛИМОРФИЗМ ЭСТЕРАЗЫ У РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ, МЕЖВИДОВЫХ И  
МЕЖРОДОВЫХ ГИБРИДОВ МИНДАЛЯ И ПЕРСИКА***Г.Ф.ВШИВКОВА,**А.А.РИХТЕР, кандидат биологических наук,**Н.Г.ПОПОК, кандидат сельскохозяйственных наук*

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Одним из возможных приёмов селекции миндаля является обогащение генофонда культивируемых сортов путём межвидовой и межродовой гибридизации с генотипами дикорастущих сородичей, несущими гены устойчивости против болезней, вредителей и неблагоприятных условий окружающей среды. Эффективность селекционной работы с косточковыми плодовыми растениями существенно зависит от наличия методов изучения внутривидовой изменчивости и наличия другой информации об имеющихся генетических ресурсах. Филогенетическая близость, выражающаяся в способности к скрещиванию с образованием фертильного потомства, определяется в основном гомологией генетического материала [2].

В предыдущей работе было показано, существование у *Amygdalus communis* L. семи аллелей локуса Est – 1, осуществляющих контроль аллоэнзимов мономерной эстеразы, и двух аллелей локуса Est – 2, определяющих полиморфизм димерной эстеразы. Высокий уровень аллельного полиморфизма эстеразных локусов позволяет проводить регистрацию генотипов сортов и форм миндаля [1].

В этой связи представляют интерес результаты исследования ферментативного полиморфизма у популяций диких видов и спонтанных гибридов миндаля и других косточковых растений, позволяющие обеспечить их идентификацию и установить степень генетического родства.

Сопоставление накопленных и систематизированных данных по изменчивости изоферментов у диких видов с аллоэнзимной изменчивостью у культивируемого *A. communis* может быть использовано для установления генетической дивергенции между ними, изучения эволюционных и систематических взаимосвязей.

**Цель настоящей работы** — исследовать полиморфизм димерной эстеразы у различных видов миндаля и персика, а также показать возможность их идентификации на примере некоторых их гибридов.

**Объекты и методы исследования**

Работу выполняли на собранных в ботанической коллекции Степного отделения Никитского ботанического сада (НБС) различных видах рода *Amygdalus* L.: *A. communis* L., *A. fenzliana* (Fritsch) Lipsky, *A. nana* L., *A. vavilovii* M. Pop., *A. bucharica* Korsh., *A. webbi* Spach, *A. spinosissima* Bunge., *A. petunnicowii* Litv.; рода *Persica* Mill.: *P. vulgaris* Mill., *P. vulgaris* subsp. *nectarina* (Ait.) Shof., *P. mira* (Koehne) Koval. et Kostina, *P. kansuensis* (Rehd.) Koval. et Kostina, *P. davidiana* Carr.

Изучали также виды, относящиеся к другим родам подсемейства *Prunoideae* Focke, в частности рода *Armeniaca* Scop.: *A. vulgaris* Lam.; *Louiseania* (Carr.) Pachom.: *L. ulmifolia* (Franch.) Pachom., *L. triloba* (Lindl.) Pachom.; *Microcerasus* Webb emend. Spach: *M. tomentosa* (Thunb.) Eremin et Jusch., *M. incana* (Pall.) Roem., *M. pumila* (L.) Eremin et Jusch. var. *besseyi* (Bailey) Eremin et Jusch.; *Prunus* L.: *P. cerasifera* Ehrh. из Кафана, *P. cerasifera* — Фермонте красная, Фермонте желтая. Используются также некоторые межвидовые гибриды рода *Amygdalus* (*A. fenzliana* x *A. communis*, *A. bucharica* x *A. communis*, *A. fenzliana* x *A. bucharica*, *A. nana* x *A. communis* сорт Приморский, *A. spinosissima* x *A. communis*) и межродовые

