

УДК 575.1

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОБЪЕКТОВ ПОСТОЯННОЙ ЛЕСОСЕМЕННОЙ БАЗЫ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В БЕЛАРУСИ

© 2014 г. С. И. Ивановская

Институт леса Национальной академии наук Беларуси
Республика Беларусь, 246001, Гомель, ул. Пролетарская, 71
E-mail: isozyme@mail.ru

Поступила в редакцию 31.07.2014 г.

На основе метода электрофоретического анализа изоферментов проведены исследования объектов постоянной лесосеменной базы сосны обыкновенной в Беларуси. Выявлено, что практически все проанализированные плюсовые насаждения, генетические резерваты, лесосеменные плантации I порядка, географические культуры и до 71.5 % лесосеменных плантаций II порядка сохраняют уровень средней гетерозиготности, характерный для сосны обыкновенной в Беларуси. Показано, что в ходе плантационного и популяционного семеноводства можно при повышении продуктивности создаваемых лесных культур обеспечить сохранение видового генофонда.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, постоянная лесосеменная база, изоферментный анализ, сохранение генофонда, Республика Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время сохранение генофонда лесов является важнейшим направлением деятельности по сохранению биологического разнообразия. Сохранение генетических ресурсов лесных древесных видов возможно двумя путями: *in situ* (т. е. в естественных насаждениях) и *ex situ* (архивы клонов, плантации, лесные культуры и т. д.). Объектами постоянной лесосеменной базы (ПЛСБ), выполняющими функцию сохранения генофонда в природных местообитаниях, являются генетические резерваты, плюсовые насаждения, плюсовые деревья, хозяйственные семенные насаждения (СТБ 1709–2006). Сохранение генетического фонда деревьев и насаждений вне естественных местообитаний осуществляется в таких искусственно создаваемых объектах ПЛСБ, как архивы клонов плюсовых деревьев, лесосеменные и маточные плантации, испытательные, географические и популяционно-экологические культуры (СТБ 1709–2006). Генетическая ценность объектов ПЛСБ традиционно определяется по фенотипическим признакам, ос-

новными из которых являются продуктивность и качество ствола материнских деревьев и их семенного потомства. Однако фенотипические признаки не всегда в полной мере отражают уровень генетического разнообразия объекта, поскольку часто зависят от условий окружающей среды. Биохимические и молекулярные маркеры не изменяются под воздействием окружающей среды, отображая в основном изменчивость, контролируруемую генами, или изменения в самих генах (Bergmann et al., 1989; Глазко, Созинов, 1993; Гостимский и др., 1999; Падутов, 2001). Молекулярные маркеры представляют собой мощный и весьма быстрый метод для изучения изменчивости при сохранении генетических ресурсов. Использование метода молекулярно-генетического анализа позволяет не только определить уровень генетического разнообразия исследуемого насаждения, но и провести его оценку относительно среднего запаса генетического разнообразия вида. Кроме того, установление многолокусного генотипа дает возможность в дальнейшем со стопроцентной точностью идентифицировать исследованные деревья, что

приобретает особую актуальность при паспортизации плюсовых деревьев, а также при инвентаризации лесосеменных плантаций и архивов клонов плюсовых деревьев.

Цель данной работы – оценка результатов генетической инвентаризации ряда объектов селекционно-семеноводческого комплекса лесного хозяйства Беларуси.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили методом электрофоретического анализа изоферментов. В качестве экспериментального материала использовали диплоидные ткани почек. Для гомогенизации и выделения ферментов применяли экстрагирующий буфер для вегетативных тканей (Cheliak, Pitel, 1984). Электрофоретическое фракционирование изоферментов проводили в 13–14%-м крахмальном геле с использованием трех буферных систем: *трис*-ЭДТА-боратная, pH 8.6; *трис*-цитратная, pH 6.2; *трис*-цитрат/NaOH-боратная, pH 8.65 (Гончаренко и др., 1989) с небольшими модификациями. Гистохимическое окрашивание ферментов производили по стандартным методикам, описанным в ряде руководств (Cheliak, Pitel, 1984; Гончаренко и др., 1989). Каждое дерево исследовали по 11 ген-ферментным системам: аспаратаминотрансфераза – ААТ, алкогольдегидрогеназа – АДН, глутаматдегидрогеназа – GDH, глюкозофосфатизомераза – GPI, диафораза – DIA, изоцитратдегидрогеназа – IDH, лейцинаминопептидаза – LAP, малатдегидрогеназа – MDH, флюоресцентная эстераза – FE, фосфоглюкомутаза – PGM, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа – 6-PGD. Анализ проводили на основе 20 изоферментных локусов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из наиболее важных областей применения молекулярно-генетических маркеров является селекционное семеноводство. Нами проведен анализ различных селекционных объектов: лесосеменных плантаций (ЛСП) I порядка и II порядка, плюсовых насаждений, лесных генетических резерватов и географических культур и определена воз-

