

КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЫ В СВЯЗИ С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ *PICEA ABIES* (L.) KARST. В ИНТРОДУКЦИОННОМ НАСАЖДЕНИИ

И.В. МАКОГОН; И.И. КОРШИКОВ, доктор биологических наук
Донецкий ботанический сад НАН Украины, Донецк

Введение

Размеры пыльцевых зёрен – признак видоспецифичный, который характеризуется низким уровнем изменчивости как в кроне одного растения, так и в пределах древостоя [4, 6, 8]. Однако, как и большинство признаков вида, размеры пыльцевых зерен у хвойных растений, произрастающих в разных географических зонах и экологических условиях, могут изменяться. Так, например, в пределах Западной Сибири отмечено увеличение размеров пыльцевых зёрен *Pinus sylvestris* L. в направлении возрастания влажности воздуха и почвы [8]. Вариабельность формы пыльцевых зёрен обнаружено в разных древостоях *P. sylvestris* на Урале [6]. Аспекты изменчивости качественно-количественных характеристик пыльцы в пределах одного древостоя в связи с генетическим полиморфизмом растений в научной литературе освещены крайне слабо. А это очень важно знать, так как генетические особенности во многом определяют семенную продуктивность растений [1]. На начальном этапе лесной селекции главным является отбор и изучение деревьев, которые в последующем могут быть использованы для закладки семенной плантации. Это положение справедливо и для перспективных интродуцентов, индивидуальный отбор которых должен проводиться в пределах насаждений района их испытания [7]. При этом в создаваемых семенных плантациях должны присутствовать эффективные доноры пыльцы. Цель исследований – анализ индивидуальной изменчивости качества пыльцы ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) в связи с генетическими особенностями растений в первичном интродукционном насаждении Донецкого ботанического сада НАН Украины (ДБС).

Объекты и методы исследования

В 35-летнем насаждении *P. abies* в дендрарии ДБС на сегодняшний день насчитывается 60 растений со средней высотой $12,6 \pm 0,2$ м и диаметром ствола $15,3 \pm 0,4$ см. Морфометрическую изменчивость пыльцевых зерен у 48-ми деревьев этого насаждения изучали в 2003 г. Пыльцу, собранную в период массового созревания микросторобилов (8–13 мая), окрашивали ацетокармином [4]. Используя микроскоп МББ 1 А при увеличении 300 и окулярный винтовой микрометр МОВ – 1-15^x, измеряли пять показателей пыльцевых зерен: общую длину пыльцевого зерна, длину и высоту тела, длину и высоту воздушного мешка [8]. Ацетокарминовый метод применяли для оценки фертильности пыльцы [9], а точнее для установления доли морфологически нормальных пыльцевых зерен, часть из которых способна вызвать оплодотворение. Жизнеспособность пыльцы определяли двумя методами: ускоренным методом – окрашиванием [5] и путем проращивания на искусственной среде (1% р-р агар-агара, 20% р-р сахарозы) [2].

Для генетического маркирования растений *P. abies* применяли изоферменты девяти ферментных систем, которые электрофоретически разделяли в вертикальных пластинках 7,5 %-го полиакриламидного геля [12]. Экстракты для этого анализа получали из гаплоидных тканей эндосперма семян. В качестве молекулярно-генетических маркеров использовали изоферменты глутаматдегидрогеназы, диафоразы, глутаматоксалоацетаттрансаминазы, супероксиддисмутазы, кислой фосфатазы, малатдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы, лейцинаминопептидазы и формиатдегидрогеназы. Генотип дерева определяли по сегрегации аллелей в выборках

не менее 8 гаплоидных эндоспермов. Для анализа исследуемой общей выборки растений и выделенных из неё групп использовали традиционные показатели популяционной генетики [1]. Статистическую обработку морфометрических данных пыльцы и показателей её качества проводили с применением метода сравнения средних Дункана [10].

Результаты и обсуждение

Средние значения морфометрических параметров пыльцевых зёрен у растений ДБС не выходят за пределы тех, что установлены, согласно литературным данным, для *P. abies* (табл. 1). Коэффициент вариации (CV) для всех морфометрических показателей пыльцы у растений общей выборки ДБС находился в пределах 4-8%, что соответствует низкому уровню изменчивости. Несмотря на это, в изучаемом насаждении были выделены группы деревьев с существенными отличиями в размерах пыльцевых зёрен: с минимальными, средними и максимальными. Для этих групп растений установлены различия не только в размерах пыльцевых зёрен, но и в уровне фертильности и, особенно, жизнеспособности пыльцы (табл. 2). Пыльца у растений с максимальными её размерами обладала наибольшей жизнеспособностью, что существенно выше, чем у выборки деревьев с минимальными размерами пыльцевых зёрен. Отметим, что в последнюю выборку вошли три растения с очень низкой жизнеспособностью пыльцы (0; 12,5 и 12,6%), что, по всей видимости, связано с цитоплазматической мужской стерильностью. Жизнеспособность пыльцы у 48-ми растений *P. abies* в среднем составила 66%. В древостоях природного ареала Беларуси данный показатель был на уровне 67% [11], в Карелии при проращивании на 20%-ном растворе сахарозы – 97% [3].