гибриды между отдельными представителями подсемейства *Prunoideae*: *Prunus subcordata* var. *rubicunda* (Jepson) Murray [5] и его гибрид с *Amygdalus communis*, №1 (*Louiseania ulmifolia* x *Amygdalus communis*), № 2 (*Louiseania ulmifolia* x *Amygdalus communis*), № 1 (*Armeniaca vulgaris* x *Amygdalus communis*), № 2 (*Armeniaca vulgaris* x *Amygdalus communis*), *Microcerasus pumila* var. *besseyi* x *Persica vulgaris*, *Louiseania ulmifolia* x *Prunus cerasifera*, *Amygdalus communis* x *Persica vulgaris* (Курбан Шонд), *Amygdalus communis* x *Persica vulgaris* (Табачка № 9), GF 677 (*Persica vulgaris* x *Amygdalus communis*).

Для выделения фермента использовали молодые активно растущие листья в начале вегетации растений. Экстракцию проводили в растворе 0,1 М трис – глицинового буфера, pH 8,6, содержащего 0,1% цистеингидрохлорида, 0,1% аскорбиновой кислоты, 1,0% ПЭГ (М.в. 3000), 10,0% поливинилпирролидона (М.в. 40 000), 1,8% сахарозы. Соотношение навески и экстрагирующего раствора составляло 1:10. Вертикальный диск – электрофорез проводили в пластинах 10,0% ПААГ по Дэвису [4]. В одну лунку вносили 20 мкл экстракта. Продолжительность электрофореза составляла 2 ч 35 мин. В качестве субстрата использовали смесь  $\alpha$ - и  $\beta$ -нафтилацетата в соотношении 1:1. Гистохимическое окрашивание проводили стандартным способом [3].

### Результаты и их обсуждение

Анализ фенотипов зимограмм показал, что у всех представителей подсемейства *Prunoideae* две зоны быстросигрирующих изоферментов неспецифической эстеразы продуцируются двумя локусами Est-1 и Est-2 (рис. 1).

Аллельные варианты эстеразы по локусу Est-1 соответствуют аллоэнзимной изменчивости мономерного фермента и контролируются тем же составом аллелей, что и у *A. communis*. Est-2-димер, изоферменты которого формируются у дикорастущих видов миндаля при ассоциации трёх типов субъединиц, контролируемых аллелями Est-2b и Est-2c у видов секции *Euamygdalus* Spach. и Est-2a и Est-2c у представителей секции *Chamaeamygdalus* Spach. – *A. nana*, *A. petunnicowii*.

Сравнительное изучение полиморфизма мономерной эстеразы у диких видов миндаля показало, что гомозиготный Est-1dd, преобладающий по Est-1 у *A. communis*, распространён и у его близкородственных видов секции *Euamygdalus* Spach. (*A. bucharica*, *A. fenzliana*), а также у вида секции *Licioides* Spach. *A. spinosissima*. У *A. webbi* выявлен только гомозиготный Est-1ee, тогда как у *A. vavilovii* – Est-1bb. У межвидовых гибридов *A. communis* с *A. spinosissima* обнаружены Est-1dd и Est-1de генотипы, с *A. bucharica* – Est-1dd, 1ee, 1bd, а с *A. fenzliana* – Est-1dd, 1be, 1bd и редкий Est-1ae, тогда как у *Prunus subcordata* var. *rubicunda* и его гибрида с *A. communis* – только Est-1bd. Теоретически у отдалённых гибридов, формирующихся при естественном скрещивании *A. communis* с дикорастущими видами миндаля могут, встречаться все аллельные варианты мономерной эстеразы, выявленные ранее у *A. communis*.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

