

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Центральный ботанический сад
Научно-практический центр по биоресурсам
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича
Институт леса



Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов

Материалы III Международной конференции,
посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского
(7–9 октября 2015 г., Минск, Беларусь)

**В двух частях
Часть 1**

**Секция 1. Ресурсы и биоразнообразие растительного мира:
современное состояние, воспроизводство, охрана
и устойчивое использование**

**Секция 2. Современные направления изучения
ботанических коллекций для сохранения
и рационального использования
биоразнообразия растительного мира**

Минск
«Конфидо»
2015

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

П78

Редакционная коллегия:

д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.В. Титок (ответственный редактор),

д.б.н. Е.И. Анисимова,

к.б.н. Б.Ю. Аношенко,

к.б.н. Д.Б. Беломесецева,

к.б.н. П.Н. Белый,

д.б.н. Е.И. Бычкова,

к.б.н. Т.В. Волкова,

к.б.н. Л.В. Гончарова,

д.б.н. С.А. Дмитриева,

к.б.н. Е.Я. Куликова,

к.б.н. А.В. Пугачевский,

д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.П. Семенченко,

к.б.н. В.А. Цинкевич

Материалы печатаются в авторской редакции.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций.

П78 **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов:** материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. (7–9 октября 2015, Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]; редкол.: В.В. Титок [и др.]. – Минск: Конфидо, 2015. – 514 с.

ISBN 978-985-6777-74-8.

В сборнике представлены материалы III Международной научно-практической конференции «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов», посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. Часть 1: секция 1 «Ресурсы и биоразнообразие растительного мира: современное состояние, воспроизводство, охрана и устойчивое использование» и секция 2 «Современные направления изучения ботанических коллекций для сохранения и рационального использования биоразнообразия растительного мира».

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

ISBN 978-985-6777-74-8

© ГНУ «Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси», 2015
© Оформление. ЗАО «Конфидо», 2015

Воспроизводство генетического разнообразия сосны обыкновенной в природных и искусственно созданных древостоях

Ивановская С.И.¹, Падутов В.Е.¹, Падутов А.В.²

¹Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь, isozyme@mail.ru

²Корневская экспериментальная лесная база Института леса НАН Беларуси

Резюме. Исследования проведены на основе метода изоферментного анализа с использованием 18 аллозимных генов. Установлено, что в лесных культурах, так же, как и в подросте спелых древостоев и семенных потомствах лесосеменных плантаций, сохраняется уровень генетической изменчивости материнских насаждений. Выявлено, что лесные культуры сосны обыкновенной, созданные из семян лучших древостоев, соответствуют верхнему пределу генетической изменчивости эксплуатационных лесов. Полученные результаты свидетельствуют о возможности создания лесных культур, не только воспроизводящих генофонд природных популяций, но и в ряде случаев превосходящих их по уровню генетического разнообразия.

Summary. Ivanovskaya S.I., Padutov V.E., Padutov A.V. **Reproduction of genetic diversity of Scots pine in natural and artificially created stands.** Investigations were carried out on the basis of isozyme analysis using 18 allozyme loci. It was found that the level of genetic variability for the silviculture, the

undergrowth of mature natural stands and the seed orchards progeny remains similar to parent stands. It was revealed that Scots pine silviculture, originated from plus stands seeds, have the appropriate level with the upper bound of the genetic variability of production forests. These results suggest the possibility of creating of the silviculture, not just reproducing the gene pool of natural stands, and in some cases exceeding their level of genetic diversity.

При сохранении генетических ресурсов, по мнению большинства исследователей, главная цель – сохранить как можно больше генетической изменчивости, которая найдена у изучаемого вида, поскольку генетическое разнообразие является базисным компонентом биоразнообразия, а генетические ресурсы – потенциальным источником полезных генетических признаков. Исследование временной динамики популяционных генофондов имеет определяющее значение для выяснения закономерностей изменения и воспроизводства их генетического разнообразия в ходе чередования поколений и раскрытия механизмов генетической устойчивости популяций. Важно знать, сохраняется ли в разновозрастных группах растений внутри популяции сходный уровень генетической изменчивости. Необходимо отметить, что в настоящее время имеются противоречивые данные о том, насколько и в какой степени отличаются по уровню генетической изменчивости материнские деревья и их потомство. По мнению одних исследователей [1–6], в популяциях хвойных у взрослых материнских деревьев значения наблюдаемой гетерозиготности превышают таковые у их потомства на ранних стадиях развития. Однако имеются данные, согласно которым снижения генетического разнообразия в потомстве не происходит [7, 8].

