

likrose) adaptive four derivatives sources round peony Bordo bekrosirovanie derived from F₁ hybrid parent. **Methods.** Pollination of the hybrid, which has already received bekros F₁ hybrid with the previous F₁ has made it possible to get a generation that has ensured the standard uterine oval odnotipichnyh harvested roots to 98 % in variety Diy. **Results.** To speed up the selection of late-maturing varieties have a scheme that involves hybridization of derivative forms tapered and rounded. **Conclusions.** The selection on the selective background with F₁ hybrid uterine betanin's mather roots and propagation of in vitro culture has allowed for 12 years to reduce the creation of a new genotype varieties Bahriany.

Key words: hybridization, selection, table beet, polikrose, genotype.

КОРШИКОВ И.И., ДЕМКОВИЧ А.Е., МАКОГОН И.В., КАЛАФАТ Л.А., БАГДАСАРОВА А.Р.

Донецкий ботанический сад НАН Украины

Украина, 83059, Донецк-59, пр. Ильича, 110, e-mail: dbsgenetics@gmail.com

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПО ИЗОФЕРМЕНТНЫМ И МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

Основным методом современной лесной селекции является плюсовая селекция, т.е. отбор растений по хозяйственно важным признакам, чаще всего – по скорости роста [5]. Однако мнение о плюсовой селекции неоднозначно. А.И. Видякин [2], проводивший анализ результатов плюсовой селекции *Pinus sylvestris* L., *Picea abies* (L.) Karst., *Picea obovata* Ledeb. и *P. x fennica* (Regel.) Kom. по семенному потомству в испытательных культурах Российской Федерации и республик бывшего СССР, отмечает, что большинство семей плюсовых деревьев сосны и ели не отличаются от контроля. Доля элитных плюсовых деревьев в этих культурах составляла 2–4 %. Это позволило автору сделать заключение, что отбор по лучшему фенотипу (высота дерева и диаметр его ствола) не эффективен. Этот селекционный метод в лесоведении рекомендуют применять только при выращивании промышленных плантаций [4]. Любой направленный отбор изменяет генетическую структуру и уровень генетической изменчивости, характерный для природных популяций селективируемого вида [15]. А поэтому проблема сохранения генетического разнообразия при создании объектов постоянной лесосеменной базы остается актуальной, хотя к такому заключению генетики и селекционеры пришли полвека назад [9]. По этой причине важной задачей лесоведения является генетический анализ лесных плюсовых деревьев с целью контроля дальнейшего их использования в создании объектов единого гене-

тико-селекционного комплекса. Такой комплекс планомерно создается селекционерами и генетиками в Беларуси [7] и России [8], не говоря о странах Западной Европы, где генетические маркеры – изоферменты и ДНК давно используются в исследованиях плюсовых деревьев. ДНК-маркеры часто оказываются селективно нейтральными, однако их применение в активно развивающемся новом направлении – популяционной геномике позволяет отличить общегеномные эффекты, затрагивающие все гены в геноме, от специфических эффектов, касающихся только отдельных генов [3].

Гетерозиготность живых организмов – одна из основных характеристик их изменчивости. Для оценки здоровья популяции гетерозиготность как совокупный молекулярный маркер наиболее подходит. Показатель гетерозиготности используют в мониторинге и в восстановительных программах популяционных систем. Повышение гетерозиготности увеличивает возможности для выживания популяций в последующих поколениях. Однако, для естественного воспроизводства популяций вида, как считает Ю.П. Алтухов [1], важным является сохранение определенного исторически сложившегося оптимума гетерозиготности, т.е. соотношения гомо- и гетерозигот.

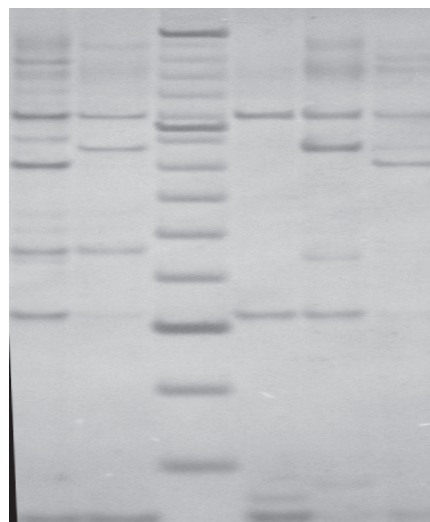
Цель работы – анализ индивидуальной гетерозиготности выборки плюсовых деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) из насаждений на севере Донецкой области.