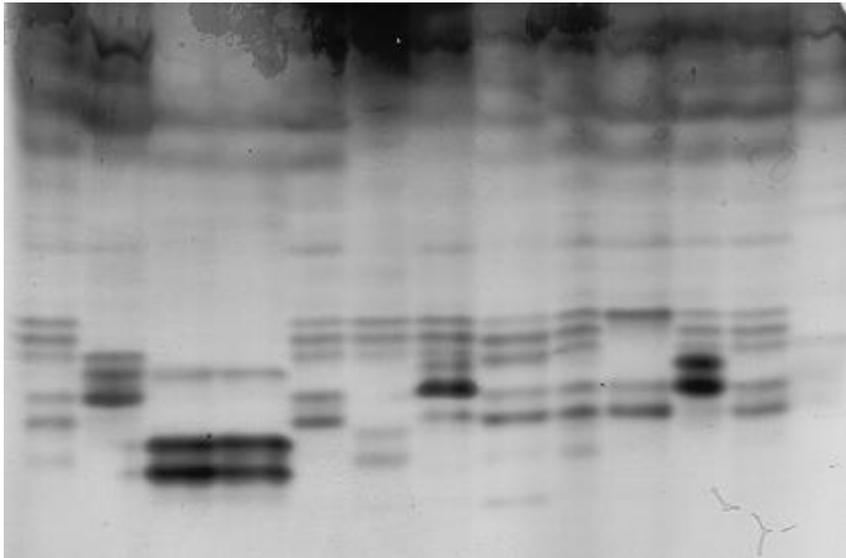


Рис. 1. Типы спектров эстеразы у видов миндаля и их гибридных форм с отдельными представителями подсемейства *Prunoideae*: 1 – межвидовой гибридом миндаля F<sub>1</sub> 1276 (*A. bucharica* x *A. communis*); 2 – тройной межродовой миндале – персико – алычовый гибридом F<sub>2</sub> 444 [(*A. communis* x *P. vulgaris*) x *P. cerasifera*]; 3, 4, 5, 6 – дикие виды миндаля (*A. nana*; *A. spinosissima*; *A. vavilovii*); – межвидовые гибридомы миндаля: 7 – [*A. spinosissima* x *A. communis* (сорт Полосанский)]; 8 – (*A. fenzliana* x *A. bucharica*); 9 – межродовой миндале – персиковый гибридом *P. subcordata* var. *rubicunda*; 10, 11 – дикие виды миндаля *A. fenzliana* и *A. webbi*; 12 – межродовой миндале – персиковый гибридом *A. communis* x *P. vulgaris* (Табачка); 13 – дикий вид миндаля *A. bucharica*.

На рис. 2 представлены типы спектров эстеразы, встречающиеся у видов, межвидовых и межродовых гибридомов миндаля. У двух видов миндаля секции *Chamaemygdalus* Spach. – *A. nana* и *A. petunnicowii* – обнаружены редкие типы энзимограмм, резко отличающиеся от таковых у других видов миндаля.