Цель данной работы – оценка уровня генетического разнообразия материнских деревьев и их потомства разного возраста в насаждениях сосны обыкновенной естественного и искусственного происхождения. Материал для исследований был собран в насаждении естественного происхождения и географических культурах (Кореневская экспериментальная лесная база Института леса НАН Беларуси), лесосеменной плантации (ЛСП) I порядка (Глубокский опытный лесхоз), а также лесных культурах (Гомельский лесхоз) сосны обыкновенной. В насаждении естественного происхождения все отобранные деревья были разбиты на четыре группы: материнские деревья, самосев и подрост двух разных возрастов. На лесосеменной плантации была заложена пробная площадь в виде прямоугольника, где собирали материал со всех деревьев, произрастающих там. Для проведения генетического анализа исследовали деревья пробной площади, с которых собирали семена, проростки семенной партии и подрост 2–10 лет. Изучение лесных культур проводили на двух пробных площадях, заложенных в культурах семи- и девятилетнего возраста. Исследованные географические культуры, возраст которых составляет 40 лет, были представлены четырьмя климатипами белорусского происхождения из Витебской, Гомельской, Гродненской и Могилевской областей. В среднем проанализировано примерно по 100 образцов из каждой исследованной группы.

В качестве экспериментального материала использовали диплоидные ткани почек, эндоспермы семян и корешки проростков. Для гомогенизации и выделения ферментов применяли экстрагирующие буфера для вегетативных тканей и мегагаметофитов [9, 10]. Электрофоретический анализ изоферментов проводили в 13–14%-ном крахмальном геле с использованием четырех буферных систем: трис-ЭДТА-боратная, pH = 8,6; трис-цитратная, pH = 6,2; трис-цитрат/NaOH-боратная, pH = 8,65; трис-HCl/трис-цитратная, pH = 8,0/6,2 [5] с небольшими модификациями. Гистохимическое окрашивание ферментов производили по стандартным методикам, описанным в ряде руководств [5, 6]. Анализ проведен на основе одиннадцати ген-ферментных систем с использованием 18 изоферментных локусов (Aat-1, -2, -3; Adh-1, -2; Dia-2; Fe; Gdh; Gpi; Idh; Lap-1, -2; Mdh-1, -2, -3; 6-Pgd-2; Pgm-1, -2). В данной статье рассмотрен ряд статистических показателей, описывающих генетическую структуру популяций и уровень генетической изменчивости [9, 11]. Достоверность различий показателей средней гетерозиготности определяли на основании коэффициента Стьюдента [12].

В ходе проведения генетического анализа установлены генотипы всех проанализированных деревьев по 18 изоферментным генам и получены аллельные частоты для ис-

следованных групп сосны обыкновенной, на основании которых рассчитаны основные показатели генетической изменчивости. В насаждении естественного происхождения (табл. 1) доля полиморфных локусов по 99%-ному критерию (P_{99}) у материнских деревьев совпадает с подростом 15–18 лет (0,889) и несколько выше, чем у самосева и подроста 5–6 лет (0,778). В то же время по 95%-ному критерию (P_{95}) значение этого показателя совпадает у материнских деревьев и подроста 5–6 лет (0,556) и ниже по сравнению с самосевом (0,611) и подростом 15–18 лет (0,667). Параметр среднего числа аллелей на локус у материнских деревьев также ниже, чем у подроста. Расчет средней наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности показал, что у самосева (0,221 и 0,235 соответственно) и подроста (от 0,232 до 0,238 и от 0,236 до 0,238 соответственно) эти показатели несколько превышают величины H_c и H_o материнских деревьев (0,219 и 0,217 соответственно), что подтверждает данные, полученные другими исследователями для сосны обыкновенной [4, 8]. Необходимо отметить, что в насаждениях других хвойных видов (кедровый стланик, сосна крымская и др.), характеризующихся высоким уровнем самоопыления и близкородственных скрещиваний, отмечается противоположная тенденция: у зародышей, по сравнению с материнскими деревьями, происходит значительное снижение наблюдаемой гетерозиготности [2, 4–6].