Материалы и методы

В работе были использованы 35 плюсовых деревьев *P. sylvestris* из насаждений на севере Донецкой области. С каждого дерева отбирали почки и молодую хвою. Ферменты экстрагировали из листовых зачатков почек и проводили электрофорез в вертикальных пластинках 7,5 %-ного полиакриламидного геля. Этот анализ позволил идентифицировать 18 аллозимных локусов девяти ферментных систем: ADH (К.Ф. 1.1.1.1.), DIA (К.Ф. 1.8.1.4), GOT (К.Ф. 2.6.1.1), GDH (К.Ф. 1.4.1.2), LAP (К.Ф. 3.4.11.1), MDH (К.Ф. 1.1.1.37), SOD (К.Ф. 1.15.1.1), FDH (К.Ф. 1.2.1.2), ACP (К.Ф. 3.1.3.2).

ДНК выделяли с помощью набора «Diatom DNA prep» (Изоген). Наличие ДНК проверяли на агарозном гель-электрофорезе с окраской бромистым этидием. Микросателлитный анализ проводили на основе пяти пар праймеров, разработанных для *P. sylvestris*: Spac 11.8 [17], Ptx2146, Spac12.5, Ptx3025, Ptx3116 [12] («Metabion international» AG). Амплификацию SSR локусов выполняли с использованием наборов «GenePak PCR Core» (Изоген) на приборе «GeneAmp PCR System 2400» (Perkin Elmer). Концентрация праймеров составляла 0,1–0,5 мкм, вносили 20–200 нг исследуемой ДНК. Для электрофореза ампликона применяли неденатурирующий 6 % вертикальный полиакриламидный гель и трис-боратный электродный буфер [11]. Электрофорез проводили на геле

1,5*200*200 мм в камере «VE-3» (Helicon) при постоянном напряжении 300 В. Ампликоны окрашивали бромистым этидием [10] или нитратом серебра [11]. Для регистрации результатов использовали цифровой фотоаппарат «PoverShot a530» (Canon) (рис. 1).



М

Рис. 1. Электрофореграмма ампликонов по локусу Ptx2146, окрашенная азотнокислым серебром

Результаты и обсуждение

В исследованной выборке плюсовых деревьев *P. sylvestris* 14 локусов из 18 были полиморфными: Got-1 (1*), Got-2 (2), Got-3 (3), Gdh (4), Lap-1 (5), Lap-2 (6), Dia-1 (7), Dia-4 (8), Mdh-2 (9), Mdh-3 (10), Adh-1 (11), Adh-2 (12), Fdh (13), Asp (14) (табл.). Мультилокусный генотип одного из деревьев (№ 23) не имел ни одного гетерозиготного локуса. У семи деревьев выявлен только один гетерозиготный локус: у трех пар генотипов эти локусы были одними и теми же. Шесть деревьев были гетерозиготны по двум локусам и только два дерева имели общие такие локусы. Наиболее представительными в выборке плюсовых деревьев были генотипы с тремя гетерозиготными локусам, их было – 12. Только две пары деревьев имели однотипные генотипы по гетерозиготным локусам. Деревьев с четырьмя гетерозиготными локусам было семь, а с пятью локусам – три. Наиболее высокий уровень наблюдаемой (H_0) гетерозиготности плюсовых деревьев *P. sylvestris* установлен по шести локусам: Gdh (0,442), Mdh-3 (0,419),

Got-3 (0,419), Got-2 (0,279), Dia-1 (0,279) и Dia-4 (0,256). Средняя гетерозиготность плюсовых деревьев по 18 аллозимным локусам составила: $H_0 = 0,203$, $H_E = 0,324$, что говорит о недостатке гетерозигот в этой выборке растений.

По пяти микросателлитным локусам: Spac 11.8 (1**), Ptx2146 (2), Spac12.5 (3), Ptx3025 (4), Ptx3116 (5) гомозиготным было только одно дерево (№ 24), а три дерева имели лишь один такой локус (табл.). При этом в их число входило дерево № 22, которое при изоферментном анализе отличалось максимальной гетерозиготностью. Основная масса деревьев имела два (13) и три (12) гетерозиготных микросателлитных локуса. В каждой из этих двух групп 2–3 дерева имели сходные генотипы по гетерозиготным локусам. Средняя наблюдаемая гетерозиготность (H_0) по пяти микросателлитным локусам составила 0,533, что значительно выше, чем в случае изоферментного анализа. Исследование 44 плюсовых деревьев *P. sylvestris* в Республике Марий Эл (Россия) с применением межмикроса-

теллитного ISSR анализа (9 локусов) показало высокий уровень их общего генетического разнообразия, $h = 0,35$ [6]. Оценки генетической изменчивости, основанные на использовании небольшого числа маркеров не всегда отражают

объективную картину [16]. Следует отметить, что у полиморфных аллозимных локусов в выборке плюсовых деревьев *P. sylvestris* выявлено от 2 до 4 аллелей, а по микросателлитным локусам их было не меньше десяти.