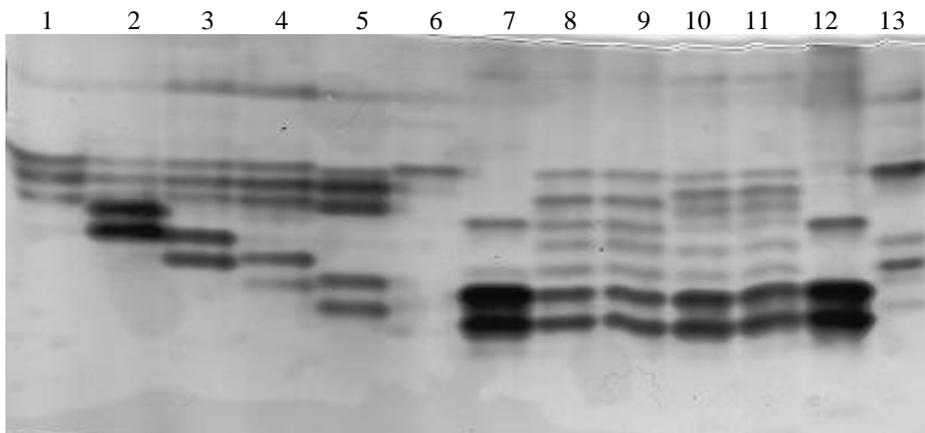


Рис. 2. Типы спектров эстеразы у видов миндаля *A. communis*, *A. nana* и их гибридомов. 1 – Est-1nn, Est-2bc – *A. communis* (cv. Rof); 2 – Est-1ee, Est-2bc – *A. communis* (cv. Retzou); 3 – Est-1dd, Est-2bc – *A. communis* (Самаркандский-52); 4 – Est-1cc, Est-2bc – *A. communis* (Гурзуфский); 5 – Est-1bb, Est-2bc – *A. communis* (Никитский-53); 6 – Est-1aa, Est-2ee – *A. communis* (Десертный); 7 – Est-1b'b', Est-2aa – *A. nana*; 8 – Est-1b'd, Est-2ac – F<sub>1</sub> 6035 [*A. nana*

х *A. communis* (Приморский)]; 9 – Est-1b'd, Est-2ac – F<sub>1</sub> 6091 [*A. nana* х *A. communis* (Приморский)]; 10 – Est-1b'd, Est-2bc – F<sub>1</sub> 6050 [*A. nana* х *A. communis* (Приморский)]; 11 – Est-1b'd, Est-2be – F<sub>1</sub> 6052 [*A. nana* х *A. communis* (Приморский)]; 12 – Est-1b'b', Est-2aa – *A. nana*; 13 – Est-1bd, Est-2cc – *A. communis* (Приморский).

*A. nana* по Est-1 имеет гомозиготный Est-1b'b', а *A. petunnicowii* – гетерозиготный Est-1b'c, только у этих видов миндаля встречается редкий Est-2a, формирующий у *A. nana* гомодимер Est-2aa, а у *A. petunnicowii* – гетеродимер Est-2ac. Гибриды F<sub>1</sub> [*A. nana* х *A. communis* (сорт Приморский)] также имеют редкий генотип Est-1b'd. У гибридов F<sub>1</sub> 6035, 6091 Est-2ac сформирован аллелью Est-2a *A. nana* и Est-2c *A. communis* (сорт Приморский), а гибриды F<sub>1</sub> 6050, 6052 имеют генотип родительского сорта Приморский.

Таким образом, по локусам Est-1 и Est-2 найдены чёткие диагностические маркёры видов рода *Amygdalus* L. – *A. petunnicowii* и *A. nana*, а также межвидовых гибридов *A. nana* с *A. communis*, позволяющие надёжно проводить их идентификацию. Дифференциация других видов миндаля возможна по аллельному составу двух локусов.

Между отдельными видами рода *Persica* по Est-1 различий не выявлено. Основной по локусу Est-1dd является наиболее типичным и широко распространённым генотипом не только у большинства видов рода *Amygdalus*, но и у всех видов рода *Persica*. Степень различий между видами персика определяется разнообразием аллельных состояний по локусу димерной эстеразы. У таксонов персика обыкновенного (*P. vulgaris*), персика тибетского (*P. mira*), нектарина (*P. vulgaris* subsp. *nectarina*) в локусе Est-2 обнаружен Est-2b аллель, у дикого вида персика *P. kansuensis* – Est-2c, а у других диких видов персика *P. mira* и *P. davidiana* – оба аллельных варианта гена. У межродовых миндале-персиковых гибридов (*A. communis* х *P. vulgaris*) – встречаются только Est-1dd генотипы.

На рис.3 приведены типы спектров эстеразы, встречающиеся у видов различных родов подсемейства *Prunoideae* Focke.