При естественном возобновлении под пологом леса подрост сохраняет уровень генетического разнообразия, характерный для взрослого насаждения. Отличительной особенностью такого подроста является то, что материнским насаждением для него служит древостой естественного происхождения. Не исключено, что при использовании семян с ЛСП, где количество представленных генотипов ограничено, ситуация будет обстоять иначе. В ходе изучения разновозрастных групп в лесосеменной плантации выявлено, что доля полиморфных локусов варьирует по 95%-ному критерию от 0,500 до 0,667, по 99%-ному критерию – от 0,778 до 0,883 (табл. 1). Число аллелей на локус (A) изменяется от 2,278 до 2,722, число нередких аллелей на локус ($A_{1\%}$) – от 2,222 до 2,300. Параметры средней ожидаемой (H_c) и средней наблюдаемой гетерозиготности (H_o) находятся в пределах 22,9–23,9 % и 24,2–25,7 % соответственно. Необходимо отметить, что по четырем параметрам P_{95} , P_{99} , A и H_c материнские деревья имеют более низкие показатели, чем проростки и подрост. Величина наблюдаемой гетерозиготности у материнских деревьев несколько выше, чем у остальных исследованных групп, что вполне закономерно, поскольку для плюсовых деревьев, потомства которых используются для закладки ЛСП I порядка, в целом характерны более высокие параметры наблюдаемой гетерозиготности [13]. Следует отметить, что выявленное различие значений H_o не достоверно.

Таблица 1. Значения основных показателей генетической изменчивости у деревьев сосны обыкновенной из разновозрастных групп в древостоях естественного и искусственного происхождения

Анализируемая группа	Доля полиморфных локусов		Число аллелей на локус A	Средняя гетерозиготность*	
	P_{95}	P_{99}		ожидаемая H_c	наблюдаемая H_o
Насаждение естественного происхождения					
Материнские деревья	0,556	0,889	2,611	0,217±0,009	0,219±0,009
Самосев	0,611	0,778	2,556	0,235±0,008	0,221±0,008
Подрост 5–6 лет	0,556	0,778	2,778	0,238±0,011	0,238±0,011
Подрост 15–18 лет	0,667	0,889	2,889	0,236±0,009	0,232±0,009
Лесосеменная плантация I порядка					
Материнские деревья	0,500	0,778	2,278	0,229±0,008	0,257±0,008
Проростки	0,667	0,778	2,278	0,234±0,008	0,246±0,008
Подрост	0,611	0,833	2,722	0,239±0,008	0,242±0,008

* Значения показателей приведены с ошибкой среднего.

Несмотря на неравновесное состояние группы материнских деревьев на ЛСП ($H_e = 0,229$, $H_o = 0,257$, различия достоверны по 95%-ному критерию, $t = 2,47$), значения ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности проростков ($H_e = 0,234$, $H_o = 0,246$) и подроста ($H_e = 0,239$, $H_o = 0,242$) свидетельствуют о равновесном состоянии исследованных групп. При этом различия между H_e и H_o снижаются в направлении «материнские деревья → проростки → подрост». Следует отметить, что при исследовании разновозрастных групп из насаждения естественного происхождения все они находились в равновесном состоянии. Данные, свидетельствующие о равновесном состоянии материнских насаждений и их потомства, приведены также в работах, посвященных изучению *Pinus sylvestris* в Польше [3] и Республике Коми [7].