Изоферментное маркирование изучаемых растений по 19 локусам девяти ферментных систем позволило для трех выделенных групп деревьев *P. abies* определить частоты аллелей и генотипов 13 полиморфных локусов. У сравниваемых выборок деревьев не обнаружено достоверных различий в аллельной и генотипической гетерогенностях (χ^2 -тест) ни по одному из полиморфных локусов. Наибольшее количество аллелей было установлено в группе растений с максимальными размерами пыльцевых зёрен – 35, из них, встречающихся только в этой группе – 3, в выборке со средними размерами – 34 и 3, с минимальными – 32 и 1 соответственно. Количество генотипов в выборках с минимальными и средними размерами пыльцевых зёрен было 37, с максимальными размерами – 38. По 3 генотипа, встречающихся только в одной группе, было представлено в каждой из них. На основании аллельных частот 19 аллозимных локусов рассчитаны значения основных показателей генетического полиморфизма для трех анализируемых групп растений. Выборка деревьев с максимальным размером пыльцевых зёрен отличалась от двух других более высокими значениями основных параметров генетической изменчивости (табл. 3).

Средняя наблюдаемая гетерозиготность у растений с максимальной жизнеспособностью пыльцы была на 20,8% выше в сравнении с группой растений с минимальными размерами и жизнеспособностью пыльцы. К тому же этой группе деревьев свойствен наибольший недостаток гетерозигот – 9,5%, согласно значению индекса фиксации Райта. Расчеты среднего значения коэффициента F_{IS} показывают, что в целом для насаждения *P. abies* характерен дефицит гетерозигот в 1,4%. На межвыборочную генетическую изменчивость трех групп деревьев, согласно расчетным значениям коэффициентов F_{ST} и G_{ST} , приходится 1,3% от всей генетической изменчивости. Генетическая дистанция между тремя группами деревьев *P. abies* также была очень маленькой – $D_N = 0,004$, что свидетельствует об их низкой генетической дифференциации.

Таблица 1

Морфометрические параметры пыльцевых зёрен *Picea abies* (L.) Karst. в интродукционном насаждении Донецкого ботанического сада НАН Украины и природных популяциях (в мкм)

Выборки деревьев	Количество деревьев, шт.	Общая длина зёрна	Тело пыльцевого зёрна		Воздушный мешок	
			длина	высота	длина	высота
Дендрарий Донецкого ботанического сада НАН Украины						
Общая выборка	48	$112,2 \pm 0,67$ 4,3	$83,5 \pm 0,66$ 5,7	$76,7 \pm 0,82$ 7,7	$36,7 \pm 0,38$ 7,4	$55,8 \pm 0,64$ 8,2
С минимальными размерами пыльцевых зёрен	19	$108,6 \pm 0,50$ 5,8	$80,6 \pm 0,46$ 7,3	$72,3 \pm 0,55$ 9,7	$34,6 \pm 0,33$ 12,2	$51,8 \pm 0,47$ 11,6
С средними размерами пыльцевых зёрен	14	$112,1 \pm 0,48$ 5,2	$83,4 \pm 0,44$ 6,5	$76,0 \pm 0,41$ 6,5	$36,8 \pm 0,31$ 10,2	$55,6 \pm 0,45$ 9,5
С максимальными размерами пыльцевых зёрен	15	$117,4 \pm 0,77$ 7,2	$87,8 \pm 0,56$ 7,0	$83,5 \pm 0,63$ 8,3	$39,4 \pm 0,48$ 13,0	$60,8 \pm 0,59$ 10,7
$D_{\text{ок}}$		2,36	2,46	2,66	1,51	2,07
Природные древостои						
Южная Карелия [4]	25	$112,6 \pm 0,086$	$82,6 \pm 0,073$	$67,0 \pm 0,072$	-	-
Предгорья Хибин (150 м над ур. м.) [4]	25	$112,3 \pm 0,08$	$81,9 \pm 0,07$	$67,8 \pm 0,06$	-	-
Граница прямоствольных деревьев на склонах Хибинских гор (350–375 м над ур. м.) [4]	25	$111,1 \pm 0,08$	$82,9 \pm 0,06$	$69,1 \pm 0,07$	-	-

Примечание. В числителе – среднее арифметическое ± ошибка, в знаменателе – CV, %; – литературные данные не приводятся