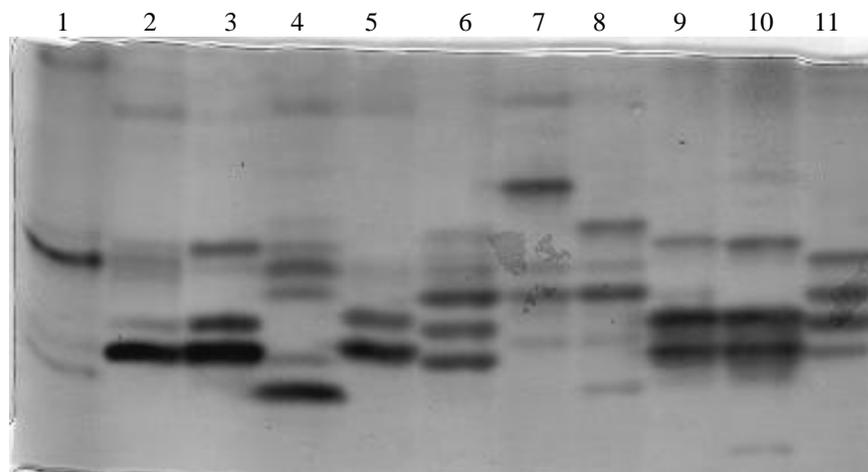


Рис. 3. Типы спектров эстеразы у видов разных родов и их гибридов в подсемействе *Prunoideae*: 1, 2 – *Armeniaca vulgaris*; 3 – *Armeniaca vulgaris* х *Amygdalus communis*; 4 – *Prunus cerasifera* (из Кафана); 5 – *Microcerasus pumila* var. *besseyi* х *Persica vulgaris*; 6 – *Amygdalus communis* (Приморский); 7 – GF 677 (*Persica vulgaris* х *Amygdalus communis*); 8, 9 – *Amygdalus nana*; 10 – *Louiseania triloba*; 11 – *Louiseania ulmifolia* х *Amygdalus communis* (смесь пыльцы).

Наличие Est-1b' в генотипах *M. pumila* var. *besseyi*, *L. triloba*, *L. ulmifolia*, *P. cerasifera*, *A. vulgaris* позволяет предположить генетическое родство *A. nana* и *A. petunnicowii* с видами

этих родов подсемейства *Prunoideae*. Идентичные гомозиготные генотипы Est-1b'b' выявлены у *A. nana*, *P. cerasifera*, *M. pumila* var. *besseyi*, однако наиболее вероятными видами, участвующими в генезисе видов миндаля секции *Chamaeamygdalus* Spach., можно считать микровишни (в том числе *M. pumila* var. *besseyi*). Так присутствие аллеля Est-1b' у *A. petunnikowii*, *A. nana* и *M. pumila* var. *besseyi* подтверждает представление о возможном участии микровишен в происхождении этих видов миндаля.

### Выводы

Выявленная дифференциация *A. communis* по локусу Est-1 косвенно подтверждает представление о возможном возникновении его окультуренных форм в ходе спонтанной отдалённой гибридизации с другими видами рода *Amygdalus*. Наличие общих аллелей Est-1d, 1e, 1b в генотипе эстеразы у *A. communis* и исследованных диких видов миндаля указывает на его гибридогенное происхождение с этими видами.

Для большинства культивируемых сортов *A. communis* и некоторых дикорастущих видов (*A. bucharica*, *A. fenzliana*, *A. spinosissima*), а так же для всех видов рода *Persica* общим генотипом является Est-1dd. Высокая степень гомологии молекулярных маркёров предполагает подобие между родами *Amygdalus* и *Persica* на генетическом уровне.

### Список литературы

1. Вшивкова Г.Ф., Жебентяева Т.Н., Попок Н.Г. Полиморфизм эстеразы у миндаля обыкновенного // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2002. – Вып. 84. – С. 79-81.
2. Еремин Г.В. Отдаленная гибридизация косточковых плодовых растений. – М.: Агропромиздат, 1985. – 279 с.
3. Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. – Новосибирск: Наука, 1986. – 145с.
4. Davis B.J. Disc electrophoresis. 2. Method and application to human serum protein // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1964. – Vol.121. – P. 67-75.
5. Index kewensis / Pinner J.L.M., Bence T.A., Davies R.A., Lloyd K.M. / Ed. Davies R.A. – Oxford: Clarendon press, 1987. – Suppl. 18. – 346 p.