Таблица. Гетерозиготность плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* из насаждений на севере Донецкой области по 18 изоферментным и 5 микросателлитным локусам ДНК

Количество гетерозиготных локусов	Изоферменты		Микросателлиты	
	Наблюдаемая гетерозиготность, H_o	№ дерева (№ гетерозиготного локуса)	Наблюдаемая гетерозиготность, H_o	№ дерева (№ гетерозиготного локуса)
0	0	23(0)	0	24(0)
1	0,056	2(3*); 3(4); 7(3); 24(12); 26(4); 28(12); 34(1)	0,2	14(1**); 15(1); 22(2)
2	0,111	11(4,7); 14(3,4); 15(7,8); 25(4,13); 31(3,4); 33(4,14)	0,4	1(2,4); 2(4,5); 4(4,5); 9(2,5); 16(3,4); 17(2,3); 21(2,4); 25(3,4); 29(1,3); 30(1,4); 33(4,5); 34(1,4); 36(1,5)
3	0,167	5(2,3,7); 9(2,3,10); 10(7,9,10); 12(1,2,6); 16(4,8,10); 17(2,8,10); 19(2,8,10); 21(4,11,12); 30(3,8,13); 32(3,10,13); 35(2,3,10); 36(3,10,12)	0,6	3(1,4,5); 8(1,2,3); 10(1,4,5); 11(2,4,5); 12(1,2,3); 13(3,4,5); 19(1,3,4); 20(1,2,4); 23(2,3,4); 26(2,3,4); 31(2,3,4); 32(2,4,5)
4	0,222	1(3,4,10,13); 4(7,8,10,13); 13(4,8,10,13); 18(3,7,8,10); 20(4,7,8,10); 27(2,3,8,11); 29(2,4,10,11)	0,8	5(1,2,3,5); 27(1,2,3,4); 28(1,2,4,5); 35(1,2,3,5)
5	0,278	6(2,4,10,12,13); 8(4,5,7,10,13); 22(2,3,4,7,8)	1	6, 7, 18(1,2,3,4,5)

Примечание. *, ** – номер локуса, который указан в тексте.

Используя мультилокусные генотипы плюсовых деревьев, для каждого из них в сравнении с остальными были рассчитаны бинарные генетические расстояния. Они были использованы для размещения генотипов плюсовых деревьев в пространстве двух главных компонент (рис. 2). Можно выделить три группы, состоящие из генетически близких деревьев: это А – 8, Б – 5 и В – 5. Часть деревьев объединялась в близкорасположенные по бинарным расстояниям пары: Г, Д, Е, Ж, хотя сами пары заметно различались, как и более крупные группы: А, Б и В. Бинарная генетическая дистанция (D) между группами деревьев (А, Б) была существенно меньшей, чем между некоторыми отдельными деревьями, например №19 и №33, №9 и №14. Значительное генетическое расстояние, с помощью RAPD-анализа выявлено между плюсовыми деревьями *P. sylvestris*, выделенными в лесах Литвы [18]. Очевидно, генетические механизмы,

лежащие в основе более интенсивного роста плюсовых деревьев *P. sylvestris*, носят полигенный характер.

Безмерное разнообразие геномной изменчивости, многочисленные комбинации взаимодействия аллелей создают значительные трудности в определении локусов, контролирующих количественные признаки (QTL) у живых организмов. Для сельскохозяйственных растений разработаны цитогенетические методы исследования их сложных геномов и созданы цитогенетические коллекции, которые используются для установления хромосомной локализации генов, ответственных за проявление хозяйственно ценного признака или показателя. Создание геномных карт растений, насыщенных молекулярными маркерами, дает возможность разделить количественный признак на более простые локусы: QTL. Для древесных растений К.В. Крутовский [3] предлагает переходить от популяцион-

ной генетики к популяционной геномике, что позволит расшифровать фенотипические эффекты индивидуальных аллелей и провести идентификацию паттернов адаптивной изменчивости на уровне популяций. Уже начато создание ге-

нетической карты *P. sylvestris* с использованием ESTP и AFLP маркеров, а также микросателлитов [13], как и для других видов рода *Pinus* L. [14].