можность использования их не только в селекционном процессе, но и для сохранения генетического разнообразия (см. таблицу). Из таблицы видно, что в ходе селекционной работы, несмотря на отсутствие знаний о конкретных значениях генетического полиморфизма различных древостоев, в большинстве случаев селекционерам удается сохранять средний запас генетической изменчивости, характерный для вида. Хотя ранее часто выдвигались предположения, что этого добиться невозможно. Необходимо отметить, что эффективность сохранения генофонда в различных типах селекционных объектов неодинакова. Сравнительный анализ лесосеменных плантаций I и II порядка сосны обыкновенной (плантационное семеноводство) показал, что уровень их генетического разнообразия в целом соответствует параметрам генетической изменчивости, выявленным в природных популяциях, а спектр аллельного разнообразия на ЛСП включал все нередкие и часть редких аллелей сосновых насаждений естественного происхождения эксплуатационных лесов. Конечно, вопрос о том, следует ли на лесосеменных плантациях II порядка сохранять высокий запас генетического полиморфизма, является спорным. Но если рассмотреть этот вопрос только с технической точки зрения, то эта задача легко решается. Для этого необходимо провести генетическую паспортизацию плюсовых деревьев и подобрать необходимое количество клонов с максимально различающимися генотипами. Здесь гораздо важнее понять, почему 28.5 % ЛСП II порядка имели низкий уровень изменчивости (см. таблицу), хотя набор клонов, использованный для создания ЛСП, был вполне достаточным для создания лесосеменных плантаций II порядка с высокими значениями генетических параметров (Ивановская и др., 2008).

Проведенная генетическая инвентаризация лесосеменных плантаций II порядка показала, что это может быть связано с ошибками, допускаемыми в ходе создания лесосеменных плантаций и приводящими к снижению эффективности использования ЛСП. Возможно, ошибки начинают накапливаться еще раньше, на этапе создания архивов кло-

Уровень генетического разнообразия в различных типах селекционных объектов сосны обыкновенной

Анализируемая группа	Количество проанализированных древостоев, шт.	Количество древостоев, уровень ожидаемой гетерозиготности которых равен или превышает значение для вида в целом, %
Лесосеменные плантации:		
I порядка	8	100.0
II порядка	28	71.5
Плюсовые насаждения	15	93.3
Лесные генетические резерваты	2	100.0
Географические культуры <i>Pinus sylvestris</i>	4	100.0

нов плюсовых деревьев, где в дальнейшем заготавливаются черенки для создания лесосеменных плантаций.

В связи с этим мы проанализировали архивно-маточную плантацию Корневской экспериментальной лесной базы Института леса НАН Беларуси, созданную на основе плюсовых деревьев, с целью идентификации и генетической паспортизации клонов. На плантации была проведена генетическая паспортизация всех рамет элитных деревьев (465 шт.), представленных 30 отдельными блоками. Число вегетативных потомков в клоне варьировало от 7 до 20. В качестве экспериментального материала использовали диплоидные ткани почек. На основе полученных результатов нами выявлено, что во всех без исключения блоках присутствуют деревья с уникальными (неповторяющимися) генотипами (от 2 до 14 шт. в блоке), которые представляют собой либо занос от другого клона, либо являются непривитыми саженцами. В трех блоках генотип клона установить было невозможно по причине того, что все представленные в них деревья имели разные генотипы. Внутри каждого из 13 клонов выявлен только один повторяющийся генотип. Количество деревьев с такими генотипами в этих 13 блоках варьировало от 2 до 15 на блок. Оставшиеся 14 клонов были представлены несколькими вариантами (от 2 до 4) повторяющихся генотипов, из которых один являлся генотипом клона, а остальные – заносом от других клонов. Причем привнесенный генотип мог быть как от клонов элитных деревьев, так и от просто плюсовых деревьев, поскольку данная архивно-маточная плантация заложена из 56 клонов, 30 из которых выделены в элиту. В связи со сказанным, а также тем, что при заготовке черенков на

прививку для создания ЛСП кроме схемы расположения клонов используется только визуальный способ определения присутствия привитых деревьев (которые автоматически рассматриваются в конкретном блоке как представители одного клона), ошибки при создании лесосеменных плантаций неизбежны. Еще одной причиной снижения уровня генетического разнообразия на лесосеменных плантациях могут быть ошибки, допускаемые на этапе прививания саженцев.

Кроме того, поскольку 29.6 % проанализированных на архивно-маточной плантации элитных деревьев имели индивидуальную гетерозиготность 25 %, т. е. сходную со средней наблюдаемой гетерозиготностью в насаждениях эксплуатационных лесов, 44.5 % плюсовых деревьев были гетерозиготны более чем по 25 %, а 25.9 % – менее чем по 25 % своих генов, низкие значения гетерозиготности ЛСП II порядка могут возникать вследствие смещения выборки плюсовых деревьев, используемых для закладки лесосеменных плантаций, в сторону деревьев с низкой гетерозиготностью.