Коэффициент генетической дистанции Nei для исследованных разновозрастных групп как в насаждении естественного, так и в насаждении искусственного происхождения не превышал 0,003. При проведении исследований польскими учеными также были выявлены низкие значения генетической дистанции между материнскими насаждениями сосны обыкновенной, подростом и лесными культурами, заложенными семенным материалом материнского насаждения, которые не выходили за пределы 0,002 [3].

Значения параметров генетического разнообразия, рассчитанные для исследованных лесных культур (табл. 2), варьируются незначительно и близки к усредненным данным по природным популяциям эксплуатационных лесов в целом. Отсутствие достоверных различий позволяет говорить о том, что для создания изучаемых культур был использован посадочный материал со сходными генетическими параметрами. По-видимому, это связано с тем, что для производства посадочного материала используются смешанные партии семян со всего лесхоза. Кроме того, условия питомников позволяют сохранить разнообразие генотипов вследствие отсутствия какого-либо отбора. Это приводит к тому, что партии семян разных лет сбора и выращенные из них сеянцы будут иметь усредненные значения и незначительно различаться по генетическим параметрам.

Таблица 2. Значения показателей генетической изменчивости в лесных культурах сосны обыкновенной

Древостой	Доля полиморфных локусов		Число аллелей на локус А	Средняя гетерозиготность*	
	P_{95}	P_{99}		ожидаемая H_e	наблюдаемая H_o
Культуры 1	0,57	0,84	2,84	0,243±0,006	0,256±0,006
Культуры 2	0,57	0,89	3,00	0,245±0,006	0,239±0,006
Лесные культуры в целом	0,52	0,84	3,15	0,244±0,004	0,248±0,004
Эксплуатационные леса	0,65	0,85	3,60	0,240±0,002	0,247±0,002

* Значения показателей приведены с ошибкой среднего.

Наиболее удобным объектом, позволяющим оценить, насколько сохраняется в ходе искусственного лесовосстановления генетическое разнообразие и не происходит ли его снижение, являются географические культуры, заложенные семенами насаждений, относящихся к категории плюсовых. В табл. 3 приведены значения основных показателей генетического полиморфизма в исследованных климатипах. Как следует из табл. 3, доля полиморфных локусов в географических культурах варьируется по 95%-ному критерию от 0,60 до 0,65, по 99%-ному критерию – от 0,75 до 0,90. Число аллелей на локус изменяется от 2,65 до 2,90. Параметры ожидаемой (H_e) и наблюдаемой (H_o) гетерозиготности находятся в пределах 24,2–24,5 % и 24,2–26,3 % соответственно, составляя в среднем 0,248 и 0,254.

Полученные в проанализированных географических культурах высокие значения генетического полиморфизма являются результатом воспроизводства в них генофонда материнских насаждений, в качестве которых использовали плюсовые насаждения. Так, значения показателей H_e и H_o для проанализированных культур в целом лишь на

Таблица 3. Значения показателей генетической изменчивости в географических культурах сосны обыкновенной

Климатип	Доля полиморфных локусов		Число аллелей на локус А	Средняя гетерозиготность*	
	P ₉₅	P ₉₉		ожидаемая H _e	наблюдаемая H _o
Могилевский	0,60	0,80	2,70	0,242±0,009	0,242±0,009
Гродненский	0,65	0,90	2,90	0,247±0,010	0,246±0,010
Витебский	0,60	0,75	2,65	0,245±0,009	0,263±0,009
Гомельский	0,60	0,80	2,65	0,247±0,009	0,260±0,009
В целом климатипы	0,65	0,80	3,25	0,248±0,005	0,254±0,005
Плюсовые насаждения	0,65	0,80	3,40	0,251± 0,003	0,258±0,003
Эксплуатационные леса	0,65	0,85	3,60	0,240±0,002	0,247±0,002

* Значения показателей приведены с ошибкой среднего.

0,5 % ниже таковых, установленных для совокупности включенных в анализ плюсовых насаждений. При рассмотрении же климатипов в отдельности уровень генетической изменчивости каждого из них значительно превышал нижний предел, выявленный среди плюсовых насаждений ($H_e - 0,217$; $H_o - 0,224$).