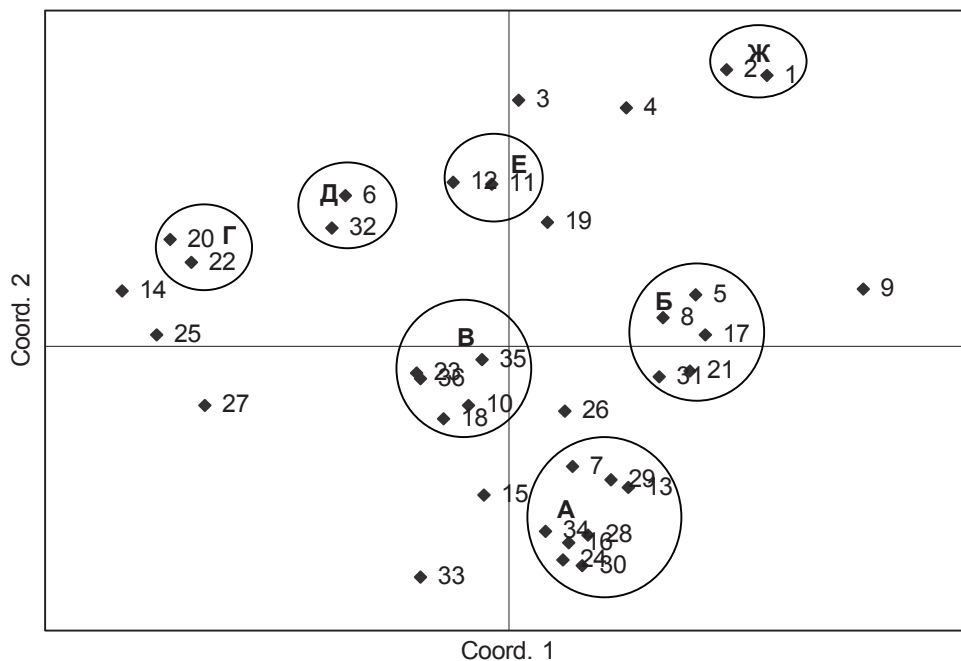


Рис. 2. Ординация плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* на основе генетических бинарных дистанций (D) по микросателлитным локусам в пространстве первых двух главных компонент. Деревья №7, 29, 13, 34, 16, 28, 24, 30 – D = 12,82 ± 0,38; деревья №5, 8, 17, 31, 21 – D = 10,70 ± 0,54; деревья №20, 22 – D = 10; деревья №19, 33 – D = 15; деревья №9, 14 – D = 17

Выводы

Таким образом, индивидуальная гетерозиготность деревьев заметно варьирует. В их генотипах выявлено от 0 до 5 гетерозиготных микросателлитных или аллозимных локусов. Мик-

росателлитные локусы позволяют более точно определить аллельное разнообразие и гетерозиготность плюсовых деревьев.

Работа выполнена в рамках проекта ГФФИ № Ф41. 4/046.

Литература

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях: Учеб. пособие. 3-е изд. перераб. и доп.; отв. ред. Л.Д. Животовский. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. – 431 с.
2. Видякин А.И. Эффективность плюсовой селекции древесных растений // Хвойные бореальной зоны. – 2010. – Т. 27, № 1–2. – С. 18–25.
3. Крутовский К.В. От популяционной генетики к популяционной геномике лесных древесных видов: интегрированный популяционно-геномный подход // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 10. – С. 1304–1318.
4. Мамаев С.А., Семеригов Л.Ф., Махнев А.К. О популяционном подходе в лесоводстве // Лесоведение. – 1988. – № 1. – С. 3–9.
5. Милютин Л.И. Генетико-эволюционные основы устойчивости лесных экосистем // Лесоведение. – 2003. – № 1. – С. 16–20.
6. Милютина Т.Н., Новикова П.С., Шейкина О.В. Молекулярно-генетические исследования плюсовых деревьев сосны на коллекционно-маточном участке // Лесные экосистемы в условиях изменения климата: биологическая продуктивность, мониторинг и адаптационные технологии: матер. междунар. конф. – Йошкар-Ола: МарГТУ, 2010. – С. 81–84.
7. Падутов В.Е., Хотылева Л.В., Баранов О.Ю., Ивановская С.И. Генетические эффекты трансформации лес-