Фертильность и жизнеспособность пыльцы в выборках деревьев *Picea abies*, отгличающихся по морфометрическим параметрам пыльцы в насаждении Донецкого ботанического сада НАН Украины

Таблица 2

Выборки деревьев	Показатели	Количество деревьев, шт.	Фертильность пыльцы, %	Жизнеспособность пыльцы, %	
				2,3,5-трифенил тетразол хлористый	агар-агар, 1 % +сахароза, 20 %
С минимальными размерами пыльцевых зёрен	M±m	19	75,9±2,0	59,6±6,1	59,5±5,7
	Lim		64,7-93,1	0-85,1	0-82,3
	CV, %		11,3	44,2	41,8
Со средними размерами пыльцевых зёрен	M±m	14	80,8±2,1	68,9±4,4	68,0±3,7
	Lim		69,6-92,7	30,7-87,7	35,7-84,2
	CV, %		9,8	23,7	20,4
С максимальными размерами пыльцевых зёрен	M±m	15	80,8±1,8	75,4±2,5	73,5±1,9
	Lim		65,4-92,1	51,1-87,3	56,4-84,1
	CV, %		8,7	12,8	10,1
Д _{рк}			5,8	12,6	13,8

Примечание. M±m – среднее арифметическое±ошибка, Lim – пределы варьирования показателя, CV – коэффициент вариации

Таблица 3

Значения основных показателей генетического полиморфизма в выборках деревьев из интродукционного насаждения *Picea abies*, отличающихся по морфометрическим параметрам пыльцевых зёрен

Выборки деревьев с разным размером пыльцы	Кол-во деревьев, шт.	Доля полиморфных локусов, P ₉₉	Среднее число аллелей на локус, А	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта, F
				ожидаемая, H _E	наблюдаемая, H _O	
Минимальный	19	0,526	1,684	0,126±0,015	0,114±0,015	0,095
Средний	14	0,632	1,789	0,136±0,018	0,143±0,018	-0,05
Максимальный	15	0,579	1,842	0,146±0,018	0,144±0,018	0,014
Общая	48	0,684	2,158	0,137±0,010	0,132±0,010	0,036

Выводы

Таким образом, в пределах интродукционного насаждения *P. abies* в ДБС отмечена изменчивость растений по морфометрическим параметрам пыльцевых зёрен. Выделены три группы деревьев с существенными различиями в размерах пыльцевых зёрен, которые к тому же отличались по уровню жизнеспособности пыльцы. Наиболее высокой жизнеспособностью пыльцы (75%) характеризовались растения с максимальными размерами пыльцевых зерен, они же отличались и наибольшим уровнем гетерозиготности. Группа деревьев с минимальными размерами пыльцевых зерен и низкой жизнеспособностью (59,6%) имела повышенную долю гомозиготных генотипов. Для последующего создания новых древостоев *P. abies* в Донбассе наиболее перспективна в первичном интродукционном насаждении группа растений с высокой гетерозиготностью и жизнеспособностью пыльцы.

Список литературы

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. – 3-е изд. – М.: ИКЦ “Академкнига”, 2003. – 431 с.
2. Кауров И.А., Вакула В.С. К методике определения жизнеспособности пыльцы хвойных пород // Ботан. журн. – 1964. – Т. 49, № 8. – С. 1184-1186.
3. Кищенко И.Т., Тихова М.А. Характеристика пыльцевых зёрен некоторых видов ели в условиях интродукции // Лесоведение. – 1994. – № 2. – С. 36-41.
4. Козубов Г. М. Биология плодоношения хвойных на Севере. – Л.: Наука, 1974. – 133 с.
5. Козубов Г.М. Об ускоренном и надёжном методе определения жизнеспособности пыльцы // Ботан. журн. – 1965. – Т. 50, № 6. – С. 811-813.
6. Мамаев С.А. Морфологическая изменчивость пыльцы сосны *Pinus sylvestris* L., произрастающей на Урале // Ботан. журн. – 1963. – Т. 48, № 5. – С.680-685.
7. Некрасов В.И. Интродукция древесных растений и проблемы лесоведения // Лесоведение. – 1991. – № 6. – С. 74-83.
8. Некрасова Т.П. Пыльца и пыльцевой режим хвойных Сибири. – Новосибирск: Наука, 1983. – 169 с.
9. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1974. – 288 с.
10. Приседський Ю.Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів. – Донецьк: Кассиопея, 1999. – 210 с.

11. Шкутко Н.В. Хвойные Белоруссии. – Минск: Навука і тэхніка, 1991. – 264 с.
12. Davis B.J. Disk electrophoresis. II. Methods and applications to human serum proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1964. – Vol. 121. – P. 67–65.

Рекомендовано к печати д.б.н., проф. Шевченко С.В.