Значения генетической дистанции Nei варьируются от 0,002 до 0,006, что укладывается в размах величин этого параметра в насаждениях естественного происхождения. Сходные результаты были получены при исследовании географических культур ели европейской из Бескид. Генетическая дистанция между 17 исследованными происхождениями не выходила за пределы значений, полученных между природными популяциями из регионов ее произрастания [14].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что в лесных культурах, создаваемых при искусственном лесовосстановлении, так же, как и в подросте спелых древостоев и семенных потомствах лесосеменных плантаций, сохраняется уровень генетической изменчивости материнских насаждений. При этом лесные культуры сосны обыкновенной, созданные из семян лучших древостоев, соответствуют верхнему пределу генетической изменчивости эксплуатационных лесов, что свидетельствует о возможности создания лесных культур, не только воспроизводящих генофонд природных популяций, но и в ряде случаев превосходящих их по уровню генетического разнообразия.

Список литературы

1. Генетическая изменчивость сосны обыкновенной в возрастных группах / Н.В. Старова [и др.] // Генетика. – 1990. – Т. 26, № 3. – С. 498–505.
2. Политов, Д.В. Динамика аллозимной гетерозиготности в дальневосточных популяциях кедрового стланика *Pinus pumila* (Pall.) Regel: сравнение зародышей и материнских растений / Д.В. Политов, М.М. Белоконь, Ю.С. Белоконь // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 10. – С. 1348–1358.
3. Kosinska, J. Genetic Variability of Scots Pine Maternal Populations and Their Progenies / J. Kosinska, A. Lewandowski, W. Chalupka // *Silva Fennica*. – 2007. – Vol. 41, No 1. – P. 5–12.
4. An Assessment of Heterozygosity and Fitness in Chir Pine (*Pinus roxburghii* Sarg.) Using Isozymes / K. Sharma [et al.] // *New Forests*. – 2007. – Vol. 34. – P. 153–162.
5. Белоконь, М.М. Система скрещивания и динамика аллозимной гетерозиготности в популяциях кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) / М.М. Белоконь, Ю.С. Белоконь, Д.В. Политов // *Regel. Хвойные бореальной зоны*. – 2010. – Т. XXVII, № 1–2. – С. 14–17.
6. Возрастная динамика популяционного генофонда сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) в Крыму / И.И. Коршиков [и др.] // *Цитология и генетика*. – 2011. – № 1. – С. 41–47.
7. Генетическая изменчивость ферментных локусов в коренных и возобновившихся насаждениях сосны (*Pinus sylvestris* L.) / И.И. Камалова [и др.] // *Генетика и селекция лесных древесных растений: сб. науч. тр. НИИЛГиСВ*. – Воронеж: Артефакт, 2008. – С. 70–80.
8. Коршиков, И.И. Возрастная динамика генетической изменчивости в изолированной популяции сосны меловой (*Pinus sylvestris* var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom.) в Донбассе / И.И. Коршиков, Е.А. Мудрик // *Генетика*. – 2006. – Т. 42, № 5. – С. 659–666.

9. Гончаренко, Г.Г. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов / Г.Г. Гончаренко, В.Е. Падутов, В.В. Потенко. – Гомель: Полеспечатать, 1989. – 164 с.
10. Cheliak, W.M., Pitel J.A. Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species. Ottawa: Canadian Forestry Service, 1984. – 49 p.
11. Айала, Ф. Введение в молекулярную и эволюционную генетику / Ф. Айала. – М.: Мир, 1984. – 230 с.
12. Плохинский, Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский. – М.: МГУ, 1970. – 367 с.
13. Уровень генетической изменчивости у деревьев сосны обыкновенной различных селекционных категорий / С.И. Ивановская [и др.] // Сб. науч. тр. Ин-та леса НАН Беларуси, вып. 68: Проблемы лесоведения и лесоводства. – Гомель, 2008. – С. 178–186.
14. Sabor, J., Kempf M., Masternak K. Genetic Structure of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] Provenances Tested in IPTNS-IUFRO 1964/68 Experiment in Krynica. Folia Forestalia Polonica, series A. – 2013. – Vol. 55 (1). – P. 10–17.