- ных экосистем // Экологическая генетика. – 2008. – Т. 6, №1. – С. 3–11.
8. Политов Д.В. Требуется изучение геномов лесных древесных растений // Лесная Россия. Лесная генетика, селекция и биотехнология в лесном хозяйстве. – 2008. – № 1. – С. 14–17.
 9. Рутковский И.В. Перспективы развития лесного семеноводства // Лесное хозяйство. – 2003. – № 2. – С. 8–10.
 10. Якісний та кількісний аналіз чужинного генетичного матеріалу у рослинній сировині та продуктах харчування за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції: метод. рек. / Ін-т клітин. біології та генет. інженерії НАН України, Держ. установа «Ін-т харч. біотехнології та геноміки НАН України», розробники: Я.Б. Блюм та інші. – К., 2008. – 100 с.
 11. Benbouza H., Jacquemin J.-M., Baudoin J.-P., Mergeai G. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels // Biotechnol. Agron. Soc. Environ. – 2006. – Vol. 10, № 2. – P. 77–81.
 12. Elsik C.G., Minihan V.T., Hall S.E. et al. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. // Genome. – 2000. – Vol. 43. – P. 550–555.
 13. Komulainen P, Brown GR, Mikkonen M. et al. Comparing EST-based genetic maps between *Pinus sylvestris* and *Pinus taeda* / Theor. Appl. Genet. – 2003. – Vol. 107 (4). – P. 67–78.
 14. Kuang H., Richardson T., Carson S. et al. Genetic analysis of inbreeding depression in plus tree 850.55 of *Pinus radiata* D. Don. I. Genetic map with distorted markers. – Theor. Appl. Genet. – 1999. – Vol. 98 (5). – P. 697–703.
 15. Lundkvist K. Genetic structure in natural and cultivated forest tree populations // Silva Fennica. – 1982. – Vol. 16. – P. 141–149.
 16. Mariette S., Le-Corre V., Austerluz F., Kremer A. Sampling within the genome for measuring within-population diversity: Trade-offs between markers // Molec. Ecology. – 2002. – Vol. 11. – P. 1145–1156.
 17. Soranzo N., Provan J., Powell W. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. // Mol. Ecol. – 1998. – Vol. 7. – P. 1247–263.
 18. Zvingila D., Verbylaite R., Abraitis R. et al. Assessment of genetic diversity in plus tree clones of *Pinus sylvestris* L. using RAPD markers // Baltic Forestry. – 2002. – Vol. 8, № 2 (15). – P. 2–7.

KORSHIKOV I.I., DEMKOVICH A.YE., MAKOGON I.V., KALAFAT L.A., BAGDASAROVA A.R.
Donetsk Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine
Ukraine, 83059, Donetsk, Pr. Illicha, 110, e-mail: dbsgenetics@gmail.com

VARIATION OF THE SCOTS PINE PLUS TREES AT ISOZYME AND MICROSATELLITE LOCI

Aims. Analysis of the individual heterozygosity in 35 Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees sampled in the plantations of the northern Donetsk region. **Methods.** To determine genotype of plants, we used electrophoretic analysis in polyacrylamide gel of 9 gene-enzyme systems with detection of 14 polymorphic isozyme and 5 microsatellite DNA loci. **Results.** Individual heterozygosity of trees notably varied. There were detected 0 to 5 heterozygous microsatellite or isozyme loci in their genotypes. **Conclusions.** Microsatellite loci provide more exact determination of the allele diversity and heterozygosity of plus trees. **Key words:** *Pinus sylvestris*, plus trees, isozyme and microsatellite loci.

ЛАЦКО Т.А.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр
Украина, 98648, г. Ялта, нпт. Никита, e-mail: cr_way@mail.ru

ОЦЕНКА НАСЛЕДОВНИЯ СРОКА СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ В ГИБРИДНОМ ПОТОМСТВЕ *PERSIC VULGARIS* MILL.

Наследование качественных признаков у *Persica vulgaris* mill. происходит, на первый взгляд, довольно просто, по законам Менделя, т.е. по монофакториальной схеме. К основным качественным признакам у *P. Vulgaris* относятся: тип цветка, наличие опушения, характер покровной окраски, цвет кожицы и мякоти, структура мякоти, срастание косточки, рельефный

рисунок косточек, формы железок и ресничек и т.д. За эти и другие признаки отвечают олигогены. Больше разнообразие у персика наблюдается не по качественным, а по количественным признакам: величина листьев, прилистников, цветков и плодов, высота растений, площадь и интенсивность покровной окраски, степень опушения, сроки цветения, созревания и вегета-