Следовательно, для того чтобы использование ЛСП в лесном семеноводстве было действительно эффективным и создаваемые заготовленными на лесосеменных плантациях семенами лесные культуры сочетали наилучшие качества как по продуктивности (т. е. по селекционным параметрам), так и по генетическим параметрам (сохранение генофонда и, что немаловажно в настоящее время, устойчивость к различным факторам), необходимо организовать генетический контроль на всех этапах закладки лесосеменных плантаций. В первую очередь следует провести генетическую паспортизацию плюсо-

вых деревьев и генетическую инвентаризацию архивов клонов и маточных плантаций.

Исследованные плюсовые насаждения сосны обыкновенной, лесные генетические резерваты и географические культуры, заложенные из лучших сосновых насаждений, показали высокие параметры генетической изменчивости (см. таблицу). При этом средние значения показателей гетерозиготности в плюсовых насаждениях и генетических резерватах достоверно превышали таковые ($P = 0.01$), установленные для природных популяций сосны обыкновенной из эксплуатационных лесов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило оценить эффективность использования объектов ПЛСБ сосны обыкновенной в целях сохранения генофонда вида. Полученные результаты показывают, что и в ходе плантационного семеноводства, основанного на индивидуальном отборе (отбор лучших, плюсовых деревьев), и в ходе популяционно-семеноводства, основанного на массовом отборе (отбор лучших, плюсовых насаждений), можно при повышении продуктивности создаваемых лесных культур обеспечить сохранение видового генофонда. Однако полноценное сохранение генетического потенциала вида невозможно без проведения генетической инвентаризации объектов семеноводства сосны обыкновенной, поскольку селекционная оценка деревьев и насаждений на основе фенотипических признаков не всегда позволяет точно определить ее генотипическую компоненту. Внедрение в лесное хозяйство генетического мониторинга объектов постоянной лесосеменной базы позволит оптимизировать мероприятия по селекционному семеноводству с точки зрения сохранения генофонда вида и интенсифицировать селекционную работу, выявляя и ис-

ключая допущенные ошибки на различных этапах ее реализации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Глазко В. И., Созинов И. А.* Генетика изоферментов животных и растений. Киев: Урожай, 1993. 528 с.
- Гончаренко Г. Г., Падутов В. Е., Потенко В. В.* Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. Гомель: Полеспечать, 1989. 164 с.
- Гостимский С. А., Кокаева З. Г., Боброва В. К.* Использование молекулярных маркеров для анализа генома растений // Генетика. 1999. Т. 35. № 11. С. 1538–1549.
- Ивановская С. И., Барсукова М. М., Химченко Е. Н., Сидор А. И., Падутов В. Е.* Использование молекулярно-генетических методов для инвентаризации лесных селекционных объектов // Генетика и селекция лесных древесных пород: Сб. науч. тр. НИИЛГиС. Воронеж: Артефакт, 2008. С. 43–51.
- Падутов В. Е.* Генетические ресурсы сосны и ели в Беларуси. Гомель: ИЛ НАНБ, 2001. 144 с.
- СТБ 1709–2006. Устойчивое лесопользование и лесопользование. Лесное семеноводство. Общие требования.
- Bergmann F., Gregorius H-R., Scholz F.* Isoenzymes, indicators of environmental impacts on plants or environmentally stable gene markers? // Genetic effects of air pollutants in forest tree populations / Ed. by F. Scholz, H-R. Gregorius, D. Rudin. New York, Tokyo: Springer-Verlag Heidelberg, 1989. P. 17–28.
- Cheliak W. M., Pitel J. A.* Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Ottawa: Canadian Forestry Service, 1984. 49 p.

Efficiency of Using Permanent Seed Sources for Conservation of Genetic Pool of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) in Belarus

S. I. Ivanovskaya

Institute of Forest, National Academy of Sciences of Belarus

Proletarskaya str., 71, Gomel, 246001 Republic of Belarus

E-mail: isozyme@mail.ru

On the basis of electrophoretic isoenzyme, analysis of permanent seed sources of Scots pine from Belarus is conducted. Research revealed that almost all of the analyzed plus stands, genetic reserves, seed orchards of the I order provenance and 71.5 % of seed orchards of the II order support maintenance of the level of average heterozygosity characteristic of Scots pine in Belarus. It is shown that in the plantation and population, seed from permanent seed sources can ensure the conservation of the species gene pool at higher productivity than created forest plantations.

Keywords: *Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), permanent seed sources, isoenzyme analysis, conservation of the gene pool, Republic of Belarus.*